

UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN

Facultad de Ciencias

Escuela Profesional de Biología – Microbiología

Actividad antibacteriana *in vitro* del aceite esencial de *Cymbopogon citratus* “hierba luisa” frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

TESIS

Presentada por:

Bach. Cristhian Anthony Ramos Maquera

Para optar el Título Profesional de:

BIÓLOGO MICROBIÓLOGO

TACNA – PERÚ

2026



ACTA DE SUSTENTACION DE TESIS Nro. 468

En la ciudad de Tacna, en el auditorium de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann; siendo las 09:00h horas del día 02 de Junio del 2026, estando presente el jurado calificador nominado con Resolución de Facultad Nro. 11758 - 2026 FACI-UNJBG, conformado por los siguientes docentes:

<u>Dr. Carlos Francisco Tito Vargas</u>	(Presidente)
<u>Mgi. Rocío Moravento Gómez</u>	(Secretario)
<u>Dra. Angela Verónica Choque Miranda</u>	(Vocal)

Acto seguido, se dio lectura a la Resolución correspondiente, y del mismo modo se informa a la (al) Bachiller que el acto de sustentación constará de dos partes: (I) exposición y sustentación de la tesis, (II) absolución de preguntas del jurado. Todo ello en un tiempo no mayor a 60 minutos ni menor a 30 minutos. A continuación, el presidente del Jurado instó a la (al) Bachiller:

Cristhian Anthony Rames Maquera

a exponer la Tesis titulada:

Actividad antibacteriana in vitro del aceite esencial de Cymbopogon citratus
"hierba luisa" frente a Staphylococcus aureus ATCC 6538 y Pseudomonas
aeruginosa ATCC 27853

para optar el Título Profesional de _____

Siendo las 09:47h horas, la (el) tesista concluye su exposición, luego se procedió a la formulación de las preguntas por parte de los miembros del jurado calificador, terminado este proceso, se invitó al público presente a abandonar la sala de sustentación para que los miembros del jurado emitan su calificación de acuerdo a reglamento. El promedio de la calificación dio el siguiente resultado: Aprobado por unanimidad con nota de quince (15) de acuerdo al Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann - Tacna.

Siendo las 10:10h horas, se dio por concluido el acto de sustentación de la tesis, firmando los miembros del jurado calificador, en señal de conformidad.

Dr. Carlos Francisco Tito Vargas
Presidente

Mgi. Rocío Moravento Gómez
Secretario

Dra. Angela Verónica Choque Miranda
Vocal

CERTIFICADO DE SIMILITUD

Yo, Dra. **Angela Verónica Choque Miranda** en mi condición de asesor acreditado por la Resolución de Facultad N°11434-2025-FACI-UN/JBG de la tesis titulada "**Actividad antibacteriana *in vitro* del aceite esencial de *Cymbopogon citratus* "hierba luisa" frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853**" presentado por el Bachiller **Cristhian Anthony Ramos Maquera** para optar el **título profesional de Biólogo Microbiólogo**. Habiendo cumplido con lo establecido en el reglamento de originalidad y de similitud de trabajos de investigación y producción intelectual, considerando que según la revisión, evaluación y análisis realizado a través del software de similitud textual **Turnitin** cuenta con el nivel de similitud permitido cuyo porcentaje es **9%** Por lo que CERTIFICO LA SIMILARIDAD de la **Tesis** está de acuerdo al nivel PERMITIDO, para continuar con los trámites correspondientes y para su publicación en el repositorio Institucional. Se emite el presente certificado con fines de continuar con los trámites respectivos para su obtención del título profesional.

Tacna 15 de junio del 2026.

FIRMA ASESOR

Nombres y apellidos

DNI N° 00515893

.....

Dra. Angela Verónica Choque Miranda



FIRMA TESISTA

Nombres y apellidos

DNI N° 71205346

.....

Bach. Cristhian Anthony Ramos Maquera



Dedicatoria

A dios, por permitirme culminar satisfactoriamente mi etapa académica y profesional.

A mis padres, Genaro y Hilda por su apoyo incondicional y paciencia constante.

Agradecimientos

A Dios, por guiarme y ponerme en mi camino a personas idóneas que me permitieron realizar la culminación de mi trabajo de investigación.

A mi asesor Dra. Angela Choque Miranda, quien me ha guiado durante todo el desarrollo del presente trabajo de investigación, aconsejándome y dándome sugerencias valiosas para el desarrollo del presente estudio.

Agradezco al Blgo – Mblgo de laboratorio Edwin Denis Obando Velarde por compartir sus conocimientos y guiarme en este proceso de desarrollo de mi trabajo de investigación.

A mi familia, por impulsarme cada día a conseguir mis metas

Indice	
Dedicatoria.....	1
Agradecimientos	2
Resumen.....	8
Abstract	9
Introducción	10
Capítulo I: Planteamiento del problema.....	11
1.1. Descripción del problema.....	11
1.2. Definición y delimitación del problema.....	12
1.3. Formulación del problema.....	14
1.4. Justificación	15
1.5. Objetivos	16
1.6. Hipótesis.....	17
1.7. Variables.....	18
1.8. Variables y operacionalización.....	19
Capitulo II: Marco teórico.....	20
2.1. Antecedentes de la investigación.....	20
2.2. Bases teóricas	26
2.2.1. Capacidad Antibacteriana.....	26
2.2.2. Características morfológicas de <i>Staphylococcus aureus</i>	26
2.2.3. Toxinas producidas por <i>Staphylococcus aureus</i> (Ahmadd-Mansur et al., 2021).....	27
2.2.4. Características morfológicas de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	30
2.2.5. Toxinas producidas por <i>Pseudomonas aeruginosa</i>.....	31
2.2.6. Aceites esenciales	32
2.2.7. Características fisicoquímicas de aceite esencial	33
2.2.8. Métodos de extracción de aceites esenciales.....	34
2.2.9. Acción biológica de los aceites esenciales (Dhifi et al., 2016)	35
2.2.10. Características de <i>Cymbopogon citratus</i>	37
2.2.11. Distribución geográfica y taxonomía de <i>Cymbopogon citratus</i>....	37
2.2.12. Propiedades biológicas de <i>Cymbopogon citratus</i> (Cerna et al., 2007).	38

2.2.13.	Composición química del aceite esencial de <i>Cymbopogon citratus</i>	39
2.2.14.	Caracterización y significación del problema	40
Capítulo III: Marco metodológico		41
3.1.	Lugar de estudio	41
3.2.	Tipo y diseño de investigación.....	41
3.3.	Unidades de estudio.....	41
3.3.	Materiales y equipos	41
3.5.	Procedimiento	43
3.5.1.	Obtención y preparación de la muestra (Pino, 2015)	43
3.5.2.	Extracción de aceite esencial (Souiy, 2023).....	44
3.5.3.	Activación de cepas microbianas.....	44
3.5.4.	Preparación del inóculo a la escala McFarland (EUCAST, 2025)	45
3.5.5.	Determinación de la actividad antibacteriana por el método de disco difusión (EUCAST, 2025)	45
3.5.6.	Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (Swebosci et al., 2023).....	47
3.5.7.	Determinación de la Concentración Mínima Bactericida (Swebosci et al., 2023).....	47
3.5.8.	Procesamiento y análisis de datos.....	51
Capítulo IV: Resultados		52
Capítulo V: Discusión		74
Capítulo VI: Conclusión.....		77
Capítulo VII: Recomendaciones		79
Referencias bibliográfica		80
Anexos		87

Índice de tablas

Tabla 1. Variables de operacionalización	19
Tabla 2. Clasificación taxonómica.....	38
Tabla 3. <i>Preparación de la Concentración Mínima Inhibitoria y Concentración Mínima Bactericida del aceite esencial de Cymbopogon citratus “hierba luisa” frente a Staphylococcus aureus ATCC 6538.</i>	49
Tabla 4. <i>Preparación de la Concentración Mínima Inhibitoria y de la Concentración Mínima Bactericida del aceite esencial de Cymbopogon citratus “hierba luisa” frente a Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853.</i>	50
Tabla 5. <i>Actividad antibacteriana in vitro del aceite esencial de Cymbopogon citratus “hierba luisa” frente a Staphylococcus aureus ATCC 6538, por método de disco difusión.</i>	53
Tabla 6. <i>Prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov y Shapiro-Wilk.</i> ...	55
Tabla 7. <i>Clasificación según diámetro de halo de inhibición</i>	56
Tabla 8. <i>Estadística para una sola muestra</i>	57
Tabla 9. <i>Prueba de t para una sola muestra</i>	58
Tabla 10. <i>Contraste de hipótesis para volúmenes de 10 µl y 30 µl de aceite esencial de Cymbopogon citratus</i>	59
Tabla 11. <i>Determinación del grado sensibilidad a diferentes concentraciones del aceite esencial de Cymbopogon citratus “hierba luisa” frente a Staphylococcus aureus ATCC 6538, según Duraffourd.</i>	60

Tabla 12. <i>Concentración Mínima Inhibitoria y Concentración Mínima Bactericida del aceite esencial de Cymbopogon citratus “hierba luisa” frente a Staphylococcus aureus ATCC 6538.</i>	62
Tabla 13. <i>Actividad antibacteriana in vitro del aceite esencial de Cymbopogon citratus “hierba luisa” frente a Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853, por método de disco difusión.</i>	63
Tabla 14. <i>Prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov y Shapiro-Wilk.</i>	64
Tabla 15. <i>Clasificación según diámetro de halo de inhibición.</i>	65
Tabla 16. <i>Estadística para una muestra</i>	66
Tabla 17. <i>Prueba t para una muestra</i>	67
Tabla 18. <i>Determinación del grado sensibilidad a diferentes concentraciones del aceite esencial de Cymbopogon citratus “hierba luisa” frente a Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853, según Duraffourd.</i>	69
Tabla 19. <i>Concentración Mínima Inhibitoria y Concentración Mínima Bactericida del aceite esencial de Cymbopogon citratus “hierba luisa” frente a Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853.</i>	71
Tabla 20. <i>Prueba de estadística de grupo para comparación de efecto antibacteriano de Cymbopogon citratus.</i>	72
Tabla 21. <i>Prueba de muestras independientes</i>	73

Índice de figura

Figura 01. Muestra vegetal de <i>Cymbopogon citratus</i> “hierba luisa”.....	88
Figura 02. Extracción de aceite por método de arrastre de vapor.....	88
Figura 03. Activación de cepas <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 y <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853.....	89
Figura 04. Desnaturalización y desproteinización de discos de sensibilidad	
Figura 05. Estandar 0.5 escala McFarland.....	90
Figura 06. Distribución de discos de sensibilidad de acuerdo al volumen a suministrarse.....	90
Figura 07. Administración de aceite esencial de <i>Cymbopogon citratus</i>	91
Figura 08. Distribución por agotamiento de cepas bacteriana en estudio..	91
Figura 09. Baterías de tubos para determinar Concentración Mínima Inhibitoria para <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	92
Figura 10. Baterías de tubos para determinar Concentración Mínima Inhibitoria para <i>Staphylococcus aureus</i>	92
Tabla 11. Determinación de Concentración Mínima Bactericida en placas para <i>Staphylococcus aureus</i>	93
Tabla 12. Determinación de Concentración Mínima Bactericida en placas para <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	93

Resumen

El objetivo de la investigación fue evaluar la actividad antibacteriana *in vitro* del aceite esencial de *Cymbopogon citratus* "hierba luisa" frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. El aceite esencial fue obtenido mediante destilación por arrastre de vapor, obteniéndose un rendimiento de 0,417% y una densidad de 846,2 mg/ ml. Fue evaluada *in vitro* el efecto del aceite esencial de *Cymbopogon citratus* frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Los resultados se obtuvieron para *S.aureus* halos de inhibición cuyo diámetro es de 41,6975 mm a un concentración de 25,386 mg/ml y para *P. aeruginosa* 18,6925 mm a una concentración de 25,386 mg/ml. La CMI y CMB determinada para *S. aureus* fue de una concentración de 1,8336 mg/ml y 1,9746 mg/ml respectivamente y para *P. aeruginosa* se determinó que la concentración para CMI y CMB fue de 20,6848 mg/ml en ambos casos. En conclusión, el aceite esencial de *Cymbopogon citratus* presento mayor efecto inhibitorio para *S. aureus* que para *P. aeruginosa*.

Palabras clave: *Cymbopogon citratus*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, halos de inhibición, CMI y CMB.

Abstract

The objective of this research was to evaluate the in vitro antibacterial activity of *Cymbopogon citratus* (lemon verbena) essential oil against *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. The essential oil was obtained by steam distillation, yielding 0,417% and a density of 846,2 mg/ml. The effect of *Cymbopogon citratus* essential oil against *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 was evaluated in vitro. The results showed inhibition zones with a diameter of 41,6975 mm for *S. aureus* at a concentration of 25,386 mg/ml and 18,6925 mm for *P. aeruginosa* at the same concentration. The MIC and MBC determined for *S. aureus* were 1,8336 mg/ml and 1,9746 mg/ml, respectively, and for *P. aeruginosa*, the MIC and MBC were determined to be 20,6848 mg/ml in both cases. In conclusion, the essential oil of *Cymbopogon citratus* exhibits a greater inhibitory effect against *S. aureus* than against *P. aeruginosa*.

Keywords: *Cymbopogon citratus*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, inhibition halos, MIC and MBC.

Introducción

Las infecciones en la piel son un problema grave para el sector de la salud, debido a que muchas infecciones son provocadas por bacterias oportunistas que se encuentran como habitantes en la piel. Estas infecciones dan su inicio por cambios que afectan los mecanismos de defensa de la piel, provocando el ingreso por heridas y quemaduras. La mayoría de las infecciones en la piel son causadas por *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* y por enterobacterias que usualmente afectan a pacientes hospitalizados (Flores et al., 2021).

En el Perú existe una variedad de plantas medicinales que provienen de la amazonia en un 45%, 39% de los andes y 16% de la costa del país. Generalmente la población peruana utiliza estas plantas medicinales para contrarrestar infecciones respiratorias, gastrointestinales y genitourinario, de todo el total de plantas utilizadas, en su mayoría corresponde a herbáceas seguido de plantas arbustivas. Con el uso excesivo de los recursos de la amazonia en especial en el sector de la maderera, el uso inadecuado de métodos de extracción está afectando considerablemente la flora existente con ello provocando la extinción de una gran variedad de plantas, por ello se han planteado varias formas de preservación de estas plantas como jardines botánicos e incluso bancos de germoplasma (OPS, 2019).

En el presente trabajo de investigación se evaluó la actividad antibacteriana *in vitro* del aceite esencial de *Cymbopogon citratus* (hierba medicinal utilizada en la medicina alternativa para contrarrestar infecciones, inflamaciones y entre otros) frente a *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*, como una alternativa para combatir y contrarrestar el crecimiento de estas especies bacteriana de importancia clínica.

