



**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA**

TESIS

**EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE LAS HOJAS
DE *Tagetes minuta* L. (HUACATAY) FRENTE A *Streptococcus mutans***

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

AUTORES:

Bach. CAMPOS QUIROZ, Annie Grace

Bach. SOLIS ACOSTA, Sahedith Sonia

ASESOR:

MG. Q.F. HUAMAN GUTIERREZ, Juan Orlando

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

Recursos Naturales

Huancayo – Perú

2022

DEDICATORIA

*Se la dedicamos en principio a **Dios** por ser el autor de la vida, dándole un propósito a la misma; por su palabra que nos ilumina, encamina y reafirma con sabiduría para el cumplimiento de su perfecta voluntad, por aquella fidelidad y misericordia que nos permite alcanzar una meta tan anhelada con la realización de este trabajo, en el desarrollo hubo desafíos, pero su soberanía hizo frente a todo ello; en él todo es posible, de tal manera que cada logro es más suyo que nuestro.*

*A mis padres, **Rosa Almira Acosta Verde y Pedro Solis Chávez**, Quienes, con su amor, apoyo incondicional, ejemplo y sacrificio me guiaron por las sendas correctas para llegar al objetivo de mi carrera profesional; demostrándome que no hay mayor logro que aquellas que se alcanzan de la mano de Dios.*

*A mis amados abuelos, **Claudia Verde Camavilca y Alejandro Emiliano Acosta Aguirre**, gracias por sus consejos porque en ellos siempre encuentro a Dios, por sostenerme en gran manera con su fe inquebrantable durante mi formación profesional y personal.*

*A **Sulma Solis Acosta** mi hermana, por enseñarme que cuando hay voluntad ninguna situación es percibida como obstáculo.*

*A mis tíos, **Blanca Flor Utne y Ole Wegard Utne**, por el inmenso apoyo, por su gran estima y por cada palabra de aliento para reforzar mi enfoque y concretar exitosamente este trabajo de investigación.*

*A mis padres, **Rosa Eloina Quiroz Olivos y Walter Campos Guevara**, quienes me han permitido llegar a cumplir hoy un sueño más, gracias por inculcar en mí el ejemplo de esfuerzo y perseverancia.*

*A **Jorge Campos Quiroz** mi hermano, por su ejemplo de superación y sacrificio constante, aquella que me motiva a seguir tras el cumplimiento de mis metas.*

Sahedith Sonia y Annie Grace

AGRADECIMIENTO

*En primer lugar, le agradecemos a la **Universidad Franklin Roosevelt**, por permitirnos ser parte de su prestigiosa y respetable institución, dándonos la oportunidad de lograr exitosamente el objetivo de nuestra carrera profesional.*

*Un agradecimiento especial para el **Mg. Q.F. Juan Orlando Huaman Gutierrez**, nuestro asesor y a quien le agradecemos por todo su tiempo, esfuerzo y dedicación durante la ejecución de nuestro trabajo, así también por sus propuestas, sugerencias, recomendaciones, observaciones y correcciones lo cual nos permitió concretar el presente estudio.*

*A nuestro estimado co-asesor el **Esp. Mg. Q.F. Segundo Martín Silva Romero**, por compartirnos de su vasto conocimiento y orientarnos en el desarrollo de las diferentes etapas de esta tesis, estamos infinitamente agradecidas no solo por su constante apoyo y profesionalismo sino también por brindarnos su amistad y enseñarnos con su ejemplo a ser profesionales que potencian sus capacidades.*

Sahedith Sonia y Annie Grace

PÁGINA DEL JURADO

PRESIDENTE:

DR. VICENTE MANUEL AYALA PICOAGA

MIEMBRO SECRETARIA:

MG. Q.F. CARLOS ALFREDO CANO PEREZ

MIEMBRO VOCAL:

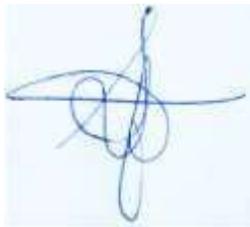
MG. Q.F. JUAN ORLANDO HUAMAN GUTIERREZ

MIEMBRO SUPLENTE:

MG. CARLOS MAX ROJAS AIRE

DECLARACION JURADA SIMPLE

Yo, **Sahedith Sonia Solis Acosta**, de Nacionalidad Peruana, identificado con, DNI N° 70246913, Tesista de la Universidad Privada de Huancayo Franklin Roosevelt, Bachiller en Farmacia y Bioquímica, domiciliada calle Brasil 339 CPM Barsallo, José Leonardo Ortíz, Chiclayo, Lambayeque. DECLARO BAJO JURAMENTO: QUE TODA LA INFORMACIÓN PRESENTADA ES AUTÉNTICA Y VERAZ. Me afirmo y me ratifico en lo expresado en señal de lo cual firmo el presente documento a los 18 días del mes de mayo del 2022.



Sahedith Sonia Solis Acosta

DECLARACION JURADA SIMPLE

Yo, **Annie Grace Campos Quiroz** de Nacionalidad Peruana, identificado con, DNI N° 73692094, Tesista de la Universidad Privada de Huancayo Franklin Roosevelt, Bachiller en Farmacia y Bioquímica, domiciliada en Jirón Astrónomos MZ. D lote 14, San Juan de Lurigancho, Lima.

DECLARO BAJO JURAMENTO: QUE TODA LA INFORMACIÓN PRESENTADA ES AUTÉNTICA Y VERAZ. Me afirmo y me ratifico en lo expresado en señal de lo cual firmo el presente documento a los 18 días del mes de mayo del 2022.



Annie Grace Campos Quiroz

ÍNDICE

DEDICATORIA.....	ii
AGRADECIMIENTO.....	iii
ÍNDICE.....	vii
RESUMEN.....	xi
ABSTRACT.....	xii
I. INTRODUCCIÓN.....	13
II. MÉTODO.....	20
2.1. Tipo y diseño de investigación.....	20
2.3. Población, muestra y muestreo.....	21
2.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	21
2.5. Procedimiento.....	22
2.6. Método de Análisis de datos.....	24
2.7. Aspectos éticos.....	24
II. RESULTADOS.....	25
IV. DISCUSIÓN.....	32
V. CONCLUSIONES.....	34
VI. RECOMENDACIONES.....	35
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	36
ANEXO.....	39

INDICE DE TABLAS

Tabla N° 01. Efecto antibacteriano del aceite esencial de las hojas de <i>Tagetes minuta</i> L. (Huacatay) frente a <i>Streptococcus mutans</i>	25
Tabla N° 02. Determinación de la distribución normal	27
Tabla N° 03. Prueba de homogeneidad de varianzas (Levene)	27
Tabla 4. Evaluación del efecto antibacteriano entre los grupos mediante el análisis de la varianza (ANOVA).....	28
Tabla N° 05. Comparación de los grupos de trabajo – Prueba de Tukey	29
Tabla N° 06. Comparación de los grupos de trabajo – Prueba de Tukey por subgrupo homogéneo.....	30
Tabla N° 07. Sensibilidad antibacteriana según la escala de Duraffourd	30

INDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Matriz de consistencia.....	40
Anexo 2. Operacionalización de las variables	41
Anexo 3. Instrumento de recolección de datos	42
Anexo 4. Certificado de análisis de la cepa.....	60
Anexo 5. Certificación Botánica	63
Anexo 6. Composición química de los metabolitos del aceite de <i>Tagetes minuta</i> L. (Huacatay)	64
Anexo 7. Fotografías que evidencian el trabajo experimental	65

INDICE DE FIGURAS

Figura N° 01. Efecto antibacteriano del aceite esencial de las hojas de Tagetes minuta L. (Huacatay) frente a Streptococcus mutans	26
Figura 2. Recolección de la especie vegetal en estudio	65
Figura 3. Extracción y selección de las hojas de Tagetes minuta L. (Huacatay).....	65
Figura 4. Obtención del aceite esencial de Tagetes minuta L. (Huacatay) mediante destilación con arrastre de vapor.....	66
Figura 5. Activación de la cepa de Tagetes minuta L. (Huacatay)	68
Figura 6. Preparación del inóculo a 1.5×10^8 UFC (0.5 McFarland)	69
Figura 7. Preparación de los pozos en placas	69
Figura 8. Aplicación del aceite de Tagetes minuta L. (Huacatay) en cultivos en placa de Streptococcus mutans	70
Figura: 9. Medición de los halos de inhibición.....	71

RESUMEN

Objetivo: Demostrar el efecto antibacteriano del aceite esencial de las hojas de *Tagetes minuta* L. (Huacatay) frente a *Streptococcus mutans*

Método: La investigación se basó en un estudio Analítico, transversal, prospectivo y con diseño experimental, la población de estudio fue *Tagetes minuta* L. (Huacatay) recolectada en el distrito de Lajas - Chota – Cajamarca, de la cual se obtuvo una muestra de 10kg de hojas mediante un muestreo no probabilístico por conveniencia; el aceite esencial fue obtenido por medio de destilación por arrastre de vapor y preparado a las concentraciones del 50% y 100%, el efecto antibacteriano se determinó mediante el método de difusión en pozo.

Resultados: Se observa los valores promedio de 15 datos recolectados para cada grupo de trabajo, los valores obtenidos fueron de 17.07 mm DS: 0,39 IC: 16.85 – 17.29 y 12.52 mm DS: 0,32 IC: 12.34 – 12.70 para las concentraciones del aceite esencial de las hojas de *Tagetes minuta* L. (Huacatay) al 100% y 50%; el control negativo (DMS) no presenta efecto antibacteriano (6,06 mm) y el control positivo (clorhexidina 0.12%) presentó un halo de inhibición de 29.50mm.

Conclusiones: Se logró demostrar el efecto antibacteriano del aceite esencial de las hojas de *Tagetes minuta* L. (Huacatay) frente a *Streptococcus mutans*

Palabras clave: Efecto antibacteriano, aceite esencial, *Tagetes minuta* L., huacatay.

ABSTRACT

Objective: To demonstrate the antibacterial effect of the essential oil of the leaves of *Tagetes minuta* L. (Huacatay) against *Streptococcus mutans*.

Method: The research was based on an analytical, cross-sectional, prospective study with an experimental design, the study population was *Tagetes minuta* L. (Huacatay) collected in the district of Lajas - Chota - Cajamarca, from which a sample of 10kg of leaves through a non-probabilistic test for convenience; the essential oil was obtained by steam distillation and prepared at concentrations of 50% and 100%, the antibacterial effect is extended by the well diffusion method.

Results: The average values of 15 data collected for each work group are observed, the values obtained were 17.07 mm SD: 0.39 CI: 16.85 - 17.29 and 12.52 mm SD: 0.32 CI: 12.34 - 12.70 for the concentrations of the essential oil of the leaves of *Tagetes minuta* L. (Huacatay) at 100% and 50%; the negative control (DMS) did not present an antibacterial effect (6.06 mm) and the positive control (chlorhexidine 0.12%) presented an inhibition halo of 29.50 mm.

Conclusions: The antibacterial effect of the essential oil of the leaves of *Tagetes minuta* L. (Huacatay) against *Streptococcus mutans* was demonstrated.

