

**POTENCIAL INHIBITORIO DE EXTRACTOS
DE HIERBA LUISA (*ALOYSIA CITRIODORA*)
Y JENGIBRE (*ZINGIBER OFFICINALE*)
CONTRA *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*
EN CARNE DE RES**

Almeida-Casanova, Bryan Daniel
Zambrano- Muñoz, Denisse Margoth
Aldas-Morejón, Jhonnatan Placido
Zambrano-Muñoz, Roxanna Mercedes
Revilla-Escobar, Karol Yannela



Potencial inhibitorio de extractos de hierba luisa (*Aloysia citriodora*) y jengibre (*Zingiber officinale*) contra *Staphylococcus aureus* en carne de res

Autor/es:

Almeida-Casanova, Bryan Daniel

Universidad Técnica Estatal de Quevedo

Zambrano-Muñoz, Denisse Margoth

Universidad Técnica Estatal de Quevedo

Aldas-Morejón, Jhonnatan Placido

Universidad Nacional de Cuyo

Zambrano-Muñoz, Roxanna Mercedes

Plantaciones de Balsa Plantabal S.A

Revilla-Escobar, Karol Yannela

*Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Universidad Nacional
de Cuyo*

Datos de Catalogación Bibliográfica

Almeida-Casanova, B. D.
Zambrano-Muñoz, D. M.
Aldas-Morejón, J. P.
Zambrano-Muñoz, R. M.
Revilla-Escobar, K. Y.

Potencial inhibitorio de extractos de hierba luisa (*Aloysia citriodora*) y jengibre (*Zingiber officinale*) contra *Staphylococcus aureus* en carne de res.

Editorial Grupo AEA, Ecuador, 2024
ISBN: 978-9942-651-64-8
Formato: 210 cm X 270 cm

76 págs.



Publicado por Editorial Grupo AEA

Ecuador, Santo Domingo, Vía Quinindé, Urb. Portón del Río.

Contacto: +593 983652447; +593 985244607

Email: info@editorialgrupo-aea.com

<https://www.editorialgrupo-aea.com/>

Director General:	Prof. César Casanova Villalba.
Editor en Jefe:	Prof. Giovanni Herrera Enríquez
Editora Académica:	Prof. Maybelline Jaqueline Herrera Sánchez
Supervisor de Producción:	Prof. José Luis Vera
Diseño:	Tnlgo. Oscar J. Ramírez P.
Consejo Editorial	Editorial Grupo AEA

Primera Edición, 2024

D.R. © 2024 por Autores y Editorial Grupo AEA Ecuador.

Cámara Ecuatoriana del Libro con registro editorial No 708

Disponible para su descarga gratuita en <https://www.editorialgrupo-aea.com/>

Los contenidos de este libro pueden ser descargados, reproducidos difundidos e impresos con fines de estudio, investigación y docencia o para su utilización en productos o servicios no comerciales, siempre que se reconozca adecuadamente a los autores como fuente y titulares de los derechos de propiedad intelectual, sin que ello implique en modo alguno que aprueban las opiniones, productos o servicios resultantes. En el caso de contenidos que indiquen expresamente que proceden de terceros, deberán dirigirse a la fuente original indicada para gestionar los permisos.

Título del libro:

Potencial inhibitorio de extractos de hierba luisa (*Aloysia citriodora*) y jengibre (*Zingiber officinale*) contra *Staphylococcus aureus* en carne de res.

© Almeida Casanova, Bryan Daniel; Zambrano Muñoz, Denisse Margoth; Aldas Morejon, Jhonnatan Placido; Zambrano Muñoz, Roxanna Mercedes; Revilla Escobar, Karol Yannela.

© Diciembre, 2024

Libro Digital, Primera Edición, 2024

Editado, Diseñado, Diagramado y Publicado por Comité Editorial del Grupo AEA, Santo Domingo de los Tsáchilas, Ecuador, 2024

ISBN: 978-9942-651-64-8



<https://doi.org/10.55813/egaea.l.109>

Como citar (APA 7ma Edición):

Almeida-Casanova, B. D., Zambrano-Muñoz, D. M., Aldas-Morejon, J. P., Zambrano-Muñoz, R. M., & Revilla-Escobar, K. Y. (2024). *Potencial inhibitorio de extractos de hierba luisa (Aloysia citriodora) y jengibre (Zingiber officinale) contra Staphylococcus aureus en carne de res*. Editorial Grupo AEA. <https://doi.org/10.55813/egaea.l.109>

Cada uno de los textos de Editorial Grupo AEA han sido sometido a un proceso de evaluación por pares doble ciego externos (double-blindpaperreview) con base en la normativa del editorial.

Revisores:



Ing. Guamán Rivera Santiago Alexander, PhD.

Escuela Superior Politécnica de Chimborazo – Ecuador



Ing. Flores Mancheno César Iván, PhD.

Escuela Superior Politécnica de Chimborazo – Ecuador



Los libros publicados por “**Editorial Grupo AEA**” cuentan con varias indexaciones y repositorios internacionales lo que respalda la calidad de las obras. Lo puede revisar en los siguientes apartados:



Editorial Grupo AEA

 <http://www.editorialgrupo-aea.com>

 Editorial Grupo AeA

 editorialgrupoea

 Editorial Grupo AEA

Aviso Legal:

La información presentada, así como el contenido, fotografías, gráficos, cuadros, tablas y referencias de este manuscrito es de exclusiva responsabilidad del/los autor/es y no necesariamente reflejan el pensamiento de la Editorial Grupo AEA.

Derechos de autor ©

Este documento se publica bajo los términos y condiciones de la licencia Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional (CC BY-NC-SA 4.0).



El “copyright” y todos los derechos de propiedad intelectual y/o industrial sobre el contenido de esta edición son propiedad de la Editorial Grupo AEA y sus Autores. Se prohíbe rigurosamente, bajo las sanciones en las leyes, la producción o almacenamiento total y/o parcial de esta obra, ni su tratamiento informático de la presente publicación, incluyendo el diseño de la portada, así como la transmisión de la misma de ninguna forma o por cualquier medio, tanto si es electrónico, como químico, mecánico, óptico, de grabación o bien de fotocopia, sin la autorización de los titulares del copyright, salvo cuando se realice confines académicos o científicos y estrictamente no comerciales y gratuitos, debiendo citar en todo caso a la editorial. Las opiniones expresadas en los capítulos son responsabilidad de los autores.

RESEÑA DE AUTORES

**Almeida Casanova, Bryan Daniel**

Universidad Técnica Estatal de Quevedo

balmeidac@uteq.edu.ec<https://orcid.org/0009-0005-2878-5086>

Nació el 12 de noviembre de 2000 en El Empalme, Provincia del Guayas, es Ingeniero Agroindustrial egresado de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo. A sus 23 años, ha orientado su carrera hacia la optimización de procesos productivos y la implementación de tecnologías sostenibles en el sector alimentario. Su participación en proyectos de investigación se ha centrado en la valorización de subproductos agrícolas y el desarrollo de técnicas de procesamiento eficientes y ecológicas. Busca contribuir al desarrollo agroindustrial de Ecuador mediante la aplicación de soluciones innovadoras que promuevan la sostenibilidad y beneficien tanto a los productores como al medio ambiente.

**Zambrano Muñoz, Denisse Margoth**

Universidad Técnica Estatal de Quevedo

dzambranom@uteq.edu.ec<https://orcid.org/0000-0002-2168-2130>

Nació el 11 de junio de 1991, en Quevedo, Provincia de Los Ríos, Ingeniera Agroindustrial de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Master en Agroalimentación, Producción y Tecnologías Agroalimentarias en la Universidad de Córdoba- España, Doctoranda en Ingeniería Agraria, Alimentaria, Forestal y del Desarrollo Rural Sostenible en la Universidad de Córdoba-España e IFAPA. Docente de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Investigadora destacada en proyectos de investigación orientados a los compuestos bioactivos y la sostenibilidad en la industria del cacao. Su trabajo ha sido reconocido y publicado en varios artículos científicos, contribuyendo significativamente al avance del conocimiento en su área.

RESEÑA DE AUTORES



Aldas Morejon, Jhonnatan Placido



Universidad Nacional de Cuyo



aldas.jhonnatan@uncuyo.edu.ar



<https://orcid.org/0000-0003-3592-0563>



Nació el 7 de abril de 1991, se ha destacado en el ámbito de la ingeniería agroindustrial. Con una sólida formación académica, cuenta con dos maestrías: una en Dirección de la Producción y Mejora de los Procesos Industriales por la Universitat de Barcelona, España, y otra en Agroindustria, con mención en Gestión de Calidad y Seguridad Alimentaria en la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí, Ecuador. Actualmente, se desempeña como técnico de inocuidad, donde su labor se centra en la vigilancia y control de los alimentos en su fase primaria de producción. Su compromiso con la seguridad alimentaria y la calidad se refleja en su trayectoria profesional y en su dedicación a la mejora continua en el sector agroindustrial. A lo largo de su carrera, ha contribuido significativamente al conocimiento en su campo, publicando alrededor de 30 artículos científicos y un capítulo de libro. Su pasión por la investigación y la educación lo convierte en un referente en la materia, consolidando su reputación como un experto en la industria agroalimentaria.



Zambrano Muñoz, Roxanna Mercedes



Plantaciones de Balsa Plantabal S.A



roxannazambrano1995@gmail.com



<https://orcid.org/0009-0009-1902-4559>



Provincia de Los Ríos, Ingeniera industrial de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, máster en dirección de procesos estratégicos en la Universidad de la Rioja- España. Ingresó a la compañía en abril 2019 como auditor de calidad por dos años en la empresa 3A core materials - Plantaciones de Balsa Plantabal S.A posterior ascendió como especialidad de calidad a la planta de kits de balsa para aspas/ turbinas de energía renovable durante 2 años y Actualmente como Coordinadora de calidad de planta México, Juárez de la empresa 3A core materials. Actualmente como Coordinadora de calidad de planta México de la empresa 3A core materials. Su trabajo ha sido reconocido y contribuyendo significativamente al avance del conocimiento en su área y diferentes plantas del corporativo de Americas.

RESEÑA DE AUTORES

AUTORES



Revilla Escobar, Karol Yannela



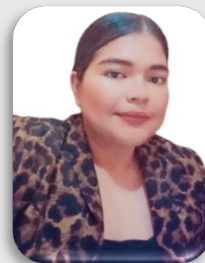
Pontificia Universidad Católica del Ecuador
Universidad Nacional de Cuyo



kyrevilla@pucese.edu.ec



<https://orcid.org/0000-0002-8734-1216>



Nació el 12 de julio de 1997, es Ingeniera agroindustrial. Su pasión por el campo la llevó a obtener dos maestrías: una en Dirección de la Producción y Mejora de los Procesos Industriales por la Universitat de Barcelona - España, y otra en Agroindustria, con mención en Gestión de Calidad y Seguridad Alimentaria en la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí, Ecuador. A lo largo de su trayectoria, ha contribuido a numerosas publicaciones científicas en revistas nacionales e internacionales indexadas en Scopus y WoS. Además, ha sido ponente en diversos congresos agroalimentarios, compartiendo su conocimiento y experiencia con otros profesionales del área. Actualmente, se desempeña como docente universitaria, donde tiene la oportunidad de inspirar y guiar a nuevos estudiantes en el mundo de la agroindustria. Su dedicación a la investigación y la educación refleja su compromiso con el avance del sector y el desarrollo de futuras generaciones.

Índice

Reseña de Autores.....	ix
Índice.....	xii
Índice de Tablas	xviii
Índice de Figuras.....	xix
Introducción.....	xxi
Capítulo I: Contextualización de la investigación	1
1.1. Problema de investigación	3
1.1.1. Planteamiento del problema	3
1.2. Diagnóstico	4
1.3. Pronóstico	5
1.3.1. Formulación del problema	5
1.3.2. Sistematización del problema.....	5
1.4. Objetivos	5
1.4.1. Objetivo General	5
1.4.2. Objetivos Específicos.....	6
1.5. Justificación	6
Capítulo II: Fundamentación teórica de la investigación.....	9
2.1. Microbiología de los alimentos.....	11
2.1.1. Generalidades	11
2.1.2. Clasificación.....	12
2.1.2.1. Bacterias.....	12
2.1.2.1.1. Hongos y levaduras.....	12
2.1.2.1.2. Virus.	13
2.1.2.2. Parásitos.....	14
2.1.2.3. Priones.	14
2.1.2.4. Principales microorganismos patógenos en alimentos.....	15

2.1.3.	Características generales de <i>Staphylococcus aureus</i>	16
2.1.3.1.	Medios de aislamiento.....	16
2.1.3.1.1.	Agar sangre.....	16
2.1.3.1.2.	Agar manitol-sal.	16
2.1.3.1.3.	Agar Baird Parker.....	17
2.1.3.1.4.	Enfermedades provocadas por <i>Staphylococcus aureus</i> . .	17
2.1.3.1.5.	Resistencia de <i>Staphylococcus aureus</i> a antibióticos comerciales.....	18
2.1.4.	Hierba luisa (<i>Aloysia citriodora</i>)	19
2.1.4.1.	Descripción botánica.	19
2.1.4.1.1.	Taxonomía.	19
2.1.4.2.	Composición.....	20
2.1.4.3.	Usos.	20
2.1.5.	Jengibre (<i>Zingiber officinale</i>).....	20
2.1.5.1.1.	Descripción botánica.	20
2.1.5.1.2.	Taxonomía.	21
2.1.5.1.3.	Composición.....	21
2.1.5.2.	Usos.	22
2.1.6.	Carne de res	23
2.1.6.1.	Definición.....	23
2.1.6.2.	Propiedades.	23
2.1.6.3.	Composición química.	23
2.1.7.	Tipos de extracción.....	23
2.1.7.1.	Extracción mediante evaporación rotativa (rotavapor).	23
2.1.7.2.	Destilación por arrastre de vapor.....	24
2.1.7.3.	Maceración.	25
2.1.8.	Etanol.....	25

2.1.8.1.	Definición.....	25
2.1.8.2.	Usos.	26
2.1.9.	Pruebas de inhibición microbiana.....	26
2.1.9.1.	Antibiograma disco-placa.	26
2.1.9.2.	Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (porcentaje de inhibición) mediante el método de dilución en caldo.	27
2.1.9.3.	Método mediante turbidimetría.....	27
2.1.9.4.	Determinación de la concentración microbiana mediante el conteo de células viables.	28
Capítulo III:	Metodología de la investigación.....	29
3.1.	Localización	31
3.2.	Tipo de investigación	31
3.2.1.	Investigación Experimental.....	31
3.2.2.	Investigación Analítica	31
3.2.3.	Investigación Bibliográfica	31
3.3.	Métodos de investigación	32
3.3.1.	Método deductivo	32
3.3.2.	Método de observación	32
3.3.3.	Método analítico	32
3.4.	Fuentes de recopilación de información	32
3.5.	Diseño de la investigación	33
3.5.1.	Factores de estudio	33
3.5.2.	Variables estudiadas.....	34
3.6.	Instrumentos de la investigación.....	34
3.6.1.	Preparación de las muestras	34
3.6.2.	Maceración y agitación	34
3.6.3.	Extracción mediante evaporación rotativa.....	35
3.6.4.	Centrifugación de los extractos	35

3.6.5.	Almacenamiento de los extractos obtenidos	35
3.6.6.	Cálculo del rendimiento de los extractos	35
3.6.7.	Preparación de las concentraciones.....	36
3.6.8.	Preparación del medio sólido y aplicación de los tratamientos ...	36
3.6.9.	Determinación del diámetro de inhibición	37
3.6.10.	Determinación de días de tolerancia.....	37
3.6.11.	Cálculo del porcentaje de inhibición.....	37
3.6.12.	Aplicación del mejor tratamiento a la carne de res	38
3.6.13.	Determinación de la concentración de <i>Staphylococcus aureus</i> una vez aplicado el extracto.....	38
3.7.	Tratamientos de los datos	39
3.8.	Recursos humanos y materiales.....	39
Capítulo IV:	Resultados.....	41
4.1.	Resultados obtenidos de la elaboración de los extractos de hierbaluisa (<i>Aloysia citrodora</i>) y jengibre (<i>Zingiber officinale</i>) mediante evaporación rotativa 43	
4.1.1.	Contenido de humedad de las fuentes de extracto	43
4.1.2.	Rendimiento de los extractos filtrados y mediante evaporación rotativa 43	
4.2.	Resultados de análisis de diámetros de inhibición en <i>Staphylococcus</i> <i>aureus</i>	44
4.2.1.	Análisis de varianza de resultados de diámetros de inhibición microbiano de los extractos de hierba luisa y jengibre a las 24, 48, 72, 96 y 120 horas	44
4.3.	Resultados de análisis de días de tolerancia de los extractos frente a	51
4.3.1.	<i>Staphylococcus aureus</i>	51

4.4. Resultados del porcentaje de inhibición del mejor tratamiento T3 (Extracto de Hierba luisa + Concentración 20 %) contra <i>Staphylococcus aureus</i>	52
4.5. Resultados de la aplicación del mejor tratamiento (T3) para la determinación de la concentración de <i>Staphylococcus aureus</i> en carne de res	57
4.6. DISCUSIÓN	58
4.6.1. Resultados obtenidos de la elaboración de los extractos de hierba luisa (<i>Aloysia citrodora</i>) y jengibre (<i>Zingiber officinale</i>) mediante evaporación rotativa	58
4.7. Resultados de análisis de diámetros de inhibición en <i>Staphylococcus aureus</i>	59
4.8. Resultados de análisis de días de tolerancia de los extractos frente a	61
4.8.1. <i>Staphylococcus aureus</i>	61
4.9. Resultados de la aplicación del mejor tratamiento (T3) para la determinación de la concentración de <i>Staphylococcus aureus</i> en carne de res	62
4.10. Resultados del porcentaje de inhibición del mejor tratamiento T3 (Extracto de Hierba luisa + Concentración 20 %) contra <i>Staphylococcus aureus</i>	63
Capítulo V: Conclusiones y Recomendaciones	65
5.1. CONCLUSIONES	67
5.2. RECOMENDACIONES	68
Referencias Bibliográficas	71

Índice de Tablas

Tabla 1: <i>Temperaturas de desarrollo en ° C</i>	15
Tabla 2: <i>Taxonomía de Aloysia citrodora</i>	19
Tabla 3: <i>Taxonomía del jengibre (Zingiber officinale)</i>	21
Tabla 4: <i>Composición química del jengibre (Zingiber officinale)</i>	22
Tabla 5: <i>Factores de estudio que intervienen en la determinación adecuada del extracto</i>	33
Tabla 6: <i>Descripción de los tratamientos obtenidos por la interacción A*B</i>	33
Tabla 7: <i>Esquema de análisis de varianza para las variables en estudio</i>	34
Tabla 8: <i>Recursos humanos y materiales para la realización del proyecto de investigación</i>	39
Tabla 9: <i>Análisis de varianza para diámetros de inhibición a las 24 horas</i>	44
Tabla 10: <i>Análisis de varianza para diámetros de inhibición a las 48 horas</i>	45
Tabla 11: <i>Análisis de varianza para diámetros de inhibición a las 72 horas</i>	45
Tabla 12: <i>Análisis de varianza para diámetros de inhibición a las 72 horas</i>	46
Tabla 13: <i>Análisis de varianza para diámetros de inhibición a las 120 horas</i> ..	46
Tabla 14: <i>Prueba de significación de Tukey para resultados de diámetros de inhibición en Staphylococcus aureus (Factor A)</i>	46
Tabla 15: <i>Prueba de significación de Tukey para resultados de diámetros de inhibición en Staphylococcus aureus (Factor B)</i>	48
Tabla 16: <i>Prueba de significación de Tukey para resultados de diámetros de inhibición en Staphylococcus aureus (Factor A*Factor B)</i>	49
Tabla 17: <i>Resultados de porcentaje de transmitancia obtenidos mediante espectrofotómetro en tratamiento 3 y testigo</i>	53
Tabla 18: <i>Resultados de absorbancia obtenidos mediante espectrofotómetro en tratamiento 3 y testigo</i>	55
Tabla 19: <i>Porcentajes de inhibición del tratamiento 3 (extracto de hierba luisa al 20 % de concentración) contra Staphylococcus aureus en función del tiempo</i>	56
Tabla 20: <i>Concentraciones UFC/ml de Staphylococcus aureus presentes en las muestras</i>	57

Índice de Figuras

Figura 1: <i>Porcentajes de humedad perdida de las fuentes de extracto</i>	43
Figura 2: <i>Rendimiento de las fuentes de extracto</i>	44
Figura 3: <i>Prueba de significación de Tukey para resultados de diámetros de inhibición en Staphylococcus aureus (Factor A)</i>	47
Figura 4: <i>Prueba de significación de Tukey para resultados de diámetros de inhibición en Staphylococcus aureus (Factor B)</i>	49
Figura 5: <i>Prueba de significación de Tukey para resultados de diámetros de inhibición en Staphylococcus aureus (Factor A*Factor B) a las 24, 48 y 72 horas</i>	50
Figura 6: <i>Curva de inhibición de los diferentes tratamientos en función del tiempo de tolerancia</i>	52
Figura 7: <i>Curva de porcentaje de transmitancia en función del tiempo observados en el tratamiento 3 y testigo</i>	54
Figura 8: <i>Curva de absorbancia en función del tiempo observados en el tratamiento 3 y testigo</i>	55
Figura 9: <i>Curva de porcentajes de inhibición del tratamiento 3 (extracto de hierba luisa al 20 % de concentración) contra Staphylococcus aureus en función del tiempo</i>	56

Introducción

Las plantas medicinales son una fuente importante de compuestos que presentan bioactividades, lo que las convierte en moléculas valiosas para productos terapéuticos, cosméticos y relacionados con los alimentos (Kumar et al., 2022). Los compuestos fenólicos son compuestos bioactivos importantes que se encuentran en las plantas (Ali et al., 2023). Ofrecen notables propiedades terapéuticas y funcionan como antioxidantes y conservantes naturales (Guimarães et al., 2010). Los alimentos funcionales o nutraceuticos son aquellos que, además de realizar funciones nutricionales básicas, funcionan como parte de la dieta habitual al ser ingeridos. Estos alimentos también producen beneficios metabólicos, fisiológicos y de salud, incluyendo la prevención y el tratamiento de enfermedades, y además es seguro para su uso sin supervisión médica.