Capítulo I: Planteamiento del problema

1.1. Descripción del problema

las infecciones a la piel son causadas frecuentemente por *Staphylococcus aureus* el cual es una bacteria Gram positiva causante de infecciones a nivel de la piel y como uro patógeno. Con el pasar de años esta bacteria ha ido desarrollando mecanismo de resistencia a antibióticos administrados por orden médico o utilizado como alternativa para reducir dolor como recomendación por personal no médico, también hay que señalar que el problema surge en mayor medida con el uso prolongado de los antibióticos. Se conoce que *Staphylococcus aureus* a lo largo de los años ha demostrado cierta resistencia hacia la metilina e incluso a resistencia al cloranfenicol, tetraciclina, macrólidos, lincosaminas, aminoglucósidos y las quinolonas (Camarena et al., 1999). En Argentina se ha reportados infecciones por *Staphylococcus aureus* metilo resistente en un 88% y porcentajes menores en Brasil con un 4,5% a 8,8% y en Bolivia con 1,5% (Flores et al., 2021).

Por otro lado, se tiene a *Pseudomonas aeruginosa* es una bacteria Gram negativa causante de problemas a la salud como endocarditis, infecciones al tracto urinario, infecciones a la piel y neumonía, que habitualmente pueden o no ser causadas en ambientes hospitalarios. Esta bacteria es capaz de ser muy resistente a una amplia variedad de antibióticos, siendo un problema grave no solo para personas con un sistema inmune comprometidos sino también para persona con quemaduras de primer, segundo y tercer grado.

Es de conocimiento que la primera alternativa de tratamiento frente a estas bacterias por ser patógenas es la aplicación de antibióticos sintéticos comerciales, sin embargo, en los últimos años se está considerando tratamientos alternativos basados en aceites esenciales, los cuales vienen siendo empleados para el tratamiento de infecciones bacterianas con resultados muy provechosos para la población global, se conoce una gran variedad aceites esenciales que se extraen de varias familias de plantas como Lamiaaceae (*Ocimum citratus*), Poaceae (*Cymbopogon citratus*), Verbenaceae (*Alyopsi citridora*), Asteraceae (*Echinops kebericho*), Umbelliferae (*Carum nigrum*) y Zingiberaceae (*Zingiber officinale*). De un total de 98 aceites recomendados por dermatólogos, 73 poseen actividad antibacteriana existente en la piel, 49 para tratamiento de acné, 34 para tratamiento de infecciones causados por hongos y 16 para tratamiento de infecciones causadas por virus (Deyno et al., 2019).

1.2. Definición y delimitación del problema

La medicina tradicional está arraigada a nuestros antepasados, habitualmente no solo usaban las plantas como fuente de alimento, sino como un recurso para contrarrestar enfermedades existentes. A nivel global, el conocimiento sobre los beneficios de las plantas medicinales ha ido disminuyendo considerablemente. Muchas organizaciones mundiales están enviando investigadores a diferentes culturas para adquirir conocimientos sobre las plantas medicinales y poner como alternativa para el tratamiento de enfermedades. En algunas culturas, en especial en aquellas con

bajos recursos su única alternativa para curar sus males son las plantas medicinales debido a los altos costos de los medicamentos (Balarezo, 2018).

Los aceites esenciales han sido utilizados para el tratamiento de infecciones bacterianas. Detallando resultados muy provechosos para la población global, se conoce una gran variedad aceites esenciales que se extraen de varias familias de plantas como Lamiaaceae (*Ocimum citratus*), Poaceae (*Cymbopogon citratus*), Verbenaceae (*Alyopsi citridora*), Asteraceae (*Echinops kebericho*), Umbelliferae (*Carum nigrum*) y Zingiberaceae (*Zingiber officinale*). De un total de 98 aceites recomendados por dermatólogos, 73 poseen actividad antibacteriana existente en la piel, 49 para tratamiento de acné, 34 para tratamiento de infecciones causados por hongos y 16 para tratamiento de infecciones causadas por virus (Deyno et al., 2019).

Delimitación teórica

La presente investigación se considera como marco teórico las variables actividad antibacteriana de aceite esencial de *Cymbopogon citratus*, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Los métodos utilizados para comprobar la actividad antibacteriana de *Cymbopogon citratus* se determinaron mediante el método de Kirby Bauer con la formación de halos de inhibición, Concentración Mínima Inhibitoria y Concentración Mínima Bactericida.

Delimitación temporal

La investigación se realizará en los meses de noviembre del 2025 a marzo del 2026.

Delimitación espacial

El desarrollo de la investigación se realizará en el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann de Tacna.

1.3. Formulación del problema

1.3.1. Problema principal

¿Cuál es la actividad antibacteriana *in vitro* del aceite esencial de *Cymbopogon citratus* “hierba luisa” frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853?

1.3.2. Problemas secundarios

¿Cuál es la Concentración Mínima Inhibitoria *in vitro* del aceite esencial de *Cymbopogon citratus* “hierba luisa” frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853?

¿Cuál es la Concentración Mínima Bactericida *in vitro* del aceite esencial de *Cymbopogon citratus* “hierba luisa” frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853?

¿Existe diferencia en la actividad antibacteriana *in vitro* del aceite esencial de *Cymbopogon citratus* “hierba luisa” frente a

Staphylococcus aureus ATCC 6538 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853?

1.4. Justificación

1.4.1. Justificación teórica

La medicina tradicional ha sido utilizada como una alternativa para prevenir y/o combatir enfermedades fisiológicas o aquellas causadas por agentes bacterianos que ingresan al cuerpo. La hierba luisa es una de las plantas muy ampliamente utilizadas para en la medicina como un antioxidante, antifúngico y antiinflamatorio, es por ello que en este trabajo de investigación se busca evidenciar la eficacia del aceite de *Cymbopogon citratus* “hierba luisa” frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

1.4.2. Justificación metodológica

La prueba utilizada para la determinación de la actividad antibacteriana fue mediante la técnica de Kirby-Bauer, la técnica permite obtener resultados estandarizados y confiables que pueden ser reproducibles en laboratorios de estudios universitarios. Por otra parte, para la obtención del aceite de *Cymbopogon citratus* se realizó mediante la técnica de arrastre al vapor, este método nos permite

obtener alta pureza del aceite y su facilidad de elaboración debido que requiere instrumentos no muy sofisticados.

1.4.3. Justificación social

La presente investigación permitirá al investigador dar a conocer el efecto inhibitorio del aceite esencial de *Cymbopogon citratus* “hierba luisa” frente a bacterias patógenas y proponer como una alternativa terapéutica por sus propiedades antiinflamatorias, antiparasitarias antioxidantes y anticancerígenas.

1.5. Objetivos

1.5.1 Objetivo general

Determinar la actividad antibacteriana *in vitro* del aceite esencial de *Cymbopogon citratus* “hierba luisa” frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

1.5.2. Objetivo específicos

Determinar la Concentración Mínima Inhibitoria *in vitro* del aceite esencial de *Cymbopogon citratus* “hierba luisa” frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Determinar la Concentración Mínima Bactericida *in vitro* del aceite esencial de *Cymbopogon citratus* “hierba luisa” frente a

Staphylococcus aureus ATCC 6538 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Comparar la actividad antibacteriana *in vitro* del aceite esencial de *Cymbopogon citratus* “hierba luisa” frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

1.6. Hipótesis

1.6.1 Hipótesis general

El aceite esencial de *Cymbopogon citratus* “hierba luisa” presenta actividad antibacteriana *in vitro* frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

1.6.2. Hipótesis específica

El aceite esencial de *Cymbopogon citratus* “hierba luisa” presenta una Concentración Mínima Inhibitoria *in vitro* frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

El aceite esencial de *Cymbopogon citratus* “hierba luisa” presenta una Concentración Mínima Bactericida *in vitro* frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

El aceite esencial de *Cymbopogon citratus* “hierba luisa” presenta diferencia significativa en la actividad antibacteriana *in vitro* frente

a *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

1.7. Variables

1.7.1. Variable independiente

Aceite esencial de *Cymbopogon citratus* “hierba luisa”

1.7.2. Variable dependiente

Actividad antibacteriana *in vitro* frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

Actividad antibacteriana *in vitro* frente a *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

1.8. Variables y operacionalización

VARIABLES		DEFINICION	DIMENSION	INDICADOR	ESCALA
Variable independiente	Aceite esencial de <i>Cymbopogon citratus</i>	Son un conjunto de sustancias producidas en el metabolismo secundario que confieren cierto aroma a la planta	Cuantitativo	Rendimiento de aceite esencial de hierba luisa	Medido en %
	Actividad antibacteriana <i>in vitro</i> frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	Son cocos Gram positivos, se encuentra agrupado en forma de racimos	Cuantitativo	Diámetro de halo de inhibición	Medido en mm
Variable dependiente			Semicuantitativo	Concentración Mínima Inhibitoria	Nula (-) :< a 8 mm Sensible (+): 9 – 14 mm Muy sensible (+++): 15 – 19 mm
			Cuantitativo	Concentración Mínima Bactericida	Medido en mg/ ml
			Cuantitativo	Diámetro de halo de inhibición	Medido en mm
	Actividad antibacteriana <i>in vitro</i> frente a <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	Son bacilos Gram negativos aerobio facultativos	Semicuantitativo	Concentración Mínima Inhibitoria	Nula (-) :< a 8 mm Sensible (+): 9 – 14 mm Muy sensible (+++): 15 – 19 mm
			Cuantitativo	Concentración Mínima Bactericida	Medido en mg/ ml

Capítulo II: Marco teórico

2.1. Antecedentes de la investigación

2.1.1 Antecedente Internacionales

Arde *et al* (2025) en su trabajo de investigación “Análisis fitoquímico y actividad antimicrobiana del óleo esencial e hidroloato de *Cymbopogon citratus* contra cepas de *Candida albicans*, *Escherichia coli* y *Pseudomona aeruginosa*”, desarrollo su estudio con plantas obtenidas del Distrito Municipal de Muatala, Mozambique en marzo del 2022. En sus resultados se obtuvo un rendimiento de 0,98% y se evidencio el efecto antibacteriano del aceite sobre las especies en estudio, *Candida albicans* a comparación de las demás cepas en estudio presento un mayor grado de inhibición al 50 % de concentración a comparación con el hidrosol el cual presente un efecto modesto con las especies en estudio. Se concluye que el aceite esencial de *Cymbopogon citratus* presenta una eficaz actividad antibacteriana y se propone como una alternativa terapéutica.

Ortiz (2023) en su trabajo de investigación “Determinación in vitro de la actividad antimicrobiana de los extractos elaborados con hierba luisa (*Cymbopogon citratus*) frente a las bacterias *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*” tuvo como objetivo principal determinar la actividad antibacteriana de *Cymbopogon citratus* frente a las bacterias *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* comprobando su capacidad inhibitoria. En sus resultados se obtuvieron para extracto con etanol un halo de inhibición de $13,2 \pm$

1 mm para *Staphylococcus aureus*, metanol obtuvo un halo de 11,1 $\pm$ 1,89 mm para *Staphylococcus aureus* e hidroalcohólico no se obtuvo halos de inhibición, a comparación de la *Escherichia coli* el cual no presento halos de inhibición en ninguno de los extractos utilizados en el trabajo de investigación. Conjuntamente se concluye que los extractos etanólico y metanólico utilizados en la presente investigación presentaron 66% y 55,4% de inhibición sobre las *Staphylococcus aureus* respectivamente.

Revelo (2023) en su trabajo de investigación “Evaluación del aceite de hierba luisa ecuatoriana como inhibidor de algunos patógenos orales” tuvo como objetivo determinar el efecto inhibitorio del aceite esencial de hierbaluisa, procedente del oriente (provincia de Pastaza) costa (provincia de los Ríos) ecuatoriana al 25, 50, 75 y 100% a las 24, 48 y 72 horas sobre *Porphyromona gingivalis* ATCC 33277, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Staphylococcus aureus* ATCC 25293 y *Candida albicans* ATCC 10231. Se concluyó que *Staphylococcus aureus* presenta mayor halo de inhibición al 100% a comparación con *P. gingivitis*, *E. faecalis* y *C. albicans* los cuales presentaron halos inhibición de menor diámetro en el 100% de las muestras.

Ajijolakewu et al (2021) en su trabajo de investigación “Eficiencia antibacteriana de extractos de hierba de limón (*Cymbopogon citratus*) sobre algunos aislados microbianos”. Realizo el estudio con extracto acuoso y etanolico sobre *Candida albicans*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. La eficacia del extracto acuoso fue más significativa presentando halos de inhibición entre

2 ± 0 y 25 ± 0 mm a comparación del extracto acuoso en el cual la eficacia no fue muy significativa, ya solo presento efecto inhibitorio sobre *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* en concentración de 50 mg/ml a 200 mg/ml. Los CMI para el extracto acuoso se encuentran en 2 mg/ml para *S. aureus*, 12,5 mg/ml para *P. aeruginosa*, 6,25 mg/ml para *E. faecalis*, 25 mg/ml para *E.coli* y 50 mg/ml para *C. albicans* y los CMB para el extracto acuoso solo se evidenciaron a concentraciones de 150 mg/ml y 12,5 mg/ml para *S.aureus* y *P. aeruginosa*. El extracto etanólico no presento CMI ni CMB. Se concluye que existe mayor eficiencia antibacteriana el extracto acuoso que el extracto etanólico realizado en el presente estudio.

Giler (2018) en su trabajo de investigación “Efecto *in vitro* antimicrobiano de la hierba luisa *Cymbopogon citratus* sobre *Streptococcus mutans*”, su objetivo fue evaluar el efecto antimicrobiano de la hierba luisa “*Cymbopogon citratus*” sobre *Streptococcus mutans*. Los resultados demostraron un halo de inhibición de 5,65 mm a un 25%, 6,725 mm a un 50%, 7,825 mm a un 100% del tratamiento a comparación del control el cual obtuvo un halo de inhibición de 14,83 mm para Clorhexidina 0,12%. Se concluyó el extracto etanólico de *Cymbopogon citratus* a concentraciones de 25%, 50% 75% y 100% presenta actividad antimicrobiana, también se concluyó que los halos de inhibición obtenidos por los diferentes tratamientos utilizados fueron similares numéricamente con el control, pero no tuvo una significancia estadística positiva.

Irfan *et al* (2010) en su trabajo de investigación “Actividad antibacteriana del aceite esencial de limoncillo (*Cymbopogon*

*citratu*s) contra algunas bacterias patógenas seleccionadas” tuvo como objetivo determinar la eficacia del aceite esencial de limoncillo para el tratamiento de organismo patógenos como *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomonas aeruginosa*. Se trabajaron con concentraciones de 5%, 10%, 15%, 20%, 25% y 30%. En su resultado se obtuvieron halos de inhibición fueron entre 8,33 mm a 29,66 mm respectivamente, *Pseudomonas aeruginosa* no presento halos de inhibición frente las concentraciones realizadas en el estudio. El CMI determinado se encuentra entre 0,03% a 0,50% de concentración a excepción de *Pseudomonas aeruginosa*. Se concluyo que el aceite esencial presento eficiencia antibacteriana en concentraciones muy bajas a comparación de los antibióticos en estudio.

