



**UNIVERSIDAD NACIONAL
TORIBIO RODRÍGUEZ DE MENDOZA DE AMAZONAS**

**FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL**

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
INGENIERO AGROINDUSTRIAL**

**EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y
ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO
ACUOSO Y ETANÓLICO DE HIERBA LUISA
(*Cymbopogon citratus*), BONGARÁ, REGIÓN AMAZONAS.**

Autor:

Bach. Henner Huamán Culqui

Asesor:

Ing. César Rafael Balcázar Zumaeta

Coasesores:

Mg. Erick Aldo Auquiñivin Silva

Ms. Segundo Grimaldo Chávez Quintana

CHACHAPOYAS – PERÚ

2019



**UNIVERSIDAD NACIONAL
TORIBIO RODRÍGUEZ DE MENDOZA DE AMAZONAS**

**FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL**

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
INGENIERO AGROINDUSTRIAL**

**EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y
ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO
ACUOSO Y ETANÓLICO DE HIERBA LUISA
(*Cymbopogon citratus*), BONGARÁ, REGIÓN AMAZONAS.**

Autor:

Bach. Henner Huamán Culqui

Asesor:

Ing. César Rafael Balcázar Zumaeta

Coasesores:

Mg. Erick Aldo Auquiñivin Silva

Ms. Segundo Grimaldo Chávez Quintana

CHACHAPOYAS – PERÚ

2019

DEDICATORIA

El presente trabajo está dedicado con todo mi amor y cariño a mis padres Florentino y Matiaza por su apoyo incondicional y las palabras de aliento y de amor que tuvieron siempre hacia mí, por siempre impulsarme y ayudarme a continuar en mi vida tanto personal como profesional.

A mi pareja Sairita y mi hija Allinson Nicole por su comprensión, ternura, afecto y aliento ofrecido, para la culminación de este proyecto.

Henner Huamán Culqui

AGRADECIMIENTOS

Primero darle gracias a Dios ya que sin el nada sería posible y por las alegrías que derrama en mi vida.

Al Ing. César Rafael Balcázar Zumaeta, asesor del trabajo de investigación, por sus valiosa colaboración académica y experimental a lo largo del desarrollo del presente trabajo.

Al docente coasesor Ms. Segundo Grimaldo Chávez Quintana por su guía, confianza y enseñanza que ha hecho posible la realización del presente trabajo de investigación. Y al coasesor Mg. Erick Aldo Auquiñivin Silva, por sus conocimientos, orientación y paciencia.

Al Proyecto SNIP N° 381743 – PROALIMENTOS, por hacer posible la obtención de espacios y equipos necesarios para la realización de las pruebas de laboratorio.

A la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas, en especial a la Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias por contribuir en mi formación académica, el conocimiento y dedicación; el mismo que fue bien captado y gracias por estar comprometidos con la formación de nuevos profesionales.

AUTORIDADES UNIVERSITARIAS

Dr. Policarpio Chauca Valqui

Rector

Dr. Miguel Ángel Barrena Gurbillón

Vicerrector Académico

Dra. Flor de Teresa García Huamán

Vicerrectora de Investigación

Mg. Erick Aldo Auquiñivín Silva

Decano de la Facultad de

Ingeniería y Ciencias Agrarias

VISTO BUENO DEL ASESOR DE TESIS

El Docente de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas que suscribe, hace constar que ha asesorado la realización de la tesis titulada **Evaluación de la capacidad antioxidante y actividad antibacteriana del extracto acuoso y etanólico de Hierba Luisa (*Cymbopogon citratus*), Bongará, región Amazonas**; del Bachiller de la Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias, egresado de la Escuela Académico Profesional de Ingeniería Agroindustrial:

✓ **Bach. Henner Huamán Culqui**

El suscrito da el visto bueno al informe de la tesis mencionada, dándole pase para que sea sometida a la revisión por el Jurado Evaluador, manifestando su voluntad de apoyar al tesista en el levantamiento de observaciones y en el acto de sustentación de tesis.

Chachapoyas, 05 de setiembre de 2019



Ing. César Rafael Balcázar Zumaeta
Docente UNTRM
Ingeniero Agroindustrial
CIP N° 208301

VISTO BUENO DEL COASESOR DE TESIS

El Docente de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas que suscribe, hace constar que ha asesorado la realización de la tesis titulada **Evaluación de la capacidad antioxidante y actividad antibacteriana del extracto acuoso y etanólico de Hierba Luisa (*Cymbopogon citratus*), Bongará, región Amazonas**; del Bachiller de la Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias, egresado de la Escuela Académico Profesional de Ingeniería Agroindustrial:

✓ **Bach. Henner Huamán Culqui**

El suscrito da el visto bueno al informe de la tesis mencionada, dándole pase para que sea sometida a la revisión por el Jurado Evaluador, manifestando su voluntad de apoyar al tesista en el levantamiento de observaciones y en el acto de sustentación de tesis.

Chachapoyas, 05 de setiembre de 2019



Mg. Erick Aldo Auquiñivin Silva
Docente asociado de la UNTRM


VISTO BUENO DEL COASESOR DE TESIS

El Docente de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas que suscribe, hace constar que ha asesorado la realización de la tesis titulada **Evaluación de la capacidad antioxidante y actividad antibacteriana del extracto acuoso y etanólico de Hierba Luisa (*Cymbopogon citratus*), Bongará, región Amazonas**; del Bachiller de la Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias, egresado de la Escuela Académico Profesional de Ingeniería Agroindustrial:

✓ **Bach. Henner Huamán Culqui**

El suscrito da el visto bueno al informe de la tesis mencionada, dándole pase para que sea sometida a la revisión por el Jurado Evaluador, manifestando su voluntad de apoyar al tesista en el levantamiento de observaciones y en el acto de sustentación de tesis.

Chachapoyas, 05 de setiembre de 2019



Ms. Segundo Grimaldo Chávez Quintana
Docente de la UNTRM

JURADO EVALUADOR



Ms. Sc. Armstrong Barnard Fernández Jerí

Presidente



Ms. Efrain Manuelito Castro Alayo

Secretario



Ing. Guillermo Idrogo Vásquez

Vocal



ANEXO 3-K

DECLARACIÓN JURADA DE NO PLAGIO DE TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL

Yo HENNER HUAMAN CULQUI
identificado con DNI N° 46694803 Estudiante()/Egresado (X) de la Escuela Profesional de
INGENIERIA AGROINDUSTRIAL de la Facultad de:
INGENIERIA Y CIENCIAS AGRARIAS
de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas.

DECLARO BAJO JURAMENTO QUE:

1. Soy autor de la Tesis titulada: EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE
Y ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO
ALUOSO Y ETANÓLICO DE HIERBA LUISA (Cymbopogon
citratu), BONGARA', REGIÓN AMAZONAS.
que presento para
obtener el Título Profesional de: INGENIERO AGROINDUSTRIAL

2. La Tesis no ha sido plagiada ni total ni parcialmente, y para su realización se han respetado las normas internacionales de citas y referencias para las fuentes consultadas.
3. La Tesis presentada no atenta contra derechos de terceros.
4. La Tesis presentada no ha sido publicada ni presentada anteriormente para obtener algún grado académico previo o título profesional.
5. La información presentada es real y no ha sido falsificada, ni duplicada, ni copiada.

Por lo expuesto, mediante la presente asumo toda responsabilidad que pudiera derivarse por la autoría, originalidad y veracidad del contenido de la Tesis para obtener el Título Profesional, así como por los derechos sobre la obra y/o invención presentada. Asimismo, por la presente me comprometo a asumir además todas las cargas pecuniarias que pudieran derivarse para la UNTRM en favor de terceros por motivo de acciones, reclamaciones o conflictos derivados del incumplimiento de lo declarado o las que encontraren causa en el contenido de la Tesis.

De identificarse fraude, piratería, plagio, falsificación o que la Tesis para obtener el Título Profesional haya sido publicado anteriormente; asumo las consecuencias y sanciones civiles y penales que de mi acción se deriven.