La funcionalidad de los alimentos nutraceuticos se atribuye a sus compuestos bioactivos. Estos compuestos son ampliamente producidos por las plantas, como los compuestos fenólicos, que tienen actividades antioxidantes y/o antimicrobianas que inhiben el daño a macromoléculas como lípidos, proteínas y ácidos nucleicos (Peralta et al., 2008; Soares, 2002; Soares et al., 2013). Varias plantas y especias son bien conocidas por sus efectos antioxidantes y antimicrobianos, donde los aceites esenciales y extractos contienen una gran cantidad de compuestos bioactivos, como los compuestos fenólicos (Majhenic et al., 2007; Sahoo et al., 2014).

La *Aloysia citrodora* es un miembro de la familia Verbenaceae que se originó en América del Sur pero, hoy en día, crece en todo el norte de África, el sur de Europa y partes de Irán (Polumackanycz et al., 2022). Es una especie aromática muy conocida que es rica en compuestos antioxidantes con alta actividad antioxidante, como polifenoles, ácido ascórbico y carotenoides (Gil et al., 2007; Tammar et al., 2021; Hosseini et al., 2021). A sus extractos se atribuyen propiedades antibacterianas, antifúngicas, antiinflamatorias y antioxidantes a las infusiones de agua de verbena de limón (Polumackanycz et al., 2022). El alto contenido de verbascósido, también conocido como acteósido, en el extracto de hierba luisa posee importantes propiedades biológicas como efectos ansiolíticos, antioxidantes, anticancerígenos, neuroprotectores, antimicrobianos, anestésicos y sedantes (Gil et al., 2007). Su composición química, rica en compuestos fenólicos y terpenos, sugiere un potencial antimicrobiano que podría ser útil en la conservación de alimentos (Miara et al., 2019; Polumackanycz et al., 2022).

Por otro lado, el jengibre (*Zingiber officinale*) pertenece al orden Zingiberales y a la familia Zingiberaceae. Con una altura de 20 a 100 centímetros, esta planta amarilla tiene hojas de tintes morados y sus principales propiedades residen en el tallo subterráneo, conocido como rizoma. Algunos de los principales

compuestos que se encuentran en el jengibre son canfeno, felandreno, zingibereno, cineol, citral y borneol (Han & Li, 2009). Cabe destacar que los gingeroles y los shogaols correspondientes son los principales compuestos picantes del jengibre. Esta hierba perenne tiene 70 especies en todo el mundo y es originaria del este de Asia. Además de sus propiedades antifúngicas, se ha informado que el jengibre ejerce efectos sedantes.

La carne es un alimento altamente nutritivo altamente susceptible a la contaminación microbiana debido a su composición, la presencia de *Staphylococcus aureus* en la carne puede llevar a graves problemas de salud, por lo que la implementación de estrategias efectivas para su control es crucial (Pateiro et al. 2021). Los conservadores sintéticos como elhidroxianisol butilado (BHA), hidroxitolueno butilado (BHT), o laterbutilhidroquinona (TBHQ), disminuyen la oxidación de grasas y proteínas en la carne, pero se ha demostrado que ocasionan riesgos para la salud humana como intoxicación alimentaria, daño hepático, carcinogénesis. y mutagénesis (Hadidi et al.2022). Sin embargo, para controlar los fenómenos oxidativos, existe la tendencia de añadir extractos de plantas aromático-medicinales ricos en compuestos bioactivos (CBs) directamente a la carne o como suplemento en la dieta de los animales.

El uso de extractos naturales no solo puede mejorar la seguridad alimentaria, sino también proporcionar beneficios adicionales en términos de calidad sensorial y nutricional de la carne. La incorporación de hierbas y especias en la producción y conservación de alimentos es una práctica ancestral que, gracias a la investigación científica, está ganando un renovado interés. Este enfoque permite explorar métodos de conservación más sostenibles y menos dependientes de aditivos químicos. Por esta razón, el objetivo del presente estudio tuvo como objetivo evaluar la eficacia de los extractos de hierba luisa y jengibre en la inhibición del crecimiento de *Staphylococcus aureus* en carne de res.

CAPITULO 1

CONTEXTUALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN



Contextualización de la investigación

1.1. Problema de investigación

1.1.1. Planteamiento del problema

La presencia de *Staphylococcus aureus* en la carne de res representa una preocupación crucial para la seguridad alimentaria, debido a su capacidad para causar enfermedades graves que afectan la salud humana. Esta bacteria es un riesgo significativo para los consumidores, ya que su ingesta puede provocar intoxicaciones alimentarias, infecciones cutáneas y otros problemas de salud (López et al., 2015). En este contexto, surge la necesidad urgente de explorar alternativas naturales que inhiban el crecimiento de *Staphylococcus aureus* en la carne, evitando así el uso de aditivos químicos y métodos de conservación tradicionales, que a menudo tienen efectos adversos sobre la salud y el medio ambiente (Hosseini et al., 2021).

El uso prolongado y excesivo de antibióticos en la producción animal ha favorecido el desarrollo de resistencia bacteriana en *Staphylococcus aureus*, complicando su control y erradicación en productos cárnicos. Esta resistencia no solo hace que los antibióticos sean menos efectivos, sino que también dificulta la implementación de medidas preventivas para evitar la proliferación de la bacteria. A esto se suman las condiciones inadecuadas en los criaderos y durante el procesamiento de la carne, que crean un ambiente ideal para la proliferación de *Staphylococcus aureus*, aumentando así la probabilidad de contaminación. Además, las prácticas inapropiadas durante el transporte, almacenamiento y manipulación de la carne, como el mal control de la temperatura y la falta de higiene, favorecen aún más el crecimiento bacteriano, lo que eleva los riesgos para la salud pública (López et al., 2015).

Esta problemática no solo compromete la calidad de la carne, sino que también incrementa el riesgo de enfermedades transmitidas por alimentos, afectando directamente la salud de los consumidores. Por lo tanto, resulta esencial abordar la cuestión de la resistencia antibiótica y la contaminación por *Staphylococcus*

aureus en la carne de res, con el fin de garantizar la seguridad alimentaria, proteger la salud del consumidor y asegurar la sostenibilidad de la industria cárnica. La búsqueda de soluciones efectivas y naturales, como los extractos vegetales con propiedades antimicrobianas, puede ser una alternativa clave para reducir los riesgos asociados a esta bacteria, contribuyendo a un sistema de producción más seguro y saludable.

1.2. Diagnóstico

Las condiciones inadecuadas en los criaderos y durante el procesamiento de la carne de res crean un ambiente propicio para el desarrollo de *Staphylococcus aureus*, una bacteria responsable de diversas infecciones alimentarias. Esta situación se ve agravada por la ausencia de protocolos de higiene eficaces que garanticen la limpieza y desinfección adecuadas en cada etapa de la cadena productiva. Además, el uso excesivo de antibióticos en la producción animal ha llevado a un incremento en la resistencia bacteriana, lo que dificulta la erradicación de la bacteria y complica aún más su control. Esta resistencia antimicrobiana representa un reto significativo para la salud pública, ya que las infecciones causadas por cepas resistentes pueden ser más difíciles de tratar y controlar.

A su vez, la cadena de transporte y almacenamiento de la carne de res también presenta deficiencias que favorecen el crecimiento de bacterias patógenas. La falta de un control riguroso de la temperatura y de las condiciones ambientales adecuadas durante el transporte y almacenamiento contribuye a la proliferación de *Staphylococcus aureus* en los productos cárnicos, aumentando el riesgo de que el consumidor final se vea expuesto a la bacteria. Este conjunto de factores subraya la necesidad urgente de implementar mejoras en los procesos de manejo, transporte y conservación de la carne para garantizar su seguridad y calidad, minimizando así los riesgos asociados a la contaminación bacteriana.

1.3. Pronóstico

En caso de no abordar adecuadamente el presente estudio se espera un escenario adverso, ya que la presencia no controlada de *Staphylococcus aureus* en la carne de res puede conducir a un aumento significativo de enfermedades, donde dicha bacteria desarrolle una mayor resistencia antibiótica y comprometa la salud y la confianza del consumidor, esto resultaría en pérdidas económicas para la industria cárnica, lo que podría desencadenar la imposición de regulaciones más estrictas perjudicando así a los productores más pequeños, además la falta de medidas preventivas específicas podría generar consecuencias negativas para la seguridad alimentaria y la estabilidad de la industria cárnica.

1.3.1. Formulación del problema

¿Será posible la utilización del extracto de hierbaluisa (*Aloysia citradora*) y jengibre (*Zingiber officinale*) como inhibidores de *Staphylococcus aureus* en carne de res?

1.3.2. Sistematización del problema

¿Es posible obtener extracto de hierbaluisa y jengibre mediante evaporación rotativa?

¿Cuáles son las concentraciones del extracto de hierbaluisa y jengibre más adecuadas para preservar la actividad inhibitoria de los compuestos bioactivos?

¿La concentración de *Staphylococcus aureus* disminuirá mediante la aplicación de extracto?

1.4. Objetivos

1.4.1. Objetivo General

Evaluar el extracto de hierba luisa (*Aloysia citradora*) y jengibre (*Zingiber officinale*) como inhibidores de *Staphylococcus aureus* en carne de res.

1.4.2. Objetivos Específicos

- Elaborar el extracto de hierba luisa (*Aloysia citradora*) y jengibre (*Zingiber officinale*) mediante evaporación rotativa.
- Determinar la concentración adecuada 10 %, 15 % y 20 % del extracto de hierbaluisa (*Aloysia citradora*) y jengibre (*Zingiber officinale*) para inhibir la presenciade *Staphylococcus aureus* en carne de res.
- Evaluar la concentración de *Staphylococcus aureus* en carne de res luego de la aplicación del extracto.

1.5. Justificación

La utilización de extractos de *Aloysia citrodora* (hierba luisa) y *Zingiber officinale* (jengibre) como inhibidores de *Staphylococcus aureus* en carne de res ha despertado un creciente interés debido a sus destacadas propiedades antimicrobianas. Diversos estudios recientes han demostrado que estos extractos contienen compuestos bioactivos con un notable potencial para combatir microorganismos patógenos, lo que los posiciona como alternativas prometedoras en la lucha contra las infecciones bacterianas en productos cárnicos (Espinoza & Segundo, 2016).

Los componentes bioactivos de *Aloysia citrodora* se han empleado en una amplia gama de aplicaciones, que incluyen bebidas, alimentos y productos cosméticos. Esto se debe a sus propiedades antioxidantes, conservantes y antimicrobianas, que no solo prolongan la vida útil de los productos, sino que también contribuyen a mejorar su seguridad y calidad (Enríquez-Estrella et al., 2023). En paralelo, *Zingiber officinale* es conocido principalmente como una especia culinaria, pero sus propiedades medicinales también son ampliamente reconocidas. Se le atribuyen efectos beneficiosos para aliviar náuseas, reducir inflamaciones y promover la salud cardiovascular, lo que refuerza su potencial como ingrediente activo en diversas aplicaciones terapéuticas (Siedentopp, 2008).

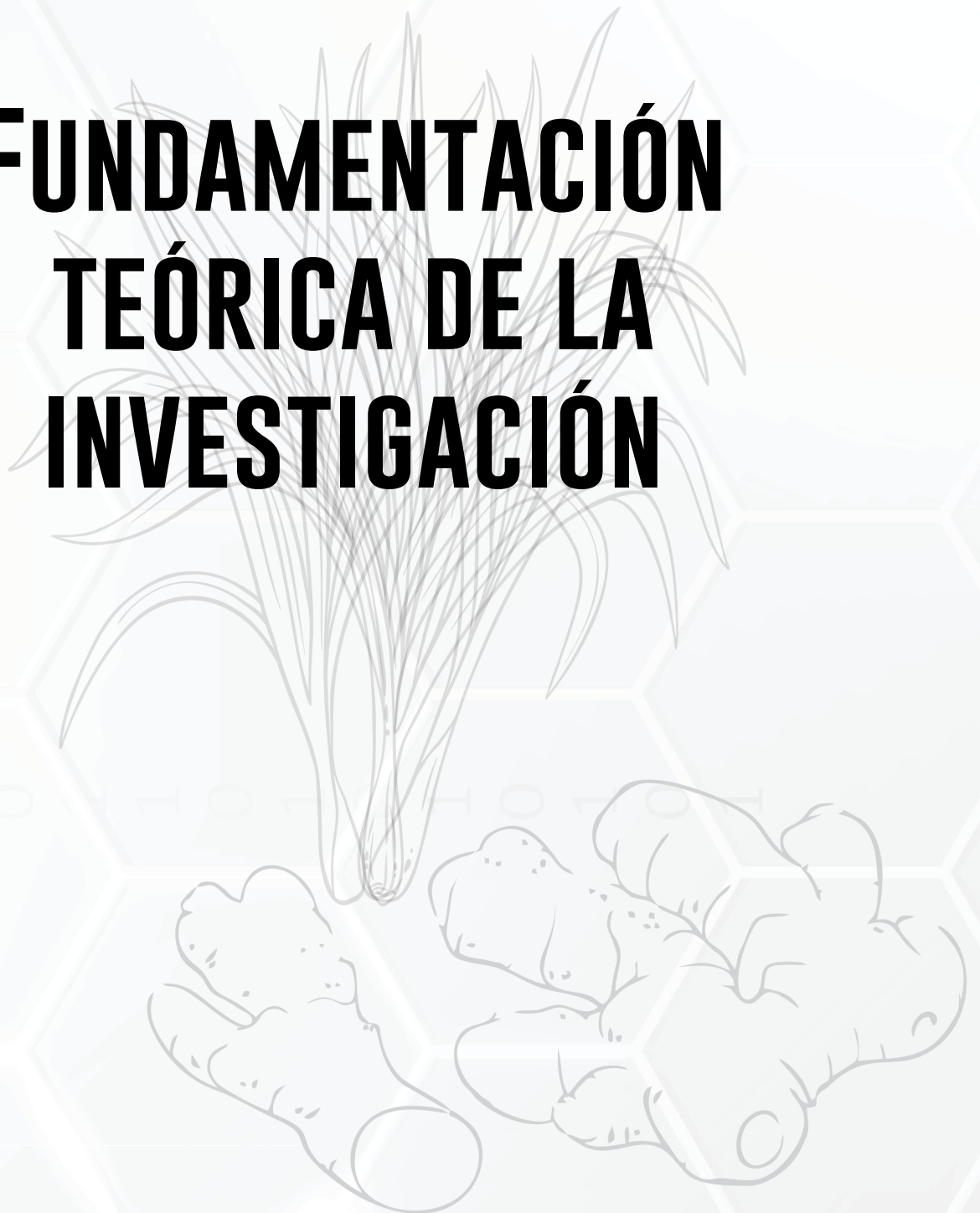
Estos beneficios corroboran la importancia de investigar el uso de extractos de *Aloysia citrodora* y *Zingiber officinale* como inhibidores naturales de

Staphylococcus aureus en carne de res. Tal investigación podría ofrecer soluciones eficaces y naturales para prevenir el crecimiento de esta bacteria, mejorando así tanto la seguridad alimentaria como la calidad de los productos cárnicos. De hecho, este enfoque no solo contribuiría a reducir el riesgo de infecciones alimentarias, sino que también proporcionaría alternativas más saludables frente a los conservantes sintéticos (Bettin et al., 2012).

Actualmente, los compuestos bioactivos de estas plantas no están siendo explotados como inhibidores de *Staphylococcus aureus* en carne de res cruda. Por lo tanto, la presente investigación busca identificar el extracto más eficaz y optimizar el uso de los compuestos inhibitorios presentes en estas especies vegetales. Este estudio podría abrir nuevas vías para la aplicación de extractos naturales en la conservación de alimentos, mejorando la seguridad y calidad de la carne de res mediante métodos sostenibles y naturales.

CAPITULO 2

FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN



Fundamentación teórica de la investigación

2.1. Microbiología de los alimentos

La microbiología se centra en el análisis de los microorganismos, abordando aspectos como su biología, ecología y su aplicación en la producción agrícola e industrial, así como su influencia en la alteración y deterioro de bienes, esta disciplina requiere la comprensión de tres conceptos clave: microorganismo, biología y ecología, respecto a la biología microbiana, esta se adentra en la estructura, metabolismo y genética de los organismos, donde la estructura desempeña un papel crucial en la determinación del metabolismo, en cuanto al metabolismo, este, engloba las reacciones que posibilitan el crecimiento, reproducción y la alteración del entorno de los microorganismos, la genética microbiana revela el proceso de transmisión de información, fundamental para el desarrollo de microorganismos con características morfológicas y metabólicas específicas (Flavia et al., 2010).

2.1.1. Generalidades

Los microorganismos han sido utilizados históricamente como productores de alimentos, dando lugar a procesos fermentativos, principalmente la fermentación láctica, realizada mayormente por bacterias del grupo láctico, estos procesos no solo mejoran la resistencia y características organolépticas de los alimentos, sino que también inhiben bacterias indeseables, reduciendo su carga microbiana y prolongando la vida útil de los productos fermentados, como lácteos, cárnicos, vegetales fermentados, pan y bebidas alcohólicas. Además, se destacan compuestos antibacterianos, como la nisina, que evitan la germinación de esporas, reduciendo el riesgo de intoxicación alimentaria (Aguilar, 2018).

También pueden actuar como agentes de deterioro de alimentos, causando pérdidas económicas significativas, lo que puede ser provocado por bacterias, mohos y levaduras, siendo las bacterias y mohos los principales responsables. Durante el proceso de deterioro, una población predominante de

microorganismos se selecciona, desplazando a otros y reduciendo la diversidad inicial, dicho fenómeno se refleja en la calidad del alimento, donde una variedad inicial indica poco deterioro, mientras que una población homogénea final revela un mayor grado de deterioro, este deterioro microbiano contribuye a importantes pérdidas económicas, como el 20 % de la pérdida de frutas y verduras recolectadas, afectadas por unas 250 enfermedades del mercado (Aguilar, 2018).

2.1.2. Clasificación

2.1.2.1. Bacterias.

Son organismos unicelulares clasificadas como procariontes, las cuales carecen de núcleo celular y orgánulos como mitocondrias, cloroplastos o el aparato de Golgi, exhiben su material genético (ADN) de forma libre en el citoplasma, a pesar de su estructura celular simple, presentan una diversidad morfológica notable, manifestándose en formas como filamentos, cocos, bacilos, vibrios y espirilos. Estas entidades microbianas, con longitudes que oscilan entre 0.5 y 5 μ , son inherentemente muy diminutas, requiriendo agrupaciones en colonias para ser perceptibles a simple vista (Sánchez Contreras et al., 2017).

Las bacterias son más grandes que los virus y contienen ADN y ARN, estando el genoma codificado en su ADN, además se encuentran recubiertos por una membrana celular y en algunas bacterias por una pared celular, también son capaces de una replicación totalmente autónoma, independiente de la célula huésped (García et al., 2010).

