UNIVERSIDAD POLITÉCNICA ESTATAL DEL CARCHI

FACULTAD DE INDUSTRIAS AGROPECUARIAS Y CIENCIAS AMBIENTALES

CARRERA DE ALIMENTOS

Tema: "Evaluación de la capacidad antimicrobiana de una combinación sinérgica de aceite esencial de *Clinopodium nubigenum* (sunfo) y aceite esencial de *Myrcianthes hallii* (arrayán) para incrementar la conservación de la carne de res"

Trabajo de Integración Curricular previo a la obtención del título de Ingeniero en Alimentos

AUTOR: Cabascango Cacuango Edwin Alexander

TUTOR: Msc. Anchundia Lucas Miguel Ángel, PhD

Tulcán, 2026.

CERTIFICADO DEL TUTOR

Certifico que el estudiante Cabascango Cacuango Edwin Alexander con el número de cédula 1727696575 ha desarrollado el Trabajo de Integración Curricular: "Evaluación de la capacidad antimicrobiana de una combinación sinérgica de aceite esencial de *Clinopodium nubigenum* (sunfo) y aceite esencial de *Myrcianthes hallii* (arrayán) para incrementar la conservación de la carne de res"

Este trabajo se sujeta a las normas y metodología dispuesta en el Reglamento de la Unidad de Integración Curricular, Titulación e Incorporación de la UPEC, por lo tanto, autorizo la presentación de la sustentación para la calificación respectiva

Validar únicamente en FirmaEC.
Firmado electrónicamente por:
MIGUEL ANGEL ANCHUNDIA LUCAS

_____

Msc. Anchundia Lucas Miguel Ángel, PhD

TUTOR

Tulcán, mayo de 2026

AUTORÍA DE TRABAJO

El presente Trabajo de Integración Curricular constituye un requisito previo para la obtención del título de Ingeniero en la Carrera de alimentos de la Facultad de Industrias Agropecuarias y Ciencias Ambientales

Yo, Cabascango Cacuango Edwin Alexander con cédula de identidad número 1727696575 declaro que la investigación es absolutamente original, auténtica, personal y los resultados y conclusiones a los que he llegado son de mi absoluta responsabilidad.

Cabascango Cacuango Edwin Alexander
AUTOR

Tulcán, mayo de 2026

ACTA DE CESIÓN DE DERECHOS DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

Yo, Cabascango Cacuango Edwin Alexander declaro ser autor de los criterios emitidos en el Trabajo de Integración Curricular: "Evaluación de la capacidad antimicrobiana de una combinación sinérgica de aceites esenciales de *Clinopodium nubigenum* (sunfo) y *Myrcianthes hallii* (arrayán) para la conservación de la carne de res" y eximo expresamente a la Universidad Politécnica Estatal del Carchi y a sus representantes de posibles reclamos o acciones legales.

Cabascango Cacuango Edwin Alexander

AUTOR

Tulcán, mayo de 2026

AGRADECIMIENTO

Agradezco a toda mi familia por su apoyo incondicional, comprensión y confianza constante a lo largo de este proceso académico, siendo un pilar fundamental en cada decisión y esfuerzo realizado para la culminación de este trabajo.

De manera especial, expreso mi más sincero agradecimiento a mi madre, María Isabel Cacuango, por su ejemplo de esfuerzo, sacrificio y perseverancia, así como por inculcarme el valor del trabajo, la responsabilidad y la constancia. Su apoyo incondicional, paciencia y fortaleza han sido esenciales para alcanzar cada una de mis metas. De igual manera, agradezco a mi padre, Segundo Cabascango, por su respaldo, consejos y enseñanzas, que contribuyeron significativamente a mi formación personal y profesional.

A mis hermanos, Cristan, David, Marlene, Angie y Stiven por su apoyo, compañía y motivación permanente, que fueron fundamentales durante todo este proceso.

Finalmente, agradezco a mi pareja y mejor amiga, Lorena Chipud, por su acompañamiento, apoyo, comprensión y paciencia a lo largo de esta etapa académica, brindándome ánimo en los momentos difíciles y compartiendo conmigo cada avance y logro alcanzado.

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a mi familia a mis padres y hermanos, por su apoyo incondicional, confianza y acompañamiento constante a lo largo de mi formación académica. Sus valores, consejos y esfuerzo han sido fundamentales para la culminación de este objetivo académico y parte de mi vida.

A mi pareja, por su comprensión, apoyo y motivación permanente, incluso en los momentos más difíciles, siendo un impulso importante para continuar y no rendirme.

Finalmente, a mis amigos, quienes en distintas etapas de mi vida aportaron con su apoyo, palabras de ánimo y compañía, contribuyendo de manera significativa a este proceso.

ÍNDICE

RESUMEN 13

ABSTRACT 14

INTRODUCCIÓN 15

I. EL PROBLEMA 16

1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA 16

1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA 17

1.3. JUSTIFICACIÓN 17

1.4. OBJETIVOS Y PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN 19

1.4.1. Objetivo General 19

1.4.2. Objetivos Específicos 19

1.4.3. Preguntas de Investigación 20

II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA 21

2.1. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN 21

2.2. MARCO TEÓRICO 23

2.2.1. Carne 23

2.2.2. Carne de res 24

2.2.3. Métodos de conservación 27

2.2.4. Microorganismos deteriorativos de la carne de res 28

2.2.5. Concentración Mínima Inhibitoria 30

2.2.6. Aceites esenciales 30

2.2.7. Sunfo (*Clinopodium nubigenum)* 32

2.2.8. Hojas de arrayán (*Myrcianthes hallii)* 33

2.2.9. Métodos de obtención de aceites esenciales 35

III. METODOLOGÍA 38

3.1. ENFOQUE METODOLÓGICO 38

3.1.1. Enfoque 38

3.1.2. Tipo de Investigación 38

3.2. HIPÓTESIS 39

3.3. DEFINICIÓN Y OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES 39

3.3.1. Definición de las variables 39

3.4. MÉTODOS UTILIZADO 43

3.4.1. Obtención de aceites esenciales 43

3.4.2. Análisis de propiedades de los aceites 46

3.4.3. Evaluación in vitro de la actividad microbiana 48

3.4.4. Determinación de la concentración mínima inhibitoria 52

3.4.5. Aplicación del aceite en la carne 53

3.4.6. Análisis de efectos del aceite en las propiedades en la carne 55

3.5. DISEÑO EXPERIMENTAL 58

3.4.7. Fase 2 58

3.4.8. Fase 3 59

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN 62

4.1. RESULTADOS 62

4.1.1. Parámetros de extracción 62

4.1.2. Propiedades fisicoquímicas de los aceites esenciales 63

4.1.3. Evaluación de la susceptibilidad microbiana con uso de aceites esenciales 63

4.1.4. Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria 64

4.1.5. Análisis bromatológico 65

4.1.6. Análisis fisicoquímico 66

4.1.7. Análisis microbiológico 67

4.2. DISCUSIÓN 68

4.2.1. Rendimiento y características de los aceites esenciales 68

4.2.2. Comportamiento de cenizas en carne tratada con aceites esenciales 69

4.2.3. Contenido de grasa en carne durante el almacenamiento 71

4.2.4. Variación del TVB-N como indicador del deterioro proteico 72

4.2.5. Comportamiento microbiano de *Pseudomonas fluorescens* 73

V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES 76

5.1. CONCLUSIONES 76

5.2. RECOMENDACIONES 77

VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 78

VII. ANEXOS 84

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Operacionalización de las variables Fase 1 42
Tabla 2. Operacionalización de las variables Fase 2 42
Tabla 3. Operacionalización de las variables Fase 2.1 42
Tabla 4. Operacionalización de las variables Fase 3 42
Tabla 5. Proporciones de aceite usadas para pruebas de susceptibilidad. 48
Tabla 6. Cantidad de aceite esenciales usada para la combinación sinérgica. 48
Tabla 7. Aplicación de inoculo entre los tratamientos a analizar. 54
Tabla 8. Formulación de proporcionalidad entre aceites esenciales. 58
Tabla 9. Tratamientos y proporcionalidad empleados para determinación de CMI . 59
Tabla 10. Metodología de aplicación del aceite en carne. 60
Tabla 11. Parámetros de extracción de aceites esenciales de sunfo y arrayán 62
Tabla 12. Rendimientos de extracción de los aceites esenciales 62
Tabla 13. Propiedades fisicoquímicas de los aceites esenciales 63
Tabla 14. Halos de inhibición frente a Pseudomonas fluorescens (mm) 63
Tabla 15. Determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) mediante presencia/ausencia de crecimiento 64
Tabla 16. Contenido de ceniza (%) durante el almacenamiento 65
Tabla 17. Contenido de grasa (%) durante el almacenamiento refrigerado 66
Tabla 18. Valores de TVB-N (mg N/100 g) durante el almacenamiento 66
Tabla 19. Recuento microbiano (log UFC/g) durante el almacenamiento 67

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Planta de Clinopodium nubigenum (sunfo). 32
Figura 2. Planta de Myrcianthes hallii (arrayán). 34
Figura 3. Flujograma del proceso de extracción de aceites esenciales..... 44
Figura 4. Formato de etiquetado de las fundas ziploc 55
Figura 5. Equipo de extracción de aceite esencial..... 86
Figura 6. Aceite esencial de sunfo. 86
Figura 7. Medición de pH de los aceites esenciales. 86
Figura 8. Preparación de medios de cultivo y materiales. 87
Figura 9. Esterilización de materiales..... 87
Figura 10. Cultivo de *Pseudomonas fluorescens.* 87
Figura 11. Preparación de medios de cultivo..... 88
Figura 12. Preparación de proporciones de aceite esenciales..... 88
Figura 13. Incubación de muestras. 88
Figura 14. Resultados de susceptibilidad antimicrobiana. 89
Figura 15. Esterilización de la cámara de flujo laminar 89
Figura 16. Preparación de muestras de carne. 89
Figura 17. Aceite esencial sinérgico al 80%..... 90
Figura 18. Empaquetado de las muestras de carne. 90
Figura 19. Análisis de nitrógeno TVB-N. 90
Figura 20. Muestras con contenido de nitrógeno..... 91
Figura 21. Titulación de muestras..... 91
Figura 22. Resultados del cultivo microbiológico..... 91
Figura 23. Análisis de grasa..... 92

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Acta de la sustentación de Predefensa del TIC……84
Anexo 2. Certificado del abstract por parte de idiomas……..85
Anexo 3. Fotografías……..……...……..86

RESUMEN

El presente estudio tuvo como objetivo evaluar el efecto de la combinación sinérgica de aceites esenciales de *Clinopodium nubigenum* (sunfo) y *Myrcianthes hallii* (arrayán) en la prolongación de la vida útil de carne de res refrigerada. Los aceites se obtuvieron por arrastre de vapor, con rendimientos de 0,26 % para sunfo y 0,101 % para arrayán. La actividad antimicrobiana frente a *Pseudomonas fluorescens* se evaluó mediante el método de difusión en disco, siendo la combinación 50:50 la que presentó mayor efecto inhibitorio (8,6 ± 0,82 mm). La concentración mínima inhibitoria se determinó por dilución en agar, observándose inhibición completa del crecimiento a partir de una concentración de 8 % v/v. Posteriormente, esta combinación fue aplicada en carne de res inoculada mediante atomización superficial, comparándose con controles sin tratamiento. Durante el almacenamiento a 4 °C, el tratamiento T1 presentó mayor estabilidad fisicoquímica y microbiológica en relación con C1 y C2. En términos de nitrógeno volátil (TVB-N), T1 mostró menor acumulación en comparación con los controles, evidenciando menor grado de deterioro proteico. En el contenido de grasa, T1 registró valores más altos y estables (24,75–22,06 %) frente a C1 y C2 (17,10–19,54 %), lo que sugiere menor degradación lipídica durante el almacenamiento. Los recuentos microbiológicos evidenciaron una reducción del crecimiento de *P. fluorescens* en T1 respecto al control inoculado (C2), con diferencias entre 0,24 y 0,71 log UFC/g, considerando como límite microbiológico aceptable 1×10^7 UFC/g (7 log UFC/g) como umbral de deterioro en carne, C2 superó este valor en el día 5, mientras que T1 lo hizo en el día 7, lo que representa un incremento aproximado de 2 días en la vida útil. Estos resultados confirman que la combinación de aceites esenciales ejerce un efecto antimicrobiano parcial que retarda el deterioro de la carne.

Palabras Claves: Aceites esenciales, *Clinopodium nubigenum*, *Myrcianthes hallii*, carne de res*, Pseudomonas fluorescens*, vida útil, CMI.

ABSTRACT

The present study aimed to evaluate the effect of a synergistic combination of essential oils from Clinopodium nubigenum (sunfo) and Myrcianthes hallii (arrayán) on extending the shelf life of refrigerated beef. The essential oils were obtained by steam distillation, with yields of 0.26% for sunfo and 0.091% for arrayán. Antimicrobial activity against Pseudomonas fluorescens was assessed using the disk diffusion method, with the 50:50 combination showing the greatest inhibitory effect (8.6 ± 0.82 mm). The minimum inhibitory concentration was determined by agar dilution, with complete growth inhibition observed at concentrations of 8% v/v and above. This combination was then applied to inoculated beef through surface spraying and compared with untreated controls. During storage at 4 °C, treatment T1 showed greater physicochemical and microbiological stability compared to C1 and C2. In terms of total volatile basic nitrogen (TVB-N), T1 exhibited lower accumulation than the controls, indicating a lower degree of protein degradation. Regarding fat content, T1 maintained higher and more stable values (24.75 22.06%) compared to C1 and C2 (17.10–19.54%), suggesting reduced lipid degradation during storage. Microbiological counts revealed a reduction in the growth of P. fluorescens in T1 compared to the inoculated control (C2), with differences ranging from 0.24 to 0.71 log CFU/g. Considering 1×10^7 CFU/g (7 log CFU/g) as the acceptable microbiological limit and spoilage threshold for meat, C2 exceeded this value on day 5, whereas T1 did so on day 7, representing an approximate two-day extension in shelf life. Overall, these results confirm that the combination of essential oils exerts a partial antimicrobial effect that helps delay meat spoilage.

Keywords: Essential oils, *Clinopodium nubigenum*, *Myrcianthes hallii,* beef, *Pseudomonas fluorescens*, shelf life, MIC.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad, la industria alimentaria desempeña un papel esencial en la Inocuidad alimentaria y en el abastecimiento de productos de calidad para la población. Entre los distintos productos de origen animal, la carne de res destaca por su elevado valor nutricional, al ser fuente importante de proteínas, grasas, vitaminas y minerales necesarios para el desarrollo humano. Sin embargo, la naturaleza perecedera de este alimento exige la aplicación de métodos adecuados de conservación que garanticen su inocuidad y prolonguen su vida útil, especialmente en contextos donde las condiciones de almacenamiento y distribución pueden ser limitadas (Latham, 2002).

El consumo de la carne como parte de la alimentación en la sociedad es fundamental para su subsistencia, por ello la industria alimentaria, específicamente la cárnica, juntamente con pequeños negocios debe enfrentar diversos problemas, entre los que se tiene la vida útil de la carne fresca de res. Esto debido a que el tiempo de vida útil de la carne puede verse afectado por varios factores, como la exposición prolongada al aire, la temperatura inadecuada de almacenamiento y la contaminación microbiana (Horcada y Polvillo, 2010).

En este sentido, la reducción de las pérdidas por deterioro y la mejora de la calidad microbiológica de la carne representan desafíos importantes tanto para productores como para consumidores. La búsqueda de alternativas naturales que sustituyan o complementen a los conservantes sintéticos ha cobrado relevancia en los últimos años, debido al creciente interés por alimentos más inocuos y libres de compuestos químicos. Entre estas alternativas, los aceites esenciales de plantas se han posicionado como una opción prometedora por sus propiedades antimicrobianas y antioxidantes (Prakash et al., 2024).

