



**UAP**

**UNIVERSIDAD  
ALAS PERUANAS**

**Facultad de Medicina Humana y Ciencias de la Salud  
Escuela Académico Profesional de Farmacia y Bioquímica**

**TESIS**

**ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL ACEITE ESENCIAL DE LAS HOJAS**

***Tagetes filifolia* “anisillo” SOBRE CEPAS DE *Escherichia coli*.**

**PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE  
QUÍMICO FARMACÉUTICO**

**BACHILLER: JARA VILLARREAL, Lisset**

**ASESOR: Q.F DIAZ URIBE, Julio**

**LIMA – PERÚ**

**2015**

El trabajo de investigación está dedicado a mis padres Tiófenes y Celestina que hicieron todo en la vida para que yo pudiera lograr mis sueños, por motivarme y brindarme su apoyo incondicional.

A mis abuelos Bernardo e Irene que desde el cielo me guían para alcanzar mis sueños.

Se agradece por la contribución para el desarrollo de esta tesis

A la Universidad Alas Peruanas por facilitar el laboratorio, en el inicio desarrollo de la parte experimental.

A la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, por permitirme y realizar esta investigación en el laboratorio Cemprofarma de la Facultad Farmacia y Bioquímica.

A mi asesor QF. Julio Díaz Uribe, por resolver cualquier inquietud, y apoyar en la investigación.

A todas las personas que dedican parte de su vida a la noble labor de la investigación en el campo científico.

## RESUMEN

El presente trabajo de investigación tuvo como finalidad determinar la actividad antibacteriana de las hojas de *Tagetes filifolia* "anisillo". El diseño de esta investigación fue de tipo experimental. La especie fue ubicada y recolectada en el mes de noviembre del 2014, en la provincia de Huamanga y departamento de Ayacucho a una altitud de 3109 m.s.n.m. El cuál se obtuvo por el método de destilación por arrastre de vapor de agua; posteriormente fue sometido a la marcha fitoquímica. Se utiliza el aceite esencial de la planta, se utilizó el método Bauer Kirby actividad antibacteriana del aceite esencial de las hojas *Tagetes filifolia* "anisillo" sobre cepas de *Escherichia coli*. Para la cuál se utilizaron tres concentraciones diferentes de la muestra; 75µl/ml (75%), 50µl/ml (50%), 25µl/ml (25%) y como blanco de la muestra etanol absoluto 1ul/ml. En las condiciones experimentales se demostró que el aceite esencial de las hojas de *Tagetes filifolia* "anisillo" presenta actividad antibacteriana con halo de inhibición 20,06mm, dicha actividad probablemente se deba a la presencia de la variedad de compuestos lipofílicos que le atribuye a las hojas de *Tagetes filifolia*.

## ABSTRACT

The present research aimed to determine the antibacterial activity of the leaves of *Tagetes filifolia* "anisillo ". The design of this research was experimental. The species was located and collected in November 2014 in the province of Huamanga and Ayacucho at an altitude of 3109 m which was obtained by the method Distillation of water vapor; subsequently underwent phytochemical up. The essential oil of the plant is used, the Kirby Bauer antibacterial activity of the essential oil from the leaves *Tagetes filifolia* "anisillo " on *Escherichia coli* strains method was used . For which three different sample concentrations were used; 75 $\mu$ l / ml (75%), 50 ul / ml (50 %), 25 ul / ml (25 %) and as blank sign absolute 1ul ethanol / ml. Under the experimental conditions demonstrated that the essential oil of the leaves of *Tagetes filifolia* "anisillo " presents antibacterial activity inhibition halo 20,06mm, the activity is probably due to the presence of the variety of compounds attributed to lipofilicos que lea ves *Tagetes filifolia* .

## ÍNDICE

CARÁTULA.....	I
DEDICATORIA .....	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
RESUMEN.....	IV
ABSTRACT.....	V
CUADROS.....	X
FIGURAS.....	XI
INTRODUCCIÓN.....	XII

### **CAPÍTULO I:**

<b>PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....</b>	<b>13</b>
1.1. Descripción de la realidad problemática .....	13
1.2. Formulación del problema.....	13
1.2.1. Problema General .....	13
1.2.2. Problemas Específicos .....	14
1.3. Objetivos de la investigación.....	14
1.3.1. Objetivo general .....	14
1.3.2. Objetivos específicos.....	14
1.4. Hipótesis de la investigación.....	14
1.4.1. Hipótesis general.....	14
1.4.2. Hipótesis secundarias .....	15
1.5. Justificación e importancia de la investigación.....	15

## **CAPÍTULO II:**

<b>MARCO TEÓRICO</b> .....	16
2.1. Antecedentes de la investigación.....	17
2.1.1. Antecedentes Extranjeros .....	17
2.1.2. Antecedentes Nacionales.....	18
2.2. Bases teóricas .....	19
2.2.1. Origen de la planta .....	19
2.2.2. Distribución de la planta .....	20
2.2.3. Descripción de la planta .....	20
2.2.4. Taxonomía de Tagetes filifolia.....	21
2.2.5. Composición química de Tagetes filifolia .....	24
2.2.6. Estudios fitoquímicos de Tagetes filifolia.....	24
2.2.7. Propiedades medicinales de la planta .....	27
2.2.8. Aceites esenciales.....	29
2.2.8.1. Definición .....	29
2.2.8.2. Clasificación de los aceites esenciales.....	30
2.2.8.3. Características físicas de los aceites esenciales.....	34
2.2.8.4. Características químicas de los aceites esenciales .....	35
2.2.8.5. Extracción y aislamiento .....	36
2.2.9. Actividad antibacteriana .....	37

### **CAPÍTULO III:**

<b>METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN .....</b>	<b>39</b>
3.1. Tipo de investigación .....	39
3.2. Método.....	39
3.2.1. Identificación Taxonómica .....	39
3.2.2. Recolección de materia vegetal .....	40
3.2.3. Procesamiento de la muestra.....	40
3.2.4. Obtención del aceite esencial de anisillo .....	40
3.2.5. Determinación de la actividad antibacteriana .....	40
3.3. Ensayos preliminares.....	41
3.3.1. Prueba de solubilidad .....	41
3.3.2. Marcha Fitoquímica.....	41
3.4. Procedimiento .....	42
3.4.1. Aplicación del aceite esencial sobre las placas .....	42
3.4.2. Lectura de los resultados .....	44
3.5. Población y muestreo de la investigación .....	44
3.5.1. Población.....	44
3.5.2. Muestra .....	45
3.6. Variables e indicadores.....	45
3.6.1. Variable Independiente (X).....	45
3.6.2. Variable Dependiente (Y) .....	45
3.6.3. Indicadores de la variable independiente (X) .....	45
3.6.4. Indicadores de la variable Dependiente (Y).....	45



## **CAPÍTULO IV:**

### **PRESENTACIÓN, ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE**

#### **RESULTADOS ..... 46**

##### 4.1. Resultados ..... 46

##### 4.1.1. Características Organolépticas del aceite esencial de Tagetes filifolia ..... 46

##### 4.1.2. Ensayos de Solubilidad del aceite esencial de Tagetes filifolia ..... 47

##### 4.1.3. Resultados de marcha Fitoquímica del aceite esencial de Tagetes filifolia ..... 48

##### 4.1.4. Resultados Actividad antibacteriana..... 49

#### DISCUSIÓN..... 51

#### CONCLUSIONES ..... 53

#### RECOMENDACIONES..... 54

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... 55

#### GLOSARIO ..... 56

#### ANEXOS ..... 59

## ÍNDICE DE CUADROS

<b>Cuadro N° 1</b> .....	22
<b>Cuadro N°2</b> .....	26
<b>Cuadro N°3</b> .....	60
<b>Cuadro N°4</b> .....	60
<b>Cuadro N° 5</b> .....	61
<b>Cuadro N° 6</b> .....	61
<b>Cuadro N° 7</b> .....	62

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura N°1 .....</b>	<b>22</b>
<b>Figura N°2 .....</b>	<b>42</b>
<b>Figura N°3 .....</b>	<b>43</b>
<b>Figura N°4 .....</b>	<b>46</b>
<b>Figura N°5 .....</b>	<b>47</b>
<b>Figura N°6 .....</b>	<b>48</b>
<b>Figura N°7 .....</b>	<b>50</b>

## INTRODUCCIÓN

El Perú es rico en recursos naturales, que han demostrado con el tiempo la gran efectividad en el uso popular, el empleo de estas plantas en muchos casos es empírico, realizados por los curanderos que han adquirido conocimientos de generación en generación.