2.1.2.1.1. Hongos y levaduras.

El término "levadura" hace referencia esencialmente a un conjunto de hongos unicelulares, en los cuales las hifas y/o pseudohifas pueden o no estar presentes, y presentan una fase sexual perfecta o teleomorfa. No obstante, aquellas levaduras cuya fase sexual aún no ha sido descrita y solo se conoce la fase anamorfa son designadas como formas semejantes a levaduras o "yeastlike"; su método de reproducción es mediante gemación. Desde una perspectiva taxonómica, este último grupo se clasifica en la división *Deuteromycota* o hongos anamorfos, específicamente en la clase *Blastomycetes* o Levaduras, en cuanto al grupo teleomorfo, cuando la célula haploide de la levadura se conjuga y da

origen a un asco con sus ascosporas, se incluyen en la división *Ascomycota*, perteneciente a la clase *Ascomycetes* (Mendoza, 2005).

Los hongos muestran una diversidad morfológica que abarca desde formas unicelulares hasta estructuras pluricelulares altamente ramificadas. Entre las formas unicelulares, las levaduras destacan como organismos con una estructura oval de dimensiones que oscilan entre 5 y 30 μm ., estas levaduras son inmóviles y se reproducen mediante procesos diversos, siendo la gemación el mecanismo predominante, además es importante señalar que las levaduras deben ser conceptualizadas como hongos que han experimentado una transición hacia una forma unicelular, habiendo perdido su morfología filamentosa original. Sin embargo, la mayoría de los hongos adoptan una estructura pluricelular o filamentosa, caracterizada por la presencia de filamentos ramificados conocidos como hifas, los cuales se desarrollan y entrelazan formando una red llamada micelio (Martí Solé et al., 1998).

2.1.2.1.2. Virus.

Elemento de una categoría de entidades infecciosas submicroscópicas, tradicionalmente caracterizadas por su incapacidad para ser capturadas por filtros bacterianos, la cual se trata de parásitos endocelulares intrínsecamente ligados a organismos vegetales, animales y bacterias, dichas entidades se componen de un núcleo central conformado por ácido desoxirribonucleico o ácido ribonucleico, envuelto por una estructura externa compuesta principalmente de proteínas o cápside (Martínez López et al., 2016).

Los virus son entidades de menor tamaño, los cuales actúan como agentes infecciosos que transfieren ácido nucleico entre células, causando enfermedades en microorganismos, plantas, animales y humanos. A pesar de su naturaleza perjudicial desempeñan un papel crucial en la producción de vacunas y la inmunización masiva, además, son valiosos modelos genéticos en investigaciones científicas, al ser parásitos intracelulares obligados, atraviesan poros de filtros bacterianos debido a su reducido tamaño, siendo el virus más grande más pequeño que una cuarta parte de una bacteria de fiebre tifoidea y los más pequeños capaces de alojarse en un estafilococo (Delgado & Hernández, 2015).

2.1.2.2. Parásitos.

En el ámbito parasitológico, se define como parásito a un organismo que reside en otro ser vivo para obtener nutrición, tanto animales como humanos pueden sufrir infestaciones por parásitos, afectando tanto su interior (parásitos internos) como su piel y pelaje (parásitos externos). El organismo que sirve como fuente de sustento para el parásito se conoce como hospedador, los principales parásitos internos incluyen nematodos, tenias, coccidias y fasciolas, dichos parásitos liberan huevos que se excretan con las heces del hospedador, depositándose en el entorno, especialmente en pastizales, las tenias, por ejemplo, producen huevos en segmentos que son expulsados con las deposiciones, y la infestación de animales ocurre al ingerir estos huevos presentes en el pasto, destacando este fenómeno en la dinámica de transmisión parasitaria (SENASA, 2017).

Cualquier organismo que subsiste a raíz de otro, es conocido como huésped o hospedador, a lo largo de un intervalo temporal más o menos extenso, se clasifica como un parásito, los parásitos facultativos indican una morfología independiente, pero se ajustan a un huésped específico otro lado, los parásitos obligados dependen intrínsecamente del huésped para su supervivencia. En el caso de los endoparásitos, colonizan el interior del huésped, mientras que los ectoparásitos residen en la superficie externa del huésped, así también, los parásitos patógenos inducen enfermedades en el huésped (Ocampo, 2014).

2.1.2.3. Priones.

El término "prión" hace referencia al agente infeccioso vinculado a diversas enfermedades neurodegenerativas, cuya denominación proviene de la combinación de las palabras "proteinaceous infectious particle". Este agente infeccioso se compone de partículas proteicas desprovistas de ADN, capaces de replicarse prescindiendo de material genético, su tamaño es menor que el de la mayoría de los virus y presenta una notable resistencia al calor generado por radiaciones ionizantes, siendo identificado con la abreviatura PrP^{Sc}. A diferencia de otros agentes infecciosos, el prión no induce respuestas inflamatorias ni inmunitarias detectables, y no se ha observado su presencia mediante microscopios ópticos o electrónicos, la detección en organismos vivos se limita al

análisis patológico, ya que no existen pruebas específicas para tal propósito (Perrone et al., 2003).

2.1.2.4. Principales microorganismos patógenos en alimentos

Entre 2010 y 2013, en Colombia se llevaron a cabo estudios focalizados en la detección y caracterización de microorganismos en alimentos, donde se destacaron *Salmonella* spp. en alimentos de origen animal, *Listeria monocytogenes* en productos lácteos, y *Escherichia coli* en productos cárnicos y vegetales. Además, se identificaron *Aeromonas* spp. y *Vibrio* spp. en pescados y mariscos, estos resultados subrayan la importancia de controlar la presencia de patógenos en alimentos procesados y productos acuáticos para salvaguardar la salud pública en Colombia (Soto Varela et al., 2016).

Tabla 1:

Temperaturas de desarrollo en ° C

Bacteria	Mínimo	Óptimo	Máximo
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	4	25 - 30	40
<i>Staphylococcus aureus</i>	6.5	30 - 37	46
<i>Acidithiobacillus thiooxidans</i>	10	28 - 30	37
<i>Micrococcus luteus</i>	10	30	45
<i>Lactobacillus plantarum</i>	15	30 - 35	45
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	15	37	40
<i>Streptococcus thermophilus</i>	20	40 - 45	50
<i>Thermoactinomyces vulgaris</i>	27 - 30	60	65 - 70
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	30	35 - 36	38.5
<i>Thermus aquaticus</i>	40	70 - 72	79

Nota: Bonilla Espinosa (2014).

2.1.3. Características generales de *Staphylococcus aureus*

El *Staphylococcus aureus* es un microorganismo Gram positivo con una morfología esférica u ovoide que tiende a agruparse en racimos, sus colonias presentan un pigmento que varía entre dorado, amarillo y, ocasionalmente, blanco. Este microorganismo se desarrolla de manera óptima en presencia de oxígeno a una temperatura que oscila entre 30 y 37 °C, manteniéndose en un rango de pH de 7.0 a 7.5, además, muestra una notable tolerancia frente a diversos compuestos como telurio, cloruro mercurico, neomicina, polimixina y ácido sódico (Ortegon Moreno, 2017).

2.1.3.1. Medios de aislamiento.

2.1.3.1.1. Agar sangre.

El medio de cultivo más comúnmente empleado consiste en agar-sangre, en el cual el microorganismo se somete a una identificación definitiva mediante técnicas de tinción de Gram, catalasa y coagulasa (ya sea en tubo o mediante aglutinación), en el caso de obtener un coco gram positivo con resultados positivos para catalasa y coagulasa, con crecimiento en agar MRSA (elaborado con agar Mueller-Hinton suplementado con 4 % de CINA y 6 µg/mL de oxacilina), se identifica al microorganismo como MRSA, y se llevan a cabo pruebas de sensibilidad antimicrobianas, así como cualquier otro análisis que se considere pertinente, como la tipificación molecular (Baños Álvarez & Llanos Méndez, 2011).

2.1.3.1.2. Agar manitol-sal.

El agar manitol-sal cual permite realizar lecturas de sospecha a las 24 - 48 horas, donde cualquier organismo manitol positivo (manifestado por un color amarillo) en este medio será considerado sospechoso de ser *S. aureus*. Posteriormente, se realiza un subcultivo en agar sangre para llevar a cabo la identificación definitiva del microorganismo, el agar manitol sal es selectivo para estafilococos y diferencial para *S. aureus*, ya que esta especie fermenta el manitol, lo que produce colonias amarillas (Baños Álvarez & Llanos Méndez, 2011).

Según (Zendejas Manzo et al., 2014) este medio presenta una concentración de cloruro sódico del 7.5 %, el cual desempeña el papel de agente activo en el medio, ejerciendo una inhibición parcial o total sobre los organismos bacterianos distintos a los estafilococos. Los estafilococos coagulasa positiva (*Staphylococcus aureus*) generan colonias con tonalidad amarilla y un entorno circundante de color amarillo en el medio, por otro lado, los estafilococos coagulasa negativa desarrollan colonias de color rojo sin ocasionar alteraciones en el indicador rojo fenol del medio.

2.1.3.1.3. Agar Baird Parker.

En este medio las agrupaciones bacterianas de *Staphylococcus aureus* exhiben una tonalidad negra como consecuencia de la reducción del telurito, mientras que presentan un halo transparente debido a la actividad lipolítica sobre la yema de huevo (Pasachova Garzón et al., 2019).

Componentes como la caseína hidrolizada enzimática, el extracto de carne y el extracto de levadura aportan nitrógeno, carbono, azufre y vitaminas, además el piruvato de sodio se encarga de salvaguardar las células dañadas y facilitar la recuperación, estimulando así el crecimiento de *Staphylococcus aureus*. El cloruro de litio y el telurito de potasio actúan como agentes inhibidores de la contaminación de la microflora, se destaca que el aditivo telurito es tóxico para las cepas de yema de huevo distintas de esta bacteria, otorgando a las colonias un característico color negro (Núñez Fuentes, 2018).

2.1.3.1.4. Enfermedades provocadas por *Staphylococcus aureus*.

El síndrome de choque tóxico es una patología de naturaleza multisistémica que se manifiesta a través de fiebre elevada, hipotensión, vómito, diarrea, mialgias, anormalidades neurológicas no focales, hiperemia conjuntival, lengua aframbuesada y erupción eritematosa con descamación en extremidades, siendo frecuente en mujeres de 15 a 25 años que utilizan tampones u otros dispositivos vaginales (diafragma) durante la menstruación, en presencia de colonización vaginal o infección por cepas de *Staphylococcus aureus* productoras de la toxina TSST-1. No obstante, el cuadro también puede

presentarse en niños, mujeres sin menstruación y hombres (Arteaga Bonilla & Arteaga Michel, 2005).

Las infecciones sistémicas causadas por estafilococos abarcan la bacteriemia estafilocócica, que puede dar lugar a complicaciones como endocarditis, infección metastásica o síndrome séptico, en estos procesos patogénicos, la célula endotelial desempeña un papel fundamental, no solo es un objetivo propenso al daño, sino que su activación también contribuye a la progresión de la enfermedad endovascular. Los estafilococos tienen una fuerte afinidad por las células endoteliales y se adhieren a ellas mediante un mecanismo de interacción adhesina - receptor, donde los estudios in vitro indican que, tras la adhesión, los estafilococos son fagocitados por la célula endotelial (Hurtado et al., 2002).

Las infecciones más frecuentes engloban aquellas que afectan al tejido cutáneo y subcutáneo, manifestándose a través de lesiones supuradas o abscesificadas, también se incluyen las infecciones de herida quirúrgica, bacteriemia, neumonía, osteomielitis, artritis y las infecciones asociadas al catéter intravascular o sondaje urinario. Entre las complicaciones potencialmente serias derivadas de la bacteriemia estafilocócica se destacan el shock séptico y las infecciones metastásicas graves, como la endocarditis aguda, miocarditis, pericarditis, meningitis, artritis, osteomielitis, neumonía y formación de abscesos (Camarena & Sánchez, 2010).

2.1.3.1.5. Resistencia de *Staphylococcus aureus* a antibióticos comerciales.

En la década de 1940, en Inglaterra, se observó un aumento significativo de resistencia a la penicilina en estafilococos, alcanzando niveles del 60 %, actualmente, las cepas de *S. aureus* muestran una resistencia del 80% - 93 % a la penicilina, debido a la producción de penicilinasas, las cuales son enzimas inactivadas por inhibidores de β -lactamasas como ácido clavulánico. La resistencia a oxacilina se relaciona con una producción excesiva de β -lactamasas, mientras que la resistencia a meticilina, llamada "intrínseca", se debe a la presencia de una proteína de unión a penicilina (PBP2a) ausente en cepas susceptibles (Castellano González & Perozo Mena, 2010).

A fines de la década de 1980, se identificaron cepas de *Staphylococcus aureus* que exhibían una resistencia combinada a la meticilina y a diversos grupos de antibióticos, entre los que se incluían cloranfenicol, tetraciclina, macrólidos, lincosaminas, aminoglucósidos y fluoroquinolonas. En la última década, se ha constatado la presencia de casos de *Staphylococcus aureus* con una sensibilidad reducida a glucopéptidos, y recientemente, se han reportado casos en los Estados Unidos, donde se identificaron cepas con una resistencia a vancomicina a niveles elevados (Borraz Ordás, 2006).

2.1.4. Hierba luisa (*Aloysia citriodora*)

2.1.4.1. Descripción botánica.

La denominación botánica asignada a este ejemplar es *Aloysia citriodora*, clasificado como un arbusto que ocasionalmente presenta una estructura arbórea, alcanzando alturas de hasta 3 metros, presentan un marcado aroma al frotar sus hojas, las cuales son ramificadas y carentes de vellosidades, los tallos de forma redonda poseen una consistencia leñosa y están dotados de finas estrías longitudinales, sus hojas simples y lanceoladas, cuentan con un limbo completo, un peciolo breve y un ápice agudo, generalmente dispuestas en grupos de tres, mientras que las flores son de reducido tamaño y tonalidad blanca, las cuales se agrupan en espigas terminales (Dellacassa & Bandoni, 2003).

2.1.4.1.1. Taxonomía.

Tabla 2:

Taxonomía de Aloysia citrodora

Descendencia	Descripción
Reino	Vegetal – Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Subclase	Asteridae
Orden	Lamiales
Familia	Verbenaceae
Género	<i>Aloysia</i>
Especie	<i>Triphylla</i>
Nombres comunes	<i>Aloysia citriodora</i> , Hierba Luisao Verbena de Indias

Nota; Ramos Tejada (2013).

2.1.4.2. Composición.

La propiedad más destacada de la hierba luisa es su fracción volátil, la cual se expresa principalmente a través de su rendimiento en aceite esencial, oscilando entre el 0,2 % y el 1,0 %, este rendimiento está sujeto a la influencia de diversos factores tanto endógenos como exógenos, la composición típica de la hierba luisa destaca la presencia predominante de citral, una mezcla de los isómeros geranial y neral, los cuales constituyen el componente principal de su calidad. Además, se identifican otros elementos en cantidades significativas, tales como el limoneno (15.59 %), geraniol (4.74 %), linalool (1.10 %), y acetato de geranilo (0.64 %) (Dellacassa & Bandoni, 2003).

2.1.4.3. Usos.

La hierba luisa tiene diversas aplicaciones en distintos sectores, en el ámbito alimenticio, las hojas se utilizan para preparar aguas aromáticas, refrescos y dulces, consumiéndose comúnmente después de las comidas, mientras que, en la industria alimentaria, estas hojas son empleadas como especia en la producción de chicha de maíz y colada morada (Meza Angos & Vargas Duque, 2013).

Además, en distintas etnias de las regiones costa, interandina y trópico, las hojas tienen usos tradicionales variados, en la región costa, son utilizadas directamente sobre los dientes como dentífrico, mientras que la etnia Secoya las emplea con fines ornamentales corporales. A nivel comercial, se aprovechan para perfumar espacios y repeler insectos en las regiones interandina y trópico, también se destinan a la extracción de aceite, fabricación de jabones y medicamentos en la región costa (Meza Angos & Vargas Duque, 2013).

2.1.5. Jengibre (*Zingiber officinale*)

2.1.5.1.1. Descripción botánica.

La planta alimenticia es una robusta herbácea de rizoma perenne, caracterizado por su aspecto nudoso y tuberoso, con una corteza de tono ceniciento y rugosidades transversales, el sabor de su rizoma es picante e intensamente aromático, los falsos tallos, de tonalidad rojiza, son erectos, oblicuos, redondos y

anuales, emergiendo del rizoma y envueltos por hojas, alcanzando una altura máxima de 1 metro, donde las hojas que brotan directamente del rizoma, desprenden un agradable aroma y presentan características subsésiles, disposición alternada, forma lanceolada, estrechez, linealidad y agudeza, con dimensiones de 6 - 10 cm de longitud y 2 cm de ancho. Las inflorescencias, que son terminales, surgen del tallo floral, el cual es radical y de disposición solitaria, mientras que las flores son de aspecto irregular, fragantes, pequeñas y de color amarillo verdoso, se agrupan en espigas (Flores Mejía & Patiño Pozo, 2016).

2.1.5.1.2. Taxonomía.

Tabla 3:

Taxonomía del jengibre (Zingiber officinale)

Descendencia	Descripción
Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Liliopsida
Orden	Zingiberales
Familia	Zingiberaceae
Género	<i>Zingiber</i>
Especie	<i>Zingiber officinale</i>

Nota; Sotomayor Sarabia, (2022).

2.1.5.1.3. Composición.

En el ámbito alimentario, se identifican diversos compuestos esenciales, entre los cuales destacan aceites como el citral, citronelal, limoneno, canfeno, beta-bisolobeno, beta- cariofileno, beta-bisanolo, alfa-farneseno, alfa-cadineno, alfa-cadino, beta-felandreno, beta-pineno, beta-sesquifelandreno y gama-eudesmol, además, se encuentran presentes aminoácidos fundamentales, tales como la arginina, asparagina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, niacina, treonina, triptófano, tirosina y valina en la raíz, destacando la presencia de minerales esenciales como aluminio, boro, cromo, cobalto, manganeso, fósforo y silicio (Zalamea Molina et al., 2017).

La composición química experimenta variaciones con respecto al género y la excelencia del rizoma de *Zingiber officinale* a modo de generalización, se puede aceptar la siguiente formulación promedio:

Tabla 4:

Composición química del jengibre (Zingiber officinale)

Componentes	Porcentaje
Agua	10.0 %
Sustancias nitrogenadas (Proteínas)	7.5 %
Lípidos	3.5 %
Esencia	2.0 %
Almidón	54.0 %
Celulosa	4.5 %
Sustancias extractivas no nitrogenadas	13.0 %
Cenizas	5.5 %

Nota: Rosella et al. (1996).

2.1.5.2. Usos.

El rizoma de *Zingiber officinale*, comúnmente conocido como jengibre, ha demostrado ser una herramienta terapéutica eficaz en el abordaje de diversos síntomas y enfermedades, su aplicación se extiende al tratamiento de afecciones como vómitos, náuseas, trastornos gastrointestinales, así como a enfermedades respiratorias como tos, gripe y bronquitis. Además, el jengibre presenta propiedades beneficiosas en el manejo de condiciones como artritis, reumatismo, malestares musculares e inflamación (Jaimez Ordaz et al., 2021).

Diversos estudios científicos respaldan los efectos positivos del jengibre, confirmando sus propiedades antimicrobianas, hipoglucémicas, analgésicas, neuroprotectoras, anticancerígenas, antiinflamatorias y antioxidantes. Donde los científicos respaldan la incorporación del jengibre como parte de estrategias terapéuticas para mejorar la salud y mitigar diversas afecciones (Jaimez Ordaz et al., 2021).

2.1.6. Carne de res

2.1.6.1. Definición.

Es el producto primario resultante del proceso de sacrificio animal, conocido como res, carcasa o canal, se compone por un tejido muscular (carne), tejido adiposo, estructuras óseas y tendones, el cual se obtiene mediante la eliminación de elementos como la sangre, cuero, cabeza, patas desde la rodilla hacia abajo, cola, vísceras, riñones y las grasas internas correspondientes a la pelvis, riñonada y capadura (Bavera, 2006).

2.1.6.2. Propiedades.

La carne desempeña un papel significativo en la satisfacción de las necesidades nutricionales humanas, donde sus principales componentes, cuyas proporciones varían según la especie de origen, comprenden agua (65 - 80 %), proteína (16 - 22 %) y grasa en (1 - 15%), además la composición de la carne puede verse afectada por factores como la raza, el sexo, la edad del animal y la dieta proporcionada. Además de estos componentes principales, la carne también contiene pequeñas cantidades de sustancias nitrogenadas no proteicas, como aminoácidos libres, péptidos y nucleótidos, así como también minerales altamente biodisponibles como hierro y zinc, vitaminas como B6, B12, retinol y tiamina, y carbohidratos (Horcada & Polvillo, 2010).