Chachapoyas, 11 de DICIEMBRE de 2019

Firma del(a) tesista



ANEXO 3-N

**ACTA DE EVALUACIÓN DE SUSTENTACIÓN DE TESIS
PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL**

En la ciudad de Chachapoyas, el día 11 de Diciembre del año 2019, siendo las 11:00 horas, el aspirante Henner Huaman Culqui defiende en sesión pública la Tesis titulada: Evaluación de la capacidad antioxidante y actividad antibacteriana del extracto acuoso y etanólico de hierba Luisa (Cymbopogon citratus), Boyerá, región Amazonas

para obtener el Título Profesional de Ingeniero Agroindustrial a ser otorgado por la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas, ante el Jurado



Evaluador, constituido por:

Presidente : Ing. Amstrong Bernard Fernández Jari
Secretario : Ing. Efraim Manuelito Castro Alegro
Vocal : Ing. Guillermo Idrogo Vaizquez

Procedió el aspirante a hacer la exposición de la Introducción, Material y método, Resultados, Discusión y Conclusiones, haciendo especial mención de sus aportaciones originales. Terminada la defensa de la Tesis presentada, los miembros del Jurado Evaluador pasaron a exponer su opinión sobre la misma, formulando cuantas cuestiones y objeciones consideraron oportunas, las cuales fueron contestadas por el aspirante.

Tras la intervención de los miembros del Jurado Evaluador y las oportunas respuestas del aspirante, el Presidente abre un turno de intervenciones para los presentes en el acto, a fin de que formulen las cuestiones u objeciones que consideren pertinentes.

Seguidamente, a puerta cerrada, el Jurado Evaluador determinó la calificación global concedida la Tesis para obtener el Título Profesional, en términos de:

Aprobado () Desaprobado ()

Otorgada la calificación, el Secretario del Jurado Evaluador lee la presente Acta en sesión pública. A continuación se levanta la sesión.

Siendo las 12:20 horas del mismo día y fecha, el Jurado Evaluador concluye el acto de sustentación de la Tesis para obtener el Título Profesional.

[Signature]
SECRETARIO

[Signature]
VOCAL

[Signature]
PRESIDENTE

OBSERVACIONES:

ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTOS	iv
AUTORIDADES UNIVERSITARIAS	v
VISTO BUENO DEL ASESOR DE TESIS	vi
VISTO BUENO DEL COASESOR DE TESIS	vii
VISTO BUENO DEL COASESOR DE TESIS	viii
JURADO EVALUADOR	ix
DECLARACIÓN JURADA DE NO PLAGIO	x
ACTA DE EVALUACIÓN DE SUSTENTACIÓN DE TESIS	xi
ÍNDICE GENERAL	xii
ÍNDICE DE TABLAS	xiv
ÍNDICE DE FIGURAS	xv
RESUMEN	xvi
ABSTRACT	xvii
I. INTRODUCCIÓN	18
II. MATERIAL Y MÉTODOS	20
2.1 Material	20
2.2 Diseño de la investigación	21

2.3	Técnicas.....	21
2.4	Análisis de datos	23
2.5	Procedimiento.....	23
III.	RESULTADOS	24
IV.	DISCUSIÓN.....	27
V.	CONCLUSIONES	30
VI.	RECOMENDACIONES	31
VII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	32
	ANEXOS	35
	Anexo A. Recopilación de datos.....	35
	Anexo B. Análisis estadístico	40
	Anexo C. Galería fotográfica	42

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Altitudes consideradas en la provincia de Bongará	20
Tabla 2. Arreglo de datos	21
Tabla 3. Promedio de capacidad antioxidante (\pm d.e.) mediante la técnica de DPPH.....	24
Tabla 4. Actividad antimicrobiana de extracto acuoso y etanólico de <i>Cymbopogon citratus</i> sobre <i>Escherichia coli</i> y <i>Staphylococcus aureus</i> según altitud	25
Tabla 5. Halo promedio de inhibición (mm) de extractos de <i>Cymbopogon citratus</i>	26
Tabla 6. Datos obtenidos en laboratorio	35
Tabla 7. Zona de halos de inhibición	36
Tabla 8. Análisis de varianza de la capacidad antioxidante	40

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Mapa de ubicación de los lugares de toma de muestras	20
Figura 2. Diagrama de Pareto de la capacidad antioxidante (% inhibición).....	24
Figura 3. Medias de la capacidad antioxidante en extractos acuoso y etanólicos de hierba luisa	40
Figura 4. Residuos para la capacidad antioxidante	40
Figura 5. Interacción para capacidad antioxidante.....	41
Figura 6. Efectos principales para la capacidad antioxidante	41

RESUMEN

Se evaluó la capacidad antioxidante y actividad antibacteriana del extracto acuoso y etanólico de hierba luisa (*Cymbopogon citratus*), recolectada de doce distritos de la provincia de Bongará, región Amazonas. Se determinó mediante la técnica de DPPH que el extracto etanólico posee una mayor inhibición de radicales libres ($88,9\pm 0,66\%$) en comparación con el extracto acuoso que presentó una actividad antioxidante en promedio de $82,4\pm 0,86\%$. El extracto acuoso no logró tener efecto antimicrobiano sobre *Escherichia coli*, y un efecto moderado sobre *Staphylococcus aureus*; Se concluye que el etanol es el solvente que logra extraer un mayor contenido de metabolitos secundarios que repercute en su porcentaje de inhibición de radicales libres, de otro lado la actividad antibacteriana para extractos de hierba luisa aumenta en relación a la concentración del mismo.

Palabras clave: Actividad antimicrobiana, antioxidante, *Cymbopogon citratus*.

ABSTRACT

The antioxidant capacity and antibacterial activity of the aqueous and ethanolic extract of lemongrass (*Cymbopogon citratus*), collected from twelve districts of the province of Bongará, Amazonas region, was evaluated. It was determined by the DPPH technique that the ethanol extract has a greater inhibition of free radicals ($88.9 \pm 0.66\%$) compared to the aqueous extract that presented an average antioxidant activity of $82.4 \pm 0.86\%$. The aqueous extract failed to have an antimicrobial effect on *Escherichia coli*, and a moderate effect on *Staphylococcus aureus*; It is concluded that ethanol is the solvent that manages to extract a higher content of secondary metabolites that affects its percentage of free radical inhibition, on the other hand the antibacterial activity for luisa herb extracts increases in relation to its concentration.

Key words: Antimicrobial activity, antioxidant, *Cymbopogon citratus*.

I. INTRODUCCIÓN

Las plantas aromáticas en la región se han empleado a largo de los años como medicina natural debido a su poder antiinflamatorio, estas plantas poseen antioxidantes naturales (polifenoles) que actúan como protectores para la salud humana, sobre todo en la prevención de enfermedades. De otro lado, la presencia de antioxidantes en la agroindustria puede retrasar la oxidación de lípidos y una actividad antimicrobiana que es poco conocida en la población, generando así un desaprovechamiento de sus beneficios.

La planta de *C. citratus* comúnmente llamado hierba luisa pertenece a la familia *poaceae* es una planta tropical, cultivada como ornamental en muchas áreas templadas con una altura máxima de aproximadamente 1,8 m y sus hojas de 1,9 cm de ancho cubiertas con una floración blanquecina (Nwachukwu et al., 2008)

La *C. citratus* se caracteriza por poseer hojas aromáticas con un olor similar al limón, y que se emplea en la medicina natural como antiinflamatorio y antiespasmódico. Soto et al. (2017) y Vélez et al. (2018); mencionan que la hierba luisa es una herbácea usada alrededor del mundo en forma de infusión debido a que posee grandes propiedades medicinales para aliviar diferentes afecciones, como cólicos y otras dolencias estomacales, estrés, los resfriados, fiebre, calmar el dolor y hasta para la artritis; el contenido en vitamina C en esta planta lo constituye como una fuente de antioxidantes, con una importante actividad antibacteriana y antiinflamatoria.

La investigación abarcó la importancia del uso de extractos en la hierba luisa, debido a que los solventes pueden interactuar de distintas formas sobre los compuestos bioactivos, denominados metabolitos secundarios (Echevarría et al., 2016). Esta dilución de metabolitos secundarios, permitirá estudiar la capacidad antioxidante y la actividad antimicrobiana de la hierba luisa frente a microorganismos patógenos para el hombre.