El anisillo (*Tagetes filifolia*), es una planta maravillosa que crece a los lados de los caminos en zonas húmedas y frías, se le considera como una planta con útil debido a que presenta diversas propiedades medicinales, entre ellos tenemos: Analgésico, antiinflamatorio, antiespasmódico. Es oriunda de México, Asia, América del norte y América del sur. En el Perú esta planta crece en cantidad.

Actualmente se cultiva en Ayacucho, Huaraz. En los últimos años se está valorando el uso de plantas medicinales con fines terapéuticos para mejorar el problema de la salud, se quiere contribuir con el presente trabajo Actividad antibacteriano del aceite esencial de las hojas de *Tagetes filifolia*. “Anisillo”. Precisamente en afianzar los conocimientos, validar el uso popular, proponer como uso alternativo o complementario, según el grado de patología, como actividad antibacteriano. El presente trabajo de investigación tiene como objetivo general Determinar la actividad antibacteriana del aceite esencial de las hojas de *Tagetes filifolia* “anisillo” frente a *Escherichia coli*.

## **CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

### **1.1. Descripción de la realidad problemática**

En el Perú existe diversidad de plantas medicinales, de las cuales sus propiedades medicinales no son muy difundidas por falta de investigación, y por la poca información de los pobladores del sector urbano sobre las propiedades terapéuticas de las mismas.

Por otro lado la falta de investigación por parte del estado hace que las propiedades de las plantas medicinales no sean muy conocidas debido a la poca importancia que se le da a la medicina natural.

El uso de antibióticos es poco eficaz en los tratamientos para combatir las infecciones por la bacteria *Escherichia coli*, la cual es la causante de producir enfermedades gastrointestinales. La especie *Tagetes filifolia* “anisillo” es una planta herbácea y aromática, que crece en condiciones del suelo (como profundidad y nivel de humedad) y que por su condición silvestre no se encuentra al alcance de la población.

### **1.2. Formulación del problema**

#### **1.2.1. Problema General**

- ✓ ¿Cuál es el efecto antibacteriano del aceite esencial de las hojas de *Tagetes filifolia* frente a *Escherichia coli*?

## 1.2.2. Problemas Específicos

- ✓ ¿Cuál es la concentración óptima del aceite esencial de *Tagetes filifolia* que producirá el efecto antibacteriano?
- ✓ ¿Cuál es la sensibilidad bacteriana del aceite esencial de las hojas de *Tagetes filifolia* frente a *Escherichia coli*?

## 1.3. Objetivos de la investigación

### 1.3.1. Objetivo general

- ✓ Determinar la actividad antibacteriana del aceite esencial de las hojas de *Tagetes filifolia* “anisillo” frente a *Escherichia coli*.

### 1.3.2. Objetivos específicos

- ✓ Identificarla concentración óptima del aceite esencial de *Tagetes filifolia* “anisillo” frente a la *Escherichia coli*.
- ✓ Analizar la sensibilidad bacteriana del aceite esencial de *Tagetes filifolia* “anisillo” frente a la *Escherichia coli*.

## 1.4. Hipótesis de la investigación

### 1.4.1. Hipótesis general

- ✓ El aceite esencial delas hojas de anisillo ***Tagetes filifolia*** posee la actividad antibacteriana frente a la ***Escherichia coli***.

### 1.4.2. Hipótesis secundarias

- ✓ La concentración óptima del aceite esencial de las hojas de ***Tagetes filifolia*** tendría efecto antibacteriano.
- ✓ Las hojas de ***Tagetes filifolia*** “anisillo”, debido a su aceite esencial podría ser una alternativa natural para combatir la *Escherichia coli*.

### 1.5. Justificación e importancia de la investigación

El propósito del presente trabajo es buscar alternativas naturales de metabolitos más seguros y menos tóxicos, frente a bacterias patógenas como el *Escherichia coli*. Se comprobará el aceite esencial de ***Tagetes filifolia*** y comprobará su efecto antibacteriano frente a dicha bacteria.

En la actualidad se utiliza medicamentos sintéticos para tratar diferentes enfermedades gastrointestinales a causa de dicha bacteria, los cuáles producen a su vez mayores efectos adversos y secundarios.

La importancia de este trabajo es comprobar una alternativa terapéutica natural para tratar las enfermedades infecciosas a causa de *Escherichia Coli*.

## CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

### 2.1. Antecedentes de la investigación

#### 2.1.1. Antecedentes Extranjeros

En la investigación realizada por: Santoro G, Cardoso M, Guimaraes IG.; Salgado A.; Menna Barreto R.; Soares MJ. **ENSAYO DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA Y TRIPANOCIDA DE LOS ACEITES ESENCIALES DE ORIGANUM VULGARE Y THYMUS VULGARIS. CARTAGENA (2007)**, mostró una alta bioactividad en los estadios de epimastigote y tripomastigotes. Los marcadores moleculares del aceite esencial de estas plantas vienen a ser el carvacrol y timol, respectivamente; se consideran como las moléculas de potente acción biocidas y antimicrobianos.<sup>(1)</sup>

En la investigación realizada por Senatore F, Napolitano Mohamed P, Harris G, mnkeniy P, Henderson J (2004). **ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE TAGETES MINUTA L, (ASTERACEAE) ACEITE ESENCIAL CON DIFERENTE COMPOSICIONES QUÍMICAS**. Mostraron la existencia de actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Tagetes minuta* (huacatay) contra las bacterias evaluadas, con valores de CMI de 6.25 – 25µg/ml para bacterias Gram positivas y de 25- 50 µg/ml



para bacterias Gram negativas. Así mismo, se reportó que los niveles de dihidrotagetonas, tagetonas, y ocimenonas encontrados en dicha planta podrían tener relación en la actividad antimicrobiana observada. Otros reportes muestran que el extracto de hojas de *Tagetes lucida* presenta actividad contra bacterias Gram positivas. <sup>(2)</sup>

En la investigación realiza por la doctora Baldeon X. **ACTIVIDAD INSECTICIDA DE LOS ACEITES ESENCIALES DE TAGETES MINUTA, TAGETES TERNIFLORA** (2011). Los aceites fueron extraídos del vegetal fresco por arrastre de vapor de agua y se preparó aplicándolos en las dietas cada uno por triplicado. Estadísticamente se considera una media de mortalidad máxima de 2 y el parámetro determinado fue la “significancia entre tratamientos”. Indicando que los aceites esenciales tienen efecto insecticida por contacto e inhibición de la alimentación, pero a diferente tiempo; pudiendo ser aprovechado este conocimiento para la industrialización de un nuevo plaguicida. <sup>(3)</sup>

Vásquez A, Aimar G. Cabalen E. Cantero, M. Velascol. **DETERMINATION OF VOLATILE ORGANIC COMPOUNDS OF TAGETES FILIFOLIA LAG.(ASTERACEAE) FROM CORDOVA. ARGENTINA 2013.**

Utilización del método de micro extracción en fase solida de análisis por cromatografía de gases .Como composición de la planta se determinaron diferentes compuestos, se concluye que la planta *Tagetes filifolia* es efectivo, libre de utilización de diferentes solventes que permitió alcanzar mejores resultados. <sup>(4)</sup>

### **2.1.2. Antecedentes Nacionales**

En la investigación realizada por los doctores Segovia I, Suarez L. **COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL ACEITE ESENCIAL DE TAGETES ELLIPTICA SMITH Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE, ANTIBACTERIANA Y ANTIFÚNGICA. LIMA 2010**, Determinaron las actividades antimicrobianas y concentración mínima inhibitoria (CMI), respectivamente, frente a los siguientes microorganismos: *S. aureus* ATCC 25933, *S. epidermis* (cepa clínica).

