



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

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO
FARMACÉUTICO**

**ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL ACEITE ESENCIAL DE LAS
HOJAS DE *Ambrosia peruviana* Willd. (MARCO HEMBRA) FRENTE
A *Salmonella enterica* serovar Typhi y *Escherichia coli* Y SU
COMPARACIÓN CON CIPROFLOXACINO**

AUTORES:

Bach. IDROGO QUISPE, ELKE STEPHANIA

Bach. PALACIOS ESPINOZA, ELIZABETH MILAGROS

ASESOR:

Dr. SAMANIEGO JOAQUIN, JHONNEL WILLIAMS

LIMA – PERÚ

2020

DEDICATORIA

A Dios, quien en momentos difíciles dio luz a mi camino. Con mucho cariño, a mi hijo Vasco, por impulsarme a dar mi mayor esfuerzo para su bienestar. Y a todas las personas que, de cierta forma, contribuyeron en la realización del presente trabajo de investigación.

Elke S. Idrogo Quispe

A los investigadores quienes estudiaron mi tesis y la aprobaron. A todos los que me apoyaron para escribir y concluir esta tesis. Para ellos es esta dedicatoria de tesis, pues es a ellos a quienes se las debo por su apoyo incondicional.

Elizabeth M. Palacios Espinoza

AGRADECIMIENTO

Un agradecimiento especial, al Dr. Jhonnell Samaniego Joaquin, por su valioso aporte y paciencia durante todo el proceso de elaboración del presente trabajo de investigación.

Índice general

I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. MATERIALES Y MÉTODOS.....	6
2.1 Enfoque y diseño de la investigación.....	6
2.2 Población, muestra y muestreo.....	6
2.2.1. Población.....	6
2.2.2. Muestra.....	6
2.3 Variables de investigación.....	7
2.3.1. Variable independiente.....	7
2.3.2. Variable dependiente.....	7
2.4 Técnica e instrumentos de recolección de datos.....	7
2.4.1. Técnicas.....	7
2.4.2. Instrumento de recolección de datos.....	7
2.5 Proceso de recolección de datos.....	8
2.5.1. Recolección de la muestra vegetal.....	8
2.5.2. Identificación taxonómica.....	8
2.5.3. Selección del recurso vegetal.....	8
2.5.4. Extracción del aceite esencial de <i>Ambrosia peruviana</i> Willd.....	8
2.5.5. Ensayo de miscibilidad.....	9
2.5.6. Marcha fitoquímica preliminar.....	9
2.5.7. Preparación de los inóculos microbianos.....	11
2.5.8. Método de difusión en agar (Kirby Bauer).....	11
2.6 Métodos de análisis estadístico.....	12
2.7 Aspectos éticos.....	12
III. RESULTADOS.....	13
IV. DISCUSIÓN.....	24
4.1 Discusión de resultados.....	24
4.2 Conclusiones.....	26
4.3 Recomendaciones.....	27
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	28

Índice de figuras

	Página
Figura 1 Esquema de la técnica de difusión en agar con discos.....	12
Figura 2 Resultados de los halos de inhibición de los 5 grupos de estudio (10 repeticiones) del aceite esencial de <i>Ambrosia peruviana</i> Willd. Frente a cepas de <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.....	16
Figura 3 Resultados de los halos de inhibición de los 5 grupos de estudio (10 repeticiones) del aceite esencial de <i>Ambrosia peruviana</i> Willd. Frente a <i>Salmonella enterica</i> serovar Typhi ATCC 6539.....	17
Figura 4 Resultado de los halos de inhibición de los cinco grupos de estudio realizados para evaluar la actividad antimicrobiana del aceite esencial de las hojas de <i>Ambrosia peruviana</i> Willd. (Marco Hembra) frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.....	19
Figura 5 Resultado de los halos de inhibición de los cinco grupos de estudio realizados para evaluar la actividad antimicrobiana del aceite esencial de las hojas de <i>Ambrosia peruviana</i> Willd. (Marco Hembra) frente a <i>Salmonella enterica</i> serovar Typhi.....	21
Figura 6 Comparación de medias de los halos de inhibición del Ciprofloxacino con el efecto antimicrobiano del aceite esencial de las hojas de <i>Ambrosia peruviana</i> Willd. (Marco Hembra) frente a <i>Salmonella enterica</i> serovar typhi y <i>Escherichia coli</i>	23
Figura 7 Clasificación taxonómica.....	34
Figura 8 Extracción del aceite esencial de las hojas de <i>Ambrosia peruviana</i> Willd. (Marco hembra).....	35
Figura 9 Ensayo de miscibilidad del aceite esencial de las hojas de <i>Ambrosia peruviana</i> Willd. (Marco Hembra).....	36
Figura 10 Tamizaje fitoquímico preliminar del aceite esencial de las hojas de <i>Ambrosia peruviana</i> Willd. (Marco Hembra).....	37
Figura 11 Actividad antimicrobiana del aceite esencial de las hojas de <i>Ambrosia peruviana</i> Willd. (Marco hembra), frente a <i>Salmonella enterica</i> serovar Typhi y <i>Escherichia coli</i> y su comparación con ciprofloxacino.....	38

Índice de cuadros

	Página
Cuadro N° 1 Porcentaje de rendimiento.....	13
Cuadro N° 2 Ensayo de miscibilidad del aceite esencial de <i>Ambrosia peruviana</i> Willd. (Marco Hembra).....	13
Cuadro N° 3 Tamizaje fitoquímico preliminar del aceite esencial de <i>Ambrosia peruviana</i> Willd. (Marco Hembra).....	14
Cuadro N° 4 Resultados de la evaluación de la actividad antimicrobiana del aceite esencial de <i>Ambrosia peruviana</i> Willd. Frente a <i>Salmonella enterica</i> serovar Typhi y <i>Escherichia coli</i> y su comparación con ciprofloxacino.....	15

Índice de anexos

	Página
Anexo A Operacionalización de la variable.....	31
Anexo B: Instrumento de recolección de datos.....	33
Anexo E Evidencias de trabajo de campo.....	34

Resumen

Objetivo: Determinar la actividad antimicrobiana del aceite esencial de las hojas de *Ambrosia peruviana* Willd. (Marco Hembra) frente a *Salmonella enterica* serovar Typhi ATCC 6539 y *Escherichia coli* ATCC 25922 y su comparación con ciprofloxacino.

Materiales y métodos: El material vegetal fue recolectado en el Distrito de Mala, Departamento de Lima. El aceite esencial se obtuvo mediante la técnica de destilación por arrastre con vapor de agua, se usó 9 kg de hojas frescas de *Ambrosia peruviana* Willd. (Marco hembra), la actividad antimicrobiana del aceite esencial a distintas concentraciones 100, 50 y 25 %, se determinó mediante el método de difusión en agar (Kirby Bauer), utilizando ciprofloxacino como control positivo.

Resultados: El rendimiento del aceite esencial fue de 0.06 %. En la determinación de la actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Ambrosia peruviana* Willd. frente a *Salmonella enterica* serovar Typhi ATCC 6539 y *Escherichia coli* ATCC 25922, a una concentración del 100 % se obtuvo un halo de inhibición de 8.54 mm y 8.22 mm respectivamente y una ausencia del halo para las concentraciones de 50 y 25 %.

Conclusión: El aceite esencial de las hojas de *Ambrosia peruviana* Willd. (Marco Hembra), frente a las cepas de *Salmonella entérica* serovar Typhi ATCC 6539 y *Escherichia coli* ATCC 25922, posee actividad antimicrobiana a una concentración del 100 %.

Palabras clave: Aceite esencial, *Ambrosia peruviana* Willd., actividad antimicrobiana.

Summary

Objective: To determine the antimicrobial activity of the essential oil of the leaves of *Ambrosia peruviana* Willd (Marco Hembra) against *Salmonella enterica* serovar Typhi and *Escherichia coli* and its comparison with ciprofloxacin.

Materials and methods: The plant material was collected in the District of Mala, Department of Lima. The essential oil was obtained by the technique of steam distillation, using 9 kg of fresh leaves of *Ambrosia peruviana* Willd (Marco female), the antimicrobial activity of the essential oil at different concentrations 100, 50 and 25%, was determined by the method of diffusion on agar (Kirby Bauer), using ciprofloxacin as a positive control. **Results:** The yield of the essential oil was 0.06 %. In the determination of the antimicrobial activity of the essential oil of *Ambrosia peruviana* Willd. against *Escherichia coli* and *Salmonella enterica* serovar Typhi, at a concentration of 100%, an inhibition halo of 8.54 mm and 8.22 mm respectively was obtained, and an absence of the halo for concentrations of 50 and 25%. **Conclusion:** The essential oil of the leaves of *Ambrosia peruviana* Willd. (Marco Hembra), against the strains of enteric *Salmonella* serovar Typhi and *Escherichia coli*, has antimicrobial activity at a concentration of 100 %.

Keywords: Essential oil, *Ambrosia peruviana* Willd. Antimicrobial activity.

I. INTRODUCCIÓN

La apertura comercial y la globalización de mercados, han aumentado considerablemente el intercambio de productos alimenticios frescos y procesados entre diversos países, causando importantes beneficios sociales y económicos, pero, al mismo tiempo, este proceso plantea peligros para la salud, ya que los alimentos pueden contaminarse en el transporte de un país a otro y llegar a producir brotes de enfermedad si no se cuenta con métodos estrictos y adecuados de control (1,2).

Las enfermedades transmitidas por los alimentos (ETA), son generalmente de carácter infeccioso o tóxico, un mal que afecta a las poblaciones más susceptibles del planeta, ancianos, niños, mujeres embarazadas, inmunodeprimidos y las grandes mayorías sometidas a los altos niveles de pobreza e insalubridad, siendo el síntoma más agudo y frecuente de las ETA, la diarrea. Dentro de los principales agentes etiológicos de las enfermedades diarreicas: *Escherichia Coli*, *Norovirus*, *Campylobacter*, *Salmonella No tifoidea* (3-5).

En la región de las Américas, según la Organización Mundial de la Salud (OMS), en el año 2015, anualmente, 77 millones de personas enferman y más de 9.000 mueren a causa de estas enfermedades, considerando a las enfermedades diarreicas el 95 % de las ETA en la Región. En el Perú, de acuerdo al Centro Nacional de Epidemiología, Prevención y Control de Enfermedades, de la Red Nacional de Epidemiología (RENACE) y del Ministerio de Salud (MINSa), en el año 2016, se han informado y estudiado un total de 56 brotes de ETA, en los meses de setiembre (14,3%) y abril (12,5%), para Lima, Callao (07) y Cusco (06) se reportaron el mayor número de brotes (4,5).

