





Caracterización fitoquímica, actividad antioxidante y antibacteriana del aceite esencial y extractos de *Tagetes patula* sobre *Staphylococcus aureus*

Phytochemical characterization, antioxidant and antibacterial activity of essential oil and extracts of *Tagetes patula* on *Staphylococcus aureus*

Caracterização fitoquímica, atividade antioxidante e antibacteriana de óleo essencial e extratos de *Tagetes patula* em *Staphylococcus aureus*

Virginia Monserrate López Zambrano^{1*}, Alex Alberto Dueñas Rivadeneira², José Gerardo Cuenca Nevárez², Joan Manuel Rodríguez-Díaz^{3,4,5}

¹Maestría de Agroindustria, Instituto de Postgrado, Universidad Técnica de Manabí, Ecuador. Correo electrónico: vir_lopez@outlook.com, . ²Departamento de Procesos Agroindustriales. Facultad de Ciencias Zootécnicas. Universidad Técnica de Manabí, Ecuador. Correo electrónico: (AD) alduri81@hotmail.com, ; (JC) gercuenvarez12@aol.com . ³Laboratorio de Análisis Químicos y Biotecnológicos. Instituto de Investigación. Universidad Técnica de Manabí, Ecuador. Correo electrónico: joanrd9@yahoo.com, . ⁴Departamento de Procesos Químicos. Facultad de Ciencias Matemáticas, Físicas y Químicas. Universidad Técnica de Manabí, Ecuador. ⁵Programa de Pós-graduação em Engenharia Química. Universidade Federal da Paraíba, 58051-900. João Pessoa, Brasil.

Resumen

Tagetes patula es una especie vegetal ornamental y sus aceites esenciales contienen principios activos potencialmente alelopáticos. El objetivo del presente estudio fue evaluar la composición fitoquímica de extractos, la actividad antioxidante y antibacteriana del aceite esencial de hojas con flores de la especie, sobre *Staphylococcus aureus*. Para ello se realizó la extracción del aceite esencial

Recibido el 02-05-2020 • Aceptado el 06-06-2020.

*Autor de correspondencia. Correo electrónico: vir_lopez@outlook.com

por hidrodestilación, evaluándose las características físicas (solubilidad, densidad e índice de refracción) y fitoquímicas de los extractos a través de un tamizaje fitoquímico (alcaloides, flavonoides, fenoles, saponinas, taninos y azúcares reductores). La cuantificación de fenoles en el aceite esencial se realizó mediante el método de Folin Ciocalteu y la actividad antioxidante empleando DPPH y ABTS, la actividad antimicrobiana mediante la determinación de la concentración mínima inhibitoria. Los resultados obtenidos, mostraron para el aceite esencial, una densidad de $0,733 \text{ g.mL}^{-1}$, índice de refracción de 1,47 e insolubilidad en etanol (70 %), presencia de taninos, flavonoides y fenoles en los extractos. El contenido fenólico fue de $1024 \pm 0,19 \text{ mg.g}^{-1} \text{ TAE}$, la actividad antioxidante con DPPH, $87,6 \pm 0,18 \text{ } \mu\text{mol.g}^{-1} \text{ TE}$ y con ABTS $180,83 \pm 0,36 \text{ } \mu\text{mol.g}^{-1} \text{ TE}$ en equivalente Trolox. La concentración mínima inhibitoria fue de 16,67 mm frente a *S. aureus*, ante lo cual se concluye que, el aceite esencial de *T. patula* presentó actividad antioxidante frente a los radicales DPPH y ABTS, altos contenidos fenólicos y presentó en ensayos *in vitro* actividad antibacteriana frente a *S. aureus*.

Palabras clave: actividad antioxidante, biocontrol, *Staphylococcus aureus*, *Tagetes patula*.

Abstract

Tagetes patula is an ornamental plant species and its essential oils contain potentially allelopathic active ingredients. The objective of the present study was to evaluate the phytochemical composition of extracts, the antioxidant and antibacterial activity of the essential oil of flowering leaves of the species, on *Staphylococcus aureus*. For this, the extraction of the essential oil by hydrodistillation was carried out, evaluating the physical characteristics (solubility, density and refractive index) and phytochemical characteristics of the extracts through a phytochemical screening (alkaloids, flavonoids, phenols, saponins, tannins and reducing sugars). The quantifications of phenols in the essential oil was performed by the Folin Ciocalteu method, the antioxidant activity using the DPPH and ABTS tests, the antimicrobial activity by determining the minimum inhibitory concentration. The results obtained showed for the essential oil, a density of $0,733 \text{ g.mL}^{-1}$, refractive index of 1,47 and insolubility in ethanol (70 %), presence of tannins, flavonoids and phenols in the extracts. The phenolic content was $1.024 \pm 0,19 \text{ mg.g}^{-1} \text{ TAE}$, the antioxidant activity with DPPH was $87,6 \pm 0,18 \text{ } \mu\text{mol.g}^{-1} \text{ TE}$ and with ABTS $180,83 \pm 0,36 \text{ } \mu\text{mol.g}^{-1} \text{ TE}$ in Trolox equivalent. The minimum inhibitory concentration was 16,67 mm against *S. aureus*, in response to which it is concluded that the essential oil of *T. patula* had antioxidant activity against radicals DPPH and ABTS, high phenolic contents and showed antibacterial activity *in vitro* tests against *S. aureus*.

Keywords: antioxidant activity, biocontrol, *Staphylococcus aureus*, *Tagetes patula*.

Resumo

Tagetes patula é uma espécie de planta ornamental e seus óleos essenciais contêm ingredientes ativos potencialmente alelopáticos. O objetivo do presente estudo foi avaliar a composição fitoquímica dos extratos, a atividade antioxidante e antibacteriana do óleo essencial de folhas floridas das espécies, em *Staphylococcus aureus*. Para isso, foi realizada a extração do óleo essencial por hidro-destilação, avaliando as características físicas (solubilidade, densidade e índice de refração) e as características fitoquímicas dos extratos por meio de uma triagem fitoquímica (alcalóides, flavonóides, fenóis, saponinas, taninos e açúcares redutores). A quantificação dos fenóis no óleo essencial foi realizada pelo método de Folin Ciocalteu e a atividade antioxidante usando DPPH e ABTS, a atividade antimicrobiana pela determinação da concentração inibitória mínima. Os resultados obtidos mostraram, para o óleo essencial, uma densidade de 0,733 g.mL⁻¹, índice de refração de 1,47 e insolubilidade em etanol (70 %), presença de taninos, flavonóides e fenóis nos extratos. O conteúdo fenólico foi de 1024 ± 0,19 mg.g-1TAE, a atividade antioxidante com DPPH, 87,6 ± 0,18 µmol.g⁻¹ TE e com ABTS 180,83 ± 0,36 µmol.g⁻¹ TE em equivalente Trolox. A concentração inibitória mínima foi de 16,67 mm contra *Staphylococcus aureus*, em resposta à qual se conclui que o óleo essencial de *Tagetes patula* apresentou atividade antioxidante contra os radicais DPPH e ABTS, alto conteúdo fenólico e atividade antibacteriana em testes in vitro. contra *Staphylococcus aureus*.

Palavras-chave: atividade antioxidante, biocontrole, *Staphylococcus aureus*, *Tagetes patula*.

Introducción

El género *Tagetes* (Asteraceae) se compone de aproximadamente 30 especies entre las cuales cerca de la mitad están en México y en Cuba (Paniagua et al., 2017). *Tagetes patula* conocida también como cempasúchil, flor de muerto, se caracteriza por su contenido en carotenos y flavonoides (Yim et al., 2017). La flor tiene una pigmentación amarilla que se concentra al extraer el agua y se debe a la presencia de pro-vitaminas A (Shetty et al., 2015).