La CMI del aceite esencial de *Tagetes elliptica Smith* que presentó actividad frente a *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* fue de  $7.62 \times 10^{-1} \mu\text{g/mL}$ ; para *S. epidermidis* fue de  $97.5 \mu\text{g/mL}$ ; para *B. subtilis* fue de  $390 \mu\text{g/mL}$ ; y para *C. albicans* fue de  $780 \mu\text{g/ML}$ . <sup>(5)</sup>

En la investigación realizada por: Libertad A, Liliana M, Lourdes A, Gilma F. **ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA IN VITRO DE LOS ACEITES ESENCIALES EXTRAÍDOS DE ALGUNAS PLANTAS**

**AROMÁTICAS. LIMA 2001.** Reportaron resultados que permiten validar el uso popular de *Tagetes pusilla* anís serrano en el tratamiento de afecciones intestinales como, salmonelosis y el cólera. Respecto a la levadura oportunista *candida albicans*, se reportó que dicho aceite esencial ejerció un efecto similar al del micostatin (único antimicótico al que fue sensible).<sup>(6)</sup>

Millones Mori Vásquez E. Tafur. R. **OBTENCIÓN DE UN FILTRANTE DE ANÍS DE MONTE (TAGETES FILIFOLIA LAG.) EDULCORADO CON HOJAS DE ESTEVIA (STEVIA REBAUDIANA BERTONI).**

Determinar el segmento del anís de monte, esta planta fue lavada, desinfectadas, se emplearon gramos de anís, se concluyó obteniendo un edulcorado con adecuadas características organolépticas.<sup>(7)</sup>

## **2.2. Bases teóricas**

### **2.2.1. Origen de la planta**

Originaria de México, se extiende por Centroamérica hasta Argentina. En el Perú crece en los departamentos de Junín, Ayacucho, Ancash, Apurímac, Cusco.<sup>(8)</sup>

### **2.2.2. Distribución de la planta**

Comprende 151 especies descritas y de estas, solo 47 aceptadas. Crece desde los 2800-3800 msnm, en los andes de sud américa central (Perú, Ecuador, Bolivia, Chile y Argentina). En el Perú se distribuye en toda las regiones de la sierra (Junín, Ayacucho, Apurímac, Ancash, Cusco). Crece en los suelos húmedos, forma parte de las praderas herbáceas. (8)

- **Hábitat**

Orillas de campos cultivados.

- **Distribución por tipo de zonas bioclimáticas**

Selva baja caducifolia, bosque de pino-encino y bosque mesófilo.

- **Distribución altitudinal**

De los 600 a los 2400 m. En el Bajío se registra de los 1000 a los 2500 m

- **Distribución por tipo de suelos**

En lugares de suelo húmedo.

### **2.2.3.Descripción de la planta**

#### **Descripción morfológica**

Hierba anual erecta, a menudo muy ramificada, de 10-50 cm de altura, frecuentemente florecen cuando no posee ramas y tiene sólo unos 5 cm de altura o menos, esencialmente glabra (margen de las hojas áspero; hojas axilares a menudo escasamente pubescentes o pilosas) follaje con fuerte olor a anís; glándulas inmersas , pequeñas, redondas e inconspicuas; ramificaciones angulosas, la más superiores y los pedúnculos a menudo muy agudos; hojas aun las más superiores, usualmente todas opuestas y cortamente connadas en la base, profundamente pinnado- disectas en segmentos lineares o subulados de hasta 1,5 cm de largo, las láminas ovadas en contorno general, de 1 a 3 cm de largo, los segmentos lineares largos, obtusos de 0,5 a 1mm de ancho; cabezuelas estrechamente elipsoides, de 1cm de largo las láminas por el contrario numerosos frecuentemente en pequeños grupos en las puntas de las ramas con hojas terminales y axilares.<sup>(8)</sup>

### **2.2.4.Taxonomía de Tagetes filifolia**

Esta especie que crece en el Perú ha sido clasificada en la siguiente categoría taxonómica según (Cronquis 1988)

### Cuadro N° 1 Clasificación taxonómica

<b>Reino</b>	Plantae
<b>División</b>	Magnoliophyta
<b>Clase</b>	Magnoliopsida
<b>Orden</b>	Asterales
<b>Familia</b>	Asteraceae
<b>Genero</b>	Tagetes
<b>Especie</b>	Tagetes filifolia
<b>Nombre vulgar</b>	“anisillo”

**Fuente:** Datos obtenidos de la investigación

**Figura 1.** *Tagetes filifolia*



El género *Tagetes*, perteneciente a la tribu *Tageteae* que contiene a 16 géneros, corresponde a la familia de las *Asteraceae*. Este mismo género comprende 56 especies netamente aromáticas, las cuales crecen cultivadas o silvestres, son nativas de América y muy pocas de ellas son adventicias en el Viejo Continente. Algunas de ellas se cultivan como ornamentales, y se les conoce como “virreinas” o como “marigold”; y otras se han adaptado bien a la horticultura, existiendo antecedentes de su cultivo y uso extendido.

El nombre de *Tagetes*, originalmente fue aplicado por el filósofo Apuleus (siglo II), ello en honor al bello dios etrusco Tagetes, ello en alusión a la hermosura de las flores; nombre que posteriormente fue adoptado por Leonhartus Fuchs en su libro “*Historia Stirpium*” en el siglo XVI. <sup>(16, 17)</sup>

Este género comprende cerca de 60 especies entre ellas la especie botánica en estudio en el presente trabajo: *Tagetes elliptica* Smith, además de: *Tagetes erecta*, *Tagetes minuta*, *Tagetes pusilla*, *Tagetes lucida*, *Tagetes patula*, y *Tagetes terniflora*, entre las más destacables debido a sus usos como alimento, condimento, en la extracción de pigmentos, en la medicina tradicional y antagonista de nematodos fitoparásitos. <sup>(18, 19)</sup>.

### **2.2.5. Composición química de Tagetes filifolia**

*Contiene* resinas, sesquiterpena lactonas, compuestos fenólicos (flavonoides, taninos) y aceite esencial. <sup>(9)</sup>

### **2.2.6. Estudios fitoquímicos de Tagetes filifolia**

Esta planta contiene un aceite esencial en el que se han identificado los monoterpenos citral, citrol, limoneno y tagetona; los sesquiterpenos beta-cariofileno, cedreno y alfa-humuleno; y los lignanostransanetol, estragol y el éter metílico de eugenol. En la raíz se han detectado los componentes azufrados 5-(4-acetoxi-1-butenil)-2-2'-bitienilo, 5-(but-3-en-1-inil) 2-2'-bitienilo y alfa-tertienilo.

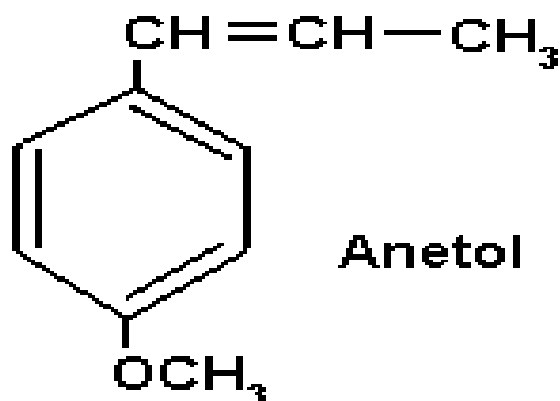
Posee como principios activos lactonas sesquiterpénicas, cumarinas, flavonoides, saponinas, taninos, antocianinas, aceites esenciales, principalmente el timol (48,90%) que es su marcador químico. El aceite esencial contiene carvacrol (3,50%), *p*-cimeno (19,50%),  $\gamma$ -terpineno (4,10%), linalol, limoneno, borneol, canfor, B-cariofileno,  $\alpha$ -cadineno, entre otros.