2.1.6.3. Composición química.

El tejido muscular esquelético muestra una estructura compuesta por aproximadamente un 71 - 76 % de contenido acuoso, un rango de 17 - 21 % de proteínas, una proporción de 1 - 7 % de grasas, y un porcentaje de 2,5 - 3 % de sustancias solubles no nitrogenadas (Andújar et al., 2000).

2.1.7. Tipos de extracción

2.1.7.1. Extracción mediante evaporación rotativa (rotavapor).

Este procedimiento implica la eliminación de un disolvente orgánico de una mezcla de reacción, mediante un motor eléctrico que induce el giro de un tubo

con un ajuste esmerilado, dicho tubo se acopla al matraz de fondo redondo el cual contiene la disolución. Para llevar a cabo este proceso, el matraz debe estar parcialmente sumergido en un baño de agua y en constante rotación, en el caso de disolventes orgánicos convencionales, la temperatura del baño debe mantenerse en un rango de 35 a 40 °C (López Sánchez et al., 2005).

El sistema incluye un refrigerante a través del cual circula agua, facilitando la condensación de los vapores del disolvente, los cuales son recolectados en un colector, este conjunto opera como un sistema cerrado conectado a una bomba de vacío, una trompa de agua o un circuito de vacío, aunque la destilación simple es una alternativa viable, este método se prefiere debido a su mayor velocidad y comodidad (López Sánchez et al., 2005).

2.1.7.2. Destilación por arrastre de vapor.

Constituye un procedimiento de separación empleado para la extracción de aceites esenciales, donde, el vapor atraviesa el material vegetal, segregando los componentes volátiles que contienen los aceites deseados, para luego separarlos mediante un proceso de condensación (Ruiz Benitez, 2020).

Este proceso permite la separación de componentes volátiles, aprovechando las diferencias en las presiones de vapor de los líquidos involucrados, en donde el vapor generado actúa como vehículo para los compuestos volátiles, facilitando su extracción y separación del material vegetal durante la destilación (Cerutti & Neumayer, 2004).

La destilación por arrastre con vapor se ejecuta en tres modalidades técnicas: hidrodestilación simple, destilación con vapor saturado, y destilación con vapor seco. Respecto a la hidrodestilación simple, el material vegetal se sumerge directamente en agua, sometiéndolo a ebullición, maximizando la acción del agua pero con riesgo de hidrólisis y oxidaciones, la destilación con vapor saturado implica inyectar vapor de agua a través de una masa vegetal dispuesta sobre placas perforadas, trabajando cerca de los 100 °C a 1 atm de presión, con rendimientos óptimos si no hay apelmazamientos, en la destilación con vapor seco, el vapor atraviesa la materia vegetal, colocada sobre columnas o cestones, con el riesgo de recalentamiento que puede secar las membranas celulares,

aunque las instalaciones son más costosas, este método presenta mayores producciones (Gonzales Villa, 2004).

2.1.7.3. Maceración.

Se define como el contacto prolongado entre la muestra y el solvente, formando un conjunto homogéneamente mezclado, en el cual, el solvente actúa de manera simultánea sobre todas las proporciones de la muestra, circulando en todas las direcciones y sentidos, disolviendo los principios activos hasta alcanzar una concentración en equilibrio con el contenido celular. Este método de extracción, siendo el más simple, implica proteger el conjunto de muestra y solvente de la luz para prevenir posibles reacciones, además de agitarlo continuamente, aproximadamente tres veces al día, el tiempo de maceración varía según las características particulares del proceso y de la muestra en cuestión (Carrión Jara & García Gomez, 2010).

(Cevallos Mendoza & Palacios Bravo, 2021) menciona que la maceración consiste en la inmersión del material vegetal fragmentado en un solvente, ya sea agua, etanol o glicerina, con el propósito de permitir que dicho solvente penetre y disuelva las partes solubles del material, posteriormente, se sella el recipiente y se deja reposar durante un periodo de dos a 14 días, con agitación constante, luego de este período, se procede a filtrar el líquido resultante, se exprime el residuo para extraer cualquier remanente de solución, y finalmente, se recupera el solvente utilizando un evaporador rotatorio, donde el resultado final es la obtención del extracto, que contiene los componentes solubles previamente disueltos en el solvente, este procedimiento se lleva a cabo con el objetivo de obtener de manera eficiente y selectiva los compuestos deseados del material vegetal para su posterior aplicación o análisis.

2.1.8. Etanol

2.1.8.1. Definición.

El etanol, también denominado alcohol etílico, constituye un compuesto químico de naturaleza orgánica con la fórmula química $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-OH}$ ($\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$), en condiciones estándar, se manifiesta en estado líquido, carece de color, emite un característico olor penetrante, es completamente soluble en agua en cualquier

proporción y presenta propiedades inflamables y volátiles, su punto de ebullición es de 78,65 °C, mientras que su calor de vaporización alcanza los 38,56 KJ/mol (Castilla Rodríguez, 2013).

2.1.8.2. Usos.

Desde tiempos antiguos, se ha producido etanol mediante el proceso de fermentación anaeróbica de una solución rica en azúcares, utilizando levadura y posteriormente sometiéndola a destilación, más allá de su aplicación en la cocina como bebida alcohólica, el etanol despliega su utilidad en diversos sectores industriales, en la industria farmacéutica, se emplea como excipiente en la formulación de algunos medicamentos y productos cosméticos, aprovechando su capacidad como solvente y destacando su papel como anticongelante y desinfectante, siendo más efectivo como bactericida a una concentración cercana al 70 % (Castilla Rodríguez, 2013).

La industria química también se beneficia del etanol, al utilizarlo como compuesto inicial en la síntesis de múltiples productos, entre ellos el acetato de etilo, un solvente empleado en la fabricación de pegamentos y pinturas, no obstante, uno de los usos más fascinantes en la actualidad es su aplicación como biocombustible, ofreciendo diversas opciones de mezcla para la creación de biocombustibles con propiedades y denominaciones específicas (Castilla Rodríguez, 2013).

2.1.9. Pruebas de inhibición microbiana

2.1.9.1. Antibiograma disco-placa.

Consiste en utilizar discos impregnados de papel filtro, los cuales contienen un antibiótico específico, dispuestos sobre la superficie de un medio de cultivo en una placa de Petri previamente inoculada con el microorganismo de interés, el antibiótico se difunde hacia el agar, generando gradientes de concentración. El crecimiento bacteriano se verá inhibido cuando alcance una concentración específica del antimicrobiano, es decir, a una distancia determinada desde el disco. La categorización del microorganismo como sensible, susceptible con aumento de la dosis, o resistente al antibiótico ensayado se determina según la longitud del diámetro de inhibición, datos que se estandarizan mediante estudios

comparativos con otros métodos que evalúan la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) (Martínez Campos & Porras González, 2021).

2.1.9.2. Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (porcentaje de inhibición) mediante el método de dilución en caldo.

El procedimiento de dilución en caldo se fundamenta en la evaluación del crecimiento o la falta de crecimiento de un microorganismo en un caldo que contiene una concentración específica de agente antimicrobiano, este análisis se realiza mediante la observación visual de la presencia de turbidez en los tubos o pocillos de ensayo, la técnica se clasifica en macrodilución, cuando se emplean tubos de ensayo, o microdilución, en el caso de placas multipocillo. Se aconseja utilizar caldo Mueller - Hinton como medio de cultivo, al cual se le agregarán los suplementos necesarios, es esencial que el pH del medio se sitúe entre 7.2 y 7.4, con ajustes de Ca^{2+} (20 - 25 mg/l) y Mg^{2+} (10 - 12.5 mg/l). m. Los métodos de microdilución en caldo representan una herramienta valiosa para determinar la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) en un extenso número de muestras, aunque su implementación demanda la utilización de instrumentación especializada, en el caso del método de macrodilución, a pesar de ser más laborioso, se emplea material de laboratorio convencional (Rivas Soler & Pérez Esteve, 2021).

2.1.9.3. Método mediante turbidimetría.

La turbidimetría representa un método consolidado para analizar el desarrollo bacteriano mediante la evaluación de la densidad óptica, posibilitando el monitoreo en tiempo real del crecimiento de la población bacteriana, la densidad óptica (DO) o absorbancia ha sido empleada durante extensos periodos para cuantificar la concentración de suspensiones bacterianas en términos de masa, número o longitud celular media. La introducción de instrumentos turbidimétricos automatizados ha optimizado significativamente las mediciones de DO por parte de los microbiólogos, donde la absorbancia se define como el logaritmo decimal de la relación entre la intensidad de la luz incidente en la suspensión (I_0) y la luz transmitida por la suspensión (I) (Santos Eduardo, 2007).

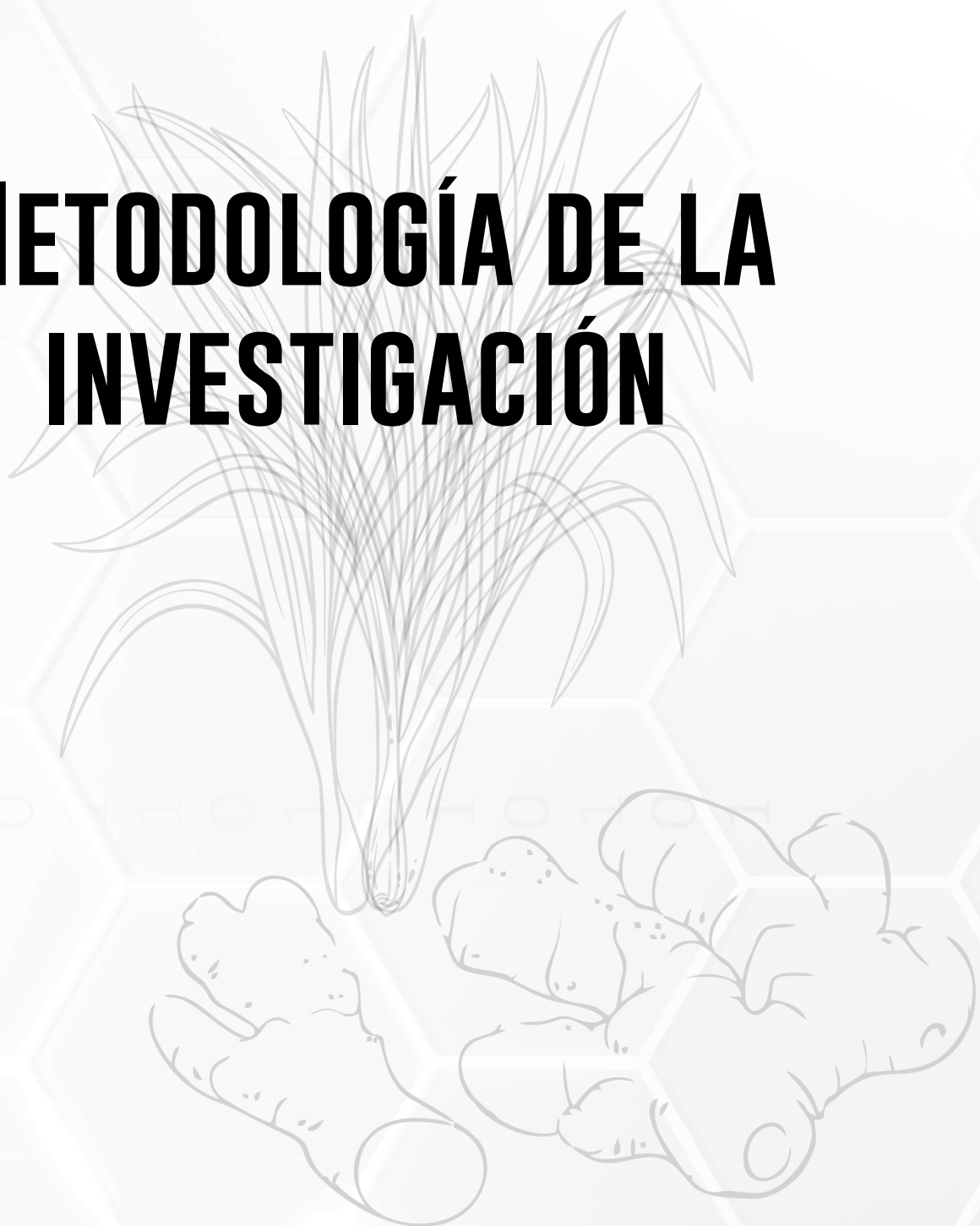
2.1.9.4. Determinación de la concentración microbiana mediante el conteo de células viables.

El método de recuento en placa se rige como una técnica preeminente en la determinación de la viabilidad de microorganismos en un medio líquido, en situaciones de baja concentración, se opta por la filtración de la muestra a través de una membrana que se transfiere al medio de cultivo en una placa de Petri, donde los microorganismos capturados en la membrana experimentan un crecimiento que se traduce en la formación de colonias, facilitando así su cuantificación. En casos de concentración elevada, se procede a la preparación de diluciones seriadas con una proporción de 1:10, generando diluciones alcanzando valores de 10^{-7} o superiores, en porciones pequeñas de estas diluciones se siembran en medio nutritivo en placa, propiciando el desarrollo de colonias bacterianas (Ramírez et al., 2017).

En placas donde la concentración de la porción sembrada es excesiva, se observará un crecimiento masivo de bacterias; no obstante, en situaciones de baja concentración, el recuento de unidades formadoras de colonias (UFC) puede resultar diminuto, entre los extremos de las diluciones, algunas placas contendrán un número de colonias situado entre 30 y 300, posibilitando así su cuantificación (Ramírez et al., 2017).

CAPITULO 3

METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN



Metodología de la investigación

3.1. Localización

El estudio fue realizado en los laboratorios de Química y Microbiología de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo Campus “La María” ubicada en el Km 7 ½ vía Quevedo – Mocache de la provincia de Los Ríos.

3.2. Tipo de investigación

3.2.1. Investigación Experimental

Permitió la obtención de los extractos de hierba luisa y jengibre mediante el método de evaporación rotativa utilizando etanol al 96 % como solvente químico, este enfoque permitió controlar de manera precisa el proceso de extracción, además se empleó un análisis de varianza (ANOVA) para evaluar las diferencias significativas entre las concentraciones de los extractos de hierba luisa y jengibre en términos de su capacidad para inhibir *Staphylococcus aureus* en carne de res permitiendo identificar variaciones estadísticas entre las diferentes concentraciones, posteriormente, se realizaron pruebas de significación, como la prueba de Tukey, para discernir específicamente los niveles de concentración que mostraron diferencias significativas en la inhibición del microorganismo.

3.2.2. Investigación Analítica

Este tipo de investigación permitió analizar las concentraciones adecuadas de los extractos de hierba luisa y jengibre, con el propósito de inhibir la presencia de *Staphylococcus aureus* en carne de res, además de interpretar los resultados de las pruebas de inhibición en dicha bacteria.

3.2.3. Investigación Bibliográfica

A través de la revisión bibliográfica, se logró recopilar datos provenientes de diversas fuentes como artículos científicos, informes y libros, todos ellos vinculados a los extractos obtenidos, esta recopilación permitió realizar una

comparación rigurosa entre los resultados obtenidos en la investigación y la información previamente documentada, garantizando así la validez y contextualización de los hallazgos.

3.3. Métodos de investigación

3.3.1. Método deductivo

Se establecieron fundamentos sólidos basados en teorías existentes y principios científicos relacionados con las propiedades antimicrobianas de hierba luisa y jengibre mediante una revisión exhaustiva de la literatura científica, se identificaron conceptos clave que respaldaron la formulación de hipótesis específicas respecto a la capacidad de los extractos para inhibir *Staphylococcus aureus* en carne de res.

3.3.2. Método de observación

Se aplicó este método enfocado en el análisis del diámetro de inhibición de la bacteria, así como también en los días de tolerancia al extracto aplicado en la misma, esta técnica permitió medir y registrar de manera precisa la zona de inhibición alrededor de las muestras tratadas con los extractos, proporcionando información cuantitativa sobre la efectividad antimicrobiana de los mismos.

3.3.3. Método analítico

Se aplicó para examinar la influencia directa de los extractos en la inhibición de *Staphylococcus aureus* en la carne de res, llevando a cabo análisis cuantitativos y cualitativos, centrándose en la evaluación de la concentración de la bacteria después de la aplicación del extracto.

3.4. Fuentes de recopilación de información

La información recolectada se derivó de diversas fuentes como artículos científicos, textos especializados y regulaciones, evidenciando que este estudio se ha llevado a cabo respaldado por fundamentos científicos y normativos.

3.5. Diseño de la investigación

Se planteó un diseño factorial de dos variables independientes A x B: Siendo el Factor A

= Fuente del extracto (Hierba Luisa (*Aloysia citradora*) y Jengibre (*Zingiber officinale*)) y Factor B = Concentraciones del extracto (10 %, 15 % y 20 %), obteniéndose 6 tratamientos con 3 repeticiones, dando un total de 18 unidades experimentales, aplicando ANOVA (Análisis de Varianza) y pruebas de significación de TUKEY para identificar el mejor tratamiento, considerando un nivel de significancia de $p \leq 0.05$, para lo cual se utilizó el software estadístico Stagraphics versión 16.1.03.

3.5.1. Factores de estudio

En la siguiente tabla se muestran los factores de estudio utilizados en esta investigación.

Tabla 5:

Factores de estudio que intervienen en la determinación adecuada del extracto

Factor de estudio	Simbología	Descripción
Factor A: Fuente del Extracto	a ₀	Hierba Luisa
	a ₁	Jengibre
Factor B: Concentración del Extracto	b ₀	10 %
	b ₁	15 %
	b ₂	20 %

Nota: Autores (2024).

Tabla 6:

*Descripción de los tratamientos obtenidos por la interacción A*B*

Tratamientos	Descripción
a ₀ b ₀	Hierba Luisa, 10 %
a ₀ b ₁	Hierba Luisa, 15 %
a ₀ b ₂	Hierba Luisa, 20 %
a ₁ b ₀	Jengibre, 10 %
a ₁ b ₁	Jengibre, 15 %
a ₁ b ₂	Jengibre, 20 %

Nota: Autores (2024).

Tabla 7:

Esquema de análisis de varianza para las variables en estudio

F. V.	S. C.	G. L.	C. M.	R. V.
Factor A	SC _A	a - 1	CM _A	CM _A / CM _E
Factor B	SC _B	b - 1	CM _B	CM _B / CM _E
I (AB)	SC _{AB}	(a - 1) (b - 1)	CM _{AB}	CM _{AB} / CM _E
Réplicas	SC _R	r - 1	CM _R	CM _R / CM _E
Error	SC _E	ab (n - 1)	CM _E	
Total	SC_T	abn - 1		

Nota: Factor A = Fuente del extracto, Factor B = Concentración del extracto, Autores (2024).

3.5.2. Variables estudiadas

- Diámetro de inhibición a las 24, 48, 72, 96, 120 horas.
- Días de tolerancia.
- Porcentaje de inhibición.
- Concentración de *Staphylococcus aureus*.

3.6. Instrumentos de la investigación

3.6.1. Preparación de las muestras

Inicialmente, se procedió a lavar el jengibre con agua destilada y cortarlo en tamaños de 1 cm al igual que la hierba luisa, acto seguido, se llevó a cabo el secado de las hojas de hierba luisa trituradas y jengibre, donde fueron sometidas a un proceso de secado en una estufa, a una temperatura controlada de 50 °C durante un periodo de 48 horas, posteriormente se trituraron las muestras para aumentar la superficie de contacto.

3.6.2. Maceración y agitación

Se procedió a la preparación del solvente, utilizando etanol al 96 %, con una proporción de 1:10 de muestra a solvente, luego se dejaron en agitación a 120 rpm y macerando durante 48 horas, esto se realizó en matraces Erlenmeyer para

posteriormente ser filtradas las muestras en papel filtro, donde se almacenó el líquido filtrado en envases ámbar a temperatura de 4 ° C hasta el momento de la extracción mediante rotavapor.

3.6.3.Extracción mediante evaporación rotativa

En la ejecución de la extracción de los componentes de hierba luisa y jengibre, se implementó la técnica de evaporación rotativa utilizando un rotavapor, el cual permitió realizar la extracción mediante la rotación de la muestra a una temperatura controlada de 50 ° C y a 128 revoluciones por minuto, favoreciendo la evaporación del solvente y la concentración de los compuestos deseados, el proceso culminó con la obtención de extractos de hierba luisa y jengibre.