2.1.2. Antecedente Nacionales

Tantalean (2019) en su trabajo de investigación “Efecto antimicótico de hierba luisa (*Cymbopogon citratus*) y uña de gato (*Uncaria tomentosa*) contra *Candida albicans*” tuvo como objetivo evaluar la actividad antimicótica del aceite esencial de hierba luisa (*Cymbopogon citratus*) y el extracto alcohólico de uña de gato (*Uncaria tomentosa*) contra *Candida albicans*. Los resultados demostraron un halo de inhibición con extracto alcohólico de uña de gato con diámetros de 8,4 mm al 25%, 9,6 mm al 50%, 13,0 mm al 75% y 19,4 mm al 100% para el tratamiento con aceite esencial de hierba luisa se obtuvieron halos de inhibición en 44,3 mm al 25%, 50,8 mm al 50%, 61 mm al 75% y 81% al 100% y finalmente

para el tratamiento control con Nistatina el cual presento halos de inhibición de 50 mm en los 10 ensayos. Se concluyó que el aceite esencial de hierba Luisa presenta actividad antimicótica frente a *Candida albicans* ATCC 90028 y frente *Candida albicans* aislada de un paciente el cual presento sensibilidad de 25%, 50% 75% y 100%, también se concluye que el extracto alcohólico de uña de gato presenta efecto antimicótico contra *Candida albicans* en concentraciones de 75% y 100% y contra *Candida albicans* aislada de un paciente en todas las concentraciones realizadas.

Quintos (2019) en su trabajo de investigación “Efecto antibacteriano del *Cymbopogon citratus* “hierba luisa” sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175” en su objetivo determinar el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Cymbopogon citratus* (hierba luisa) en la cepa *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Los resultados demostraron que la actividad del aceite de hierba luisa a concentración de 100% presento un halo de inhibición entre 17 y 18 mm, para la concentración de 70% se obtuvo halos de inhibición de 7 mm y finalmente para el control utilizado se obtuvo halos de 20 a 21 mm. Se concluyo que la concentración de 100% de aceite esencial de *Cymbopogon citratus* obtuvo un halo de inhibición de 18 mm a diferencia de la concentración del 70% e cual presento un diámetro de 7 mm determinándose que a esta concentración no es sensible.

Maravi (2012) en su trabajo de investigación “Efecto antibacteriano y antifúngico del aceite esencial de *Mentha piperita* (menta), *Origanum vulgare* (orégano) y *Cymbopogon citratus* (hierba luisa) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, *Lactobacillus acidophilus* ATCC 10746 y *Candida albicans* ATCC

90028” con el objeto de determinar Efecto antibacteriano y antifúngico del aceite esencial de *Mentha piperita* (menta), *Origanum vulgare* (orégano) y *Cymbopogon citratus* (hierba Luisa) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, *Lactobacillus acidophilus* ATCC 10746 y *Candida albicans* ATCC 90028. Los resultados demostraron que el aceite esencial del orégano al 100% obtuvo como promedio un halo de $25,72 \pm 1,99$ mm y bajo la concentración de 50% obtuvo como promedio un halo de $11,65 \pm 0,97$ mm, el aceite esencial de hierba luisa en concentración del 100% obtuvo halo de $22,27 \pm 3,67$ mm y a una concentración de 50% de $8,26 \pm 1,62$ mm, para el aceite esencial de meta a concentración del 100% se obtuvo un halo de $11,65 \pm 0,97$ mm y a una concentración de 50% no halo. Se concluyo que los aceites esenciales de *Origanum vulgare* en concentraciones a 100% y *Cymbopogon* en concentraciones de 90 y 100% presentaron mayor efectividad antibacteriana y antifúngica a excepción de *Mentha piperita* el cual presento menor halo de inhibición que los controles.

Huamán *et al* (2020) en el trabajo de investigación “Evaluación de la capacidad antioxidante y actividad antibacteriana del extracto acuoso y etanólico de *Cymbopogon citratus*” plantearon como objetivo determinar la capacidad antioxidante y antibacteriana de extracto acuoso y etanólico de *Cymbopogon citratus*. Sus resultados demostraron que el extracto etanólico de la planta en estudio en concentraciones de 25%, 50%, 70% y 100% presentan actividad antibacteriana sobre *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* a comparación con el extracto acuoso el cual no presento actividad antibacteriana sobre las bacterias en estudio. Se concluyo que el extracto etanólico presenta mayor

diámetro de inhibición sobre las cepas *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 a diferencia de el extracto acuoso.

2.2. Bases teóricas

2.2.1. Capacidad Antibacteriana

Se define como la capacidad de inhibición sobre proliferación de las bacterias. Los antibacterianos se obtienen a partir de la producción de moléculas producidas por organismo vivos y aquellos que son producidos sintéticamente. Los antibacterianos pueden sobre la bacteria afectando sus distintas estructuras moleculares (Natalia & Molina, 2022).

- ✓ Inhibición sobre la síntesis de la pared celular
- ✓ Alteración de la membrana celular
- ✓ Inhibición de la producción de ácidos nucleicos
- ✓ Inhibición de la síntesis de proteínas
- ✓ Inhibición de las vías metabólicas

2.2.2. Características morfológicas de *Staphylococcus aureus*

Fue descubierta por primera vez por el medico Alexander Ogston, quien evidencio la presencia de esta

bacteria en el pus generado por heridas, posteriormente fue el mismo medico quien le designo el nombre de “*Staphylococcus*” por la agregación de los cocos en racimos. Esta bacteria es Gram positivo, catalasa positiva y coagulasa positiva, en medios especiales como el agar Baird Parker las colonias se visualizan con un color negro producto del metabolismo del telurito y con la formación de un halo transparente producto de acción lipolítica de la yema de huevo. Por otro lado, al sembrarse en agar manitol salado, las colonias de *Staphylococcus aureus* son de color amarillo a diferencia de las otras especies de *Staphylococcus* cuyas colonias son de color rosado (Pasachova et al., 2019).

Esta bacteria se forma parte de la flora normal de nuestro cuerpo situándose en la piel, pliegues inguinales y axilas. Pero en ciertas ocasiones esta bacteria actúa como patógeno afectando a sectores de riesgo como niños menores de 2 años, pacientes diabéticos y en paciente con infecciones de la piel. También se señala que esta bacteria es causante de intoxicaciones por consumo de alimentos contaminados, que afecta principalmente a sector de la población de bajos recursos (Zendejas-Manzo et al., 2014).

2.2.3. Toxinas producidas por *Staphylococcus aureus* (Ahmadd-Mansur et al., 2021)

✓ Hemolisinas

Estas hemolisinas son causantes de lisis en las células del huésped que infectan como células epiteliales, endoteliales eritrocitos, monocitos y queratinocitos. Las principales hemolisinas son α , β , γ y δ , pero la más estudiada es la α – hemolisina el cual es codificado por el gen hla.

✓ **Leucocidina de Pantón – Valentine**

La leucocidina es codificada por dos genes la lukS-PV y lukF-PV. El LPV es responsable de causar una alteración a nivel de la membrana celular de la célula del huésped provocando su lisis. Se señala que la presencia de LPV aumenta los niveles de virulencia de la bacteria causando así infecciones invasivas.

✓ **Modulinas solubles en fenol**

Son péptidos pequeños cuya estructura es α -helicoidal, a estos péptidos pertenecen dos familias las PSM α con un total de 20 a 26 aminoácidos en su estructura y los PSM β que se encuentran constituidos por 43 a 44 aminoácidos, el cual no posee actividad citolítica sobre las células del organismo.

✓ **Inhibidor de la diferenciación de células epidérmicas**

El inhibidor de la diferenciación de células epidérmicas son estructuras presentes en las bacterias, que al momento de ingresar a la célula huésped van a provocar daños a nivel de la barrera endotelial, esto conllevará a que los EDIN actúen directamente sobre la proteína RhoA, el cual a inhibirse provocaría una propagación masiva de la bacteria en el organismo, debido a este suceso la fagocitosis no podrá ser activada por el complemento. En varios estudios realizados en pacientes diabético con úlceras en los pies, se encontró 14 aislados de EDIN de un total de 195 muestras infectadas por *Staphylococcus aureus*.

✓ **Toxinas exfoliativas**

Son serina proteasa responsables de causar la ruptura de los desmosomas a nivel de la piel, específicamente a nivel estrato granuloso. Se conocen 3 tipos de toxinas, A, B y D, todas estas causantes de enfermedad en huésped, la toxina C no se reportado como causante de enfermedades en el hombre.

✓ **Toxina 1 del síndrome shock tóxico**

Actúan como superantígenos, los cuales desencadenan respuestas inflamatorias en el cuerpo, estos actúan sobre los linfocitos T, por medio de la

unión al receptor del CMH tipo II que actúa directamente sobre los linfocitos T. Con la activación se comienzan a liberar grandes cantidades de citocinas como 1, 2, 4, 5 y 13, el FNT- α y el factor estimulante de los granulocitos.

2.2.4. Características morfológicas de *Pseudomonas aeruginosa*

Fue descubierta por el profesor Alemán Walter Migula, quien los describía como célula con cuerpos polares, a partir de ello se le asigna el nombre de "*Pseudomonas*". En 1872 el científico Schroeter asigna el término "*aeruginosa*" debido a la capacidad de adquirir un color verde azulado al ser cultivada. Esta bacteria es una Gram negativa cuyas dimensiones oscilan en 0,5 – 1,0 μm de diámetro y 1,5 – 5,0 μm de largo, es considerada bacteria aerobia facultativa debido a su capacidad de poder crecer en condiciones anaeróbicas, es un no fermentador de lactosa debido a su capacidad de utilizar como fuente de carbono y nitrógeno al acetato y amoníaco, para obtener energía oxida la glucosa (Paz et al., 2019).

Pseudomona aeruginosa es causante de problemas a la salud como neumonías, infecciones del tracto urinario y bacteriemias e incluso causar la muerte en paciente con fibrosis quística. Esta bacteria es capaz de resistir a antibióticos empleando diferentes vías, como a beta lactamasa de amplio espectro, metalo beta lactamasa, alteración de las proteínas fijadoras de penicilina, mutación

de las porinas, modificación enzimática plasmídica y bombas de expulsión activa (Ochoa et al., 2013).

2.2.5. Toxinas producidas por *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa emplea diferentes vías de secreción como I, II, III, IV y V. Siendo el tipo III la responsable de secretar toxinas (Paz et al., 2019).

✓ **Exotoxina A**

Es una toxina extracelular que participa en el bloqueo de síntesis de proteínas en la célula infectada induciendo su muerte. Esta ExoA al ser secretada al citosol de la célula actúa como ADP-ribosil-transferasa quien será responsable de inhibir el factor de elongación – 2 y por tanto la muerte celular (Gholami et al., 2023).

✓ **Exotoxina S**

Posee actividad GTPasa y ADPRT al ingresar en el citosol de la célula. La GTPasa actúa como un disruptor a nivel del citoesqueleto de actina, provocando la no internalización de la bacteria para su fagocitosis (Kroken et al., 2022).

✓ **Exotoxina T**

Al igual que la ExoS, posee actividad bifuncional como GTPasa y ADPRT. Se ha comprobado que ExoT participa en el retardo de la cicatrización de heridas

fomentando así una mayor exposición a *Pseudomonas aeruginosa* (Paz et al., 2019).

✓ **Exotoxina U**

Es responsable del incremento de los CD95 y CD95 – ligando en la célula, permitiendo la producción de las proteínas JNK. En la primera etapa se inactiva al ERK para posteriormente activar el p38 y consecuentemente activar el JNK, con ello se inducirá a la apoptosis de la célula (Paz et al., 2019).

✓ **Exotoxina Y**

Su función es del tipo adenilato ciclasa, el actúa en el incremento de la secreción del cAMP en la célula provocando inhibición de la fagocitosis, inestabilidad del citoesqueleto y la permeabilidad endotelial (Paz et al., 2019).

2.2.6. Aceites esenciales

Son un conjunto de sustancias producidas en el metabolismo secundario que confieren cierto aroma a la planta. Este conjunto de elementos está constituido por terpenos y fenilpropanos. La composición de los aceites esenciales puede variar en cada planta e incluso en aquellos que pertenecen a la misma especie, otros factores que pueden influenciar en la composición del aceite son las condiciones del suelo, el clima, tratamientos postcosecha y métodos de extracción (Hzounda-Flokou et al., 2020). Estos aceites esenciales suelen producirse por células que pueden

ubicarse en hojas, tallos, flores o semillas y suelen encontrarse en cavidades secretoras, pelos glandulares y asociados a goma o terpenos (Zygadlo, 2011).

Los aceites esenciales son utilizados por sus propiedades biológicas, como conservantes y aromatizante de alimentos, como aditivo en la farmacología para el tratamiento de enfermedades transmisibles y no transmisibles.

2.2.7. Características fisicoquímicas de aceite esencial

Los aceites esenciales se caracterizan por ser aromáticos con un sabor agriodulce o irritante. Habitualmente se encuentran en forma líquida, pero no muy solubles con el agua, pero muy solubles con solventes orgánicos. Al exponerse en contacto con el aire, los compuestos terpenos presentes en el aceite esencial causando solidificación y oxidación. Estos aceites al momento de extraerse se encuentran inmersos en su composición varias sustancias que causan cambio de color del aceite, como por ejemplo en clavo de olor el aceite es amarillento o pardo, en tener un color azul como en la manzanilla e incluso tener un color verde como en la bergamota. Cuando estos aceites llegan a oxidarse pueden llegar a producirse el ácido carbónico el cual es característico de aceite de anís, ácido benzoico como en el aceite de almendra y ácido cinámico en aceite de canela. Otra propiedad importante es el índice de

refracción, el cual indica el grado de pureza del aceite (Albarracín & Gallo, 2003).

2.2.8. Métodos de extracción de aceites esenciales

✓ Hidrodestilación

Es un método de extracción muy convencional, debido al fácil acceso de los materiales al momento de realizar la extracción de aceite. El material vegetal que se utilizara deberá estar en contacto directo con el agua para comenzar el proceso de destilado, durante el proceso el vapor que se genera llevara consigo pequeñas porciones de aceite hacia el condensador en donde el agua y los aceites iniciaran su proceso de separación. Este método demanda un uso constante de agua por lo que hay que estar pendiente del nivel de agua, en el caso el nivel de agua se insuficiente, el material vegetal se carbonizara (Gonzalez-Moreno et al., 2022)

✓ Destilación por arrastre de vapor

Es uno de los métodos de extracción de aceites esenciales de mayor confianza. Como primera parte el vapor que se genera en matraz es conducido por medio de un conducto hacia un segundo matraz en donde el vapor saturado actuara sobre el material vegetal, extrayendo el aceite almacenado en el interior. Después de ocurrido el proceso anteriormente mencionado, el vapor que está conformado por agua y aceite se dirigirán hacia un condensador en el cual serán sometido a un congelamiento en todo el transcurso hasta llegar al extremo final del condensador, la

emulsión generada será depositada y después de un tiempo el aceite esencial del agua (Souiy, 2023).

✓ **Extracción con disolventes orgánicos**

Este método se base en la utilización de disolventes orgánicos como el metanol sobre la planta. Posteriormente se elimina el disolvente mediante la aplicación de presión. Una de sus desventajas es que al ser tratado con metanol no puede usarse como conservante de alimentos, pero se sugieren alternativas para reducir estos aspectos mediante la aplicación de un sistema de destilación al vapor (Souiy, 2023).