Keywords: Antibacterial effect, essential oil, *Tagetes minuta* L., huacatay.

I. INTRODUCCIÓN

Las bacterias son microorganismos que siempre han existido inclusive antes de la existencia del hombre, en una convivencia simbiótica; sin embargo, estas bacterias han evolucionado y se han adaptado al ataque de los antibióticos producidos por el hombre produciendo resistencia a estos, así mismo, la industria farmacéutica no puede producir antibióticos efectivos para el tratamiento de las infecciones por estos microorganismos debido al acelerado crecimiento de la resistencia a los antibióticos¹.

En la ciudad de Bangkok la Organización Mundial de la Salud (OMS) en el año 2019 emitió un informe donde mostró los resultados de un estudio realizado en 22 países, se observó un total de 500 mil personas con sospecha de infecciones por bacterias, entre las bacterias con sospecha de resistencia bacteriana se obtuvieron a *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus mutans*, seguidas de *Salmonella spp*²

Por otro lado, en Korea se realizó un estudio para determinar el potencial de cariogénesis de *Streptococcus mutans*, encontrándose resultados negativos como la aparición de cepas de *S. mutans* resistentes al fluoruro. Señalaron también, que esta resistencia podría ser transitoria o permanente mediante adaptación fenotípica o modificación genotípica.³

Otra institución que ha asumido una gran preocupación por la resistencia bacteriana es la Organización Panamericana de la Salud (OPS) asumiendo una labor ardua han implementado el Programa Regional de Vigilancia y Contención de las Resistencias Antimicrobianas (SISVRA) el cual apoya a diferentes países de América mediante los laboratorios de monitoreo, conformados por 19 países y 729 laboratorios, actualmente *Streptococcus mutans* viene siendo monitorizada en varios países entre otras bacterias por el problema de resistencia que esta generando⁴.

Por su parte la Revista de Investigación Científica y Tecnológica Alpha Centauri del Perú, publicó en el año 2021 que no contamos con una vigilancia antimicrobiana y estudios suficientes para disminuir la resistencia bacteriana a pesar que somos un país con altos índices de enfermedades infecciosas.

Las bacterias se han convertido en una de las amenazas más graves para la salud pública en todo el mundo. El abuso y mal uso de los antibióticos ha fomentado la aparición y transferencia de mecanismos de resistencia entre las bacterias, comprometiendo el potencial terapéutico de los medicamentos antibacterianos.⁵

Ante esta circunstancia los tratamientos terapéuticos con medicamentos que antes eran eficaces están perdiendo su efecto, aumentando el tiempo de estadía de los pacientes en hospitales o clínicas, elevándose los índices de mortalidad y utilizando medicamentos de costo cada vez más elevado, repercutiendo en la economía de la población; por tal razón, mediante el presente estudio en referencia, se busca una solución de salud a través de plantas medicinales; es por ello, que se encontrará un tratamiento terapéutico con el aceite de *Tagetes minuta L.* (huacatay) frente a *Streptococcus mutans* que muestre eficacia en la pruebas de laboratorio y pueda ser postulado como una opción al manejo de la resistencia bacteriana.

Por otro lado, los antecedentes a nivel nacional que apoyan nuestra investigación se muestran en adelante.

Pure N. (2018), en su estudio cuyo objetivo fue: Determinar el efecto del aceite esencial de las hojas de *Tagetes minuta L.* (huacatay) expuesto a cepas ATCC de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. **Metodología:** Corresponde a un estudio cuantitativo, experimental, transversal y prospectivo, con respecto al método empleado para la obtención del aceite esencial fue por destilación con arrastre de vapor a partir de las hojas del huacatay. Para determinar la susceptibilidad de las cepas se aplicó la técnica de Kirby-Bauer, utilizando concentraciones de la esencia al 100 %, 75 %, 50 % y 25 %, las cuales fueron inoculadas en las placas Petri. **Resultados:** todas las concentraciones que se obtuvieron del aceite esencial presentaron efecto sobre *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* observándose halos de inhibición promedio que varían entre 13.00 mm a 18.4 mm. **Conclusiones:** las bacterias *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* son sensibles frente al efecto antibacteriano del aceite esencial extraído de las hojas de *Tagetes minuta L.*⁶.

Coelho D, et al. (2021) en su investigación determinaron las propiedades antimicrobianas y físicas de los selladores endodónticos experimentales que contienen aceite esencial de las hojas de *Tagetes minuta L.* **Metodología:** El estudio corresponde a un diseño experimental, tipo

transversal y prospectivo, con respecto al método para la obtención del aceite esencial se realizó mediante arrastre de vapor de agua. La concentración mínima inhibitoria (MIC) se determinó mediante el método de dilución total en medio nutritivo, se realizó mediante la técnica de difusión en agar. **Resultados:** Se determinó que la MIC del aceite esencial de las hojas de *Tagetes minuta* L expuesto a *Candida albicans* fue de 6.25 uL/mL; para *Enterococcus faecalis* fue de 6.25 uL/mL y para *Streptococcus mutans* fue de 12.5 uL/mL⁷

Velásquez D (2017), en su investigación con el objetivo de evaluar la actividad antimicrobiana, antioxidante y citotóxica de los extractos etanólico y acuoso de *Tagedes multiflora* Kunth, mediante la técnica de difusión en pozo frente a *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans* y *Aspergillus niger*, se encontraron los siguientes resultados, que el extracto etanólico de la planta presento halos de inhibición de 11.33 mm a 15.67 mm frente a todas las bacterias, el extracto acuoso solo presentó efecto para *Aspergillus niger* (13,67 mm)⁸

A nivel internacional, tenemos los estudios de **Swati W, et. al. (2020)** el cual tuvo por objetivo determinar la actividad química y antimicrobiana de *Tagedes minuta* cultivada en 16 ubicaciones altitudinales de tres estados de la India. **Metodología:** se basó en un estudio cuantitativo, transversal, prospectivo con diseño experimental, el aceite esencial se obtuvo por medio de extracción con equipo Clevenger, los componentes principales obtenidos fueron Z- β -ocimeno (56.34–39.32%), dihidrotestona (28.07–7.66%), *E-ocimenona* (25.06–0.00%) y *Z-tagetone* (14.46–5.29%). **Resultados:** La actividad antimicrobiana de los aceites esenciales (EO) se investigó contra dos bacterias Gram-positivas, *Micrococcus luteus*, y *Staphylococcus aureus*, y dos bacterias gramnegativas *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomonas aeruginosa* utilizando métodos de difusión en agar y microdilución. La mejor actividad se demostró contra *Staphylococcus aureus* con zona de inhibición superior a 9 mm. **Conclusión:** *Tagedes minuta* cultivada en diferentes zonas presenta similar actividad contra *Tagedes minuta*⁹.

Pillai M, Santi L, Mekbib S (2020), en su investigación tuvieron como objetivo determinar el efecto antimicrobiano de los extractos de la corteza del tallo de *Tagetes minuta*. **Metodología:** con un diseño experimental y de tipo transversal y prospectivo, donde la actividad antimicrobiana fue evaluada mediante la técnica de difusión en pozo, los que se compararon con 6 aislamientos bacterianos de *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*

(*silvestre*), *Escherichia coli* (O157: H7), *Pseudomonas aeruginosa* y *Serratia marcescens*, *Candida albicans* y *Penicillium digitatum*. **Resultados:** Se encontró que los halos de inhibición promedio estuvieron entre el rango de $10,0 \pm 1,6$ mm a $15,5 \pm 1,9$ mm en las todas las bacterias y en *Penicillium digitatum* tuvieron un halo promedio de 11.3 ± 2.1 a 13.4 ± 1.2 mm; sin embargo, no se observó halo de inhibición visible contra *Candida albicans*. **Conclusiones:** Se demostró que *Tagetes minuta* L. presenta actividad antibacteriana frente a todos los microorganismos en mencionadas excepto *Candida albicans*¹⁰.

Bandana K, Raina R, Kumari M, Rani J. (2018) probaron la actividad antibacteriana de *Tagetes minuta* L. en extractos etanólicos u aceite esencial mediante una revisión sistémica de varias publicaciones donde pudo comprobar que la planta en mención posee efectos farmacológicos, antibacteriano, antifúngico, propiedades insecticidas, propiedades nematocidas y actividad antiviral, esta actividad es brindada por sus metabolitos secundarios presenten tanto en el aceite esencial como en los extractos etanólicos¹¹.

Por otro lado, el fundamento teórico que sustentan nuestro estudio se muestran en las siguientes líneas: *Tagetes minuta* L. es la especie más cultivada de la familia Asteraceae, que crece en áreas húmedas y secas de la región tropical, subtropical y templada dentro de una altitud que varía de 1000 a 2500 msnm. Es una hierba anual fuertemente perfumada con tallo erecto y muy ramificado y tiene afinidad por los sitios perturbados y puede colonizar terrenos baldíos, bordes de caminos, jardines, huertos y viñedos.^{12,13}

Esta planta es rica en muchos compuestos secundarios, conteniendo, monocíclicos y bicíclicos monoterpenosacíclicos, sesquiterpenos, flavonoides, alcaloides, tiofenos y compuestos aromáticos. El aceite de las hojas de plantas que aún no han florecido contiene dihidrotagetona (monoterpeno cetona aciclica insaturada), a diferencia del aceite de las hojas de plantas que presentan floración estas contienen 3-ocimeno y tagetenona. La composición del aceite de *Tagetes minuta* L. variara según las partes de las plantas y el estadio de crecimiento. Así mismo, *Tagetes minuta* L. es una planta aromática con un amplio espectro de actividades biológicas entre las que se encuentran medicinales, antioxidantes y propiedades antibacterianas. *Tagetes minuta* L. no sólo exhibe propiedades medicinales, sino también tiene fuertes actividad nematocida, insecticida y antimicrobiana¹¹.

La importancia de *T. minuta* se debe a la presencia de aceite esencial en casi todas las partes de la planta, excluyendo el tallo, además, es rica en muchos metabolitos secundarios, incluyendo monoterpenos, sesquiterpenos, flavonoides y tiofenos. Los principales constituyentes son Z- β -ocimeno, limoneno, dihidrogenactona, tagetonas (E y Z) y ocimenonas (E y Z). La calidad del aceite se estima por su composición, los aceites con alto porcentaje de Z- β -ocimeno (40-55 %), sin embargo, para la actividad biocida, la tagetenona es esencial. El aceite presenta actividades biológicas como antibacterianas, antifúngicas, antivirales, antioxidantes, anticancerígenas, acaricidas, nematocidas, insecticidas y alelopáticas¹⁴

La actividad antibacteriana de *Tagetes minuta* L. ha sido probada en una variedad de patógenos humanos, vegetales y animales, demostrando el antibacteriano potencial de los extractos crudos de hojas, frutas y flores contra *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas auregnosa*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus viridian*, *Bacillus licheniformis*, *Bacilo subtilis* y *Pasteurella multocida*¹¹.