Por lo tanto, el estudio de aceites esenciales provenientes de especies locales como el sunfo (*Clinopodium nubigenum*) y el arrayán (*Myrcianthes hallii*) podría ofrecer un aporte significativo en el campo de la conservación de alimentos.

I. EL PROBLEMA

1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La carne fresca de res es uno de los alimentos más consumidos a nivel mundial y representa una fuente importante de proteínas de alto valor biológico, lípidos, vitaminas y minerales necesarios para el desarrollo humano. Sin embargo, su naturaleza altamente perecedera la convierte en un producto susceptible al deterioro físico, químico y microbiológico, lo que limita su vida útil y genera pérdidas significativas tanto para productores como para consumidores. Este deterioro se asocia principalmente a la actividad de microorganismos deteriorativos, a las condiciones de almacenamiento y a la manipulación inadecuada durante el proceso de distribución y venta (García, 2025).

Cuando la carne no se almacena adecuadamente o se expone a condiciones ambientales desfavorables, se acelera el proceso de deterioro, llegando a tener una vida útil aproximadamente de 2 a 4 días cuando está sin almacenar en refrigeración y de 5 a 8 días en refrigeración, lo que resulta en cambios de color, olor, sabor y textura. Además, el retraso en la cocción o el procesamiento inadecuado pueden contribuir al deterioro prematuro de la carne. Por lo tanto, es crucial abordar eficazmente la vida útil de la carne fresca de res, considerando métodos de conservación con uso de aceites esenciales a partir de plantas nativas de Ecuador. Una vida útil prolongada no solo garantiza la calidad del producto, sino que también reduce el desperdicio de alimentos y mejora la inocuidad alimentaria para los consumidores (Simón, 2018).

En la actualidad, hay diversas alternativas de conservación para la carne, entre los que se tiene a los aceites esenciales con propiedades antioxidantes y antimicrobianas. Sin embargo, se busca una solución eficiente que optimice el uso de estos aceites esenciales para mejorar la vida útil de la carne de res. A pesar de la existencia de estudios previos sobre el uso de aceites esenciales, como el romero, limón y ajo, en la conservación de alimentos, se observa una falta de información

específica sobre el uso de una combinación de aceites esenciales de plantas nativas como la del sunfo y las hojas de arrayán para prolongar la vida útil de la carne.

Además, existen limitaciones en cuanto a la identificación de las dosis y concentraciones óptimas de esta combinación de aceites esenciales, así como la falta de estudios que evalúen la factibilidad industrial de su implementación. La carencia de esta información impide a los productores de carne fresca aprovechar todo el potencial de estas combinaciones de aceites esenciales para mejorar la conservación del producto.

Por ello, es necesario abordar el problema de evaluar la capacidad antimicrobiana de la combinación de aceites esenciales de sunfo y las hojas de arrayán para alargar la vida útil de la carne fresca de res. Al hacerlo, se podrán establecer pautas claras para su posible aplicación en la industria cárnica, permitiendo una conservación más efectiva de la carne fresca, al tiempo que se garantiza la calidad y la inocuidad para los consumidores.

1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿Es efectiva la combinación de aceites esenciales de sunfo y las hojas de arrayán para prolongar la vida útil de la carne?

1.3. JUSTIFICACIÓN

La mejora de la vida útil de la carne fresca es un desafío de gran importancia para diversas áreas enfocadas al servicio de expendio de carne de res, esto debido al impacto que ocasiona en la calidad, la inocuidad y la rentabilidad de los productos cárnicos. Por ello, el uso de aceites esenciales con propiedades antimicrobianas y antioxidantes se ha establecido y propuesto como una alternativa llamativa y prometedora para mejorar la conservación de la carne fresca (Adelakun, Oyelade, & Olanipekun, 2016).

La combinación de aceites esenciales de sunfo y las hojas de arrayán presentan un nuevo enfoque con gran potencialidad para mejorar la vida útil de la carne de res fresca. Los aceites esenciales contienen compuestos bioactivos que tiene resultados efectivos contra los microorganismos, además de contener propiedades antioxidantes, lo que se presentan como candidatos factibles para usarlos en la industria cárnica.

La presente investigación se justifica en la necesidad de mejorar la vida útil de la carne fresca de res, considerando que este alimento es altamente perecedero y susceptible al deterioro microbiológico durante su almacenamiento en refrigeración. La aplicación de una combinación de aceites esenciales de sunfo y hojas de arrayán busca alargar el tiempo de la conservación de la carne, permitiendo que mantenga sus características fisicoquímicas y microbiológicas por un mayor periodo de tiempo. Este estudio resulta relevante especialmente para pequeños comerciantes y expendios de carne que manejan pequeñas cantidades de producto, ya que una mayor vida útil puede ayudar a evitar pérdidas económicas y en el expendio de un producto con mejores condiciones de calidad e inocuidad para el consumidor final.

De igual manera, esta investigación se sustenta en el creciente interés por el uso de métodos de conservación natural en alimentos, impulsado por la demanda de los consumidores de consumir productos con una menor presencia de aditivos sintéticos. De esta forma, los aceites esenciales representan una alternativa viable debido a sus propiedades antimicrobianas y antioxidantes. La combinación de aceites esenciales de sunfo y hojas de arrayán permite la posibilidad de explorar el uso de recursos naturales como agentes conservantes, aportando información científica que respalda su aplicación en la carne de res y contribuyendo al desarrollo de estrategias de conservación más seguras reduciendo la dependencia de conservantes artificiales (Bermúdez et al., 2023).

Asimismo, el desconocimiento sobre el uso de nuevas plantas para la extracción de aceites esenciales y su aplicación en el área de la conservación de alimentos evidencia la necesidad de ampliar las líneas de investigación en este campo. En este sentido la utilización de aceites esenciales de plantas como el sunfo y las hojas de arrayán en la conservación de carne fresca de res representa un área de estudio relevante y prometedora en el campo de la ciencia y tecnología de alimentos.

Se tiene presente que hay una falta de investigación específica sobre el uso de combinaciones de aceites esenciales de plantas nativas del Ecuador como son el sunfo y hojas de arrayán en la conservación de carne de res. Por lo tanto, esta investigación busca llenar esta brecha de conocimiento al analizar el efecto de estas combinaciones en la calidad microbiológica y vida útil de la carne de res. Los resultados de este estudio podrían tener implicaciones significativas en la industria alimentaria, al ofrecer una alternativa natural y efectiva para mejorar la conservación de la carne fresca, reducir el desperdicio de alimentos y satisfacer las demandas de

los consumidores por productos alimenticios más seguros y saludables (Espinoza, 2020).

Además, desde una perspectiva de sostenibilidad, el uso de aceites esenciales de origen vegetal como alternativa a conservantes sintéticos se alinea con los principios del desarrollo sostenible, al promover prácticas más responsables con el ambiente y la salud humana. La aplicación de aceites esenciales de sunfo y hojas de arrayán, al tratarse de recursos naturales disponibles en el medio local, permite reducir la dependencia de aditivos químicos y fomenta el aprovechamiento sostenible de la biodiversidad, contribuyendo a un sistema alimentario más seguro y amigable con el entorno.

Por ello, esta investigación se relaciona directamente con los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS), en especial con el ODS 2 (Hambre Cero), al aportar estrategias que mejoran la calidad e inocuidad de los alimentos; el ODS 3 (Salud y Bienestar), al promover el consumo de productos con menor carga de aditivos sintéticos; y el ODS 12 (Producción y Consumo Responsables), al incentivar el uso de alternativas naturales y sostenibles en la conservación de alimentos. De esta manera, el estudio no solo genera conocimiento científico, sino que también aporta a la búsqueda de soluciones alineadas con las necesidades actuales de la sociedad y el cuidado del ambiente (Organizacion de las Naciones Unidas [ONU], 2020).

1.4. OBJETIVOS Y PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN

1.4.1. Objetivo General

- Desarrollar una combinación de aceites esenciales de sunfo y las hojas de arrayán para alargar la vida útil de la carne de res almacenada en condiciones de refrigeración.

1.4.2. Objetivos Específicos

- Determinar el rendimiento de los aceites esenciales de la planta de sunfo y hojas de arrayán mediante la metodología de extracción por arrastre de vapor.
- Determinar las concentraciones idóneas de la combinación de aceites esenciales para prolongar la vida útil de la carne fresca de res.
- Analizar la vida útil de la carne de res con la aplicación de la combinación de los aceites esenciales.

1.4.3. Preguntas de Investigación

¿Cuál es el rendimiento de la extracción de los aceites esenciales de la planta de sunfo y hojas de arrayán utilizando la metodología de extracción por arrastre de vapor?

¿Cuál es la concentración mínima inhibitoria de la combinación de aceites esenciales contra *Pseudomonas fluorescens*, en la carne de res?

¿Cómo afecta la combinación de aceites esenciales de sunfo y hojas de arrayán en las propiedades fisicoquímicas y microbiológicas en la carne de res?

II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

2.1. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN

Cannon et al. (2013), realizaron la evaluación del efecto del tiempo de destilación sobre el rendimiento y la composición de aceites esenciales obtenidos por destilación por arrastre de vapor en tres especies aromáticas: peppermint (Mentha × piperita L), lemongrass (*Cymbopogon flexuosus*) y palmarosa (*Cymbopogon martinii*). Los autores determinaron que el tiempo óptimo de destilación para maximizar el rendimiento se alcanzó alrededor de los 20 minutos, obteniéndose valores de aproximadamente 2% en menta, 0,16–0,18% en lemongrass y 0,18–0,19% en palmarosa. Tiempos mayores a 160–240 min provocaron disminuciones del 25–40% en el rendimiento por pérdidas por evaporación.

En cuanto a la composición química, el estudio demostró que el tiempo de destilación modifica significativamente las proporciones de componentes mayoritarios. En la menta, el eucaliptol disminuyó desde 10,1% a 3,7% cuando la destilación aumentó de 1,25 a 160 min, mientras que t-cariofileno aumentó de 1,8% a 3,7% en el mismo intervalo. En lemongrass, los compuestos citrales (neral y geranial) alcanzaron sus máximas concentraciones entre 10–40 min, mientras que el óxido de cariofileno aumentó progresivamente con el tiempo. Estos resultados demuestraron que el tiempo de destilación no solo afecta la cantidad de aceite esencial, sino también su calidad y su perfil químico, por lo que constituye un parámetro crítico para la obtención eficiente y estandarizada de aceites esenciales.

Crespo et al. (2019), evaluaron la actividad antioxidante y el comportamiento sinérgico de mezclas de aceites esenciales de *Apium graveolens, Thymus vulgaris* y *Coriandrum sativum*. Los autores demostraron que la combinación de estos aceites presentó un efecto superior al obtenido cuando se aplicaron de manera individual, evidenciando una mejora significativa en sus propiedades funcionales. Además, el estudio empleó procedimientos experimentales que permitieron cuantificar este efecto mediante comparaciones de curvas dosis–respuesta y análisis de

interacciones entre los aceites. Estos resultados respaldan la importancia de evaluar distintas proporciones de aceites esenciales en estudios de inhibición microbiana, ya que las mezclas pueden potenciar su eficacia.

Cazar (2013), evaluó la actividad antimicrobiana de aceites esenciales de orégano, laurel, hierbaluisa, romero, menta y pino para inhibir *Listeria monocytogenes*. Los aceites fueron obtenidos principalmente por destilación por arrastre de vapor, y sus rendimientos variaron entre 0,05% y 0,88%. Para identificar la bioactividad que se determinó la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) mediante micro dilución, encontrando que orégano y laurel presentaron los mejores resultados con CIM de 12,5 mL, mientras que hierbaluisa alcanzó 25 mL y los demás aceites mostraron baja o nula actividad.

A demás indica que partir de estos aceites bioactivos se formuló un diseño de mezclas tipo Simplex-Lattice con aceites puros, mezclas binarias y ternarias. Los resultados evidenciaron que algunas combinaciones presentaron efecto sinérgico, reduciendo la CIM a 6,25 mL, especialmente la mezcla orégano–laurel (50/50). Este comportamiento se relaciona con la capacidad de los aceites esenciales para interactuar fácilmente con la membrana bacteriana debido a su naturaleza lipofílica.

Hernández et al. (2014), utilizaron el método de hidrodestilación y el método de co-hidrodestilación con el fin de obtener aceites esenciales (AE) de comino (*Cuminum cyminum L.*), clavo (*Eugenia caryohyllata*) y helenio (*Inula helenium L.*). Donde determinaron la CMI (Concentración Mínima Inhibitoria) y la CMM (Concentración Bactericida Mínima) en ocho cepas patógenas (*Escherichia coli O157:H7, Salmonella, Listeria monocytogenes, Yersinia enterocolitica, Campylobacter jejuni, Clostridium perfringens, Staphylococcus aureus y Toxoplasma Gondi*).

Los resultados mostraron que los aceites esenciales de comino y clavo y sus extractos funcionales fueron efectivos en concentraciones de 500 mg/L a 750 mg/L en pruebas in-vitro. Los aceites esenciales con extractos funcionales se utilizaron en muestras de carne a tres concentraciones diferentes: 750, 1.500 y 2.250 µL. El aceite esencial de comino produjo una reducción de 3,78 log UFC/g con la aplicación de 750 µL, el aceite esencial de clavo produjo una reducción de 3,78 log UFC/g con la aplicación de 2.250 µL y los extractos funcionales de comino y clavo obtuvieron una reducción de 3,6 log UFC/g.

Maghraby et al. (2013), evaluaron el efecto de distintos métodos de determinación de TVB-N en carne bovina, reportando variaciones entre 7,5 y 18 mg/100 g dependiendo del procedimiento aplicado, lo que demuestra la sensibilidad del análisis ante condiciones metodológicas. Además, señalaron que el TVB-N supera el límite de frescura (25–30 mg/100 g) después del día 10–14 de almacenamiento refrigerado, asociándose directamente con el deterioro proteico. Estos estudios destacan la importancia del TVB-N como parámetro crítico para evaluar vida útil de la carne.

Martos (2010), estudió el efecto de aceites esenciales de romero y tomillo en productos cárnicos y encontró reducciones significativas en la carga microbiana, alcanzando disminuciones de hasta 1,5–2,0 log UFC/g durante el almacenamiento, especialmente frente a bacterias psicotrofas y *Pseudomonas spp*., principales responsables del deterioro en refrigeración. De forma complementaria, Ujilestari et al. (2023) demostraron que las nano emulsiones de aceites esenciales pueden mantener los recuentos microbianos por debajo de 7 log UFC/g límite máximo aceptado para consumo incluso después de 12 días de refrigeración, evidenciando un efecto protector sostenido.

Imbaquingo y Nogales (2024), realizaron una investigación donde evaluaron la calidad e inocuidad de la carne de res expendida en cuatro mercados de la ciudad de Tulcán, considerando entre sus análisis parámetros fisicoquímicos como ceniza y grasa. Para la determinación de cenizas emplearon el método de incineración en mufla (AOAC 923.03 / NTE INEN ISO 936), mientras que el contenido de grasa fue determinado mediante extracción Soxhlet siguiendo el método AOAC. Los autores reportaron valores de ceniza entre 3,0 y 3,7%, y de grasa entre 6,76 y 24,35%, evidenciando una variabilidad asociada a factores como el origen de la carne, el tiempo de exposición y las condiciones de almacenamiento. Estos resultados sirven como referencia para la interpretación de los valores de ceniza y grasa obtenidos en el presente estudio, permitiendo establecer comparaciones dentro de rangos reportados para carne de res comercializada en condiciones similares.