2.2.9. Acción biológica de los aceites esenciales (Dhifi et al., 2016)

Los aceites esenciales han demostrado poseer propiedades antibacterianas, antioxidantes y antiinflamatorio

✓ **Actividad antibacteriana**

Los aceites esenciales, en su amplia variedad de componentes como el carvacrol, citral, timol geraniol, linalol, mentol, terpeniol, thujanol y entre otros poseen la capacidad de inhibir el crecimiento bacteriano. Se conoce que los aceites esenciales pueden alterar la estructura celular de la bacteria provocando un descontrol en la

química de la membrana celular, por consiguiente, la muerte celular. Los aceites esenciales tienen mayor tendencia a causar más daños a bacterias Gram positivas que Gram negativas debido a la presencia de una membrana externa que bloquea todas las funciones inhibitorias del aceite esencial.

✓ **Actividad antioxidante**

Los aceites esenciales presentan actividad antioxidante y esta capacidad depende estrictamente a su composición. La presencia de estructuras fenólicas como en carvacrol y timol, han presentado propiedades redox capaces de neutralizar los radicales libres y descomponer el peróxido, al neutralizarse los radicales libres esto ha beneficiado a la prevención de enfermedades como el cáncer, enfermedades cardíacas y disfunción cerebral. En otros estudios se ha comprobado la capacidad hepatoprotectora en roedores al suministrarse aceite esencial de *Zataria multiflora boiss.*

✓ **Actividad antiinflamatoria**

Los aceites esenciales han sido utilizados recientemente como antiinflamatorio en reumatismo y alergias. El aceite esencial de *Torreyia nucifera* ha demostrado tener capacidad de inhibición de las prostaglandinas y sobre COX2. Muchos aceites esenciales han demostrado tener actividad inhibitoria sobre la producción de los leucotrienos y la prostaglandina producidas en el metabolismo de ácido araquidónico.

2.2.10. Características de *Cymbopogon citratus*

La hierba Luisa es una planta perenne, sus hojas se caracterizan por ser aromáticas y largas en la adultez cuyos bordes son duros con superficie áspera cuyos extremos son puntiagudos que pueden alcanzar tamaños de aproximadamente de 1m de largo y 2 cm de ancho, sus nervaduras en distribución paralelas, en la cara adaxial tiene un tono verde amarillento y la cara abaxial tiene una tonalidad purpura. Su tallo es cilíndrico con presencia de nudos, su tamaño aproximado es de 3,5 cm a 19 cm de largo y 0,7 a 1cm de ancho. Generalmente esta planta no llega a florecer o lo hace muy raras veces. La planta crece exitosamente a altitudes de 1200 m (Collazos, 2004).

2.2.11. Distribución geográfica y taxonomía de *Cymbopogon citratus*

Esta planta es originaria de Asia, África, América y por otros territorios tropicales. En muchos de estos territorios se cultivan por sus propiedades biológicas, para el tratamiento de enfermedades gastrointestinales e infecciosas.

Tabla 2:

*Clasificación taxonómica de *Cymbopogon citratus**

Taxonomía de *Cymbopogon citratus*

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Liliposida
Orden	Poales
Familia	Poaceae
Subfamilia	Panicoideae
Genero	<i>Cymbopogon</i>
Especie	<i>citratus</i>

Fuente: Elaboración propia

2.2.12. **Propiedades biológicas de *Cymbopogon citratus* (Cerna et al., 2007).**

Diversas investigaciones sobre la actividad de *Cymbopogon citratus* han demostrados el beneficio exitoso que posee esta planta para el tratamiento de infecciones causadas por bacterias, hongos, virus y enfermedades oncológicas.

✓ **Antiparasitaria**

El extracto alcohólico de *Cymbopogon citratus* presentó actividad antiparasitaria frente a *Giardia lamblia* *in vitro* e *in vivo*, siendo los principales componentes los compuestos fenólicos presentes en el extracto alcohólico. Mostró capacidad inhibitoria frente aceite esencial de *Cymbopogon citratus* sobre *Haemonchus contortus*.

✓ **Antifúngico**

El aceite esencial de *Cymbopogon citratus* presentó actividad antifúngica frente *Penicillium expansum*, *Fusarium expansorum*, *Candida albicans*, y *Aspergillus niger*.

✓ **Anticancerígeno**

El aceite esencia presentó actividad anticancerígena en líneas celular de cáncer de próstata. Por otro lado, el extracto etanólico efectúo apoptosis en células cancerígenas como linfomas y leucemia.

✓ **Antidepresivo**

Se ha comprobado estudios realizados para tratar la depresión mediante el consumo de hojas de *Cymbopogon citratus*, pero aun su vía de actividad no está muy explorada.

2.2.13. Composición química del aceite esencial de *Cymbopogon citratus*

La composición química puede verse influencia por varios factores, como las condiciones climáticas, edad de la planta, el tipo de suelo, método de extracción y factores genéticos de la planta. Los componentes que presente el aceite esencial de *Cymbopogon citratus* es citral, isoneral, isogenarial, geraniol, acetato de geraniol, citronenal, citranelol, germacreno-D y elemol (Mohamed et al., 2023).

2.2.14. Caracterización y significación del problema

La medicina tradicional por años ha sido una alternativa muy utilizada por la persona para poder tratar las diferentes dolencias a causa de sus enfermedades, siendo estas provocadas por microorganismos de importancia clínica. La OMS ha señalado en varias oportunidades la necesidad de explorar este campo, mediante el método científico que permita dar a conocer las diferentes propiedades biológicas beneficiosas de las plantas en las personas (Balarezo, 2018).

El 80% de la población en Latinoamérica a utilizado como alternativa o como única opción el uso de plantas para tratar sus enfermedades. En México una encuesta realizada a un grupo de médicos el 54% receto como alternativa para tratar enfermedades y solo el 12%, receto como medida de tratamiento plantas medicinales (García & Gallardo, 2024)

Capítulo III: Marco metodológico

3.1. Lugar de estudio

El presente trabajo se realizó en el laboratorio de Microbiología, Facultad de Ciencias.

3.2. Tipo y diseño de investigación

Experimental y transversal

3.3. Unidades de estudio

- Aceite esencial de *Cymbopogon citratus* “hierba luisa”
- Cepa bacteriana *Staphylococcus aureus* ATCC 6538
- Cepa bacteriana *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

3.3. Materiales y equipos

3.3.1. Material biológico

- Hojas de *Cymbopogon citratus* “hierba luisa”
- Cepa bacteriana *Staphylococcus aureus* ATCC 6538
- Cepa bacteriana *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

3.3.2. Materiales

- Micropipeta de 5 µl
- Micropipeta de 10 µl
- Micropipeta de 100 µl

- Pipetas de 1 ml
- Pipetas de 5 ml
- Pipetas de 10 ml
- Placas Petri de 10 x 100 mm
- Matraces de 500 ml
- Matraces de 250 ml
- Tubos de ensayo 13 x 100
- Matraces de 100 ml
- Vasos precipitados de 200 ml
- Frascos de vidrio color ámbar de 20 ml capacidad
- Frascos de vidrio de 500 ml capacidad
- Probeta de 100 ml
- Pipeta Pasteur

3.3.3. Equipos y otros

- Discos de sensibilidad
- Nefelómetro de McFarland
- Autoclave
- Estufa
- Incubadora
- Balanza analítica digital
- Equipo de destilación

- Gradillas
- Mechero
- Cocina eléctrica

3.3.4. Medios y reactivos

- Dimetil Sulfoxido
- Agar Mueller-Hinton
- Agar nutritivo
- Caldo Infusión Cerebro Corazón

3.5. Procedimiento

3.5.1. Obtención y preparación de la muestra (Pino, 2015)

- ✓ Las hojas obtenidas de hierba luisa en estudio fueron obtenidas en el mercado mayorista Grau en el puesto “”, departamento de Tacna en el mes de diciembre de 2025.
- ✓ Las hojas fueron seleccionadas verificando que no presenten signos de enfermedad que interfieran con el desarrollo del proyecto. Finalmente se dejaron secar durante un periodo de 6 días a un ambiente libre de luz solar.

3.5.2. Extracción de aceite esencial (Souiy, 2023)

Posterior a los 6 días, las hojas y tallos fueron cortadas en pequeños pedazos con una tijera y posteriormente serán pesadas en una balanza analítica. Para la extracción de aceite de *Cymbopogon citratus*, se depositaron 100 g de la muestra en un balón, cuya capacidad volumétrica es de 1 litro, se agregó agua en otro balón el cual estará expuesta a calor directo, el vapor que se libere de este último balón será conducido hacia el balón con la muestra en estudio, el vapor fue trasladado por medio de una manguera a un condensador en donde el vapor trasladado se ira enfriando produciendo gotas que se irán depositando en un depósito estéril. En base a las densidades con el paso de tiempo se irán separando el aceite del agua, para luego ser separada en un frasco ámbar el cual será guardado para su estudio. Este procedimiento se repetirá hasta obtener un volumen total 4.5 ml de aceite esencia de hierba luisa.

3.5.3. Activación de cepas microbianas.

Las cepas microbianas de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 fueron reactivadas en caldo infusión Cerebro Corazón, e incubadas a 37°C durante 18 – 24 horas.

Posteriormente, se inocularon una asada del caldo BHI con *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 a un vial con agar BHI realizando estrías en superficie y se incubaron 37°C durante 18 –

24 horas. El mismo procedimiento se realizó para *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Finalmente, por medio de una asada del agar BHI con *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 se extrajo una asada del cultivo y se suspendió en caldo BHI para ser incubado a 37°C durante 18 – 24 horas. El mismo procedimiento se realizó para *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Culminado todo este proceso, las cepas estarán listas que fueron utilizadas en el desarrollo experimental del proyecto.

3.5.4. Preparación del inóculo a la escala McFarland (EUCAST, 2025)

- ✓ A partir de una placa con agar BHI e incubada a 37°C por 18 - 24 h, se seleccionaron colonias aisladas y morfológicamente similares, se preparó una suspensión directa en caldo BHI.
- ✓ La suspensión debe ser ajustada rápidamente según la escala de 0,5 de McFarland.

3.5.5. Determinación de la actividad antibacteriana por el método de disco difusión (EUCAST, 2025)

- ✓ Se prepararon un total de 128 discos de sensibilidad para ser impregnados con el aceite esencial de hierba luisa. Los discos fueron distribuidos en un total de 8 discos por volumen de aceite a utilizar por cepa bacteriana.

- ✓ Se utilizaron volúmenes de 2,5 µl; 5,0 µl; 10 µl; 15 µl; 20 µl; 25 µl y 30 µl de aceite esencial de hierba luisa, los cuales se agregaron en los discos de sensibilidad. Posteriormente, después de haber agregado el aceite se dejaron reposar durante 30 minutos en una base plana.
- ✓ Se preparó un total de 54 placas con agar Mueller-Hinton, se agregó un volumen de 100 µl de suspensión bacteriana en cada placa y se extendió sobre la superficie de las placas con ayuda de un asa Drigalsky, se dejaron reposar durante 15 min.
- ✓ Finalizado el tiempo de reposo de las placas con las cepas bacterianas, con la ayuda de una pinza estéril se procederá a colocar los discos embebidos en aceite esencial sobre la superficie de las placas en un número de 3 discos por placa. Habiendo terminado el proceso se llevará a incubación a una temperatura de 37° C durante 24 horas.
- ✓ A las 24 horas, se retiraron las placas de incubadora y fueron llevadas a una superficie plana con fondo negro para una mejor visualización de los halos formados por el aceite esencial sobre las cepas bacterianas. Los halos se midieron con la ayuda de un vernier. Los diámetros de los halos medidos serán anotados en un cuaderno.

3.5.6. Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (Swebocki et al., 2023)

- ✓ Se prepararon una batería de 12 tubos cuyas dimensiones serán de 13 mm x 100 mm los cuales serán distribuidos en una gradilla, los tubos fueron rotulados de 1 a 10 y los dos tubos restantes fueron controles.
- ✓ A los tubos se le agregaron volúmenes de suspensión bacteriana, DMSO, aceite esencial de hierba luisa y caldo BHI con micropipetas de 10 µl, 100 µl y 1000 µl según corresponda el volumen para cada tubo. Los tubos controles preparados, el control positivo tendrá volúmenes de caldo BHI, DMSO y suspensión bacteriana y el control negativo obtuvo volúmenes de caldo BHI y DMSO.
- ✓ Una vez agrado los volúmenes a los tubos, estos se llevarán a incubación a una temperatura de 37° C durante 24 horas.
- ✓ A las 24 horas, los tubos fueron retirados de la incubadora y fueron distribuidos de acuerdo a su enumeración. Para su lectura se escogieron aquellos que no presenten actividad antibacteriana comparado con los controles positivos y negativos. El resultado se expresó en base a la concentración del tubo adecuado.

3.5.7. Determinación de la Concentración Mínima Bactericida (Swebocki et al., 2023)

- ✓ Se utilizaron 3 tubos por cepa bacteriana en donde no se evidencie crecimiento bacteriano, de estos tubos se extrajeron 100 µl y se depositaron en placas con agar Müller Hinton. Posteriormente, con ayuda de un asa Drigalsky se extendió por toda la superficie del agar, se dejó en reposo durante 15 min.
- ✓ Las placas fueron llevadas a incubación a una temperatura de 37° C durante 24 horas.
- ✓ A las 24 horas, las placas fueron retiradas de la incubadora y serán distribuidos sobre una superficie plana con fondo oscuro y se seleccionó aquella las placas en donde no se evidencio crecimientos bacterianos. El resultado se expresó en base a la concentración del tubo adecuado.

Tabla 3

Preparación de la Concentración Mínima Inhibitoria y de la Concentración Mínima Bactericida del aceite esencial de Cymbopogon citratus “hierba luisa” frente a Staphylococcus aureus ATCC 6538.

ITEM	Volumen de aceite esencial (ml)	CONCENTRACION (mg/ml)	Volumen de aceite esencial X 3 (ml)	CONCENTRACION X 3 (mg/ml)	DMSO (ml)	10% BACTERIA (ml)	BHI (ml)	TOTAL
1	1	0846	3	2,539	3	300	2694,461	3000
2	1,17	0,988	3,51	2,963	3,51	300	2693,527	3000
3	1,4	1,129	4,2	3,386	4,2	300	2692,414	3000
4	1,5	1,270	4,5	3,809	4,5	300	2691,691	3000
5	1,67	1,411	5,01	4,232	5,01	300	2690,758	3000
6	1,83	1,552	5,49	4,655	5,49	300	2689,855	3000
7	2	1,693	6	5,078	6	300	2688,922	3000
8	2,17	1,834	6,51	5,501	6,51	300	2687,989	3000
9	2,33	1,975	6,99	5,924	6,99	300	2687,086	3000
10	2,5	2,116	7,5	6,347	7,5	300	2686,153	3000
POSITIVO						300	2700,000	3000
NEGATIVO							3000	3000

Fuente: Elaboración propia

Tabla 4

Preparación de la Concentración Mínima Inhibitoria y de la Concentración Mínima Bactericida del aceite esencial de Cymbopogon citratus “hierba luisa” frente a Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853.