Los aceites esenciales (AE) están presentes como partes del sistema de defensa de la planta contra la infección

Introduction

The genus *Tagetes* (Asteraceae) is made up of approximately 30 species, of which about half are in Mexico and Cuba (Paniagua et al., 2017). *Tagetes patula* also known as cempasúchil, flor de muerto, is characterized by its content in carotenes and flavonoids (Yim et al., 2017). The flower has a yellow pigmentation that is concentrated when water is extracted and is due to the presence of pro-vitamins A (Shetty et al., 2015).

Essential oils (AE) are present as part of defense system of plant against microbial infection. AE can be lethal to bacteria, viruses, fungi,

microbiana. Los AE pueden ser letales para bacterias, virus, hongos, así como protozoos, parásitos, ácaros e insectos, o pueden simplemente inhibir la producción de metabolitos, tales como las micotoxinas (Reyes *et al.*, 2015 y Tajkarimi *et al.*, 2010).

En el texto de Plant List (2013), se destaca que los AE presentan compuestos químicos como alcaloides, monoterpenos, sesquiterpenos, lactonas, triterpenos, limonoides, aminas insaturadas, benzopiranos y terpenoides, con importante actividad biológica contra bacterias.

Los compuestos de naturaleza flavonoide y terpenoide son considerados agentes antioxidantes, lo que sugiere un uso potencial de estos fitoquímicos para el tratamiento de diferentes patologías como arterosclerosis, procesos antiinflamatorios, anticancerígenos y para reducir los niveles de colesterol (Gaitén *et al.*, 2018).

El aceite esencial de *T. minuta* es usado para tratar resfriados, inflamaciones respiratorias, problemas estomacales, además tiene propiedades como anti-espasmódico, antiparasitario, antiséptico e insecticida (Ordoñez, 2011), en perfumería, como colorante (fabricación de pasta, aceite vegetal, confitería, productos lácteos) y aromatizante (Shirazi *et al.*, 2014).

El AE tiene gran importancia industrial y biomédica, así como también en el campo industrial y en la agricultura en el control de plagas y enfermedades, debido a que presenta compuestos bioactivos con actividades bactericidas, fungicidas, nematocidas e insecticidas (Politi *et al.*, 2012).

as well as protozoa, parasites, mites, and insects, or they can simply inhibit the production of metabolites, such as mycotoxins (Reyes *et al.*, 2015 and Tajkarimi *et al.*, 2010).

In the text of Plant List (2013), it is highlighted that the AE present chemical compounds such as alkaloids, monoterpenes, sesquiterpenes, lactones, triterpenes, limonoids, unsaturated amines, benzopyrans and terpenoids, with important biological activity against bacteria.

Compounds of flavonoid and terpenoid nature are considered antioxidant agents, which suggests a potential use of these phytochemicals for the treatment of different pathologies such as atherosclerosis, anti-inflammatory, anticancer processes and to reduce cholesterol levels (Gaitén *et al.*, 2018).

The essential oil of *T. minuta* is used to treat colds, respiratory inflammations, stomach problems, it also has properties as anti-spasmodic, antiparasitic, antiseptic and insecticide (Ordoñez, 2011), in perfumery, as a dye (manufacture of pasta, vegetable oil, confectionery, dairy products) and flavoring (Shirazi *et al.*, 2014).

EA has great industrial and biomedical importance, as well as in the industrial and agricultural fields in the control of pests and diseases, due to the presence of bioactive compounds with bactericidal, fungicidal, nematocidal and insecticidal activities (Politi *et al.*, 2012).

Munita and Arias (2017), describe that *T. patula* species has components that ensure the control of microbial

Munita y Arias (2017), describen que la especie *T. patula*, tiene componentes que aseguran el control de la actividad microbiana, abarcando desde flavonoides, glicosilados y tiofenos en el extracto de la planta y el aceite esencial de la flor.

Los terpenoides también están asociados con las propiedades antifúngicas de extractos acuosos de *Hamelia patens* y la presencia de flavonoides en los aceites esenciales ayuda a reducir la oxidación el mismo que asegura la protección en los alimentos (Majedy et al., 2017).

Debido a la potente acción antibacterial de la especie vegetal *T. patula* y a su naturaleza, la cantidad de biomasa puede ser una importante característica, que junto con el intenso y agradable aroma hacen promisorio el aprovechamiento de sus aceites esenciales (Díaz, y Serrato, 2012).

La bacteria *Staphylococcus aureus* se encuentra en el conducto nasal, piel, tracto gastrointestinal y cavidad oral; esta bacteria patógena es causante de una gran cantidad de infecciones cutáneas de tejidos blando, pleuropulmonares y osteoarticulares (Todar, 2017). Se ha demostrado que es una bacteria resistente a antibióticos como la meticilina (Aires, 2017), haciéndose cada vez más necesario el uso de nuevas alternativas para su control.

S. aureus, es una bacteria anaerobia facultativa Gram (+), en consecuencia, pueden transmitirse a una amplia gama de alimentos, principalmente alimentos derivados de animales (leche, carne y huevos y los productos derivados) y alimentos consumidos en crudo (frutas, verduras, entre otros).

activity, ranging from flavonoids, glycosylated and thiophenes in the plant extract and the essential oil of the flower.

Terpenoids are also associated with the antifungal properties of aqueous extracts of *Hamelia patens*, and the presence of flavonoids in essential oils helps reduce oxidation, which ensures protection in food (Majedy et al., 2017).

Due to the powerful antibacterial action of *T. patula* and its nature, the amount of biomass can be an important characteristic, which together with the intense and pleasant aroma make the use of its essential oils promising (Díaz, & Serrato, 2012).

Staphylococcus aureus bacteria are found in the nasal passage, skin, gastrointestinal tract, and oral cavity; this pathogenic bacteria is the cause of a large number of skin infections of the soft, pleuropulmonary, and osteoarticular tissues (Todar, 2017). It has been shown that it is a bacterium resistant to antibiotics like methicillin (Aires, 2017), making it increasingly necessary to use new alternatives for its control.

S. aureus, is a facultative anaerobic Gram (+) bacterium, consequently they can be transmitted to a wide range of foods, mainly foods derived from animals (milk, meat and eggs and derived products) and foods consumed raw (fruits, vegetables, among others).

The objective of this work was to evaluate the phytochemical composition of extracts, the antioxidant and antibacterial activity of essential oil of the plant species *T. patula*, on *S. aureus*.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la composición fitoquímica de extractos, la actividad antioxidante y antibacteriana de aceite esencial de la especie vegetal *T. patula*, sobre *S. aureus*.

Materiales y métodos

Material vegetal

El material vegetal fue colectado en la zona de Ricaurte del cantón Chone, ubicada a una Latitud Norte $-0^{\circ} 34' 57,08$ y Longitud Oeste $-80^{\circ} 2' 25,68$; siendo este un clima cálido del litoral ecuatoriano, del centro geográfico del cantón Chone, de la Provincia de Manabí. Se realizó una clasificación taxonómica depositando un espécimen en el Herbario Nacional del Ecuador (QCNE), con el número de registro QCNE-007-2019 (123).

Procesamiento del material vegetal

Las hojas y flores de *T. patula* se lavaron con agua potable para retirar impurezas presentes, después de separada del tallo. Posteriormente, se secaron a la sombra, a temperatura ambiente, durante tres días. Después del secado, el material vegetal fue molido en un molino de cuchillas (Fritsch GmbH Pulverisette11, México) a un tamaño de partículas inferior a 0,5 mm y luego fue tamizado.

Extracción del aceite esencial.