2.2. MARCO TEÓRICO

2.2.1. Carne

Se la puede definir a la carne como la parte muscular, que es comestible, de los animales que son cuidadosamente sacrificados y faenados bajo condiciones

higiénicas que posteriormente se transforma del musculo en carne (Horcada y Polvillo, 2010). La carne se puede subdividir principalmente en dos, siendo la carne roja (vacunos, cabras, ovejas, cerdos, etc.) y la carne blanca (principalmente aves de corral) parte de este conjunto (Latham, 2002).

2.2.2. Carne de res

2.2.2.1. Composición de la carne de res

La composición de la carne de res es bastante variada y comprende una gran diversidad de componentes que influyen en su calidad nutricional y sensorial. La carne de res es una excelente fuente de proteínas de alta calidad, con un contenido que puede variar entre el 15% y el 25% en peso. Además, contiene una cantidad variable de grasa, que puede oscilar entre el 2% y el 30% dependiendo del corte y la alimentación del animal. En cuanto al contenido de agua, la carne de res fresca típicamente contiene alrededor del 60% al 75% de agua (Campo et al. 2024). Los minerales, como el hierro, el zinc y el fósforo, también están presentes en la carne de res en cantidades significativas, con valores que varían según el tipo de corte y la edad del animal.

2.2.2.2. Vida útil de la carne de res

La vida útil de la carne de res se define como el período de tiempo durante el cual este alimento mantiene sus características de calidad y su inocuidad bajo condiciones adecuadas de almacenamiento y manipulación, según lo establecido por (Nouri et al., 2026). La carne de res puede estar sujeta a la contaminación por una variedad de microorganismos, tanto patógenos como deteriorativos, que pueden afectar su inocuidad y calidad. De acuerdo con (Al-Mazrouei et al., 2024), entre los microorganismos patógenos más comunes asociados con la carne de res se encuentran *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella spp., Listeria monocytogenes* y *Staphylococcus aureus*. Estos microorganismos pueden causar enfermedades transmitidas por alimentos si la carne se consume cruda o no se manipula adecuadamente. Además de los microorganismos patógenos, la carne de res también puede ser colonizada por microorganismos deteriorativos, como *Pseudomonas spp., Acinetobacter spp*. y *Brochothrix thermosphacta*, que pueden causar cambios sensoriales y degradar la calidad de la carne durante el almacenamiento.

En la duración de la vida útil de la carne de res, esta puede variar según las condiciones de almacenamiento y manipulación. La carne fresca de res, cuando se almacena a temperaturas de refrigeración (aproximadamente 0 - 4 °C) y se mantiene en condiciones higiénicas, puede tener una vida útil de aproximadamente 3 a 5 días (CSA, 2022). Sin embargo, este período puede ser más corto si la carne está expuesta a temperaturas más altas o a condiciones no higiénicas. Para prolongar la vida útil de la carne de res, se pueden emplear técnicas de envasado al vacío, atmósfera modificada y tratamientos antimicrobianos, así como prácticas adecuadas de manipulación y almacenamiento.

2.2.2.3. Proceso para obtención de carne

Para obtener la carne es necesario tener en cuenta dos puntos muy importantes, que dependiendo de la manera de cómo se la realice puede significar un cambio significativo en la carne, a continuación, se presenta los puntos:

2.2.2.3.1. Inspección Ante-mortem

La inspección ante-mortem consiste en la evaluación realizada para animales vivos antes de su posterior sacrificio, esto para verificar el estado de salud y la fisiología y detectando posibles enfermedades, lesiones o alguna anomalía que pueda generar una perdida en la calidad de la carne y ocasione un riesgo para los consumidores (Agrocalidad, 2016).

2.2.2.3.2. Inspección Post-mortem

La inspección post-mortem es la evaluación sanitaria que realiza el médico veterinario al animal sacrificado, con el fin de verificar la calidad e inocuidad de la carne. Esta inspección se efectúa sobre las canales y los despojos comestibles, una vez concluido el proceso de faenado y durante las etapas post-mortem, para determinar si el producto es apto para el consumo humano (OIRSA, 2016).

2.2.2.4. Factores que determinan la calidad de la carne

- Composición química: el porcentaje de grasa, proteína en conjunto con otros componentes de la carne pueden modificar la calidad y su sabor, además de que varían con respecto a la raza, edad, alimentación al igual que el proceso de la obtención de la carne. En promedio, los porcentajes de la composición de la carne comestible se encuentran en 62% de humedad, 20% de grasa, 17 de proteína y 1% para los minerales (Horcada y Polvillo, 2010).

- Color: el color de la carne es un factor importante en la percepción en su calidad dando a entender la frescura y el nivel de madurez que esta presenta.
- Terneza: La terneza de la carne es un aspecto crucial que influye significativamente en la calidad percibida por el consumidor. Este atributo está estrechamente relacionado con la estructura muscular y la cantidad y distribución de tejido conectivo en la carne. Factores como la edad del animal, el tipo de corte y el método de cocción pueden afectar la terneza de la carne.
- Jugosidad: La jugosidad se refiere a la cantidad de jugos presentes en la carne al masticarla, lo cual contribuye a su palatabilidad y experiencia sensorial. La jugosidad está influenciada por varios factores, incluyendo el contenido de grasa intramuscular, la cocción y la retención de humedad durante la preparación (Horcada y Polvillo, 2010).
- Sabor: El sabor es un aspecto fundamental de la calidad de la carne y está determinado por una combinación de factores, incluyendo el contenido de grasa y la presencia de compuestos volátiles que contribuyen a los sabores característicos de la carne. La dieta del animal, el proceso de maduración y el método de preparación también pueden influir en el sabor de la carne (Tan et al., 2025).
- Olor: El olor de la carne es otro factor importante que influye en la percepción de su calidad. Un olor fresco y agradable sugiere una carne fresca y de buena calidad, mientras que un olor desagradable puede indicar deterioro o contaminación. La presencia de compuestos volátiles producidos durante la descomposición bacteriana puede afectar el olor de la carne (Tan et al., 2025).
- pH: El pH varía a medida que el musculo se transforma en carne durante los procesos de post-mortem, cuando el animal se encuentra vivo sus valores se encuentran en un rango neutro, después del sacrificio del animal, el musculo deja de recibir oxigeno ocasionado por la interrupción de la circulación sanguínea, el pH comienza a disminuir gradualmente. Este fenómeno, conocido como la caída del pH post-mortem, se debe a la acumulación de ácido láctico como resultado del metabolismo anaeróbico en los tejidos musculares. La velocidad y la magnitud de la disminución del pH pueden variar

- de acuerdo con el estado físico del animal antes de la matanza y la temperatura de enfriamiento post-mortem (Estela y Gianni, 2011).

2.2.3. Métodos de conservación

Los métodos de conservación de alimentos comprenden un conjunto de técnicas físicas, químicas y biológicas empleadas para prolongar la vida útil de los productos, manteniendo su calidad microbiológica, sensorial y nutricional. Estos métodos buscan prevenir el deterioro ocasionado por la acción de microorganismos, enzimas, oxidación y otras reacciones naturales que afectan la estabilidad de los alimentos (Yong, et al., 2017).

2.2.3.1. Refrigeración

La refrigeración es uno de los métodos más comunes para conservar la carne de res fresca y prolongar su vida útil. Almacenar la carne a temperaturas de refrigeración, generalmente entre 0-4 °C, ayuda a desacelerar el crecimiento de microorganismos deteriorativos y a mantener la calidad sensorial de la carne. La refrigeración es especialmente eficaz para cortes frescos de carne que se consumirán en un corto período de tiempo, generalmente dentro de unos pocos días (CONAL, 2020).

2.2.3.2. Congelación

La congelación es un método efectivo para conservar la carne de res durante períodos más largos al detener el crecimiento microbiano y ralentizar los procesos de deterioro. Al congelar la carne a temperaturas por debajo de 0 °C, el agua presente en los tejidos musculares se convierte en hielo, lo que inhibe la actividad microbiana y preserva la calidad de la carne. La carne congelada puede conservarse de manera segura durante varios meses e incluso años, dependiendo de las condiciones de almacenamiento (CONAL, 2020).

2.2.3.3. Ultracongelación

La ultracongelación es una forma avanzada de congelación que implica el enfriamiento rápido de la carne a temperaturas extremadamente bajas, generalmente por debajo de -30 °C. Este método de conservación permite una congelación más rápida y uniforme de la carne, lo que resulta en una mejor retención de la calidad y una mayor vida útil en comparación con la congelación convencional. La ultracongelación es especialmente útil para la conservación a largo plazo de productos cárnicos, ya que minimiza la formación de cristales de hielo

grandes y reduce el riesgo de deterioro de la calidad durante el almacenamiento (Martindale & Schiebel, 2017).

2.2.3.4. Envasado al vacío

El envasado al vacío es una técnica de conservación que consiste en extraer aire del interior del envase antes de sellarlo herméticamente. Al eliminar el oxígeno, se inhibe el crecimiento de los microorganismos aerobios, la oxidación de lípidos y pigmentos, y se prolonga la vida útil del producto si necesidad de conservantes químicos. Este método es utilizado en alimentos perecederos como carnes frescas, quesos, embutidos, productos de pesca y vegetales mínimamente procesados (Nouri et al., 2026).

2.2.3.5. Atmósfera modificada

El envasado en atmósfera modificada se basa en el aire que este contenido en los envases es sustituido por una mezcla de gases específicos, como dióxido de carbono (CO_2), nitrógeno (N_2) y oxigeno (O_2), en proporciones controladas de acuerdo con el alimento. Esto genera un ambiente hostil para los microrganismos deteriorativos y reducir las reacciones químicas que afectas la calidad del alimento, su uso se enfoca en carnes, pescados, vegetales frescos, frutas, panadería, entre otros (García, 2023).

2.2.4. Microorganismos deteriorativos de la carne de res

La carne de res está constantemente expuesta al riesgo de deterioro microbiológico, el cual puede comprometer su calidad y la inocuidad. Este deterioro es ocasionado por una amplia gama de microorganismos que encuentran en la carne un medio propicio para su desarrollo y proliferación (Heredia et al., 2014).

2.2.4.1. Bacterias aerobias mesófilas

Estos microorganismos, que se desarrollan a temperaturas moderadas y en presencia de oxígeno, pueden causar cambios notorios en el color, textura y olor de la carne de res. En condiciones óptimas de temperatura, su población puede duplicarse en tan solo 20 a 30 minutos, acelerando significativamente el proceso de deterioro (Fuentes et al.,2025).

2.2.4.2. Bacterias psicrótrofas

Estas bacterias tienen la capacidad única de crecer y multiplicarse a bajas temperaturas, incluso en condiciones de refrigeración. Esto las convierte en una

amenaza constante en la industria cárnica, ya que pueden causar daños en la carne durante su almacenamiento en frío, reduciendo drásticamente su vida útil (Mateauda, 2013).

2.2.4.3. Levaduras y mohos

Estos microorganismos, visibles en la superficie de la carne, pueden provocar cambios visibles como la formación de manchas o moho, afectando su apariencia e inocuidad. Además, algunas cepas de levaduras y mohos pueden producir toxinas peligrosas para la salud humana (Mateauda, 2013).

2.2.4.4. Bacterias lácticas

Aunque algunas bacterias lácticas pueden ser beneficiosas para la fermentación de la carne, otras pueden contribuir al deterioro del producto al producir ácido láctico y otros metabolitos indeseables, alterando su sabor y textura (Mateauda, 2013).

2.2.4.5. Pseudomonas

Las bacterias del género *Pseudomonas* son comunes en el medio ambiente y pueden contaminar la carne durante la manipulación y procesamiento. Estas bacterias pueden causar deterioro de la carne al producir enzimas que descomponen proteínas y lípidos, generando cambios en la textura y el sabor del producto (Smith et al., 2024).

2.2.4.5.1. Pseudomona fluorescens

La *Pseudomonas fluorescens* es una especie bacteriana que pertenece al género *Pseudomonas*, conocido por su diversidad metabólica y su capacidad para adaptarse a una amplia gama de condiciones ambientales. Es una bacteria Gramnegativa, aerobia y móvil debido a su flagelo único, lo que le permite colonizar una variedad de sustratos, incluida la carne (Smith et al., 2024).

En cuanto a su crecimiento en la carne, *Pseudomonas fluorescens* encuentra condiciones óptimas para su desarrollo en entornos refrigerados, especialmente entre 0°C y 7°C. Esta bacteria es psicotrofa, lo que significa que puede crecer y multiplicarse a temperaturas de refrigeración, lo que la convierte en una de las principales responsables del deterioro de la carne durante el almacenamiento en frío.

La *Pseudomonas fluorescens* se beneficia de varios factores presentes en la carne, como la alta humedad y la disponibilidad de nutrientes, especialmente proteínas y

azúcares. Estos sustratos nutritivos, combinados con las condiciones de refrigeración, proporcionan un entorno ideal para el crecimiento bacteriano.

2.2.5. Concentración Mínima Inhibitoria

La concentración mínima inhibitoria (CMI) es la concentración más baja de un agente antimicrobiano, como un antibiótico o un compuesto natural, que inhibe el crecimiento visible de un microorganismo específico. Dentro de la microbiología y la investigación de conservantes, la CMI se utiliza para determinar la eficacia de un agente contra microorganismos patógenos o de deterioro, como bacterias, hongos o levaduras (Martínez y Porras, 2021).

Martínez y Porras (2021) indica que "la CMI se determina mediante ensayos de sensibilidad antimicrobiana, como el método de dilución en caldo o el método de difusión en disco. En estos ensayos, se expone el microorganismo de interés a diferentes concentraciones del agente antimicrobiano, que pueden ser preparadas mediante diluciones seriadas. Luego, se observa visualmente la concentración más baja del agente que inhibe el crecimiento microbiano". Esta medida es importante para determinar la eficacia de un agente antimicrobiano y su capacidad para controlar o prevenir la proliferación de microorganismos en un determinado sistema, como alimentos, productos farmacéuticos o entornos clínicos, esta concentración se expresa en términos de unidades de medida, como microgramos por mililitro (µg/mL) o partes por millón (ppm).

2.2.6. Aceites esenciales

Los aceites esenciales se las puede atribuir como el conjunto de compuestos volátiles orgánicos que son obtenidos principalmente de partes aromáticas de la planta como hojas, flores, frutos, cortezas y raíces. Estas se caracterizan por presentar intensos aromas y propiedades bioactivas que varían de acuerdo con cada especie de origen, condiciones de cultivo, método de extracción y la composición química (Molina, 2021).

La composición de los aceites esenciales está conformada principalmente por terpenos (mono terpenos y sesquiternos) y sus derivados oxigenados como alcoholes, aldehídos, cetonas, esteres y óxidos. Estos compuestos presentan diversas actividades biológicas, entre las que más destacan sus propiedades antimicrobianas, antioxidantes, antifúngicas, antiinflamatorias y repelentes, lo que ha impulsado su uso en diversas áreas industriales (Molina, 2021).

2.2.6.1. Propiedad antimicrobianas y antioxidantes de los aceites esenciales

Los aceites esenciales son ampliamente utilizados en la industria alimentaria debido a sus destacadas propiedades antimicrobianas y antioxidantes, que desempeñan un papel crucial en la conservación e inocuidad de los alimentos.

2.2.6.1.1. Propiedades antimicrobianas

Los compuestos presentes en los aceites esenciales exhiben actividades antimicrobianas efectivas contra una variedad de microorganismos, incluyendo bacterias patógenas, levaduras y hongos.