Las industrias de alimentos y aromas, perfumería, farmacéutica y agroquímica son las principales usuarias de su aceite esencial de *Tagetes minuta* L. (huacatay), destacando sus usos como pesticida, antiparasitario, colorante, para tratar resfriados, inflamaciones respiratorias, bronquitis, dolores gástricos, problemas estomacales, antiespasmódico y de sus hojas se extrae un aceite esencial utilizado en perfumería y aromaterapia^{12,15}.

Los aceites esenciales son metabolitos secundarios presentes en las plantas lipófilas, son muy volátiles, se caracterizan por ser muy aromáticos. Está constituido por múltiples compuestos químicos, se encuentra en pequeñas cantidades en las plantas y para su obtención se necesita grandes cantidades de material vegetal¹⁶.

Entre los métodos extracción de los aceites tenemos:

- ❖ **Arrastre de vapor:** Permite vaporizar 2 líquidos inmiscibles a una temperatura menor de ebullición de cada componente volátil presente, haciendo uso de una corriente de vapor agua. La función del vapor es calentar la mezcla del agua con el vegetal hasta llegar a ebullición y después el vapor que se genera se condensa y se genera 2 líquidos inmiscibles (agua y aceite esencial), se separan por decantación¹⁷.

❖ **Hidrodestilación:** Es un método mediante el cual se obtiene aceite esencial colocando la materia vegetal y el agua en el mismo recipiente el cual será calentado hasta ebullición generando un vapor el cual será condensado y posteriormente separado. La característica de este método es el contacto directo que existe entre el agua en ebullición y el material vegetal¹⁸.

Según la Organización Internacional para la Estandarización (ISO), el aceite esencial es un producto obtenido de una materia prima natural de origen vegetal, por destilación al vapor, por procesos mecánicos del epicarpio de los frutos cítricos, o por destilación seca, después de la separación de la parte acuosa fase si la hay por procesos físicos y también puede ser tratada físicamente sin cambiar su composición. Los aceites esenciales pueden extraerse por diferentes métodos, como hidrodestilación, destilación al vapor y extracción con solventes. Existen estudios que han comprobado la capacidad antibacteriana de los aceites esenciales, la cual se asocia a su composición química como los terpenos, éteres, aldehídos, cetonas, epóxidos, etc.¹⁹

Así mismo, *Streptococcus mutans* representa gran parte de los bacilos Gram negativos anaerobios, además, es considerado el principal componente de la flora de vías respiratorias altas. Esta bacteria se ha vuelto resistente a los diversos antibióticos como: clorhexidina 0.12% , ampicilina, tetraciclina entre otros, las cuales son utilizados en el tratamiento para infecciones provocadas por el agente patógeno²⁰.

El problema general de investigación planteado es ¿Cuál será el efecto antibacteriano del aceite esencial de las hojas de *Tagetes minuta* L. (Huacatay) frente a *Streptococcus mutans* ?, entre los problemas específicos tenemos: ¿Cuál será el efecto antibacteriano del aceite esencial de las hojas de *Tagetes minuta* L. (Huacatay) a una concentración del 100 % frente a *Streptococcus mutans* ?; ¿Cuál será el efecto antibacteriano del aceite esencial de las hojas de *Tagetes minuta* L. (Huacatay) a una concentración del 50 % frente a *Streptococcus mutans* ?; ¿Cuál será el efecto antibacteriano comparativo del aceite esencial de las hojas de *Tagetes minuta* L. (Huacatay) con clorhexidina 0.12% frente a *Streptococcus mutans* ?

La justificación del estudio se sostiene en la problemática descrita en torno a *Streptococcus mutans* y la necesidad de contrarrestar esta problemática a través del uso alternativas no

medicamentosas, como el uso de plantas medicinales que eviten en estos microorganismos mecanismos de resistencia bacteriana.

Así mismo, la presente investigación se propuso por el impacto social que presenta, debido a que la bacteria en estudio ocasiona infecciones comunes en la sociedad y elevado costo en el tratamiento, de tal modo que, los resultados que muestre la investigación repercutirán en un fin económico en la sociedad y el estado.

A nivel científico las propiedades antibacterianas que muestran los resultados de la presente investigación serán utilizados como fuente de información para generar nuevos conocimientos. Por otro lado, el diseño metodológico y la ejecución abordada para el desarrollo del estudio podrán ser utilizadas como referencia en posteriores investigaciones que estén relacionadas al tema de estudio.

Por otro lado, el objetivo general formulado es, Demostrar el efecto antibacteriano del aceite esencial de las hojas de *Tagetes minuta L.* (Huacatay) frente a *Streptococcus mutans* y los objetivos específicos son, determinar el efecto antibacteriano del aceite esencial de las hojas de *Tagetes minuta L.* (Huacatay) a una concentración del 100% frente a *Streptococcus mutans* ; determinar el efecto antibacteriano del aceite esencial de las hojas de *Tagetes minuta L.* (Huacatay) a una concentración del 50% frente a *Streptococcus mutans* y comparar el efecto antibacteriano del aceite esencial de las hojas de *Tagetes minuta L.* (Huacatay) con clorhexidina 0.12% frente a *Streptococcus mutans*.

Asimismo, se plantea la hipótesis general del estudio, el aceite esencial de las hojas de *Tagetes minuta L.* (Huacatay) tiene efecto antibacteriano frente a *Streptococcus mutans*.

II. MÉTODO

2.1. Tipo y diseño de investigación

2.1.1 Tipo de investigación^{21,22}

- **Analítica:** Porque, demuestra la relación que existe entre las variables de estudio.
- **Transversal:** Porque, recoge, identifica datos de variables recopiladas en un periodo de tiempo y analiza su incidencia e interrelación en un momento dado.
- **Prospectivo:** El resultado se ejecutó en un tiempo posterior a la elaboración de estos.

2.1.2. Diseño de investigación

- **Experimental:** Porque el investigador manipula la variable independiente para buscar un efecto sobre la variable dependiente.

VARIABLES INDEPENDIENTE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DIMENSIONES	INDICADORES	UNIDAD DE MEDIDA/PUNTO DE CORTE
Aceite esencial de las hojas de <i>Tagetes minuta</i> L. (Huacatay)	Sustancia obtenida a partir de las plantas con propiedades terapéuticas	Concentración	Porcentaje	100% y 50%
VARIABLES DEPENDIENTE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DIMENSIONES	INDICADORES	UNIDAD DE MEDIDA/PUNTO DE CORTE
Efecto antibacteriano frente a <i>Streptococcus mutans</i>	Capacidad del aceite esencial de inhibir el crecimiento bacteriano.	Halo de inhibición	< 8mm 8mm < 14mm 14mm a 20mm > a 20mm	Sensibilidad Nula Sensible Muy Sensible Sumamente Sensible

2.2. Operacionalización de variables

2.3. Población, muestra y muestreo

Población: El estudio estuvo conformado por la especie vegetal *Tagetes minuta* L. (Huacatay), recolectada en el distrito de Lajas - Chota - Cajamarca

2.3.2. Muestra:

Muestra vegetal:

Se recolectaron 10kg de hojas de *Tagetes minuta* L. (Huacatay), la misma que se sometió al método por arrastre de vapor.

❖ Criterios de inclusión

- Hojas de *Tagetes minuta* L. (Huacatay), de tamaño homogéneo.
- Hojas de *Tagetes minuta* L. (Huacatay), no contaminadas ni oxidados.
- Hojas de *Tagetes minuta* L. (Huacatay), frescas.

❖ Criterios de exclusión

- Hojas de *Tagetes minuta* L. (Huacatay), de diferentes tamaños.
- Hojas de *Tagetes minuta* L. (Huacatay), contaminadas y oxidados.
- Hojas de *Tagetes minuta* L. (Huacatay), guardadas.

2.3.3. Muestreo: El tipo de muestreo se refiere al no probabilístico por conveniencia. Esto, se fundamenta en la conveniente accesibilidad y proximidad de las muestras de análisis para el investigador.²³

2.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

2.4.1. Técnicas

- **Destilación por arrastre de vapor:** Procedimiento que permitió la extracción del aceite esencial de *Tagetes minuta* L. (huacatay).
- **Difusión en agar:** Se utiliza para demostrar la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Tagetes minuta* L. (huacatay) frente a *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus mutans*.

2.4.2. Instrumentos de recolección de datos

Ficha de recolección de datos: material diseñado por los investigadores, donde se registrarán los datos de medidas de los halos de inhibición.

Bases de datos en Excel: Los datos obtenidos en el cuadro de registro se ingresarán a una base de datos en Excel.

2.5. Procedimiento

Recolección y selección de las hojas de *Tagetes minuta* L. (Huacatay)

Las hojas de *Tagetes minuta* L. (huacatay), fueron recolectadas en el distrito de Lajas-Chota-Cajamarca. La muestra recolectada fue envuelta en papel kraft, las cuales fueron transportadas al laboratorio en donde se realizó la elección correspondiente de las hojas frescas, limpias y no dañadas descartando sustancias extrañas presentes en la muestra y luego fueron secadas a temperatura ambiente.

Selección y tratamiento del material vegetal

Se seleccionaron las hojas de tamaño homogéneo, frescas que no presentaron lesiones, ni contaminación, eliminando las que no cumplían con los criterios de inclusión y exclusión. El lavado se ejecutó con agua potable para descartar partículas extrañas, restos de tierra y luego se desinfectó con lejía al 0.5%.

Método de obtención del aceite esencial de *Tagetes minuta* L. (Huacatay)

El método utilizado para la obtención del aceite esencial fue mediante destilación por arrastre de vapor, se procedió primero al armado del equipo de destilación por arrastre con vapor, a continuación, se colocaron las hojas de *Tagetes minuta* L. (Huacatay) en un recipiente de acero inoxidable de fondo plano para luego ser sometido a calentamiento, el vapor de agua formado arrastró el aceite esencial de la planta, la cual fue condensada por acción del refrigerante.

El destilado obtenido presentó dos sustancias no miscibles, las que se separaron utilizando una pera de decantación de vidrio, se deshidratará las impurezas de agua en el aceite esencial con Na₂SO₄ anhidro, luego el aceite fue almacenado dentro de un frasco de vidrio color ámbar y se mantuvo en refrigeración a una temperatura de 4°C.

Preparación de las diferentes concentraciones del aceite esencial de las hojas de *Tagetes minuta* L. (Huacatay)

Se tomó el aceite esencial puro (100%) y se realizó una dilución al 50 % agregando Dimetilsulfoxido (DMS). Las muestras se colocaron en frascos ámbar protegiéndolas de la luz según el siguiente esquema

Volumen de aceite	Volumen de DMS	Volumen final	Concentración %
3 ml	0 ml	3 ml	100 %
1.5 ml	1.5 ml	3 ml	50 %

Fuente: Elaboración Propia

Obtención y preparación de la cepa

Las cepas de *Streptococcus mutans*, fueron proporcionadas por el Laboratorio Microclin SRL de la ciudad de Trujillo. La cepas se activaron siguiendo el procedimiento descrito por el proveedor, para lo cual en primer lugar una vez retiradas de la refrigeradora se dejaron a temperatura ambiente por 1 hora, posteriormente se abrió el sachet que contiene la ampolla con el hisopo y reconstituyo el liofilizado (cepa) con la solución estéril contenida en la ampolla, luego se recogió la cepa con un hisopo estéril y aplicaron hisopados sobre una placa con agar sangre para posteriormente se dejó en incubación en jarra de anaerobiosis a $36 \pm 1.0^{\circ}\text{C}$ por 36 horas, de las colonias formadas se tomaron dos asadas y suspendió en un tubo de ensayo con 10 ml de solución salina fisiológica y realizaron diluciones seriadas hasta alcanzar el 0.5 de la escala de McFarland ($1,5 \times 10^8$ UFC/ml) el que será el inóculo de trabajo.