La obtención del AE de hojas con flores de *T. patula* se realizó por hidrodestilación (marca Boeco, acoplado a una trampa de Clevenger). Para ello, se utilizó 50 g de material vegetal en 500 mL de agua destilada, con un tiempo aproximado de destilación de 30

Materials and methods

Vegetal material

The plant material was collected in the Ricaurte area of the Chone canton, located at North Latitude $-0^{\circ} 34' 57,08''$ and West Longitude $-80^{\circ} 2' 25,68''$; in a warm climate of the ecuadorian coast, of the geographical center of the Chone canton, Province of Manabí. A taxonomic classification was performed by depositing a specimen in the Herbario Nacional del Ecuador (QCNE), with registration number QCNE-007-2019 (123).

Plant material processing

Leaves and flowers of *T. patula* were washed with drinking water to remove impurities, after separating from stem. Subsequently, were dried in the shade, at room temperature, for three days. After drying, plant material was ground in a knife mill (Fritsch GmbH Pulverisette11, Mexico) to a particle size of less than 0,5 mm and then sieved.

Extraction of essential oil.

Obtaining of leaves with flowers AE of *T. patula* was carried out by hydrodistillation (Boeco brand, coupled to a Clevenger trap). For this, 50 g of plant material was used in 500 mL of distilled water, with an approximate distillation time of 30 minutes. Subsequently, a separation was carried out by decantation and immediately, oils were stored in amber vials at 5°C , until the respective analysis were carried out, according to standard NMX-K-090-1974.

Physical properties of essential oil

Refractive index: the refractive index was determined using a

minutos. Posteriormente, se realizó una separación por decantación e inmediatamente, los aceites fueron almacenados en viales ámbar a 5 °C, hasta la realización de los respectivos análisis, según la norma NMX-K-090-1974.

Propiedades físicas del aceite esencial

Índice de refracción: la determinación del índice de refracción se realizó utilizando un refractómetro (ABE modelo 2WAJ, Alemania). Para la medición, se depositaron dos gotas de AE de *T. patula* sobre el prisma del refractómetro y se procedió con la lectura a 20 °C. Este proceso se realizó por triplicado obteniendo su media.

Solubilidad: la solubilidad de los AE, se determinó empleando un tubo eppendorf de 1,5 mL, en el cual se adicionaron 100 µL de etanol al 70 % (v/v) y 2 µL del AE; la mezcla se homogenizó en un vórtex durante cinco (5) min a 20 rpm. Después de 30 segundos se visualizó el eppendorf en claridad para verificar si la mezcla estaba homogénea, o si se formaban dos fases. El análisis se realizó por triplicado.

Densidad: la densidad del AE se determinó a 20 °C, empleando un picnómetro de 1 mL de capacidad, limpio y seco. Este fue pesado en una balanza analítica (ACZET, modelo CY 304, Estado Unidos) y seguidamente se adicionó 1 mL del AE, tapándose y limpiándose el exceso de muestra. Luego, se pesó el conjunto y por diferencia de masa se determinó por triplicado la densidad relativa del AE, empleando la ecuación 1 (Torrenegra et al., 2015).

refractometer (ABE model 2WAJ, Germany). For the measurement, two drops of EA of *T. patula* were deposited on the prism of the refractometer and the reading was carried out at 20 °C. This process was performed in triplicate obtaining its mean.

Solubility: the solubility of the AE was determined using a 1,5 mL eppendorf tube, in which 100 µL of 70 % (v/v) ethanol and 2 µL of the EA were added; the mixture was homogenized in a vortex for five (5) min at 20 rpm. After 30 seconds the eppendorf was visualized in clarity to verify if the mixture was homogeneous, or if two phases were formed. The analysis was carried out in triplicate.

Density: the AE density was determined at 20 °C, using a clean and dry 1 mL pycnometer. This was weighed on an analytical balance (ACZET, model CY 304, United States) and then 1 mL of the EA was added, covering and cleaning the excess sample. Then, the whole was weighed and the relative density of the AE was determined in triplicate by mass difference, using equation 1 (Torrenegra et al., 2015).

$$\rho \left(\frac{g}{mL} \right) = \frac{(P_p + M) - P_p}{V} \quad \text{Equation 1}$$

Where:

P = AE density

P_p+M = Pycnometer mass + sample

P_p = Empty pycnometer mass

V = volume

Phytochemical screening

To evaluate the phytochemical

$$P \left(\frac{g}{mL} \right) = \frac{(Pp+M)-Pp}{V} \quad \text{Ecuación 1}$$

Donde:

P= Densidad del AE

Pp+M= Masa del picnómetro + muestra

Pp= Masa del picnómetro vacío

V= volumen

Tamizaje fitoquímico

Para evaluar la composición fitoquímica se utilizó el extracto acuoso obtenido de la extracción del material vegetal residual de la obtención del aceite esencial, con agua destilada, realizando una modificación del método de Schabra *et al.* (1984).

Ensayo para alcaloides (Wagner):

Para realizar este ensayo se usó 1,0 mL del extracto acuoso al cual se le agregó una gota de ácido clorhídrico concentrado y tres gotas de reactivo de Wagner, la formación de opacidad en la muestra, indica presencia de alcaloides.

Ensayo para flavonoides (Shinoda):

para la determinación de flavonoides, se empleó 1,0 mL del extracto acuoso y se le adicionó 1,0 mL de ácido clorhídrico y 3,0 mL de magnesio metálico, se esperó 5 minutos y después se colocó 1,0 mL de alcohol amílico, la formación de dos fases la primera de color amarillo y si la segunda fase se decolora, es positivo para flavonoides.

Ensayo para fenoles (hidróxido de sodio): para la determinación de fenoles, se tomó 1,0 mL del extracto acuoso y se adicionaron 6 gotas de hidróxido de sodio al 10 % m/v , la formación de un color amarillo, es positivo para fenoles.

composition, the aqueous extract obtained from the extraction of the residual plant material from obtaining the essential oil was used, with distilled water, making a modification of the method of Schabra *et al.* (1984).

Alkaloid Assay (Wagner): To perform this assay, 1,0 mL of the aqueous extract was used to which was added one drop of concentrated hydrochloric acid and three drops of Wagner's reagent, formation of opacity in the sample, indicates presence of alkaloids.

Test for flavonoids (Shinoda): for the determination of flavonoids, 1.0 mL of the aqueous extract was used and 1.0 mL of hydrochloric acid and 3.0 mL of metallic magnesium were added, it was left to stand for 5 minutes and then 1.0 mL of amyl alcohol was placed, the formation of two phases, the first one yellow, and if the second phase discolors, it is positive for flavonoids.

Test for phenols (sodium hydroxide): for the determination of phenols, 1.0 mL of the aqueous extract was taken and 6 drops of 10 % m/v sodium hydroxide were added, forming a yellow color, is positive for phenols.

Test for saponins: to determine the presence of saponins, 2.0 mL of the aqueous extract was placed in a test tube and stirred for 10 minutes, foaming for 2 minutes, indicates the presence of saponins.

Test for phenols and / or tannins (ferric chloride): in this test, 1.0 mL of the aqueous extract was used to which 3 drops of 5 % m/v ferric

Ensayo para saponinas: para la determinación de la presencia de saponinas se colocó 2,0 mL del extracto acuoso en un tubo de ensayos y se agitó por 10 minutos, la formación de espuma por 2 minutos, indica presencia de saponinas.

Ensayo para fenoles y/o taninos (cloruro férrico): en este ensayo, se usó 1,0 mL del extracto acuoso al cual se adicionaron 3 gotas de cloruro férrico al 5 % m/v , la formación de un color verde oscuro, es positivo para fenoles y/o taninos.

Ensayo para azúcares reductores (Benedict): en la determinación de azúcares, se empleó 0,5 mL del extracto acuoso, luego se adicionó el reactivo de Benedict, hasta que tomó un color azul. Posteriormente, se colocó en un baño de maría hasta que alcanzara una temperatura de 60 °C por 10 minutos, un cambio de color a marrón es positivo para azúcares reductores.