ITEM	Volumen de aceite esencial (ml)	CONCENTRACION (mg/ml)	Volumen de aceite esencial X 3 (ml)	CONCENTRACION X 3 (mg/ml)	DMSO (ml)	10% BACTERIA (ml)	BHI (ml)	TOTAL
1	20	16,924	60	50,772	60	300	2589,228	3000
2	21,11	17,864	63,33	53,593	63,33	300	2583,077	3000
3	22,22	18,804	66,66	56,413	66,66	300	2576,927	3000
4	23,33	19,745	69,99	59,234	69,99	300	2570,776	3000
5	24,42	20,685	73,26	62,054	73,26	300	2564,686	3000
6	25,56	21,625	76,68	64,875	76,68	300	2558,445	3000
7	26,67	22,565	80,01	67,696	80,01	300	2552,294	3000
8	27,78	23,505	83,34	70,516	83,34	300	2546,144	3000
9	28,89	24,446	86,67	73,337	86,67	300	2539,993	3000
10	30	25,386	90	76,158	90	300	2533,842	3000
POSITIVO						300	2700,000	3000
NEGATIVO							3000	3000

Fuente: Elaboración propia

3.5.8. Procesamiento y análisis de datos

Se realizaron 7 tratamientos del aceite esencial de *Cymbopogon citratus* “hierba luisa” y cada tratamiento tendrá un total de 8 repeticiones por cada cepa bacteriana haciendo un total de 112 unidades experimentales. Los datos fueron registrados en una hoja de EXCEL versión 2021, para realizar tablas y gráficos estadísticos correspondientes.

Con el fin de evaluar la actividad antibacteriana *in vitro* del aceite esencial de *Cymbopogon citratus* “hierba luisa” frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, se empleará el análisis de varianza usando la prueba T cuyo nivel de significancia en utilizar es de 0,05. Los resultados fueron procesados en el Software estadístico SPSS v.27.

Capítulo IV: Resultados

En el presente capítulo se plasmaron los resultados obtenidos en el trabajo de investigación titulado “Actividad antibacteriana *in vitro* del aceite esencial de *Cymbopogon citratus* “hierba luisa” frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, en donde se dio respuesta a los objetivos, permitiéndonos formular las discusiones, conclusiones y recomendaciones correspondientes.

Tabla 5

Actividad antibacteriana in vitro del aceite esencial de Cymbopogon citratus “hierba luisa” frente a Staphylococcus aureus ATCC 6538, por método de disco difusión.

Tratamientos	Aceite esencial		Repeticiones								PROMEDIO (mm)
	Volumen	Concentración	Halo de inhibición (mm)								
	(µl)	(mg)	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	
T-1	2,5	2,116	16,47	16,58	17,23	17,46	17	16,49	16,58	15,35	16,65
T-2	5	4,231	24,09	24,44	23,19	22,98	22,77	24,67	23,92	23,4	23,68
T-3	10	8,462	24,73	24,95	24,65	24,52	24,48	26,24	25,84	24,89	25,04
T-4	15	12,924	27,94	28,18	27,73	29,96	29,64	30,71	29,22	28,88	29,03
T-5	20	16,924	28,78	31,01	30,8	30,94	31,3	31,25	32,88	32,9	31,23
T-6	25	21,155	35,15	35,35	35,88	37,17	37,06	37,74	37,26	37,33	36,62
T-7	30	25,386	42,7	42	41,71	41,34	41,75	42,32	42,5	39,26	41.69
Control (-)			< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6

Fuente: Elaboración propia.

Interpretación

En la tabla 5, se muestra los promedios de los halos de inhibición frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 65238 a diferentes volúmenes de aceite esencial de *Cymbopogon citratus*, efectuado por el método de difusión de disco.

Los resultados demostraron un mayor halo de inhibición a un volumen de 2,5 µl cuya concentración corresponde a 2,116 mg/ml de aceite esencial obtuvo un halo de 16,645 mm a comparación con el volumen de 30 µl correspondiente a una concentración de 25,386 mg/ml generando un halo promedio de 41,69 mm. Demostrándose que conforme se aumenta el volumen de aceite esencial de *Cymbopogon citratus* obtuvo un mayor halo de inhibición.

Para conocer el comportamiento de los datos obtenidos y poder determinar si usaremos una prueba estadística paramétrica o no paramétrica se realizará una prueba de normalidad.

Tabla 6

Prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov y Shapiro-Wilk.

Prueba de normalidad						
	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Diámetro del halo de inhibición con 2,5 µl de aceite	0,267	8	00096	0,898	8	0,279
Diámetro del halo de inhibición con 5 µl de aceite	0,157	8	0,200*	0,946	8	0,668
Diámetro del halo de inhibición con 10 µl de aceite	0,304	8	0,029	0,810	8	0,037
Diámetro del halo de inhibición con 15 µl de aceite	0,167	8	0,200*	0,956	8	0,774
Diámetro del halo de inhibición con 20 µl de aceite	0,245	8	0,174	0,880	8	0,188
Diámetro del halo de inhibición con 25 µl de aceite	0,296	8	0,038	0,853	8	0,103
Diámetro del halo de inhibición con 30 µl de aceite	0,255	8	0,136	0,805	8	0,032
*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.						
a. Corrección de significación de Lilliefors						

Fuente: SPSS versión 27.0

Interpretación

El valor de P para los diámetros de inhibición producidos con el aceite esencia a concentraciones de 2,5µl; 5µl; 15µl; 20µl y 25 µl todos ellos son mayores a 0,05, lo que quiere decir que estos valores presentan una distribución normal, se le aplicara un estadístico paramétrico y con respecto a los valores P obtenidos con el aceite esencial con 10µl y 30µl sus valores son menores de 0,05, por lo que para ellos se aplicara un estadístico no paramétrico.

Tabla 7

Clasificación según diámetro de halo de inhibición

Diámetro del Halo de Inhibición (mm)	Grado de Sensibilidad	Efecto Antibacteriano
≤ 8 mm	Nula / Resistencia	No Efectivo. El aceite no tiene una acción significativa contra la bacteria. (Generalmente se toma como el tamaño del disco/pozo sin actividad).
> 8 mm hasta ≤ 14 mm	Sensible (+)	Efecto Moderado. El aceite inhibe el crecimiento de la bacteria, indicando una actividad aceptable.
> 14 mm hasta ≤ 20 mm	Muy Sensible (++)	Buen Efecto (Potente). El aceite tiene una actividad antibacteriana fuerte y clara.
> 20 mm	Sumamente Sensible (+++)	Efecto Excelente (Muy Potente). El aceite muestra una actividad inhibidora muy amplia contra la bacteria.

Planteamiento de la hipótesis

$H_0: \mu \leq 14\text{mm}; P > 0,05$ (el aceite esencial de *Cymbopogon citratus* “hierba luisa” presenta un efecto que puede ir desde moderado a nulo)

$H_1: \mu > 14\text{mm}; P < 0,05$ (el aceite esencial de *Cymbopogon citratus* “hierba luisa” presenta un buen efecto, ósea una actividad antibacteriana fuerte y clara)

Prueba paramétrica

Tabla 8

Estadística para una sola muestra

Estadísticas para una muestra				
	N	Media	Desv. Desviación	Desv. Error promedio
Diámetro del halo de inhibición con 2,5 µl de aceite	8	16,6450	0,64060	0,22649
Diámetro del halo de inhibición con 5 µl de aceite	8	23,6825	0,69897	0,24712
Diámetro del halo de inhibición con 15 µl de aceite	8	29,0325	105,007	0,37126
Diámetro del halo de inhibición con 20 µl de aceite	8	31,2325	130,036	0,45975
Diámetro del halo de inhibición con 25 µl de aceite	8	36,6175	0,99897	0,35319

Fuente: SPSS versión 27.0

Tabla 9*Prueba de t para una sola muestra*

Prueba t para una muestra						
Valor de prueba = 14						
	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	95% de intervalo de confianza de la diferencia	
					Inferior	Superior
Diámetro del halo de inhibición con 2,5 µl de aceite	11,678	7	0,000	2,64500	2,1094	3,1806
Diámetro del halo de inhibición con 5 µl de aceite	39,181	7	0,000	9,68250	9,0981	10,2669
Diámetro del halo de inhibición con 15 µl de aceite	40,491	7	0,000	15,03250	14,1546	15,9104
Diámetro del halo de inhibición con 20 µl de aceite	37,483	7	0,000	17,23250	16,1454	18,3196
Diámetro del halo de inhibición con 25 µl de aceite	64,038	7	0,000	22,61750	21,7823	23,4527

Fuente: SPSS versión 27.0

Interpretación

En la tabla 9, al haberse obtenido un valor de $P < 0,05$, con las diferentes concentraciones (2,5µl, 5µl, 15µl, 20µl y 25µl) del aceite esencial de *Cymbopogon citratus* “hierba luisa” entonces se acepta la hipótesis alternativa, lo que quiere decir que los diámetros de los halos de inhibición demuestran una actividad antibacteriana fuerte y clara frente a *Staphylococcus aureus*, por lo que se concluye que del aceite esencial de *Cymbopogon citratus* “hierba luisa” inhibe el desarrollo de *Staphylococcus aureus*.

Prueba no paramétrica

Tabla 10:

Contraste de hipótesis para volúmenes de 10 µl y 30 µl de aceite esencial de Cymbopogon citratus

Resumen de contrastes de hipótesis			
Hipótesis nula	Prueba	Sig.	Decisión
La mediana de DIAM10 es igual a 14.	Prueba de rangos con signo de Wilcoxon para una muestra	0,012	Rechace la hipótesis nula.
La mediana de DIAM30 es igual a 14.	Prueba de rangos con signo de Wilcoxon para una muestra	0,012	Rechace la hipótesis nula.
Se muestran significaciones asintóticas. El nivel de significación es de 0,050.			
Fuente: SPSS versión 27.0			

Interpretación

Las concentraciones del aceite esencial con 10 y 30µl mostraron valores de significancia (0,012) que son menores al nivel de significación establecido ($\alpha = 0,05$), por lo que se rechaza la hipótesis nula.

Esto demuestra que el aceite de esencial de *Cymbopogon citratus* “hierba luisa” a las concentraciones de 10µl y 30µl presenta una actividad antibacteriana significativamente superior al umbral de 14 mm. De acuerdo con la escala de sensibilidad, estas concentraciones tienen una actividad fuerte y clara contra *Staphylococcus aureus*.

Tabla 11

Determinación del grado sensibilidad a diferentes concentraciones del aceite esencial de Cymbopogon citratus “hierba luisa” frente a Staphylococcus aureus ATCC 6538, según Duraffourd.

Aceite esencial			Grado de sensibilidad			
N° de Tratamientos	Volumen	Concentración	Nula	Sensible	Muy sensible	Sumamente sensible
	(μ l)	(mg)	$\leq$ a 8 mm	9 - 14 mm	15 - 19 mm	20 a más mm
T-1	2,5	2,116			16,65	
T-2	5	4,231				23,68
T-3	10	8,462				25,04
T-4	15	12,924				29,03
T-5	20	16,924				31,23
T-6	25	21,155				36,62
T-7	30	25,386				41,69

Fuente: Elaboración propia

Interpretación

En la tabla 11, se muestra el grado de sensibilidad de acuerdo con los promedios de inhibición clasificados según la escala de Duraffourd.

Se observa que existen dos volúmenes de aceite esencial de *Cymbopogon citratus* con mayor diámetro de halo de inhibición, en donde se evidencia que los volúmenes de 2,5µl con una concentración de 2,116 mg/ml generó halos de 16,65 mm en promedio clasificándolos en la categoría de muy sensible. Por otro lado, también se evidencio que en volúmenes de 5µl a 30µl los diámetros de los halos de inhibición presentaron un rango de 23,68 mm a 41,69 mm clasificándolos en el grado de sensibilidad de sumamente sensible.

Tabla 12

Concentración Mínima Inhibitoria y Concentración Mínima Bactericida del aceite esencial de Cymbopogon citratus “hierba luisa” frente a Staphylococcus aureus ATCC 6538.

Tratamiento	Concentración (mg/ml)	Turbidez	UFC/Placa	Resultado
T1	0,846	+		
T2	0,988	+		
T3	1,129	+		
T4	1,269	+		
T5	1,411	+		
T6	1,552	+		
T7	1,693	+		
T8	1,834	-	3	CMI
T9	1,975	-	0	CMB
T10	2,116	-	0	
TP	Control positivo	+	Control (+)	
TN	Control negativo		Control (-)	

Fuente: Elaboración propia

Interpretación

En la tabla 12, se observa que la Concentración Mínima Inhibitoria corresponde al tubo N.º 8 y la Concentración Mínima Bactericida corresponde al tubo N.º 9. El aceite esencial inhibe el crecimiento visible de *Staphylococcus aureus* a partir de 1,834 mg/ml, concentración que corresponde a la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI). Asimismo, la eliminación total de bacterias viables (0 UFC) se observa desde 1,975 mg/ml, identificándose esta como la Concentración Mínima Bactericida (CMB). Lo que muestra que el efecto es dosis-dependiente, pasando de bacteriostático (CMI) a bactericida (CMB).

Tabla 13

Actividad antibacteriana in vitro del aceite esencial de Cymbopogon citratus “hierba luisa” frente a Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853, por método de disco difusión.

Tratamientos	Aceite esencial		Repeticiones								PROMEDIO (mm)
	Volumen	Concentración	Halo de inhibición (mm)								
	(µl)	(mg)	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	
T-1	2,5	2,116	8,75	8,55	8,25	7,71	7,51	8,29	8,19	8,12	8,17
T-2	5	4,231	8,8	8,84	8,14	8,55	8,62	8,6	8,99	8,91	8,68
T-3	10	8,462	9,54	9,58	9,61	9,7	9,46	9,36	9,29	9,21	9,49
T-4	15	12,924	9,72	9,95	10,06	10,25	10,41	10,57	10,28	10,21	10,18
T-5	20	16,924	11,47	11,76	12,13	12,06	12	12,15	12,36	11,89	11,98
T-6	25	21,155	15,2	14,97	14,44	15,02	14,72	15,24	15,1	15,03	14,97
T-7	30	25,386	20,11	18,08	18,92	17,58	18,36	18,6	18,86	19,03	18,69
Control (-)			< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6

Fuente: Elaboración propia

Para conocer el comportamiento de los datos obtenidos y poder determinar si usaremos una prueba estadística paramétrica o no paramétrica se realizará una prueba de normalidad.

Tabla 14

Prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov y Shapiro-Wilk.