3.6.4.Centrifugación de los extractos

Se llevó a cabo la centrifugación de los extractos obtenidos a través del proceso de evaporación rotativa, este procedimiento tuvo como objetivo separar las fases líquidas y sólidas presentes en los extractos para obtener una muestra más purificada y facilitar análisis posteriores, las muestras fueron sometidas a centrifugación a una velocidad de 3400 rpm durante 15 minutos, lo que generó una fuerza centrífuga que propició la sedimentación de los componentes más densos en el fondo de los tubos de centrifugación.

3.6.5.Almacenamiento de los extractos obtenidos

Se procedió al almacenamiento de los extractos obtenidos tras la centrifugación hasta el momento de llevar a cabo los análisis de inhibición, las muestras fueron transferidas a recipientes herméticos de vidrio para preservar su integridad y evitar contaminaciones externas, estos recipientes fueron resguardados en condiciones de almacenamiento específicas, a una temperatura controlada de 4 °C, con el propósito de mantener la estabilidad y la calidad de los extractos a lo largo del periodo de almacenamiento.

3.6.6.Cálculo del rendimiento de los extractos

Una vez obtenidos los extractos de hierba luisa y jengibre se determinaron los respectivos rendimientos en cuanto al filtrado luego de la maceración por 48 horas, mediante la fórmula utilizada por (Gamba Peña, 2015) :

$$\% \text{ Rendimiento} = \frac{\text{Cantidad de extracto filtrado}}{\text{Cantidad de muestra} + \text{solvente}} * 100 \%$$

Luego se determinó el rendimiento de los extractos puros obtenidos mediante la evaporación rotativa, utilizando la fórmula empleada por (Gamba Peña, 2015):

$$\% \text{ Rendimiento} = \frac{\text{Cantidad de extracto destilado}}{\text{Cantidad de extracto filtrado ingresado}} * 100 \%$$

3.6.7. Preparación de las concentraciones

En cuanto a las concentraciones de los diferentes tratamientos se utilizaron 6 tubos Eppendorf estériles y una micropipeta de 1000 µl, donde en el tubo con el tratamiento 1 (extracto de hierba luisa, 10 % concentración) se agregó con ayuda de la micropipeta 100 µl del extracto + 900 µl de agua destilada, en el tubo con el tratamiento 2 (extracto de hierba luisa, 15 % concentración) se adicionó 150 µl del extracto + 850 µl de agua destilada, en cuanto al tubo con el tratamiento 3 (extracto de hierba luisa, 20 % concentración) se agregó 200 µl del extracto + 800 µl de agua destilada, respecto al tratamiento 4 (extracto de jengibre, 10 % concentración) se añadió 100 µl del extracto + 900 µl de agua destilada, en el tratamiento 5 (extracto de jengibre, 15 % concentración) se adicionó 150 µl del extracto + 850 µl de agua destilada y por ultimo al tubo con el tratamiento 6 (extracto de jengibre, 20 % concentración) se agregó 200 µl del extracto + 800 µl de agua destilada.

3.6.8. Preparación del medio sólido y aplicación de los tratamientos

Se siguió la metodología de antibiograma descrita por (Bernal & Guzman, 1984), donde primeramente se preparó el medio de cultivo Agar nutritivo, disolviendo 14 g de este en 500 ml de agua destilada, posteriormente se esterilizó en autoclave a 121 °C durante 15 minutos y se procedió a llenar 15 ml del medio en 6 placas Petri previamente esterilizadas, esto se realizó dentro de una cámara de siembra para evitar posibles contaminaciones, las placas se dejaron reposar y se expusieron a UV durante 10 minutos en la cámara de siembra para eliminar posibles contaminaciones al momento de este proceso, una vez el medio

solidificó se aplicó una muestra de *Staphylococcus aureus* replicada en todas las placas, asegurándose que esta cubra toda la placa Petri con ayuda de una asa de siembra, se dejó reposar 5 minutos y se procedió a colocar tres discos de papel filtro marca Whatman de 6 mm con las diferentes concentraciones sumergiendo los mismos en cada concentración y en cada placa asegurando que no toquen los bordes de esta con ayuda de una pinza esterilizada, haciendo una ligera presión para asegurar que el disco quede impregnado, finalmente se voltearon todas las placas Petri y se llevaron a la incubadora a 28 ° C durante los siguientes intervalos de 24 horas para la medición de los halos de inhibición.

3.6.9. Determinación del diámetro de inhibición

Para la determinación de los halos de inhibición se siguió la metodología establecida por (Picazo, 2000), donde se utilizó un contador de colonias para observar de manera más precisa los resultados, además se procedió a medir los diámetros de todos los discos con los diferentes tratamientos, con ayuda de un calibrador de Vernier, esto se lo realizó cada 24 horas hasta identificar que dichos diámetros ya no presentaran inhibición en todos los tratamientos estudiados.

3.6.10. Determinación de días de tolerancia

El tiempo de tolerancia de cada tratamiento se lo estableció midiendo las horas en las que cada uno de los diámetros de inhibición bajó a 6 mm (diámetro del disco con el extracto) tal como lo indica (Bernal & Guzman, 1984).

3.6.11. Cálculo del porcentaje de inhibición

Para determinar el porcentaje de inhibición del mejor tratamiento, primeramente se preparó el Caldo LB de Miller (Luria - Bertani), disolviendo 5 g del medio en 200 ml de agua destilada, luego se homogenizó y se esterilizó a 121 ° C por 15 minutos, posteriormente, en un matraz de Erlenmeyer se adicionó 80 ml del medio líquido + 20 ml del extracto + muestra de *Staphylococcus aureus* (se tomó con ayuda de un asa de siembra estéril la muestra de la bacteria aislada con una concentración de 1.5×10^4 UFC), representando el 20 % del mejor tratamiento y en otro matraz se preparó un testigo, adicionando 100 ml del medio líquido + muestra de *Staphylococcus aureus*. Luego se sometió el medio de cultivo con el extracto y el testigo en agitación constante para tomar datos de absorbancia y

porcentaje de transmitancia cada 24 horas con ayuda de un espectrofotómetro durante tres días, de esta manera se determinó el porcentaje de inhibición como lo establece (Ángel Virgilio, 2018) mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{\text{Absorbancia testigo} - \text{Absorbancia tratamiento}}{\text{Absorbancia testigo}} * 100$$

3.6.12. Aplicación del mejor tratamiento a la carne de res

Se aplicó el mejor tratamiento en muestras de carne de res para determinar su efectividad, donde se preparó la concentración al 20 % adicionando 80 ml de agua destilada y 20 ml del extracto de hierba luisa en un vaso de precipitación estéril, luego se pesó 20 gramos de carne de res y se suspendió en el extracto durante 1 minuto con ayuda de una pinza estéril, se realizaron tres réplicas y se almacenaron las muestras en fundas Ziploc, además se realizaron tres réplicas reemplazando el extracto por agua destilada y tres réplicas testigo solo con la carne, las muestras fueron almacenadas en un cuarto oscuro y al ambiente, se realizó una observación visual cada 24 horas hasta que la muestra testigo presentará un estado de pudrición, donde finalmente se observó el mal estado del testigo a las 72 horas y se tomaron muestras de cada una de las réplicas para su posterior análisis y recuento de colonias de *Staphylococcus aureus* presentes luego de la aplicación del extracto.

3.6.13. Determinación de la concentración de *Staphylococcus aureus* una vez aplicado el extracto

Finalmente en cada una de las muestras se tomó 1 g de carne y se trituró con 10 ml de agua destilada en un mortero, se almacenaron los extractos de carne en tubos de ensayo de 10 ml, luego en todas las muestras se realizaron diluciones seriadas hasta 10^{-3} con la finalidad de obtener una muestra concentrada y apta para el conteo de las colonias de *Staphylococcus aureus*, posteriormente se inocularon las muestras en placas Petri estériles con medio selectivo Agar Manitol Sal, para identificar solo las colonias de la bacteria en estudio, se incubaron las placas a 37 ° C durante 48 horas, luego se realizó el conteo de las colonias siguiendo la metodología (NTE INEN 1529-14, 2013), y se calculó las UFC con la siguiente fórmula:

$$N = \frac{\sum c}{V(n_1 + 0.1n_2)d}$$

Donde:

$\sum C$ = suma de las colonias de *Staphylococcus aureus* calculadas en todas las placas elegidas;

n_1 = número de placas contadas de la primera dilución seleccionada;

n_2 = número de placas contadas de la segunda dilución seleccionada; d = dilución de la cual se obtuvieron los primeros recuentos;

V = volumen del inóculo sembrado en cada placa.

3.7. Tratamientos de los datos

Los datos obtenidos fueron sometidos a un análisis estadístico que incluyó el empleo del ANOVA (Análisis de Varianza) y pruebas de significación de TUKEY. Este análisis se llevó a cabo con el objetivo de identificar el tratamiento más efectivo, considerando un nivel de significancia de $p \leq 0.05$. Para realizar estas evaluaciones, se utilizó el software estadístico Stagraphics en su versión 16.1.03 y Microsoft Excel para la elaboración de gráficos.

3.8. Recursos humanos y materiales

Tabla 8:

Recursos humanos y materiales para la realización del proyecto de investigación

Recursos humanos

Autor: Ing. Bryan Daniel Almeida Casanova

Tutor: Ing. Denisse Margoth Zambrano Muñoz, MSc.

Colaboradores:

Ing. Roxanna Mercedes

Zambrano Muñoz MSc.

Ing. Jhonnatan Placido Aldas

Morejon MSc

Ing, Karol Yannela Revilla

Escobar MSc

Materias primas	Reactivos
Hierba Luisa (<i>Aloysia citradora</i>)	Agar Manitol Sal
Jengibre (<i>Zingiber officinale</i>)	Etanol 96 %
Carne de Res	Agua Destilada
	Caldo LB de Miller (Luria - Bertani)
	Agar Nutritivo
Equipos	Materiales
Rotavapor	Envases de vidrio ámbar
Estufa	Asa de siembra
Incubadora	Matraz Erlenmeyer
Contador de colonias	Vasos de precipitación
Microscopio	Tubos de ensayo
Balanza Analítica	Placas Petri
Balanza Digital	Probeta
Agitador	Pie de Rey
Refrigerador	Papel Filtro
Cámara de cultivo	Micropipeta
Espectrofotómetro	Papel aluminio
Autoclave	Fundas ziploc
Centrifuga	
Licuada	

Nota: Autores (2024).

CAPITULO 4

RESULTADOS



Resultados

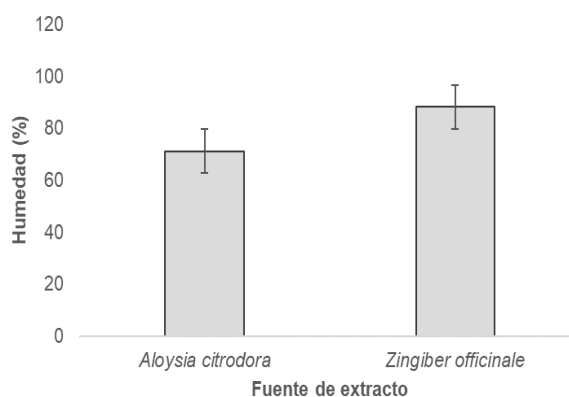
4.1. Resultados obtenidos de la elaboración de los extractos de hierbaluisa (*Aloysia citrodora*) y jengibre (*Zingiber officinale*) mediante evaporación rotativa

4.1.1. Contenido de humedad de las fuentes de extracto

En la Figura 1 se observa que la hierbaluisa experimentó una pérdida de humedad del 71.2% después del secado en estufa, mientras que, en el jengibre, los resultados indican una pérdida de humedad más pronunciada alcanzando el 88.2%.

Figura 1:

Porcentajes de humedad perdida de las fuentes de extracto



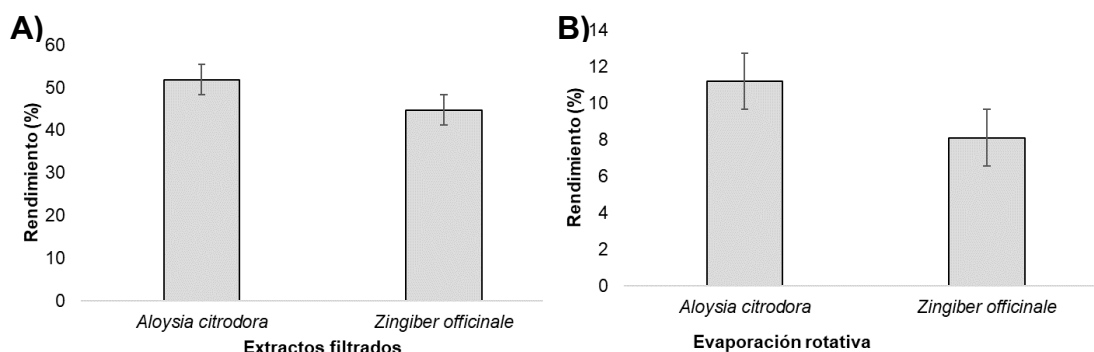
Nota: Autores (2024).

4.1.2. Rendimiento de los extractos filtrados y mediante evaporación rotativa

En la Figura 2A y 2B se indica el rendimiento de los extractos filtrados y mediante evaporación rotativa, donde se demostró el extracto de hierbaluisa presentó el mayor rendimiento con valores de 51,90 % y 11.2 % respectivamente.

Figura 2:

Rendimiento de las fuentes de extracto



Nota: Autores (2024).

4.2. Resultados de análisis de diámetros de inhibición en *Staphylococcus aureus*

4.2.1. Análisis de varianza de resultados de diámetros de inhibición microbiano de los extractos de hierba luisa y jengibre a las 24, 48, 72, 96 y 120 horas

En los resultados del análisis de varianza sobre los diámetros de inhibición a las 24 horas, se evidenció una diferencia altamente significativa en relación con la fuente del extracto (Factor A). Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas en cuanto a la concentración del extracto (Factor B) ni en la interacción A*B y réplicas.

Tabla 9:

Análisis de varianza para diámetros de inhibición a las 24 horas

F. V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Factor A	9.39	1	9.39	5.25**	0.0449
Factor B	2.11	2	1.06	0.59	0.5725
Réplicas	2.78	2	1.39	0.78	0.4859
Factor	1.44	2	0.72	0.40	0.6782
A*Factor B					
Residuos	17.89	10	1.79		
Total	33.61	17			

Nota: diferencia altamente significativa; diferencia significativa

La Tabla 10 presentó los resultados del análisis de varianza para los diámetros de inhibición a las 48 horas. Se observó que no hubo diferencias significativas en los halos de inhibición, tanto en relación con la fuente del extracto (Factor A) como con la concentración del extracto (Factor B) y la interacción entre ambos factores (Factor A * Factor B). Asimismo, las réplicas no mostraron diferencias significativas.

Tabla 10:

Análisis de varianza para diámetros de inhibición a las 48 horas

F. V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Factor A	0.5	1	0.5	0.31	0.5872
Factor B	0.44	2	0.22	0.14	0.8712
Réplicas	3.44	2	1.72	1.08	0.3749
Factor A*Factor B	5.33	2	2.67	1.68	0.2352
Residuos	15.89	10	1.59		
Total	25.61	17			

Nota: diferencia altamente significativa; * diferencia significativa

Respecto a los resultados obtenidos observados en la tabla 14, en cuanto al análisis de varianza de la variable diámetros de inhibición a las 72 horas, se observó que existe diferencia altamente significativa en la fuente del extracto (Factor A), mientras que en la concentración del extracto (Factor B) y la interacción del Factor A * Factor B no representaron diferencia significativa en los halos de inhibición estudiados, respecto a las réplicas no se observó diferencia significativa.

Tabla 11:

Análisis de varianza para diámetros de inhibición a las 72 horas

F. V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Factor A	12.5	1	12.5	6.47**	0.0292
Factor B	2.33	2	1.17	0.60	0.5657
Réplicas	0	2	0	0.00	1.0000
Factor A*Factor B	8.33	2	4.17	0.16	0.1666
Residuos	19.33	10	1.93		
Total	42.5	17			

Nota: diferencia altamente significativa; diferencia significativa

En la Tabla 12, se observó que los resultados del análisis de varianza de la variable diámetros de inhibición a las 96 horas presentaron diferencia altamente

significativa en la fuente del extracto (Factor A), concentración del extracto (Factor B) y la interacción del Factor A * Factor B, mientras que en las réplicas no se presentó diferencia significativa.

Tabla 12:

Análisis de varianza para diámetros de inhibición a las 72 horas

F. V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Factor A	16.06	1	16.06	131.36**	0.0001
Factor B	26.78	2	13.39	109.55**	0.0001
Réplicas	0.11	2	0.06	0.45	0.6472
Factor	26.78	2	13.39	109.55**	0.0001
A*Factor B					
Residuos	1.22	10	1.12		
Total	70.94	17			

Nota: diferencia altamente significativa; diferencia significativa

Tabla 13:

Análisis de varianza para diámetros de inhibición a las 120 horas

F. V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Factor A	14.22	1	14.22	256.00**	0.0001
Factor B	28.44	2	14.22	256.00**	0.0001
Réplicas	0.11	2	0.06	1.00	0.4019
Factor	28.44	2	14.22	256.00**	0.0001
A*Factor B					
Residuos	0.56	10	0.06		
Total	71.78	17			

Nota: diferencia altamente significativa; diferencia significativa

Tabla 14:

Prueba de significación de Tukey para resultados de diámetros de inhibición en Staphylococcus aureus (Factor A)

Fuente de extracto	24 hrs	48 hrs	72 hrs	96 hrs	120 hrs
a ₀	9.00 ^A	10.11 ^A	9.67 ^B	7.88 ^B	7.78 ^B
a ₁	10.44 ^B	10.44 ^A	8.00 ^A	6.00 ^A	6.00 ^A

Nota: Letras iguales indica que los tratamientos no difieren entre sí, según la prueba de rangos múltiples de Tukey ($p < 0.05$).

La Figura 3 presenta los valores de Tukey ($p < 0.05$) para los análisis de los diámetros de inhibición de los extractos de hierba luisa y jengibre en *Staphylococcus aureus*, correspondientes al Factor A. Se observó una diferencia significativa entre los niveles del factor de estudio para la variable diámetros a

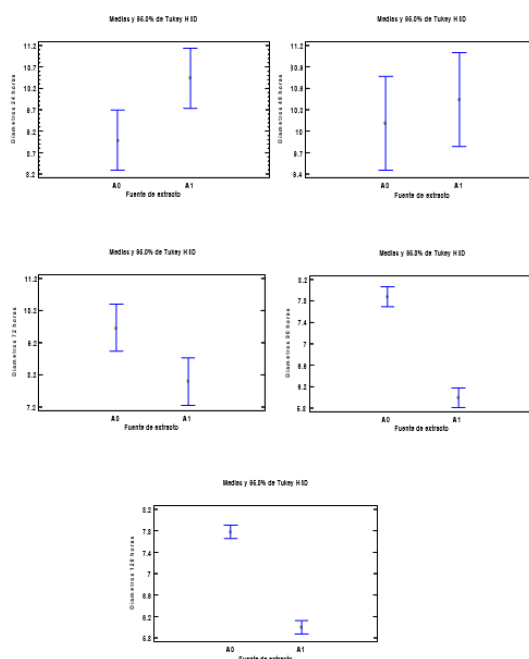
las 24, 72, 96 y 120 horas; sin embargo, no se encontró diferencia significativa en los halos de inhibición a las 48 horas.

En relación a los diámetros a las 24 horas, el valor más bajo corresponde al nivel a0 (extracto de hierba luisa), con una media de 9.00, mientras que el nivel más alto, a1 (extracto de jengibre), presenta una media de 10.44. A las 48 horas, ambos extractos muestran un halo de inhibición similar, ya que no se detecta diferencia significativa; en este caso, los niveles a0 y a1 tienen medias de 10.11 y 10.44, respectivamente.

A las 72 horas, el menor diámetro se registra en el nivel a1 (extracto de jengibre) con una media de 8.00, y el mayor en el nivel a0 (extracto de hierba luisa) con una media de 9.67. En cuanto a los diámetros a las 96 horas, el valor más bajo se encuentra nuevamente en el nivel a1 (extracto de jengibre) con una media de 6.00, y el más alto en el nivel a0 (hierba luisa) con una media de 7.88. Finalmente, a las 120 horas, se identificó el diámetro más bajo en el nivel a1 (extracto de jengibre) con una media de 6.00, y el más alto en el nivel a0 (extracto de hierba luisa) con una media de 7.78.

Figura 3:

Prueba de significación de Tukey para resultados de diámetros de inhibición en Staphylococcus aureus (Factor A)



Nota: Autores (2024).