Formación de grupos

Control negativo: DMS, 15 repeticiones

Control estándar farmacológico: clorhexidina 0.12% (*Streptococcus mutans*). 15 repeticiones por cada cepa bacteriana.

Grupo experimental N°1: Aceite esencial de *Tagetes minuta* L. al 100%. 15 repeticiones por cepa bacteriana

Grupo experimental N°2: Aceite esencial de *Tagetes minuta L.* al 50%. 15 repeticiones por cepa bacteriana

Sembrado de inóculo en placa

Se procedió luego a extraer en un hisopo estéril la suspensión anterior presionando levemente por las paredes del tubo el exceso, para luego sembrar en placas Petri con agar Müller Hinton.

De las distintas concentraciones del aceite al 100% y 50% se colocaron 50 uL en cada pozo de 6 mm preparados en el agar Müller Hinton, de la siguiente manera, en una placa se colocó la concentración del 100% y 50% del aceite esencial de las hojas de *Tagetes minuta L.* (Huacatay); en otra placa se colocó 50 uL de clorhexidina al 0.12% (control positivo) y 50 uL de DMS (control negativo).

Se realizaron 15 repeticiones para cada grupo y se llevó a incubación en jarra de anaerobiosis por 24 horas a temperatura de $36 \pm 1.0^{\circ}\text{C}$.

Determinación del efecto antibacteriano

Se midieron los halos de inhibición (susceptibilidad) de cada concentración y cada agente, con un vernier digital. Los resultados se compararon con la Escala de Duraffourd y se determinó la sensibilidad o resistencia.

2.6. Método de Análisis de datos

Para el procesamiento y análisis de datos se utilizó la prueba estadística de análisis de varianza ANOVA y Tukey la que permitió la comparación de los resultados obtenidos de la medición de halos. Además, fueron representados en tablas de distribución y gráficos para su interpretación.

2.7. Aspectos éticos

Este estudio siguió de manera estricta y ordenada todos los pasos estipulados en el código de ética para la investigación. Se emitió un certificado de autenticidad de la cepa bacteriológica de *Streptococcus mutans* por parte del proveedor y se aplicó el manejo de desechos biológicos bajo las normas de bioseguridad en laboratorios de ensayos biomédicos y clínicos del Instituto Nacional de Salud^{24,25}.

II. RESULTADOS

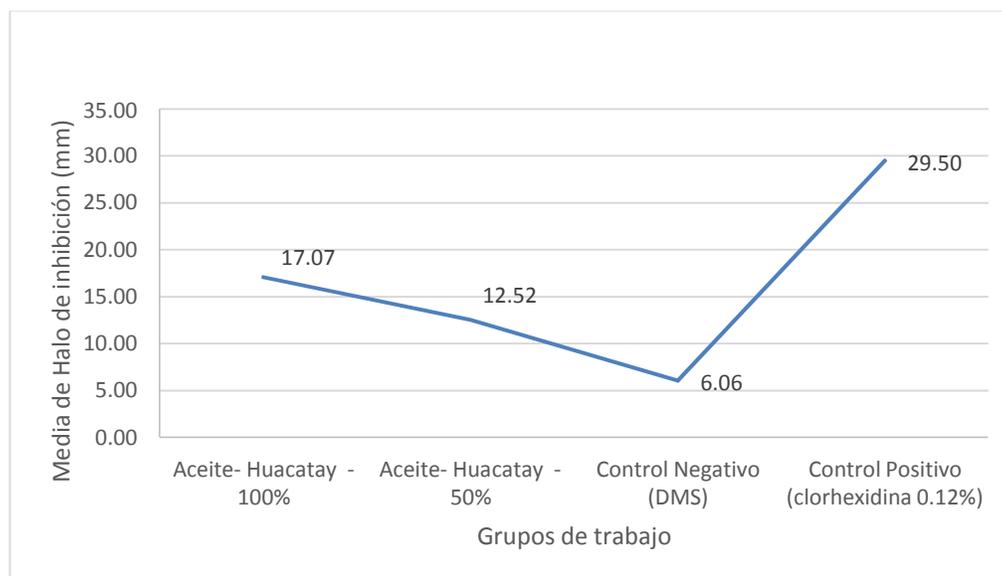
Tabla N° 01. Efecto antibacteriano del aceite esencial de las hojas de *Tagetes minuta* L. (Huacatay) frente a *Streptococcus mutans*

	Diámetro del halo de inhibición							
	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	IC95% para la media			
					Límite Inferior	Límite Superior	Mínimo	Máximo
Aceite - Huacatay - 100%	15	17,07	0,39	0,10	16,85	17,29	16,11	17,67
Aceite - Huacatay - 50%	15	12,52	0,32	0,08	12,34	12,70	11,83	13,04
Control Negativo (DMS)	15	6,06	0,52	0,13	5,78	6,35	5,31	7,07
Control Positivo (clorhexidina 0.12%)	15	29,50	0,55	0,14	29,19	29,80	28,68	30,52

Fuente: Elaboración propia - 2022

En la tabla N° 01, se muestra el efecto antibacteriano del aceite esencial de las hojas de *Tagetes minuta* L. (Huacatay) frente a *Streptococcus mutans* mediante la relación del tamaño del halo de inhibición formado en comparación con los grupos control, se muestran los valores promedio de 15 datos recolectados para cada grupo de trabajo, además los parámetros estadísticos de desviación estándar, error estándar, intervalos de confianza y los valores máximos y mínimos encontrados; se observa valores de 17.07 mm DS: 0,39 IC: 16.85 – 17.29 y 12.52 mm DS: 0,32 IC: 12.34 – 12.70 para las concentraciones del aceite esencial de las hojas de *Tagetes minuta* L. (Huacatay) al 100% y 50%.

Figura N° 01. Efecto antibacteriano del aceite esencial de las hojas de *Tagetes minuta* L. (Huacatay) frente a *Streptococcus mutans*



Fuente: Elaboración propia - 2022

En la figura 01, se observa el efecto antibacteriano del aceite esencial de las hojas de *Tagetes minuta* L. (Huacatay) frente a *Streptococcus mutans*, relacionando el tamaño del halo de inhibición obtenido. En tal sentido, se manifiesta un mayor efecto antibacteriano a la concentración del 100% (17.07mm), seguida por la concentración al 50% (12.52mm) del aceite esencial de las hojas de *Tagetes minuta* L. (Huacatay); el control negativo (DMS) no presenta efecto antibacteriano (6,06 mm), del mismo modo, se observa que el control positivo (clorhexidina 0.12%) con un halo de inhibición superior de 29.50mm.

Análisis paramétrico de los datos:

Tabla N° 02. Determinación de la distribución normal

	Grupos de trabajo	Shapiro-Wilk		
		Estadístico	df	Sig.
Halo de inhibición (mm)	Aceite - Huacatay - 100%	0,951	15	0,541
	Aceite -. Huacatay - 50%	0,956	15	0,631
	Control Negativo (DMS)	0,955	15	0,609
	Control Positivo (clorhexidina 0.12%)	0,957	15	0,632

Fuente: Elaboración propia - 2022

H1: Los grupos de datos no presentan distribución normal sig < 0.05

H0: Los grupos de datos presentan distribución normal sig > 0.05

Interpretación:

En la tabla N° 02, se realiza la prueba de Shapiro Wilk para la determinación de la distribución normal de los datos recolectados en cada grupo de trabajo, el valor de significancia obtenido en todos los grupos obtuvo valores de significancia superior al valor de 0.05.

Decisión:

Se rechaza H1 y acepta H0, Los grupos de datos presentan distribución normal.

Tabla N° 03. Prueba de homogeneidad de varianzas (Levene)

		Estadístico de			
		Levene	df1	df2	p-valor
Halo de inhibición (mm)	Se basa en la media	1,506	3	56	0,223
	Se basa en la mediana	1,461	3	56	0,235
	Se basa en la mediana y con gl ajustado	1,461	3	49,949	0,236
	Se basa en la media recortada	1,471	3	56	0,232

Fuente: Elaboración propia – 2022

H1: Los grupos de datos no presentan varianzas homogéneas p-valor < 0.05

H0: Los grupos de datos presentan varianzas homogéneas p-valor > 0.05

Interpretación:

En la tabla N° 03, se aplicó la prueba de Levene o de homogeneidad de varianzas que permite determinar si los grupos de datos analizados presentan varianzas homogéneas en la distribución de sus datos, en tal sentido, se obtuvo un p-valor basado en la media, superior al nivel de significancia de 0.05.

Decisión:

Se rechaza H1 y acepta H0. Los grupos de datos presentan varianzas homogéneas.

Tabla 4. Evaluación del efecto antibacteriano entre los grupos mediante el análisis de la varianza (ANOVA)

	Suma de cuadrados	df	Media al cuadrado	F	p-valor.
Entre grupos	4407,437	3	1469,146	7091,661	0,000
Dentro de grupos	11,601	56	0,207		
Total	4419,038	59			

Fuente: Elaboración propia – 2022

H1: Los grupos de datos analizados son diferentes sig < 0.05

H0: Los grupos de datos analizados son iguales sig > 0.05

Interpretación:

En la tabla N° 04, se realiza la prueba de análisis de la varianza (ANOVA) se realizó la comparación del efecto antibacteriano mediante la evaluación de la media de cada grupo de trabajo. Se observa que el p-valor obtenido en la tabla es de 0.00.

Decisión:

Se rechaza H0 y acepta H1. Los grupos de datos analizados presentan al menos un grupo de datos estadísticamente diferente.

Tabla N° 05. Comparación de los grupos de trabajo – Prueba de Tukey

HSD Tukey		Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
(I) Grupos de trabajo					Límite inferior	Límite superior
Aceite - Huacatay - 100%	Ext. Et. Huacatay - 50%	4,55200*	0,16620	0,000	4,1119	4,9921
	Control Negativo (DMS)	11,00800*	0,16620	0,000	10,5679	11,4481
	Control Positivo (clorhexidina 0.12%)	-12,42533*	0,16620	0,000	-12,8654	-11,9853
Aceite - Huacatay - 50%	Ext. Et. Huacatay - 100%	-4,55200*	0,16620	0,000	-4,9921	-4,1119
	Control Negativo (DMS)	6,45600*	0,16620	0,000	6,0159	6,8961
	Control Positivo (clorhexidina 0.12%)	-16,97733*	0,16620	0,000	-17,4174	-16,5373
Control Negativo (DMS)	Ext. Et. Huacatay - 100%	-11,00800*	0,16620	0,000	-11,4481	-10,5679
	Ext. Et. Huacatay - 50%	-6,45600*	0,16620	0,000	-6,8961	-6,0159
	Control Positivo (clorhexidina 0.12%)	-23,43333*	0,16620	0,000	-23,8734	-22,9933
Control Positivo (clorhexidina 0.12%)	Ext. Et. Huacatay - 100%	12,42533*	0,16620	0,000	11,9853	12,8654
	Ext. Et. Huacatay - 50%	16,97733*	0,16620	0,000	16,5373	17,4174
	Control Negativo (DMS)	23,43333*	0,16620	0,000	22,9933	23,8734

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

Interpretación:

La tabla 5, muestra el análisis de las pruebas de Tukey entre los grupos de trabajo, comparándolos uno a uno mediante la evaluación de las medias, se nota en los grupos señalados con asterisco (*) diferencias estadísticamente significativas.