La prevalencia de las ETA se obtiene en respuesta a diversos factores entre los que tenemos los cambios y adaptaciones microbianas, desafortunadamente, nos dirigen a la resistencia antimicrobiana, siendo considerado un problema creciente de salud pública en todo el mundo. Es así que los países en vías de desarrollo en general muestran niveles de resistencia mayores que en países industrializados y a su vez cuentan con menos recursos para el desarrollo de estrategias para su contención,

generando mayor morbimortalidad, así como una elevación en los costos de salud (6).

Existen diversos tipos de agentes patógenos, dentro de ellos tenemos a la *Salmonella*. El género *Salmonella* pertenece a la familia Enterobacteriaceae y está constituido por bacterias gramnegativas, intracelulares facultativas. El hábitat principal de estas bacterias es el tracto intestinal del hombre y los animales. Se transmite a través de una gran variedad de alimentos y muy asociada a carnes y subproductos de aves de corral, incluidos los huevos (7-10).

Por otro lado, tenemos a *Escherichia coli*, por lo general son comensales inofensivas, sin embargo, algunas cepas son perjudiciales para la salud. El género *Escherichia*, se caracteriza por poseer bacilos Gram negativos. Se transmite al hombre principalmente por el consumo de alimentos contaminados, como productos de carne picada cruda o poco cocida y leche cruda, la contaminación fecal del agua y de otros alimentos, así como la contaminación cruzada durante la preparación de estos (11).

El ciprofloxacino, es una fluoroquinolona, su acción bactericida se debe a la inhibición tanto de la topoisomerasa de tipo II (ADN-girasa) como de la topoisomerasa de tipo IV, necesarias para la replicación, la transcripción, la reparación y la recombinación del ADN bacteriano (12,13).

No obstante, una alternativa a la resistencia a los antimicrobianos, reside en la utilización de plantas medicinales que, gracias a su maravilloso y complejo metabolismo, toman un papel importante en el cuidado de la salud de las personas. Los aceites esenciales obtenidos de las plantas han demostrado actividad frente a bacterias patógenas e incluso frente a diferentes hongos y levaduras, son compuestos naturales, líquidos volátiles, de composición compleja, extraídos mediante múltiples técnicas de las cuales la más común es la destilación (14,15).

Hoy en día existe una amplia variedad de plantas aromáticas, *Ambrosia peruviana* Willd., es una planta originaria de Perú, pertenece a la familia Asteráceas, conocida por poseer propiedades antibacterianas, antihelmínticas, además aliviar dolores musculares y dolores menstruales (16).

Tarig *et al.*, 2018(17), demostraron el efecto antioxidante y antimicrobiano del extracto de polvo de hoja de Damsissa (DLPE) y a su vez comprobaron la influencia en las cualidades fisicoquímicas, microbianas y sensoriales de la carne picada. Como resultado obtuvieron que el DLPE, presentó zonas de inhibición de 14.0 mm. y 12.7 mm. frente a *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* respectivamente. En cuanto a la actividad antioxidante mostró una actividad antioxidante sustancial.

Mesa *et al.*, 2017(18), reportaron por primera vez la actividad larvicida sobre *Aedes aegypti* y la actividad antibacteriana sobre *Bacillus cereus* y *Bacillus subtilis*, de varios extractos de *Ambrosia peruviana*, cuyos halos de inhibición fueron de 10,5 y 15,0 mm de diámetro respectivamente, consiguiéndose mayor efectividad con el extracto de diclorometano. Además de demostrar un efecto levemente significativo como agentes larvicidas.

D'Armas *et al.*, 2017(19), en su investigación tuvieron como objetivo extraer los aceites esenciales de ocho especies de uso medicinal en el Ecuador. Dentro de los resultados encontraron que los metabolitos volátiles de la mayoría de los aceites esenciales estudiadas, son básicamente monoterpenos, con excepción de los de *A. conyzoides*, que además son ricos en sesquiterpenos y de los de *A. artemisiifolia* que son del tipo sesquiterpenoide.

Azuero *et al.*, 2016(20), en su estudio tuvieron como objetivo extraer los metabolitos secundarios de 12 especies vegetales y evaluar su efecto antibacteriano y antifúngico. Como resultado obtuvieron que la mayoría de las especies presentaron una acción bactericida a excepción de *L. citriodora* y *P. carpunya*, que no presentó actividad frente a *S. aureus*. Y una actividad antifúngica fuerte contra *C. albicans*.

Huayta *et al.*, 2016(21), en su investigación demostraron la actividad antibacteriana del aceite esencial de marco (*Ambrosia peruviana* Willd.) y (*Ambrosia arborescens* Mill.) frente a *Streptococcus mutans*. Según los resultados obtenidos observó que *Streptococcus mutans*, es susceptible al aceite esencial de marco.

Ruiz *et al.*, 2015(22), en su investigación tuvieron como objetivo hallar aceites esenciales que puedan ser usados como repelentes de *Thrips tabaco*. Obtuvieron como resultado la composición química de 10 plantas peruanas por medio de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas.

En cuanto a la justificación del estudio, debido al creciente número de enfermedades de transmisión alimentaria, que son cada vez más difíciles y a veces imposibles de tratar, por el abuso y el mal uso de los antibióticos tanto en medicina humana como en medicina veterinaria, reduciendo las posibilidades de tratamiento eficaz de enfermedades, prolongando el tiempo de agonía de los enfermos y obligando a utilizar medicamentos costosos, es importante la búsqueda de nuevos agentes terapéuticos, el Perú, a pesar de ser un país megadiverso, no ha prestado mucha atención al desarrollo de la cadena de valor de los recursos vegetales. Tal es el caso de *Ambrosia peruviana* Willd., no se cuenta con suficientes estudios científicos sobre las propiedades que se le atribuyen, es por este motivo que a través de esta investigación se pretende reafirmar los conocimientos ancestrales de nuestros antepasados y las experiencias de diferentes culturas en función de la salud. En cuanto al valor social, servirá de apoyo fundamental a la comunidad, promoviendo el uso adecuado de los recursos vegetales, genera a su vez, un aporte a la comunidad científica, incentivando a explorar nuevas fuentes de agentes antibacterianos de origen natural, debido al aumento de la resistencia antibacteriana, en el sector farmacéutico y alimentario.

De acuerdo a lo planteado, el objetivo de la presente investigación es:

- Determinar la actividad antimicrobiana del aceite esencial de las hojas de *Ambrosia peruviana* Willd. (Marco Hembra) frente a *Salmonella enterica* serovar Typhi ATCC 6539 y *Escherichia coli* ATCC 25922 y su comparación con ciprofloxacino”.

Mientras que, los objetivos específicos:

- Analizar la actividad antimicrobiana del aceite esencial de las hojas de *Ambrosia peruviana* Willd. (Marco Hembra) a diferentes concentraciones frente a *Salmonella enterica* serovar Typhi ATCC 6539.
- Analizar la actividad antimicrobiana del aceite esencial de las hojas de *Ambrosia peruviana* Willd. (Marco Hembra) a diferentes concentraciones frente a *Escherichia coli* ATCC 25922.

- Comparar el efecto de *Ambrosia peruviana* Willd. (Marco Hembra) con ciprofloxacino.
- Identificar los metabolitos secundarios del aceite esencial de las hojas de *Ambrosia peruviana* Willd. (Marco Hembra).

En la presente investigación se considera la siguiente hipótesis:

- El aceite esencial de las hojas de *Ambrosia peruviana* Willd. (Marco Hembra) presentará actividad antimicrobiana frente a *Salmonella enterica* serovar Typhi ATCC 6539 y *Escherichia coli* ATCC 25922 y su comparación con ciprofloxacino.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Enfoque y diseño de la investigación

Este estudio es de investigación cuantitativa porque sus resultados hallados son para conocimientos de estudio (la investigación tiene como propósito mostrar o examinar la relación entre las variables o resultados de las variables, el diseño de investigación es cuasi experimental, va haber manipulación de variables va a experimentar con tres grupos actividad antibacteriana de las hojas de *la Ambrosia peruviana* Willd. (Marco hembra) con dos muestras correspondiente a *Salmonella enterica* serovar Typhi ATCC 6539 y *Escherichia coli* ATCC 25922, con el propósito de comparar los resultados obtenidos entre la muestra respectiva (23, 24).

Este estudio lo podemos diagramar de la manera siguiente:

M ₁	O ₁
M ₂	O ₂
M ₃	O ₃

Donde:

En el diagrama M₁, M₂ y M₃ son las muestras del trabajo y O₁, O₂ y O₃ son las mediciones realizadas mientras que representan las variables.

En esta investigación para describir la medición de la bacteria mayor concentración de porcentaje y menor concentración de porcentaje y se evaluara los niveles medición alcanzados por cada una (O₁, O₂ y O₃).

2.2. Población, muestra y muestreo

2.2.1. Población

La población está formada por el recurso vegetal *Ambrosia peruviana* Willd. (Marco hembra), proveniente de Mala -Perú.

2.2.2. Muestra

Aceite esencial de las hojas de *Ambrosia peruviana* Willd. (Marco hembra).

2.3. Variables de investigación

2.3.1. Variable independiente:

Concentración del aceite esencial de *Ambrosia peruviana* Willd. (Marco Hembra).

Indicadores:

X1: Concentración del aceite esencial 100%

X2: Concentración del aceite esencial 50%

X3: Concentración del aceite esencial 25%

2.3.2. Variable dependiente:

Actividad antimicrobiana.

Y1: Diámetro de halo de inhibición (mm)

2.4. Técnica e instrumentos de recolección de datos (Validación de los instrumentos de recolección de datos)

2.4.1. Técnicas

2.4.1.1. Técnica de recolección de muestra vegetal

Inicialmente se anotaron los datos correspondientes a la localidad donde se realizó la colección y la fecha. Se colocó el material vegetal en papel kraft, seguidamente en bolsas de plástico limpias y se procedió a rotular cada bolsa.

2.4.1.2. Técnica de extracción de aceite esenciales

Para la extracción del aceite esencial de las hojas de *Ambrosia Peruviana* Willd. (Marco hembra), se utilizó la técnica de destilación por arrastre con vapor con agua.

2.4.1.3. Ensayo fitoquímico

Se identificaron los metabolitos secundarios del recurso vegetal *Ambrosia Peruviana* Willd. (Marco hembra), mediante reacciones químicas estandarizadas.