Existen otros estudios fitoquímicos y farmacognósticos que reportan de los siguientes componentes: aceite esencial en el que se han identificado los monoterpenos 2-6-6-trimetil-biciclo (3.1.1)-hepta-2-ene, borneol, sus acetato e isocompuesto, delta-



cadineno, camfeno, car-3-ene y car-4-ene-carvacrol, 1-8-cineol, alcohol cumínico, para-cimeno, geraniol, limoneno, linalol, mirceno, ocimeno, alfa y beta-felandreno, alfa y beta-pineno, terpinen-4-ol, alfa- y gama-terpineno, alfa, beta y gamma terpineol y timol; los sesquiterpenos beta-cadineeno, betyaca-riofileno, y ludemol; y el componente fenílico anetol. En las hojas se han detectado los monoterpenos 3-3'-4-4'-tetra-hidro-xi-5-5'-diisopropil-2-2'-dimetil-bifenilo y cuatro derivados de este compuesto; los flavonoides cirsilineol, el 8-metoxi compuesto, cirsimaritin, 4'-5-dihidroxi-6-7-8-trimetoxi-flavonoy tres derivados más hidroximetoxilados de flavona luteolín, el compuesto hidroxilado y timonin; y los componentes fenílicos ácidos caféico y para-cumárico. En las ramas se han detectado los monoterpenos carvacrol y timol; los flavonoides cosmosin, glucósido de luteolín, timonín, y el derivado 8-demetilado; y los compuestos fenílicos ácidos caféico, clorogénico, litospermico y rosmarínico.<sup>(10,11)</sup>

**Figura 2.** Estructura química de anetol en el aceite esencial de *Tagetes filifolia*.



### **Estudios farmacológicos de *Tagetes filifolia***

Se recurre a las propiedades medicinales del anís principalmente cuando hay dolor de estómago. Así, en Veracruz, Guerrero y Michoacán sugieren tomar un té de esta planta cuando se presenta el dolor. Mientras en Oaxaca recomiendan beber un poco del alcohol donde se maceraron las hojas, y en Hidalgo y Chiapas, usar la infusión de la hoja o del tallo, tiernos. En Morelos, aconsejan ingerir caliente la cocción de la parte aérea, antes de cada alimento o administrado tres veces al día a los niños cuando tienen cólicos. Además, esta infusión se puede emplear sola o combinada con hojas de mesté (*Baccharis vaccinoides*), con una clase de mirasol (*Tithonia diversifolia*), cáscara de nance (*Byrsonimacrassifolia*) o con la raíz de guayaba (*Psidiumguineense*) para tratar otros trastornos digestivos como la diarrea. En Sonora sólo se recomienda la hoja para aliviar los malestares estomacales en general.

El cocimiento de las hojas o del tallo se usa para los nervios, la debilidad y la tos. Aunque también para la tos y gripa se hace una cocción de las ramas junto con hojas de ítamo real, fruto de guayaba picados (spp. n/r) y canela (*Cinnamomum zeylanicum*). Se recomienda primero poner la canela y cuando esté pintada el agua, agregar lo demás. Antes de dormir se toman dos tazas de té caliente y se cubre bien al enfermo para que sude.

La cocción de las hojas suele utilizarse para dar baños en general. Aunque también se aconseja ingerirla o en frotación, con la finalidad de bajar la calentura y quitar escalofríos. Se dice, que las hojas mezcladas con tabaco, sirven para los dolores corporales. Se aconseja su uso en cólico de niños (V. cólico del recién nacido), flatulencia y para eliminar la frialdad; en dolor de cabeza, espasmo, latido y para el aire.

### **2.2.7. Propiedades medicinales de la planta**

Como es edulcorante natural por su sabor dulcete perdurable

Para preparar anisado, licor dulce y digestivo luego de una comida cargada de grasa.

Carminativo, para eliminar gases estomacales.

Diurético, en caso de hipertensión arterial.

Galactóforo, en caso de déficit de producción láctea.

Antiespasmódica, evita los cólicos gastrointestinales y uterinos.

Antibacteriano, excelente para contrarrestar las infecciones del aparato respiratorio y del aparato digestivo.

El té se consume durante las comidas, también se utiliza para batir la harina con la cual se va a preparar el pan para proporcionarle sabor; macerado en aguardiente se consume como aperitivo. Como saborizante anisado de cañas de maíz para masticar, para la elaboración de mezcal y de licor, como esencia de anís para saborizar cualquier bebida.

Se recurre a las propiedades medicinales del anís principalmente cuando hay dolor de estómago. Sugieren tomar un té de esta planta cuando se presenta el dolor. También aconsejan ingerir caliente la cocción de la parte aérea, antes de cada alimento o administrado tres veces al día a los niños cuando tienen cólicos y en cólicos menstruales.

Además, esta infusión se puede emplear para tratar otros trastornos digestivos como la diarrea. El cocimiento de las hojas o del tallo se usa para los nervios, la debilidad y la tos. Aunque también para la tos y gripa se hace una cocción de las ramas, antes de dormir se toman dos tazas de té caliente y se cubre bien al enfermo para que sude.

La cocción de las hojas suele utilizarse para dar baños en general. Aunque también se aconseja ingerirla o en frotación, con la finalidad de bajar la calentura y quitar escalofríos. Para dolores corporales las hojas mezcladas con tabaco. El aceite esencial se utiliza para descongestionar las vías respiratorias.<sup>(12)</sup>

## **2.2.8. Aceites esenciales**

### **2.2.8.1. Definición**

Los aceites esenciales son las fracciones líquidas volátiles, generalmente destilables por arrastre con vapor de agua, que contienen las sustancias responsables del aroma de las plantas y que son importantes en la industria cosmética (perfumes y aromatizantes), de alimentos (condimentos y saborizantes) y farmacéutica (saborizantes).

Los aceites esenciales generalmente son mezclas complejas de hasta más de 100 componentes que pueden ser:

- ✓ Compuestos alifáticos de bajo peso molecular (alcanos, alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres y ácidos),
- ✓ Monoterpenos.

- ✓ Sesquiterpenos y
- ✓ Fenilpropanos.

En su gran mayoría son de olor agradable, aunque existen algunos de olor relativamente desagradable como por ejemplo los del ajo y la cebolla, los cuales contienen compuestos azufrados.<sup>(13)</sup>

#### **2.2.8.2. Clasificación de los aceites esenciales**

Los aceites esenciales se pueden clasificar en base a diferentes criterios: consistencia, origen y naturaleza química de los componentes mayoritarios.

De acuerdo con su consistencia los aceites esenciales se clasifican en:

- ✓ Esencias
- ✓ Bálsamos
- ✓ Resinas

Las esencias fluidas son líquidos volátiles a temperatura ambiente.

Los bálsamos son extractos naturales obtenidos de un arbusto o un árbol. Se caracterizan por tener un alto contenido de ácido benzoico y cinámico, así como sus correspondientes ésteres.

Son de consistencia más espesa, son poco volátiles y propensos a sufrir reacciones de polimerización, son ejemplos el bálsamo de copaiba, el bálsamo del Perú, Benjuí, bálsamo de Tolú, Estoraque, etc. Dentro del grupo de las resinas podemos encontrar a su vez una serie de posibles combinaciones o mezclas:

1. **Resinas**, son productos amorfos sólidos o semisólidos de naturaleza química compleja.

Pueden ser de origen fisiológico o fisiopatológico. Por ejemplo, la colofonia, obtenida por separación de la oleorresina trementina. Contiene ácido abiético y derivados.

2. **Oleorresinas**, son mezclas homogéneas de resinas y aceites esenciales. Por ejemplo, la trementina, obtenida por incisión en los troncos de diversas especies de Pinus. Contiene resina (colofonia) y aceite esencial (esencia de trementina) que se separa por destilación por arrastre de vapor.

También se utiliza el término oleorresina para nombrar los extractos vegetales obtenidos mediante el uso de solventes, los cuales deben estar virtualmente libres de dichos solventes. Se utilizan extensamente para la

sustitución de especias de uso alimenticio y farmacéutico por sus ventajas (estabilidad y uniformidad química y microbiológica, facilidad de incorporar al producto terminado). Éstos tienen el aroma de las plantas en forma concentrada y son líquidos muy viscosos o sustancias semisólidas (oleorresina de pimentón, pimienta negra, clavo, etc.).

3. **Gomorresinas**, son extractos naturales obtenidos de un árbol o planta. Están compuestos por mezclas de gomas y resinas.

b. **Origen.** De acuerdo a su origen los aceites esenciales se clasifican como:

- ✓ Naturales
- ✓ Artificiales
- ✓ Sintéticos

Los naturales se obtienen directamente de la planta y no sufren modificaciones físicas ni químicas posteriores, debido a su rendimiento tan bajo son muy costosas.

a) **Los artificiales** se obtienen a través de procesos de enriquecimiento de la misma esencia con uno o varios de sus componentes, por ejemplo, la mezcla



de esencias de rosa, geranio y jazmín, enriquecida con linalol, o la esencia de anís enriquecida con anetol. Uso Industrial de Plantas Aromáticas y Medicinales.

b) **Los aceites esenciales sintéticos** como su nombre lo indica son los producidos por la combinación de sus componentes los cuales son la mayoría de las veces producidos por procesos de síntesis química. Estos son más económicos y por lo tanto son mucho más utilizados como aromatizantes y saborizantes (esencias de vainilla, limón, fresa, etc.).