Tabla N° 06. Comparación de los grupos de trabajo – Prueba de Tukey por subgrupo homogéneo

Grupos de trabajo	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
Control Negativo (DMS)	15	6,06			
Aceite - Huacatay - 50%	15		12,51		
Aceite - Huacatay - 100%	15			17,07	
Control Positivo (clorhexidina 0.12%)	15				29,49
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 15,000.

Fuente: Elaboración propia – 2022

Interpretación:

La tabla N° 06, se puede valorar de manera más concreta la evaluación de la prueba de Tukey al agrupar los valores promedios de los halos de inhibición formados por similitud en la misma columna, se observa que todos los grupos presentan efectos diferentes, siendo el de mayor efecto el control positivo (29.49mm), seguido por el aceite de *Tagetes minuta* L. (Huacatay) al 100% (17.07mm) y 50% (12.51mm) y finalmente el control negativo (DMS) sin efecto antibacteriano con halo de inhibición de 6.06mm.

Tabla N° 07. Sensibilidad antibacteriana según la escala de Duraffourd

Tratamiento	Sensibilidad nula ≤ 8 mm	Sensible 8–14 mm	Muy sensible 14-20 mm	Altamente sensible > 20 mm
Control Negativo (DMS)	6,06			
Aceite - Huacatay - 50%		12,51		
Aceite - Huacatay - 100%			17,07	
Control Positivo (clorhexidina 0.12%)				29,49

En la tabla N° 07, los resultados de los halos de inhibición se relacionaron con la sensibilidad antibacteriana tomando como referencia los parámetros de la escala de Duraffourd, se observa que *Streptococcus mutans* presenta **sensibilidad nula** al control negativo representado por el Dimetilsulfoxido el cual presento un halo de inhibición de 6,06mm, es **sensible** al aceite esencial de las hojas de *Tagetes minuta* L. (Huacatay) a la concentración del 50%, el cual formó un halo de inhibición de 12,51mm; es **muy sensible** al aceite esencial de las hojas de *Tagetes minuta* L. (Huacatay) a la concentración del 100% y es altamente sensible al control positivo representado por clorhexidina al 0.12%.

IV. DISCUSIÓN

El uso de *Tagetes minuta* L. (Huacatay) ha sido siempre relacionado con su uso en alimentación; sin embargo, poco se sabe sobre su empleo como planta medicinal, por otro lado, *Streptococcus mutans* es una bacteria que está presentando alta resistencia a los antibióticos y ocasionando problemas en su tratamiento medicamentoso, en tal sentido, el presente trabajo de investigación intenta demostrar las propiedades antibacterianas que presenta el aceite esencial de *Tagetes minuta* L. (Huacatay) a las concentraciones del 50% y 100% frente a *Streptococcus mutans*, los resultados del estudio se muestra a continuación.

Con respecto al efecto antibacteriano del aceite esencial de las hojas de *Tagetes minuta* L. (Huacatay), este se comparó con el tamaño del halo de inhibición empleando el método de difusión en pozo, los valores obtenidos con respecto al valores obtenidos con respecto al promedio del halo de inhibición para el aceite esencial *Tagetes minuta* L. (Huacatay) al 100% y 50% fue de 17.07 mm DS: 0,39 IC: 16.85 – 17.29 y 12.52 mm DS: 0,32 IC: 12.34 – 12.70, los grupos control negativo (DMS) no presenta efecto antibacteriano presentando un halo de inhibición promedio de 6,06 mm DS: 0,52 IC: 5.78 – 6,35, del mismo modo, se observa que el control positivo (clorhexidina 0.12%) presenta un halo de inhibición promedio de 29.50mm DS: 0,55 IC: 29.19 – 29.80.

Pure N. (2018) su investigación, determinó el efecto del aceite esencial de *Tagetes minuta* L. (huacatay) frente a *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, el aceite fue obtenido mediante el método de destilación con arrastre de vapor, y se preparó a las concentraciones de 25%, 50, 75% y 100%, los resultados obtenidos con respecto al tamaño del halo de inhibición para ambas bacterias a las concentraciones de trabajo variaron desde 13.00 milímetros a 18.4 mm, estos resultados se muestran similares a los encontrados en el presente estudio.

Por otro lado, es Swati W, et. al. (2020) realizaron un estudio para determinar la actividad química y antimicrobiana del aceite esencial de *Tagetes minuta* L. (huacatay) con especies de diferentes ubicaciones del país (India) el aceite esencial de esta planta se expuso a dos bacterias Gram-positivas, *Micrococcus luteus*, y *Staphylococcus aureus*, y dos bacterias gramnegativas *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomonas aeruginosa*, los resultados mostraron que

existe mayor actividad antibacteriana contra *Staphylococcus aureus* comparado con el resto de bacterias; asimismo los halo de inhibición promedio superaron los 9 mm.

Por su parte **Pillai M, Santi L, Mekbib S (2020)**, en su investigación determinaron el efecto antimicrobiano de los extractos de la corteza del tallo de *Tagetes minuta* mediante la técnica de difusión en pozo, observaron que los efectos mostrados por los extractos de dicha planta sobre los microorganismos en estudio, se mantienen con halos de inhibición promedio entre 10.0 mm a 15.5 mm. Por otro lado, se observaron halos de inhibición promedio de 11.3 mm a 11.4 mm con respecto a *Penicillium digitatum*, sin embargo, no se observó efecto inhibitorio visible contra *Candida albicans*.

Así mismo, los estudios realizados por **Coelho D, et al. (2021)** permitieron determinar el efecto antimicrobiano del aceite esencial extraído de las hojas de *Tagetes minuta L.* extraído por medio de la técnica de arrastre con vapor, mediante la técnica de microdilución donde se hallaron valor de MIC para *Candida albicans* de 6.25 uL/mL; para *Enterococcus faecalis* de 6.25 uL/mL y para *Streptococcus mutans* de 12.5 uL/mL, lo que confirma de manera similar el efecto del aceite esencial extraído de las hojas de *Tagetes minuta L.* contra *Streptococcus mutans*.

Con respecto al análisis comparativo de los grupos de tratamientos, tanto para el aceite esencial de *Tagetes minuta L.* (huacatay) al 100% y 50%, como los grupos control negativo, constituido por el dimetilsulfóxido (DMS) y control positivo, constituido por clorhexidina al 0.12%, se evaluó el comportamiento paramétricos de los grupos de datos, inicialmente se determinó la distribución normal de los datos aplicando la prueba de Shapiro-Wilk y luego se determinó la homogeneidad de varianzas aplicando la prueba del Levene, ambas pruebas confirmaron la distribución normal de los datos analizados. Finalmente, la comparación entre los grupos de trabajo se realizó mediante el análisis de ANOVA, el cual determinó que existen diferencias significativas entre los grupos de trabajo, posteriormente se comparó el efecto antibacteriano encontrado contra *Streptococcus mutans*, entre los grupos de trabajo, en tal sentido, se determinó, con un nivel de significancia de 0.05 qué el mayor efecto antibacteriano se observa con clorhexidina 0.12%, seguido del aceite esencial de *Tagetes minuta L.* (huacatay) al 100% y 50% posteriormente, el control negativo dimetilsulfóxido no presentó efecto antibacteriano mostrando un halo de inhibición de 6.06 mm.

Finalmente, se analizó la sensibilidad antibacteriana de *Streptococcus mutans* frente a los grupos de tratamiento, empleando como referencia los valores del diámetro de inhibición establecidos en la escala de Duraffourd, en tal sentido, se observa que *Streptococcus mutans*, presenta **sensibilidad nula** para el control negativo, **es sensible** al aceite esencial de *Tagetes minuta L.* (huacatay) al 50% y es **muy sensible** al aceite esencial de *Tagetes minuta L.* (huacatay) al 100%. Por otro lado, esta bacteria presenta ser **altamente sensible** al control positivo constituido por clorhexidina 0.12%.

V. CONCLUSIONES

1. El efecto antibacteriano del aceite esencial de las hojas de *Tagetes minuta L.* (Huacatay) a la concentración del 100% frente a *Streptococcus mutans* fue demostrado mediante la valoración del diámetro del halo de inhibición, comparado con el control negativo, demostrando ser esta bacteria muy sensible al aceite a la dicha concentración.
2. El efecto antibacteriano del aceite esencial de las hojas de *Tagetes minuta L.* (Huacatay) a una concentración del 50% frente a *Streptococcus mutans* fue demostrado mediante la valoración del diámetro del halo de inhibición comparado con el control negativo, demostrando ser esta bacteria sensible al aceite a la dicha concentración.
3. El efecto antibacteriano del aceite esencial de las hojas de *Tagetes minuta L.* (Huacatay) fue comparado con clorhexidina 0.12% frente a *Streptococcus mutans*, demostrando esta última presentar mayor efecto antibacteriano que el aceite a las concentraciones de estudio.

VI. RECOMENDACIONES

- A pesar del enorme aporte que brinda *Tagetes minuta* L. (Huacatay) en la alimentación, no se ha explotado totalmente los beneficios que puede brindar como planta medicinal, en tal sentido, se recomienda seguir ampliando estudios sobre esta planta mediante el uso de diferentes microorganismos y/o técnicas extractivas con mejores beneficios.
- El empleo de los aceites esenciales en los preparados magistrales es muy común, por tal razón se recomienda, su uso y verificación de la efectividad de estos.
- A las instituciones de salud se recomienda incluir dentro de los tratamientos alternativos el aceite de *Tagetes minuta* L. (Huacatay) por presentar actividad antibacteriana.
- Finalmente se recomienda a las distintas universidades promover los trabajos de investigación enfocados en estudios in vitro que permitan seguir descubriendo nuevas fuentes para el tratamiento natural de las infecciones.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ACSA. Informe de la Unión Europea sobre la resistencia antimicrobiana 2016. Agencia Catalana de Seguridad Alimentaria [Internet]. Agencia Catalana de Seguridad Alimentaria. 2018 [cited 2019 Sep 16]. Available from: <http://acsa.gencat.cat/es/detall/noticia/Informe-de-la-Unio-Europea-sobre-la-resistencia-antimicrobiana-2016>
2. Organización Mundial de la Salud. Datos recientes revelan los altos niveles de resistencia a los antibióticos en todo el mundo. WHO. 2018;
3. Lee HJ, Song J, Kim JN. Genetic mutations that confer fluoride resistance modify gene expression and virulence traits of streptococcus mutans. *Microorganisms*. 2021 Apr 1;9(4).
4. Lozano C, Torres C. Actualización en la resistencia antibiótica en Gram positivos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. 2017 Jan 1;35:2–8.
5. García C. Resistencia antibiótica en el Perú y América Latina. *Acta Medica del Perú*. 2017;29(2):99–103.
6. Pure N. Efecto de la concentración del aceite esencial de las hojas del Tagetes minuta (huacatay) sobre su actividad antimicrobiana [Internet]. 2018. Available from: <https://repositorio.uap.edu.pe/handle/20.500.12990/3469>
7. Coelho D, da Silva A, Rodrigues L, Cuevas C, Silva J, Feres M, et al. Antimicrobial and physical properties of experimental endodontic sealers containing vegetable extracts. *Scientific Reports*. 2021;11:6450.
8. Velásquez D. Evaluación de la actividad antimicrobiana, antioxidante y citotoxicidad de los extractos etanólico y acuoso de Tagetes multiflora kunth “chinche” . Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2017.