Actividad antioxidante del aceite esencial de *Tagetes patula*

Contenido fenólico: El contenido fenólico total (TPC) se determinó según el método descrito por Moreno *et al.* (2015), utilizando ácido tánico como estándar, y para la cuantificación, se empleó una ecuación de regresión ($y = 9,269529E.04 X$, $R^2 = 0,997$), basada en una curva de calibración estándar a diferentes concentraciones (50, 100, 150, 200, 250, 500, 750, 1000 mg.L⁻¹ de ácido tánico). Para el análisis, se preparó una mezcla de 3,41 µL de aceite esencial en 21,59 mL de agua destilada, de esta mezcla se tomaron 200 µL y se adicionaron 1,5 mL de agua destilada y 100 µL del reactivo

chloride were added, the formation of a dark green color, it is positive for phenols and/or tannins.

Test for reducing sugars (Benedict): in the determination of sugars, 0.5 mL of the aqueous extract was used, then the Benedict reagent was added, until it turned blue. Subsequently, it was placed in a water bath until it will reach a temperature of 60 °C for 10 minutes, a color change to brown is positive for reducing sugars.

Antioxidant activity of the essential oil of *Tagetes patula*

Phenolic content: The total phenolic content (TPC) was determined according to the method described by Moreno *et al.* (2015), using tannic acid as the standard, and for the quantification, a regression equation ($y = 9,269529E.04 X$, $R^2 = 0,997$) was used, based on a standard calibration curve at different concentrations (50, 100, 150, 200, 250, 500, 750.1000 mg.L⁻¹ of tannic acid). For the analysis, a mixture of 3.41 µL of essential oil in 21.59 mL of distilled water was prepared, 200 µL were taken from this mixture and 1.5 mL of distilled water and 100 µL of the Folin-Ciocalteu reagent were added. It was left to rest during 5 minutes, then 200 µL of 20 % m/v sodium carbonate were added. The solution was left to stand during 1 hour at room temperature without the presence of light and absorbance was read in a spectrophotometer (Genesys 180UV/VIS brand, United States), at a wavelength of 730 nm. The results were expressed in mg.g⁻¹ tannic acid equivalents (TAE).

DPPH method: The antioxidant activity using the DPPH method

Folin-Ciocalteu, se dejó reposar por cinco (5) minutos, luego se le agregaron 200 μL de carbonato de sodio al 20% m/v . La solución se dejó reposar por una (1) hora a temperatura ambiente sin presencia de luz y se procedió a la lectura de absorbancia en un espectrofotómetro (marca Genesys 180UV/VIS, Estados Unidos), a una longitud de onda de 730 nm. Los resultados se expresaron en $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ equivalentes de ácido tánico (TAE).

Método de DPPH: La actividad antioxidante empleando el método DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo), se determinó de acuerdo con el método propuesto por Kondo *et al.* (2002). Inicialmente se preparó el radical DPPH, para lo cual se pesaron 3,9432 mg del reactivo DPPH y se disolvió en 100 mL de metanol. Para el análisis de las muestras, se mezclaron 1,0 mL del aceite esencial diluido y 1,0 mL de reactivo DPPH, se dejó reposar por 30 minutos a temperatura ambiente en la oscuridad. La absorbancia se midió en el espectrofotómetro (marca Genesys 180UV/VIS, Estados Unidos), a una longitud de onda de 517 nm. La cuantificación se realizó a partir de una curva de calibración con trolox (2,5, 5, 10, 15, 20, 30 μM de trolox). Los resultados se expresaron en equivalentes Trolox (TEAC).

Método de ABTS: La actividad antioxidante empleando el método ABTS (ácido 2,2- azinobis-3-etil benzotiazolina-6-sulfónico), se determinó de acuerdo a la metodología utilizada por Rufino *et al.* (2007). Inicialmente, se preparó el radical ABTS^+ , para lo cual se pesaron 90,0585 mg de ABTS y se disolvieron

(2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), was determined according to the method proposed by Kondo *et al.* (2002). Initially, the DPPH radical was prepared, for which 3.9432 mg of the DPPH reagent were weighed and dissolved in 100 mL of methanol. For sample analysis, 1.0 mL of the diluted essential oil and 1.0 mL of DPPH reagent were mixed, allowed to stand for 30 minutes at room temperature in the dark. Absorbance was measured on the spectrophotometer (Genesys 180UV/VIS brand, United States), at a wavelength of 517 nm. Quantification was performed from a trolox calibration curve (2.5, 5, 10, 15, 20, 30 μM trolox). The results were expressed in Trolox equivalents (TEAC).

ABTS method: The antioxidant activity using the ABTS method (2,2-azinobis-3-ethyl benzothiazoline-6-sulfonic acid), was determined according to the methodology used by Rufino *et al.* (2007). Initially, the ABTS^+ radical was prepared, for which 90.0585 mg of ABTS were weighed and dissolved in 25.0 mL of distilled water to obtain a concentration of 7.0 mM. Subsequently, 16.5573 mg of potassium persulfate were weighed and dissolved in 25.0 mL of distilled water to obtain a concentration of 2.45 mM, immediately afterwards, the solutions of ABTS and potassium persulfate were mixed and allowed to react for 12 h at room temperature, in the dark. For the analysis of the samples, 1.0 mL of the diluted essential oil mixture was used and 1.0 mL of ABTS^+ reagent was added, leaving it to stand for one hour in

en 25,0 mL de agua destilada para obtener una concentración de 7,0 mM. Posteriormente, se pesaron 16,5573 mg de persulfato de potasio y se disolvieron en 25,0 mL de agua destilada para obtener una concentración de 2,45 mM, inmediatamente después, se mezclaron las soluciones de ABTS y persulfato de potasio y se dejaron reaccionar por 12 h a temperatura ambiente, en la oscuridad. Para el análisis de las muestras, se usó 1,0 mL de la mezcla diluida del aceite esencial y se adicionó 1,0 mL de reactivo ABTS⁺, dejándolo en reposo durante una hora en la oscuridad y a temperatura ambiente. La absorbancia se midió en el espectrofotómetro (Genesys 180UV/VIS, Estados Unidos), a una longitud de onda de 734 nm. La cuantificación se realizó a partir de una curva de calibración con trolox (1,25, 2,5, 5, 10, 15, 20 μ M de trolox). Los resultados se expresaron en equivalentes trolox (TEAC).

Actividad antibacteriana.

Para los ensayos microbiológicos, se trabajó con la bacteria *Staphylococcus aureus* donada por el Cepario del Laboratorio de Microbiología DISerLAB – PUCE. Inicialmente, se realizó la siembra, en agar sangre, incubándose por 24 horas a 37 °C. La cepa aislada, se inoculó en agar nutritivo, mediante una siembra en estría, con dos repeticiones, y se incubó por 24 horas a 37 °C. Luego se conservó en refrigeración a 4 °C. A partir del cultivo bacteriano en el agar nutritivo se seleccionaron cuatro colonias de cada una y se diluyeron en solución salina, hasta alcanzar una turbidez igual a la del tubo 0,5 de la

the dark and at room temperature. Absorbance was measured on the spectrophotometer (Genesys 180UV/VIS, United States), at a wavelength of 734 nm. Quantification was performed from a trolox calibration curve (1.25, 2.5, 5, 10, 15, 20 μ M of trolox). The results were expressed in trolox equivalents (TEAC).

Antibacterial activity.

For the microbiological tests, the bacterium *Staphylococcus aureus* donated by the Cepario of the Laboratorio de Microbiología DISerLAB - PUCE was used. Initially, sowing was performed on blood agar, incubating for 24 hours at 37 °C. The isolated strain was inoculated on nutrient agar, by streak seeding, with two replications, and incubated during 24 hours at 37 °C. It was then kept refrigerated at 4 °C. From the bacterial culture on nutrient agar, four colonies of each were selected and diluted in saline solution, until reaching a turbidity equal to that of tube 0.5 of the MacFarland scale (Montero et al., 2018). Then, a massive seeding was performed on Mueller Hinton agar.