**c) Naturaleza química**

El contenido total en aceites esenciales de una planta es en general bajo (inferior al 1%) pero mediante extracción se obtiene en una forma muy concentrada que se emplea en los diversos usos industriales. La mayoría de ellos, son mezclas muy complejas de sustancias químicas. La proporción de estas sustancias varía de un aceite a otro, y también durante las estaciones, a lo largo del día, bajo las condiciones de cultivo y genéticamente.

El término quimiotipo alude a la variación en la composición del aceite esencial, incluso dentro de la

misma especie. Un quimiotipo es una entidad químicamente distinta, que se diferencia en los metabolitos secundarios. Existen pequeñas variaciones (ambientales, geográficas, genéticas, etc.) que producen poco o ningún efecto a nivel morfológico que sin embargo producen grandes cambios a nivel de fenotipo químico.

Un caso típico es el del tomillo, *Thymus vulgaris*, que tiene 6 quimiotipos distintos según cuál sea el componente mayoritario de su esencia (timol, carvacrol, linalol, geraniol, tujanol – 4 o terpineol. Cuando esto ocurre, se nombra la planta con el nombre de la especie seguido del componente más característico del quimiotipo, por ejemplo, *Thymus vulgaris linalol* *Thymus vulgaris timol*.

### **2.2.8.3. Características físicas de los aceites esenciales**

Los aceites esenciales son volátiles y son líquidos a temperatura ambiente.

Recién destilados son incoloros o ligeramente amarillos.

Su densidad es inferior a la del agua (la esencia de safrán o de clavo constituyen excepciones). Casi siempre dotados de poder rotatorio, tienen un índice de

refracción elevado. Son solubles en alcoholes y en disolventes orgánicos habituales, como éter o cloroformo, y alcohol de alta gradación.

Son liposolubles y muy poco solubles en agua, pero son arrastrables por el vapor de agua.

#### **2.2.8.4. Características químicas de los aceites esenciales (terpenoides)**

Los componentes de los aceites se clasifican en terpenoides y no terpenoides.

i. No terpenoides. En este grupo tenemos sustancias alifáticas de cadena corta, sustancias aromáticas, sustancias con azufre y sustancias nitrogenadas. No son tan importantes como los terpenoides en cuanto a sus usos y aplicaciones.

ii. Terpenoides. Son los más importantes en cuanto a propiedades y comercialmente. Los terpenos derivan, como hemos visto en el Tema, de unidades de isopreno (C<sub>5</sub>) unidas en cadena. Los terpenos son una clase de sustancia química que se halla en los aceites esenciales, resinas y otras sustancias aromáticas de muchas plantas, como los pinos y muchos cítricos. Principalmente encontramos en los aceites monoterpenos (C<sub>10</sub>), aunque también son comunes los sesquiterpenos (C<sub>15</sub>) y los

diterpenos (C<sub>20</sub>). Pueden ser alifáticos, cíclicos o aromáticos.

Los aceites esenciales según los grupos funcionales que tengan pueden ser:

- Alcoholes (mentol, bisabolol) y fenoles (timol, carvacrol)
- Aldehídos (geranial, citral) y cetonas (alcanfor, thuyona)
- Ésteres (acetato de bornilo, acetato de linalilo, salicilato de metilo, compuesto
- antiinflamatorio parecido a la aspirina).
- Éteres (1,8 – cineol) y peróxidos (ascaridol)
- Hidrocarburos (limoneno,  $\alpha$  y  $\beta$  pineno)

#### **2.2.8.5.Extracción y aislamiento**

Los aceites esenciales se pueden extraer de las muestras vegetales mediante varios métodos como son: expresión, destilación con vapor de agua, extracción con solventes volátiles con fluidos supercríticos. En la expresión el material vegetal es exprimido para liberar el aceite y este es recolectado y filtrado. Este método es utilizado para el caso de las esencia de cítricos.

En la destilación por arrastre con vapor de agua, la muestra vegetal generalmente fresca y cortada en trozos

pequeños, es encerrada en una cámara inerte y sometida a una corriente de vapor de agua sobrecalentado, la esencia así arrastrada es posteriormente condensada, recolectada y separada de la fracción acuosa. Esta técnica es muy utilizada especialmente para esencias fluidas,

Especialmente son utilizadas para perfumería, a nivel industrial debido a su alto rendimiento, la pureza del aceite obtenido y porque no requiere tecnología sofisticada. En el método de extracción con solventes volátiles, la muestra seca y molida se pone en contacto con solventes tales como alcohol, cloroformo, etc. Estos solventes solubilizan la esencia, solubilizan y extraen otras sustancias tales como grasas y ceras, obteniéndose al final una esencia impura. A escala de laboratorio pues a nivel industrial resulta costoso por el valor comercial de los solventes, porque se obtienen esencias no purificadas con otras sustancias. <sup>(13)</sup>

### **2.2.9. Actividad antibacteriana**

Generalmente los aceites esenciales poseen evidentes propiedades antimicrobianas, sin embargo, su mecanismo de acción aún no está definido, esto debido a su complejidad, aunque se reconoce que la acción antimicrobiana de los aceites

esenciales depende de su carácter hidrofílico o lipofílico. Los terpenoides sirven como un ejemplo de agentes liposolubles que afectan la actividad de las enzimas catalizadoras de membrana, por ejemplo su acción en la respiración microbiana. Teniendo en cuenta la gran variedad de compuestos químicos presentes en los aceites esenciales, es muy probable que su actividad antimicrobiana no sea atribuible a un mecanismo específico, sino a la acción combinada de varios de ellos en distintas zonas de la célula. Ciertos componentes de los aceites esenciales pueden actuar como “desacopladores”, que interfieren con la translocación del protón sobre la membrana de una vesícula y subsecuentemente interrumpen la fosforilación del ADP (metabolismo de energía primaria). Terpenoides específicos con grupos funcionales, como alcoholes fenólicos o aldehídos, también interfieren en las proteínas enzimáticas integradas a la membrana o asociadas, deteniendo su producción o actividad.

(14,15)

## **CAPÍTULO III: METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN**

### **3.1. Tipo de investigación**

Es de tipo experimental.

#### **✓ Experimental**

Se realizó en el laboratorio de microbiología Cemprofarma de la Universidad Mayor de San Marcos de la facultad de Farmacia y Bioquímica. El aceite esencial del anisillo fue extraído mediante la técnica por arrastre de vapor, se procedió con la identificación de sus metabolitos secundarios mediante la marcha fitoquímica. Por último, se determinó la actividad antibacteriana mediante el método Kirby – Bauer.

### **3.2. Método**

Los métodos para la investigación que se utilizaron fueron de extracción de metabolitos, marcha fitoquímica y el método Kirby –Bauer difusión en agar.

#### **3.2.1. Identificación Taxonómica**

Determinada según el sistema de Cronquist (1988). Dicha se realizó en el Museo de Historia Natural de la UNMSM Ver Anexo N° 1

### **3.2.2.Recolección de materia vegetal:**

Las hojas de *Tagetes filifolia* se recolectaron en el mes de noviembre del 2014, cultivo del distrito de Tambillo, Huamanga-Ayacucho a 3000 msnm.

### **3.2.3.Procesamiento de la muestra**

Las hojas se dejaron secar bajo la sombra a condiciones climáticas, por siete días, hasta obtener una muestra seca que fácilmente se trituró al frotar con la mano, luego fueron guardadas en frasco de boca ancha de color ámbar, hasta su utilización.

### **3.2.4.Obtención del aceite esencial de anisillo**

10 Kilogramos de hojas secas de la muestra fueron sometidos a destilación por arrastre con vapor de agua, separación por pera de bromo, luego fueron guardados en frasco de vidrio de color ámbar bajo refrigeración a una temperatura de 4 °C.

### **3.2.5.Determinación de la actividad antibacteriana**

#### **Difusión de placa**

#### **Método de placa Bauer-Kirby**

#### **Fundamento:**

Llamado también método de difusión en agar. El crecimiento exponencial de bacterias (*Escherichia coli*) en el medio de cultivo adecuado (Agar Muller Hilton) es inhibido por las



moléculas bioactivas del aceite esencial que difunden del disco de papel de filtro hacia el agar. Este procedimiento se basa en el descrito por Bauer-Kirby y es usado para evaluar la actividad antibacteriana vegetal.