	Pruebas de normalidad					
	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Diámetro del halo de inhibición con 2,5 µl de aceite	0,200	8	0,200*	0,956	8	0,768
Diámetro del halo de inhibición con 5 µl de aceite	0,188	8	0,200*	0,912	8	0,369
Diámetro del halo de inhibición con 10 µl de aceite	0,163	8	0,200*	0,963	8	0,839
Diámetro del halo de inhibición con 15 µl de aceite	0,168	8	0,200*	0,982	8	0,973
Diámetro del halo de inhibición con 20 µl de aceite	0,158	8	0,200*	0,964	8	0,843
Diámetro del halo de inhibición con 25 µl de aceite	0,258	8	0,127	0,883	8	0,202
Diámetro del halo de inhibición con 30 µl de aceite	0,201	8	0,200*	0,960	8	0,814

*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

a. Corrección de significación de Lilliefors

Fuente: SPSS versión 27.0

Interpretación

En la tabla 14, los valores de los diámetros de los halos de inhibición de *Pseudomonas aeruginosa* cuando se empleó el aceite esencial de *Cymbopogon citratus* “hierba luisa” a diferentes concentraciones, presentan una distribución normal ya que los valores de P son mayores a 0,05; lo que nos indica que debemos aplicar una estadística paramétrica.

Tabla 15

Clasificación según diámetro de halo de inhibición.

Diámetro del Halo de Inhibición (mm)	Grado de Sensibilidad	Efecto Antibacteriano
≤ 8 mm	Nula / Resistencia	No Efectivo. El aceite no tiene una acción significativa contra la bacteria. (Generalmente se toma como el tamaño del disco/pozo sin actividad).
> 8 mm hasta ≤ 14 mm	Sensible (+)	Efecto Moderado. El aceite inhibe el crecimiento de la bacteria, indicando una actividad aceptable.
> 14 mm hasta ≤ 20 mm	Muy Sensible (++)	Buen Efecto (Potente). El aceite tiene una actividad antibacteriana fuerte y clara.
> 20 mm	Sumamente Sensible (+++)	Efecto Excelente (Muy Potente). El aceite muestra una actividad inhibidora muy amplia contra la bacteria.

Planteamiento de la hipótesis

$H_0: \mu \leq 14\text{mm}; P > 0,05$ (el aceite esencial de *Cymbopogon citratus* “hierba luisa” presenta un efecto que puede ir desde moderado a nulo)

$H_i: \mu > 14\text{mm}; P < 0,05$ (el aceite esencial de *Cymbopogon citratus* “hierba luisa” presenta un buen efecto, ósea una actividad antibacteriana fuerte y clara).

Tabla 16

Estadística para una muestra

Estadísticas para una muestra				
	N	Media	Desv. Desviación	Desv. Error promedio
Diámetro del halo de inhibición con 2,5 µl de aceite	8	8,1712	0,40562	0,14341
Diámetro del halo de inhibición con 5 µl de aceite	8	8,6813	0,26925	0,09520
Diámetro del halo de inhibición con 10 µl de aceite	8	9,4688	0,16974	0,06001
Diámetro del halo de inhibición con 15 µl de aceite	8	10,1812	0,26718	0,09446
Diámetro del halo de inhibición con 20 µl de aceite	8	11,9775	0,27233	0,09628
Diámetro del halo de inhibición con 25 µl de aceite	8	14,9650	0,26511	0,09373
Diámetro del halo de inhibición con 30 µl de aceite	8	18,6925	0,74976	0,26508

Fuente: SPSS versión 27.0

Tabla 17*Prueba t para una muestra*

Prueba t para una muestra									
Valor de prueba = 14									
				t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	95% de intervalo de confianza de la diferencia	
								Inferior	Superior
Diámetro de inhibición aceite	del con	halo 2,5 µl	de	-40,645	7	0,000	-5,82875	-6,1679	-5,4896
Diámetro de inhibición aceite	del con	halo 5 µl	de	-55,872	7	0,000	-5,31875	-5,5439	-5,0936
Diámetro de inhibición aceite	del con	halo 10 µl	de	-75,504	7	0,000	-4,53125	-4,6732	-4,3893
Diámetro de inhibición aceite	del con	halo 15 µl	de	-40,426	7	0,000	-3,81875	-4,0421	-3,5954
Diámetro de inhibición aceite	del con	halo 20 µl	de	-21,006	7	0,000	-2,02250	-2,2502	-1,7948
Diámetro de inhibición aceite	del con	halo 25 µl	de	10,295	7	0,000	0,96500	0,7434	1,1866
Diámetro de inhibición aceite	del con	halo 30 µl	de	17,702	7	0,000	4,69250	4,0657	5,3193

Fuente: SPSS versión 27.0

Interpretación

En la tabla 17, al haberse obtenido un valor de $P < 0,05$, con las diferentes concentraciones del aceite esencial de *Cymbopogon citratus* “hierba luisa” entonces se acepta la hipótesis alternativa, lo que quiere decir que los diámetros de los halos de inhibición demuestran una actividad antibacteriana fuerte y clara frente a *Pseudomonas aeruginosa*, a 25µl y 30µl, concluyéndose que estas concentraciones del aceite esencial de *Cymbopogon citratus* “hierba luisa” inhibe el desarrollo de *Pseudomonas aeruginosa*.

Sin embargo, si observamos de forma específica las concentraciones de aceite con 2,5µl, 5µl, 10µl, 15µl y 20µl si bien mostraron valores de significancia (0,000) inferiores al nivel de α p valor $P = 0.05$. Esto permite rechazar la hipótesis nula (H_0) y aceptar la hipótesis alternativa (H_i), podemos notar que los valores de las diferencias de medias son negativas (-5,82875, -5,31875, -4,53125, -3,81875 y -2,02250). Por lo que se concluye que el rechazo de H_0 no se debe a que la media sea mayor, sino a que es significativamente menor a 14 mm. Entonces, el efecto de estas concentraciones cae claramente en el rango Sensible o efecto moderado.

Tabla 18

Determinación del grado sensibilidad a diferentes concentraciones del aceite esencial de Cymbopogon citratus “hierba luisa” frente a Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853, según Duraffourd.

Aceite esencial			Grado de sensibilidad			
N° de Tratamientos	Volumen	Concentración	Nula	Sensible	Muy sensible	Sumamente sensible
	(µl)	(mg)	≤ a 8 mm	9 - 14 mm	15 - 19 mm	20 a más mm
T-1	2,5	2,116	8,17			
T-2	5	4,231	8,68			
T-3	10	8,462		9,49		
T-4	15	12,924		10,18		
T-5	20	16,924		11,98		
T-6	25	21,155		14,97		
T-7	30	25,386			18,69	

Fuente: Elaboración propia

Interpretación

En la tabla 18, se muestra el grado de sensibilidad de acuerdo con los promedios de inhibición clasificados según la escala de Duraffourd.

Se observa que existen dos volúmenes de aceite esencial de *Cymbopogon citratus* con mayor diámetro de halo de inhibición, en donde se evidencia que el volumen de 25µl de aceite esencial con una concentración de 21,155 mg/ml generó halos de 14,97 mm en promedio clasificándolos en el grado de sensible y el volumen de 30ul cuya concentración es 25,326 mg/ml generó halo de inhibición promedio de 18,69 mm. Por otro lado, los volúmenes de 2,5µl y 5µl presentaron halos de inhibición de 8,17 mm y 8,68125 mm clasificando en el rango de sensibilidad nulo.

Tabla 19

Concentración Mínima Inhibitoria y Concentración Mínima Bactericida del aceite esencial de Cymbopogon citratus “hierba luisa” frente a Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853.

Tratamiento	Concentración (mg/ml)	Turbidez	UFC/Placa	Resultado
T1	16,924	+		
T2	17,864	+		
T3	18,804	+		
T4	19,745	+		
T5	20,685	-	0	CMI y CMB
T6	21,625	-	0	
T7	22,565	-	0	
T8	23,505	-		
T9	24,446	-		
T10	25,386	-		
TP	Control positivo	+	Control (+)	
TN	Control negativo	-	Control (-)	

Fuente: Elaboración propia

Interpretación

En la tabla 19, se demuestra que la Concentración Mínima Inhibitoria y Concentración Mínima Bactericida para *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 coinciden el tubo N.º 5. Así mismo, la CMI y la CMB coinciden en una concentración de 20,685 mg/ml, lo que indica que a esta concentración el aceite ejerce un efecto bactericida directo, además la ausencia de crecimiento en concentraciones superiores confirma la estabilidad del efecto bactericida. Esta menor susceptibilidad es coherente con la naturaleza Gram negativa, su membrana externa y sistemas de flujo.

Comparar la actividad antibacteriana *in vitro* del aceite esencial de *Cymbopogon citratus* “hierba luisa” frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Planteamiento de hipótesis

H0: $\mu_{\text{Saureus}} = \mu_{\text{Pseudomonas}}$; $P > 0,05$

Hi: $\mu_{\text{Saureus}} \neq \mu_{\text{Pseudomonas}}$; $P < 0,05$

Tabla 20

Prueba de estadística de grupo para comparación de efecto antibacteriano de Cymbopogon citratus

Estadísticas de grupo				
ESPEBACT		N	Media	Desv. Desviación
Diámetros de halos de inhibición	<i>Staphylococcus aureus</i>	56	29,1350	7,87383
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	56	11,7339	3,60580

Fuente: SPSS versión 27.0

Tabla 21

Prueba de muestras independientes

Prueba de muestras independientes										
		Prueba de Levene de igualdad de varianzas				prueba t para la igualdad de medias				
		F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Diferencia de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia	
									Inferior	Superior
Diámetros de halos de inhibición	Se asumen varianzas iguales	28,347	0,000	15,036	110	0,000	17,40107	115,727	15,10764	19,69450
	No se asumen varianzas iguales			15,036	77,097	0,000	17,40107	115,727	15,09670	19,70544

Fuente: SPSS versión 27.0

Interpretación

En la tabla 21, se determina que la hipótesis nula se rechaza y se acepta la hipótesis alternativa, afirmando que existe una diferencia estadística significativa entre *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*. Se concluye que la actividad antibacteriana presenta mayor efecto capacidad inhibitoria frente a *Staphylococcus aureus* que frente a *Pseudomonas aeruginosa*.

Capítulo V: Discusión

La presente investigación tuvo como objetivo evaluar la actividad antibacteriana *in vitro* del aceite esencial de *Cymbopogon citratus* “hierba luisa” frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, con un total de 56 repeticiones para los 7 tratamientos empleados por especie bacteriana, cuyos tratamientos corresponden a 2,5 µl, 5 µl, 10 µl, 15 µl, 20 µl, 25 µl y 30 µl.

En el proceso de extracción del aceite esencial de *Cymbopogon citratus* “hierba luisa” obtenido por el método de arrastre por vapor, el rendimiento obtenido fue de 0,417% y cuya densidad es de 846,2 mg/ ml, estos resultados se contrastan con los obtenidos por Blanco *et al* (2019), quienes obtuvieron un rendimiento de aceite esencial de *Cymbopogon citratus* de 0.38%.

El estudio de composición de compuestos orgánicos volátiles obtenidos por el método de cromatografía de gases GC-MSD se obtuvieron un 70 % de compuestos orgánicos volátiles de acuerdo a la base de datos espectrales de National Institute of Standards and Technology Versión 11. El compuesto encontrado en mayor porcentaje de contenido relativo es el Alpha citral, cis citral y beta-mirceno. Estos resultados difieren a lo obtenido por Acero *et al* (2020), en su estudio de realizaron el análisis del aceite esencial de *Cymbopogon citratus* por cromatógrafo de gases Shimatzu GC2010 en donde se encontraron un total de 36 compuestos de acuerdo a la base de datos de NIST08, Wile9L, Pherobase y en Adam. El compuesto mayormente encontrado expresado en porcentaje fue de geranial, geraniol y felandreno.

La actividad antibacteriana generada por *Cymbopogon citratus* “hierba luisa” frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, se demostró, que, al concluir el tiempo de incubación de 24 horas de la especie bacteriana, se obtuvieron halos de inhibición cuyos diámetros correspondían a 16,645 mm para 2,5 µl (2,1156 mg/ml), este halo fue incrementando progresivamente hasta el tratamiento 7 en donde se obtuvo un halo de inhibición de 41,6975 mm para un volumen de 30 µl (25,386 mg/ml), esto nos permite inducir que el efecto generado por el aceite esencial de *Cymbopogon citratus* en relación a volumen a agregarse es directamente proporcional al tamaño del halo. En el estudio realizado por Revelo (2023), en donde se evaluó el efecto generado por el aceite esencial de *Cymbopogon citratus* obtenidos del oriente y la costa de Ecuador, en donde se emplearon 25%, 50%, 75% y 100% del aceite esencial sobre *Candida albicans*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* y *Porphyromonas gingivalis*, se obtuvieron halos de inhibición entre 6,80 mm a 19,00 mm. Del mismo modo en el estudio realizado por Mendoza (2021), determinó la actividad antibacteriana de *Cymbopogon citratus* frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, se emplearon diluciones de 25%, 50%, 75% y 100% de aceite esencial, con ello se obtuvieron halos de inhibición 20,4 mm al 50%, 36,7 mm al 75% y 37,1 al 100%. Es necesario mencionar que la composición química de los aceites esenciales de *Cymbopogon citratus* pueden variar según las condiciones climáticas, el suelo y su ubicación geográfica.

En la tabla 12 se establece la Concentración Mínima Inhibitoria y Concentración Mínima Bactericida por el aceite esencial de *Cymbopogon citratus* frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 es de 1,834 mg/ml para CMI y 1,975 mg/ml para CMB, estos resultados concuerdan con los obtenidos por Irfan *et al* (2010) en donde se evalúa la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Cymbopogon citratus* frente a 5 cepas bacterianas patógenas dentro de ellas sobre *Staphylococcus aureus* en el cual se determinó el CMI inicial de 0,03%,

CMI final de 0,06 y CMB de 0,06%. Esto demuestra que el efecto causado por el aceite esencial de *Cymbopogon citratus* es muy significativo sobre bacterias Gram positivas.

En la table 13 se puede observar que la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Cymbopogon citratus* frente a *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, se obtuvo un halo de 8,17 mm (2,5 µl) alcanzando los 18,69 mm (30 µl), esto coincide con En el estudio: Análisis fitoquímico y actividad antimicrobiana del aceite esencial y del hidrolato de *Cymbopogon citratus* frente a *Candida albicans*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*, realizado por Arde et al (2025), evaluó el efecto generado por el aceite esencial para *Escherichia coli* según la clasificación de Duraffourd y Lapraz se encuentra como muy sensible, para el caso de *Pseudomonas aeruginosa* cuyos halos de inhibición se encuentra clasificados como sensibles y para *Candida albicans* el efecto del aceite esencial fue suficiente para inhibir el crecimiento total para cada tratamiento.

En la tabla 19 se establece que la Concentración Mínima Inhibitoria y Concentración Mínima Bactericida determinado por el aceite esencial de *Cymbopogon citratus* frente a *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 es de 20,685 mg/ml correspondiente al tubo 5, a comparación del estudio realizado por Ajjolakewu et al (2021), quien evaluó la eficacia antibacteriana frente a 5 especies bacterianas de interés clínico mediante extracto acuoso y etanólico de *cymbopogon citratus*, en sus resultado señala que la CMI y CMB para *Pseudomonas aeruginosa* en extracto acuoso es de 12,5 mg/ml y para el extracto etanólico no hubo efecto inhibitorio ni bactericida. Esto demuestra que el efecto causado por el aceite esencial de *Cymbopogon citratus* no es muy significativo sobre bacterias Gram negativas.