2.4.1.4. Método de difusión en agar (Kirby Bauer)

El método fue utilizado para determinar la actividad antimicrobiana del aceite esencial de las hojas de *Ambrosia*

Peruviana Willd. (Marco hembra) frente a *Salmonella enterica* serovar Typhi ATCC 6539 y *Escherichia coli* ATCC 25922 y su comparación con ciprofloxacino.

2.4.1.5. Instrumento de recolección de datos

Se elaboró una ficha para poder realizar la recolección de datos obtenidos en la presente investigación (Ver anexo B).

2.5. Proceso de recolección de datos

2.5.1. Recolección de la muestra vegetal

Se recolectó 17 kg de *Ambrosia Peruviana* Willd. (Marco hembra) procedente del Distrito de Mala, Departamento de Lima. Los ejemplares recolectados incluyeron partes vegetativas y flores. La muestra fue colocada en papel kraff, se embolsó y rotuló.

2.5.2. Identificación taxonómica

Adquirida la muestra se realizó la clasificación taxonómica en el Herbario San Marcos (UNMSM) del Museo de Historia Natural, de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (Ver figura 1).

2.5.3. Selección del recurso vegetal

Una vez identificada la muestra vegetal, se procedió a seleccionar los ejemplares en buenas condiciones, libre de daño por insectos, para luego deshojar y pesar la muestra obteniéndose 9 kg de hojas de *Ambrosia Peruviana* Willd (Marco hembra). Finalmente, la muestra fue lavada con agua destilada.

2.5.4. Proceso de extracción del aceite esencial de *Ambrosia Peruviana* Willd (Marco hembra).

- 9 Kg de hojas de *Ambrosia Peruviana* Willd. (Marco hembra) fueron sometidos a destilación por arrastre de vapor.
- Se procedió a colocar las hojas frescas en pequeños trozos, en un balón de vidrio, con brazo lateral y en el otro balón de vidrio solo agua destilada, nos aseguramos de que se encuentre herméticamente cerrado. Se calentó las dos sustancias, hasta el desprendimiento de vapor de agua, al buscar una salida, el vapor sale por el brazo del balón de destilación, llegando al refrigerante de vidrio, donde se condensa.

- Para luego, ser recolectado en una pera de decantación, al que se dejó en reposo hasta visualizar la separación del agua y aceite, donde fue decantado.
- Una vez obtenido el aceite, fue sometido a desecación con sulfato de sodio anhidro.
- Finalmente, el aceite esencial es guardado en un frasco de vidrio color ámbar bajo refrigeración a una temperatura de 4°C.

2.5.5. Ensayo de miscibilidad

Se evaluó cualitativamente la miscibilidad de la muestra. Para ello se utilizó 30 µl del aceite esencial de *Ambrosia peruviana* Willd. (Marco Hembra), seguidamente se añadió a cada tubo por separado 30 µl de solventes de diferente polaridad ordenados en forma descendente, c como se detalla a continuación. Seguidamente se agitará cada tubo y se procederá a visualizar su miscibilidad (Ver cuadro N° 2).

2.5.6. Marcha fitoquímica preliminar

Para la identificación cualitativa de los metabolitos secundarios presentes en el aceite esencial de *Ambrosia peruviana* Willd. (Marco Hembra), se realizaron las siguientes reacciones: Determinación de quinonas, compuestos fenólicos, flavonoides, antocianinas, taninos, alcaloides, terpenos, lactonas, azúcares reductores y saponinas (Ver cuadro N° 3).

Preparación de la muestra

Se realizó el tamizaje fitoquímico descrito por la Dra. Olga Lock de Ugaz, para así identificar los metabolitos mediante reacciones de coloración y/o precipitación (25).

Procedimiento:

Se preparó una solución con 100 µL de aceite esencial disueltos en 800 µL de Propanol, cada tubo de ensayo fue debidamente rotulado, con esta solución se realizaron los ensayos que se describen a continuación:

- Ensayo de Borntrager (Determinación de quinonas)

A la solución se le adicionó 1 mL de cloroformo y 1 mL de hidróxido de sodio 5%. Se agitó y se esperó a la formación de 2 fases y se dejó reposar.

- Ensayo con cloruro férrico (Determinación de compuestos fenólicos)

A la solución, se le adicionó 3 gotas de cloruro de hierro al 5% en HCL 0.5N

- Ensayo con Shidona (Determinación de flavonoides)

A la muestra, se le adicionó 3 gotas de Acido clorhídrico concentrado y magnesio.

- Ensayo con NaOH 10% (Determinación de antocianinas)

A la muestra, se le adicionó 2 gotas de NaOH 10%

- Ensayo con gelatina (Determinación de taninos)

A la muestra se le adiciono 1 gota de gelatina.

- Ensayo con gelatina – cloruro de sodio (Determinación de taninos)

A la muestra se le adicionó 1 gota del reactivo gelatina – sal.

- Ensayo con Wagner (Determinación de Alcaloides)

A la muestra se le adicionó 3 gotas del reactivo de Wagner.

- Ensayo con Mayer (Determinación de Alcaloides)

A la muestra se le adicionó 3 gotas del reactivo de Mayer.

- Ensayo con Liebermann-Burchard (Determinación de esteroides)

A la muestra se le adicionó 3 gotas de anhídrido acético y 2 gotas de ácido sulfúrico concentrado y se espera unos minutos para poder visualizar la coloración verde o azul verdoso.

- Ensayo con Baljet (Determinación de Lactonas α,β -insaturadas)

A la muestra se le adicionó 2 gotas reactivo A y reactivo B

- Ensayo con Benedict (Determinación de azúcares reductores)

A la muestra se le adicionó 5 gotas de reactivo de benedict y se llevó a baño maría por 10 minutos.

- Ensayo con Fehling A y B (Determinación de azúcares reductores)

A la muestra se le adicionó 10 gotas del reactivo de Fehling y se llevó a baño María durante 10 minutos.

- Ensayo con Espuma (Determinación de saponinas)

A la muestra se le adicionó 1ml de muestra.

Luego, se procedió a agitar de 30 a 60 segundos

2.5.7. Preparación de los inóculos microbianos

- Se consideró los siguientes microorganismos: *Salmonella enterica* serovar Typhi ATCC 6539 y *Escherichia coli* ATCC 25922.
- Las cepas fueron reactivadas en medio de cultivo Agar Soya Tripticasa (TSA), las cuales se incubaron a 37°C durante 24 horas.
- Cada cepa, fue transferida con asa bacteriológica, tocando la parte superior del tubo de ensayo, contenido en 3-5 cc de solución salina estéril.
- Por comparación visual, se realizó el ajuste del inóculo con solución salina hasta lograr la misma turbidez del estándar 0.5 Mc Farland, equivalente de 1.5×10^8 Unidades Formadoras de Colonia/mililitro (UFC/ml).

2.5.8. Preparación del medio de cultivo

- Se utilizó el medio de cultivo el agar Mueller-Hinton, el cual se preparó según las indicaciones del fabricante.

2.5.9. Método de difusión en agar con discos (Kirby Bauer)

- La actividad antimicrobiana se determinó mediante el método de difusión en agar con discos.
- Se humedeció el hisopo de algodón en el tubo de dilución del microorganismo en estudio, luego se procedió a sembrar en tres direcciones para asegurar una completa y homogénea distribución del inóculo. Se dejó solidificar a temperatura ambiente de 5 a 10 minutos.

- Los discos de papel WHATMAN N°1 (6mm), fueron embebidos con 10 μ L de las concentraciones de 25, 50 y 100 % del aceite esencial diluido en DMSO y colocados sobre la superficie de las placas sembradas. Así mismo se aplicó discos de antibiótico de Ciprofloxacino 5 μ g. Luego, las placas fueron incubadas en estufa a 37° C, por 24 horas.
- Pasada las 24 horas se procedió a medir los halos de inhibición usando el calibrador electrónico digital (Ver cuadro N° 4) (26).

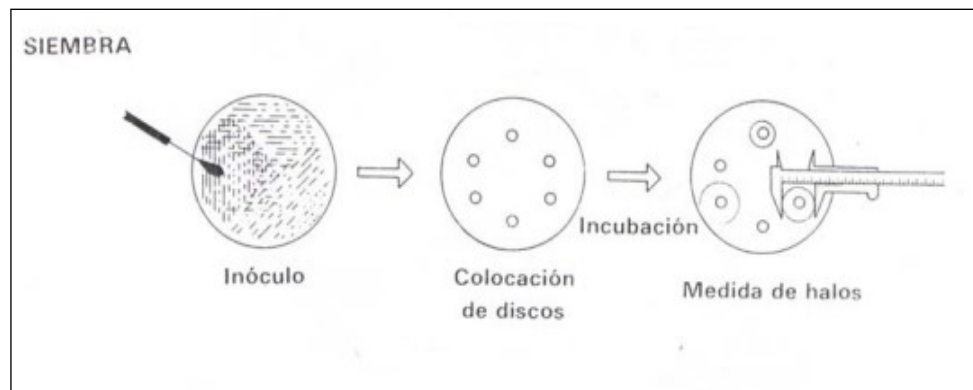


Figura N° 1: Esquema de la técnica de difusión en agar con discos.

Fuente: <http://www.biologia.edu.ar/microgeneral/tp8.pdf>

2.6. Métodos de análisis estadístico

Se realizó un promedio de rendimiento del aceite esencial de las hojas y se calculó con la desviación estándar.

Los datos se evaluaron estadísticamente mediante el programa IBM SPSS Statistic 23.0 se realizará con un ANOVA y en casos que se detecte diferencias significativas.

2.7. Aspectos éticos

Se realizó los procedimientos sin que exista adulteramiento en el proceso para mostrar la credibilidad el profesionalismo y autenticidad de nuestra investigación.

III. RESULTADOS

3.1. Análisis de cuadros

- **Cuadro N° 1:** Porcentaje de rendimiento

Recurso vegetal	Droga (Hojas)	Aceite esencial obtenido
17 kg	9 kg	6 ml
% Rendimiento		
$\% R = \frac{6 \text{ ml}}{9000 \text{ g}} \times 100 = 0.06 \%$		

Fuente: Elaboración propia.

En el cuadro N° 1, se observa la cantidad obtenida del aceite esencial de *Ambrosia peruviana* Willd. (Marco Hembra), fue de 6 ml, con lo que obtuvimos un rendimiento de aceite esencial de *Ambrosia peruviana* Willd. (Marco Hembra) de 0.06%.

- **Cuadro N° 2:** Ensayo de miscibilidad del aceite esencial de *Ambrosia peruviana* Willd. (Marco Hembra).