Cheel et al. (2005) y Olorunnisola et al. (2014) indican que en extractos se han identificado potenciales antioxidantes al demostrar una alta capacidad de decolorar el DPPH, y que los diferentes extractos de *C. citratus* poseen una captación de radicales libres con valores que oscilan entre 40 y 68%.

En general, según Soares et al. (2013) existen diferencias significativas entre las actividades antioxidantes de tres extractos; en el etanólico se presentó una capacidad antioxidante superior. Por otro lado, el extracto acuoso mostró el menor poder reductor; y el extracto metanólico, aunque a menudo se lo conoce como el mejor solvente para extraer antioxidantes compuestos de vegetales, determinaron una eliminación de radicales más bajo.

Fagbemi et al. (2009) y Olorunnisola et al. (2014) referente a la actividad antibacteriana de *C. citratus* indican que la presencia de los componentes α -citral (geranial) y β -citral (neral) afectan su actividad antibacteriana para inhibir a bacterias Gram positivas y Gram negativas; *S. aureus* se inhibe a altas concentraciones de extracto acuoso y en el caso del extracto etanólico tuvo un buen efecto bactericida sobre *E. coli*.

Azuero (2016) y Okigbo y Mmeka (2008) encontraron que el extracto etanólico y acuoso de *C. citratus* existe inhibición sobre *E. coli* y *S. aureus*, con un diámetro de zona de inhibición de 16 y 10 mm respectivamente; ambos estudios demuestran que pueden utilizarse para tratamientos de afecciones intestinales, así como también en el tratamiento de procesos respiratorios. La capacidad antioxidante y el estudio del efecto antibacteriano de las hojas de *C. citratus* fue el objetivo de esta investigación.

II. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1 Material

La muestra estuvo conformada por 300 g de hojas de *C. citratus* que fueron recolectadas para cada distrito de la provincia de Bongará, región Amazonas.

Tabla 1. Altitudes consideradas en la provincia de Bongará

Distritos	Altitudes (msnm)
Jazán	1299
Churuja	1383
San Carlos	1890
Cuispes	1937
Valera	1978
Jumbilla	1991
Yambrasbamba	1995
Chisquilla	2013
Shipasbamba	2083
Recta	2140
Corosha	2180
Florida	2225

Después de la recolección de las muestras, estas fueron lavadas con agua destilada en el laboratorio de Biotecnología Agroindustrial y trabajadas en fresco para su uso en la preparación de extractos.



Figura 1. Mapa de ubicación de los lugares de toma de muestras

2.2 Diseño de la investigación

La investigación fue del tipo cuantitativo, el arreglo empleado fue el que se muestra a continuación:

Tabla 2. Arreglo de datos

Altitud (m.s.n.m.)	1299		1383		1890		1937		1978		1991		1995		2013		2083		2140		2180		2225	
Extracto	EA	EE	EA	EE	EA	EE	EA	EE	EA	EE	EA	EE	EA	EE	EA	EE	EA	EE	EA	EE	EA	EE	EA	EE
Réplicas	R1	R1	R1	R1	R1	R1	R1	R1	R1	R1	R1	R1	R1	R1	R1	R1	R1	R1	R1	R1	R1	R1	R1	R1
	R2	R2	R2	R2	R2	R2	R2	R2	R2	R2	R2	R2	R2	R2	R2	R2	R2	R2	R2	R2	R2	R2	R2	R2
	R3	R3	R3	R3	R3	R3	R3	R3	R3	R3	R3	R3	R3	R3	R3	R3	R3	R3	R3	R3	R3	R3	R3	R3

EA: Extracto acuoso.

EE: Extracto etanólico

2.3 Técnicas

a. Preparación de extractos

Extracto acuoso: Se utilizó lo descrito por Rangel et al. (2001) modificado; se colocó al fuego un recipiente con 01 litro de agua hasta su punto de ebullición, luego se apagó el fuego y se agregó las hojas de hierba luisa (200 gramos). Luego se cubrió el recipiente hasta su enfriamiento, para dejar en maceración por 48 horas, luego filtradas al vacío y su posterior uso en las pruebas realizadas.

Extracto etanólico: Se utilizó la técnica descrita por Echevarría et al. (2016) modificada; en la cual se lavó las hojas de las plantas con agua destilada y fueron colocadas a temperatura ambiente. Posteriormente fueron llevadas a la estufa a 37°C; luego se procedió a pesar 20 gramos de material vegetal molido y se adicionó 100 ml de etanol al 96%, y se maceró por un tiempo de 48 horas para ser luego filtradas al vacío.

b. Capacidad antioxidante:

La capacidad antioxidante fue determinada siguiendo el método desarrollado por Brand-Williams (1995), tomado de Castañeda et al. (2008) cuyo protocolo considerado para la investigación fue el siguiente:

Preparar 100 ml de solución de DPPH en metanol de 20 mg/L.

Luego preparar una solución metanólica de la muestra a analizar en una concentración de 100 ug/ml. (solución A).

Preparar el blanco con metanol agua 2:1 para ajustar el espectrofotómetro a cero.
 El blanco de muestra se prepara con 0.75 ml de muestra (solución A) y 1.5 ml de metanol.
 Preparar el patrón de referencia con 1.5 ml de solución d DPPH y 0.75 ml de agua.
 Luego preparar la muestra con 0.75 ml de solución A y 1.5 ml de solución DPPH, obteniéndose una concentración final de 100 ug/ml. Dejar reaccionar por 5 minutos.
 Realizar la lectura a 517 nm en un espectrofotómetro.
 Medir la absorbancia del patrón de referencia y del blanco de la muestra. Realizar las observaciones por triplicado. Utilizar como control la vitamina C.
 Posteriormente con los valores de las absorbancias obtenidas se determina el % de captación de radicales libres (DPPH) mediante la siguiente formula:
 Capacidad antioxidante (% captación de radical libre) = $(1 - ((A2 - A) / A1)) \times 100$
 Donde A1 = absorbancia del patrón de referencia; A2 = absorbancia de la muestra;
 A3 = absorbancia del blanco de muestra.

c. Preparación de las concentraciones de los extractos para la actividad antibacteriana:

Se utilizó la técnica descrita por Merchán (2018), para un volumen inicial de extracto de 100 ml. Para esto se aplicará la siguiente fórmula:

$$C1 * V1 = C2 * V2$$

Despejando V1, se obtiene: $V1 = \frac{C2 * V2}{C1}$

Donde:

C1 = equivale al 100% de la concentración inicial

C2 = concentración a la que queremos llegar, 25%, 50%, 75% y 100%

V1 = cantidad de ml de alcohol que debemos añadir para las concentraciones

V2 = Cantidad inicial en ml, (100 ml)

d. Actividad antibacteriana:

Se probaron los extractos de *C. citratus* frente a bacterias Gram negativas y Gram positivas *E. coli* y *S. aureus*, las cepas se mantuvieron en medio líquido a temperatura de refrigeración.

Se empleó el método de difusión en discos desarrollado por Bauer et al. (1966), modificado por Picazo (2000) y Taroco et al. (2014) para la determinación de la sensibilidad bacteriana a los antimicrobianos y así evidenciar la inhibición del extracto. Se depositó, en la superficie de agar de una placa Petri previamente inoculada con el microorganismo. También se preparó discos de papel secante impregnados con los diferentes extractos a diferentes concentraciones. Inmediatamente el disco impregnado se colocó en contacto con la superficie húmeda del agar, en donde el filtro absorbió el agua y el extracto difunde al agar. Se difundió radialmente a través del espesor del agar a partir del disco formándose un gradiente de concentración. Transcurridas 18-24 horas de incubación los discos estuvieron rodeados por una zona de inhibición. En la presente investigación se mostrará el halo que se forma descontando la medida del disco inicial de inhibición (6 mm). Para ello se recurrió a lo indicado por (Calvo et al., 2006):

$$\text{Valor de inhibición}(mm) = \frac{\phi_{inhibición}(mm) - \phi_{disco}(mm)}{2}$$

2.4 Análisis de datos

Para el análisis de datos, estos fueron sometidos al análisis de varianza, e interacción para evaluar el factor altitud. Las diferencias se consideraron estadísticamente significativas con un nivel de $p < 0,05$ para la presente investigación.

2.5 Procedimiento

Las muestras fueron recepcionadas, lavadas y secadas a temperatura ambiente. Posteriormente, se obtuvieron los extractos (acuoso y etanólico), de hojas picadas por inmersión durante 48 horas.