The antibacterial activity of *T. patula* oil was determined by the disc diffusion method proposed by Kumar and Hazeena (2002). For this, the diluted strain was massively seeded on the agar and five 6 mm diameter Whatman filter paper discs, impregnated with 0.2 mL of essential oil and distilled water, were placed on the surface of the medium as a negative control and incubated at 37 °C for 24 hours. The test was carried out in triplicate.

escala de MacFarland (Montero *et al.*, 2018). Luego, se efectuó una siembra masiva sobre agar Mueller Hinton.

La actividad antibacteriana del aceite de *T. patula* se determinó por el método de difusión en disco propuesto por Kumar y Hazeena, (2002). Para lo cual la cepa diluida se sembró masivamente sobre el agar y se colocaron en la superficie del medio, cinco discos de papel de filtro tipo Whatman de 6 mm de diámetro, impregnados con 0,2 mL del aceite esencial y agua destilada, como control negativo y se incubaron a 37 °C, por 24 horas. El ensayo se efectuó por triplicado. Posteriormente, se midió el diámetro del halo de inhibición del crecimiento del microorganismo.

La concentración mínima inhibitoria (CMI), se aplicó para determinar la menor concentración del extracto que inhibe el crecimiento de *S. aureus*. Según Gómez, *et al.* (2007), para realizar este análisis, en primer lugar, se prepararon soluciones de los aceites en agua destilada (0,5 µg.mL⁻¹, 0,8 µg.mL⁻¹ y 1 µg.mL⁻¹). De cada uno de estos, se tomó 1,0 mL, para la dilución en el medio de cultivo (Martínez, *et al.*, 2000). La CMI, se evaluó por triplicado.

Análisis estadístico

Para realizar el análisis estadístico de los datos, se aplicó un ANOVA unifactorial que permitió comparar tres concentraciones de aceite esencial (0,5, 0,8, 1,0 µg.mL⁻¹) sobre la variable cuantitativa, que es la actividad antibacteriana del mismo. En lo que respecta a la igualdad de varianzas, se aplicó la prueba de Levene. La significancia, se calculó con un nivel de confianza del 95 % (p=0,05). Para

Subsequently, the diameter of the microorganism growth inhibition halo was measured.

The minimum inhibitory concentration (CMI) was applied to determine the lowest concentration of the extract that inhibits the growth of *S. aureus*. According to Gómez, *et al.* (2007), to carry out this analysis, firstly, solutions of the oils were prepared in distilled water (0.5 µg.mL⁻¹, 0.8 µg.mL⁻¹ and 1.0 µg.mL⁻¹). From each of these, 1.0 mL was taken, for dilution in the culture medium (Martínez, *et al.*, 2000). The CMI was evaluated in triplicate.

Statistical analysis

To perform the statistical data analysis, a unifactorial ANOVA was applied that allowed comparing three concentrations of essential oil (0.5, 0.8, 1.0 µg.mL⁻¹) on the quantitative variable, which is its antibacterial activity. Regarding equality of variances, the Levene test was applied. Significance was calculated with a confidence level of 95 % (p=0.05). To carry out these calculations, the statistical software “Statsoft statistica v7” was used.

Results and discussion

Physical properties of essential oil

Table 1 presents the results obtained in determining the physical properties of the essential oil of *T. patula*. These results are within the parameters established by the Mexican regulations (NMX-K-090-1974).

A refractive index of 1,47 was obtained, the EA has no solubility in ethanol (70 % v/v) and has a density

realizar estos cálculos, se empleó el software estadístico “Statsoft statistica v7”.

Resultados y discusión

Propiedades físicas del aceite esencial

En el cuadro 1 se presentan los resultados obtenidos en la determinación de las propiedades físicas del aceite esencial de *Tagetes patula*. Estos resultados están dentro de los parámetros establecidos por las normativas mexicana (NMX-K-090-1974).

of $0.733 \pm 0.002 \text{ g.mL}^{-1}$, measured at a temperature of $20 \text{ }^{\circ}\text{C}$, this value is lower than that reported by Silupu et al. (2019), in five essential oils from different plant species including huacatay (*T. minuta* L.), $0.900 \pm 0.002 \text{ g.mL}^{-1}$, obtained at $24 \text{ }^{\circ}\text{C}$, the season of year and room temperature, may influence the determination.

On the other hand, Mendoza et al. (2019), evaluated the physicochemical characteristics of the essential oil of the leaf of *T. minuta* L. (Huacatay), determined the relative percentage

Cuadro 1. Propiedades físicas del aceite esencial de hojas y flores de *Tagetes patula*.

Table 1. Physical properties of the essential oil of leaves and flowers of *Tagetes patula*.

| Análisis | Valores |
|--|-------------------------------------|
| Índice de refracción $20 \text{ }^{\circ}\text{C}$ | 1,47 |
| Solubilidad etanol al $70 \text{ } \%$ (v/v) | Negativa |
| Densidad $20 \text{ }^{\circ}\text{C}$ | $0,733 \pm 0,002 \text{ g.mL}^{-1}$ |

Se obtuvo un índice de refracción de 1,47, el AE no presenta solubilidad en etanol ($70 \text{ } \%$ v/v) y tiene una densidad de $0,733 \pm 0,002 \text{ g.mL}^{-1}$, medida a una temperatura de $20 \text{ }^{\circ}\text{C}$, este valor es inferior al reportado por Silupu et al. (2019), en cinco aceites esenciales de diferentes especies vegetales incluida la huacatay (*Tagetes minuta* L.), $0,900 \pm 0,002 \text{ g.mL}^{-1}$, obtenida a $24 \text{ }^{\circ}\text{C}$, pudiendo influir la época del año y la temperatura a la cual se realizó la determinación.

Por otra parte, Mendoza et al. (2019), evaluaron las características fisicoquímicas del aceite esencial de la hoja de *T. minuta* L. (Huacatay),

of its hydrocarbon and oxygenated components, and reported solubility in ethanol at $95 \text{ } \%$ v/v, unlike those results obtained in this work, in which Huacatay essential oil did not dissolve in $70 \text{ } \%$ v/v ethanol, indicating that the higher the alcohol content, the more soluble it is.

Phytochemical composition

The results obtained in the phytochemical characterization of the extracts of flower and leaves of *T. patula* indicate presence of secondary metabolites tannins, flavonoids and phenols (table 2).

Similar results were obtained by Kushwaha and Verma (2017),

determinaron el porcentaje relativo de sus componentes hidrocarbonados y oxigenados, y reportaron solubilidad en etanol al 95 % v/v , a diferencia de los resultados obtenidos en este trabajo, en el cual el aceite esencial de Huacatay, no se disolvió en etanol al 70 % v/v , lo que indica que a mayor grado alcohólico mayor solubilidad.

Composición fitoquímica

Los resultados obtenidos en la caracterización fitoquímica de los extractos de las hojas con flores de *Tagetes patula* indican la presencia de los metabolitos secundarios taninos, flavonoides y fenoles (cuadro 2).

who determined the phytochemicals present in *T. patula*, identifying polyphenolic compounds, such as phenols and flavonoids.

On the other hand, Camacho (2019), carried out an investigation on the phytochemical and antibacterial properties of extracts of leaves and flowers of *T. erecta*, and reported the presence of flavonoids, terpenes, tannins, coumarins and cardiotonic glycosides, they stated that phytochemicals can vary by species, soil quality, among others. In a similar work, in extracts from *T. erecta*, Massuh *et al.* (2017), reported

Cuadro 2. Metabolitos secundarios presentes en el extracto de hojas con flores de *Tagetes patula*.