Estas propiedades permiten el uso de aceites esenciales como conservantes naturales en alimentos, ayudando a prolongar su vida útil al inhibir el crecimiento de microorganismos que pueden causar deterioro o enfermedades transmitidas por alimentos.

Los aceites esenciales también pueden ser utilizados para controlar la contaminación microbiana en superficies de procesamiento de alimentos y equipos, reduciendo así el riesgo de contaminación cruzada y mejorando la calidad microbiológica de los productos alimenticios (Olmedo, 2017).

2.2.6.1.2. Propiedades antioxidantes

Los antioxidantes presentes en los aceites esenciales ayudan a proteger los alimentos contra el deterioro oxidativo, que puede causar cambios en el color, sabor, textura y valor nutricional de los productos alimenticios.

Al inhibir la oxidación de lípidos y otros componentes sensibles en los alimentos, los antioxidantes de los aceites esenciales ayudan a mantener la frescura y calidad de los productos durante su almacenamiento y distribución.

Además, los antioxidantes de los aceites esenciales pueden contribuir a reducir la formación de compuestos tóxicos y carcinogénicos en alimentos procesados, mejorando así su inocuidad (Olmedo, 2017).

2.2.6.2. Aplicaciones de los aceites esenciales en la industria alimentaria

Los aceites esenciales dentro de la industria alimentaria son extraídos de plantas como la menta, la lavanda, el romero y el eucalipto y estas son de gran interés en la industria alimentaria debido a sus propiedades antioxidantes y antimicrobianas. Estas

cualidades ofrecen oportunidades para mejorar la calidad e inocuidad de los productos alimenticios.

Su aplicación como condimentos y suplementos nutricionales, así como su capacidad para prolongar la vida útil y mejorar el perfil sensorial de productos como bebidas, confitería, carnes y horneados, los convierten en ingredientes valiosos en la formulación de alimentos naturales y libres de aditivos químicos (Cofre, 2022).

2.2.7. Sunfo (*Clinopodium nubigenum)*

El sunfo (Figura 1) es una planta que crece principalmente en América Latina a una altitud de 3000 a 4000 m sobre el nivel del mar, donde las condiciones climáticas propias del páramo favorecen su desarrollo. Esta especie ha sido empleada tradicionalmente por comunidades indígenas, siendo utilizada en el Ecuador principalmente en forma de infusión para el tratamiento de afecciones como la gripe, dolores estomacales, incontinencia urinaria en niños y problemas menstruales (Gilardoni et al., 2011).

Figura 1. Planta de *Clinopodium nubigenum* (sunfo).

Desde el punto de vista taxonómico, el sunfo se puede clasificar de la siguiente manera:

- **Reino:** *Plantae*
- **División:** *Magnoliophyta*
- **Clase:** *Magnoliopsida*
- **Orden:** *Lamiales*
- **Familia:** *Lamiaceae*
- **Género:** *Clinopodium*

- **Especie:** *Clinopodium nubigenum*

Esta familia incluye especies de importancia como el orégano, el tomillo y la menta, las cuales comparten propiedades biológicas relacionadas con la presencia de compuestos volátiles.

2.2.7.1. Características químicas

De acuerdo con la investigación de Stefanovic et al. (2011) realizada en Brasil, la composición química sobre el aceite esencial de *Clinopodium nubigenum* y algunos de los compuestos encontrados fueron: pulegona, mentofurano, isopulegona, a-copaeno, 1 - octen -3- il acetato, limoneno, p-cimeno, piperitenona, β-pineno y 1,6-octadien-3,7-dimetil 3-ol. Además, que usaron la cromatografía de gases acoplada a masas (GC MS) y encontraron que contiene acetato de carvacrol en un alto porcentaje, siendo así un buen aceite con un efecto antibacterial contra microorganismos.

2.2.7.2. Compuestos de utilidad en la carne fresca de res

- Carvacrol

El carvacrol es un compuesto fenólico presente en el Sunfo, conocido por sus potentes propiedades antimicrobianas. Se ha demostrado que el carvacrol exhibe una amplia actividad contra una variedad de microorganismos patógenos y deteriorativos, incluyendo bacterias, hongos y levaduras.

Su mecanismo de acción antimicrobiana se atribuye principalmente a su capacidad para alterar la integridad de la membrana celular de los microorganismos, lo que resulta en la pérdida de permeabilidad y la eventual lisis celular. Además de su actividad antimicrobiana, el carvacrol también ha mostrado propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y analgésicas en estudios preclínicos.

Estas propiedades hacen del carvacrol un candidato prometedor para su aplicación en la conservación de alimentos, incluida la carne de res, donde puede contribuir al mejoramiento de la calidad microbiológica y prolongar la vida útil del producto (Magi et al., 2015).

2.2.8. Hojas de arrayán (*Myrcianthes hallii)*

La *Myrcianthes hallii*, conocida comúnmente como "Arrayán" (Figura 2), es una planta nativa de América del Sur, ampliamente distribuida en regiones andinas,

especialmente en Ecuador. Se desarrolla en zonas de clima templado a frío, generalmente en altitudes medias y altas de 2500 a 3600 metros sobre el nivel del mal, donde forma parte de ecosistemas naturales como bosques andinos. Sus hojas y frutos han sido utilizados tradicionalmente por diversas comunidades indígenas debido a sus propiedades medicinales y aromáticas. El aceite esencial extraído del arrayán se ha valorado por su composición química única, que incluye compuestos como el eucaliptol, el a-pineno, el β-pineno y el limoneno. Estos compuestos han demostrado tener propiedades antimicrobianas, antioxidantes y antiinflamatorias en estudios científicos. Además, el arrayán se ha utilizado históricamente en la conservación de alimentos debido a su capacidad para inhibir el crecimiento de microorganismos patógenos y deteriorativos.

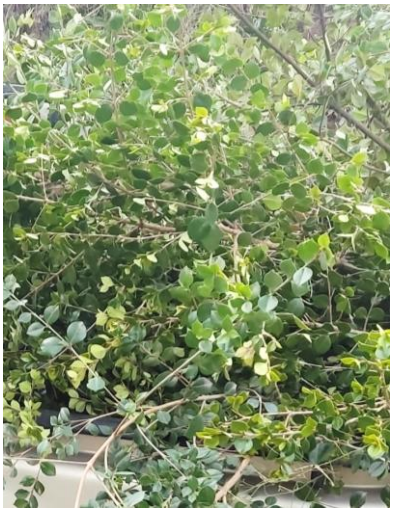


Figura 2. Planta de *Myrcianthes hallii* (arrayán).

Desde el punto de vista taxonómico, el arrayán se puede clasificar de la siguiente manera:

- **Reino:** *Plantae*
- **División:** *Magnoliophyta*
- **Clase:** *Magnoliopsida*
- **Orden:** *Myrtales*
- **Familia:** *Myrtaceae*
- **Género:** *Myrcianthes*
- **Especie:** *Myrcianthes hallii*

Esta familia incluye especies de importancia como el eucalipto y la guayaba, las cuales comparten propiedades biológicas relacionadas con la presencia de aceites esenciales y compuestos volátiles con actividad antimicrobiana y antioxidante.

2.2.8.1. Características químicas

La composición química de la *Myrcianthes hallii* incluye una variedad de compuestos, principalmente hidrocarburos monoterpénicos (68.8%), como a-pineno (57.3%) y β-pineno (6.2%), hidrocarburos oxigenados (18.9%), como 1,8 cineol (7.5%) y linalol (3.7%), sesquiterpenos (3.0%), como β-selineno (1.3%), y una fracción no terpénica (3.0%). Se ha demostrado que posee propiedades antioxidantes en diversos modelos de estudio, como la captación del radical DPPH (63.5600%), la inhibición de la formación del complejo malondialdehído-ácido tiobarbitúrico (0.117 µmoles/mL) y la captación de radical hidroxilo (67.2033% a 100 µg/mL). Estos resultados sugieren que el aceite esencial de *L. chequen* tiene actividad antioxidante, lo que se atribuye a la estructura de sus componentes químicos (Mihai et al., 2025).

2.2.8.2. Compuestos de utilidad en la carne fresca de res

Los compuestos presentes en el aceite esencial de *Myrcianthes hallii*, también conocido como "arrayán", ofrecen diversas utilidades para la carne de res. En particular, los hidrocarburos monoterpénicos, como el a-pineno y el β-pineno, poseen propiedades antimicrobianas que pueden ayudar a inhibir el crecimiento de microorganismos patógenos y deteriorativos en la carne fresca, contribuyendo así a prolongar su vida útil y garantizar su seguridad microbiológica. Además, los hidrocarburos oxigenados, como el 1,8 cineol y el linalol, tienen propiedades antioxidantes que pueden prevenir la oxidación lipídica y el deterioro de la calidad durante el almacenamiento de la carne. Estos compuestos también pueden mejorar el sabor y la jugosidad de la carne fresca, lo que contribuye a su aceptabilidad sensorial por parte de los consumidores (Mihai et al., 2025).

2.2.9. Métodos de obtención de aceites esenciales

Los métodos para la obtención de los aceites esenciales son técnicas empleadas para extraer los componentes aromáticos y volátiles de las plantas, los cuales son parte de los aceites esenciales (Stratakos y Koidis, 2016).

2.2.9.1. Destilación por arrastre de vapor

La destilación por arrastre de vapor es un método de extracción de aceites esenciales que está basado en el uso de vapor de agua para liberar los compuestos aromáticos de las plantas. La planta se coloca en un alambique, donde se calienta con vapor de agua. El vapor arrastra los aceites esenciales de la planta a medida que se evapora, y luego se enfría y condensa en un condensador, donde se separa en una fase de agua (hidrolato) y una fase de aceite esencial. Este método es especialmente útil para plantas aromáticas y medicinales, y es conocido por preservar las propiedades terapéuticas de los aceites esenciales (Chemat & Boutekedjiret, 2015).

2.2.9.2. Extracción con disolventes

La extracción con disolventes es un método de obtención de aceites esenciales que utiliza solventes orgánicos para disolver los compuestos aromáticos de las plantas. La planta se sumerge en el disolvente, que extrae los aceites esenciales y otros compuestos volátiles. Luego, la solución se filtra para eliminar los residuos de la planta, y el disolvente se evapora para obtener el aceite esencial puro. Este método es adecuado para plantas con baja concentración de aceites esenciales y se utiliza en la industria cosmética y farmacéutica (Chemat & Boutekedjiret, 2015).

2.2.9.3. Extracción por prensado en frio

La expresión en frío, también conocida como prensado en frío, es un método utilizado principalmente para la extracción de aceites esenciales de cítricos. Consiste en aplicar presión mecánica a la cáscara de los frutos cítricos para exprimir los aceites esenciales contenidos en las glándulas de la piel. Este proceso no implica el uso de calor, lo que ayuda a preservar las propiedades aromáticas y terapéuticas de los aceites esenciales. Es ampliamente utilizado en la industria de alimentos y bebidas, así como en la aromaterapia (Chemat & Boutekedjiret, 2015).

2.2.9.4. Extracción por CO_2 supercrítico

La extracción por CO_2 supercrítico es un método avanzado que utiliza dióxido de carbono en estado supercrítico como solvente para extraer los aceites esenciales de las plantas. El CO_2 supercrítico tiene propiedades tanto líquidas como gaseosas, lo que le permite penetrar en la planta y extraer selectivamente los compuestos deseados. Este método se utiliza para obtener aceites esenciales de alta calidad, ya

que no deja residuos de solventes y permite una extracción más completa de los compuestos. Es especialmente adecuado para plantas delicadas y sensibles al calor (Chemat & Boutekedjiret, 2015).

2.2.9.5. Nitrógeno básico volátil total (TVB-N)

El nitrógeno básico volátil total (TVB-N) es uno de los principales indicadores químicos utilizados para evaluar el grado de frescura y el nivel de deterioro en carnes y productos de origen animal. Este parámetro cuantifica compuestos nitrogenados volátiles como amoníaco, trimetilamina y dimetilamina, los cuales se generan como resultado de la actividad microbiana y de los procesos de degradación proteica durante el almacenamiento (Maghraby et al., 2013).

El aumento de los valores de TVB-N está directamente relacionado con la descomposición del tejido muscular, por lo que su determinación es ampliamente empleada como criterio de aceptación o rechazo en productos cárnicos y pesqueros. Valores elevados indican pérdida de calidad y posibles riesgos para el consumidor, mientras que concentraciones bajas reflejan un producto en condiciones frescas y aptas para el consumo.

Para su determinación se emplea el método de destilación Kjeldahl modificado, el cual permite extraer y cuantificar los compuestos volátiles nitrogenados presentes en la muestra mediante digestión, destilación y titulación ácido-base, proporcionando resultados confiables para el control de calidad de alimentos (Maghraby et al., 2013).

III. METODOLOGÍA

3.1. ENFOQUE METODOLÓGICO

3.1.1. Enfoque

3.1.1.1. Enfoque cuantitativo

Este estudio adopta un enfoque cuantitativo para evaluar el impacto de las combinaciones de aceites esenciales de sunfo y hojas de arrayán en la vida útil de la carne fresca de res. Esto debido a la necesidad de obtener datos numéricos precisos sobre la eficacia de los tratamientos en la conservación del producto. La medición de variables como el crecimiento microbiano y la oxidación lipídica se llevó a cabo mediante técnicas cuantitativas estandarizadas, lo que permitió hacer comparaciones. Por ello, este enfoque proporciona resultados concretos que respaldarán las conclusiones del estudio, contribuyendo así al avance del conocimiento en el campo de la conservación de alimentos. Como señala Hernández et al. (2014), "el enfoque cuantitativo es secuencial y probatorio, donde cada etapa precede a la siguiente, asegurando un orden riguroso en el proceso de investigación. Desde la delimitación de la idea inicial hasta la extracción de conclusiones, cada paso se realiza de manera ordenada y sistemática, garantizando la validez y la fiabilidad de los resultados obtenidos".

3.1.2. Tipo de Investigación

3.1.2.1. Método experimental

La presente investigación se llevó a cabo bajo un enfoque experimental, basado en lo señalado por García et al. (2018) quien indican que el método experimental es una herramienta científica fundamental que permite la verificación de hipótesis mediante la realización de experimentos controlados. Este enfoque permitió analizar de manera precisa el efecto de las combinaciones de aceites esenciales de sunfo y hojas de arrayán en la vida útil de la carne de res.

3.1.2.2. Método documental

La investigación se llevó a cabo utilizando un enfoque metodológico documental. Se recopilo información bibliográfica de artículos científicos y libros, tanto físicos como electrónicos, para fundamentar teóricamente el estudio e identificar antecedentes relevantes en el tema. Este método permite una comprensión profunda del estado del conocimiento en el área de estudio y la construcción de argumentos sólidos (Hernández et al., 2014).

3.2. HIPÓTESIS

Hipótesis Nula (Ho)

La aplicación de una combinación de aceites esenciales de la planta Sunfo y hojas de arrayán no mejoraran la vida útil de la carne de res.

Hipótesis Alternativa (Ha)

La aplicación de una combinación de aceites esenciales de la planta Sunfo y hojas de arrayán mejoraran la vida útil de la carne de res.

3.3. DEFINICIÓN Y OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES

3.3.1. Definición de las variables

3.3.1.1 Etapa 1. Extracción del aceite

Independiente

Parámetros para la extracción de aceite:

- Temperatura de extracción: 85°C
- Tiempo: 150 min
- Humedad de las plantas: 3–10 %, correspondiente al rango reportado para plantas aromáticas destinadas a la extracción de aceites esenciales (Dhifi et al., 2016)

Dependiente

Análisis de calidad del aceite

- Densidad
- Acidez
- pH

3.3.1.2. Etapa 2. Determinación de la concentración eficaz de los aceites

Independiente

Proporción de los aceites esenciales para realizar la combinación.