III. RESULTADOS

Capacidad antioxidante de extracto etanólico y acuoso de *C. citratus*.

En la tabla 3 se observa el porcentaje de inhibición obtenido (capacidad antioxidante) en los extractos estudiados; se observa que los mayores valores son de 88,9 y 82,4% en el extracto etanólico y acuoso respectivamente, asimismo se observa que el extracto etanólico presenta mayor capacidad antioxidante al extracto acuoso en todas las altitudes.

Tabla 3. Promedio de capacidad antioxidante (\pm d.e.) mediante la técnica de DPPH

Altitud (msnm)	Extracto	% Inhibición (\pm d.e.)	Extracto	% Inhibición (\pm d.e.)
1299	Acuoso	82.40 \pm 0.86	Etanólico	87.62 \pm 0.59
1383	Acuoso	80.08 \pm 2.09	Etanólico	88.90 \pm 0.66
1890	Acuoso	79.80 \pm 1.00	Etanólico	86.35 \pm 1.10
1937	Acuoso	75.41 \pm 0.93	Etanólico	85.91 \pm 0.77
1978	Acuoso	80.40 \pm 1.18	Etanólico	86.95 \pm 1.14
1991	Acuoso	79.84 \pm 0.59	Etanólico	86.55 \pm 0.73
1995	Acuoso	75.57 \pm 1.06	Etanólico	87.03 \pm 0.73
2013	Acuoso	80.80 \pm 1.11	Etanólico	86.47 \pm 1.02
2083	Acuoso	75.77 \pm 0.82	Etanólico	86.51 \pm 0.73
2140	Acuoso	75.25 \pm 0.61	Etanólico	86.91 \pm 0.07
2180	Acuoso	77.52 \pm 0.25	Etanólico	86.95 \pm 0.52
2225	Acuoso	78.40 \pm 0.60	Etanólico	86.75 \pm 0.68

En la figura 2, se observa que la altitud, el tipo de extractos y la interacción de extracto y altitud tuvieron efecto en el contenido del porcentaje de inhibición (ver tabla 8, Anexo B); debido a que hay diferencias significativas en la capacidad antioxidante de los extractos estudiados a diferentes altitudes ($\text{sig.} < 0,05$).

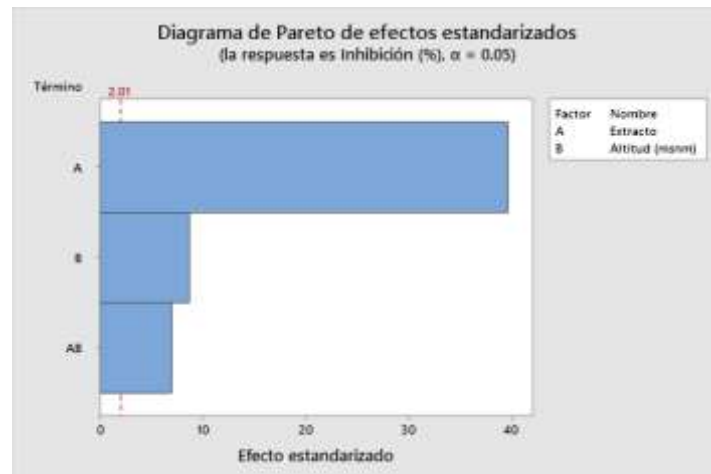


Figura 2. Diagrama de Pareto de la capacidad antioxidante (% inhibición)

De otro lado, también evidencia que la altitud afecta la capacidad antioxidante en los extractos, mostrando que seis de las altitudes (1299, 1383, 1890, 1978, 1991 y 2013 m.s.n.m.) tienen un % de inhibición mayor que el resto. El tipo de extracto también afecta la capacidad antioxidante, observando que el extracto etanólico presenta un mayor valor en promedio de % de inhibición. Para la presente investigación, el diagrama de Pareto guarda relación con las figuras 5 y 6 (ver anexo B) debido a que en todos los casos se evidencian diferencias significativas del % de inhibición respecto al tipo de extracto y la altitud.

Actividad antibacteriana

Los extractos etanólico y acuoso de hierba luisa presentan propiedades antimicrobianas (tabla 4) tienen inhibición en *S. aureus* (gram +) y *E. coli* (gram -). Observando que las muestras testigos (0% de concentración) no demuestran tener efecto antimicrobiano sobre los organismos salvo un efecto leve en el extracto etanólico en *S. aureus*; asimismo se observa que existe mayor inhibición del extracto etanólico sobre ambas cepas.

Tabla 4. Actividad antimicrobiana de extracto acuoso y etanólico de *Cymbopogon citratus* sobre *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* según altitud.

Tipo de extracto	Microorganismo	% cc	Altitud (msnm)											
			1299	1383	1890	1937	1978	1991	1995	2013	2083	2140	2180	2225
Extracto Etanólico	<i>E. coli</i>	100	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+
		75	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+
		50	+	+	-	+	-	-	+	-	-	-	+	+
		25	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+
		0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Extracto Etanólico	<i>S. aureus</i>	100	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
		75	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+	+
		50	+	-	-	+	+	-	+	+	-	-	+	+
		25	+	+	-	-	-	+	-	-	+	-	+	+
		0	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-
Extracto Acuoso	<i>E. coli</i>	100	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-
		75	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-
		50	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-
		25	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-
		0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Extracto Acuoso	<i>S. aureus</i>	100	+	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+	+
		75	+	-	-	+	-	-	+	-	+	+	+	+
		50	+	-	-	-	+	-	-	+	-	+	+	+
		25	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+
		0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

(cc): concentración; (+): inhibición; (-):no inhibición

En la tabla se observa que el extracto acuoso no logra tener efecto antimicrobiano sobre la cepa *E. coli*, pero sí sobre *S. aureus* cuando las muestras proceden de una altitud baja y alta.

En la tabla 5, se observa que conforme aumenta la concentración del extracto este demuestra una mayor actividad antimicrobiana; de otro lado el efecto antimicrobiano empieza a partir de una concentración del 25% en la mayoría de los casos. Las altitudes de otro lado demuestran que la actividad antibacteriana varía según la procedencia de la muestra, pero no existe una tendencia de dicha variabilidad.

Tabla 5. Halo promedio de inhibición (mm) de extractos de *Cymbopogon citratus*.

Tipo de extracto	Microorganismo	% cc	Altitud (msnm)												
			1299	1383	1890	1937	1978	1991	1995	2013	2083	2140	2180	2225	
Extracto Etanólico	<i>E. coli</i>	100	0.50	0.50	0.00	0.17	0.33	0.17	0.33	0.00	0.17	0.17	0.50	0.50	
		75	0.67	0.17	0.17	0.17	0.17	0.17	0.17	0.17	0.00	0.00	0.33	0.67	
		50	0.33	0.17	0.00	0.17	0.00	0.00	0.17	0.00	0.00	0.00	0.83	1.50	
		25	0.67	0.33	0.17	0.17	0.00	0.00	0.00	0.00	0.33	0.00	0.17	0.83	
	<i>S. aureus</i>	100	1.00	0.67	0.33	0.33	0.00	0.17	0.17	0.17	0.50	0.17	0.67	1.17	
		75	0.33	0.17	0.17	0.17	0.00	0.00	0.00	0.33	0.00	0.17	0.50	0.83	
		50	0.17	0.00	0.00	0.17	0.33	0.00	0.17	0.17	0.00	0.00	0.17	1.00	
		25	0.67	0.17	0.00	0.00	0.00	0.17	0.00	0.00	0.50	0.00	0.50	0.50	
Extracto Acuoso	<i>E. coli</i>	100	0.00	0.00	0.00	0.50	0.50	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
		75	0.00	0.00	0.00	0.17	0.33	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
		50	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.33	0.50	0.17	0.00	0.00	0.00	
		25	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.33	0.00	0.17	0.00	0.00	0.00	
	<i>S. aureus</i>	100	0.33	0.00	0.33	0.00	0.33	0.00	0.00	0.00	0.00	0.33	0.33	0.50	
		75	0.17	0.00	0.00	0.17	0.00	0.00	0.17	0.00	0.33	0.17	0.33	0.50	
		50	0.17	0.00	0.00	0.00	0.17	0.00	0.00	0.17	0.00	0.17	0.50	0.83	
		25	0.17	0.00	0.00	0.00	0.17	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.17	0.33	

(cc): concentración

Estos valores son medias de las tres replicas consideradas para placas cultivadas. El agua estéril utilizada como control negativo en la mayoría de los casos no mostró ningún efecto sobre los microorganismos de prueba.