Table 2. Secondary metabolites present in the extract of flower and leaves of *Tagetes patula*.

| Metabolitos secundarios | Presencia |
|-------------------------|-----------|
| Taninos | +++ |
| Alcaloides | - |
| Flavonoides | +++ |
| Saponinas | - |
| Fenoles | ++ |
| Azucares reductores | - |

Contenido: +++= abundante ++= moderado += bajo - = ausencia

Content: +++ = abundant ++ = moderate + = low - = absence

Resultados similares obtuvieron Kushwaha y Verma, (2017), quienes determinaron los fitoquímicos presentes en *T. patula*, identificando compuestos polifenólicos, como fenoles y flavonoides.

Por otra parte, Camacho (2019), realizó una investigación sobre las propiedades fitoquímicas y antibacterianas de extractos de hojas y flores de *T. erecta*, y reportaron la

the presence of flavonoids, terpenoids, tannins, saponins, cardiotonic glycosides and coumarins. These results can be validated by Scull *et al.* (2016), who indicate that the presence or absence of these metabolites in different plant species may vary due to agro-ecological conditions, gender, the extraction method used, among others.

presencia de flavonoides, terpenos, taninos, cumarinas y glucósidos cardiotónicos, afirmaron que los fitoquímicos pueden variar según la especie, la calidad del suelo, entre otros. En un trabajo similar, en extractos de *T. erecta*, Massuh *et al.* (2017), reportaron presencia de flavonoides, terpenoides, taninos, saponinas, glucósidos cardiotónicos y cumarinas. Estos resultados pueden ser validados por Scull *et al.* (2016), quienes indican que la presencia o ausencia de estos metabolitos en las diferentes especies vegetales, puede variar debido a las condiciones agroecológicas, el género, el método de extracción empleado, entre otros.

Actividad antioxidante

Los resultados obtenidos en la determinación de la actividad antioxidante del aceite esencial de *Tagetes patula*, en términos de fenoles, DPPH y ABTS se muestran en el cuadro 3.

Antioxidant activity

The results obtained in the determination of the antioxidant activity of the essential oil of *T. patula*, in terms of phenols, DPPH and ABTS are shown in table 3.

The total phenolic content equivalent of tannic acid for the EA of *T. patula* is 1,024 mg.g⁻¹ APR, lower phenol contents were reported by Saani *et al.* (2018) in the extract (ethyl acetate) of *T. erecta* flower, 48.2 mg.g⁻¹ GAE (gallic acid equivalent).

The antioxidant capacity of the essential oil of *T. patula* obtained with the ABTS + radical method is 180.83 μmol.g⁻¹ TE. Weiyu *et al.* (2016), carried out an investigation on the *in vitro* antioxidant potential of *T. erecta*, reported an inhibitory IC₅₀ concentration of quercetagenin (flavonoid) in ABTS of 1.833.97 μmol.L⁻¹.

The antioxidant capacity of *T. patula* essential oil obtained with

Cuadro 3. Fenoles totales y actividad antioxidante por los métodos DPPH y ABTS del aceite esencial de *Tagetes patula*.

Table 3. Total phenols and antioxidant activity by the DPPH and ABTS methods of *Tagetes patula* essential oil.

| Muestras | Fenoles | ABTS | DPPH |
|--|----------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|
| | Concentración mg.g ⁻¹ | Concentración μmol.g ⁻¹ | Concentración μmol.g ⁻¹ |
| Media | 102,40 | 18,08 | 8,76 |
| Desviación estándar | 0,57 | 0,37 | 0,18 |
| Capacidad antioxidante en equivalente trolox μmol TE.g ⁻¹ | -- | 180,83 | 87,60 |
| Fenoles totales equivalente de ácido tánico (mg.g ⁻¹) | 1.024,00 | -- | -- |

El contenido de fenoles totales equivalente de ácido tánico para el AE de *T. patula* es de 1.024 mg.g⁻¹TAE, menores contenidos de fenoles fueron reportados por Saani *et al.* (2018) en el extracto (acetato de etilo) de flor de *T. erecta*, 48,2 mg.g⁻¹ GAE (equivalente de ácido gálico).

La capacidad antioxidante del aceite esencial de *T. patula* obtenida con el método del radical ABTS⁺ es de 180,83 μmol.g⁻¹ TE. Weiyou *et al.* (2016), realizaron una investigación sobre el potencial antioxidante *in vitro* de la *T. erecta*, reportaron una concentración inhibitoria de IC50 de quercetagenin (flavonoide) en ABTS de 1.833,97 μmol.L⁻¹.

La capacidad antioxidante del aceite esencial de *T. patula* obtenida con el método del radical DPPH es 87,6 μmol.g⁻¹ TE. Menor capacidad antioxidante fue reportada por Nachtigall *et al.* (2007), en extractos de luteína provenientes de flores de *T. patula* L., 44 μmol.g⁻¹.

Por otra parte, Negi *et al.* (2013), determinaron la actividad antioxidante del aceite esencial de *Tagetes patula* L, empleando ácido ascórbico como estándar, la IC50 fue de 185,36 μmo.L⁻¹ y la del ácido ascórbico 99,3 μmol.L⁻¹. La inhibición del equivalente trolox fue determinado por la disminución de su absorbancia inducida por el antioxidante a 517 nm, en una curva de trolox.

Actividad antibacteriana

En el cuadro 4, se presenta el análisis de varianza del efecto del aceite esencial de *Tagetes patula* sobre la inhibición del crecimiento de *Staphylococcus aureus*.

the DPPH radical method is 87.6 μmol.g⁻¹ TE. Lower antioxidant capacity was reported by Nachtigall *et al.* (2007), in lutein extracts from flowers of *T. patula*, 44 μmol.g⁻¹.

On the other hand, Negi *et al.* (2013), determined the antioxidant activity of the essential oil of *T. patula*, using ascorbic acid as standard, the IC50 was 185.36 μmo.L⁻¹ and that of ascorbic acid 99.3 μmol.L⁻¹. Inhibition of the trolox equivalent was determined by decrease in its antioxidant-induced absorbance at 517 nm, on a trolox curve.

Antibacterial activity

Table 4 presents the analysis of variance of the effect of *Tagetes patula* essential oil on the growth inhibition of *Staphylococcus aureus*.

In the bacteria count in the inhibition halo, statistically significant differences (p<0.05) were observed between the treatments, determining that the concentration of the EA behaves differently, when inhibiting bacterial growth. Therefore, it is accepted that at least one of the treatments is different from the others, at a 95 % confidence level.

Figure 1 shows the results obtained in the growth inhibition of *S. aureus*, due to the effect of three concentrations of essential oil of *T. patula*.

It was determined that the concentration of 0.5 μg.mL⁻¹ versus the concentration of 0.8 μg.mL⁻¹, show significant differences (p<0.05), while 1.0 μg.mL⁻¹, shows characteristics intermediate to the two concentrations mentioned above.

The model proposed to establish

Cuadro 4. Análisis de varianza del efecto del aceite esencial de *Tagetes patula* sobre la inhibición del crecimiento de *Staphylococcus aureus*.

Table 4. Analysis of variance of the effect of the essential oil of *Tagetes patula* on the growth inhibition of *Staphylococcus aureus*.

| Fuente | Gl | SC | CM | F | Pr > F |
|--------|----|----------|--------|-------|--------|
| CMI | 2 | 1.076,33 | 538,16 | 12,40 | 0,005 |
| Error | 7 | 303,66 | 43,38 | | |
| Total | 9 | 1.380,00 | | | |

En el conteo de las bacterias en el halo de inhibición, se observaron diferencias estadísticas significativas ($p \leq 0,05$) entre los tratamientos, determinándose que la concentración del AE se comporta de manera distinta, al momento de inhibir el crecimiento bacteriano. Por lo que se acepta que al menos uno de los tratamientos es distinto a los otros, al 95 % de nivel de confianza.