- 70 %(sunfo) – 30 % (arrayán)
- 50 %(sunfo) – 50 % (arrayán)
- 30 %(sunfo) – 70 % (arrayán)

Dependiente

Susceptibilidad antimicrobiana (método de difusión en agar).

- Variable de medición: halo de inhibición (mm)
- Microorganismo: *Pseudomona fluorescens*
- Método: difusión en agar

3.3.1.2.1. Etapa 2.1 Determinación del CMI

Independiente

Concentración de la combinación de aceites esenciales.

- 100% (aceite esencial puro)
- 75% (aceite esencial) – 25 % (aceite vegetal)
- 50% (aceite esencial) – 50 % (aceite vegetal)
- 25% (aceite esencial) – 75 % (aceite vegetal)

Dependiente

La concentración mínima inhibitoria (método de difusión en agar)

- Variable de medición: presencia o ausencia de crecimiento microbiano
- Microorganismo: *Pseudomona fluorescens*

3.3.1.3. Etapa 3. Aplicación del aceite en la carne

Independiente

Aplicación del aceite esencial de *Clinopodium nubigenum* (sunfo) y *Myrcianthes hallii* (arrayán) a concentración de la CMI

Tratamientos:

- Carne estéril (control 1)
- Carne inoculada con *Pseudomonas fluorescens* (control 2)
- Carne inoculada con adición del aceite esencial (Tratamiento T1)

Temperatura de refrigeración para la aplicación del aceite esencial.

- 4 °C

Dependiente

- Vida útil de la carne (Propiedades fisicoquímicas y calidad microbiológica.

A continuación, se presentan las tablas 1, 2, 3 y 4 donde se indican la definición de la operacionalización de variables por cada fase realizada en el estudio.

Tabla 1. Operacionalización de las variables Fase 1

	Variables	Dimensión	Indicadores	Técnica	Instrumento
V.I.	Parámetros de extracción de aceite	Temperatura	85°c	arrastre a vapor	(Márquez, Contreras, Ruiz, & Monroy, 2022)
		Tiempo	150 min	min	
		humedad	10 - 3%	gravimetría	(Sevillano, Siche, Martínez, & Silva, 2019)
V.D.	Parámetros de calidad de aceite	Análisis de calidad	Densidad		ISO 279:1998
			Acidez	Volumetría	ISO 1242:2023
			pH	Potenciometría	NMX-F-317-S-1978

Tabla 2. Operacionalización de las variables Fase 2

	Variables	Dimensión	Indicadores	Técnica	Instrumento
V.I.	Porcentaje de aceites	70% Sunfo- 30% arrayán 50% Sunfo - 50% arrayán 30% Sunfo- 70% arrayán	Porcentaje (%)	Gravimetría	(Azizah et al., 2023)
V.D.	Susceptibilidad antimicrobiana	Pruebas de susceptibilidad	halo de inhibición (mm)	Difusión en Agar	(Édgar Pérez Esteve, 2021)

Tabla 3. Operacionalización de las variables Fase 2.1

	Variables	Dimensión	Indicadores	Técnica	Instrumento
V.I.	Concentración del aceite esencial	100% (AE puro) 75% (AE) – 25 % (AV) 50% (AE) – 50 % (AV)	Porcentaje (%)	Gravimetría	(Azizah et al., 2023)
V.D.	Concentración mínima inhibitoria	Susceptibilidad microbiana	Tamaño del halo	Difusión en Agar	(Édgar Pérez Esteve, 2021)

Tabla 4. Operacionalización de las variables Fase 3

	Variables	Dimensión	Indicadores	Técnica	Instrumento
V.I.	Aceite esencial de Sunfo y Hojas de arrayán	Concentración	CMI x1	Gravimetría	(CLSI, 2020)
V.D.	Vida útil de la carne de res	Análisis fisicoquímico	Nitrógeno volátil básico total	Destilación Kjeldahl TVB-N	(Maghraby et al., 2013)
		Análisis bromatológico	Cenizas	Incineración	NTE INEN-ISO 936:2013
			Grasa	Extracción Soxhlet	Método AOAC 960.39 Ed 20. 2016
		Análisis microbiológico	UFC/g	Cultivo in-vitro	NTE INEN 1529-5 Wickramasinghe et al. (2019)

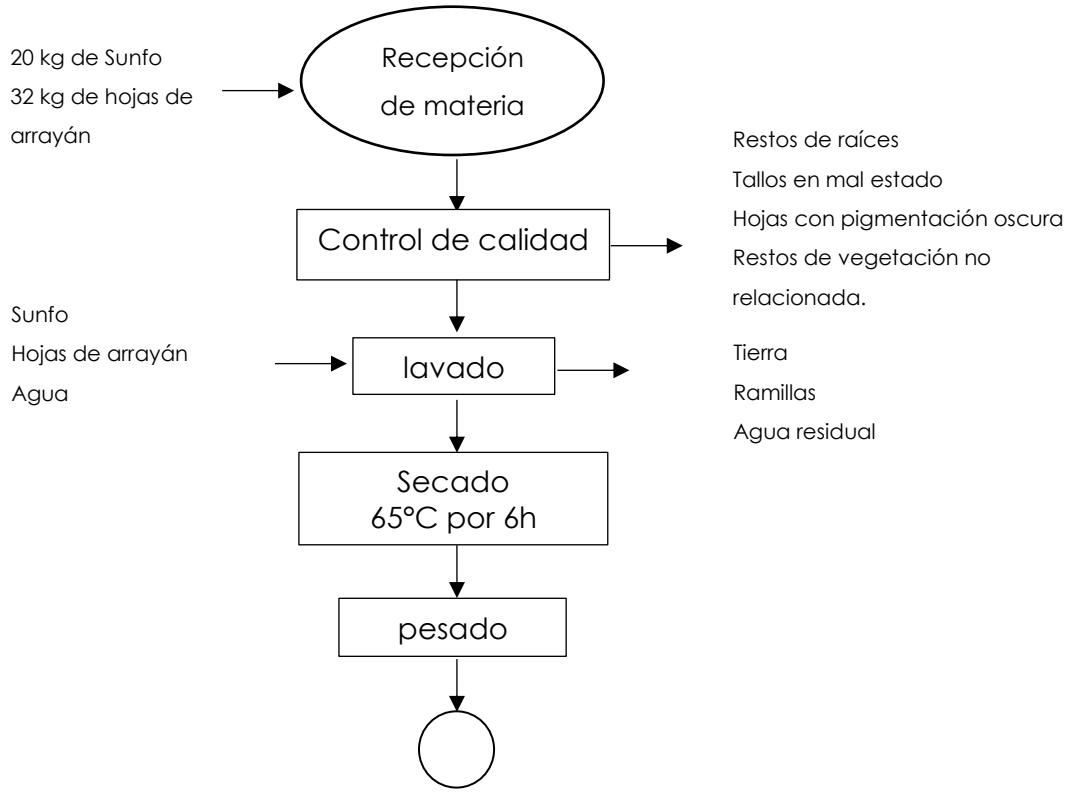
3.4. MÉTODOS UTILIZADO

3.4.1. Obtención de aceites esenciales

3.4.1.1. Extracción por arrastre de vapor

Para la realización de la extracción por arrastre de vapor, se siguió los procedimientos en base con la normativa ISO 4728:2003 (ISO, 2020). Esta metodología se basa en la suspensión de la materia prima, en este caso de la planta de Sunfo y hojas de arrayán, en agua caliente, la destilación se realizó a 85 °C ± 5 durante 1 hora y 30 minutos, manteniendo condiciones operativas controladas en el equipo de extracción de 20 L en acero inoxidable, donde, el vapor de agua arrastra los compuestos volátiles presentes en las plantas. El vapor, junto con los aceites esenciales, se conduce a través de un sistema de refrigeración donde se condensa y se separa en una fase líquida compuesta por una fracción acuosa (hidrolato) y una fracción lipófila correspondiente al aceite esencial, el cual posteriormente se recupera mediante decantación y almacenado en frascos ámbar para su conservación.

Con el fin de facilitar la comprensión del procedimiento aplicado para la obtención de los aceites esenciales de sunfo y hojas de arrayán, a continuación, se presenta la figura 3 donde se indica el diagrama de flujo del proceso de extracción por arrastre de vapor.



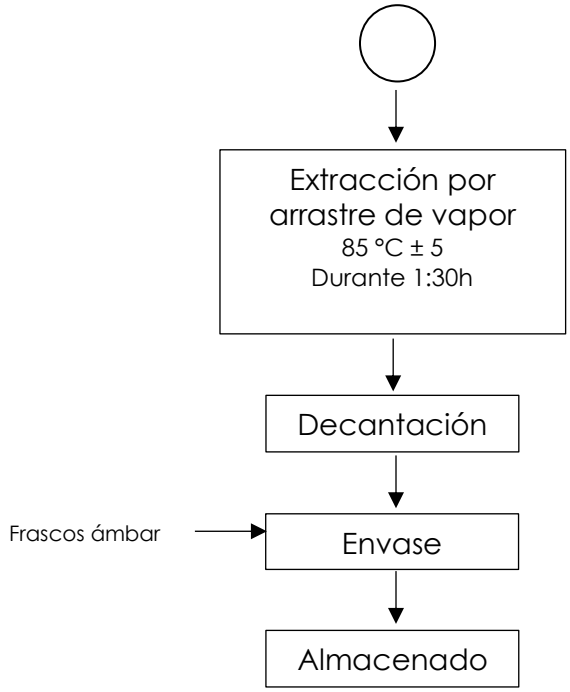


Figura 3. Flujograma del proceso de extracción de aceites esenciales

Descripción del diagrama de flujo

Materia prima

La materia prima utilizada en este estudio fue recolectada en lugares específicos donde la planta de sunfo es conocida por crecer abundantemente, especialmente en la zona de Cayambe a través de los vendedores que ofrecen esta planta en zonas rurales cercanas al paramo. Además, las hojas de arrayán se recolectaron principalmente en las zonas rurales de Tabacundo, donde se sabe que esta planta crece en condiciones óptimas.

Recepción de la materia prima

La materia prima obtenida debe ser transportada rápidamente para preservar la calidad de las plantas, ya que, debido a su alto contenido de humedad, estas se vuelven altamente perecederos y pueden perder parte de sus cualidades bioquímicas. En este estudio se recolectaron aproximadamente 20 kg de sunfo y 32 kg de hojas de arrayán, cantidades que se consideraron adecuadas para el proceso de extracción. De acuerdo con Sevillano et al. (2019) un rango de 10 a 20 kilogramos de materia prima puede ser necesario para obtener entre 15 a 35 ml de aceite esencial, por lo que los volúmenes empleados en esta investigación sirvieron como referencia para garantizar una extracción representativa de los aceites esenciales

destinados a su posterior análisis y aplicación en la evaluación de la vida útil de la carne de res.

Control de calidad

La materia prima que ha sido recolectada debe pasar por un proceso de clasificación para separar las partes que puedan producir un efecto contraproducente a las propiedades químicas, para ello se excluye los restos de raíces, tallos en mal estado, hojas con pigmentación oscura y restos de vegetación no relacionada.

Lavado

Es necesario lavar las hojas de las plantas, ya que tanto como en sunfo y el arrayan contienen partículas propias del medio donde habitan y al no realizar un correcto lavado afectarían a las propiedades químicas del aceite esencial, por ello se emplea un lavado con abundante agua en series repetidas hasta lograr una limpieza total.

Secado

Por parte del secado es fundamental para eliminar los restos de humedad que puede presentar las hojas. La materia prima fue sometida a un proceso de secado utilizando un deshidratador a una temperatura de 65°C durante 6 horas, con el fin de reducir el contenido de humedad y favorecer la concentración de los compuestos volátiles. Este procedimiento de secado permitió estandarizar las condiciones de la muestra, disminuir el riesgo de contaminación microbiana y mejorar la eficiencia del proceso de extracción de los aceites esenciales. Una vez alcanzada una textura seca y estable, las plantas fueron almacenadas en recipientes herméticos hasta su uso en el proceso de arrastre de vapor (Quilca, 2016).

Pesado

Una vez finalizado el proceso de secado es necesario realizar un pesado en seco para determinar la cantidad de materia que ingresará al equipo, ya que dependiendo del volumen que soporta los equipos es necesario particionar el volumen inicial de la materia prima para evitar problemas en la extracción.

Extracción por arrastre de vapor

Para la extracción por arrastre de vapor se emplea el uso del equipo de extracción (Dibosh de 20L, China), donde caben aproximadamente 4 kg por planta, para ello se realiza varias series de extracción hasta culminar con el total de materia prima a usar. Los parámetros a tener en cuenta es la temperatura de 85°C que es la óptima para

evitar que los compuestos volátiles se evaporen antes de presentar una decantación, así mismo el tiempo empleado por cada serie es aproximadamente de 150 minutos con ello se asegura de extraer la mayor cantidad de aceite esencial.

Decantación

El aceite e hidrolato obtenidos por el proceso de extracción se deben ubicar en un embudo de separación y dejar reposar de 2 a 4 horas para que estos puedan decantar y separarse en su totalidad.

Envasado y almacenado

El aceite obtenido se debe guardar en envases que eviten el ingreso de luz y eviten el traspaso de componentes del exterior, siendo los frascos ámbar la mejor opción para usar. Se recomienda almacenar el aceite en medios oscuros y secos para evitar su degradación y mantener la calidad del aceite esencial.

3.4.2. Análisis de propiedades de los aceites

3.4.2.1. Análisis fisicoquímico

3.4.2.1.1. Densidad

La determinación de la densidad de los aceites esenciales se realizó con base en la normativa ISO 279 (ISO, 2026), la cual establece el procedimiento para relacionar la masa y el volumen de una muestra a una temperatura controlada de 20 °C.

La densidad se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$Densidad = \frac{masa}{volumen}$$

Materiales

- Balanza analítica
- Pipeta de 2 mL
- Hornilla
- Vaso de precipitación de 25 mL

Procedimiento

Se pesó previamente el vaso de precipitación de vacío en la balanza analítica. Posteriormente, se tomó un volumen de 2 mL del aceite esencial mediante una pipeta y se depositó en el vaso. Se registró nuevamente el peso total y se determinó la masa del aceite por diferencia. La densidad se calculó dividiendo la masa obtenida entre el volumen utilizado, expresando el resultado en g/mL. El análisis se realizó a temperatura ambiente cercana a 20 °C, según lo recomendado por la normativa.

3.4.2.1.2. Acidez

La acidez de los aceites esenciales se determinó siguiendo el método de Say et al. (2024), el cual consiste en una titulación ácido–base, utilizando una solución de hidróxido de sodio (NaOH) a una concentración de 0.1N y un indicador de pH como fenolftaleína o tornasol. Este análisis permite evaluar la cantidad de ácidos libres presentes en el aceite, lo cual es un parámetro relevante para estimar su estabilidad, calidad y posible grado de oxidación

Para la acidez se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$Acidez\ (\%) = \frac{V \times N \times 56.1}{g\ muestra} \times 100$$

Donde:

V = volumen de NaOH gastado en la titulación (mL)

N = normalidad del NaOH

56.1 = peso equivalente del KOH (mg/mmol)

g = masa de la muestra (g)

Materiales

- Bureta para dispensar con precisión la solución base.
- Pipeta para medir la cantidad precisa de muestra a analizar.
- Solución de base NaOH al 0.1N
- Indicador de pH (fenolftaleína o tornasol).
- Erlenmeyer u otro recipiente para contener la muestra.