En el método de Kirby Bauer, el microorganismo es inoculado en la superficie de una placa de agar, sobre el cual se colocan discos impregnados con una concentración conocida del antibiótico. Las placas se incuban por 16-18 horas a 35- 37°C. Durante la incubación, el antibiótico difunde radialmente desde el disco a través del agar, por lo que su concentración va disminuyendo a medida que se aleja del disco. En un punto determinado, la concentración del antibiótico en el medio es incapaz de inhibir al germen en estudio.

### **3.3. Ensayos preliminares**

#### **3.3.1. Prueba de solubilidad**

Se utilizó tubos de ensayo, se colocaron 1um del aceite esencial de *Tagetes filifolia* “anisillo” y se agregó a cada uno 1ml de solvente agua destilada, Metanol, etanol 70%, acetona, acetato de etilo, éter etílico, cloroformo, benceno, hexano. Se agitó y se observó los resultados. Cuadro N°6

### 3.3.2. Marcha Fitoquímica

Se usaron tubos de ensayo para la detección preliminar de los diferentes constituyentes químicos, basado en la aplicación de pruebas de coloración y precipitación. El aceite esencial se solubilizó en etanol y se agregó a cada uno 1ml de los siguientes reactivos: Benedict, Ninhidrina, Cloruro férrico, Shinoda, Borntrager, gelatina-sal, acetato de cobre y Mayer, espumas, hidroxamato férrico para detectar flavonoides, compuestos fenólicos, taninos, alcaloides, aminoácidos, glicósidos. Cuadro N°7

### 3.4. Procedimiento

#### 3.4.1. Aplicación del aceite esencial sobre las placas

**Preparación de las muestras:** Se prepararon las muestras en concentraciones de 75%, 50% y 25% con el aceite esencial de Tagetes filifolia, más el Dimetil Sulfoxido como solvente, tal como se muestra en la siguiente.

**Cuadro N° 2 Preparación de muestras**

	Muestras		
	75%	50%	25%
<b>Aceite esencial</b>	75uL	50uL	25uL
<b>Dimetil sulfoxido</b>	25uL	50uL	75uL
<b>Total</b>	100 uL	100 uL	100 uL

**Fuente: Datos obtenidos de la investigación**

**Preparación de las placas:** Para ello se reconstituyó el Agar Mueller Hinton y con agua destilada, luego se llevó a autoclavado, se enfrió entre 45° - 50°C; y se procedió a incorporar 0.2 mL del inóculo de bacteria por cada 20 mL de Agar Mueller Hinton, se agitó para homogenizar y posteriormente se procedió a repartir en cada placa Petri 20 mL de Agar Mueller Hinton conteniendo un tipo de cepa bacteriana, para 5 placas bajo la siguiente distribución

**Cuadro N°3. Distribución de placas Petri para la determinación de la actividad**

PLACA			CONTROL NEGATIVO	CONTROL POSITIVO
Placa 1	Placa 2	Placa 3	Placa 4	Placa 5
75%	50%	25%	DimetilSulfóxido	Antibióticos

**Fuente: Datos obtenidos de la investigación**

Se dejó enfriar las placas para proceder a rotularlas para su posterior evaluación; y con ayuda de un sacabocado estéril de 10mm se hizo los pozos en el centro de la placa. Incorporación de la muestra e Incubación del Inóculo.

Se colocó 0.1 ml de muestra de concentraciones de 75%, 50% y 25% en tres placas respectivamente, en el control negativo se

colocó 0.1 ml de alcohol absoluto; y en el de control positivo, para las bacterias se utilizaron discos de Ciprofloxacino (1 µg/disco), Cloranfenicol (30 µg/mL), Ciprofloxacino( 5µg/disco diluidas en Dimetil sulfóxido (DMSO).

Se dejó en reposo por una hora, esto con la intención de permitir una mejor difusión de la muestra en el agar; después se llevó a incubación por 24 horas a 35°C para las bacterias las pruebas se realizaron por duplicado

### **3.4.2. Lectura de los resultados**

Luego de la incubación, se observó la presencia de halos de inhibición de crecimiento, y se procedió a tomar la medida del diámetro de estos en milímetros. Las placas que presentaron actividad antibacteriana significativa (definida como una zona clara perfecta con un diámetro mayor a 18 mm) posteriormente se sometieron a una nueva evaluación para determinar su Concentración Mínima Inhibitoria

## **3.5. Población y muestreo de la investigación**

### **3.5.1. Población**

Plantas de *Tagetes filifolia* “anisillo” que crecen en la provincia de Huamanga– Ayacucho (3000 msnm).

### **3.5.2.Muestra**

10 Kilogramos de las hojas de *Tagetes filifolia* de los cuales se obtuvieron 1 mililitro por cada kilo de hoja de *Tagetes filifolia*.

## **3.6. Variables e indicadores**

### **3.6.1.Variable Independiente (X)**

Aceite esencial de *Tagetes filifolia*.

### **3.6.2.Variable Dependiente (Y)**

Actividad antibacterial del aceite esencial de *Tagetes filifolia*.

### **3.6.3.Indicadores de la variable independiente (X)**

% V/V Concentración del aceite esencial de *Tagetes filifolia*

*Concentración de la muestra 25, 50 y 75.*

### **3.6.4.Indicadores de la variable Dependiente (Y)**

Halo de inhibición de la placa.

## CAPÍTULO IV: PRESENTACIÓN, ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

### 4.1. Resultados

Se datos obtenidos se detallan en el cuadro N° 4

#### 4.1.1. Características Organolépticas del aceite esencial de *Tagetes filifolia*

**Cuadro N°4 *Características Organolépticas del aceite esencial de Tagetes filifolia.***

Características Organolépticas para el aceite esencial <i>Tagetes filifolia</i>	
Olor	Penetrante
Color	Trasparente
sabor	Picante astringente
Aspecto general	Líquido transparente y fluido

**Fuente: Datos obtenidos de la investigación**

#### 4.1.2. Ensayos de Solubilidad del aceite esencial de *Tagetes filifolia*

En el cuadro N° 5. Se observa que el extracto alcohólico de las hojas de *Tagetes filifolia* Lag “anisillo” es muy soluble en Metanol, éter de etilo, cloroformo, benceno, hexano , soluble en etanol, acetona, acetato de etilo, cloroformo, y no es soluble en agua destilada, a continuación se detalla en el siguiente cuadro.

**Cuadro N° 5: Prueba de solubilidad *Tagetes filifolia* “anisillo”**

SOLVENTE	SOLUBILIDAD
Agua	-
Metanol	+++
Etanol 70%	++
Acetona	++
Acetato de Etilo	++
Éter Etilico	+++
Cloroformo	+++
Benceno	+++
Hexano	+++

Leyenda +: Poco soluble, ++: soluble, +++: muy soluble.

Fuente: Datos obtenidos de la investigación

#### 4.1.3. Resultados de marcha Fitoquímica del aceite esencial de *Tagetes filifolia*

Se evidencia que el aceite esencial de *Tagetes filifolia* “anisillo”, presenta en mayor concentración de Glicósidos, aminoácidos, compuestos fenólicos, flavonoides, quinonas, taninos, en moderada cantidad, resinas, alcaloides, saponinas y lactonas. Lo que se detalla en el siguiente.

**Cuadro Nº 6: Marcha fitoquímica. *Tagetes filifolia* “anisillo” .**

METABOLITOS SECUNDARIOS	REACTIVOS	PRESENCIA
Glicósidos	Benedict	+++
Aminoácido	Ninhidrina	+++
Compuestos Fenólicos	Cloruro Férrico	+++
Flavonoides	Shinoda	+++
Quinonas	Borntrager	+++
Taninos	Gelatina-Sal	+++
Resinas	Acetato de Cobre	++
Alcaloides	Dragendorff y Mayer	++
Saponinas	Espuma	++
Lactonas	Hidroxamato Férrico	++

Leyenda - ausencia,+: escasa cantidad,++: moderada cantidad,+++ : abundante cantidad.

Fuente: Datos obtenidos de la investigación.



#### 4.1.4. Resultados Actividad antibacteriana

En los resultados obtenidos de la investigación se observó que el aceite esencial de *Tagetes filifolia*, posee una actividad antibacteriana. La dilución del aceite esencial a la concentración de 75 % desarrolló un halo de inhibición sobre la cepa bacteriana *Escheriachia Coli*, dando como resultado un diámetro en promedio de 24,02 mm comparado con el de la dilución al 50 %, la cual solo tuvo un diámetro en promedio de 16.83 mm. La concentración del extracto al 25% no tuvo halo de inhibición sobre la cepa bacteriana.