En la figura 1 se muestran los resultados obtenidos en la inhibición del crecimiento de *S. aureus*, por efecto de las tres concentraciones del aceite esencial de *T. patula*.

Se determinó que la concentración de $0,5 \mu\text{g.mL}^{-1}$ frente a la concentración de $0,8 \mu\text{g.mL}^{-1}$, presentan diferencias significativas ($p \leq 0,05$), mientras que $1,0 \mu\text{g.mL}^{-1}$, muestra características intermedias a las dos concentraciones anteriormente mencionadas.

El modelo propuesto para establecer la actividad antibacteriana (cuadro 5), indica que a mayor concentración de aceite esencial mayor será el halo de inhibición. Por otra parte, el calor obtenido del coeficiente de determinación (R^2), indica la alta variabilidad de las tres

antibacterial activity (table 5) indicates that the higher the concentration of essential oil, the greater the halo of inhibition. On the other hand, the heat obtained from the coefficient of determination (R^2), indicates the high variability of the three concentrations of essential oil in contrast to the inhibition halos of *S. aureus*.

Rachuonyo, et al. (2016), evaluated the antimicrobial potential of *T. minuta* against *S. aureus* and reported a MIC of 17 ± 1.94 mm, additionally, they indicated that the inhibition with *T. minuta* was more effective, due to the presence of phytochemicals (flavonoids, alkaloids, tannins and saponins).

On the other hand, Vasudevan et al. (1997), in essential oil from *T. minuta* obtained a MIC for oil of 6.25 to 25 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ for Gram (+) bacteria and 25 to 50 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ for Gram (-) bacteria, with the lowest MIC of 6.25 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ against *S. faecalis*, for another species of *Tagetes* (marigold), the oil presented a MIC of 50 to 100 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ against Gram (+) and Gram (-) bacteria. Likewise, they indicated that the type of soil or climate influences the composition of

concentraciones de aceite esencial en contraste con los halos de inhibición de *S. aureus*.

Rachuonyo, *et al.* (2016), evaluaron del potencial antimicrobiano de *Tagetes minuta* contra *S. aureus* y

phytochemicals and that tannins and terpenes are biocidal components.

Essential oil could be an alternative to control *S. aureus* contamination in food, due to its bioactive components such as tannins,

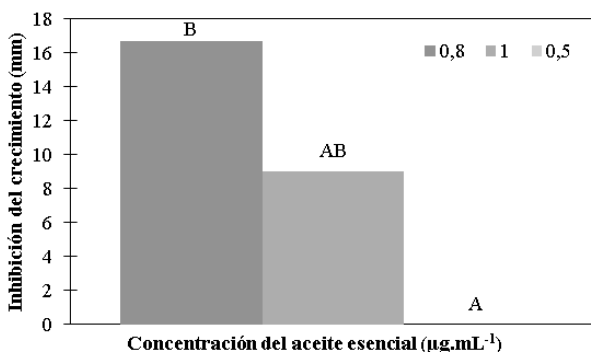


Figura 1. Inhibición del crecimiento de *Staphylococcus aureus* ante el efecto de tres concentraciones del aceite esencial de *Tagetes patula*. Valores con la misma letra no difieren estadísticamente, Tukey ($p \leq 0,05$).

Figure 1. Inhibition of the growth of *Staphylococcus aureus* under the effect of three concentrations of the essential oil of *Tagetes patula*. Values with the same letter do not differ statistically, Tukey ($p \leq 0.05$).

Cuadro 5. Análisis de los modelos de la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Tagetes patula*.

Table 5. Analysis of the models of antibacterial activity of the essential oil of *Tagetes patula*.

| Concentración | Shapiro-Wilk | R ² | Modelo |
|---------------|--------------|----------------|---------------------|
| CMI | 0,89 | 0,78 | DHI=16,67*C0,8+9*C1 |

reportaron un CMI de $17 \pm 1,94$ mm, adicionalmente, indicaron que fue más efectiva la inhibición con *T. minuta*, debido a la presencia de fitoquímicos (flavonoides, alcaloides, taninos y saponinas).

Por otra parte, Vasudevan *et al.* (1997), en aceite esencial de *T. minuta*

flavonoids and phenols, which makes possible the inhibition of this type of microorganisms, based on these results. the essential oil could be used as a food preservative, and subsequent studies should be carried out, in order not to alter the organoleptic properties of the same.

obtuvieron una CMI para el aceite de 6,25 a 25 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ para bacterias Gram (+) y 25 a 50 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ para bacterias Gram (-), con la CMI más baja de 6,25 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ contra *S. faecalis*, para otra especie de *Tagetes* (caléndula), el aceite presentó una CMI de 50 a 100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ contra bacterias Gram (+) y Gram (-), así mismo, indicaron que el tipo de suelo o clima influyen en la composición de los fitoquímicos y que los taninos y terpenos, son componentes biocidas.

El aceite esencial podría ser una alternativa para controlar la contaminación por *S. aureus* en alimentos, debido a sus componentes bioactivos como taninos, flavonoides y fenoles, lo cual hace posible la inhibición de este tipo de microorganismos, con base en estos resultados, se plantea que el aceite esencial se podría emplear como conservante de alimentos, y se deben realizar estudios posteriores, con el fin de no alterar las propiedades organolépticas de los mismos.

Conclusiones

El aceite esencial de *Tagetes patula* posee actividad antioxidante frente a los radicales ABTS y DPPH, con un alto contenido fenólico y actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus*.

Agradecimiento

A la Universidad Técnica de Manabí por el financiamiento del proyecto “Bioprospección de plantas medicinales nativas del Litoral Ecuatoriano y aplicación bioindustrial

Conclusions

Tagetes patula essential oil has antioxidant activity against radicals ABTS and DPPH, with a high phenolic content and antibacterial activity against *Staphylococcus aureus*.

Acknowledgement

To the Universidad Técnica de Manabí for financing the project “Bioprospecting of native medicinal plants of the Ecuadorian Coast and bioindustrial application of their extracts”, code PYT14-CONV2018-FCZ0010 of which this article is part of the results, and to Laboratorio de Microbiología DISerLAB - PUCE, for your contribution to the research.

End of English Version

de sus extractos”, código PYT14-CONV2018-FCZ0010 del cual el presente artículo forma parte de los resultados y al Laboratorio de Microbiología DISerLAB – PUCE, por su aporte en la investigación.

Literatura citada

- Aires de Sousa, M. 2017. Methicillinresistant *Staphylococcus aureus* among animals: current overview. Clin Microbiol Infec 23: 373-380.
- Camacho, C., Y. Pérez, A. Valdivia, H. Ramírez y L. Gómez. 2019. Propiedades fitoquímicas y antibacterianas de extractos de *Tagetes erecta* L. (Asteraceae). Revista Cubana de Química, 31(1): 53-64.
- Díaz, F., y M. Serrato, 2012. Composición del aceite esencial de *Tagetes parryi* A.