TUBO	SOLVENTE	RESULTADOS
N° 1	Agua destilada	-
N° 2	Metanol	-
N° 3	Etanol	-
N° 4	Propanol	-
N° 5	Acetato de etilo	-
N° 6	Butanol	++
N° 7	Cloroformo	+++
N° 8	Diclorometano	+++
N° 9	Éter de petróleo	+++

Legenda: - Insoluble; ++ Parcialmente soluble; +++ Soluble.

Fuente: Elaboración propia.

En el cuadro N°2, se observa que el aceite esencial de *Ambrosia peruviana* Willd. (Marco Hembra), es miscible en solventes como el cloroformo, diclorometano, éter de petróleo, parcialmente miscible en butanol e inmisible en solventes polares.

- **Cuadro N° 3:** tamizaje fitoquímico preliminar del aceite esencial de *Ambrosia peruviana* Willd. (Marco Hembra).

TUBO	ENSAYOS	METABOLITO	RESULTADO	OBSERVACIONES
1	Borntrager	Quinonas	-	No hubo reacción
2	Cloruro férrico	Compuestos fenólicos	+	Positivo, por la aparición de una tonalidad azul, verde negro
3	Shinoda	Flavonoides	+	Positivo, debido a la aparición de una coloración ligeramente rosado
4	NaOH 10%	Antocianinas	-	No hubo reacción
5	Gelatina	Taninos	++	Positivo, debido a la presencia de un precipitado blanco
6	Gelatina sal	Taninos	+	Positivo, debido a la presencia de un precipitado blanco.
7	Wagner	Alcaloides	-	No hubo reacción
8	Mayer	Alcaloides	-	No hubo reacción
9	Liebermann-Burchard	Terpenos	-	No hubo reacción
10	Baljet	Lactonas α,β -insaturadas	++	Positivo, debido al cambio de coloración a rojo oscuro
11	Benedict	Azúcares reductores	-	No hubo reacción
12	Fehling A y B	Azúcares reductores	-	No hubo reacción
13	Espuma	Saponinas	-	No hubo reacción

Legenda: (-) Ausencia; (++) Medio; (+++) Abundante.

Fuente: Elaboración propia.

En el cuadro N° 3, el aceite esencial de *Ambrosia peruviana* Willd. (Marco Hembra), evidencia la presencia de compuestos fenólicos, flavonoides, taninos y lactonas α,β -insaturadas.

- **Cuadro N°4:** Resultados de la evaluación de la actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Ambrosia peruviana* Willd. Frente a *Salmonella enterica* serovar Typhi ATCC 6539 y *Escherichia coli* ATCC 25922 y su comparación con ciprofloxacino.

Microorganismo	Diámetro de inhibición en mm				
	Ciprofloxacino	Blanco	100%	50%	25%
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	40.32	6	8.83	6.20	6.0
	40.45	6	8.57	6.22	6.0
	41.66	6	8.59	6.18	6.0
	40.37	6	8.54	6.31	6.0
	39.58	6	8.92	6.33	6.0
	40.49	6	8.57	6.27	6.0
	40.44	6	8.55	6.62	6.0
	39.39	6	8.91	6.77	6.0
	40.40	6	8.53	6.08	6.0
	39.75	6	8.52	6.11	6.0
Microorganismo	Diámetro de inhibición en mm				
	Ciprofloxacino	Blanco	100%	50%	25%
<i>Salmonella enterica</i> serovar Typhi ATCC 6539	31.40	6	8.18	6	6
	31.19	6	8.14	6	6
	31.35	6	8.15	6	6
	31.16	6	8.12	6	6
	31.44	6	8.29	6	6

	30.49	6	8.04	6	6
	31.74	6	8.31	6	6
	31.40	6	8.40	6	6
	32.22	6	8.39	6	6
	30.32	6	8.15	6	6

Tamaño de discos: 6 mm.

Concentración del inculo: 1.5×10^8 UFC/MI

Fuente: Elaboración propia.

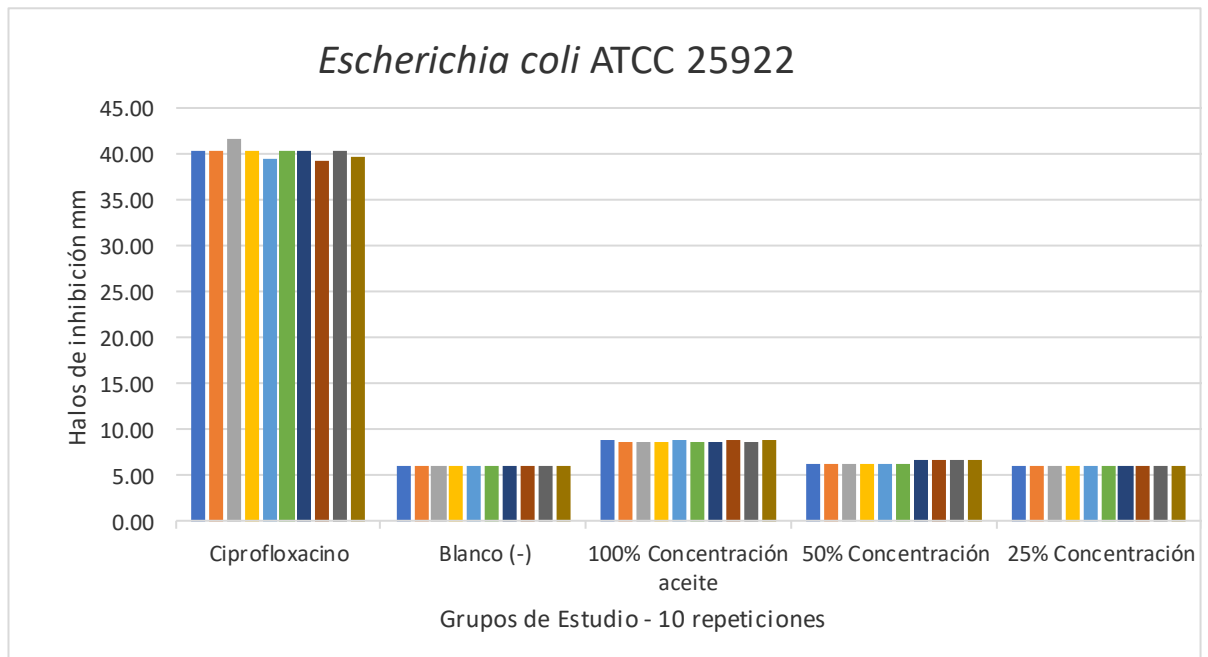


Figura N° 2. Resultados de los halos de inhibición de los 5 grupos de estudio (10 repeticiones) del aceite esencial de *Ambrosia peruviana* Willd. Frente a cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922

Fuente: Elaboración propia

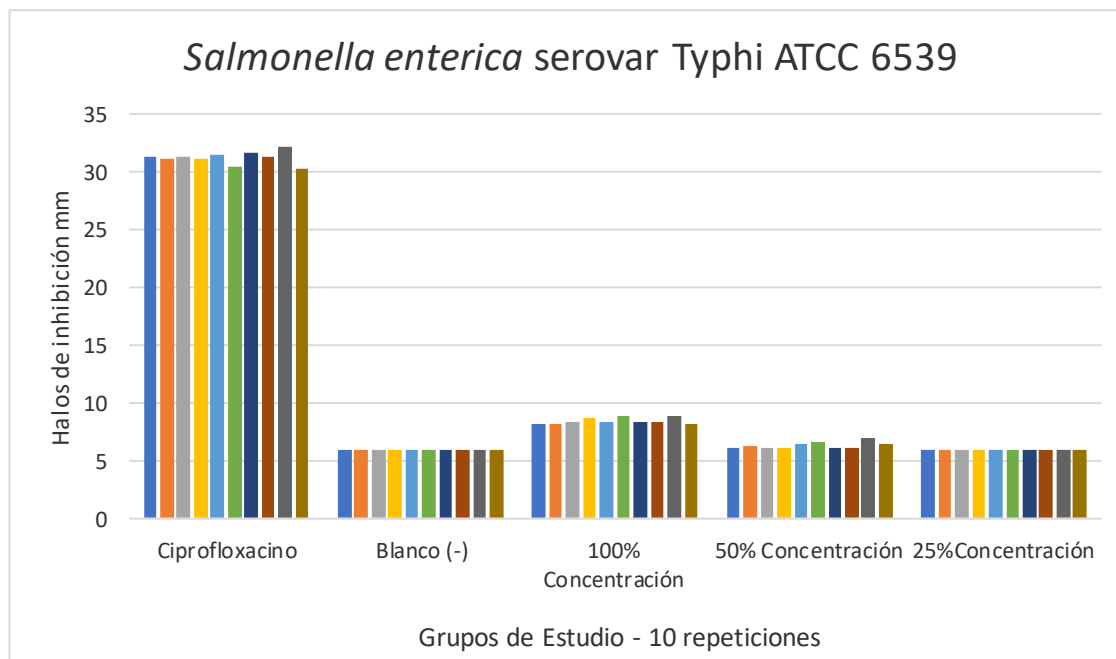


Figura N° 3. Resultados de los halos de inhibición de los 5 grupos de estudio (10 repeticiones) del aceite esencial de *Ambrosia peruviana* Willd. Frente a *Salmonella enterica* serovar Typhi ATCC 6539.

Fuente: Elaboración propia

En el cuadro N° 4, Figura 2 y 3, se observan las lecturas de los halos de inhibición en mm, de los diferentes grupos usados para evaluar la actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Ambrosia peruviana* Willd. Frente a cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Salmonella enterica* serovar Typhi ATCC 6539 y su comparación con ciprofloxacino.

Los grupos están conformados por diferentes concentraciones 100, 50 y 25 %, así mismo se utilizaron controles como: Ciprofloxacino, como antibiótico comercial y Blanco, que sería el control negativo; para el estudio experimental se realizaron 10 repeticiones por cada grupo que se observan en números y gráficos.

3.2. Contrastación de Hipótesis específicas

3.2.1. Contrastación de Hipótesis específicos 1

H0: El aceite esencial de las hojas de *Ambrosia peruviana* Willd. (Marco Hembra) No presenta actividad antimicrobiana frente a *Escherichia coli* ATCC 25922.

H1: El aceite esencial de las hojas de *Ambrosia peruviana* Willd. (Marco Hembra) presenta actividad antimicrobiana frente a *Escherichia coli* ATCC 25922.

Cuadro 5. Estadístico Descriptivo de la actividad antimicrobiana del aceite esencial de las hojas de *Ambrosia peruviana* Willd. (Marco Hembra) frente a *Escherichia coli* ATCC 25922.