9. Walia S, Mukhia S, Bhatt V, Kumar R, Kumar R. Variability in chemical composition and antimicrobial activity of *Tagetes minuta* L. essential oil collected from different locations of Himalaya. *Industrial Crops and Products*. 2020 Aug 1;150:112449.
10. Pillai M, Santi L, Mekbib S. Antimicrobial activities of extracts from stem bark of *tagetes minuta*. *Food Research*. 2020 Dec 1;4(6):2089–94.
11. Bandana K, Raina R, Kumari M, Rani J. *Tagetes minuta*: An overview. *International Journal of Chemical Studies*. 2018;6(2):3711–7.
12. Baca W. Estudio comparativo del aceite esencial de huacatay (*Tagetes minuta*) de la Región Amazonas por cromatografía líquida de alta resolución. *Acad. Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas*; 2018.
13. Bruneton J. *Farmacognosia: Fitoquímica. Plantas medicinales*. 2da ed. Editorial Acribia, S.A.; 2010.
14. Cornelius W, Wycliffe W. *Tagetes* (*Tagetes minuta*) oils. *Science Direct*. 2016;791–802.
15. Indecopi. HUACATAY - *Tagetes minuta*. *Comisipon Nacional contra la Biopiratería*. 2019;
16. Segovia I, Suárez L. Composición química del aceite esencial de *Tagetes elliptica* Smith “Chincho” y determinación de su actividad antioxidante, antibacteriana y antifúngica. *Universidad Nacional Mayor de San Marcos*; 2015.
17. Martinez A. *Aceites Esenciales*. División de Publicaciones UIS. 2016;180.
18. Torrenegra M, Granados C, Durán M, León G, Yáñez X, Martínez C, et al. Composición Química y Actividad Antibacteriana del Aceite Esencial de *Minthostachys mollis*. *Orinoquia*. 2017;20(1):69–74.
19. Kuklinski C. *Farmacognosia: “Estudios de las Drogas y Sustancias Medicamentosas de Origen Natural.”* Barcelona - España: Ediciones Omega S.A.; 2010. 400 p.

20. Lemos J, Palmer SR, Zeng L, Wen Z, Kajfasz J, Freires I, et al. La biología de *Streptococcus mutans*. Revista ASM. 221AD;7(1).
21. Guevara G, Verdesoto A, Castro N. Metodologías de investigación educativa (descriptivas, experimentales, participativas, y de investigación-acción). Revista Científica Mundo de la Investigación y el Conocimiento [Internet]. 2020;4(3):163–73. Available from: <https://www.recimundo.com/index.php/es/article/view/860/1363>
22. Hernández R. Metodología de la Investigación: Las rutas cuantitativa, cualitativa y mixta. 1era edici. McGraw-Hill Interamericana. 2018. 744 p.
23. Hernández C, Carpio N. Introducción a los tipos de muestreo. Revista Científica del Instituto Nacional de Salud “Alerta” [Internet]. 2019;2(1):75–9. Available from: <https://alerta.salud.gob.sv/introduccion-a-los-tipos-de-muestreo/>
24. Universidad de Salamanca. Laboratorio Microbiología. 2017.
25. MINSA/DIGESA. Norma Técnica de Salud : " Gestión y Manejo de Residuos Sólidos en Establecimientos de Salud y Servicios Médicos de Apoyo a nivel Nacional ". Norma Técnica De Salud N° N° 096- MINSA/DIGESA-V01. 2010;1:63.
26. Salehi B, Valussi M, Bezerra M, Pereira J, Alves A, Melo H, et al. Tagetesspp. Essential Oils and Other Extracts:Chemical Characterization and Biological Activity. Molecules. 2018;10(2847).

ANEXOS

Anexo I. Matriz de consistencia

Autor (es): Bach. Sahedith Sonia Solis Acosta / Bach. Annie Grace Campos Quiroz
Tema: EFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE LAS HOJAS DE <i>Tagetes minuta L.</i> (HUACATAY) FRENTE A <i>Streptococcus mutans</i>

Problema general	Objetivo general	Hipótesis General	Variables y dimensiones	Metodología
¿Cuál será el efecto antibacteriano del aceite esencial de las hojas de <i>Tagetes minuta L.</i> (Huacatay) frente a <i>Streptococcus mutans</i> ?	Demostrar el efecto antibacteriano del aceite esencial de las hojas de <i>Tagetes minuta L.</i> (Huacatay) frente a <i>Streptococcus mutans</i>	El extracto etanólico de <i>Sapindus saponaria</i> tiene efecto antibacteriano frente a <i>Staphylococcus aureus</i>	Variable Independiente (x) X1: Aceite esencial de las hojas de <i>Tagetes minuta L.</i> (Huacatay)	Alcance de la investigación: Analítica Método de la investigación: Transversal y prospectivo Diseño de la investigación: Experimental
Problemas específicos	Objetivos específicos	Hipótesis específicas		
<ul style="list-style-type: none"> ¿Cuál será el efecto antibacteriano del aceite esencial de las hojas de <i>Tagetes minuta L.</i> (Huacatay) a una concentración del 100 % frente a <i>Streptococcus mutans</i> ? ¿Cuál será el efecto antibacteriano del aceite esencial de las hojas de <i>Tagetes minuta L.</i> (Huacatay) a una concentración del 50 % frente a <i>Streptococcus mutans</i> ? ¿Cuál será el efecto antibacteriano comparativo del aceite esencial de las hojas de <i>Tagetes minuta L.</i> (Huacatay) con clorhexidina 0.12% frente a <i>Streptococcus mutans</i> ? 	<ul style="list-style-type: none"> Determinar el efecto antibacteriano del aceite esencial de las hojas de <i>Tagetes minuta L.</i> (Huacatay) a una concentración del 100% frente a <i>Streptococcus mutans</i> Determinar el efecto antibacteriano del aceite esencial de las hojas de <i>Tagetes minuta L.</i> (Huacatay) a una concentración del 50% frente a <i>Streptococcus mutans</i> Comparar el efecto antibacteriano del aceite esencial de las hojas de <i>Tagetes minuta L.</i> (Huacatay) con clorhexidina 0.12% frente a <i>Streptococcus mutans</i> 	<ul style="list-style-type: none"> El aceite esencial de las hojas de <i>Tagetes minuta L.</i> (Huacatay) tiene efecto antibacteriano frente a <i>Streptococcus mutans</i> El aceite esencial de las hojas de <i>Tagetes minuta L.</i> (Huacatay) tiene efecto antibacteriano a una concentración del 100% frente a <i>Streptococcus mutans</i> El aceite esencial de las hojas de <i>Tagetes minuta L.</i> (Huacatay) tiene efecto antibacteriano a una concentración del 50% frente a <i>Streptococcus mutans</i> El aceite esencial de las hojas de <i>Tagetes minuta L.</i> (Huacatay) tiene mayor efecto antibacteriano que el clorhexidina 0.12% frente a <i>Streptococcus mutans</i> 	Dimensiones: Concentración Variable Dependiente Y1: <i>Efecto antibacteriano sobre pseudomona aures</i> Tamaño del halo de inhibición	Población <i>Tagetes minuta L.</i> (Huacatay) Muestra: Aceite esencial de <i>Tagetes minuta L.</i> (Huacatay) Técnicas de recopilación de información: Extracción etanólica Difusión en agar Técnicas de procesamiento de información: Estadística descriptiva y ANOVA y Tukey mediante SPSS 26

Anexo 2. Operacionalización de las variables

VARIABLES DEPENDIENTE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DIMENSIONES	INDICADORES	UNIDAD DE MEDIDA/PUNTO DE CORTE
Efecto antibacteriano frente a <i>Streptococcus mutans</i> y <i>Staphylococcus aureus</i> .	Capacidad del aceite esencial de inhibir el crecimiento bacteriano.	Susceptibilidad bacteriana.	Concentración	Porcentaje 100% y 50%
VARIABLES DEPENDIENTE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DIMENSIONES	INDICADORES	UNIDAD DE MEDIDA/PUNTO DE CORTE
Efecto antibacteriano frente a <i>Streptococcus mutans</i> y <i>Staphylococcus aureus</i> .	Capacidad del aceite esencial de inhibir el crecimiento bacteriano.	Halo de inhibición	< 8mm 8mm < 14mm 14mm a 20mm > a 20mm	Sensibilidad Nula Sensible Muy Sensible Sumamente Sensible

Anexo 3. Instrumento de recolección de datos

**EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE LAS
HOJAS DE *Tagetes minuta* L. (HUACATAY) FRENTE A *Streptococcus
mutans***

HALOS DE INHIBICIÓN

N° Placa	Controles		ACEITE ESENCIAL DE LAS HOJAS DE <i>Tagetes minuta</i> L. (HUACATAY)	
	(+) Clorhexidina	(-) DMS	50% (mm)	100% (mm)
1	29,47	6,03	12,49	16,92
2	28,79	7,07	12,82	16,83
3	29,40	5,93	11,83	16,11
4	29,25	6,10	12,80	17,44
5	30,52	5,62	12,37	16,80
6	30,01	6,64	12,50	17,05
7	28,68	6,24	12,22	17,16
8	28,91	5,59	12,45	17,36
9	29,53	6,88	12,55	17,67
10	30,45	5,99	13,04	16,70
11	29,52	6,21	12,10	16,86
12	29,92	5,31	12,55	17,50
13	29,68	6,26	12,57	17,21
14	29,04	5,65	12,48	17,04
15	29,26	5,41	13,00	17,40

FORMATO “A”

**VALIDEZ DEL INSTRUMENTO DE INVESTIGACIÓN POR JUICIO DE
EXPERTOS**

**EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE LAS
HOJAS DE *Tagetes minuta* L. (HUACATAY) FRENTE A
*Streptococcus mutans***

Investigadores: **Bach. Sahedith Sonia, Solis Acosta**

Bach. Annie Grace, Campos Quiroz

Dimensión: Concentración del aceite esencial de las hojas de <i>Tagetes minuta</i> l. (Huacatay)	1	2	3	4	5
ÍNDICADOR: 100%					X
<i>Streptococcus mutans (mm)</i>					
<i>Control positivo (mm)</i>					
<i>Control negativo (mm)</i>					
ÍNDICADOR: 50%					X
<i>Streptococcus mutans (mm)</i>					
<i>Control positivo (mm)</i>					
<i>Control negativo (mm)</i>					
Dimensión: Diámetro del halo de inhibición	1	2	3	4	5
Indicador: Sensibilidad nula: $\leq 8mm$ (-)					X
<i>Streptococcus mutans (mm)</i>					
<i>Control positivo (mm)</i>					
<i>Control negativo (mm)</i>					
Indicador: Sensible : $8mm$ a $14mm$ (+)					X
<i>Streptococcus mutans (mm)</i>					

<i>Control positivo (mm)</i>					
<i>Control negativo (mm)</i>					
Indicador: Sensibilidad media : 15mm a 20mm (++)					X
<i>Streptococcus mutans (mm)</i>					
<i>Control positivo (mm)</i>					
<i>Control negativo (mm)</i>					
Indicador: Muy sensible : > 20mm : (+++)					X
<i>Streptococcus mutans (mm)</i>					
<i>Control positivo (mm)</i>					
<i>Control negativo (mm)</i>					

RECOMENDACIONES:

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Indicación: Señor calificador se le pide su colaboración para que luego de un riguroso análisis de los ítems de la ficha de recolección de datos que le mostramos, marque con un aspa el casillero que crea conveniente de acuerdo a su criterio y experiencia profesional, denotando si el instrumento cuenta con los requisitos mínimos de formación para su posterior aplicación.