- Gray. Revista Fitotecnia Mexicana 32:145–148.
- Gaitén, Y., R. Lizama, G. Simón y A Álvarez. 2018. Evaluación farmacognóstica, fitoquímica y biológica de un extracto hidroalcohólico de *Tagetes lucida* Cavanilles. Revista Cubana de Plantas Medicinales, 23: 2.
- Gómez, Y., K. Gil, E. González y L. Fariás. 2007. Actividad antifúngica de extractos orgánicos del árbol *Fagara monophylla* (Rutaceae) en Venezuela. Revista de Biología Tropical, 55(3-4): 767-775
- Kondo, S., K. Tsuda, N. Muto y J. Ueda. 2002. Antioxidant activity of apple skin or flesh extracts associated with fruit development no selected apple cultivars. Sci Hortic.; 961(4): 177-185.
- Kumar, R., y V. Hazeena. 2002. Antimicrobial studies of some selected medicinal plants. Ancient science of life. 21: 230-9.
- Kushwaha, D. y Y. Verma. 2017. Evaluation of Antioxidant and Free Radical Scavenging Activity of *Tagetes patula*. Annual Research & Review in Biology, 1-8
- Majedy, Y., A. Amiery, A. Kadhum y A. Bakarmohamad. 2017. Antioxidant activity of coumarins. Systematic Reviews in Pharmacy., 8(1): 24-30.
- Martínez, M., M. Barreiro, Z. Morejon y Y. Ruba. 2000. Actividad antimicrobiana de un ex- tracto fluido al 80% de *Schinus terebithifolius* Raddi Coppal. Rev. Cubana Plantas Medicinales. 5(1): 23-25.
- Massuh, Y., L. Torres, S. Ocaño, P. Brunetti, A. Chaves, J. Zygado y M. Ojeda. 2017. Generación y caracterización de una población de *Tagetes minuta* de base genética amplia-Obtención de individuos selectos. Raggio; Phyton; 86(11): 214-223
- Mendoza, J., R. Floriano y E. Milagros. 2019. Características fisicoquímicas del aceite esencial y determinación del porcentaje relativo de sus componentes hidrocarbonados y oxigenados de la hoja de *Tagetes minuta* L. (HUACATAY). 1-46
- Montero, M., J. Mira, D. Avilés, P. Pazmiño y R. Erazo. 2018. Eficacia antimicrobiana del aceite esencial de tomillo (*Thymus vulgaris*) sobre una cepa de *Staphylococcus aureus*. Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú, 29(2): 588-593
- Moreno, J., L. De La Rosa, J. López, J. Rodrigo, J. Núñez y E. Álvarez. 2015. Effect of the smoking process and firewood type in the phytochemical content and antioxidant capacity of red Jalapeño pepper during its transformation to chipotle pepper. Food Research International 76: 654-660.
- Munita, J. y A. Arias. 2017. Mechanisms of Antibiotic Resistance. Microbiol Spectr, 4 :2, 1-37. DOI:10.1128/microbiolspec. VMBF-0016-2015.
- Nachtigall, A., P. Stringheta y A. Stringheta. 2007. Atividade antioxidante de extratos de luteína proveniente de flores de *Tagetes patula* L. e *Calendula officinalis* L. Ornamental Horticulture, 13: 1391
- Negi, J., V. Bisht, A. Bhandari y R. Sundriyal. 2013. Essential oil contents and antioxidant activity of *Tagetes patula* L. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 16(3): 364-367.
- Ordoñez, R. 2011. Actividad insecticida de los aceites esenciales de *Tagetes minuta* y *Tagetes zipaquirensis* sobre *Premnotrypes vorax*. Tesis para optar el título de Bioquímico Farmaceutico. Riobamba, Ecuador. 131 pp.
- Paniagua, Y., M. Alvarez y R. Vivero. 2017. Caracterización de la estructura y composición vegetal del bosque del Jardín Botánico de Medellín con énfasis en el Carbono almacenado. Documentos de Trabajo ECAPMA Rev. Biodivers. Neotrop. 6(1): 12-21.
- Politi, S., F. Mara, A. Mendez, S. Rodriguez, M. Camargo, J. Szabo, G. Bechara, L. Santos, W. Villegas y P. Rodrigues. 2012. Acaricidal activity of ethanolic extrac from aerial parts of *Tagetes patula* L. (Asteraceae) against larvae and engorged adult females of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806). Parasites & vectors, 5:1, 295

- Rachuonyo, H., P. Ogola, W. Arica, N. Kiboi y J. Wambani. 2016. Antimicrobial potency of methanolic leaf extracts from selected medicinal plants against *Staphylococcus aureus*. Journal of Medical Microbiology y Diagnosis. 5: 219,2161-0703.
- Reyes, F., A. Franco, N. Ramírez, E. Palou y A. López. 2015. Essential oils: antimicrobial activities, extraction methods, and their modeling. Food Engineering Reviews, 7(3): 275–297.
- Rufino, M., R. Alves, E. Brito, S. Morais, G. Sampaio, J. Pérez y F. Saura. 2007. Metodología Científica: Determinação da Atividades Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre ABTS. EMBRAPA. Comunicado Técnico on-line n° 127. Fortaleza. Folhetos. 1-5
- Saani, M., A. Lawrence y K. Lawrence. 2018. Evaluation of Natural Pigments as Antioxidant and Antibacterial agents from *Tagetes erecta* flowers extracts. Oriental Journal of Chemistry, 34(5): 2608.
- Schabra, S., F. Ulso y E. Mshin. 1984. Phytochemical screening of Tanzanian medical plants. J Etnopharmacol, 11(2): 157-9.
- Shetty, L., F. Sakr, K. Al Obaidy, J. Patel y H. Shareef. 2015. A brief review on medicinal plant *Tagetes erecta* Linn. Journal of Applied Pharmaceutical Science. 5(3): 091-095.
- Shirazi, T., H. Gholami, G. Kavooosi, V. Rowshan y A. Tafsiry. 2014. Chemical composition, antioxidant, antimicrobial and cytotoxic activities of *Tagetes minuta* and *Ocimum basilicum* essential oils. Food Science & Nutrition, 146-155
- Silupu, J., J. Muñoz, C. Silvera y R. Salcedo. 2019. Composición química, características fisicoquímicas y capacidad antioxidante de aceites esenciales de cinco hierbas aromáticas. Repositorio de revistas de la universidad privada de pucallpa, 4(2): 12-12.
- Statsoft Statistica v7.0.61.0. 2014 Copyright ©Statsoft, Inc.y IBS SPSS Statistics.
- Scull, R., Y. Gutiérrez, A. Sánchez y A. Montes. 2016. Análisis farmacognóstico de *Tagetes lucida* cav. y sus extractos hidroalcohólicos. Revista de Ciencias Farmacéuticas y Alimentarias, 2(1): 10-18
- Tajkarimi, M., S. Ibrahim y D. Cliver. 2010. Antimicrobial herb and spice compounds in food. Food Control, 21(9): 1199–1218.
- Terminología de aceites esenciales. 1974. (NMX-K-090-1974). Definitions of terms relating to essential oils. Normas mexicanas. Dirección general de normas.
- The Plant List. 2013. A working list of all plant species. Version 1.1. Royal Botanic Gardens, Kew and Missouri Botanical Garden. Follets.
- Todar, K. 2017. *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcal Disease*. In: Todar's online textbook of bacteriology. 9-15.
- Torrenegra, M., G. Matiz y G. León. 2015. Actividad antibacteriana *in vitro* de aceites esenciales frente a microorganismos implicados en el acné. Revista Cubana de Farmacia. 49: 3.
- Vasudevan, P., S. Kashyap y S. Sharma. 1997. *Tagetes*: a multipurpose plant. Bioresource Technology, 6(21-2): 29-35.
- Weiyu, W., X. Honggao, C. H. Hua, T. Kedong, L. Fuguo y G. Yanxiang. 2016. *In vitro* antioxidant, anti-diabetic and antilipemic potentials of quercetagenin extracted from marigold (*Tagetes erecta* L.) inflorescence residues. Revista de ciencias y tecnología de alimentos 53(6): 2614-2624
- Yim, B., H. Nitt, A. Wrede, S. Jacquiod, J. Sørensen, T. Winkelmann y K. Smalla. 2017. Efectos del pretratamiento del suelo con gránulos de basamid, *Brassica juncea*, *Raphanus sativus* y *Tagetes patula* en comunidades bacterianas y fúngicas en dos sitios de enfermedades de replantación de manzanas. Frontiers in microbiology, 8: 1604.