Descriptivos							
Resultado de los halos de inhibición (mm)							
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	N	Media	Desv. Desviación	95% del intervalo de confianza para la media			
				Límite inferior	Límite superior	Mínimo	Máximo
Ciprofloxacino	10	40,28	,631	39,83	40,73	39,39	41,66
Control (-)	10	6,00	,000	6,00	6,00	6,00	6,00
100% Concentración	10	8,68	,164	8,56	8,80	8,53	8,92
50% Concentración	10	6,41	,225	6,25	6,58	6,18	6,77
25% Concentración	10	6,00	,000	6,00	6,00	6,00	6,00
Total	50	13,47	13,580	9,61	17,33	6,00	41,66

Fuente: Elaboración propia

En el cuadro 5 y figura 4, se observan las Medias de los cinco grupos de estudio utilizados para evaluar la concentración con mayor actividad antimicrobiana del aceite esencial de las hojas de *Ambrosia peruviana* Willd. (Marco Hembra) frente a *Escherichia coli* ATCC 25922.

Todas las medias se encuentran dentro de los límites establecidos a un intervalo de confianza del 95% y un error relativo del 5%, la concentración que mayor halo de inhibición presenta corresponde al 100%, con una Media de 8.68 mm, con respecto a la concentración de 50% y 25% los resultados son 6.41 mm y 6.00 mm respectivamente, así mismo la media del Ciprofloxacino es 40.28 m. Los datos obtenidos presentan un nivel de significancia menor de α 0.05. (P-valor).

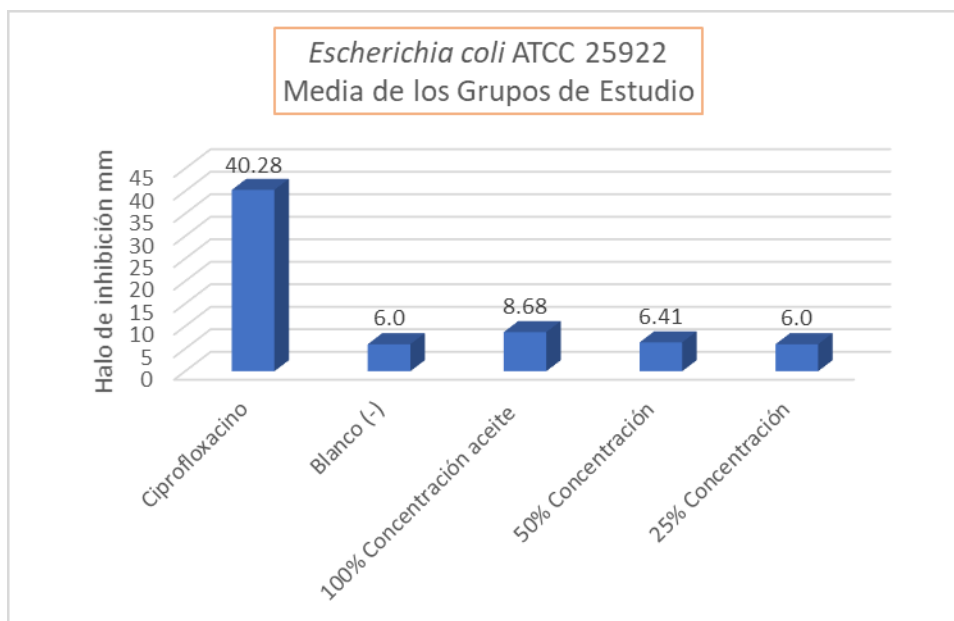


Figura 4: Resultado de los halos de inhibición de los cinco grupos de estudio realizados para evaluar la actividad antimicrobiana del aceite esencial de las hojas de *Ambrosia peruviana* Willd. (Marco Hembra) frente a *Escherichia coli* ATCC 25922. Fuente: Elaboración propia

Cuadro 6. Prueba de ANOVA de la actividad antimicrobiana del aceite esencial de las hojas de *Ambrosia peruviana* Willd. (Marco Hembra) frente a *Escherichia coli* ATCC 25922

ANOVA					
Resultado de los halos de inhibición (mm)					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	9032,7	4	2258,1	23675,4	,000
Dentro de grupos	4,2	45	0,095		
Total	9037,0	49			

Fuente: Elaboración propia.

Ho: $\mu_{25\%} = \mu_{50\%} = \mu_{75\%} = \mu_{100\%}$ (P > 0.05)

H1: $\mu_{25\%} \neq \mu_{50\%} \neq \mu_{75\%} \neq \mu_{100\%}$ (P < 0.05)

En la prueba de Anova de un factor, el valor de sig. es 0.00 entre los grupos, este resultado es menor que el nivel de significancia es de 0.05. (P valor es menor que 0.05 (p < 0.05).

Por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula (Ho), y se acepta la hipótesis (H1).

Interpretación: Se concluye que existe evidencia estadística significativa para indicar que el aceite esencial de las hojas de *Ambrosia peruviana* Willd. (Marco Hembra) presenta actividad antimicrobiana frente a *Escherichia coli* ATCC 25922.

3.2.2. Contrastación de Hipótesis específicos 2

H0: El aceite esencial de las hojas de *Ambrosia peruviana* Willd. (Marco Hembra), no presenta actividad antimicrobiana frente a *Salmonella enterica* serovar Typhi ATCC 6539.

H1: El aceite esencial de las hojas de *Ambrosia peruviana* Willd. (Marco Hembra) presenta actividad antimicrobiana frente a *Salmonella enterica* serovar Typhi ATCC 6539.

Cuadro 7. Estadístico Descriptivo de la actividad antimicrobiana del aceite esencial de las hojas de *Ambrosia peruviana* Willd. (Marco Hembra) frente a *Salmonella enterica* serovar Typhi ATCC 6539.

Descriptivos							
Resultado de los halos de inhibición(mm)							
95% del intervalo de confianza							
Desv. para la media							
<i>Salmonella enterica</i>	N	Media	Desviación	Límite inferior	Límite superior	Mínimo	Máximo
Ciprofloxacino	10	31,21	,549	30,87	31,66	30,32	32,22
Control (-)	10	6,00	,000	6,00	6,00	6,00	6,00
100% Concentración	10	8,42	,267	8,23	8,61	8,15	8,90
50% Concentración	10	6,33	,270	6,13	6,52	6,11	6,88
25% Concentración	10	6,00	,000	6,00	6,00	6,00	6,00
Total	50	11,60	9,97	8,76	14,44	6,00	32,22

Fuente: Elaboración propia

En el cuadro 7 y figura 5, se observan las Medias de los cinco grupos de estudio utilizados para evaluar la concentración con mayor actividad antimicrobiana del aceite esencial de las hojas de *Ambrosia peruviana* Willd. (Marco Hembra) frente a *Salmonella enterica* serovar Typhi ATCC 6539. Todas las medias se encuentran dentro de los límites establecidos a un intervalo de confianza del 95% y un error relativo del 5%, la concentración que mayor halo de inhibición presentó corresponde al

100%, con una Media de 8.42 mm, con respecto a la concentración de 50% y 25% los resultados son 6.33mm y 6.00mm respectivamente, así mismo la media del Ciprofloxacino es 31.41mm. Los datos obtenidos presentan un nivel de significancia menor de α 0.05. (P- valor).

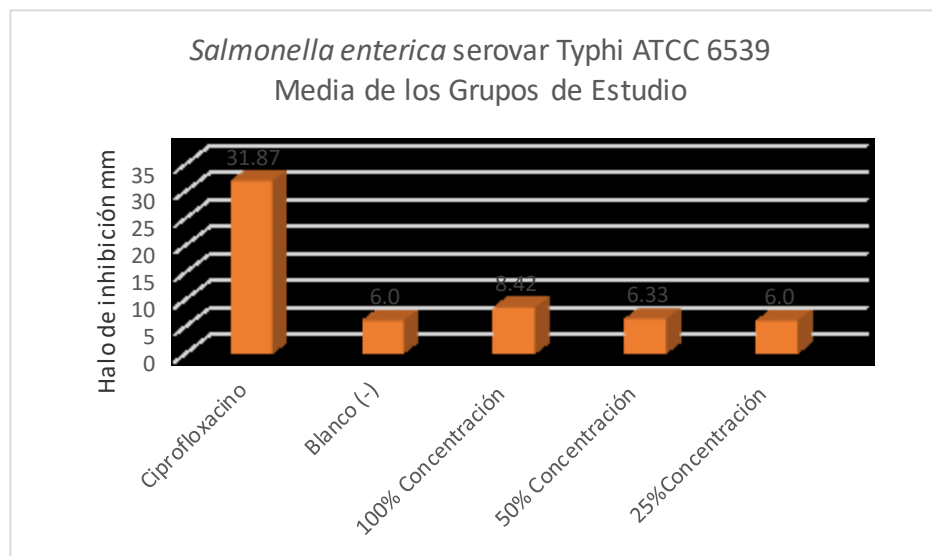


Figura 5: Resultado de los halos de inhibición de los cinco grupos de estudio realizados para evaluar la actividad antimicrobiana del aceite esencial de las hojas de *Ambrosia peruviana* Willd. (Marco Hembra) frente *Salmonella enterica* serovar Typhi ATCC 6539.

Fuente: Elaboración propia

Cuadro 8. Prueba de ANOVA de la actividad antimicrobiana del aceite esencial de las hojas de *Ambrosia peruviana* Willd. (Marco Hembra) frente a *Salmonella enterica* serovar Typhi ATCC 6539.

ANOVA					
Resultado de los halos de inhibición(mm)					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	4875,0	4	1218,7	13625,0	,000
Dentro de grupos	4,02	45	,089		
Total	4879,0	49			

Fuente: Elaboración propia

H₀: $\mu_{25\%} = \mu_{50\%} = \mu_{75\%} = \mu_{100\%}$ (P > 0.05)

H₁: $\mu_{25\%} \neq \mu_{50\%} \neq \mu_{75\%} \neq \mu_{100\%}$ (P < 0.05)

En la prueba de Anova de un factor, el valor de sig.es 0.00 entre los grupos, este resultado es menor que el nivel de significancia es de 0.05. (P valor es menor que 0.05 (p< 0.05).

Por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula (H₀), y se acepta la hipótesis (H₁).

Interpretación: Se concluye que existe evidencia estadística significativa para indicar que el aceite esencial de las hojas de *Ambrosia peruviana* Willd. (Marco Hembra) presenta actividad antimicrobiana frente a *Salmonella enterica* serovar Typhi ATCC 6539.