Capítulo VI: Conclusión

PRIMERA: El aceite esencial de *Cymbopogon citratus* “hierba luisa” frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 generó halos de inhibición entre 16,65 mm a 41,69 mm, determinando que la concentración de 25,386 mg/ml correspondiente a un volumen de 30 µl generó halos de mayor diámetro los cuales según las pautas de Duraffourd corresponde a “sumamente sensible”.

SEGUNDA: El aceite esencial de *Cymbopogon citratus* “hierba luisa” frente a *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 generó halos de inhibición entre 8,17 mm a 41,69 mm, determinando que la concentración de 35,386 mg/ml correspondiente a un volumen de 30 µl generó halos de mayor diámetro los cuales según las pautas de Duraffourd corresponde a “muy sensible”.

TERCERA: Se determinó la Concentración Mínima Inhibitoria de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 frente al aceite esencial de *Cymbopogon citratus* “hierba luisa” por el método de difusión en medio líquido, se obtuvo al 99,9% para *Staphylococcus aureus* a una concentración de 1,834 mg/ml y para *Pseudomonas aeruginosa* 20,685 mg/ml.

CUARTA: Se determinó la Concentración Mínima Bactericida de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 frente al aceite esencial de *Cymbopogon citratus* “hierba luisa” por el método de difusión en agar, se obtuvo una

disminución bacteriana de *Staphylococcus aureus* a una concentración de 1,975 mg/ml y para *Pseudomonas aeruginosa* 20,685 mg/ml.

QUINTO: La actividad antibacteriana *in vitro* del aceite esencial de *Cymbopogon citratus* “hierba luisa” frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 es más significativo que *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Capítulo VII: Recomendaciones

- Realizar estudios sobre la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Cymbopogon citratus* “hierba luisa” frente a otras bacterias con importancia clínica.
- Comparar la actividad antibacteriana de *Cymbopogon citratus* con otras plantas endémicas de Tacna frente a bacterias y hongos de importancia clínica.
- Se recomienda realizar estudios sobre el efecto generado por el α -citral, β -mirceno y cis-citral en las distintas vías metabólicas de bacterias, parásitos y hongos.

Referencias bibliográfica

- Ahmad, N., Loubet, P., Pouget, C., Duniach, C., Sotto, A., Lavigne, J. & Molle, V. (2021). *Staphylococcus aureus* toxins: an update on their pathogenic Properties and Potential Treatments. *Toxins Review*, 13, 677. <https://www.mdpi.com/2072-6651/13/10/677>
- Ajjolakewu, A., Kazeem, M., Ahmed, R., Zakariyah, R., Agbabiaka, T., Ajide-Bamigboye, N., Ayoola, S., Balogun, O. & Alhassan, S. (2021). Antibacterial Efficacies of Extracts of Lemon Grass (*Cymbopogon citratus*) on some Clinical Microbial Isolates. *Fountain Journal of Natural and Applied Sciences*, 10(1): 17 – 25. https://www.researchgate.net/publication/353728643_Antibacterial_Efficacies_of_Extracts_of_Lemon_Grass_Cymbopogon_citratus_on_Some_Clinical_Microbial_Isolates
- Albarracín, G., & Gallo, S. (2003). Comparación de dos métodos de extracción de aceite esencial utilizando *Piper aduncum* (*cordoncillo*) procedente de la zona cafetera (Tesis de pregrado). Repositorio institucional - Universidad Nacional de Colombia.
- Arde, F., Cumaquela, G., Dique, A., Manjate, A & Xavier, S. (2025). Phytochemical analysis and antimicrobial activity of *Cymbopogon citratus* essential oil and hydrosol against *Candida albicans*, *Escherichia coli*, and *Pseudomonas aeruginosa*. *Research, Society and Development*, v. 14, n.2, e4814248177.
- Balarezo, G. (2018). Plantas medicinales: una farmacia natural para la salud pública medicinal. *Revista PAIDEIA XXI*, 6(7),

159–170.

<https://repositorioacademico.upc.edu.pe/bitstream/handle/10757/624679/Plantamedicinal.pdf?sequence=1>

Cerna, J., Del Toro, M., Palacios, A., Carrasco, K., López, F., Sánchez, K., & Jiménez, A. (2007). Propiedades terapéuticas de *Cymbopogon citratus* (Te de Limón). Revista Temas de Ciencia y Tecnología, 23(68), 47–50. https://www.utm.mx/edi_anteriores/temas68/T68_N01_Propiedades_terapeuticas_de_Cymbopogon.pdf

Collazos, J. (2004). Fertilización nitrogenada y momento de corte de uniformidad de la hierba luisa en suelos ácidos (EX - COCAL) de Tingo María (Tesis de pregrado). Repositorio Institucional - Universidad Nacional Agraria de la Selva, Tingo María.

Deyno, S., Mtewa, A. G., Abebe, A., Hymete, A., Makonnen, E., Bazira, J., & Alele, P. E. (2019). Essential oils as topical anti-infective agents: A systematic review and meta-analysis. Complementary Therapies in Medicine, 47, 102224. <https://doi.org/10.1016/J.CTIM.2019.102224>

Dhifi, W., Bellili, S., Jazi, S., Bahloul, N. & Mniff, Wissem. (2016). Essential Oils Chemical Characterization and Investigation of some Biological Activities: A Critical Review. Medicines, 3(4), 25. <https://www.mdpi.com/2305-6320/3/4/25>

Duraffourd, C., & Lapraz, J. (1983). *Cuadernos de fitoterapia clínica*. Masson. Barcelona.

EUCAST. (2025). Antimicrobial susceptibility testing EUCAST disk difusión method (versión, 13).

https://www.eucast.org/fileadmin/eucast/pdf/disk_test_documents/2025/Manual_v_13.0_EUCAST_Disk_Test_2025.pdf

Flores, R., Villarroel, J. L., & Valenzuela, F. (2021). Enfrentamiento de las infecciones de piel en el adulto. *Revista Médica Clínica Las Condes*, 32(4), 429–441. <https://doi.org/10.1016/j.rmclc.2021.06.004>

Gholami, A., Minai, D., Jalil, S., Sáenz, P. & Eriksson, L. (2023). Structural Insights into *Pseudomonas aeruginosa* Exotoxin A – Elongation Factor 2 Interactions: A Molecular Dynamics Study. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 63, 1578 – 1591. https://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/acs.jcim.3c00064?ref=article_openPDF

Giler, M. (2018). Efecto *in vitro* antimicrobiano del extracto etanólico de la hierba Luisa *Cymbopogon citratus* sobre *Streptococcus mutans* (Tesis de posgrado). Repositorio Institucional - Universidad Regional Autónoma de los Andes, Ecuador.

González-Moreno, B., Piña-Barrera, Andrés., Pérez - López, L., Galindo-Rodríguez, S. & Álvarez - Román, R. (2022). Aceites esenciales de origen natural: características químicas, técnicas de extracción y potencial aplicación biológica. *Revista Biología y Sociedad*, 5(10), 20-30. <https://articles.researchsolutions.com/aceites-esenciales-de-origen-natural-caracter%C3%ADsticas-qu%C3%ADmicas-t%C3%A9cnicas-de-extracci%C3%B3n-y-potencial-aplicaci%C3%B3n-biol%C3%B3gica/doi/10.29105/bys5.10-71>

- Huamán, H., Balcázar, C., Chávez, G. & Auquiñivin, E. (2020). Evaluación de la capacidad antioxidante y actividad antibacteriana del extracto acuoso y etanólico de *Cymbopogon citratus*. Revista de Investigación Científica UNTRM: Ciencias Naturales e Ingeniería, 3(2), 9-15. <http://dx.doi.org/10.25127/ucni.v3i2.608>
- Irfan, M., Ahmad, B., Jaykumar, E. & Ahmad J. (2010). Antibacterial activity of lemongrass (*Cymbopogon citratus*) oil against some selected pathogenic bacteria. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine, 535 – 538. [https://sci-hub.st/10.1016/S1995-7645\(10\)60129-0](https://sci-hub.st/10.1016/S1995-7645(10)60129-0)
- Kroken, A., Gajenthra, N., Yahr, T., Smith, E., Nieto, V., Horneman, H., Evans, D. & Fleiszig, S. (2022) Exotoxin S secreted by internalized *Pseudomonas aeruginosa* delays lytic host cell death. PLoS Pathog 18(2): e1010306. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1010306>
- Lock de Ugaz, O. (1994). *Investigación fitoquímica: métodos en el estudio de productos naturales*. In *Investigación fitoquímica: métodos en el estudio de productos naturales*. Pontificia Universidad Católica del Perú. <https://doi.org/10.18800/9788483909522>
- Maravi, G. (2012). Efecto antibacteriano y antifúngico del aceite esencial de *Mentha piperita* (menta), *Origanum vulgare* (orégano) y *Cymbopogon citratus* (hierba luisa) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, *Lactobacillus acidophilus* ATCC 10746 y *Candida albicans* ATCC 90028 (Tesis de pregrado). Repositorio Institucional - Universidad Privada Norbert Wiener, Lima.

- Mohamed, S., Abdel-Rady, I., Ibrahim, D., & Abdelwahad, M. (2023). *Lemongrass (Cymbopogon citratus)* Essential Oil: Health Beneficial Perspective. *European Chemical News*. 12(1), 3422 – 3426. <https://www.researchgate.net/publication/376857629>
- Natalia, T., & Molina, N. B. (2022). Generalidades de Bacteriología Antibióticos: mecanismos de acción y resistencia bacteriana. https://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/136280/Documento_completo.pdf?sequence=1
- Ochoa, S. A., López-Montiel, F., Escalona, G., Cruz-Córdova, A., Dávila, L. B., López-Martínez, B., Jiménez-Tapia, Y., Giono, S., Eslava, C., Hernández-Castro, R., Xicohtencatl-Cortes, J., & Gea González, M. (2013). Características patogénicas de cepas de *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenémicos, asociadas con la formación de biopelículas. *Boletín Medico del Hospital Infantil de Mexico*, 70(2), 138–150. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1665-11462013000200010
- OPS. (2019). Situación de las plantas medicinales en Perú. Informe reunión de expertos en plantas medicinales. https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/50479/OPSP-ER19001_spa.pdf
- Ortiz, N. (2023). Determinación *in vitro* de la actividad antimicrobiana de los extractos elaborados con hierba luisa (*Cymbopogon citratus*) frente a las bacterias *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* (Tesis de pregrado). Repositorio Institucional - Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

- Pasachova, J., Ramírez, S., & Muñoz, L. (2019). *Staphylococcus aureus*: generalidades, mecanismos de patogenicidad y colonización celular. Nova, 17(32), 25–38. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1794-24702019000200025
- Paz, V., Mangwani, S., Martínez, A., Hernández, D., Solano - Gálvez, S., & Vásquez - López, R. (2019). *Pseudomonas aeruginosa*: patogenicidad y resistencia antimicrobiana en la infección urinaria. Revista chilena Infectología, 36(2), 180–189. https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182019000200180
- Pino, J. (2015). *Aceites esenciales: química, bioquímica, producción y usos*. La Habana: Editorial Universitaria.
- Quintos, D. (2019). Efecto antibacteriano del aceite esencial de *Cymbopogon citratus* “hierba luisa” sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 (Tesis de pregrado). Repositorio Institucional - Universidad Señor de Sipán, Pimentel.
- Revelo, G. (2023). Evaluación del aceite de hierba luisa ecuatoriana como inhibidor de algunos patógenos orales. Revista cubana Estomatol, 60(1), e4125. <http://scielo.sld.cu/pdf/est/v60n1/1561-297X-est-60-01-e4125.pdf>
- Souiy, Z. (2023). Essential oil extraction process. IntechOpen. DOI: <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.113311>
- Swebocki, T., Barras, A., Kocot, A., Plotka, M. & Boukherroub, R. (2023). Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and

Minimum Bacterial Concentration (MBC) Assay Using
Broth Microdilution Method. Protocols.io
[https://www.protocols.io/view/minimum-inhibitory-
concentration-mic-and-minimum-b-5qpvo3x6dv4o/v1](https://www.protocols.io/view/minimum-inhibitory-concentration-mic-and-minimum-b-5qpvo3x6dv4o/v1)

Zendejas-Manzo, G., Avalos-Flores, H., & Soto-Padilla, M. (2014).
Microbiología General de *Staphylococcus Aureus*:
Generalidades, patogenicidad y métodos de identificación.
Revista Biomedica, 25, 129–143.
[https://www.medigraphic.com/pdfs/revbio/bio-
2014/bio143d.pdf](https://www.medigraphic.com/pdfs/revbio/bio-2014/bio143d.pdf)

Zygadlo, J. (2011). Aceites Esenciales: Aspectos básicos de su
química y biosíntesis. Composición de los aceites esenciales
de plantas aromáticas argentinas.
<https://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/160088>

Anexos

Figura 01.- Muestra vegetal de *Cymbopogon citratus* “hierba luisa”

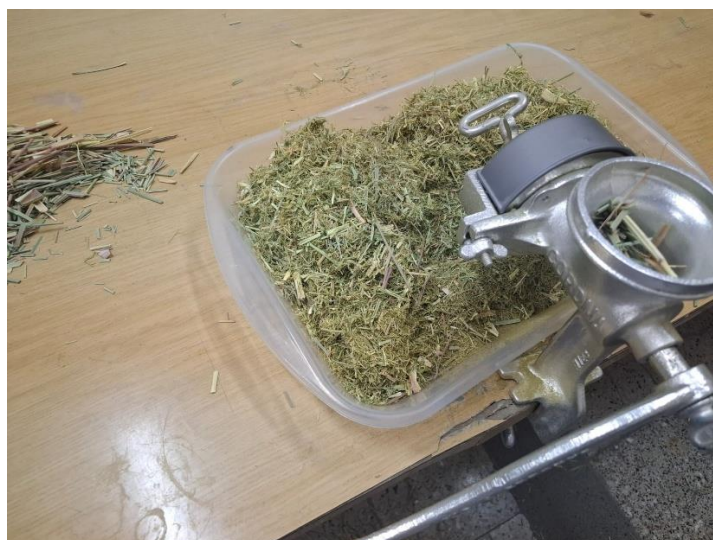


Figura 02.- Extracción de aceite por metodo de arrastre de vapor



Figura 03.- Activación de cepas *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.