Tabla 15:

*Prueba de significación de Tukey para resultados de diámetros de inhibición en *Staphylococcus aureus* (Factor B)*

Concentración del extracto	24 hrs	48 hrs	72 hrs	96 hrs	120 hrs
b ₀	9.33 ^A	10.17 ^A	8.67 ^A	6.17 ^A	6.00 ^A
b ₁	9.67 ^A	10.50 ^A	8.50 ^A	6.00 ^A	6.00 ^A
b ₂	10.17 ^A	10.17 ^A	9.33 ^A	8.67 ^B	8.67 ^B

Nota: Letras iguales indica que los tratamientos no difieren entre sí, según la prueba de rangos múltiples de Tukey ($p < 0.05$).

En la Figura 4, se muestra los valores de Tukey ($p < 0.05$) para los análisis de diámetros de inhibición de los extractos de hierba luisa y jengibre en *Staphylococcus aureus* correspondientes al Factor B, para lo cual se determinó diferencia significativa entre los niveles del factor de estudio para la variable diámetros a las 96 y 120 horas. Sin embargo, en los halos de inhibición a las 24, 48 y 72 horas no se encontró diferencia significativa.

Considerando diferencia significativa en la variable diámetros a las 96 y 120 horas, respecto a los halos de inhibición a las 96 horas, el valor más bajo se encontró en el nivel b₁ (concentración 15 %) con una media de 6.00, el nivel b₀ (concentración 10 %) con una media de 6.17 y el valor de la media más alta 8.67 se identificó en el nivel b₂ (concentración 20 %). En cuanto los diámetros a las 120 horas se observó el valor más bajo en el nivel b₀ (concentración 10 %) y b₁ (concentración 15 %), ambos con una media de 6.00, mientras que el valor más alto se determinó en el nivel b₂ (concentración 20 %) manteniendo la misma media de 8.67 en ese tiempo.

Prueba de significación de Tukey para resultados de diámetros de inhibición en Staphylococcus aureus (Factor B)



*Prueba de significación de Tukey para resultados de diámetros de inhibición en Staphylococcus aureus (Factor A*Factor B)*

Interacciones	24 hrs	48 hrs	72 hrs	96 hrs	120 hrs
a ₀ b ₀	9.00 ^A	10.67 ^A	8.67 ^A	6.00 ^A	6.00 ^A
a ₀ b ₁	8.67 ^A	10.33 ^A	9.33 ^A	6.00 ^A	6.00 ^A
a ₀ b ₂	9.33 ^A	9.33 ^A	11.00 ^A	11.33 ^B	11.33 ^B

Capítulo IV: Resultados

a ₁ b ₀	9.67 ^A	9.67 ^A	8.67 ^A	6.00 ^A	6.00 ^A
a ₁ b ₁	10.67 ^A	10.67 ^A	7.67 ^A	6.00 ^A	6.00 ^A
a ₁ b ₂	11.00 ^A	11.00 ^A	7.67 ^A	6.00 ^A	6.00 ^A

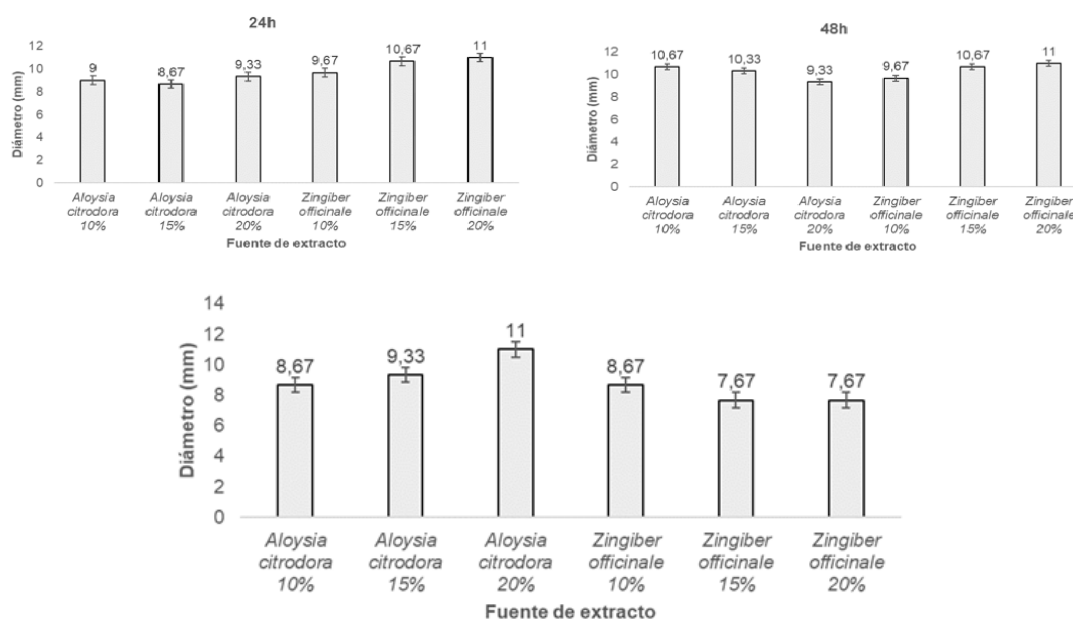
Nota: Letras iguales indica que los tratamientos no difieren entre sí, según la prueba de rangos múltiples de Tukey ($p < 0.05$).

En la Figura 5 se muestran los valores de Tukey ($p < 0.05$) correspondientes a los análisis de los diámetros de inhibición de los extractos de hierba luisa y jengibre en *Staphylococcus aureus*, en relación con la interacción del Factor A y el Factor B. Se observó una diferencia significativa en los diámetros a las 96 y 120 horas, mientras que los halos de inhibición a las 24, 48 y 72 horas no mostraron diferencias significativas.

En cuanto a los diámetros a las 96 horas, el nivel a₀b₂ (extracto de hierba luisa al 20% de concentración) presentó el valor más alto, con una media de 11.33, mientras que en los demás niveles se mantuvo una media de 6.00. A las 120 horas, los valores de los diámetros inhibitorios se mantuvieron en relación con los observados a las 96 horas.

Figura 5:

*Prueba de significación de Tukey para resultados de diámetros de inhibición en Staphylococcus aureus (Factor A*Factor B) a las 24, 48 y 72 horas*



Nota: Autores (2024).

4.3. Resultados de análisis de días de tolerancia de los extractos frente a

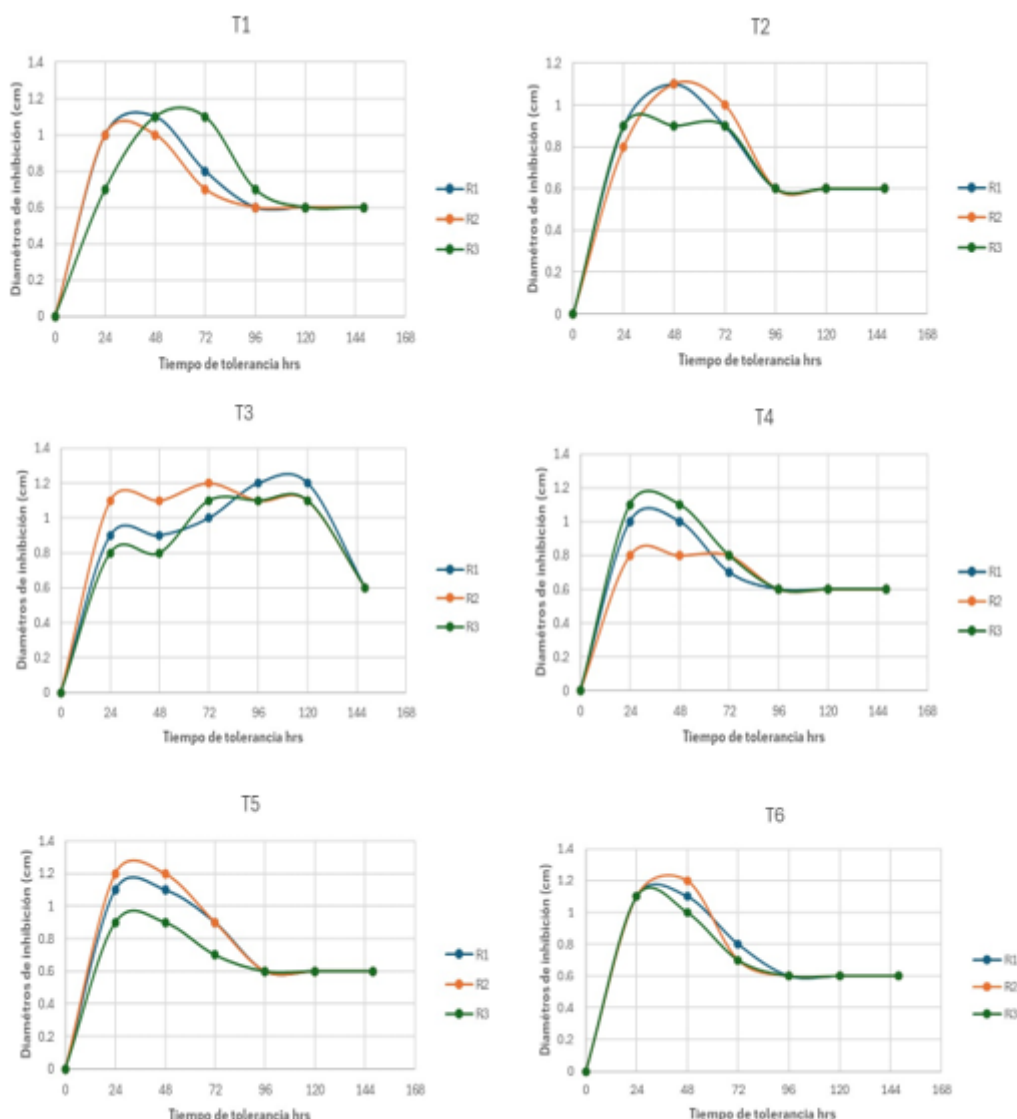
4.3.1. *Staphylococcus aureus*

A partir de la curva de diámetros de inhibición en función del tiempo de tolerancia, presentada en la Figura 6, se observa que los tratamientos 1, 2, 4, 5 y 6 experimentan una disminución en la efectividad del extracto frente a la bacteria *Staphylococcus aureus* a medida que transcurre el tiempo. Esta disminución queda reflejada en la reducción de los diámetros de los halos de inhibición, los cuales son inferiores a 6 mm después de 96 horas. Este tamaño de halo indica que la capacidad del extracto para inhibir el crecimiento bacteriano se vuelve insignificante, lo que señala que la acción antimicrobiana disminuye considerablemente después de un periodo de tiempo determinado. Por otro lado, el tratamiento 3 (extracto de hierba luisa al 20 %) mantiene un halo de inhibición entre 10 y 12 mm hasta las 144 horas, lo que muestra que este tratamiento es capaz de mantener su efectividad por un periodo más prolongado.

En este contexto, el tratamiento 3 (extracto de hierba luisa al 20 %) emerge como el más prometedor para su aplicación en carne de res, ya que muestra un mayor tiempo de tolerancia frente a la bacteria en cuestión, lo que podría implicar una mayor durabilidad en su capacidad para inhibir el crecimiento bacteriano en condiciones similares a las de la industria cárnica. Sin embargo, a pesar de estos resultados preliminares, es necesario realizar estudios adicionales bajo condiciones controladas de ambiente para confirmar la efectividad del extracto a lo largo del tiempo.

Figura 6:

Curva de inhibición de los diferentes tratamientos en función del tiempo de tolerancia



Nota: Autores (2024).

4.4. Resultados del porcentaje de inhibición del mejor tratamiento T3 (Extracto de Hierba luisa + Concentración 20 %) contra *Staphylococcus aureus*

En la Tabla 17 se presentan los valores de porcentaje de transmitancia obtenidos mediante espectrofotometría para el tratamiento 3 (extracto de hierba luisa al 20%) y el testigo, utilizando una longitud de onda de 600 nm. A las 24 horas, el

extracto mostró un porcentaje de transmitancia de 3.9%, lo que indica una baja cantidad de luz que atraviesa la muestra, debido a la presencia de la bacteria en crecimiento. A las 48 horas, este valor disminuyó aún más, alcanzando un 3.4%, lo que puede atribuirse a que las bacterias comenzaron a entrar en la fase exponencial de crecimiento, momento en el cual su número aumenta rápidamente, incrementando la turbidez de la muestra y reduciendo la cantidad de luz que pasa a través de ella. Sin embargo, a las 72 horas, el porcentaje de transmitancia aumentó a 7.2%, lo que sugiere que las bacterias comenzaron a entrar en la fase estacionaria del crecimiento. Durante esta fase, el ritmo de multiplicación se estabiliza y la concentración celular ya no aumenta tan rápidamente, lo que permite una mayor penetración de luz a través de la muestra.

Este patrón refleja cómo el crecimiento bacteriano influye en la transmitancia. La reducción observada a las 48 horas puede explicarse por el aumento en la cantidad de bacterias en fase exponencial, lo que provoca mayor opacidad. En cambio, el incremento en la transmitancia a las 72 horas está relacionado con el inicio de la fase estacionaria, cuando el crecimiento se desacelera y la turbidez disminuye, facilitando el paso de luz. Este comportamiento se ilustra claramente en la Figura 7.

Tabla 17:

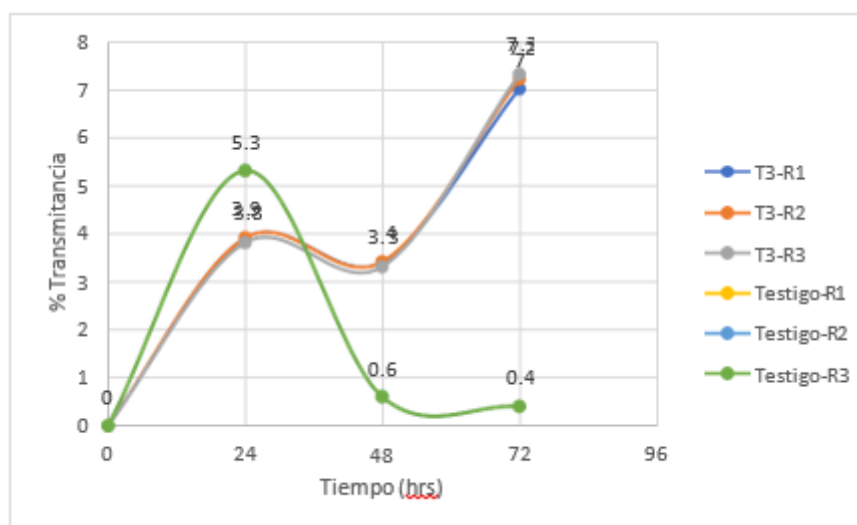
Resultados de porcentaje de transmitancia obtenidos mediante espectrofotómetro en tratamiento 3 y testigo

Tiempo	Extracto	Testigo
24	3.9 ± 0.06	5.3 ± 0
48	3.4 ± 0.06	0.6 ± 0
72	7.2 ± 0.15	0.4 ± 0

Nota: Autores (2024).

Figura 7:

Curva de porcentaje de transmitancia en función del tiempo observados en el tratamiento 3 y testigo



Nota: Autores (2024).

La Tabla 18 presenta los resultados de absorbancia obtenidos mediante espectrofotometría, realizados tanto para el mejor tratamiento (extracto de hierba luisa al 20%) como para el testigo, utilizando una longitud de onda de 600 nm. A las 24 horas, el extracto de hierba luisa mostró una absorbancia de 1.416 nm, lo que corresponde a una concentración de unidades formadoras de colonias (UFC/ml) de 100.1, lo que indica una cierta actividad antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus*. A las 48 horas, la absorbancia aumentó a 1.474 nm, con una UFC/ml de 104.1, lo que sugiere que el extracto continuó ejerciendo una acción antimicrobiana moderada. Sin embargo, a las 72 horas, la absorbancia disminuyó a 1.147 nm, lo que se asocia con una reducción en la carga microbiana, alcanzando una UFC/ml de 81.9. Estos resultados evidencian una disminución progresiva de la población bacteriana durante el período de estudio, confirmando la efectividad del extracto en la reducción de la carga microbiana, tal como se ilustra en la Figura 9.

En comparación, el testigo presentó un comportamiento muy diferente. A las 24 horas, la absorbancia fue de 1.278 nm, lo que correspondió a 90.8 UFC/ml, indicando una presencia considerable de bacterias. Sin embargo, a las 48 horas, la absorbancia se incrementó notablemente a 2.214 nm, con un valor de 154.5

UFC/ml, lo que indica un aumento en la carga microbiana. A las 72 horas, la absorbancia continuó aumentando, alcanzando 2.400 nm y 167.1 UFC/ml, lo que demuestra una proliferación bacteriana aún mayor en el grupo de control. Estos resultados refuerzan la evidencia de que el extracto de hierba luisa al 20% tiene un efecto inhibitorio sobre el crecimiento de *Staphylococcus aureus*, a diferencia del testigo, que mostró una proliferación bacteriana continua.

Tabla 18:

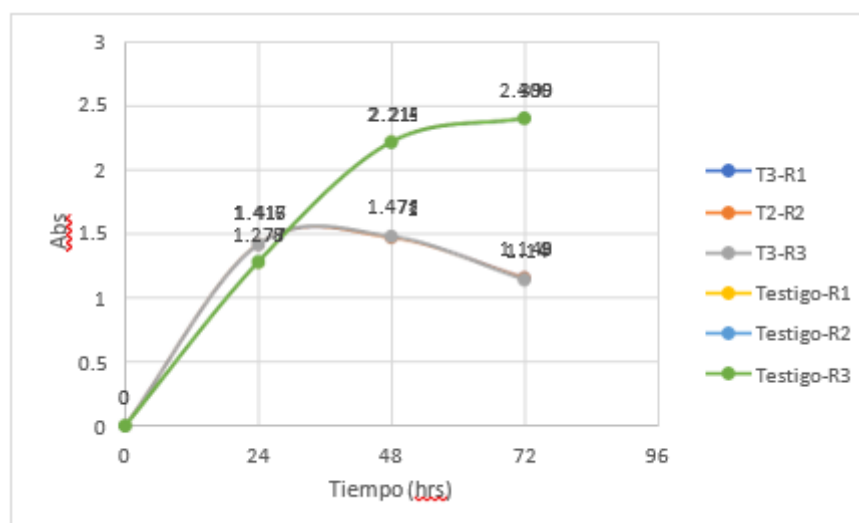
Resultados de absorbancia obtenidos mediante espectrofotómetro en tratamiento 3 y testigo

Tiempo	Extracto (nm)	UFC/ml	Testigo (nm)	UFC/ml
24	1.416 ± 0.00	100.1	1.278 ± 0.00	90.8
48	1.474 ± 0.00	104.1	2.214 ± 0.00	154.5
72	1.147 ± 0.00	81.9	2.400 ± 0.00	167.1

Nota: Autores (2024).

Figura 8:

Curva de absorbancia en función del tiempo observados en el tratamiento 3 y testigo



Nota: Autores (2024).

En la Tabla 19 se presentan los resultados del porcentaje de inhibición obtenido con el mejor tratamiento evaluado, el extracto de hierba luisa al 20%, frente a *Staphylococcus aureus* a lo largo de diferentes intervalos de tiempo. A las 24 horas, se registró un porcentaje de inhibición relativamente bajo de 10.8 ± 0.07 ,

lo que indica que el efecto antimicrobiano de este extracto era todavía limitado en esta etapa inicial. Sin embargo, a las 48 horas, se observó un aumento significativo en la inhibición, alcanzando un 33.4 ± 0.18 , lo que sugiere que la acción antimicrobiana del extracto comenzó a intensificarse con el tiempo. Finalmente, a las 72 horas, el extracto alcanzó su mayor efectividad, con un porcentaje de inhibición de 52.2 ± 0.28 . Estos resultados confirman una tendencia ascendente en la capacidad de inhibición del extracto de hierba luisa a medida que transcurren las horas, tal como se ilustra en la Figura 9.