IV. DISCUSIÓN

La evaluación de la capacidad antioxidante permite conocer que mediante el extracto etanólico se logra una mayor inhibición de radicales libres ($88,9\pm 0,66\%$) respecto al extracto acuoso ($82,4\pm 0,86\%$) de hierba luisa, esta comparación tiene relación con lo mencionado por (Soares et al., 2013) que mencionan que extracto etanólico de *C. citratus* presenta una capacidad antioxidante superior, con resultados significativamente más altos. Este resultado en el extracto etanólico se puede deber como reporto (Méndez et al., 2011) que a través de este solvente se logra una mayor extracción del contenido de metabolitos secundarios (flavonoides, etc.) en comparación a otros extractos.

Los valores de inhibición hallados son superiores a los obtenidos por (Cheel et al., 2005) que indican que en diferentes extractos de *C. citratus* presentaron una captación de radicales libres con valores que oscilan entre 40 y 68%; en la investigación la capacidad antioxidante estuvo en un rango de 75 a 89%, esta variación puede compararse con lo realizado por Méndez et al. (2011) indicando que debido a un alto contenido de fitofenoles en extractos etanol y acuoso se demuestra una mayor estabilización capacidad del radical libre.

El tipo de extracto y la altitud (m.s.n.m.) muestran que existe diferencia significativa (ver figura 2) en la capacidad antioxidante en la hierba luisa ($p < 0,05$); referente al extracto esta diferencia evidencia interacción donde se observa que la línea no es horizontal, entonces hay un efecto principal estableciendo que los tipos de extracto afectan la capacidad antioxidante de manera diferente (anexo B). Este efecto puede deberse según lo reportado por (Cheel et al., 2005) donde mencionan que si bien las infusiones de hierba luisa carecen de sustancias tóxicas presentan un débil efecto antiinflamatorio, mientras que el extracto etanólico se caracteriza por una importante presencia de componentes que pueden ser quimiopreventivos para el cáncer.

Asimismo, la figura 2 indica que existe diferencia significativa de la altitud sobre la capacidad antioxidante, complementariamente a esto la figura 6 (ver anexo B) presenta líneas no paralelas en la gráfica de interacción indicando así los efectos de la altitud sobre el porcentaje de inhibición (dependencia), aunque en *C. citratus* no se ha determinado la actividad antioxidante en función de la altitud en la que crece, puede compararse con otros trabajos como los realizados para *Fagopyrum esculentum* (Alforfón) en el que si se han

encontrado diferencia de la actividad antioxidante debido a que la altitud puede tener efecto sobre el contenido de ácidos fenólicos, y el ambiente de crecimiento puede influir en las propiedades antioxidantes (Guo et al., 2011).

Referente a la actividad antibacteriana, se puede determinar que los extractos etanólico y acuoso tienen inhibición en ambos microorganismos, esta actividad antibacteriana es la similar a la reportada por (Okigbo y Mmeka, 2008) donde igualmente se encontró poder antimicrobiano frente a la *E. coli* y *S. aureus*. De otro lado, los resultados demuestran que las muestras testigos (0% de concentración) no tienen efecto antimicrobiano sobre los microorganismos.

En la tabla 4 se observa que el extracto acuoso no logra tener efecto antimicrobiano sobre la cepa *E. coli*, pero sí sobre *S. aureus* cuando las muestras proceden de una altitud baja y alta. Asimismo, existe mayor inhibición del extracto etanólico sobre ambas cepas respecto al extracto acuoso; coincidiendo con lo encontrado por (Bussmann et al., 2010; Manvitha y Bidya, 2014) en donde se indica que los extractos etanólicos de las hojas de hierba Luisa muestra propiedades antibacterianas potenciales contra *E. coli* y *S. aureus*, debido a la presencia de flavonoides y taninos responsables de la actividad, estos extractos etanólicos exhiben una actividad más fuerte y mucho espectro de acción más amplio que los extractos de agua.

En la tabla 5 se observa que conforme aumenta la concentración del extracto se observa una mayor actividad antimicrobiana; en los extractos acuosos se observa que a altas concentraciones (>50%) demuestran tener un amplio radio de acción (halos de inhibición) resultados que guardan relación con lo obtenido por (Fagbemi et al., 2009). De otro lado, el extracto etanólico demuestra tener un espectro de acción más amplio que el extracto acuoso con mínimo de concentración del extracto del 25% esto coincide con lo encontrado por (Azüero et al., 2016; Fagbemi et al., 2009; Vélez et al., 2018) estableciendo a su vez que en el caso del extracto etanólico tuvo un buen efecto bactericida sobre *E. coli*.

En cuanto a la concentración, se observa que con concentraciones de 50% en adelante se logra tener una mayor actividad antimicrobiana respecto a las cepas en el extracto etanólico esta tendencia se confirma con lo reportado por Calvo et al. (2006) y Vélez et al. (2018) estableciendo que conforme se aumenta la concentración del extracto etanólico de hierba luisa el espectro de acción antimicrobiana aumenta (ver tabla 5 sobre los halos de inhibición en el extracto etanólico) con lo cual puede utilizarse para tratamientos de afecciones intestinales como la salmonelosis y el cólera, así como también en el tratamiento de procesos respiratorios causados por la bacteria *S. aureus* (Azuero et al., 2016).

V. CONCLUSIONES

El extracto acuoso y etanólico de hierba luisa poseen una capacidad antioxidante superior al 75%, asimismo, el etanol es mejor solvente que el agua puesto que logra extraer un mayor contenido de metabolitos secundarios que repercute en su porcentaje de inhibición.

La altitud de cultivo determina la capacidad antioxidante de los extractos de *C. citratus*.

La actividad antibacteriana de extractos de *C. citratus*, el extracto etanólico presenta un mayor espectro de acción antimicrobiana sobre *E. coli* y *S. aureus* en comparación del extracto acuoso.

VI. RECOMENDACIONES

Debido a su importante capacidad antioxidante y su acción antimicrobiana en bacterias que suelen presentarse en alimentos, se recomienda aplicar en la conservación de carnes (in vivo) para evaluar su actividad antimicrobiana y su capacidad de reducción de oxidación en carnes.

Realizar otras investigaciones para ampliar el espectro de actividad antimicrobiana mediante distintos solventes de *C. citratus*.

Estudiar el extracto de hierba luisa en actividad antimicrobiana con hongos y bacterias para determinar si también muestran su efecto, para establecer el diseño medicinal que contenga estas plantas, con posibles usos farmacéuticos.

Realizar investigaciones que determinen la relación altitud - capacidad antioxidante de extracto de *C. citratus* controlando algunos factores como clima, nutrientes del suelo, etc.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Azuero, A., Jaramillo-Jaramillo, C., San Martín, D., & D´Armas, H. (2016). Análisis del efecto antimicrobiano de doce plantas medicinales de uso ancestral en Ecuador. *Revista Ciencia UNEMI*, 9(20), 11-18.
- Bauer, A. W., Kirby, W. M. M., Sherris, J. C., & Turck, M. (1966). Antibiotic Susceptibility Testing by a Standardized Single Disk Method. *American Journal of Clinical Pathology*, 45(4_ts), 493-496. https://doi.org/10.1093/ajcp/45.4_ts.493
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1), 25-30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Bussmann, R. W., Malca-García, G., Glenn, A., Sharon, D., Chait, G., Díaz, D., ... Benito, M. (2010). Minimum inhibitory concentrations of medicinal plants used in Northern Peru as antibacterial remedies. *Journal of Ethnopharmacology*, 132(1), 101-108. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2010.07.048>
- Calvo, M. A., Angulo, E., Costa-Batllore, P., Adelantado, C., & Vicente, A. (2006). Natural Plant Extracts and Organic Acids: Synergism and Implication on Piglet's Intestinal Microbiota. *Biotechnology*, 5(2), 137-142. <https://doi.org/10.3923/biotech.2006.137.142>
- Castañeda, C. B., Ramos, Ll. E., & Ibáñez, V. L. (2008). Evaluación de la capacidad antioxidante de siete plantas medicinales peruanas. *Revista Horizonte Médico*, 8(1), 56-72.
- Cheel, J., Theoduloz, C., Rodríguez, J., & Schmeda-Hirschmann, G. (2005). Free Radical Scavengers and Antioxidants from Lemongrass (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(7), 2511-2517. <https://doi.org/10.1021/jf0479766>
- Echevarría, A., D´Armas, H., Matute-L., N.-L., Jaramillo, C., Rojas-de-Astudillo, L., & Benítez, R. (2016). Evaluación de la capacidad antioxidante y metabolitos

secundarios de extractos de dieciséis plantas medicinales. *Revista Ciencia UNEMI*, 9(20), 29-35.