Procedimiento

Se colocó un volumen de 5 mL de aceite esencial en un Erlenmeyer y se adicionaron unas gotas del indicador de pH. Posteriormente, se tituló la muestra con la solución de NaOH desde la bureta hasta observar el cambio de color del indicador, señalando el punto final de la titulación. El volumen de NaOH consumido fue registrado y utilizado para calcular el valor de acidez del aceite.

3.4.2.1.3. pH

El pH de los aceites esenciales se determinó utilizando un medidor de pH con electrodo de vidrio, lo que permite conocer el grado de acidez o alcalinidad de la muestra, siguiendo la metodología de Orellana y Yépez (2021). Este parámetro es importante para caracterizar el comportamiento químico del aceite y su posible interacción con matrices alimentarias.

Materiales

- Medidor de pH o electrodo de vidrio.
- Solución buffer de pH referencial para calibrar el medidor o electrodo.
- Muestra a analizar.

Procedimiento

Previamente se calibró el medidor de pH utilizando soluciones buffer de referencia. Luego, se colocó 5 mL de la muestra en un vaso de precipitación y se introdujo el electrodo de vidrio, asegurando una correcta inmersión. Se agitó suavemente la muestra para homogeneizar y se registró el valor de pH mostrado en el equipo una vez que la lectura se estabilizó.

3.4.3. Evaluación in vitro de la actividad microbiana

3.4.3.1. Preparación del aceite esencial

3.4.3.1.1. Proporción entre aceites

La preparación de los aceites esenciales fue mediante uso de la proporción de la cantidad ya determinada, como se presenta en la tabla 5:

Tabla 5. Proporciones de aceite usadas para pruebas de susceptibilidad.

Combinación	Proporción de Sunfo (A)	Proporción de Arrayán (B)
A	100%	0%
B	0%	100%
A-B	70%	30%
A-B	50%	50%
A-B	30%	70%

Donde la cantidad final usada por cada combinación fue de 1 ml, y la proporción fue determinada de la siguiente manera presentada en la tabla 6:

Tabla 6. Cantidad de aceite esenciales usada para la combinación sinérgica.

Sunfo (A) mL	Arrayán (B) mL	Cantidad final mL
1	0	1
0	1	1
0.7	0.3	1
0.5	0.5	1
0.3	0.7	1

3.4.3.2. Inoculación del microorganismo

3.4.3.2.1. Obtención de la cepa pura

Se obtuvo una cepa pura de *Pseudomonas fluorescens* ATCC 13525 procedente de Estados Unidos de la empresa Microbiologics e importado por un laboratorio autorizado llamado MEDiBAC de Ecuador, esto debido a que el microorganismo con

el cual se va a trabajar no se lo puede obtener fácilmente por otras metodologías de crecimiento microbiológico.

3.4.3.2.2. Inoculación

Una vez obtenida la cepa de *Pseudomonas fluorescens*, se procedió a su reactivación y cultivo en el laboratorio mediante técnicas microbiológicas estandarizadas. Para el crecimiento en fase líquida se utilizó caldo infusión cerebro-corazón (Brain Heart Infusion, BHI), el cual es un medio nutritivo ampliamente recomendado para bacterias psicrótrofas y Gram negativas, debido a su alto contenido de nutrientes que favorecen una rápida multiplicación celular (Madigan et al., 2018).

La inoculación en medio líquido se realizó mediante siembra directa, utilizando un hisopo estéril previamente impregnado con la cepa liofilizada de *Pseudomonas fluorescens*. El hisopo fue introducido cuidadosamente en un frasco que contenía 250 mL de caldo infusión cerebro-corazón (BHI), el cual había sido previamente esterilizado, garantizando condiciones asépticas durante todo el procedimiento para evitar contaminaciones externas (Microbiologics, 2025).

3.4.3.2.3. Incubación

Una vez inoculado, este se procedió a incubar en el shaker (Boeco, ES-20/80, Alemania) para su crecimiento durante aproximadamente 24 horas a la temperatura óptima de 25°C y a una velocidad del equipo de 130 rpm (Microbiologics, 2025).

3.4.3.2.4. Seguimiento del crecimiento

Durante el período de incubación, se realizó un seguimiento periódico del crecimiento bacteriano mediante la observación de cambios en la turbidez del medio de cultivo a intervalos de 2 horas, con el fin de identificar la fase de crecimiento exponencial del microorganismo. La turbidez del cultivo es un indicador indirecto del incremento de la biomasa bacteriana y se relaciona directamente con la multiplicación celular durante las fases logarítmica y estacionaria del crecimiento microbiano (Madigan et al., 2018).

3.4.3.2.5. Ajuste de la concentración celular

La densidad óptica del cultivo bacteriano se determinó mediante el uso de un espectrofotómetro (lovibond, SpectroDirect, Alemania) con el objetivo de estimar la concentración celular. Posteriormente, se tomó del 1 mL caldo madre utilizando una micropipeta estéril y se transfirió a un matraz que contenía agua estéril, con el fin de

facilitar la homogenización y el ajuste del inóculo. A partir de esta suspensión, se ajustó la concentración celular a un rango aproximado de 1 a 1,5 × 10^8 UFC/mL, equivalente a una turbidez similar al estándar 0,5 de McFarland, metodología ampliamente utilizada para la estandarización de inóculos bacterianos en estudios microbiológicos (CLSI, 2020).

3.4.3.3. Ensayo de sensibilidad antimicrobiana por difusión en agar

3.4.3.3.1. Técnica de difusión en disco en agar (Kirby–Bauer)

El ensayo de sensibilidad antimicrobiana se realizó mediante la técnica de difusión en disco en agar, conocida como método de Kirby–Bauer, adaptada de Mamani (2017), la cual permite evaluar la actividad antimicrobiana de compuestos naturales a partir de la formación de halos de inhibición alrededor de discos impregnados.

Esta técnica comprende una serie de etapas secuenciales: preparación del medio sólido, estandarización del inóculo, impregnación de discos, inoculación, incubación y medición de halos, las cuales se describen a continuación.

3.4.3.3.2. Difusión en discos impregnados con aceite

Se determinó la eficacia de la combinación de los aceites esenciales siguiendo la metodología de Kirby-Bauer (Mamani, 2017). Se emplearon discos de papel estériles impregnados con 20 µL de las combinaciones de aceites esenciales en proporciones 70:30, 50:50 y 30:70 (A/B), además de tres controles (blanco, positivo y negativo).

Los discos se colocaron sobre placas Petri previamente preparadas con 25 mL de agar e inoculadas con 100 µL del cultivo bacteriano ajustado a una concentración aproximada de 1,5 × 10^8 UFC/mL.

Las placas fueron incubadas a 25 °C durante 24 horas, tras lo cual se midieron los halos de inhibición alrededor de cada disco.

3.4.3.3.3. Preparación de agar

Para permitir el crecimiento adecuado de *Pseudomonas fluorescens*, se utilizó como medio sólido el Agar Pseudomonas Base I, el cual contiene una composición selectiva y nutritiva para este microorganismo. La preparación consistió en pesar en proporción con respecto a la cantidad correspondiente de medio en polvo basado en lo indicado por la ficha técnica del proveedor (48.4 g por cada litro de agua destilada), adicionando además 10 mL de glicerol para enriquecer el medio. La cantidad necesaria para el ensayo fue de 120 mL de agar. Esta mezcla fue calentada hasta

disolverse completamente, procurando una agitación constante para evitar la formación de grumos y finalmente se esterilizó en autoclave a 121 °C por 15 minutos.

Posteriormente, el medio fue enfriado a una temperatura aproximada de 45-50 °C, momento en el cual se vertió cuidadosamente en cajas Petri estériles, utilizando condiciones asépticas dentro de una cabina de flujo laminar y trabajando junto a una lampara de alcohol para preservar la esterilidad del ambiente. Se vertieron aproximadamente 20 mL de medio por caja, cantidad suficiente para cubrir el fondo uniformemente. Las cajas fueron dejadas en reposo hasta que el agar se solidificó completamente, y se almacenaron a temperatura ambiente hasta su uso.

3.4.3.3.4. Preparación de los discos

Se prepararon discos de papel filtro con un diámetro aproximado de 6 mm, los cuales fueron previamente esterilizados mediante autoclave. Una vez fríos, los discos fueron impregnados con 20 µL de las combinaciones de aceites esenciales en proporciones de 70-30%, 50-50% y 30-70% entre aceite esencial A y B. La impregnación se realizó utilizando micropipetas estériles, depositando el volumen directamente sobre cada disco y dejándolos secar en condiciones asépticas antes de su aplicación durante aproximadamente 5 minutos.

3.4.3.3.5. Inoculación del microorganismo

La inoculación del microorganismo se realizó mediante uso de la *Pseudomona* ya previamente obtenida en una concentración $1x10^8$ UFC/mL (concentración equivalente al estándar de McFarland 0.5). Posteriormente, se aplicaron 100 µL del inóculo sobre la superficie del agar y se distribuyeron uniformemente mediante un asa de Drigalsky, como lo indican los lineamientos para pruebas de susceptibilidad antimicrobiana establecidos por el Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2020).

3.4.3.3.6. Aplicación de discos con aceite esencial

Una vez inoculadas las placas con el microorganismo, se colocaron los discos impregnados con aceite esencial sobre la superficie del agar. Los discos fueron ubicados distantemente en la caja para evitar la interferencia entre halos de inhibición.

3.4.3.3.7. Incubación

Las cajas Petri preparadas fueron incubadas a 25 °C durante 24 horas en una incubadora de cultivo. Transcurrido el tiempo, se procedió a medir los halos de inhibición generados alrededor de los discos con ayuda de un pie de rey, tomando nota del diámetro total del halo para cada tratamiento. Esta información fue fundamental para determinar qué combinación de aceites resultó más efectiva contra *Pseudomonas fluorescens*, esto para estimar posteriormente la concentración mínima inhibitoria (CMI).

3.4.4. Determinación de la concentración mínima inhibitoria

3.4.4.1. Preparación de agar

Para determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) de los aceites esenciales frente a *Pseudomonas fluorescens*, se preparó nuevamente el medio sólido Agar Pseudomonas Base I siguiendo el mismo procedimiento ya descrito en la anterior sección.

3.4.4.2. Aplicación de concentraciones del aceite

Para la determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) de la combinación de aceites esenciales frente *a Pseudomonas fluorescens*, se trabajó con rangos progresivos de concentración, siguiendo un esquema escalonado similar al propuesto por métodos de evaluación antimicrobiana con compuestos naturales descritos por Mamani (2017), Burt (2004) y CLSI (2020), quienes recomiendan iniciar con concentraciones bajas y aumentar gradualmente hasta observar inhibición completa del crecimiento. Las fases se dividieron de la siguiente manera:

- Fase 1: Se evaluaron concentraciones de 0,125%; 0,25%; 0,5%; 1%; 2% y 5%, aplicando el método de difusión en pozos en agar, en el cual se depositaron 30 µL de cada concentración en cavidades previamente realizadas en el medio sólido, de acuerdo con lo descrito por Mamani (2017) para extractos y aceites esenciales.
- Fase 2: Se trabajó con concentraciones intermedias de 2,5%; 5%; 10%; 20% y 40%, empleando la técnica de incorporación del compuesto al medio, donde el aceite fue mezclado directamente con el agar fundido antes de solidificar, metodología adaptada de Burt (2004) y Tajkarimi et al. (2010) para evaluar compuestos lipofílicos con actividad antimicrobiana.

- Fase 3: Se evaluaron concentraciones altas de 70%; 80%; 90% y 100%, replicando el procedimiento de la fase 2, con el fin de confirmar el punto en el cual se inhibe completamente el crecimiento bacteriano, tal como sugieren los protocolos de determinación de CMI para sustancias naturales reportados por CLSI (2020).

Este diseño por fases permitió identificar de manera progresiva el rango efectivo del aceite esencial, evitando el uso innecesario de concentraciones extremas desde el inicio y garantizando una evaluación más precisa de su actividad antimicrobiana.

3.4.4.3. inoculación del microorganismo

Por parte de la inoculación se realizó una siembra por extensión con un aza de Drigalsky, donde se añadió 100 µL del medio cultivo liquido de *Pseudomonas fluorescens*.

3.4.4.4. Incubación

Las cajas Petri se incubaron a 25 °C por un periodo de 24 horas. Pasado este tiempo, se analizaron los medios de cultivo y verificó si existe crecimiento microbiológico. Se consideró como concentración mínima inhibitoria (CMI) aquella en la cual se observó una inhibición visible, indicando que a partir de dicha concentración el aceite esencial ejercía un efecto antimicrobiano contra *Pseudomonas fluorescens*.

3.4.5. Aplicación del aceite en la carne

3.4.5.1. Adquisición y preparación de las muestras de carne

La carne se obtuvo en un local comercial de carne de la zona de Tulcán, la parte a elegir para el estudio fue el corte llamado "Salón" que es un corte magro ubicado en la parte posterior de la pierna de res.

Las muestras elegidas fueron obtenidas lo más reciente a su faenamiento, para garantizar un seguimiento correcto del estudio. Continuamente se lo almaceno en refrigeración a 4 °C hasta su uso.

3.4.5.2. Esterilización de la carne

Para el uso de la carne fue necesario realizar previamente una esterilización con el fin de evitar el crecimiento de otro microorganismo del interés del estudio. Para ello se preparó una solución de hipoclorito de sodio a una concentración de 100 ppm, de acuerdo con Montero y Acero (2013) que indican que el hipoclorito de sodio es eficaz para erradicar microorganismos presentes en canales de res, por ello se utilizó el hipoclorito de sodio comercial (Clorox) que contiene una concentración del 5%

como medio para esterilizar los cortes de carne de res, con ello se procede a calcular la cantidad de hipoclorito de sodio a usar por cada litro usado, se lo realiza mediante la siguiente formula:

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

Donde:

C_1= Concentración inicial (5% = 50,000 ppm)

V_1= Volumen a obtener de la solución concentrada

C_2= Concentración deseada (100 ppm)

V_2= Volumen de la solución a emplear (1L = 1000 mL)

Dando el siguiente resultado:

$$V_1 = \frac{(100 \times 1000)}{50\ 000} = 2\ mL$$

Que indica que se debe usar 2 mL por cada litro de agua a usar para esterilizar la carne de res.

3.4.5.3. Preparación de muestras

La carne una vez esterilizada, se la ubicó en una cámara de flujo estéril y con uso de herramientas estériles, se procedió a realizar cortes tipo filetes de 25g, continuamente se lo ubica en fundas ziploc hasta su uso.

3.4.5.4. Inoculación en carne

Para la inoculación en la carne de res se realizó en base a tratamientos/controles de acuerdo con la tabla 7:

Tabla 7. Aplicación de inoculo entre los tratamientos a analizar.

Tratamiento	Aplicación de inoculo
C1 (carne sola)	No
C2 (carne + *Pseudomonas fluorescens*)	Si
T1 (carne + *Pseudomonas flurescens* + AE)	Si

La aplicación del inoculo se realizó mediante el uso de un atomizador para administrar una aplicación por toda el área del corte de la carne de res.

3.4.5.5. Aplicación del aceite

Al igual que la inoculación se realizó la aplicación del aceite esencial solo al tratamiento T1, debido a que los otros dos son controles para comprar los resultados del seguimiento, su inoculación se aplicó mediante uso de un atomizador garantizando que toda el área este empleado el aceite esencial.