Figura 04.- Desnaturalización y desproteinización de discos de sensibilidad



Figura 05.- Estandar 0.5 escala McFarland

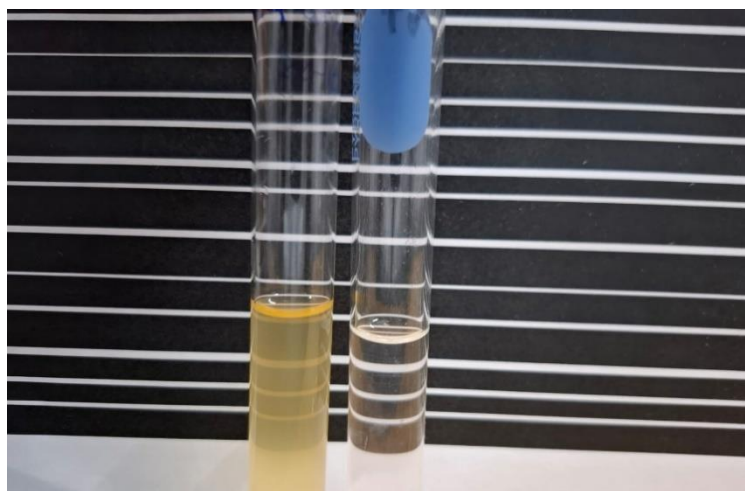


Figura 06.- Distribución de discos de sensibilidad de acuerdo al volumen a suministrarse

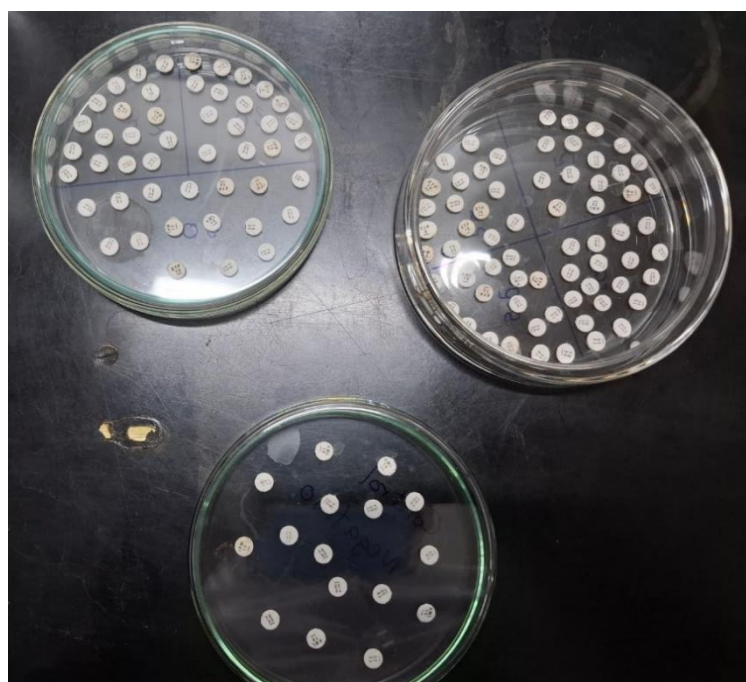


Figura 07.- Administración de aceite esencial de *Cymbopogon citratus* “hierba luisa”



Figura 08.- Distribución por agotamiento de cepas bacteriana en estudio



Figura 09.- Baterías de tubos para determinar Concentración Mínima Inhibitoria para *Pseudomonas aeruginosa*



Figura 10.- Baterías de tubos para determinar Concentración Mínima Inhibitoria para *Staphylococcus aureus*



Figura 11.- Determinación de Concentración Mínima Bactericida en placas para *Staphylococcus aureus*

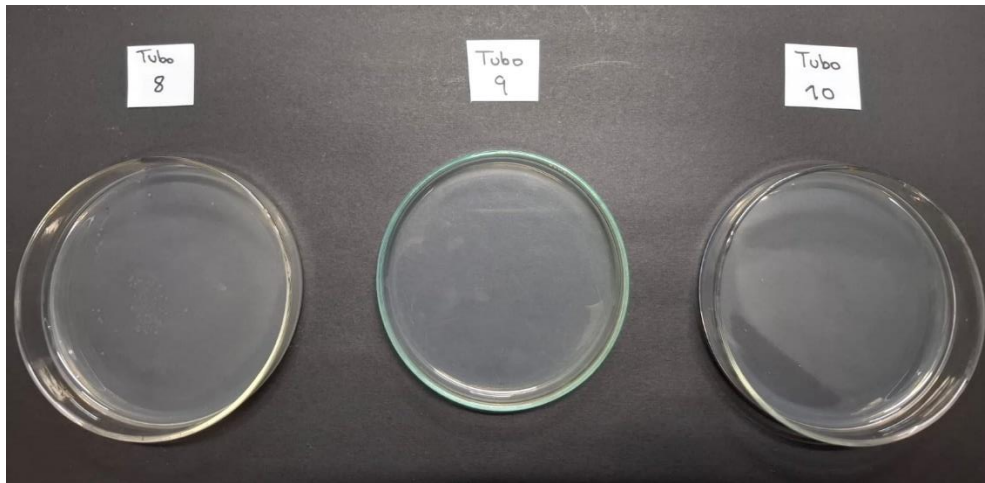
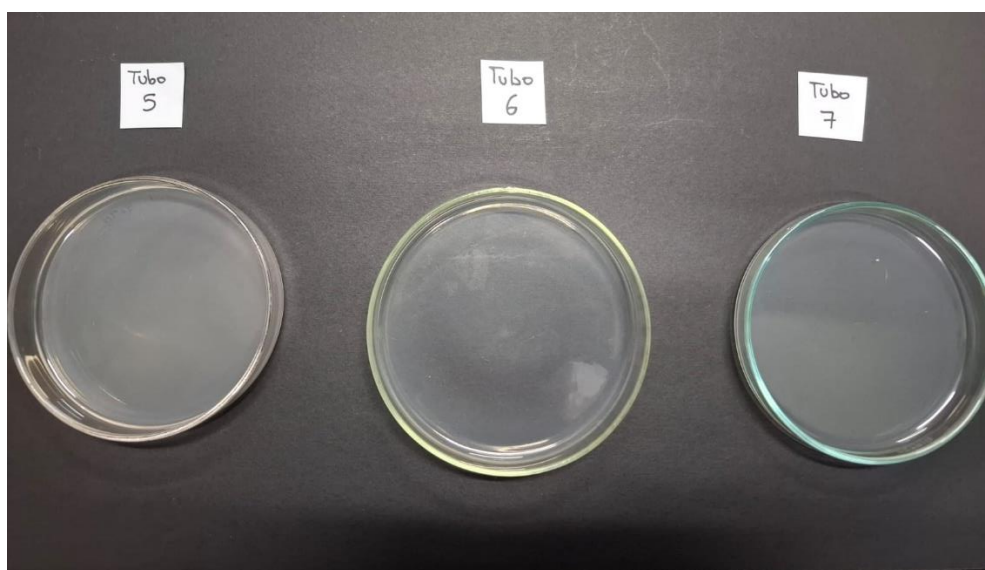


Figura 12.- Determinación de Concentración Mínima Bactericida en placas para *Pseudomonas aeruginosa*



Anexo 1. Cromatografía de gases de aceite esencial de *Cymbopogon citratus*



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO
FACULTAD DE CIENCIAS
 LABORATORIO DE CROMATOGRFIA Y ESPECTROMETRÍA – Pabellón de Control de Calidad
 AV. De la Cultura 733 CUSCO-PERÚ Contacto 973868855

RESULTADOS

Cusco, 18 de Diciembre del 2025 ⁸⁰⁻⁸³²³

Solicitante : Cristhian Anthony Ramos Maquera
 Tipo de Análisis : Perfil de Compuestos orgánicos volátiles
 Método : Cromatografía de Gases GC-MSD
 Tipo de Muestra : Líquido denominado Aceite esencial de Hierba Luisa
 Cantidad de Muestra : 1 frasco de plastico conteniendo 1.0mL aproximadamente
 Almacenamiento : 4 °C.
 Fecha de Ingreso : 02/12/25

Pico	TR	Compuestos orgánicos volátiles (VOC) Librería Nist 11	CAS	Qual	Area	Contenido Relativo %
1	1.64	n-Hexane	000110-54-3	87	25221	0.04
2	6.00	beta-Myrcene	000123-35-3	91	9408008	13.1
3	7.12	trans-beta-Ocimene	003779-61-1	97	549997	0.8
4	7.39	1,3,6-Octatriene, 3,7-dimethyl-, (Z)	003338-55-4	98	275869	0.4
5	8.65	Bicyclo[3.1.0]hexane, 6-methylene-	054211-16-4	83	151002	0.2
6	8.75	p-Cymen-7-ol	000536-60-7	81	109934	0.2
7	10.40	Citronellal	000106-23-0	96	110117	0.2
8	12.79	(R)-(+)-beta-citronellol	001117-61-9	96	690448	1.0
9	13.26	cis-Citral	000106-26-3	96	21307328	29.8
10	13.61	(±)-Lavandulyl Acetate	025905-14-0	78	1561391	2.2
11	14.22	alpha-Citral	000141-27-5	97	28770073	40.2
12	14.71	2-Undecanone	000112-12-9	94	1065461	1.5
13	15.75	Neric acid	004613-38-1	87	74370	0.1
14	16.80	Geranic acid	000459-80-3	91	500537	0.7
15	17.38	Neryl acetate	000141-12-8	72	44426	0.1
16	18.49	Chrysanthenone	000473-06-3	89	33619	0.0
17	18.96	trans-alpha-Bergamotene	013474-59-4	83	56952	0.1
18	20.64	2-Tridecanone	000593-08-8	97	993927	1.4
19	24.15	(E)-beta-ocimeno	005951-61-1	97	157522	0.2
20	26.09	2-Pentadecanone	002345-28-0	87	72824	0.1

Qual = Porcentaje de coincidencia con la base de datos Nist 11

CAS = Numero para identificar la molécula

TR = Tiempo de Retención, tiempo al cual son detectados (ver cromatograma)

Nota: Los resultados expresa en contenido relativo de compuestos orgánicos volátiles en % presentes en la muestra. Se reporta solo la coincidencia del mas del 70% con Base de datos espectrales de National Institute of Standards and Technology versión 11 (NIST v11)

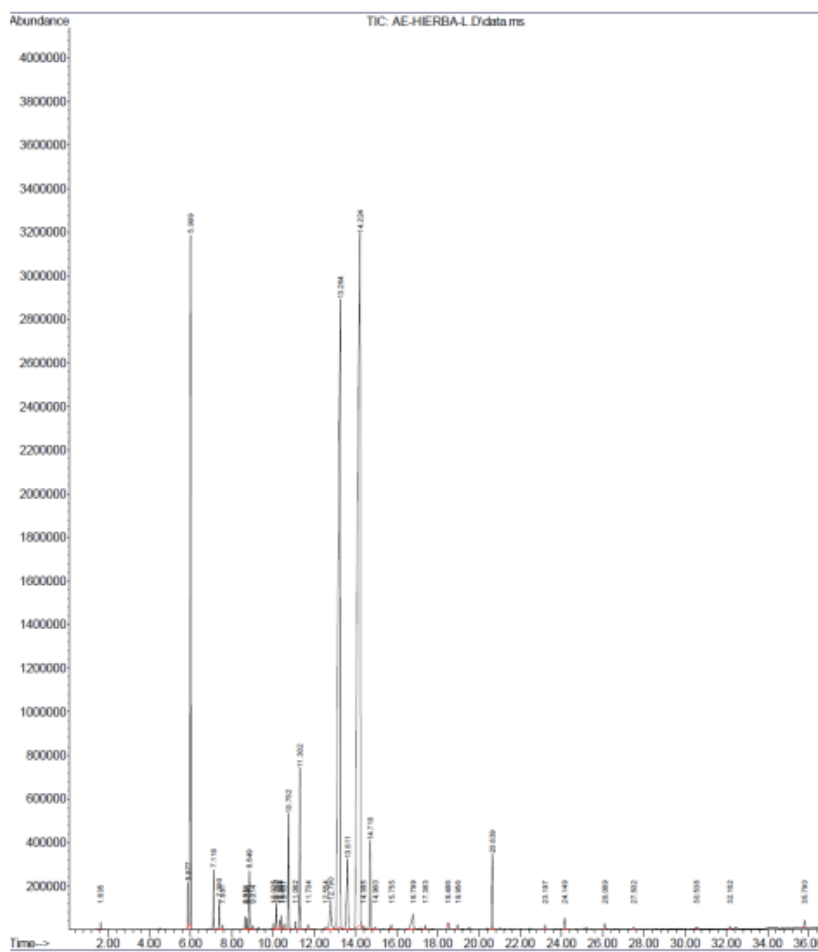



 Quipico, Jorge Choquenaira Pari
 Analista del Laboratorio de Cromatografía y
 Espectrometría – UNSAAC,
 CQP - 914



RESULTADOS

Cromatograma



[Signature]

Químico. Jorge Choquenaira Pari
Analista del Laboratorio de Cromatografía y
Espectrometría - UNSAAC.



RESULTADOS

Condiciones de Análisis para compuestos organicos volatiles

Cromatógrafo: Agilent 6890N
Software de Control: Chemstation B.030
Detector de Masas: Agilent 5975B
Energía de Ionización: 70eV
Modo de Ionización: Impacto Electrónico (IE)
Modo de escaneo de masas: 40 a 400 uma
Retraso del disolvente: 0.0 minutos
Inyector Automático: Agilent 7683B

Columna: Agilent HP-5MS 5% Fenil Metil Siloxano 30m x 0.25id x 0.5um film

Temperatura del Horno

Inicial 60 °C, incremento de 12 °C/minuto hasta 300 °C, 10 min a 300 °C

Puerto de Inyección

Modo : Split (con división)
Relación de Split : 100:1
Temp. Inicial : 200 °C
Tipo de Gas : Helio
Flujo : 1 mL/min
Tiempo de Análisis : 39.78 min
Volumen de Inyección : 0.1 uL
Muestra inyecta : Puro

Referencia

- Pino Alea. J. A. I Curso Internacional Análisis de Aceites Esenciales Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco 2014.
- Lynam, K. 2014 Potential Allergens in Aromatherapy Oils by GC/MS Using an Agilent J&W DB-XLB Capillary Column Agilent Technologies, Inc. 2850 Centerville Road Wilmington, DE 19808 USA 5990-5293EN



Químico. Jorge Chacuenaira Parí
Analista del Laboratorio de Cromatografía y
Espectrometría – UNSAAC.
CQP - 914

CONSTANCIA DE IDENTIFICACION TAXONOMICA

Yo Dr. Pablo Juan Franco León Docente de la Facultad de Ciencias, de la Cátedra de Botánica de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann, dejo constancia que:

La muestra alcanzada al laboratorio de Botánica por **Bach. Cristhian Anthony Ramos Maquera**, identificado con DNI N°: 71205346, egresado de la Facultad de Ciencias, de la Escuela Profesional de Biología – Microbiología de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann de Tacna, cuya determinación taxonómica servirá para la realización del proyecto de Tesis: "**Actividad antibacteriana in vitro del aceite esencial de *Cymbopogon citratus* 'Hierba Luisa' frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853**", ha sido estudiada y clasificada como: *Cymbopogon citratus* y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).

DIVISIÓN MAGNOLIOPHYTA

CLASE LILIOPSIDA

ORDEN POALES

FAMILIA POACEAE

GÉNERO *Cymbopogon*

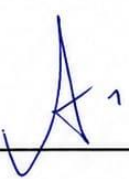
ESPECIE *Cymbopogon citratus*

Nombre vulgar: Hierba luisa.

Se expide la presente Constancia a solicitud de la parte interesada para los fines que hubiera lugar.

Tacna, 15 de mayo del 2026

Blgo. Pablo Juan Franco León
C.B.P. 2097



Dra. Angela Choque Miranda

Asesor



Bch. Cristhian Ramos Maquera

Tesista