Tabla 19:

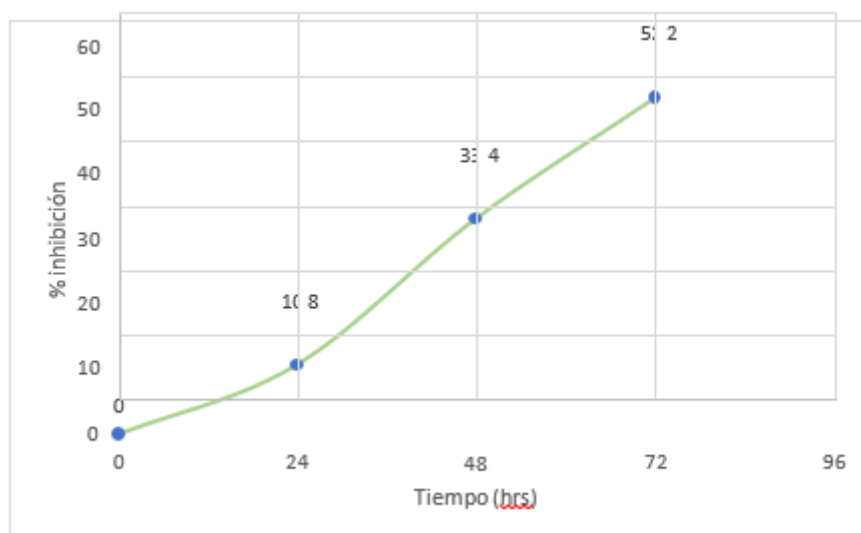
Porcentajes de inhibición del tratamiento 3 (extracto de hierba luisa al 20 % de concentración) contra Staphylococcus aureus en función del tiempo

% Inhibición	Tiempo
10.8 ± 0.07	24
33.4 ± 0.18	48
52.2 ± 0.28	72

Nota: Autores (2024).

Figura 9:

Curva de porcentajes de inhibición del tratamiento 3 (extracto de hierba luisa al 20 % de concentración) contra Staphylococcus aureus en función del tiempo



Nota: Autores (2024).

4.5. Resultados de la aplicación del mejor tratamiento (T3) para la determinación de la concentración de *Staphylococcus aureus* en carne de res

En la Tabla 20 se presentan los resultados obtenidos al aplicar el tratamiento más efectivo en carne de res, expuesta a ambiente durante tres días, con el objetivo de evaluar la concentración de *Staphylococcus aureus* después de la aplicación de un extracto. Para este experimento se utilizaron tres tipos de muestras: carne de res tratada con extracto de hierba luisa al 20 %, carne de res tratada con agua destilada y carne de res sin tratamiento.

Las muestras tratadas con extracto de hierba luisa al 20 % mostraron un total de 143 colonias de *Staphylococcus aureus*, lo que se traduce en una concentración estimada de 4.3×10^4 UFC/ml, lo que indica una carga bacteriana moderada. En comparación, las muestras tratadas con agua destilada presentaron 211 colonias, resultando en una concentración de 6.4×10^4 UFC/ml, lo que refleja una mayor variabilidad en relación con las muestras tratadas con extracto de hierba luisa. Por su parte, las muestras sin tratamiento adicional mostraron 229 colonias, con una concentración de 6.9×10^4 UFC/ml, lo que indica una carga bacteriana aún más alta que la observada en los otros tratamientos.

Tabla 20:

Concentraciones UFC/ml de Staphylococcus aureus presentes en las muestras

Muestra	Tratamiento	Colonias Totales (3 réplicas)	Concentración UFC/ml
1	Carne de res + extracto hierba luisa 20 %	143	4.3×10^4
2	Carne de res + agua destilada	211	6.4×10^4
3	Carne de res	229	6.9×10^4

Nota: Autores (2024).

4.6. Discusión

4.6.1. Resultados obtenidos de la elaboración de los extractos de hierbaluisa (*Aloysiacitradora*) y jengibre (*Zingiber officinale*) mediante evaporación rotativa

Se observó que la hierbaluisa perdió un 71.2 % de humedad después de ser secada en una estufa a 50 °C, quedando con un 8.8 % de humedad residual. Este valor es similar al 10.6 % reportado por Hilbay et al. (2016) en un estudio previo, lo que sugiere una pérdida de humedad comparable en ambos casos. Por otro lado, el jengibre perdió un 88.2 % de su humedad, alcanzando una humedad final de 1.7 % tras 48 horas de secado a la misma temperatura, lo que representa una pérdida de humedad más significativa en comparación con el 7 % observado por Acuña y Torres (2010) para el jengibre, aunque en su caso el tiempo de secado fue menor. Estos resultados indican que cada planta tiene una susceptibilidad diferente a la pérdida de humedad durante el secado, lo que podría deberse a diferencias en su composición interna. El jengibre, con un contenido de agua del 89.9 %, presenta una mayor pérdida en relación con la hierba luisa, que tiene un contenido de agua de aproximadamente 80 %.

En cuanto al rendimiento de los extractos filtrados, la hierba luisa presentó un rendimiento del 51.9 %, mientras que el jengibre obtuvo un rendimiento ligeramente inferior, alcanzando el 44.8 %. No obstante, al analizar los rendimientos de los extractos puros obtenidos tras la separación del etanol mediante rotavapor, se observó que la hierba luisa tuvo un rendimiento del 11.2 %, un valor superior al 3.92 % reportado por Azuero et al. (2016), quienes utilizaron metanol como disolvente. Este resultado sugiere que el etanol es un disolvente más eficaz para la obtención de extractos en la hierba luisa. En el caso del jengibre, el rendimiento fue de 8.1 %, un valor menor, lo que podría explicarse por su mayor contenido de agua, que reduce el rendimiento del extracto tras el proceso de secado. Sin embargo, Reyes Najar et al. (2011) reportan un rendimiento de 2.79 % en la extracción de jengibre utilizando éter etílico mediante extracción por Soxhlet.

Estos resultados demuestran la efectividad del proceso de extracción y separación utilizado. Es posible obtener extractos de alta calidad utilizando etanol al 96 % como disolvente y un proceso de evaporación rotativa. Aunque el rendimiento con etanol es relativamente bajo, la concentración de los compuestos bioactivos, como los antimicrobianos, tiende a ser mayor en comparación con extractos obtenidos con disolventes menos concentrados. Si se utilizara un medio hidroalcohólico con una concentración alcohólica más baja, el rendimiento de los extractos sería mayor, pero los compuestos inhibitorios serían menos concentrados.

Asimismo, la temperatura de secado de las plantas influye considerablemente en el rendimiento de los extractos. Investigaciones previas sobre otras especies de plantas medicinales han mostrado que un aumento en la temperatura de secado puede disminuir el rendimiento de aceites esenciales y extractos (Barbosa et al., 2006). Por esta razón, es fundamental controlar rigurosamente las condiciones de secado, ya que un proceso de secado incorrecto o incompleto podría afectar negativamente el contenido de principios activos y reducir la actividad inhibitoria de las plantas estudiadas (Bermeo Orellana, 2014).

4.7. Resultados de análisis de diámetros de inhibición en *Staphylococcus aureus*

A lo largo del tiempo analizado, se observaron variaciones notables en los valores de las medias a las 96 y 120 horas, lo que indica una evolución en la capacidad inhibitoria de los extractos. Específicamente, no se encontraron diferencias significativas en los halos de inhibición a las 24, 48 y 72 horas, lo que sugiere que la capacidad de inhibición se mantuvo estable durante ese período. En estos periodos, no se registraron cambios sustanciales en la acción de los extractos evaluados, lo que podría interpretarse como una fase de estabilidad en la actividad antimicrobiana.

Al centrarse en la evolución de los diámetros de los halos de inhibición a las 96 y 120 horas, se destacó el tratamiento 3 (extracto de hierba luisa con una concentración del 20%), que presentó el valor más alto, con una media de 11.33

mm. Este resultado indica que este extracto posee una mayor capacidad para inhibir el crecimiento bacteriano en comparación con los otros tratamientos. Por otro lado, los tratamientos con concentraciones menores mostraron una media constante de 6.00 mm en los halos de inhibición, lo que indica una respuesta uniforme en cuanto a la capacidad inhibitoria en esos niveles de concentración.

En cuanto a la estabilidad de la actividad inhibitoria, se observó que los halos de inhibición se mantuvieron constantes entre las 96 y 120 horas, lo que indica una durabilidad en la acción de los extractos durante el período de evaluación. Esta estabilidad podría explicarse por el aumento en la concentración del extracto, lo que parece potenciar su capacidad antimicrobiana, permitiéndole mantener su efecto inhibitoria por más tiempo en comparación con los tratamientos de menor concentración. De acuerdo con lo que se menciona en estudios previos (Quintana Gertrudis et al., 2005), se sabe que para que un extracto ejerza un efecto antimicrobiano eficaz, es necesario emplear concentraciones elevadas, debido a que mayor concentración, mayor es la capacidad de inhibir el crecimiento bacteriano.

Este resultado se encuentra respaldado por la investigación de Ortiz Galindo (2023), en la cual se evaluó la actividad antimicrobiana de los extractos de *Cymbopogon citratus* (hierba luisa) contra *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. En dicho estudio, el extracto de hierba luisa mostró un diámetro de inhibición de 11.1 mm en medio metanólico, 0 mm en medio hidroalcohólico y 13.2 mm en medio etanólico contra *Staphylococcus aureus*. Los resultados obtenidos en la presente investigación, con un diámetro de inhibición de 11.3 mm para el tratamiento con el extracto al 20%, son coherentes con los de Ortiz Galindo, lo que refuerza la idea de que este tratamiento es el más eficaz para inhibir el crecimiento de *Staphylococcus aureus* en carne de res, debido a su mayor capacidad antimicrobiana.

4.8. Resultados de análisis de días de tolerancia de los extractos frente a

4.8.1. *Staphylococcus aureus*

El descenso observado en la actividad antimicrobiana de los extractos a lo largo del tiempo se reflejó en la disminución del diámetro de los halos de inhibición, que, al llegar a ser inferiores a los 6 mm, indicaron una inhibición bacteriana no significativa, de acuerdo con los criterios establecidos por Bernal y Guzmán (1984). Este valor se considera el umbral mínimo por debajo del cual la acción antimicrobiana no es lo suficientemente eficaz como para detener el crecimiento bacteriano. La reducción en el tamaño de los halos sugiere que, con el paso del tiempo, la efectividad de los extractos evaluados disminuyó, lo que plantea interrogantes sobre la durabilidad de sus propiedades inhibitorias.

A pesar de este comportamiento, el tratamiento 3 (extracto de hierba luisa al 20 %) destacó por mantener una mayor estabilidad en su actividad antimicrobiana a lo largo del ensayo, en comparación con los demás tratamientos. Sin embargo, se observó una tendencia común en todos los tratamientos: un aumento inicial en la actividad inhibitoria, seguido de una posterior disminución. Este patrón, aunque no constante, indica que el tiempo de tolerancia de los extractos varió durante el transcurso del ensayo, lo que refleja la complejidad de la interacción entre los extractos y las bacterias. Este fenómeno ha sido documentado previamente por Reyes Najar et al. (2011), quienes reportaron que una mayor exposición de los extractos bactericidas durante 48 horas resultó en una mayor actividad antimicrobiana. En este sentido, la fluctuación en la eficacia podría estar relacionada con el tiempo necesario para que los metabolitos bioactivos en los extractos tengan el tiempo suficiente para interactuar de manera efectiva con la estructura bacteriana, lo que sugiere que la inhibición podría ser un proceso gradual y no inmediato.

Una observación relevante en este estudio fue el comportamiento del extracto de jengibre, cuya actividad antimicrobiana fue comparable a la de la hierba luisa, pero con un tiempo de tolerancia considerablemente más corto, limitándose a las 96 horas.

Esta diferencia en la duración de la actividad antimicrobiana podría estar relacionada con las variaciones en los compuestos bioactivos presentes en cada planta. El extracto de hierba luisa, por ejemplo, contiene principalmente citral, un compuesto derivado del geraniol y el neral, que se caracteriza por su fuerte actividad antimicrobiana, especialmente contra bacterias Gram positivas como *Staphylococcus aureus* (Enríquez-Estrella et al., 2023). En cambio, el extracto de jengibre está compuesto por compuestos como el gingerol y el zingibereno, los cuales también poseen propiedades antimicrobianas, pero sus mecanismos de acción pueden diferir.

4.9. Resultados de la aplicación del mejor tratamiento (T3) para la determinación de la concentración de *Staphylococcus aureus* en carne de res

Es relevante destacar que la Norma Técnica Ecuatoriana (NTE INEN 1338, 2010) establece que la concentración máxima permitida de *Staphylococcus aureus* en carne cruda es de 1.0×10^4 UFC/ml. Aunque las muestras tratadas con extracto de hierba luisa presentaron una concentración de 4.3×10^4 UFC/ml, lo que excede este límite, los resultados evidencian que el extracto de hierba luisa tiene un efecto inhibitor sobre el crecimiento microbiano. Las muestras tratadas con este extracto mostraron concentraciones significativamente más bajas en comparación con las muestras tratadas con agua destilada (6.4×10^4 UFC/ml) y las no tratadas (6.9×10^4 UFC/ml).

Es importante señalar que la evaluación de las muestras después de tres días de exposición al ambiente contribuyó al aumento de la carga bacteriana en todos los grupos, lo que sugiere que, aunque el extracto de hierba luisa no logra reducir la concentración de *Staphylococcus aureus* por debajo del límite establecido, sí tiene un efecto positivo al disminuir la carga bacteriana en comparación con los tratamientos sin extracto y con agua destilada. Esto resalta el potencial del extracto como una alternativa para controlar el crecimiento microbiano en carne de res, aunque se requieren más estudios para optimizar su eficacia

4.10. Resultados del porcentaje de inhibición del mejor tratamiento T3 (Extracto de Hierba luisa + Concentración 20 %) contra *Staphylococcus aureus*

En la tabla 24 se presentan los valores de transmitancia obtenidos mediante espectrofotometría a una longitud de onda de 600 nm, tanto para el tratamiento 3 como para el testigo. En el caso del extracto, a las 24 horas se observó un porcentaje de transmitancia del 3.9 %, el cual disminuyó ligeramente a 3.4 % a las 48 horas, para luego aumentar a 7.2 % a las 72 horas. Este patrón sugiere que el porcentaje de transmitancia aumenta conforme transcurre el tiempo.

Es importante destacar que, al llegar a las 72 horas, la bacteria alcanzó la fase estacionaria, como se muestra en la figura 9. Sin embargo, a las 48 horas se registró una disminución en la transmitancia, lo cual puede atribuirse a que, a las 24 horas, la bacteria se encontraba en fase de adaptación, y durante la fase exponencial de crecimiento la transmitancia se redujo. A las 72 horas, el valor aumentó nuevamente debido al paso a la fase estacionaria, donde los cambios en el metabolismo bacteriano favorecen la transmisión de luz, tal como se menciona en el estudio de Caycedo Lozano et al. (2021). En comparación, el testigo mostró una transmitancia inicial de 5.3 % a las 24 horas, que descendió notablemente a 0.6 % y 0.4 % a las 48 y 72 horas, respectivamente. Estos resultados sugieren que el extracto tiene un efecto inhibitorio sobre la carga microbiana. A medida que la concentración de las células bacterianas aumenta, el cultivo se vuelve más turbio, lo que reduce la luz transmitida, fenómeno que se explica por la difracción de la luz causada por las células bacterianas (Contreras Cruz et al., 2019).

Por otro lado, la tabla 25 presenta los resultados de absorbancia obtenidos mediante espectrofotometría para el mejor tratamiento, que corresponde al extracto de hierba luisa al 20 %, así como para el testigo, a una longitud de onda de 600 nm. A las 24 horas, el extracto mostró una absorbancia de 1.416 nm, con una unidad formadora de colonias (UFC/ml) de 100.1. Este valor aumentó a 1.474 nm a las 48 horas, con una UFC/ml de 104.1, y disminuyó a 1.147 nm a las 72 horas, con una UFC/ml de 81.9. Estos resultados confirman que el extracto

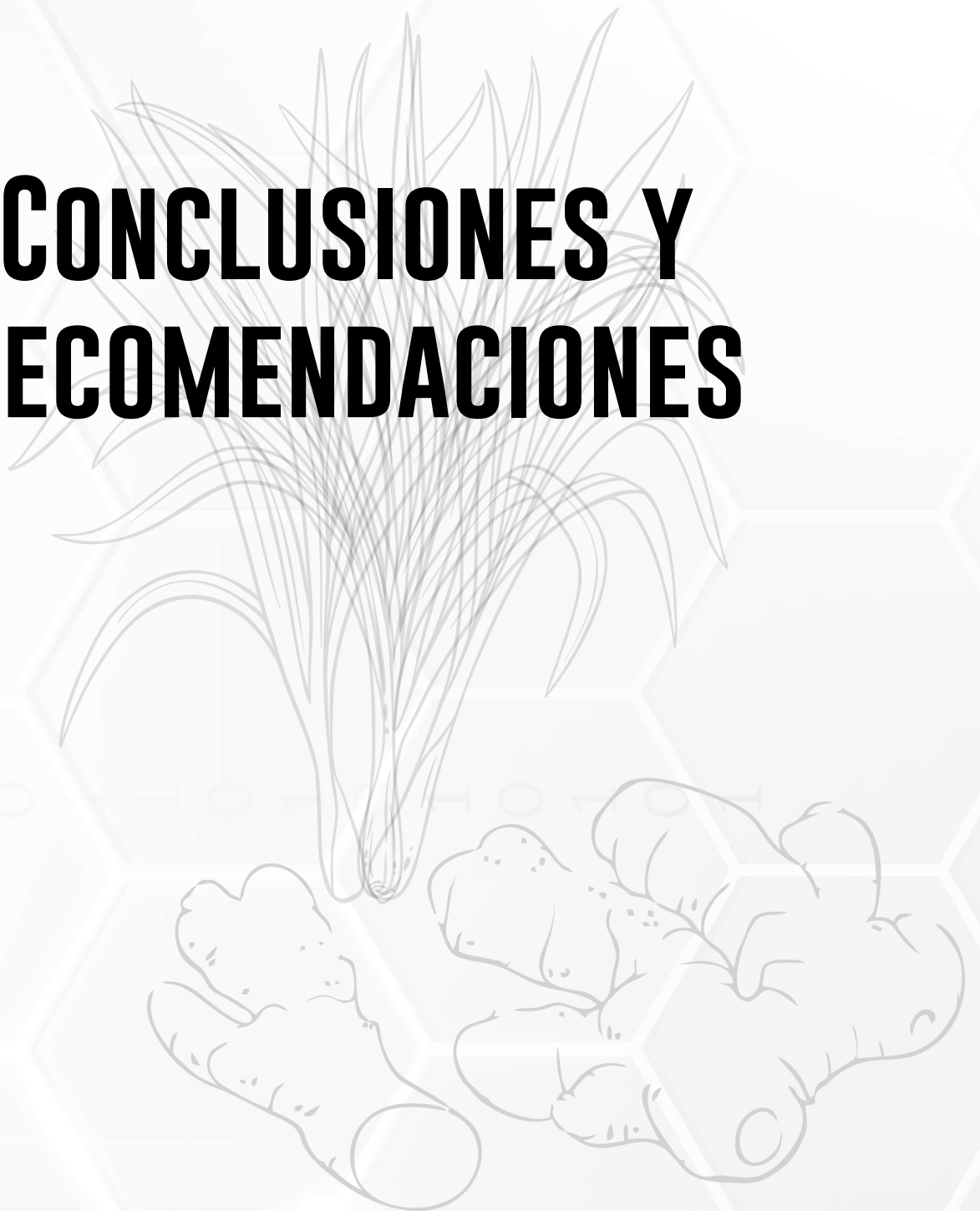
tuvo un efecto antimicrobiano, reduciendo la carga microbiana a lo largo del tiempo, tal como se observa en la figura 9.

En cambio, el testigo presentó una absorbancia de 1.278 nm y 90.8 UFC/ml a las 24 horas, que aumentó significativamente a 2.214 nm y 154.5 UFC/ml a las 48 horas. A las 72 horas, la carga microbiana siguió incrementándose, alcanzando 2.400 nm y 167.1 UFC/ml. Estos resultados validan la actividad antimicrobiana del extracto, ya que los valores de absorbancia del testigo son considerablemente más altos en comparación con el tratamiento con extracto. Según la Ley de Beer, la absorbancia es directamente proporcional a la concentración de la solución; por lo tanto, la mayor absorbancia observada en el testigo refleja una mayor concentración de células bacterianas, lo que confirma la efectividad del extracto al mostrar valores de absorbancia significativamente menores.

En cuanto al porcentaje de inhibición, la tabla 26 muestra los resultados obtenidos para el tratamiento con extracto de hierba luisa al 20 % contra *Staphylococcus aureus* en función del tiempo. A las 24 horas, el extracto presentó un porcentaje de inhibición de 10.8 ± 0.07 %, un valor relativamente bajo. Sin embargo, este efecto inhibitorio aumentó a 33.4 ± 0.18 % a las 48 horas, y alcanzó un máximo de 52.2 ± 0.28 % a las 72 horas. Este aumento en el porcentaje de inhibición sugiere que el extracto actúa de manera más efectiva a medida que transcurre el tiempo, eliminando las células bacterianas. Este comportamiento coincide con lo encontrado en estudios previos, como el de Huamán Culqui et al. (2021), que reportaron un aumento en la actividad antimicrobiana a medida que aumentaba la concentración del extracto etanólico de hierba luisa. En dicho estudio, se observó que concentraciones superiores al 50 % lograban una mayor actividad antimicrobiana. En el presente estudio, el mayor porcentaje de inhibición se obtuvo con una concentración del 20 % del extracto, lo que sugiere que un aumento en la concentración podría mejorar aún más la efectividad del extracto contra *S. aureus*.