- Fagbemi, J., Ugoji, E., Adenipekun, T., & Adelowotan, O. (2009). Evaluation of the antimicrobial properties of unripe banana (*Musa sapientum* L.), lemon grass (*Cymbopogon citratus* S.) and turmeric (*Curcuma longa* L.) on pathogens. *African Journal of Biotechnology*, 8(7), 1176-1182.
- Guo, X.-D., Ma, Y.-J., Parry, J., Gao, J.-M., Yu, L.-L., & Wang, M. (2011). Phenolics Content and Antioxidant Activity of Tartary Buckwheat from Different Locations. *Molecules*, 16(12), 9850-9867. <https://doi.org/10.3390/molecules16129850>
- Manvitha, K., & Bidya, B. (2014). Review on pharmacological activity of *Cymbopogon citratus*. *International Journal of Herbal Medicine*, 1(6), 5-7.
- Méndez, J. J., Murillo, E., Yara, E., Suescún, W. F., Osorio, J. N., & Mosquera, M. (2011). Climate influence on chemical composition and antioxidant activity of *Justicia pectoralis* Jacq. *Revista Cubana de Farmacia*, 45(1), 88-100.
- Merchán, M. S. (2018). Evaluación de la actividad antibacteriana de extracto alcohólico y extracto etéreo de *Annona muricata* frente a *Pseudomonas aeruginosa*. *Universidad Regional Autónoma de los Andes*, 1(1).
- Nwachukwu, I., Allison, L. N., Chinakwe, E., & Nwadiaro, P. (2008). Studies on the effects of *Cymbopogon Citratus*, *Ceiba Pentandra* and *Loranthus Bengwelensis* extracts on species of dermatophytes. *J Am Sci*, 4, 1545-1603.
- Okigbo, R., & Mmekaka, E. (2008). Antimicrobial Effects Of Three Tropical Plant Extracts On *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Candida albicans*. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 5(3), 226-229. <https://doi.org/10.4314/ajtcam.v5i3.31277>
- Olorunnisola, S. K., Asiyebi, H. T., Hamed, A. M., & Simsek, S. (2014). Biological properties of lemongrass: An overview. *International Food Research Journal*, 21(2), 455-462.

- Picazo, J. (2000). Métodos básicos para el estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos. *Procedimientos en Microbiología, 11*.
- Rangel, D., Garcia, I., Velasco, J., & Buitrago, D. (2001). *Actividad antimicrobiana de los extractos etanólico, acetónico y acuoso de Baccharis nitida (Ruiz et Pavon) Pers. 42, 5.*
- Soares, M. O., Alves, R. C., Pires, P. C., Oliveira, M. B. P. P., & Vinha, A. F. (2013). Angolan *Cymbopogon citratus* used for therapeutic benefits: Nutritional composition and influence of solvents in phytochemicals content and antioxidant activity of leaf extracts. *Food and Chemical Toxicology, 60*, 413-418. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2013.07.064>
- Soto, M. R., Alvarado, P. A. A., Rosales, L. E., & Cerna, J. (2017). Efecto del aceite esencial de *Cymbopogon citratus* (dc.) Stapf hierba luisa en los niveles de ansiedad de estudiantes de educación secundaria. *In Crescendo, 8(1)*, 22. <https://doi.org/10.21895/incres.2017.v8n1.03>
- Taroco, R., Seija, V., & Vignoli, R. (2014). Métodos de estudio de la sensibilidad antibiótica. *Temas de Bacteriología y Virología médica, 663-671*.
- Vélez, R., D'Armas, H., Jaramillo-Jaramillo, C., & Vélez, E. (2018). Metabolitos secundarios, actividad antimicrobiana y letalidad de las hojas de *Cymbopogon citratus* (hierba luisa) y *Melissa officinalis* (toronjil). *FACSalud-UNEMI, 2(2)*, 31-39.

ANEXOS

Anexo A. Recopilación de datos

Tabla 6. Datos obtenidos en laboratorio

Altitud (msnm)	Extracto	Inhibición (%)	Altitud (msnm)	Extracto	Inhibición (%)
1299	Acuoso	82,16	1299	Etanólico	88,02
1299	Acuoso	81,68	1299	Etanólico	87,90
1299	Acuoso	83,35	1299	Etanólico	86,95
1383	Acuoso	78,32	1383	Etanólico	89,22
1383	Acuoso	79,52	1383	Etanólico	88,14
1383	Acuoso	82,40	1383	Etanólico	89,34
1890	Acuoso	78,68	1890	Etanólico	85,39
1890	Acuoso	80,60	1890	Etanólico	87,54
1890	Acuoso	80,12	1890	Etanólico	86,11
1937	Acuoso	74,37	1937	Etanólico	85,03
1937	Acuoso	75,69	1937	Etanólico	86,47
1937	Acuoso	76,17	1937	Etanólico	86,23
1978	Acuoso	79,04	1978	Etanólico	85,87
1978	Acuoso	80,96	1978	Etanólico	88,14
1978	Acuoso	81,20	1978	Etanólico	86,83
1991	Acuoso	79,16	1991	Etanólico	85,75
1991	Acuoso	80,24	1991	Etanólico	87,19
1991	Acuoso	80,12	1991	Etanólico	86,71
1995	Acuoso	75,21	1995	Etanólico	86,23
1995	Acuoso	74,73	1995	Etanólico	87,66
1995	Acuoso	76,77	1995	Etanólico	87,19
2013	Acuoso	79,52	2013	Etanólico	85,51
2013	Acuoso	81,56	2013	Etanólico	87,54
2013	Acuoso	81,32	2013	Etanólico	86,35
2083	Acuoso	74,85	2083	Etanólico	86,35
2083	Acuoso	76,05	2083	Etanólico	87,31
2083	Acuoso	76,41	2083	Etanólico	85,87
2140	Acuoso	75,09	2140	Etanólico	86,95
2140	Acuoso	74,73	2140	Etanólico	86,95
2140	Acuoso	75,93	2140	Etanólico	86,83
2180	Acuoso	77,25	2180	Etanólico	87,31
2180	Acuoso	77,72	2180	Etanólico	86,35
2180	Acuoso	77,60	2180	Etanólico	87,19
2225	Acuoso	77,84	2225	Etanólico	86,83
2225	Acuoso	78,32	2225	Etanólico	86,47
2225	Acuoso	79,04	2225	Etanólico	87,78

Tabla 7. Zona de halos de inhibición

		E. Acuoso – E. coli						E. etanólico – E. coli			
		% concent.	R1	R2	R3			% concent.	R1	R2	R3
T1M1		100	6	6	6	T2M1		100	8	7	6
		75	6	6	6			75	8	8	6
		50	6	6	6			50	8	6	6
		25	6	6	6			25	9	6	7
		Control	6	6	6			Control	6	6	6
T1M2		100	6	6	6	T2M2		100	7	7	7
		75	6	6	6			75	6	7	6
		50	6	6	6			50	7	6	6
		25	6	6	6			25	7	7	6
		Control	6	6	6			Control	6	6	6
T1M3		100	6	6	6	T2M3		100	6	6	6
		75	6	6	6			75	6	6	7
		50	6	6	6			50	6	6	6
		25	6	6	6			25	6	7	6
		Control	6	6	6			Control	6	6	6
T1M4		100	7	7	7	T2M4		100	7	6	6
		75	7	6	6			75	7	6	6
		50	6	6	6			50	6	6	7
		25	6	6	6			25	6	7	6
		Control	6	6	6			Control	6	6	6
T1M5		100	8	6	7	T2M5		100	7	6	7
		75	8	6	6			75	7	6	6
		50	6	6	6			50	6	6	6
		25	6	6	6			25	6	6	6
		Control	6	6	6			Control	6	6	6
T1M6		100	6	6	6	T2M6		100	6	7	6
		75	6	6	6			75	7	6	6
		50	6	6	6			50	6	6	6
		25	6	6	6			25	6	6	6
		Control	6	6	6			Control	6	6	6