NOTA: Para cada ítem se considera la escala de 1 a 5 donde:

1=Muy Deficiente	2=Deficiente	3=Regular	4=Bueno	5= Muy Bueno				
Dimensiones: Concentración/5				1	2	3	4	5
INDICADOR: Aceite esencial de las hojas de <i>Tagetes minuta</i> l. (Huacatay) al 50%								X
Diámetro (mm)								
INDICADOR: Aceite esencial de las hojas de <i>Tagetes minuta</i> l. (Huacatay) al 100%							X	
Diámetro (mm)								
INDICADOR: Control negativo (etanol)							X	
Diámetro (mm)								
INDICADOR: Control positivo (clorhexidina 0.12%)							X	
Diámetro (mm)								

RECOMENDACIONES:

PROMEDIO DE VALORACIÓN

Muy buena

OPINIÓN DE APLICABILIDAD

a) Deficiente b) Baja c) Regular d) Buena e) **Muy buena**

Nombres y Apellidos : **IRIS MELINA ALFARO BELTRAN**
DNI N° : 17825965
Dirección domiciliaria : Av. Sánchez Carrión 513. El Porvenir
Título Profesional : Químico Farmaceutico
Grado Académico : Magister
Mención : FARMACIA CLÍNICA



Iris Melina Alfaro Beltrán
QUÍMICO FARMACEUTICO
C. Q. F. P. 62795

IRIS MELINA ALFARO BELTRAN

Lugar y fecha: Lima, 13 de abril del 2022

FORMATO “B”
FICHA DE VALIDACION DEL INFORME OPINION POR JUICIO DE EXPERTO
1. DATOS GENERALES

1.1. Título de la investigación: **EFEECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE LAS HOJAS DE *Tagetes minuta* L. (HUACATAY) FRENTE A *Streptococcus mutans***

1.2. Nombre del instrumento: Ficha de recolección de datos

2. ASPECTOS ESTADÍSTICOS

Indicadores	Criterios	Deficiente				Baja				Regular				Buena				Muy Buena				
		5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70	75	80	85	90	95	100	
1. Claridad	Está formulado con lenguaje apropiado																				X	
2. Objetividad	Está expresado en conductas observables																				X	
3. Actualidad	Adecuado al avance de la ciencia pedagógica																					X
4. Organización	Existe una organización lógica																					X
5. Suficiencia	Comprende los aspectos en cantidad y calidad																					X
6. Intencionalidad	Adecuado para valorar los instrumentos de investigación																				X	
7. Consistencia	Basado en aspectos teóricos científicos																				X	
8. Coherencia	Entre los índices e indicadores																					X
9. Metodología	La estrategia responde al propósito del diagnóstico																				X	
10. Pertinencia	Es útil y adecuado para la investigación																				X	

PROMEDIO DE VALORACIÓN

Muy buena

OPINIÓN DE APLICABILIDAD

a) Deficiente b) Baja c) Regular d) Buena e) **Muy buena**

Nombres y Apellidos : **IRIS MELINA ALFARO BELTRAN**
DNI N° : 17825965
Dirección domiciliaria : Av. Sánchez Carrión 513. El Porvenir
Título Profesional : Químico Farmaceutico
Grado Académico : Magister
Mención : FARMACIA CLÍNICA



IRIS MELINA ALFARO BELTRAN
QUÍMICO FARMACÉUTICO
C.O.F.P. 02795

IRIS MELINA ALFARO BELTRAN

Lugar y fecha: Lima 13 de abril del 2022

FORMATO “A”

VALIDEZ DEL INSTRUMENTO DE INVESTIGACIÓN POR JUICIO DE
EXPERTOS

**EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE LAS
HOJAS DE *Tagetes minuta* L. (HUACATAY) FRENTE A
*Streptococcus mutans***

Investigadores: Bach. Sahedith Sonia, Solis Acosta

Bach. Annie Grace, Campos Quiroz

Dimensión: Concentración del aceite esencial de las hojas de <i>Tagetes minuta</i> l. (Huacatay)	1	2	3	4	5
ÍNDICADOR: 100%					X
<i>Streptococcus mutans (mm)</i>					
<i>Control positivo (mm)</i>					
<i>Control negativo (mm)</i>					
ÍNDICADOR: 50%					X
<i>Streptococcus mutans (mm)</i>					
<i>Control positivo (mm)</i>					
<i>Control negativo (mm)</i>					
Dimensión: Diámetro del halo de inhibición	1	2	3	4	5
Indicador: Sensibilidad nula: $\leq 8mm$ (-)				X	
<i>Streptococcus mutans (mm)</i>					
<i>Control positivo (mm)</i>					
<i>Control negativo (mm)</i>					
Indicador: Sensible : $8mm$ a $14mm$ (+)					X
<i>Streptococcus mutans (mm)</i>					

<i>Control positivo (mm)</i>					
<i>Control negativo (mm)</i>					
<i>Indicador: Sensibilidad media : 15mm a 20mm (++)</i>					X
<i>Streptococcus mutans (mm)</i>					
<i>Control positivo (mm)</i>					
<i>Control negativo (mm)</i>					
<i>Indicador: Muy sensible : > 20mm : (+++)</i>					X
<i>Streptococcus mutans (mm)</i>					
<i>Control positivo (mm)</i>					
<i>Control negativo (mm)</i>					

RECOMENDACIONES:

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Indicación: Señor calificador se le pide su colaboración para que luego de un riguroso análisis de los ítems de la ficha de recolección de datos que le mostramos, marque con un aspa el casillero que crea conveniente de acuerdo a su criterio y experiencia profesional, denotando si el instrumento cuenta con los requisitos mínimos de formación para su posterior aplicación.

NOTA: Para cada ítem se considera la escala de 1 a 5 donde:

1=Muy Deficiente	2=Deficiente	3=Regular	4=Bueno	5= Muy Bueno				
Dimensiones: Concentración/5				1	2	3	4	5
INDICADOR: Aceite esencial de las hojas de <i>Tagetes minuta</i> l. (Huacatay) al 50%								X
Diámetro (mm)								
INDICADOR: Aceite esencial de las hojas de <i>Tagetes minuta</i> l. (Huacatay) al 100%								X
Diámetro (mm)								
INDICADOR: Control negativo (etanol)								X
Diámetro (mm)								
INDICADOR: Control positivo (clorhexidina 0.12%)								X
Diámetro (mm)								

RECOMENDACIONES:

PROMEDIO DE VALORACIÓN

Muy buena

OPINIÓN DE APLICABILIDAD

a) Deficiente b) Baja c) Regular d) Buena e) **Muy buena**

Nombres y Apellidos : **DEMETRIO RAFAEL JARA AGUILAR**
DNI N° : 17936729
Dirección domiciliaria : Mz. A Lote 12. Urb. Huerta Bella – El Porvenir
Título Profesional : Químico Farmaceutico
Grado Académico : Magister
Mención : EN FARMACIA Y BIOQUÍMICA



Dr. Rafael Jara Aguilar
QUÍMICO FARMACÉUTICO

C.Q.F.P. 02615

DEMETRIO RAFAEL JARA AGUILAR

Lugar y fecha: Lima 13 de abril del 2022

FORMATO “B”
FICHA DE VALIDACION DEL INFORME OPINION POR JUICIO DE EXPERTO
3. DATOS GENERALES

3.1. Título de la investigación: **EFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE LAS HOJAS DE *Tagetes minuta* L.**

(HUACATAY) FRENTE A *Streptococcus mutans*

3.2. Nombre del instrumento: Ficha de recolección de datos

4. ASPECTOS ESTADÍSTICOS

Indicadores	Criterios	Deficiente				Baja				Regular				Buena				Muy Buena			
		5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70	75	80	85	90	95	100
1. Claridad	Está formulado con lenguaje apropiado																			X	
2. Objetividad	Está expresado en conductas observables																			X	
3. Actualidad	Adecuado al avance de la ciencia pedagógica																				X
4. Organización	Existe una organización lógica																				X
5. Suficiencia	Comprende los aspectos en cantidad y calidad																				X
6. Intencionalidad	Adecuado para valorar los instrumentos de investigación																				X
7. Consistencia	Basado en aspectos teóricos científicos																				X
8. Coherencia	Entre los índices e indicadores																				X
9. Metodología	La estrategia responde al propósito del diagnóstico																			X	
10. Pertinencia	Es útil y adecuado para la investigación																			X	

PROMEDIO DE VALORACIÓN

Muy buena

OPINIÓN DE APLICABILIDAD

f) Deficiente g) Baja h) Regular i) Buena j) **Muy buena**

Nombres y Apellidos : **DEMETRIO RAFAEL JARA AGUILAR**
DNI N° : 17936729
Dirección domiciliaria : Mz. A Lote 12. Urb. Huerta Bella – El Porvenir
Título Profesional : Químico Farmaceutico
Grado Académico : Magister
Mención : EN FARMACIA Y BIOQUÍMICA



Dr. Rafael Jara Aguilar
QUÍMICO FARMACÉUTICO

C.Q.F.P. 02615

DEMETRIO RAFAEL JARA AGUILAR

Lugar y fecha: Lima 13 de abril del 2022

FORMATO “A”

**VALIDEZ DEL INSTRUMENTO DE INVESTIGACIÓN POR JUICIO DE
EXPERTOS**

**EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE LAS
HOJAS DE *Tagetes minuta* L. (HUACATAY) FRENTE A
*Streptococcus mutans***

Investigadores: **Bach. Sahedith Sonia, Solis Acosta**

Bach. Annie Grace, Campos Quiroz

Dimensión: Concentración del aceite esencial de las hojas de <i>Tagetes minuta</i> l. (Huacatay)	1	2	3	4	5
ÍNDICADOR: 100%					X
<i>Streptococcus mutans (mm)</i>					
<i>Control positivo (mm)</i>					
<i>Control negativo (mm)</i>					
ÍNDICADOR: 50%					X
<i>Streptococcus mutans (mm)</i>					
<i>Control positivo (mm)</i>					
<i>Control negativo (mm)</i>					
Dimensión: Diámetro del halo de inhibición	1	2	3	4	5
Indicador: Sensibilidad nula: $\leq 8mm$ (-)				X	
<i>Streptococcus mutans (mm)</i>					
<i>Control positivo (mm)</i>					
<i>Control negativo (mm)</i>					
Indicador: Sensible : $8mm$ a $14mm$ (+)					X
<i>Streptococcus mutans (mm)</i>					

<i>Control positivo (mm)</i>					
<i>Control negativo (mm)</i>					
Indicador: Sensibilidad media : 15mm a 20mm (++)					X
<i>Streptococcus mutans (mm)</i>					
<i>Control positivo (mm)</i>					
<i>Control negativo (mm)</i>					
Indicador: Muy sensible : > 20mm : (+++)					X
<i>Streptococcus mutans (mm)</i>					
<i>Control positivo (mm)</i>					
<i>Control negativo (mm)</i>					

RECOMENDACIONES:

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Indicación: Señor calificador se le pide su colaboración para que luego de un riguroso análisis de los ítems de la ficha de recolección de datos que le mostramos, marque con un aspa el casillero que crea conveniente de acuerdo a su criterio y experiencia profesional, denotando si el instrumento cuenta con los requisitos mínimos de formación para su posterior aplicación.