3.2.3. Contrastación de Hipótesis específicos 3

H₀: No se puede comparar el efecto del aceite de *Ambrosia peruviana* Willd. (Marco Hembra) con ciprofloxacino.

H₁: Se puede comparar el efecto del aceite de *Ambrosia peruviana* Willd. (Marco Hembra) con ciprofloxacino.

Mediante el estudio experimental realizado se puede comparar el efecto antimicrobiano utilizando las Medias de los halos de inhibición del Ciprofloxacino 31.87 mm, con los halos de la actividad antimicrobiana del aceite esencial de las hojas de *Ambrosia peruviana* Willd. (Marco hembra), a la concentración del 100% frente a *Salmonella enterica serovar typhi* ATCC 6539 con una media de 8.42 mm y *Escherichia coli* ATCC 25922 con una media de 8.68 mm, respectivamente.

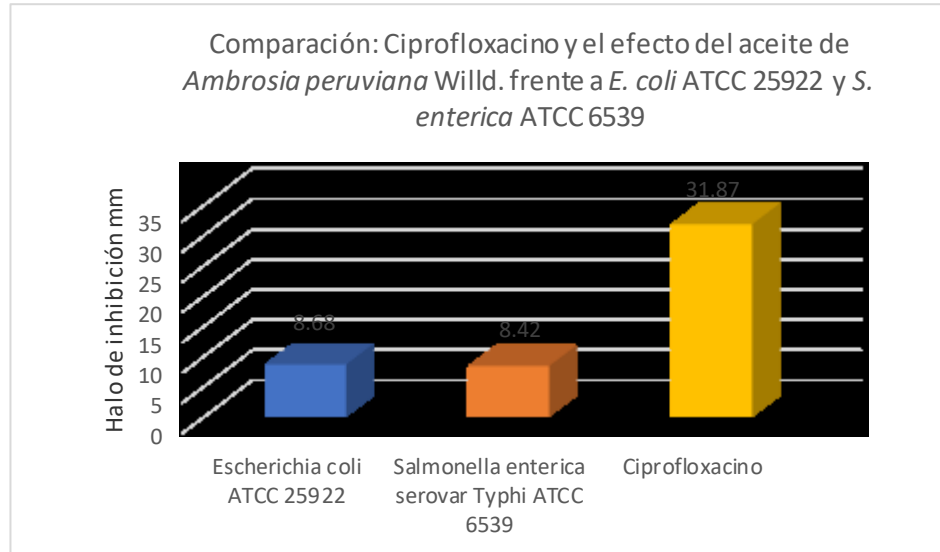


Figura 6. Comparación de medias de los halos de inhibición del Ciprofloxacino con el efecto antimicrobiano del aceite esencial de las hojas de *Ambrosia peruviana* Willd. (Marco Hembra) frente a *Salmonella enterica serovar typhi* ATCC 6539 y *Escherichia coli* ATCC 25922.

IV. DISCUSIÓN

4.1. Discusión de resultados

A partir de los hallazgos encontrados aceptamos la hipótesis general que establece que existe relación del aceite esencial de las hojas de *Ambrosia peruviana* Willd. (Marco Hembra) y su actividad antimicrobiana frente a *Salmonella entérica* serovar Typhi ATCC 6539 y *Escherichia coli* ATCC 25922 y su comparación con ciprofloxacino.

El rendimiento del aceite esencial de las hojas de *Ambrosia Peruviana* Willd. (Marco Hembra), obtenido fue de 0.06%, siendo mayor comparado con la investigación realizado por D'Armas *et al.*, 2017 en composición química de los aceites esenciales de las hojas de ocho plantas medicinales cultivadas en Ecuador, en el cual se obtuvo un rendimiento de 0,0071 % utilizando el método de hidrodestilación. Mientras que, las investigaciones realizadas por Azuero *et al.*, 2016 en análisis del efecto antimicrobiano de doce plantas medicinales de uso ancestral en Ecuador, obtuvo un 8,84 % de rendimiento, la obtención del extracto fue por maceración del polvo de las hojas con metanol y Ruiz *et al.*, 2015 en composición química de aceites esenciales de 10 plantas aromáticas peruanas, obtuvo un 0.17 para *Ambrosia Peruviana* Willd. (Marco Hembra) y 0.04 para *Ambrosia arborescens* Mill. (Marco macho), obtuvieron el aceite esencial, por medio de destilación por arrastre con vapor con agua de tallos y hojas. Ello podría deberse a distintos factores que intervienen como: condiciones climáticas, parte de la planta utilizada, distinto lugar de procedencia y método de extracción, en comparación a la presente investigación.

Según la marcha fitoquímica preliminar, se evidencia que el aceite esencial de *Ambrosia Peruviana* Willd. (Marco Hembra), presenta metabolitos secundarios que son considerados de gran importancia por la acción biológica que presentan, como es el caso de los compuestos fenólicos, flavonoides, taninos y lactonas α,β -insaturadas. De acuerdo a la investigación de Tarig *et al.*, en su estudio: Potenciales antioxidantes y antimicrobianos

del extracto de polvo de hoja de Damsissa (*Ambrosia maritima*) agregado a la carne picada durante el almacenamiento en frío, en el que demuestra, que la inhibición de los extractos podría atribuirse a su contenido de polifenoles y flavonoides. También es de importancia mencionar la investigación realizada por D'Armas *et al.*, 2017 en composición química de los aceites esenciales de las hojas de ocho plantas medicinales cultivadas en Ecuador, refiriendo, que el aceite esencial de *Ambrosia artemisiifolia* L. contiene Monoterpenos y una abundancia de Sesquiterpenos, los cuales son identificados por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG/EM), al cual se le atribuye la actividad bactericida y fungicida.

En nuestro trabajo, el aceite esencial de *Ambrosia Peruviana* Willd. (Marco Hembra), en la concentración de 100 %, presenta actividad antimicrobiana frente a *Escherichia coli* y *Salmonella enterica* serovar Typhi, con halos de inhibición de 8.22 y 8.54 mm respectivamente, tal como lo menciona Huayta *et al.*, 2016, quienes por medio del método de difusión en agar Mueller Hinton, demostraron actividad antibacteriana en las concentraciones de 50 y 100 %, cuyos halos de inhibición para *Ambrosia peruviana* Will y *Ambrosia arborescens* Mill son de 12.4 mm; 12.6 mm y 25.2 mm y 26,5 mm. respectivamente. Así mismo, en el estudio realizado por Tarig *et al.*, (2018), mostró una alta actividad antimicrobiana frente a *E. coli* y *S. aureus* con zonas de inhibición de 14.0 mm y 12.7 mm respectivamente. De manera similar, Mesa *et al.*, 2017, presentó inhibición sobre *Bacillus cereus* y *Bacillus subtilis*, con halos de inhibición del extracto de diclorometano de 10,5 y 15,0 mm de diámetro respectivamente, mediante el método de difusión con discos - Kirby-Bauer. Finalmente, en la investigación realizada por Azuero *et al.*, 2016, muestra un efecto bactericida leve tanto contra las bacterias Gram (+) como Gram (-).

4.2. Conclusiones

- En la presente investigación de la actividad del aceite esencial de las hojas de *Ambrosia peruviana* Willd. (Marco Hembra), los resultados mostraron que presenta actividad antimicrobiana frente a las cepas *Salmonella enterica* serovar Typhi ATCC 6539 y *Escherichia coli* ATCC 25922.
- El aceite esencial de las hojas de *Ambrosia peruviana* Willd. (Marco Hembra), a una concentración del 100 % presenta actividad antimicrobiana frente a la cepa *Salmonella enterica* serovar Typhi ATCC 6539, con un halo de inhibición promedio de 8.42, mientras que, en la concentración del 50 y 25 %, no evidencia inhibición del crecimiento microbiano.
- El aceite esencial de las hojas de *Ambrosia peruviana* Willd. (Marco Hembra), a una concentración del 100 %, presenta actividad antimicrobiana frente a la cepa *Escherichia coli* ATCC 25922, con un halo de inhibición promedio de 8.68 y 6.41 mm respectivamente, mientras que, en la concentración del 50 y 25 %, no evidencia inhibición del crecimiento microbiano.
- La actividad antimicrobiana para el aceite esencial de las hojas de *Ambrosia peruviana* Willd. (Marco Hembra) resultó menor en comparación con el estándar Ciprofloxacino que mostro un halo de inhibición promedio de 31.87mm.
- El análisis fitoquímico preliminar evidenció la presencia de compuestos fenólicos, flavonoides, taninos y lactonas α,β -insaturadas, para el aceite esencial de las hojas de *Ambrosia peruviana* Willd. (Marco Hembra).

4.3. Recomendaciones

- Se recomienda separar y caracterizar los metabolitos secundarios encontrados en el aceite esencial y así determinar qué sustancia le brinda la actividad antimicrobiana.
- Realizar estudios de comparación sobre la actividad antimicrobiana de *Ambrosia peruviana* Willd. (Marco Hembra), tomando muestras de distintos lugares de procedencia, distinta parte de la planta utilizada, en comparación a la presente investigación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Tafur A. La inocuidad de alimentos y el comercio internacional. Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias [Revista internet]. Setiembre 2009 [consultado el 30 de julio del 2020]; 22 (3):3-8. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-06902009000300009
2. Vasquez G. La contaminación de los alimentos, un problema por resolver. Revista de la Universidad Industrial de Santander.Salud [Revista internet]. Enero 2009. [Consultado el 30 de julio del 2020]; 35 (1): 2-10. Disponible en: <https://core.ac.uk/download/pdf/230209916.pdf>
3. Organización Mundial de la Salud. Inocuidad de los alimentos. [sede web][Monografías en internet]. Abril 2020. [Consultado el 01 de agosto del 2020]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/food-safety>
4. Organización Mundial de la Salud. [Sede web] 2015.][Monografías en internet] Diciembre 2015.[Consultado el 01 de agosto del 2020]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/detail/03-12-2015-who-s-first-ever-global-estimates-of-foodborne-diseases-find-children-under-5-account-for-almost-one-third-of-deaths>
5. Luis Ángel Ordóñez Ibargüen, Enfermedades Transmitidas por Alimentos [En línea]2017.Febrero [citado: 12.12.2019] (2pp.). Disponible en: <https://www.dge.gob.pe/portal/docs/vigilancia/boletines/2017/07.pdf>
6. García C. Resistencia antibiótica en el Perú y América Latina. [Revista internet]. Febrero 2012 [consultado el 30 de julio del 2020]; 12 (2): 2-5. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/amp/v29n2/a10v29n2.pdf>
7. Organización Mundial de la Salud. [Sede web] [Monografías en internet].2018 [Consultado el 02 de agosto del 2020]. Disponible en: [https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-\(non-typhoidal\)](https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-(non-typhoidal))
8. Barreto M. Salmonella enterica: una revisión de la trilogía agente, hospedero y ambiente, y su trascendencia en Chile. Revista chilena de infectología. [Revista internet]. Setiembre 2016[consultado el 30 de julio del 2020]; 33 (5):3-11. Disponible en:https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182016000500010