T1M7

% concent.	R1	R2	R3
100	6	6	6
75	6	6	6
50	7	6	7
25	7	6	7
Control	6	6	6

T2M7

% concent.	R1	R2	R3
100	6	7	7
75	7	6	6
50	6	7	6
25	6	6	6
Control	6	6	6

T1M8

% concent.	R1	R2	R3
100	6	6	6
75	6	6	6
50	7	7	7
25	6	6	6
Control	6	6	6

T2M8

% concent.	R1	R2	R3
100	6	6	6
75	6	6	7
50	6	6	6
25	6	6	6
Control	6	6	6

T1M9

% concent.	R1	R2	R3
100	6	6	6
75	6	6	6
50	6	6	7
25	6	7	6
Control	6	6	6

T2M9

% concent.	R1	R2	R3
100	6	7	6
75	6	6	6
50	6	6	6
25	6	6	8
Control	6	6	6

T1M10

% concent.	R1	R2	R3
100	6	6	6
75	6	6	6
50	6	6	6
25	6	6	6
Control	6	6	6

T2M10

% concent.	R1	R2	R3
100	7	6	6
75	6	6	6
50	6	6	6
25	6	6	6
Control	6	6	6

T1M11

% concent.	R1	R2	R3
100	6	6	6
75	6	6	6
50	6	6	6
25	6	6	6
Control	6	6	6

T2M11

% concent.	R1	R2	R3
100	6	9	6
75	6	8	6
50	7	9	7
25	6	7	6
Control	6	6	6

T1M12

% concent.	R1	R2	R3
100	6	6	6
75	6	6	6
50	6	6	6
25	6	6	6
Control	6	6	6

T2M12

% concent.	R1	R2	R3
100	6	7	8
75	8	7	7
50	8	9	10
25	9	8	6
Control	6	6	6

		E. Acuoso- <i>S. aureus</i>				E. Etanólico- <i>S. aureus</i>					
		% concent.	R1	R2	R3			% concent.	R1	R2	R3
T1M1		100	6	7	7	T2M1		100	7	8	9
		75	6	7	6			75	8	6	6
		50	6	7	6			50	6	6	7
		25	6	6	7			25	7	8	7
		Control	6	6	6			Control	6	6	6
T1M2		100	6	6	6	T2M2		100	7	8	7
		75	6	6	6			75	7	6	6
		50	6	6	6			50	6	6	6
		25	6	6	6			25	6	7	6
		Control	6	6	6			Control	6	6	6
T1M3		100	7	7	6	T2M3		100	7	6	7
		75	6	6	6			75	6	7	6
		50	6	6	6			50	6	6	6
		25	6	6	6			25	6	6	6
		Control	6	6	6			Control	6	6	6
T1M4		100	6	6	6	T2M4		100	8	6	6
		75	7	6	6			75	7	6	6
		50	6	6	6			50	6	6	7
		25	6	6	6			25	6	6	6
		Control	6	6	6			Control	6	7	6
T1M5		100	6	8	6	T2M5		100	6	6	6
		75	6	6	6			75	6	6	6
		50	7	6	6			50	7	7	6
		25	6	7	6			25	6	6	6
		Control	6	6	6			Control	6	6	6
T1M6		100	6	6	6	T2M6		100	7	6	6
		75	6	6	6			75	6	6	6
		50	6	6	6			50	6	6	6
		25	6	6	6			25	6	7	6
		Control	6	6	6			Control	6	6	6
		% concent.	R1	R2	R3			% concent.	R1	R2	R3

T1M7	100	6	6	6	T2M7	100	6	7	6
	75	6	6	7		75	6	6	6
	50	6	6	6		50	6	7	6
	25	6	6	6		25	6	6	6
	Control	6	6	6		Control	6	6	6
T1M8	% concent.	R1	R2	R3	T2M8	% concent.	R1	R2	R3
	100	6	6	6		100	7	6	6
	75	6	6	6		75	6	7	7
	50	7	6	6		50	6	7	6
	25	6	6	6		25	6	6	6
Control	6	6	6	Control	6	6	6		
T1M9	% concent.	R1	R2	R3	T2M9	% concent.	R1	R2	R3
	100	6	6	6		100	8	7	6
	75	7	7	6		75	6	6	6
	50	6	6	6		50	6	6	6
	25	6	6	6		25	7	6	8
Control	6	6	6	Control	6	6	7		
T1M10	% concent.	R1	R2	R3	T2M10	% concent.	R1	R2	R3
	100	7	6	7		100	7	6	6
	75	6	7	6		75	6	6	7
	50	6	6	7		50	6	6	6
	25	6	6	6		25	6	6	6
Control	6	6	6	Control	6	6	6		
T1M11	% concent.	R1	R2	R3	T2M11	% concent.	R1	R2	R3
	100	7	7	6		100	7	7	8
	75	6	7	7		75	7	6	8
	50	8	7	6		50	6	6	7
	25	7	6	6		25	7	6	8
Control	6	6	6	Control	6	6	6		
T1M12	% concent.	R1	R2	R3	T2M12	% concent.	R1	R2	R3
	100	8	7	6		100	8	9	8
	75	8	7	6		75	8	7	8
	50	9	7	7		50	9	8	7
	25	7	7	6		25	7	6	8
Control	6	6	6	Control	6	6	6		

Anexo B. Análisis estadístico

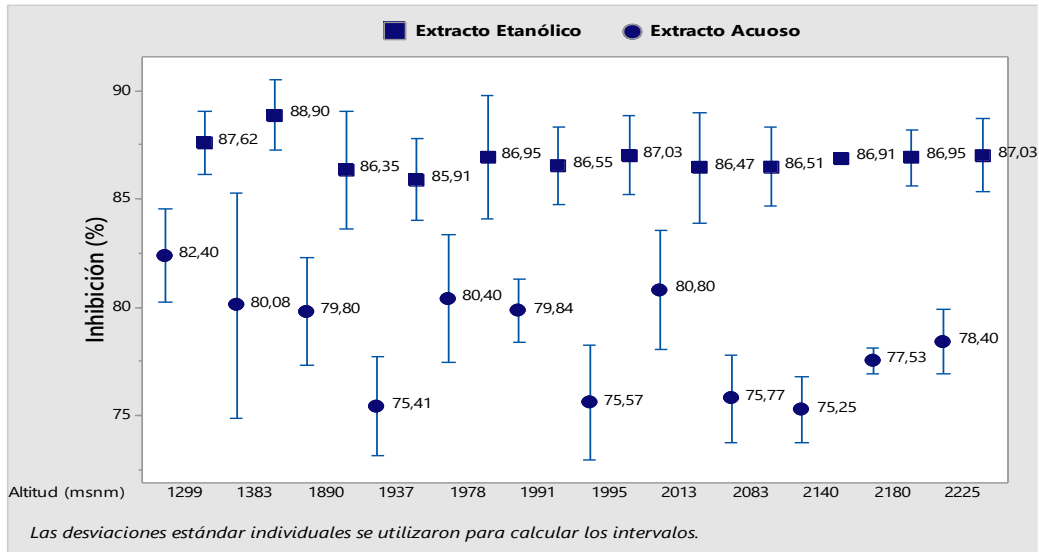


Figura 3. Medias de la capacidad antioxidante en extractos acuosos y etanólicos de hierba luisa

Tabla 8. Análisis de varianza de la capacidad antioxidante

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Modelo	23	1518,70	66,03	79,83	0,000
Lineal	12	1431,34	119,28	144,21	0,000
Extracto	1	1298,36	1298,36	1569,80	0,000
Altitud (msnm)	11	132,97	12,09	14,62	0,000
Interacciones de 2 términos	11	87,36	7,94	9,60	0,000
Extracto*Altitud (msnm)	11	87,36	7,94	9,60	0,000
Error	48	39,70	0,83		
Total	71	1558,40			