3.4.5.6. Empaquetado y etiquetado de las muestras

El tratamiento y los controles para analizar fueron empacadas en fundas ziploc para garantizar un sellado hermético y evitar el ingreso de oxígeno del exterior. Para el etiquetado se realizó en base a la Figura 4:

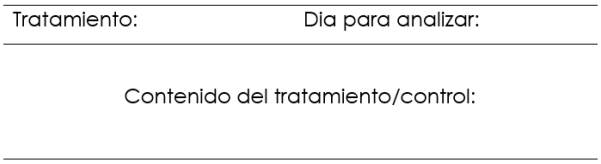


Figura 4. Formato de etiquetado de las fundas ziploc

Finalizado el proceso se lo ubicó a una refrigeradora a una temperatura de 4 °C.

3.4.6. Análisis de efectos del aceite en las propiedades en la carne

3.4.6.1. Análisis fisicoquímicos

3.4.6.1.1. TVB-N (nitrógeno básico volátil total)

La determinación del nitrógeno básico volátil total (TVB-N) se realizó mediante el método de destilación Kjeldahl modificado, adaptado de Maghraby et al. (2013).

Materiales

- Digestor Kjeldahl con matraz de destilación y condensador.
- Reactivos químicos: ácido sulfúrico 0,025 N (H_2SO_4), ácido tricloroacético al 7,5%, hidróxido de sodio (HaOH) al 10% y ácido bórico al 4% (H_3BO_3)
- Equipos de destilación y valoración: matraz Erlenmeyer, bureta y solución indicadora Shiro Tashiro.

El procedimiento que se sigue para el análisis de grasas es el siguiente:

- Se pesa 25 g de carne, la cual debe ser triturada y mezclada con 50 mL de ácido tricloroacético al 7,5%
- Se filtra la mezcla con uso de un papel filtro Whatman n°1 para obtener un extracto transparente
- Pipetear 25 mL del extracto al tubo de destilación
- Agregar 30 mL de NaOH al 10% y 100 mL de agua destilada en el equipo

- Recoger el destilado en un matraz que debe contener 25 mL de H_3BO_3 al 4% juntamente con un indicador
- El destilado debe ser titulado con H_2SO_4 0,025N hasta cambiar de tonalidad verde a rosa.

3.4.6.1.2. Grasas

La cuantificación del contenido de grasa en la carne se realizó siguiendo la metodología AOAC 960.39 (2019), la cual se basa en la extracción de los lípidos mediante solvente orgánico, utilizando un sistema Soxhlet, después de una hidrólisis ácida que permite liberar la fracción grasa retenida en la matriz proteica de la muestra.

Materiales

- Extractor Soxhlet
- Balanza analítica con precisión de 0,0001 g.
- Estufa de secado (100–105 °C).
- Papel filtro libre de grasa (Whatman n.º 41).
- Cápsulas de aluminio o crisoles previamente secos y tarados.
- Dedales de extracción
- Reactivos químicos: éter dietílico de grado analítico.

El procedimiento que se sigue para el análisis de grasas es el siguiente:

- Se pesaron entre 2 y 5 g de muestra de carne finamente triturada
- la muestra transfiere a un papel filtro y colocar en un cartucho extractor para ser sometido a extracción
- añadir 60 mL de éter dietílico en los casos y ubicarlos el equipo Soxhlet
- Se programa el equipo para la extracción mediante la carga del solvente hacia la muestra durante 1 hora con 30 minutos, para la fase de vaciado necesita 30 minutos y para la recuperación del solvente se programa para 10 minutos, esto debe estar controlado a una temperatura de 200°C
- Finalmente, se registra el peso de la grasa extraída para calcular el contenido total de grasa en la muestra.

3.4.6.1.3. Cenizas

De acuerdo con la norma NTE INEN 781, se empleó el método de incineración para determinar el contenido de cenizas en la carne. En este método, la muestra de carne se incinera a alta temperatura para eliminar toda la materia orgánica, dejando

únicamente las cenizas, que se pesan y calculan como porcentaje de la muestra original.

Materiales

- Horno de incineración con control de temperatura.
- Cápsulas de porcelana o crisoles previamente calcinados.
- Pinzas para manipulación de las cápsulas y crisoles.
- Desecador para enfriar y almacenar las muestras después de la incineración.
- Balanza analítica para pesar las muestras antes y después de la incineración.

El procedimiento por seguir para realizar el análisis de cenizas es el siguiente:

- Lavar y secar las capsulas de porcelana
- Calcinar en una mufla a 550°C durante 1 hora y enfriar en el desecador hasta enfriar
- Registrar el peso de las cápsulas
- Agregar de 2 a 5 g de carne y colocar en una estufa para carbonizarla
- Llevar la muestra carbonizada a la mufla a 550 °C por 6 horas
- Colocarlo en el desecador durante 30 minutos
- Pesar la capsula con el residuo

3.4.6.2. Análisis microbiológico

Para el análisis microbiológico se sigue la metodología presentada por Mendes et al. (2018), con ligeras modificaciones.

Las muestras de carne fueron almacenadas en refrigeración durante 14 días, período en el cual se realizaron siete análisis microbiológicos, efectuados en intervalos regulares (cada dos días). En cada punto de muestro se tomaron 25 g de muestra, los cuales, se colocó en una funda de polietileno de baja densidad en adición con 225 mL de agua peptona al 0.1% V/V y se los homogenizo en el equipo Stomacher (Stomacher-400 circulator, Reino Unido) por 3 minutos a una revolución de 300 rpm. Las suspensiones fueron diluidas en series de agua peptona al 0.1% V/V hasta llegar a una concentración de 10^{-5}, donde se utilizó 100 µL y añadió en agar pseudomona base I, por último, se ubicó las placas en la incubadora a una temperatura de 27°C durante 24h para su posterior conteo de UFC.

Los resultados se expresaron como log UFC/g y se compararon con el umbral de deterioro microbiológico reportado en carne refrigerada, establecido alrededor de

1×10^7 UFC/g, valor en el cual bacterias psicrótrofas como *Pseudomonas spp*. predominan y generan el deterioro del producto Wickramasinghe et al. (2019).

3.5. DISEÑO EXPERIMENTAL

El diseño experimental diseñado para este estudio está clasificado en dos fases experimentales (fase 2 y 3) y una subfase (fase 2,1), esto con el propósito de determinar la proporción y concentración optima de aceites esenciales con efecto inhibitorio frente a *Pseudomonas fluorescens*, y posteriormente evaluar su efecto conservante en carne de res durante el almacenamiento refrigerado.

3.5.1. Fase 2

En esta fase se evaluó la actividad antimicrobiana de diferentes proporciones de aceites esenciales A y B frente a *Pseudomonas fluorescens*, mediante la medición de los halos de inhibición (mm) obtenidos por la técnica de difusión en agar. Se trabajará con un factor (concentración de aceites esenciales) y cinco niveles, correspondientes a los cinco tratamientos (T1–T5), cada uno con cuatro repeticiones, bajo un diseño completamente al azar (DCA) como lo indica en la tabla 8.

Tabla 8. Formulación de proporcionalidad entre aceites esenciales.

Tratamiento	Proporcionalidad	Repeticiones
T1	100% sunfo	4
T2	100% arrayan	4
T3	75% sunfo – 25% arrayan	4
T4	50% sunfo – 50% arrayan	4
T5	25% sunfo – 75% arrayan	4

El experimento se conformó por 5 tratamientos con 4 repeticiones cada uno, para un total de 20 unidades experimentales, bajo un diseño completamente al azar.

Previo al análisis comparativo, los datos se someten a la verificación de los supuestos estadísticos necesarios para definir el tipo de prueba a emplear. Para ello, se evalúa la normalidad mediante la prueba de Shapiro–Wilk y la homogeneidad de varianzas mediante la prueba de Levene.

Cuando los datos cumplen con ambos supuestos ($p > 0,05$), se utiliza un ANOVA de una vía, seguido de la prueba de Tukey para la comparación de medias ($a = 0,05$). En caso contrario, se recurre a la prueba no paramétrica de Kruskal–Wallis, complementada con la prueba de Dunn para identificar diferencias entre tratamientos.

3.5.1.1. Subfase 2,1

En esta fase se determinó la concentración mínima inhibitoria del aceite esencial seleccionado en la Fase 1.

Se evaluaron diferentes proporciones de aceite esencial (AE) con aceite vegetal como vehículo (AV), expresadas como porcentaje del AE respecto al AV.

El criterio de selección fue presencia o ausencia de crecimiento bacteriano en las placas.

El diseño experimental corresponde a un diseño completamente al azar (DCA) de un solo factor, donde el factor evaluado fue la concentración de aceite esencial, con cuatro niveles (70%, 80%, 90% y 100%), además de los respectivos controles. Esta información se presenta en la tabla 9.

Tabla 9. Tratamientos y proporcionalidad empleados para determinación de CMI

Tratamiento	Proporcionalidad	Repeticiones
T1	AE70% (AE:AV 70:30)	4
T2	AE80% (AE:AV 80:20	4
T3	AE90% (AE:AV 90:10)	4
T4	AE100%	4
T5	CA	4
T6	CB	4
T7	CC	4

El experimento estuvo constituido por 7 tratamientos con 4 repeticiones cada uno, dando un total de 28 unidades experimentales, bajo un diseño completamente al azar (DCA).

Análisis estadístico: Descriptivo, basado en presencia/ausencia de crecimiento bacteriano.

3.5.2. Fase 3

En esta fase se aplicó el aceite esencial sobre carne de res inoculada con *Pseudomonas fluorescens*, incorporando además dos controles, con el objetivo de evaluar y comparar el efecto sobre las características bromatológicas, fisicoquímicas y microbiológicas durante el almacenamiento refrigerado (4 °C).

El experimento se estructuró bajo un diseño simple de un factor en un diseño completamente al azar (DCA). El factor evaluado correspondió a la adición del aceite esencial en carne inoculada con *Pseudomonas fluorescens*, considerando dos niveles:

- Presencia de aceite esencial
- Ausencia de aceite esencial

La comparación principal se realizó entre carne inoculada sin aceite esencial (C1) y carne inoculada con aceite esencial (T1), con el fin de evaluar el efecto del tratamiento sobre el deterioro de la carne durante el almacenamiento. Adicionalmente, se incluyó un control basal correspondiente a carne sin inoculación y sin aplicación de aceite esencial (C2), el cual se utilizó como referencia del comportamiento natural del producto.

Los tratamientos evaluados fueron:

- T1: Carne inoculada con *Pseudomonas fluorescens* con aceite esencial
- C1: Carne inoculada con *Pseudomonas fluorescens* sin aceite esencial
- C2: Carne sin inoculación y sin aceite esencial (carne sola)

La asignación de las unidades experimentales se realizó bajo un diseño completamente al azar (DCA), garantizando condiciones homogéneas durante el almacenamiento como se presenta en la tabla 10.

Tabla 10. Metodología de aplicación del aceite en carne.

Tratamiento	Proporcionalidad	Repeticiones
T1	Carne + *Pseudomonas fluorescens* + AE	3
C1	Carne + *Pseudomonas fluorescens*	3
C2	Carne sin *Pseudomonas fluorescens* y sin AE (carne sola)	3

Unidad experimental: 25 g de carne.

Condiciones de almacenamiento: 4°C

Duración del experimento: 14 días, con muestreos cada 2 días (7 tiempos de evaluación).

3.5.3. Análisis estadístico

Para la interpretación de los resultados experimentales se aplicó un análisis estadístico con el fin de determinar la existencia de diferencias significativas entre tratamientos y su comportamiento a lo largo del tiempo.

Previamente, los datos de cenizas, grasa, TVB-N y recuento microbiológico (UFC/g) fueron evaluados para verificar los supuestos de normalidad, homogeneidad de varianzas, independencia y aleatoriedad. La normalidad se evaluó mediante la

prueba de Shapiro–Wilk y la homogeneidad de varianzas mediante la prueba de Levene.

Cuando los datos cumplieron con los supuestos ($p > 0,05$), se aplicó un análisis de varianza (ANOVA). Para las variables evaluadas en función del tiempo (TVB-N y recuento microbiológico), se empleó un diseño factorial considerando como factores el tratamiento (C1, C2 y T1) y el tiempo de almacenamiento (días), con el fin de evaluar tanto los efectos individuales como la interacción entre ambos factores.

Posteriormente, para identificar diferencias específicas entre tratamientos en cada tiempo de almacenamiento, se realizaron análisis independientes por día, aplicando ANOVA de una vía seguido de la prueba de Tukey ($a = 0,05$).

En los casos en que no se cumplieron los supuestos, se aplicó la prueba no paramétrica de Kruskal–Wallis, complementada con la prueba de Dunn para la comparación de medias.

Todos los análisis se realizaron con un nivel de significancia del 5% ($p < 0,05$) utilizando el software RStudio versión 2025.05.0-496.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. RESULTADOS

Fase 1: Proceso de extracción de los aceites esenciales

En la Tabla 11 se presentan los valores obtenidos durante la extracción de aceites esenciales a partir de *Clinopodium nubigenum* (sunfo) y *Myrcianthes hallii* (arrayán), correspondientes a la cantidad de aceite extraído y su respectivo rendimiento.

4.1.1. Parámetros de extracción

Tabla 11. Parámetros de extracción de aceites esenciales de sunfo y arrayán

Parámetros	Unidad	Resultados	
		Sunfo	Arrayan
Temperatura	°C	85 ± 5	85 ± 5
Tiempo	h	1: 30	1: 30
Humedad	%	9.05± 0.1	3.61 ± 0.1
Peso total usado	Kg	17.43	30.73
Cantidad extraída	mL	45	31

Los parámetros de extracción se mantuvieron constantes para ambas especies, con una temperatura de 85 ± 5 °C y un tiempo de 1 h 30 min. La humedad del material vegetal fue de 9,05 ± 0,1 % para sunfo y 3,61 ± 0,1 % para arrayán. Durante la extracción se obtuvieron 45 mL de aceite esencial a partir de 17,43 kg de sunfo y 31 mL a partir de 30,73 kg de arrayán.

En la tabla 12 se presentan los rendimientos obtenidos durante el estudio.

Tabla 12. Rendimientos de extracción de los aceites esenciales

Planta	Rendimiento (%) (media ± DE)
Sunfo	0.26 ± 0.02^{a}
Arrayán	0.101 ± 0.003^{b}

Nota. Los valores corresponden a la media ± desviación estándar.
Letras diferentes en una misma columna indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos ($p < 0.05$).

El rendimiento promedio del aceite esencial de sunfo fue de 0.26 %, mientras que el de arrayán fue de 0.101 %. Previo al análisis comparativo. Estos resultados evidencian

que el aceite esencial de sunfo presentó un mayor rendimiento de extracción en comparación con el arrayán, bajo las mismas condiciones experimentales.

4.1.2. Propiedades fisicoquímicas de los aceites esenciales

Las propiedades fisicoquímicas de los aceites esenciales de sunfo y arrayán se presentan en la Tabla 13.

Tabla 13. Propiedades fisicoquímicas de los aceites esenciales

Planta	pH (media ± DE)	Acidez (media ± DE)	Densidad (media ± DE)
Sunfo	5.39 ± 0.01^{A}	1.48 ± 0.09^{A} mg KOH/g	0.92 ± 0.01^{A} g/mL
Arrayán	4.8 ± 0.01^{B}	1.13 ± 0.11^{B} mg KOH/g	0.91 ± 0.01^{A} g/mL

Nota. Los valores corresponden a la media ± desviación estándar (n = 4).
Letras diferentes en una misma columna indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos ($p < 0.05$).

El aceite de sunfo registró un pH de 5.39, mientras que el de arrayán mostró un valor ligeramente menor (pH 4.8). En cuanto a la acidez, ambos presentan niveles característicos de aceites esenciales siendo el de sunfo de 1.48 mg KOH/g y la del arrayan de 1.13 mg KOH/g. La densidad fue similar en ambos aceites, con valores de 0.92 g/mL para el sunfo y 0.91 g/mL para el arrayán.