NOTA: Para cada ítem se considera la escala de 1 a 5 donde:

1=Muy Deficiente	2=Deficiente	3=Regular	4=Bueno	5= Muy Bueno				
Dimensiones: Concentración/5				1	2	3	4	5
INDICADOR: Aceite esencial de las hojas de <i>Tagetes minuta</i> l. (Huacatay) al 50%								X
Diámetro (mm)								
INDICADOR: Aceite esencial de las hojas de <i>Tagetes minuta</i> l. (Huacatay) al 100%								X
Diámetro (mm)								
INDICADOR: Control negativo (etanol)							X	
Diámetro (mm)								
INDICADOR: Control positivo (clorhexidina 0.12%)							X	
Diámetro (mm)								

RECOMENDACIONES:

PROMEDIO DE VALORACIÓN

Muy buena

OPINIÓN DE APLICABILIDAD

f) Deficiente g) Baja h) Regular i) Buena j) **Muy buena**

Nombres y Apellidos :**CARMEN ROSA SILVA CORREA**.....
DNI N° : ...44472535..... Teléfono/Celular :964112623.....
Dirección domiciliaria : ... Av.Gonzales Cáceda N° 381 Chepén.....
Título Profesional :QUÍMICO FARMACÉUTICO.....
Grado Académico :MAESTRA
Mención : EN CIENCIAS QUÍMICAS.....



Q.F. Carmen Rosa Silva Correa
QUÍMICO FARMACÉUTICO
N° C.Q.F.P. 15697

Firma

Lugar y fecha:Lima, 13 de abril del 2022.....

FORMATO “B”
FICHA DE VALIDACION DEL INFORME OPINION POR JUICIO DE EXPERTO
5. DATOS GENERALES

5.1. Título de la investigación: **EFEECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE LAS HOJAS DE *Tagetes minuta* L.**

(HUACATAY) FRENTE A *Streptococcus mutans*

5.2. Nombre del instrumento: Ficha de recolección de datos

6. ASPECTOS ESTADÍSTICOS

Indicadores	Criterios	Deficiente				Baja				Regular				Buena				Muy Buena				
		5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70	75	80	85	90	95	100	
1. Claridad	Está formulado con lenguaje apropiado																					X
2. Objetividad	Está expresado en conductas observables																					X
3. Actualidad	Adecuado al avance de la ciencia pedagógica																					X
4. Organización	Existe una organización lógica																					X
5. Suficiencia	Comprende los aspectos en cantidad y calidad																					X
6. Intencionalidad	Adecuado para valorar los instrumentos de investigación																				X	
7. Consistencia	Basado en aspectos teóricos científicos																				X	
8. Coherencia	Entre los índices e indicadores																					X
9. Metodología	La estrategia responde al propósito del diagnóstico																				X	
10. Pertinencia	Es útil y adecuado para la investigación																				X	

PROMEDIO DE VALORACIÓN

Muy buena

OPINIÓN DE APLICABILIDAD

k) Deficiente l) Baja m) Regular n) Buena o) **Muy buena**

Nombres y Apellidos :**CARMEN ROSA SILVA CORREA**.....
DNI N° : ...44472535..... Teléfono/Celular :964112623.....
Dirección domiciliaria : ... Av.Gonzales Cáceda N° 381 Chepén.....
Título Profesional :QUÍMICO FARMACÉUTICO.....
Grado Académico :MAESTRA
Mención : EN CIENCIAS QUÍMICAS.....



Q.F. Carmen Rosa Silva Correa
QUÍMICO FARMACÉUTICO
N° C.Q.F.P 15697

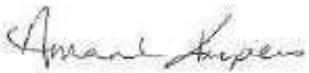
Firma

Lugar y fecha:Lima, 13 de abril del 2022.....

Anexo 4. Certificado de análisis de la cepa



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

<p>Specifications Microorganism Name: Streptococcus mutans Catalog Number: 0266 Lot Number: 266-28** Reference Number: ATCC® 25175™** Purity: Pure Passage from Reference: 3</p>	<p>Expiration Date: 2022/9/30 Release Information: Quality Control Technologist: Christine Condon Release Date: 2020/10/24</p>
<p>Performance</p>	
<p>Macroscopic Features: Two colony types; small, circular, dome shaped, entire edge, white and the S3AP other is small, circular and translucent. Microscopic Features: Small gram positive cocci to ovoid cells occurring singly, in pairs and Gram Stain (1) predominately in chains</p>	<p>Medium: Method:</p>
<p>ID System: MALDI-TOF (1) See attached ID System results document.</p>	<p>Other Features/ Challenges: Results (1) Catalase (3% Hydrogen Peroxide): negative</p> <p style="text-align: center;">  Amanda Kuperus Quality Control Manager AUTHORIZED SIGNATURE</p>
<p><small>**Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.</small></p> <p><small>Note for Vittek®: Although the Vittek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.</small></p> <p><small>⚠ Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazards/safety information.</small></p> <p><small>Individual products are traceable to a recognized culture collection.</small></p> <div style="display: flex; justify-content: space-around;"> <div data-bbox="284 1197 479 1333">  <small>REFERENCE MATERIAL PRODUCER CERT #2855-02</small> </div> <div data-bbox="446 1333 1356 1375"> <small>(*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC, Microbiologics, Inc. It is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.</small> </div> <div data-bbox="284 1407 479 1543">  <small>TESTING CERT #2633-01</small> </div> </div> <p style="text-align: center;"><small>(1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025:2005.</small></p>	

Bruker Daltonik MALDI Biotyper Classification Results



Meaning of Score Values

Range	Interpretation	Symbols	Color
2.00 - 3.00	High-confidence identification	(+++)	green
1.70 - 1.99	Low-confidence identification	(+)	yellow
0.00 - 1.69	No Organism Identification Possible	(-)	red

Meaning of Consistency Categories (A - C)

Category	Interpretation
(A)	High consistency: The best match is a high-confidence identification. The second-best match is (1) a high-confidence identification in which the species is identical to the best match, (2) a low-confidence identification in which the species or genus is identical to the best match, or (3) a non-identification.
(B)	Low consistency: The requirements for high consistency are not met. The best match is a high- or low-confidence identification. The second-best match is (1) a high- or low-confidence identification in which the genus is identical to the best match or (2) a non-identification.
(C)	No consistency: The requirements for high or low consistency are not met.

Sample Name: Streptococcus mutans
 Sample Description: 0286
 Sample ID: 286-28
 Sample Creation Date/Time: 2018-10-19T10:55:23.331 CMC
 Applied MSP Library(ies): BDAL, Mycobacteria Library (bead method), Filamentous Fungi Library 1.0, Listeria

Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value
A2 (+++) (A)	286-28	Streptococcus mutans	2.15

Comments:

N/A

Anexo 5. Certificación Botánica

Hamilton W. Beltrán S.
Consultor Botánico
Calle Natalio Sánchez 251- Jesús María
hamiltonbeltran@yahoo.com

CERTIFICACIÓN BOTÁNICA

El Biólogo colegiado, certifica que la planta conocida como "Huacatay" proporcionada por los Bachilleres, Sahedith Sonia Solís Acosta y Annie Grace Campos Quiroz, Tesisistas de la Universidad Privada de Huancayo "Franklin Roosevelt", ha sido estudiada científicamente y determinada como *Taqedes minuta* L. y de acuerdo al Sistema de Clasificación de Cronquist 1981, se ubica en las siguientes categorías:

Reino: Plantae
División: Magnoliophyta
Clase: Magnoliopsida
Orden: Asterales
Familia: Asteraceae
Sub familia: Asteroideae
Género: *Taqedes*
Especie: *Taqedes minuta* L.

Se expide la presente certificación a solicitud de los interesados para los fines que estime conveniente.

Lima, 19 abril 2022


Bigo. Hamilton Beltrán
Hamilton Wilfredo Beltrán Santiago
Físico - Botánico
C.R.P. 2519

Anexo 6. Composición química de los metabolitos del aceite de *Tagetes minuta* L. (Huacatay)

Moleculas	India	South Africa	Egypt
(E)- β -ocimene (5)	16.6-35.3	40.4-69.8	31.0-43.3
dihydrotagetone (6)	11.9-48.1	5.3-17.7	3.0-22.0
(Z)-tagetone (7)	18.6-27.2	1.3-12.4	4.8-10.7
(Z)-tagetenone (8)	8.1-32.5	6.9-21.6	4.8-10.3
(E)-tagetenone (8)		0.4-9.0	4.2-7.8
(E)-tagetone (7)	2.5-6.1	0.4-2.4	0.6-2.0
limonene (1)	-	tr-9.5	2.9-6.8
β -myrcene	-	tr-1.4	-
germacrene B	-	-	1-1.3
β -caryophyllene (9)	-	-	0.6-1.1

Fuente: Salehi B (2018): *Tagetes* spp. “Essential Oils and Other Extracts:Chemical Characterization and Biological Activity”²⁶

Anexo 7. Fotografías que evidencian el trabajo experimental

Figura 2. Recolección de la especie vegetal en estudio



Figura 3. Extracción y selección de las hojas de *Tagetes minuta* L. (Huacatay)





Figura 4. Obtención del aceite esencial de *Tagetes minuta* L. (Huacatay) mediante destilación con arrastre de vapor





Figura 5. Activación de la cepa de *Tagetes minuta* L. (Huacatay)



Figura 6. Preparación del inóculo a 1.5×10^8 UFC (0.5 McFarland)



Figura 7. Preparación de los pozos en placas





Figura 8. Aplicación del aceite de *Tagetes minuta* L. (Huacatay) en cultivos en placa de *Streptococcus mutans*



Figura: 9. Medición de los halos de inhibición