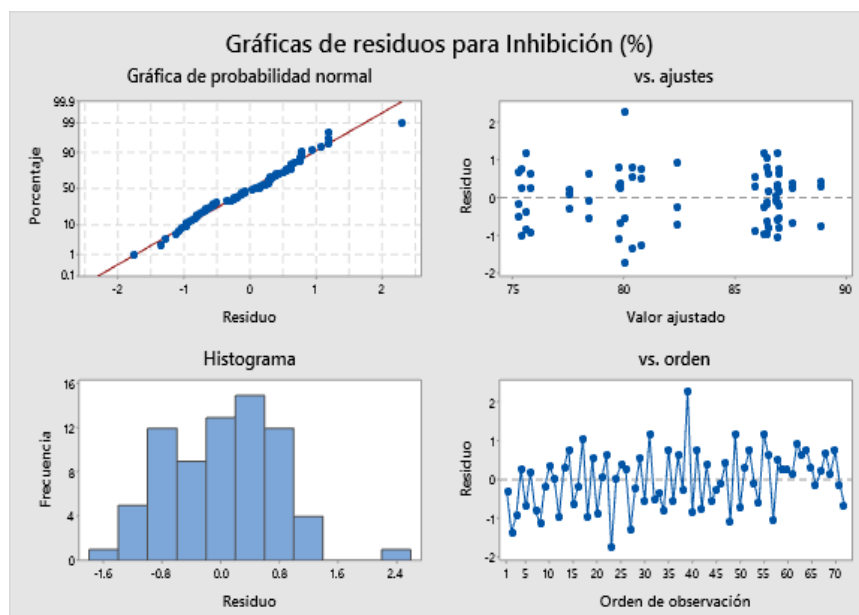


Figura 4. Residuos para la capacidad antioxidante

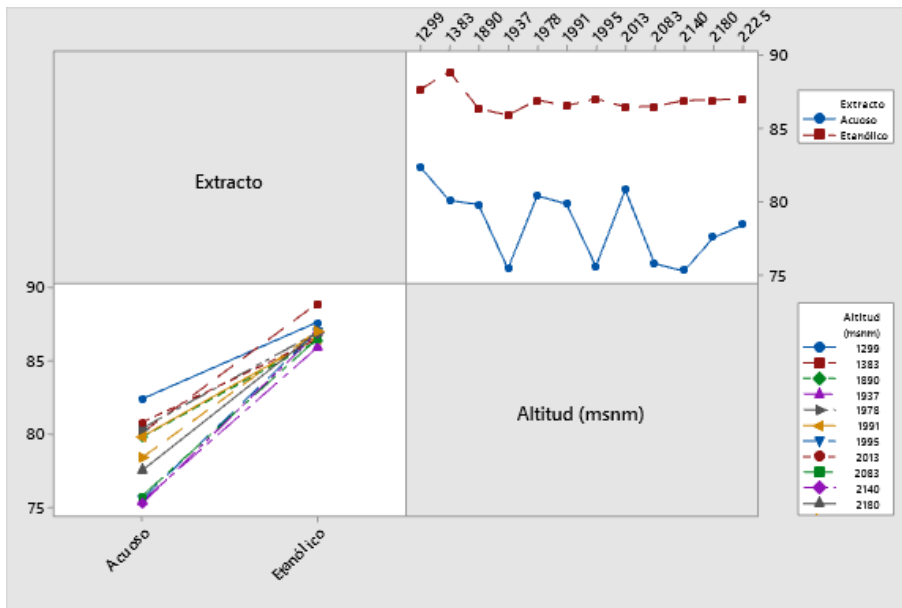


Figura 5. Interacción para capacidad antioxidante

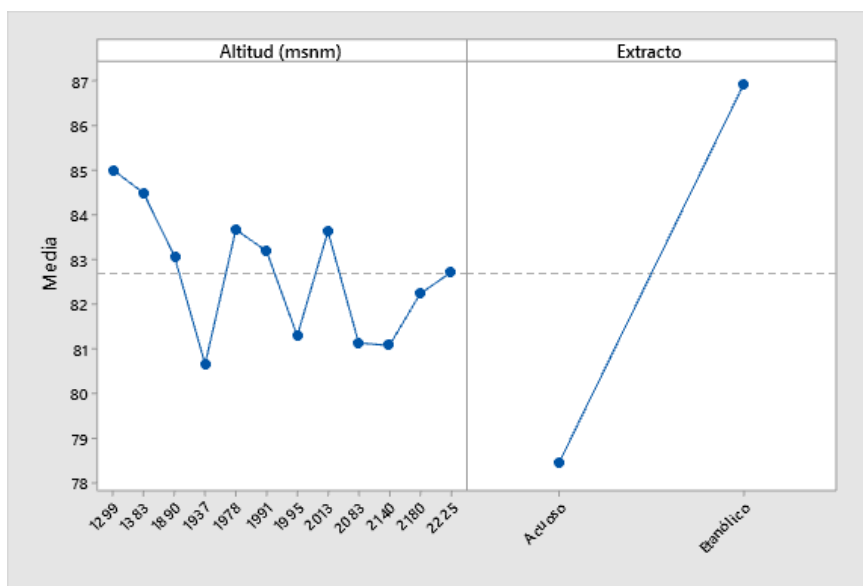


Figura 6. Efectos principales para la capacidad antioxidante

Anexo C. Galería fotográfica



Fotografía 01. Muestras de hierba luisa recolectadas de campo



Fotografía 02. Pesado de muestras recolectadas para el extracto



Fotografía 03. Preparación de extracto acuoso y etanólico de hierba luisa



Fotografía 04. Filtración al vacío de extracto etanólico



Fotografía 05. Extracto + DPPH



Fotografía 06. Cubeta con extracto + DPPH para medir en espectrofotómetro



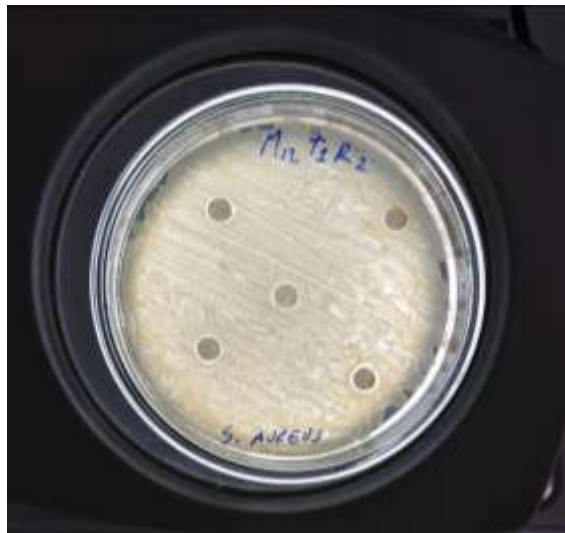
Fotografía 07. Inóculo de *E. coli* y *S. aureus*



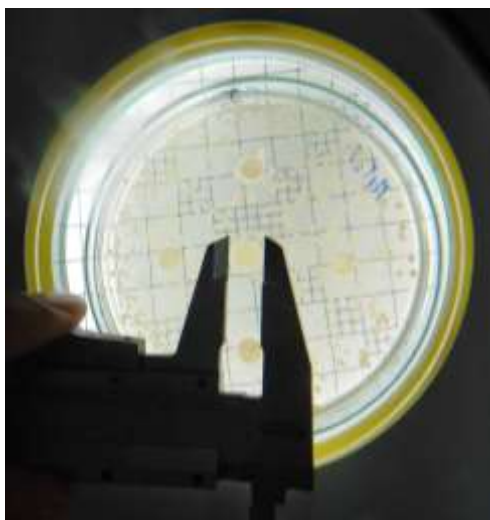
Fotografía 08. *E. coli* y *S. aureus* en agar MacConkey para aislamiento



Fotografía 09. Servido en placa de agar Mueller Hinton



Fotografía 10. Halos de inhibición *S. aureus*



Fotografía 11. Medición de halos de inhibición con vernier