9. Organización Mundial de la Salud. [Sede web] [Monografías en internet].2018 [Consultado el 02 de agosto del 2020]. Disponible en: [https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-\(non-typhoidal\)](https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-(non-typhoidal))
10. Administración Nacional de Medicamentos Alimentos y Tecnología Médica. Anmat. [Sede web] [Monografías en internet]. [Consultado el 02 de setiembre del 2020]. Disponible en: <http://www.anmat.gov.ar/Alimentos/salmonelosis.pdf>
11. Organización Mundial de la Salud. [Sede web] [Monografías en internet].2018 [Consultado el 02 de agosto del 2020]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/e-coli>
12. Vademecum. [Sede web] [Monografías en internet] 2019[Consultado el 03 de agosto del 2020]. Disponible en: <https://www.vademecum.es/principios-activos-ciprofloxacino-j01ma02>
13. Alvarez. et al. Quinolonas. Perspectivas actuales y mecanismos de resistencia [Revista internet]. 2015 [Consultado el 01 de setiembre 2020];32(5) 2-6. Disponible en: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/rci/v32n5/art02.pdf>
14. Zambrana T. Beneficios de la fitoterapia. Revista Cubana de plantas medicinales [Revista en internet]. Agosto 2005 [Consultado 03 de agosto del 2020]; 10 (2):(1-3). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962005000200001
15. Montoya CG, Aceites esenciales plantas medicinales y aromáticas [libro electrónico] Colombia: 2010[Consultado 04 de agosto 2020]. Disponible en: <http://www.bdigital.unal.edu.co/50956/7/9588280264.pdf>
16. Alejandro M. Fernández Honores, Eric F. Rodríguez Rodríguez. Etnobotánica del Perú Pre-Hispano. 1 era. Ed. Trujillo: Ediciones Herbarium Truxillense (HUT); 2007
17. Tarig. M., et al., POTENCIAL ANTIOXIDANTE Y ANTIMICROBIANO DEL EXTRACTO EN POLVO DE LA HOJA DE DAMSISSA (Ambrosia maritima) AÑADIDO A CARNE PICADA ALMACENADA EN FRÍO. CyTA-Diario de alimentos [Revista internet]. Mayo 2018 [consultado 06 de agosto 2020]; 16(1) 3-6. Disponible en: <https://doi.org/10.1080/19476337.2018.1448456>
18. Mesa A., et al., ACTIVIDAD ANTIBACTERIAL Y LARVICIDA SOBRE Aedes aegypti L. DE EXTRACTOS DE Ambrosia peruviana Willd. (Altamisa). Revista Cubana de plantas medicinales [Revista internet]. Marzo 2017[consultado el 07

de agosto 2020]; 22(1) 5-11. Disponible en:
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962017000100011.

19. D'Armas H. et al., Composición química de los aceites esenciales de las hojas de ocho plantas medicinales cultivadas en Ecuador. Revista Cubana de plantas medicinales [Revista internet]. 2017 [consultado el 08 de agosto 2020]; 22(2) 3-8. Disponible en:
<http://revplantasmedicinales.sld.cu/index.php/pla/article/view/428/282>.
20. Azuero A., ANÁLISIS DEL EFECTO ANTIMICROBIANO DE DOCE PLANTAS MEDICINALES DE USO ANCESTRAL EN ECUADOR, [Tesis para obtener el título profesional de BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA]. Malacha: Universidad Técnica de Machala; 2015 [consultado 09 de agosto 2020]; [83pp.] Disponible en:
<http://ojs.unemi.edu.ec/index.php/cienciaunemi/article/view/342>.
21. Huayta N. et al., ACTIVIDAD INHIBITORIA in vitro DE ACEITE ESENCIAL DE MARCO (Ambrosia peruviana Will) y (Ambrosia arborescens Mill) FRENTE A Streptococcus mutans. Investigación Valdizana [Revista internet]. 2016 [Consultado el 04 de agosto 2020]; 10(1) 2-4. Disponible en:
<http://revistas.unheval.edu.pe/index.php/riv/article/view/54/55>.
22. Ruiz C. Et al., Composición química de aceites esenciales de 10 plantas aromáticas peruanas. Revista de la sociedad Química del Perú [Revista Internet]. Junio 2015 [Consultado el 05 de agosto 2020]; 81(2) 5-14. Disponible en:
http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1810-634X2015000200002.
23. BERNAL C. metodología de la investigación 3ª ed.: Colombia: Pearson 2006.
24. Sánchez H, Reyes M.C. Libro de metodología de la investigación científica 5a Perú: universidad Ricardo palma; 2015.
25. Lock O. Investigación fitoquímica 1a. Ed. Pontificia Universidad Católica del Perú, 1998. P. 1-7, 114-121.
26. Neelima Garg, K. Laboratory manual of food microbiology 1ª Ed. Ediciones Herbarium Truxillense, 2010.

ANEXO A: Operacionalización de la variable

TÍTULO: ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL ACEITE ESENCIAL DE LAS HOJAS DE <i>Ambrosia peruviana</i> Willd. (MARCO HEMBRA) FRENTE A <i>Salmonella enterica</i> serovar Typhi Y <i>Escherichia coli</i> Y SU COMPARACIÓN CON CIPROFLOXACINO”						
FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	OBJETIVOS DE INVESTIGACIÓN	HIPÓTESIS DE INVESTIGACIÓN	VARIABLES	TIPO Y NIVEL DE INVESTIGACIÓN	MÉTODO Y DISEÑO DE INVESTIGACIÓN	POBLACIÓN Y MUESTRA
<p>Problema general</p> <p>¿Presentará actividad antimicrobiana el aceite esencial de las hojas de <i>Ambrosia peruviana</i> Willd? (Marco Hembra) frente a <i>Salmonella enterica</i> serovar Typhi ATCC 6539 y <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 y esta actividad será comparable con ciprofloxacino?</p> <p>Problemas específicos</p> <p>- ¿Presentará actividad antimicrobiana el aceite esencial de las hojas de <i>Ambrosia peruviana</i> Willd. (Marco Hembra) a diferentes concentraciones frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922?</p>	<p>Objetivo General</p> <p>Determinar la actividad antimicrobiana del aceite esencial de las hojas de <i>Ambrosia peruviana</i> Willd. (Marco Hembra) frente a <i>Salmonella enterica</i> serovar Typhi ATCC 6539 y <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 y su comparación con ciprofloxacino.</p> <p>Objetivos Específicos</p> <p>- Analizar la actividad antimicrobiana del aceite esencial de las hojas de <i>Ambrosia peruviana</i> Willd. (Marco Hembra) a diferentes concentraciones frente a <i>Salmonella enterica</i> serovar Typhi ATCC 6539.</p>	<p>Hipótesis General</p> <p>El aceite esencial de las hojas de <i>Ambrosia peruviana</i> Willd. (Marco Hembra) presentará actividad antimicrobiana frente a <i>Salmonella enterica</i> serovar Typhi ATCC 6539 y <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 y su comparación con ciprofloxacino.</p> <p>Hipótesis Específicas</p> <p>- El aceite esencial de las hojas de <i>Ambrosia peruviana</i> Willd. (Marco Hembra) presentará actividad antimicrobiana frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.</p>	<p>Variable Independiente (x)</p> <p>Aceite esencial de las hojas de <i>Ambrosia peruviana</i> Willd. (Marco Hembra).</p> <p>Indicadores:</p> <p>x1: Concentración del aceite esencial 100%</p> <p>x2: Concentración del aceite esencial 50%</p>	<p>Tipo de Investigación:</p> <p>Cuantitativo:</p> <p>Cuasi experimental, va haber manipulación de variables.</p> <p>Nivel de Investigación:</p> <p>Explicativo: Se busca explicar la relación causal que existe entre las variables de estudio respectiva</p>	<p>Método de Investigación:</p> <p>Descriptivo comparativo:</p> <p>Porque se busca medir la actividad antibacteriana de las hojas de la <i>Ambrosia peruviana</i> Willd. (Marco hembra) con dos cepas <i>Salmonella enterica</i> serovar Typhi y <i>Escherichia coli</i>, con el propósito de comparar los resultados obtenidos entre la muestra respectiva. Parte de lo general a lo específico.</p>	<p>Población:</p> <p>Constituido por el recurso vegetal <i>Ambrosia peruviana</i> Willd. (Marco Hembra) proveniente de Mala – Lima.</p> <p>Muestra:</p> <p>Aceite esencial de las hojas de <i>Ambrosia peruviana</i> Willd. (Marco Hembra) proveniente de Mala – Lima.</p>

<p>- ¿Presentará actividad antimicrobiana el aceite esencial de las hojas de <i>Ambrosia peruviana</i> Willd. (Marco Hembra) a diferentes concentraciones frente a <i>Salmonella enterica</i> serovar Typhi ATCC 6539?</p> <p>- ¿Se puede comparar el efecto de <i>Ambrosia peruviana</i> Willd. (Marco Hembra) con ciprofloxacino?</p> <p>- ¿Cuáles son los metabolitos secundarios presentes en el aceite esencial de las hojas de <i>Ambrosia peruviana</i> Willd. (Marco Hembra)?</p>	<p>- Analizar la actividad antimicrobiana del aceite esencial de las hojas de <i>Ambrosia peruviana</i> Willd. (Marco Hembra) a diferentes concentraciones frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.</p> <p>- Comparar el efecto de <i>Ambrosia peruviana</i> Willd. (Marco Hembra) con ciprofloxacino.</p> <p>- Identificar los metabolitos secundarios del aceite esencial de las hojas de <i>Ambrosia peruviana</i> Willd. (Marco Hembra).</p>	<p>- El aceite esencial de las hojas de <i>Ambrosia peruviana</i> Willd. (Marco Hembra) presentará actividad antimicrobiana frente a <i>Salmonella enterica</i> serovar Typhi ATCC 6539.</p> <p>- Se puede comparar el efecto de <i>Ambrosia peruviana</i> Willd. (Marco Hembra) con ciprofloxacino.</p> <p>- Cuáles serán los metabolitos secundarios presentes en el aceite esencial de <i>Ambrosia peruviana</i> Willd. (Marco Hembra).</p>	<p>x3: Concentración del aceite esencial 25%</p> <p>Variable Dependiente (y)</p> <p>y: Actividad antimicrobiana .</p> <p>Indicadores:</p> <p>y1: Diámetro de halo de inhibición (mm)</p>		<p>Diseño de Investigación:</p> <p>Cuasi experimental: La variable independiente será manipulada bajo condiciones controladas.</p>	
---	--	--	--	--	--	--