CAPITULO 5

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES



Conclusiones y Recomendaciones

5.1. Conclusiones

En el presente estudio, se procedió a la elaboración de extractos de hierba luisa (*Aloysia citriodora*) y jengibre (*Zingiber officinale*) utilizando un proceso de evaporación rotativa. Durante la extracción, se observó que la hierba luisa perdió un 71,2 % de su humedad tras el secado, mientras que el jengibre mostró una mayor pérdida, alcanzando un 88,2 %. Este fenómeno se correlacionó con los rendimientos obtenidos de los extractos filtrados, que fueron del 51,9 % para la hierba luisa y del 44,8 % para el jengibre, indicando que la mayor pérdida de humedad en el jengibre también reflejó una mayor eficiencia en la extracción del material volátil. Posteriormente, al separar el etanol de las muestras, los rendimientos de los extractos puros fueron del 11,2 % para la hierba luisa y del 8,1 % para el jengibre. Este hallazgo permitió concluir que el etanol resulta ser un solvente más efectivo para la obtención de los extractos en comparación con otros posibles disolventes. Además, se destacó la importancia del proceso de secado y la selección del solvente, ya que ambos factores influyen directamente en la calidad y el rendimiento de los extractos obtenidos. Estos resultados resaltan la eficacia del procedimiento de extracción utilizado y subrayan la relevancia de la temperatura de secado y la elección adecuada del solvente en la optimización de los rendimientos de extractos de alta calidad.

En cuanto a la actividad antimicrobiana, se evaluó el efecto del extracto de hierba luisa al 20 % de concentración sobre el crecimiento de *Staphylococcus aureus* en carne de res. Los resultados mostraron que este tratamiento presentó la mayor capacidad inhibidora, evidenciada por una zona de inhibición significativamente mayor en comparación con otras concentraciones de extracto de hierba luisa y extracto de jengibre. De manera importante, se observó que la actividad antimicrobiana del extracto de hierba luisa permaneció estable a lo largo del tiempo, lo que sugiere que su efectividad como inhibidor de *Staphylococcus aureus* es constante durante el período de análisis. Por otro lado, aunque el extracto de jengibre también mostró propiedades

antimicrobianas, su efecto fue de menor duración en comparación con el de la hierba luisa, indicando que la concentración del extracto influye directamente en la eficacia antimicrobiana. A través de análisis espectrofotométricos, se corroboró esta actividad, mostrando una reducción progresiva en la carga bacteriana en presencia del extracto de hierba luisa. Esto se reflejó en una disminución en la absorbancia y transmitancia en comparación con el grupo control, lo que demuestra un efecto inhibidor claro sobre *Staphylococcus aureus*. En conjunto, estos hallazgos respaldan la viabilidad de utilizar extracto de hierba luisa al 20 % como un potencial agente antimicrobiano en carne de res para controlar la proliferación de esta bacteria patógena.

Finalmente, los resultados obtenidos en cuanto a la reducción de la concentración de *Staphylococcus aureus* en carne de res tratada con el extracto de hierba luisa al 20 % de concentración revelaron una disminución significativa en la carga bacteriana, en comparación con las muestras tratadas con agua destilada y las muestras sin tratamiento. Aunque la concentración bacteriana en las muestras tratadas con extracto de hierba luisa no alcanzó los niveles microbiológicos ideales establecidos, la diferencia observada en las concentraciones bacterianas entre los distintos tratamientos sugiere que el extracto posee una capacidad inhibidora efectiva sobre el crecimiento de *Staphylococcus aureus*. Estos resultados destacan el potencial del extracto de hierba luisa para ser utilizado como una alternativa natural en la reducción de la carga microbiana en alimentos, particularmente en carne de res, y subrayan la importancia de seguir investigando su aplicación en la seguridad alimentaria.

5.2. Recomendaciones

Se recomienda explorar métodos alternativos de extracción y secado para mejorar tanto el rendimiento como la calidad de los extractos obtenidos. Experimentos que varíen las temperaturas de secado, los tiempos de extracción y el tipo de solvente podrían ser clave para maximizar la eficiencia del proceso y aumentar la concentración de compuestos bioactivos en los extractos. Esta optimización no solo podría mejorar los rendimientos de los extractos, sino también potenciar sus propiedades antimicrobianas, lo que tendría implicaciones

directas en su efectividad como conservantes naturales en productos alimentarios.

Investigar concentraciones superiores al 20 % de los extractos de hierba luisa, así como combinar este extracto con otros extractos naturales, para evaluar si se puede mejorar aún más su capacidad antimicrobiana. La sinergia entre diferentes extractos podría potenciar el efecto inhibidor frente a *Staphylococcus aureus* y otras bacterias patógenas. De este modo, se podrían identificar combinaciones de extractos que ofrezcan un espectro de acción más amplio y una mayor estabilidad en condiciones de almacenamiento.

Es recomendable incluir en futuras investigaciones otros patógenos alimentarios comunes, como *Escherichia coli*, *Salmonella* o *Listeria monocytogenes*, para evaluar la actividad antimicrobiana del extracto de hierba luisa frente a una gama más amplia de microorganismos. Además, sería pertinente investigar su efectividad contra hongos patógenos que afectan los alimentos, como *Aspergillus* o *Penicillium*, lo que proporcionaría una comprensión más integral de su potencial como agente conservante en la industria alimentaria. Este enfoque ampliado podría abrir nuevas oportunidades para el uso de extractos naturales como una alternativa viable a los conservantes sintéticos, promoviendo productos más seguros y naturales para el consumidor.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS



Referencias Bibliográficas

- Acuña, O., & Torres, A. (2010). Aprovechamiento de las propiedades funcionales del jengibre (*Zingiber officinale*) en la elaboración de condimento en polvo, infusión filtrante y aromatizante para quema directa. *Revista Politécnica*, 29(1), 60–69.
https://revistapolitecnica.epn.edu.ec/ojs2/index.php/revista_politecnica2/article/view/290
- Ampuero-Aparicio, I. V., & Espinoza-Carrasco, H. Y. (2017). *Staphylococcus aureus* resistentes a antibióticos aislados de carnes secas. *Cantua*, 16, 1–6.
<https://revistas.unsaac.edu.pe/index.php/cantu/article/download/628/752/>
- Andújar, G., Pérez, D., & Venegas, O. (2009). *Química y bioquímica de la carne y los productos cárnicos*. D - Instituto de Investigaciones para la Industria Alimentaria., 128.
https://books.google.com.ec/books/about/Qu%C3%ADmica_y_bioqu%C3%ADmica_de_la_carne_y_los.html?id=vcconQAACAAJ&redir_esc=y
- Ángel Virgilio, C. M. (2018). Identificación molecular de *Phytophthora* spp., mediante el empleo de marcadores moleculares (ITS), y efecto antagonista de rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR).” *Universidad Técnica Estatal de Quevedo*.
<https://repositorio.uteq.edu.ec/items/ecbe78a5-c6de-482c-ac32-9c301a71835a>
- Arteaga Bonilla, R., & Arteaga Michel, R. (2005). Infecciones estafilocócicas. *Revista de la Sociedad Boliviana de Pediatría*, 44, 178–180.
<https://www.mayoclinic.org/es/diseases-conditions/staph-infections/symptoms-causes/syc-20356221>
- Azuero, A., Jaramillo Jaramillo, C., San Martín, D., & D’Armas, H. (2016). Análisis del efecto antimicrobiano de doce plantas medicinales de uso ancestral en Ecuador. *Revista Ciencia UNEMI*, 9(20), 11–18.
<https://ojs.unemi.edu.ec/index.php/cienciaunemi/article/view/342>
- Baños Álvarez, E., & Llanos Méndez, A. (2011). Identificación rápida de *Staphylococcus aureus* metilicina resistente: Cribado de portadores. https://www.aetsa.org/download/publicaciones/antiguas/AETSA_2011_2_5_MRSA.pdf
- Barbosa, F. P. F., Barbosa, L. C., Melo, E. C., Mendes Botelho, F., & Santos, R. H. S. (2006). Influência da temperatura do ar de secagem sobre o teor e a composição química do óleo essencial de *Lippia alba* (Mill) N. E. Brown. *Química Nova*, 29(6), 1221–1225.
<https://www.scielo.br/j/qn/a/DkJSLkwYRZdcbWVtj4Tf35m/?format=pdf&lang=pt>

Referencias:

- Bermeo Orellana, A. S. (2014). Influencia de la temperatura del aire de secado en la cantidad y composición de aceite esencial de *Cordia verbenacea*. *Universidad de Federal de Viçosa*. <https://locus.ufv.br/server/api/core/bitstreams/302a7edb-2aab-4a7c-b06d-29108271f114/content>
- Bernal, M., & Guzmán, M. (1984). El antibiograma de discos: Normalización de la técnica de Kirby-Bauer. <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/IA/INS/antibiograma-de-discos.pdf>
- Bonilla Espinosa, E. (2014). Crecimiento microbiano y control [Tesis de pregrado]. Universidad Nacional Autónoma de México https://www.zaragoza.unam.mx/wp-content/Portal2015/Licenciaturas/qfb/tesis/tesis_castillo_carranza.pdf
- Borraz Ordás, C. (2006). Epidemiología de la resistencia a metilicina en cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas en hospitales españoles [Tesis doctoral]. Universidad de Barcelona. <https://www.tesisenred.net/handle/10803/2513?page=1>
- Camarena, J. J., & Sánchez, R. (2010). Infección por *Staphylococcus aureus* resistente a metilicina. *Control y calidad SEIMEC*. <https://seimc.org/contenidos/ccs/revisionestematicas/bacteriologia/sarm.pdf>
- Carrión Jara, A. V., & García Gómez, C. R. (2010). Preparación de extractos vegetales: determinación de eficiencia de metódica [Tesis de pregrado]. Universidad de Cuenca. <http://repositorioslatinoamericanos.uchile.cl/handle/2250/1110758>
- Castellano González, M. J., & Perozo Mena, A. J. (2010). Mecanismos de resistencia a antibióticos lactámicos en *Staphylococcus aureus*. *Kasmera*, 38(1), 18–35. https://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0075-52222010000100003
- Castilla Rodríguez, M. (2013). Estudio de la separación etanol-agua mediante líquidos iónicos [Tesis de posgrado]. Universidad Politécnica de Cartagena. <https://repositorio.upct.es/server/api/core/bitstreams/80d844a9-6aa4-433b-a7bc-c3265873ca60/content>
- Caycedo Lozano, L., Corrales Ramírez, L. C., & Trujillo Suárez, D. M. (2021). Las bacterias, su nutrición y crecimiento: una mirada desde la química. *Nova*, 19(36), 49–94. <https://doi.org/10.22490/24629448.5293>
- Cerutti, M., & Neumayer, F. (2004). Introducción a la obtención de aceite esencial de limón. *Invenio*. 7(12), 149-155. <https://www.redalyc.org/pdf/877/87701214.pdf>
- Cevallos Mendoza, A. N., & Palacios Bravo, E. R. (2021). Efecto del tiempo de secado en hojas de níspero (*Achras zapota*) y relación de solvente para la obtención de compuestos antioxidantes [Tesis de pregrado]. *Escuela*

- Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí.*
<http://repositorio.espam.edu.ec/handle/42000/1364>
- Contreras Cruz, A., Sánchez Morales, P., Romero Arenas, O., Rivera Tapia, J. A., Ocampo Fletes, I., & Conrado Parraguirre Lezama, J. F. (2019). Prácticas agroecológicas y su influencia en la fertilidad del suelo en la región cafetalera de Xolotla, Puebla. *Acta Universitaria Multidisciplinary Scientific Journal*, 29. <https://doi.org/10.15174/au.2019.1864>
- Dellacassa, E., & Bandoni, A. (2003). Hierbaluisa *Aloysia citriodora* Palau. *Revista de Fitoterapia*, 3(1), 19–25. [https://www.fitoterapia.net/php/descargar_documento.php?id=4744&doc_r=sn&num_volumen=8&secc_volumen=5953#:~:text=La%20hierbaluisa%20o%20cedr%C3%B3n%20\(Aloysia,su%20agradable%20aroma%20y%20sabor.](https://www.fitoterapia.net/php/descargar_documento.php?id=4744&doc_r=sn&num_volumen=8&secc_volumen=5953#:~:text=La%20hierbaluisa%20o%20cedr%C3%B3n%20(Aloysia,su%20agradable%20aroma%20y%20sabor.)
- Enríquez-Estrella, M. Á., Poveda-Díaz, S. E., & Alvarado-Huatatoca, G. I. (2023). Bioactivos de la hierba luisa utilizados en la industria. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas. Revista Mexicana De Ciencias Agrícolas* 14 (1). México, ME:1-11. <https://doi.org/10.29312/remexca.v14i1.3249>.
- Espinoza, C., & Segundo, D. (2016). Eficacia antimicótica del extracto acuoso de *Cymbopogon citratus* “Hierba luisa” comparada con Clotrimazol, sobre *Candida albicans*. Estudio in vitro. https://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12692/549/Cabani%20illas_EDS-SD.pdf?sequence=4&isAllowed=y
- Flores Mejía, M. F., & Patiño Pozo, B. G. (2016). Variación de la composición química de los aceites esenciales de hierba luisa (*Cymbopogon citratus*) y jengibre (*Zingiber officinale*) en función de las condiciones ambientales y del tipo de suelo de la zona de cultivo en las provincias de Esmeraldas, Manabí, Santo Domingo, Pichincha, Imbabura, Carchi, Sucumbíos y Napo. Universidad Politécnica Salesiana Sede Quito. <http://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/12563>
- Gamba Peña, P. T. (2015). Técnicas de extracción, rendimiento y posibles usos industriales del aceite de semilla de tabaco cultivado en Colombia. Corporación Tecnológica de Bogotá. <https://repository.udca.edu.co/entities/publication/bb1f9c8c-6a44-407b-9d0c-8e80f8d8b3d1>
- Gonzales Villa, A. A. (2004). Obtención de aceites esenciales y extractos etanolicos de plantas del Amazonas. Universidad nacional de Colombia Sede Manizales departamento de ingeniería química. Universidad Nacional de Colombia. <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/2800>
- Guanoluisa Jami, S. A. (2017). Efecto antimicrobiano del extracto, aceite esencial de jengibre (*zingiber officinale*) y el hipoclorito de sodio al 5, 25% sobre cepas de *Enterococcus faecalis*. estudio comparativo in vitro. Universidad Central del Ecuador. <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/9420/1/T-UCE-0015-545.pdf>

Referencias:

- Hilbay, R., Chamorro Armas, S., Palacios, T., & González, M. (2016). Reingeniería en los procesos de secado, molienda y tamizado de plantas aromáticas para mejorar la calidad de los derivados, caso: Empresa JAMBI KIWA. 1. *Investigación Y Desarrollo*, 1(1), 89–99. <https://doi.org/10.29166/revfig.v1i1.47>
- Horcada, A., & Polvillo, Y. (2010). Conceptos básicos sobre la carne. Universidad de Sevilla. *Junta de Andalucía*. Sevilla. 113-140. https://www.juntadeandalucia.es/export/drupaljda/1337160265La_produc_cixn_de_carne_en_Andalucxa.pdf
- Huamán Culqui, H., Balcazar Zumaeta, C. R., Chávez Quintana, S. G., & Auquiñivin Silva, E. (2021a). Evaluación de la capacidad antioxidante y actividad antibacteriana del extracto acuoso y etanólico de *Cymbopogon citratus*. *Revista Científica UNTRM: Ciencias Naturales e Ingeniería*, 3(2), 9. <https://doi.org/10.25127/ucni.v3i2.608>
- Huamán Culqui, H., Balcazar Zumaeta, C. R., Chávez Quintana, S. G., & Auquiñivin Silva, E. (2021b). Evaluación de la capacidad antioxidante y actividad antibacteriana del extracto acuoso y etanólico de *Cymbopogon citratus*. *Revista Científica UNTRM: Ciencias Naturales e Ingeniería*, 3(2), 9. <https://doi.org/10.25127/ucni.v3i2.608>
- Hurtado, M. P., de la Parte, M. A., & Brito, A. (2002). *Staphylococcus aureus*: Revisión de los mecanismos de patogenidad y la fisiopatología de la infección estafilocócica. *Revista de La Sociedad Venezolana de Microbiología*, 22, 112–118. https://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1315-25562002000200003

RESUMEN

La investigación realizada tuvo como objetivo evaluar el efecto del extracto de hierba luisa y jengibre sobre la inhibición de *Staphylococcus aureus* en carne de res. Para ello, las plantas fueron secadas a 50 °C, trituradas y maceradas en etanol al 96 % en una proporción de 1:10 durante 48 horas. Posteriormente, las muestras fueron filtradas y concentradas en un rotavapor a 50 °C, obteniendo rendimientos de 11.2 % para la hierba luisa y 8.1 % para el jengibre. Se realizaron pruebas de inhibición y de tolerancia en concentraciones de 10, 15 y 20 % de los extractos utilizando el método de antibiograma de disco, con *Staphylococcus aureus* previamente inoculado. El tratamiento que mostró los mejores resultados fue el extracto de hierba luisa al 20 % (Tratamiento 3), el cual presentó el mayor diámetro de inhibición (11.33 mm) y una mayor tolerancia frente a la bacteria, logrando un efecto inhibitorio por hasta 144 horas. Este tratamiento fue considerado el más eficaz para aplicar en carne, debido a su notable capacidad de inhibición y su prolongada acción antimicrobiana. Además, se cuantificó el porcentaje de inhibición del Tratamiento 3 al medir la absorbancia y la transmitancia mediante espectrofotometría, al inocular la bacteria en un medio líquido con el extracto. Los resultados mostraron un 52.2 % de inhibición a las 72 horas. Cuando se aplicó el extracto a la carne a 28 °C durante tres días, se observó que las muestras tratadas con el extracto de hierba luisa presentaron una menor concentración de *Staphylococcus aureus* (4.3×10^4 UFC) en comparación con las muestras tratadas con agua destilada (6.4×10^4 UFC) o sin tratamiento (6.9×10^4 UFC). Aunque la concentración bacteriana no cumplió con los estándares microbiológicos establecidos, la diferencia en las concentraciones entre los tratamientos sugiere que el extracto de hierba luisa posee propiedades inhibitorias efectivas contra la proliferación de la bacteria.

Palabras Clave: *Aloysia citriodora*, *Zingiber officinale*, extracto, inhibición.

Abstract

The objective of the research was to evaluate the effect of lemon verbena and ginger extract on the inhibition of *Staphylococcus aureus* in beef. For this purpose, the plants were dried at 50 °C, crushed and macerated in 96% ethanol at a ratio of 1:10 for 48 hours. Subsequently, the samples were filtered and concentrated in a rotary evaporator at 50 °C, obtaining yields of 11.2 % for lemon verbena and 8.1 % for ginger. Inhibition and tolerance tests were carried out at concentrations of 10, 15 and 20 % of the extracts using the disc antibiogram method, with previously inoculated *Staphylococcus aureus*. The treatment that showed the best results was the lemon verbena extract at 20 % (Treatment 3), which presented the greatest inhibition diameter (11.33 mm) and greater tolerance against the bacteria, achieving an inhibitory effect for up to 144 hours. This treatment was considered the most effective for application in meat, due to its remarkable inhibition capacity and prolonged antimicrobial action. In addition, the percentage of inhibition of Treatment 3 was quantified by measuring the absorbance and transmittance by spectrophotometry, when the bacteria were inoculated in a liquid medium with the extract. The results showed 52.2 % inhibition at 72 hours. When the extract was applied to the meat at 28 °C for three days, it was observed that the samples treated with the lemon verbena extract presented a lower concentration of *Staphylococcus aureus* (4.3×10^4 CFU) compared to samples treated with distilled water (6.4×10^4 CFU) or without treatment (6.9×10^4 CFU). Although the bacterial concentration did not meet established microbiological standards, the difference in concentrations between treatments suggests that the lemon verbena extract possesses effective inhibitory properties against bacterial growth.

Keywords: *Aloysia citriodora*, *Zingiber officinale*, extract, inhibition.



<http://www.editorialgrupo-aea.com>



[Editorial Grupo AeA](#)



[editorialgrupoea](#)



[Editorial Grupo AEA](#)

ISBN: 978-9942-651-64-8



9 789942 651648