Se tomó como control positivo el antibiótico cloranfenicol y ciprofloxacino, los cuales desarrollaron un halo de inhibición de 18,1 mm y 22,1mm respectivamente. Al comparar el aceite esencial versus los antibióticos controles se observó que el extracto al 75% posee mayor actividad antibacteriana que el cloranfenicol y el ciprofloxacino.

Los resultados encontrados se detallan en las figuras N° 3, 4, 5, 6, 7.

### Cuadro N° 7 Halos de inhibición

Tagetes filifolia(Anisillo)					
Densidad: 0,97g/mL					
Cepa: Escherichia coli ATCC					
Concentración del inoculo: $1 \times 10^8$ UFC/ML					
Aceite esencial	Método	Halo de Inhibición(mm)		Promedio(>18 mm)	Resultados
25%	Difusión en placa	-	-	-	Sin halo de inhibición
50%	Difusión en placa	16,53	17,12	16,83	No presenta inhibición
75%	Difusión en placa	23,51	24,52	24,02	Presenta inhibición
Diluciones					
Aceite esencial 25%		Aceite esencial 50%		Aceite esencial 75%	
Aceite esencial	25uL	Aceite esencial	50 uL	Aceite esencial	75uL
Dimetilsulfóxido	75 uL	Dimetilsulfóxido	50uL	Dimetilsulfóxido	25uL
El aceite esencial usado al 75 % presentó solo inhiación con un halo mayora 18mm					

Fuente: Datos obtenidos de la investigación

## DISCUSIÓN

En su gran mayoría los aceites esenciales son antibacterianos y potentes antisépticos. Asimismo el aceite esencial de *Tagetes filifolia* es un excelente antiséptico, por el contenido de tagetona y otros componentes de tipo alcohol, según los estudios reportados. Los componentes del aceite esencial del *Tagetes filifolia* son de mediana y baja polaridad, excepto el anetol que en su estructura contiene estructura cetónica, tal como se puede observar en tabla de marcha de solubilidad.

En la tabla de marcha fitoquímica, se puede observar que los compuestos que prevalecen del aceite esencial, son los compuestos cetónicos y los compuestos aromáticos del aceite esencial, este resultado nos orienta de los potenciales efectos antimicrobianos, aplicados frente al *Escherichia coli*, bacteria altamente patógena a nivel dérmico y digestivo.

Los aceites esenciales se obtuvieron por arrastre de vapor. La cual presentó características organolépticas como Tagetes filifolia es transparente, picante astringente, fluido.

La actividad antibacteriana para *Escherichia coli* del aceite esencial de *Tagetes elliptica* fue significativa con un halo de inhibición de 75 + 24.04mm al 100%; mientras que en otros estudios como el de Alzamora y col. La actividad frente a

*E. Coli* fue inferior, por ejemplo con *Tagetes pusilla* (6,0), *Psiadialithos permifolia* (20,8 + 0,2), *Rosmarinum officinalis* (12,5 + 1), *Ocimum sanctum* (10,3 + 0,5).

Existen evidencias que los compuestos fenólicos, aromáticos constituyen un importante grupo de grupos antibacterianos, comprendiendo a los flavonoides y otros, pueden aparecer desde simples moléculas fenólicas hasta moléculas complejas.

## CONCLUSIONES

1. El aceite esencial de las hojas de *Tagetes filifolia* “anisillo” mediante el método Bauer kirby, presentó actividad antibacteriana sobre cepas de *Escherichia Coli*.
2. El estudio fitoquímico cualitativo del aceite esencial de *Tagetes filifolia*. “anisillo” indicó la presencia de abundante cantidad de glicósidos aminoácidos, flavonoides, compuestos fenólicos, seguido de resinas, alcaloides y taninos.
3. Se logró identificar la actividad antibacteriana del aceite esencial de las hojas de *Tagetes filifolia*. A una concentración de: 75% con un halo de inhibición (mm) 24,02 mm en promedio.
4. Las concentraciones de 50% y 25% no tuvieron actividad antibacteriana significativa.

## RECOMENDACIONES

1. Tener cuidado en el proceso de recolección de la muestra, la cual, se debe realizar en otoño o primavera, para evitar que disminuya la concentración de principios activos.
2. Sería conveniente que la desecación de las plantas (hojas de *Tagetes filifolia*) esté bajo condiciones controladas para evitar la alteración de los metabolitos secundarios. El proceso debe ser rápido, con temperaturas moderadas.
3. Durante el proceso de maceración se debe respetar el tiempo adecuado que es de siete días, debido a que se puede obtener una incompleta extracción de los componentes químicos.
4. Se sugiere continuar el presente trabajo de investigación del aceite esencial de *Tagetes filifolia* frente a otras bacterias con otros antibióticos.
5. Continuar el trabajo de investigación del aceite esencial de *Tagetes filifolia* para comparar frente a otros aceites esenciales del mismo género.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Santoro GF, Cardoso MG, Guimaraes LG, Salgado AP, Menna-Barreto RF, Soares MJ. Effect of oregano (*Origanum vulgare* L.) and thyme (*Thymus vulgaris*.) essential oils on *Trypanosomacruzi* (Protozoa. Kinetoplastida) growth and ultraestructure. *Parasitology research* 2007; 100(4):783-790.
2. Senatore F, Napolitano F. Antibacterial activity of *Tagetes minuta* L. (Asteraceae) essential oil with different chemical composition. *FlavourFragr. J.*2004; 19: 574–578
3. Balden Ordoñez.; Ximena del Rocio. “Actividad insecticida de los aceites esenciales de *Tagetes minuta*”. Tesis para optar al título profesional Bioquímico Farmacéutico. Riobamba; 2011.
4. Vázquez M.; Aimar, Mario L.; Demmel, Gabriela I.; Cabalen, M.Criado E, Silvia G.; Cantero, Juan J.; Velasco, Manuel I.; Rossi, Laura I Determination of volatile organic compounds of *Tagetes filifolia* Lag. (Asteraceae) from Córdoba (Argentina) using HS-SPME analysis URL disponible [www.redalyc.org/pdf/856/85625780003.pdf](http://www.redalyc.org/pdf/856/85625780003.pdf).
5. Segovia B, Suárez de la cruz L. Composición química del aceite esencial de *Tagetes elliptica* Smith y actividad antioxidante, antibacteriana y anti fúngica. Tesis para optar al título profesional de Químico farmacéutico Lima; 2010.

6. Alzamora L. Morales L. Armas L. Fernández G. Medicina Tradicional en el Perú. Actividad antimicrobiana in vitro de los aceites esenciales extraídos de algunas plantas aromáticas. Universidad Mayor de San Marcos .Lima 2001.Disponible en URL: [www.redalyc.org/pdf/379/37962208.pdf](http://www.redalyc.org/pdf/379/37962208.pdf).
7. Millones C.Mori. Bacalla Vásquez E. Tafur R. Obtención de un filtrante de anís de monte (TagetesfilifoliaLag). Edulcorado con hojas de estevia (Steviarebaudiana Bertoni). Disponible en URL: [Revistas.unitru.edu.pe/index.php/scientiaagrop/article/view/527](http://Revistas.unitru.edu.pe/index.php/scientiaagrop/article/view/527).
8. Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana. Disponible:<http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/monografia.php?l=3&t=Tagetes%20lucida&id=8002>
9. Zekaria D. Los aceites esenciales, una alternativa a los antimicrobianos (Monografía en internet) Laboratorios Calier( citado el 30 de Julio)Disponible en URL:[www.wpsaaeca.com/img/informacion/wpsa1182855355a.pdf](http://www.wpsaaeca.com/img/informacion/wpsa1182855355a.pdf)
10. Thorne R, Reveal J. An updated classification of the class Magnoliopsida (Angiospermae) 1era edicion .The New York Botanical Garden (Nueva York).Enero NYBG Press, 2007.