ANEXO B: Instrumento de recolección de datos

EVALUACIÓN MICROBIOLÓGICA DEL ACEITE ESENCIAL DE LAS HOJAS DE *Ambrosia peruviana* Willd. (MARCO HEMBRA)

CEPAS	<i>Salmonella enterica</i> serovar Typhi ATCC 6539				<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922			
Concentración del aceite esencial (%)	Halos de inhibición (mm)				Halos de inhibición (mm)			
	n			̄x	n			̄x
	1	2	3		1	2	3	
100								
50								
25								
Control positivo Ciprofloxacino								

Leyenda:

n: Número de ensayos microbiológicos

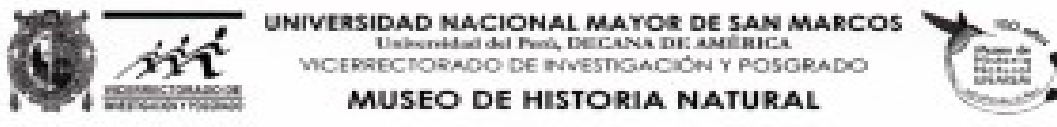
̄x: Promedio

Fuente: Elaboración propia

ANEXO E: Evidencias de trabajo de campo

Figura N° 7

Clasificación taxonómica



CONSTANCIA N° 05-USM-2020

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

La muestra vegetal (Planta con tallo, hojas y flores) recibida de **ELKE STEPHANIA IDROGO QUISPE**, de la Universidad Alas Peruanas; ha sido estudiada y clasificada como: *Ambrosia peruviana* Willd. 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: *Ambrosia*

ESPECIE: *Ambrosia peruviana* Willd.

Nombre vulgar: "Marco Hembra"

Determinado por Mag. María Isabel La Torre Acuy y Paul Gonzales

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para los fines que estime conveniente.

Lima, 7 de enero de 2020




Dra. Jacquima Albán Castillo
JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

JAC/yr.

Figura N° 8

Extracción del aceite esencial de las hojas de *Ambrosia peruviana* Willd. (MARCO HEMBRA).

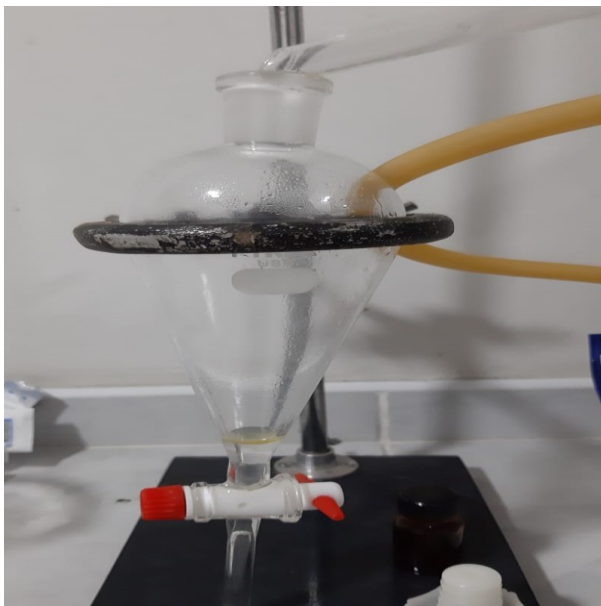


Figura N° 9

Ensayo de miscibilidad del aceite esencial de las hojas de *Ambrosia peruviana* Willd.
(Marco Hembra)

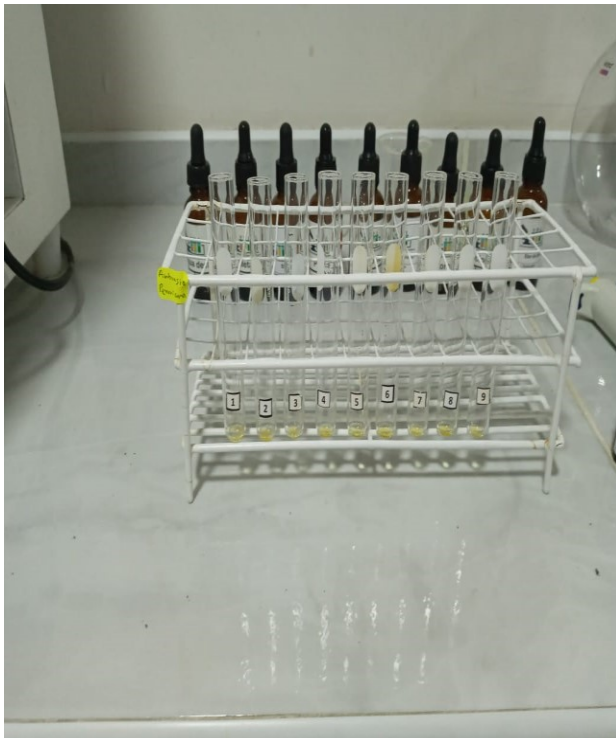


Figura N° 10

Tamizaje fitoquímico preliminar del aceite esencial de las hojas de *Ambrosia peruviana* Willd. (Marco Hembra).

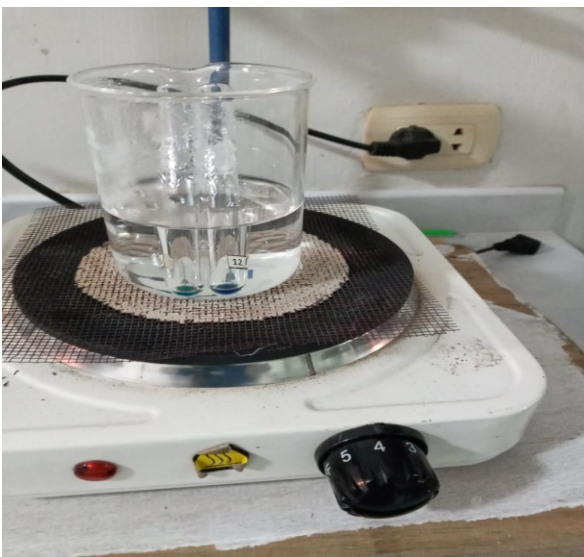
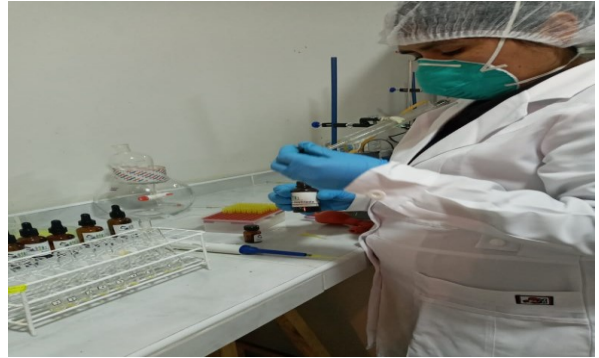
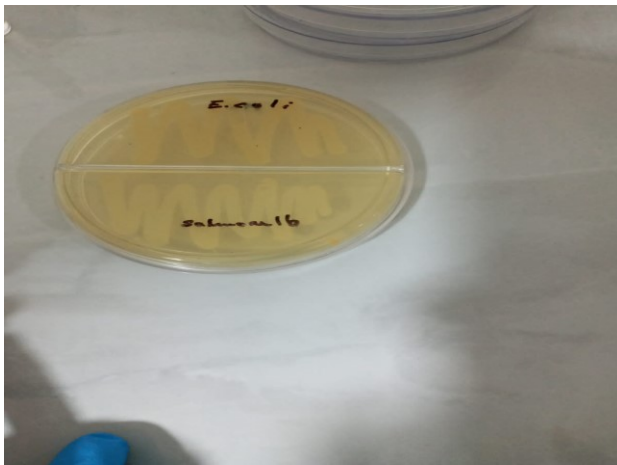
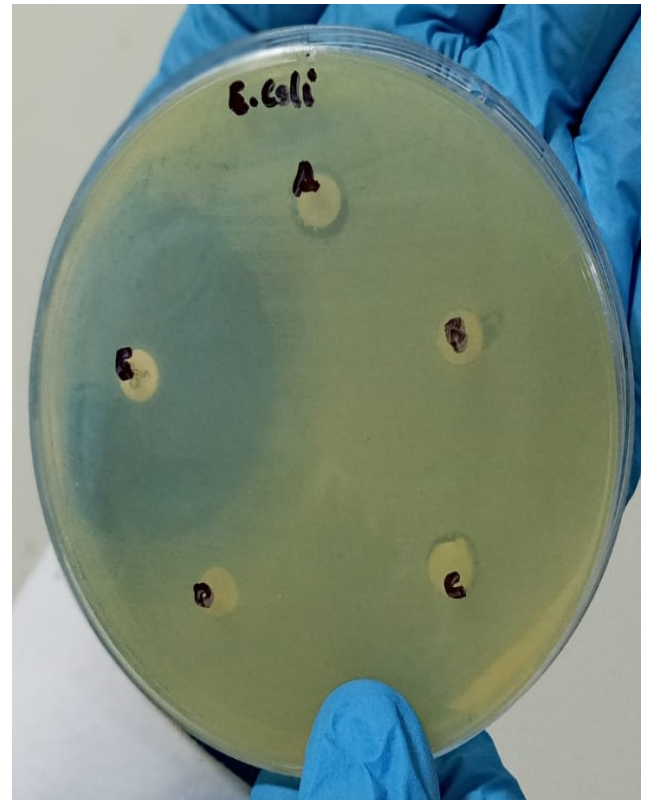


Figura N° 11

Actividad antimicrobiana del aceite esencial de las hojas de *Ambrosia peruviana* Willd. (Marco hembra) Frente a *Salmonella enterica* serovar Typhimurium y *Escherichia coli* y su comparación con ciprofloxacino.





Leyenda:

- A. Aceite esencial de las hojas de *Ambrosia peruviana* Willd. (Marco hembra) al 100 %
- B. Aceite esencial de las hojas de *Ambrosia peruviana* Willd. (Marco hembra) al 50 %
- C. Aceite esencial de las hojas de *Ambrosia peruviana* Willd. (Marco hembra) al 25 %
- D. DMSO
- E. Ciprofloxacino 5 μg

Fuente: Elaboración propia.