11. Tereschuk ML. Actividad biológica de flavonoides de Especies de Tagetes más representativas del noreste argentino (Tesis doctoral). Tucumán: Universidad Nacional de Tucumán .2005.
12. Romagnoli C, Bruni, Andreotti E. Chemical characterization and antifungal activity of essential oil of capitula from Wild Indian Tagetes Patula L. *Protoplasma* (2005) 225: 57–65).
13. Universidad de Antioquía Medellín 2009 (Actualizado el 14 de febrero de Química Farmacéutica (Aproximadamente 2 pantallas) Disponible en URL: <http://farmacia.udea.edu.co/~ff/esencias2001b.pdf>

## GLOSARIO

- **Antibacteriano:** fármaco capaz de inhibir el crecimiento y desarrollo de bacterias o su eliminación sin dañar el organismo infectado, como los antibióticos.
- **Carminativo:** Es un medicamento o sustancia que favorece la disminución de la generación de gases en el tubo digestivo y con ello disminuyen las flatulencias y cólicos.
- **Compuestos orgánicos:** Es una sustancia química que contiene carbono, formando enlaces carbono-carbono y carbono-hidrógeno
- **Cepa:** En microbiología, una variante fenotípica de una especie o, incluso, de un taxón inferior, debido al interés en la conservación de sus cualidades definitorias. De una manera más básica puede definirse como un conjunto de especies bacterianas que comparten, al menos, una característica.
- **Escherichia coli:** bacteria con diversas variantes. Normalmente vive en el intestino del hombre y de los animales
- **Resinas :** Es una secreción orgánica que producen muchas plantas, particularmente los árboles del tipo conífera

## ANEXOS



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS  
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA  
MUSEO DE HISTORIA NATURAL



"Año de la Promoción de la Industria Responsable y del Compromiso Climático"

### CONSTANCIA N° 372-USM-2014

LA JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (tallo, hojas y flor) recibida de **Lisset JARA VILLARREAL**, ha sido estudiada y clasificada como: ***Tagetes filifolia* Lagasca** y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).

**DIVISION: MAGNOLIOPHYTA**

**CLASE: MAGNOLIOPSIDA**

**SUBCLASE: ASTERIDAE**

**ORDEN: ASTERALES**

**FAMILIA: ASTERACEAE**

**GENERO: *Tagetes***

**ESPECIE: *Tagetes filifolia* Lagasca**

Nombre vulgar: "anisillo"  
Determinado por Mag. Maria Isabel La Torre.

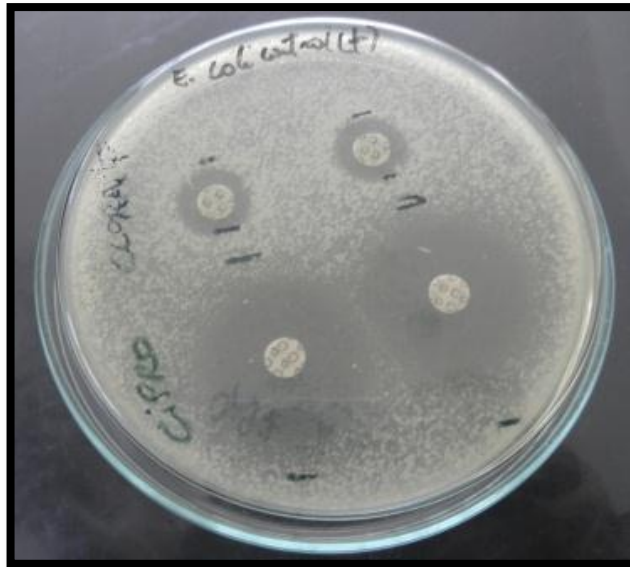
Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para fines de estudios.

Fecha, 01 de diciembre de 2014



*Haydee Montoya Terreros*  
**Dra. Haydee Montoya Terreros**  
JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

**Figura N° 3 Control positivo antibiograma**



**Fuente: Datos obtenidos del trabajo de investigación**

**Figura N° 4 Control Negativo**



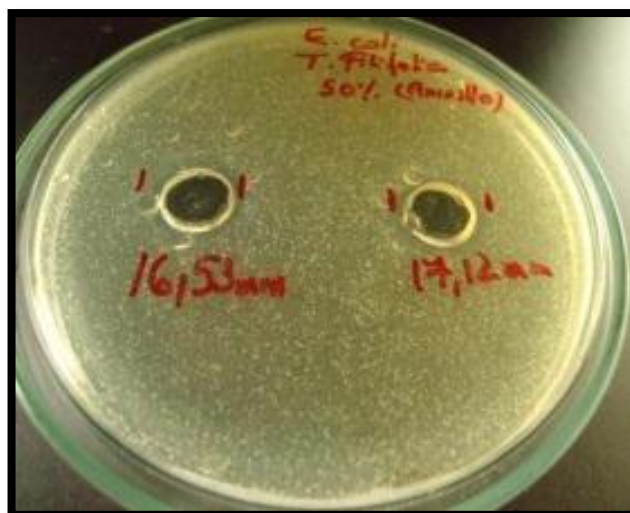
**Fuente: Fuente: Datos obtenidos del trabajo de investigación**

Figura N° 5 Concentración 75%



Fuente: Fuente: Datos obtenidos del trabajo de investigación

Figura N° 6 Concentración 50%



Fuente: Datos obtenidos del trabajo de investigación

**Figura N° 7 Concentración 25%**



**Fuente: Fuente: Datos obtenidos del trabajo de investigación**

## MATRIZ DE CONSISTENCIA

**Título del Proyecto de Tesis:** Actividad antibacteriana del aceite esencial de las hojas *Tagetes filifolia* “anisillo” sobre cepas de *Escherichia coli*.

**Presentado por:** Lisset Jara Villarreal

PROBLEMA GENERAL	OBJETIVO GENERAL	HIPÓTESIS GENERAL	TIPO Y NIVEL DE INVESTIGACION	METODO Y DISEÑO DE INVESTIGACION	VARIABLES	POBLACION Y MUESTRA
<p>¿Cuál es el efecto antibacteriano del aceite esencial de las hojas de <i>Tagetes filifolia</i> frente a <i>Escherichia coli</i></p> <p><b>Problemas Específicos</b></p> <p><b>P.E.1:</b> ¿Cuál es la concentración óptima del aceite esencial de <i>Tagetes filifolia</i> que producirá el efecto antibacteriano?</p> <p><b>P.E.2:</b> ¿Cuál es la sensibilidad bacteriana del aceite esencial de las hojas de <i>Tagetes filifolia</i> frente a <i>Escherichia coli</i> ?</p>	<p>Determinar la actividad antibacteriana del aceite esencial de las hojas de <i>Tagetes filifolia</i> frente a <i>Escherichia coli</i></p> <p><b>Objetivos Específicos</b></p> <p><b>O.E.1:</b> Identificar la concentración óptima del aceite esencial de <i>Tagetes filifolia</i> frente a la <i>Escherichia coli</i>.</p> <p><b>O.E.2:</b> Analizarla sensibilidad bacteriana del aceite esencial de <i>Tagetes filifolia</i> frente a la <i>Escherichia coli</i>.</p>	<p>El aceite esencial de las hojas de <i>Tagetes filifolia</i> posee la actividad antibacteriana frente a la <i>Escherichia coli</i>.</p> <p><b>Hipótesis Especificas</b></p> <p><b>H.E.1:</b> la concentración óptima del aceite esencial de las hojas de <i>Tagetes filifolia</i> tendría efecto antibacteriano.</p> <p><b>H.E.2:</b> Las hojas de <i>Tagetes filifolia</i>, debido a su aceite esencial podría ser una alternativa natural para contrarrestar la <i>Escherichia coli</i>.</p>	<p><b>Tipo de Investigación:</b></p> <p>Descriptivo</p> <p>Experimental</p> <p>prospectivo</p> <p><b>Nivel de Investigación:</b></p> <p>Aporte a la comunidad</p>	<p><b>Método de Investigación:</b></p> <p>Experimental</p> <p>Transversal : Corto tiempo</p> <p>Inductivo</p> <p><b>Diseño de Investigación:</b></p> <p>Basados en una investigación Experimental, transversal y Inductivo</p>	<p><b>Variable Independiente (X)</b></p> <p>X: Aceite esencial de <i>Tagetes filifolia</i></p> <p><b>Indicador:</b></p> <p>Halo inhibición</p> <p><b>Variable Dependiente (Y)</b></p> <p>Y::Actividad antibacteriana del aceite esencial de <i>Tagetes filifolia</i></p> <p><b>Indicador:</b></p> <p><b>Y1:</b> Método disco placa</p>	<p><b>Población:</b></p> <p>Plantas de <i>Tagetes filifolia</i> que crecen en la provincia de Huamanga– Ayacucho (3000 msnm).</p> <p><b>Muestra:</b></p> <p>Hojas de <i>Tagetes filifolia</i>.</p>