Fase 2: Determinación de la proporcionalidad eficaz de los aceites

4.1.3. Evaluación de la susceptibilidad microbiana con uso de aceites esenciales

4.1.3.1. Medición de halos de inhibición

Los halos de inhibición obtenidos tras la realización del cultivo de la *Pseudomona fluorescens* se presentan en la Tabla 14.

Tabla 14. Halos de inhibición frente a Pseudomonas fluorescens (mm)

Tratamiento	Halo (mm)
A (100%)	7.6 ± 0.42^{BC}
B (100%)	0 ± 0^{D}
A-B (70-30%)	7.7 ± 0.87^{B}
A-B (50-50%)	8.6 ± 0.82^{A}
A-B (30-70%)	7.5 ± 0.97^{C}

Nota. Los valores corresponden a la media ± desviación estándar (n = 5).
Letras diferentes en una misma columna indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos ($p < 0.05$).

Los tratamientos que contienen el aceite esencial A presentaron halos de inhibición frente a *Pseudomonas fluorescens*, con valores comprendidos entre 7.5 y 8.6 mm, con

diferencias parciales entre ellos de acuerdo con la prueba de Tukey. La mayor media se registró en la mezcla A–B (50:50) (8.6 ± 0.82 mm), evidenciando la mayor actividad inhibitoria frente a las demás combinaciones. En general, las combinaciones A–B mostraron mayor actividad antimicrobiana que los aceites individuales, destacándose la proporción 50:50 como la formulación con los diámetros de inhibición más amplios.

4.1.4. Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria

Los resultados de la determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) frente a *Pseudomonas fluorescens* se presentan en la Tabla 15.

Tabla 15. Determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) mediante presencia/ausencia de crecimiento

Tratamiento	Concentración final de AE en agar (% v/v)	Inhibición (%)
AE70%	7	0
AE80%	8	100
AE90%	9	100
AE100%	10	100
Control A + (Tetraciclina)	30 µg/mL	100
Control B - (Agar +AV)	0	0
Control C blanco (Agar)	0	0

Nota. Los valores de inhibición corresponden al porcentaje de placas sin crecimiento visible de *Pseudomonas fluorescens* (n = 5). La comparación entre tratamientos se realizó mediante la prueba exacta de Fisher, considerando un nivel de significancia de $p < 0.05$.

La concentración mínima inhibitoria (CMI) se define como la menor concentración capaz de inhibir completamente el crecimiento visible del microorganismo. En este estudio, se observó crecimiento bacteriano en la concentración de AE 70 % (7 % v/v), mientras que las concentraciones de 80, 90 y 100 % (8, 9 y 10 % v/v, respectivamente) mostraron ausencia total de crecimiento en todas las repeticiones evaluada.

En base a estos resultados, se establece que la CMI corresponde a la concentración de AE 80 % (8 % v/v), al ser la menor concentración que logró inhibir completamente el crecimiento de *Pseudomonas fluorescens.*

El control positivo con tetraciclina presentó inhibición completa, mientras que los controles sin aceite mostraron crecimiento en todas las repeticiones, confirmando la viabilidad del microorganismo y la validez del ensayo.

Fase 3: Aplicación del aceite en la carne

4.1.5. Análisis bromatológico

4.1.5.1. Ceniza

Los valores obtenidos para el contenido de ceniza durante el almacenamiento refrigerado se presentan en la Tabla 16. Se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos en todos los días evaluados ($p < 0,05$).

El tratamiento T1 presentó consistentemente los valores más altos (2,36–2,39%), seguido de C2 (2,28–2,32%) y C1 (2,27–2,31%).

Tabla 16. Contenido de ceniza (%) durante el almacenamiento

Grupo experimental	Dia 0	Dia 2	Dia 5	Dia 7	Dia 9	Dia 12	Dia 14
C1	$2,31 \pm 0,02^{Ca}$	$2,29 \pm 0,01^{Ca}$	$2,29 \pm 0,02^{Ca}$	$2,29 \pm 0,01^{Ca}$	$2,27 \pm 0,01^{Cb}$	$2,27 \pm 0,03^{Cb}$	$2,27 \pm 0,04^{Cb}$
C2	$2,32 \pm 0,03^{Ba}$	$2,31 \pm 0,02^{Ba}$	$2,3 \pm 0,01^{Ba}$	$2,3 \pm 0,01^{Ba}$	$2,3 \pm 0,01^{Ba}$	$2,28 \pm 0,01^{Bb}$	$2,29 \pm 0,01^{Bb}$
T1	$2,39 \pm 0,02^{Aa}$	$2,38 \pm 0,03^{Aa}$	$2,37 \pm 0,03^{Aa}$	$2,37 \pm 0,03^{Aa}$	$2,36 \pm 0,02^{Aa}$	$2,36 \pm 0,01^{Aa}$	$2,36 \pm 0,02^{Aa}$

Nota. Valores expresados como media ± desviación estándar (n = 3).
Las letras diferentes en la misma fila indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos según ANOVA y prueba de Tukey ($p < 0,05$).

4.1.5.2. Grasa

Los resultados del contenido de grasa durante el almacenamiento se presentan en la Tabla 17. Se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos en todos los días evaluados ($p < 0,05$). El tratamiento T1 presentó consistentemente los valores más altos (23,56–24,75%), seguido de C2 (17,98–19,54%) y C1 (17,10–18,82%).

Esta diferencia refleja el efecto del aceite esencial aplicado en T1, que influyó en la variación del contenido lipídico respecto a los controles.

Tabla 17. Contenido de grasa (%) durante el almacenamiento refrigerado

Grupo experimental	Dia 0	Dia 2	Dia 5	Dia 7	Dia 9	Dia 12	Dia 14
C1	$18,82 \pm 0,68^{Ca}$	$18,18 \pm 1,75^{Cb}$	$18,18 \pm 0,73^{Cab}$	$17,82 \pm 0,27^{Cb}$	$17,44 \pm 0,73^{Cb}$	$17,26 \pm 1,1^{Cb}$	$17,1 \pm 0,96^{Cb}$
C2	$19,54 \pm 1,00^{Ba}$	$19,25 \pm 0,64^{Ba}$	$19,13 \pm 0,58^{Ba}$	$19,06 \pm 0,14^{Ba}$	$18,6 \pm 0,68^{Bb}$	$18,33 \pm 0,16^{Bb}$	$17,98 \pm 0,26^{Bb}$
T1	$24,75 \pm 0,5^{Aa}$	$24,62 \pm 0,43^{Aa}$	$24,4 \pm 0,1^{Aa}$	$24,13 \pm 0,55^{Aa}$	$23,98 \pm 0,3^{Aa}$	$23,62 \pm 0,26^{Aa}$	$23,56 \pm 0,28^{Aa}$

Nota. Valores expresados como media ± desviación estándar (n = 3).
Las letras diferentes en la misma fila indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos según ANOVA y prueba de Tukey ($p < 0,05$).

4.1.6. Análisis fisicoquímico

4.1.6.1. TVB-N (nitrógeno básico volátil total)

Los valores de TVB-N obtenidos durante el almacenamiento se presentan en la Tabla 18.

Tabla 18. Valores de TVB-N (mg N/100 g) durante el almacenamiento

Grupo experimental	Dia 0	Dia 2	Dia 5	Dia 7	Dia 9	Dia 12	Dia 14
C1	$6,86 \pm 0,64^{Aa}$	$8,68 \pm 0,48^{Ab}$	$10,5 \pm 0,42^{Ac}$	$12,04 \pm 0,24^{Ad}$	$13,58 \pm 0,24^{Ae}$	$15,26 \pm 0,24^{Af}$	$17,64 \pm 0,42^{Ag}$
C2	$7 \pm 0,48^{Aa}$	$9,8 \pm 0,24^{Bb}$	$13,02 \pm 0,24^{Bc}$	$15,26 \pm 0,24^{Cd}$	$17,92 \pm 0,64^{Ce}$	$23,8 \pm 0,64^{Cf}$	$28,98 \pm 0,42^{Cg}$
T1	$7 \pm 0,48^{Aa}$	$9,24 \pm 0,42^{ABb}$	$11,06 \pm 0,24^{Ac}$	$12,88 \pm 0,24^{Bd}$	$15,12 \pm 0,42^{Be}$	$16,8 \pm 0,42^{Bf}$	$21,56 \pm 0,64^{Bg}$

Nota. Valores expresados como media ± desviación estándar (n = 3).
Letras mayúsculas diferentes en una misma columna indican diferencias significativas entre tratamientos ($p < 0,05$).
Letras minúsculas diferentes en una misma fila indican diferencias significativas entre días de almacenamiento ($p < 0,05$).

Durante el almacenamiento, los valores de TVB-N aumentaron progresivamente en todos los tratamientos. En los días 0 y 2 no se observaron diferencias significativas entre tratamientos ($p > 0,05$). Sin embargo, a partir del día 5 y hasta el día 14, el tratamiento C2 presentó valores significativamente mayores ($p < 0,05$) en comparación con C1 y T1.

Por su parte, el tratamiento T1 no mostró diferencias significativas respecto a C1 durante la mayor parte del periodo evaluado, evidenciando un comportamiento similar entre ambos. Este comportamiento sugiere que la aplicación del aceite esencial

contribuyó a retardar la formación de compuestos nitrogenados volátiles, asociados al deterioro proteico de la carne durante el almacenamiento refrigerado.

4.1.7. Análisis microbiológico

Los resultados del comportamiento microbiológico durante el almacenamiento refrigerado se presentan en la Tabla 19.

Tabla 19. Recuento microbiano (log UFC/g) durante el almacenamiento

Grupo experimental	Dia 0	Dia 2	Dia 5	Dia 7	Dia 9	Dia 12	Dia 14
C1	ND (<6 log UFC/g)	$6,1 \pm 0,17^{Ab}$	$6,95 \pm 0,5^{Ac}$	$7,75 \pm 0,04^{Ad}$	$8,01 \pm 0,04^{Ae}$	$8,24 \pm 0,06^{Af}$	$8,49 \pm 0,03^{Ag}$
C2	ND (<6 log UFC/g)	$6,52 \pm 0,07^{Ab}$	$7,83 \pm 0,08^{Ac}$	$8,2 \pm 0,06^{Bd}$	$8,48 \pm 0,03^{Be}$	$8,85 \pm 0,03^{Bf}$	$9,05 \pm 0,06^{Bg}$
T1	ND (<6 log UFC/g)	$6,36 \pm 0,1^{Ab}$	$7,12 \pm 0,02^{Ac}$	$7,96 \pm 0,04^{ABd}$	$8,24 \pm 0,04^{ABe}$	$8,44 \pm 0,05^{ABf}$	$8,66 \pm 0,05^{ABg}$

Nota. Valores expresados como media ± desviación estándar (n = 3). Letras mayúsculas diferentes en una misma columna indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos ($p < 0,05$), mientras que letras minúsculas diferentes en una misma fila indican diferencias significativas entre días para un mismo tratamiento ($p < 0,05$).
ND: No detectable. El límite de detección del método (10^6 UFC/g; 6 log UFC/g) se estableció en función de la dilución mínima sembrada (10^{-5}), conforme a la NTE INEN 1529-5.

En el día 0 no se detectó crecimiento microbiano en ninguno de los tratamientos, encontrándose los valores por debajo del límite de detección del método (<6 log UFC/g), lo que confirma condiciones iniciales homogéneas.

A partir del día 2 se observó un incremento progresivo del recuento microbiano en todos los tratamientos. En los días 2 y 5 no se evidenciaron diferencias significativas entre tratamientos ($p > 0,05$). Sin embargo, desde el día 7 hasta el día 14 se observaron diferencias significativas ($p < 0,05$), donde el tratamiento C2 presentó los valores más altos de crecimiento microbiano, alcanzando 9,05 log UFC/g al final del almacenamiento.

Por su parte, el tratamiento C1 mostró un crecimiento más moderado, mientras que el tratamiento T1 presentó valores intermedios, manteniéndose estadísticamente similar a C1 e inferior a C2 durante la mayor parte del periodo evaluado. En este sentido, las diferencias entre T1 y C2 oscilaron entre 0,24 y 0,71 log UFC/g desde el día 5 hasta el día 14, evidenciando un menor desarrollo microbiano en la carne tratada con aceite esencial.

Considerando como límite de aceptabilidad microbiológica 7 log UFC/g (1×10^7 UFC/g), valor asociado al deterioro microbiológico en carne refrigerada, el tratamiento C2 superó este umbral en el día 5, mientras que el tratamiento T1 lo alcanzó en el día 7, lo que representa una extensión aproximada de 2 días en la vida útil microbiológica del producto Este comportamiento evidencia que la aplicación del aceite esencial contribuyó a retardar el crecimiento microbiano durante el almacenamiento refrigerado.

4.2. DISCUSIÓN

En el presente estudio se evidenció que las combinaciones de aceites esenciales de *Clinopodium nubigenum* (sunfo) y *Myrcianthes hallii* (arrayán) influyeron en la estabilidad fisicoquímica y microbiológica de carne de res almacenada a 4 °C, lo que permitió interpretar su potencial como agentes conservantes naturales y relacionar su comportamiento con sus características fisicoquímicas y su capacidad antimicrobiana.

4.2.1. Rendimiento y características de los aceites esenciales

El rendimiento del aceite esencial de sunfo (0,26%) fue mucho mayor que el obtenido del arrayán (0,091%), lo que indica diferencias importantes entre ambas especies vegetales. Estos valores se encuentran dentro de los rangos reportados para plantas aromáticas obtenidas por arrastre de vapor, donde los rendimientos suelen variar entre 0,05 y 0,5% dependiendo de la especie, el contenido de humedad y las condiciones de extracción (Dhifi et al., 2016).

Las diferencias observadas en el rendimiento se atribuyen principalmente a características intrínsecas de cada especie vegetal, como la estructura anatómica, la distribución de glándulas secretoras y la composición química de los compuestos volátiles. Diversos estudios han demostrado que estos factores determinan la eficiencia de extracción de aceites esenciales, generando variaciones significativas entre especies (Dhifi et al., 2016).

En el presente estudio, la humedad inicial del material vegetal se encontró dentro del rango reportado para plantas aromáticas (3–10 %); sin embargo, al no haber sido controlada experimentalmente, su influencia sobre el rendimiento no puede establecerse de manera concluyente.

En cuanto a las propiedades fisicoquímicas, el aceite de sunfo presentó un pH más alto y una acidez mayor en comparación con el arrayán. Estas diferencias se relacionan principalmente con la composición química propia de cada especie vegetal, ya que los aceites esenciales contienen distintos perfiles de compuestos bioactivos, como alcoholes terpénicos, aldehídos, fenoles y compuestos oxigenados, los cuales influyen directamente en sus características fisicoquímicas y pueden contribuir a un mayor índice de acidez (Dhifi et al., 2016). Además, la presencia de compuestos oxigenados y ácidos orgánicos volátiles generados durante el proceso de extracción puede incrementar la acidez del aceite esencial, lo que también influye en su estabilidad y susceptibilidad a procesos de degradación durante el almacenamiento.

El pH y la acidez son considerados parámetros de calidad e identidad de los aceites esenciales, asociados a la presencia de compuestos ácidos y productos de oxidación, los cuales pueden variar en función de la especie vegetal, el método de extracción y las condiciones del proceso. En este sentido, las diferencias observadas reflejan variaciones en el perfil químico de los aceites evaluados más que efectos asociados a la humedad inicial del material vegetal.

Estas diferencias en rendimiento y características fisicoquímicas tienen implicaciones directas sobre la actividad antimicrobiana de la mezcla de aceites esenciales, ya que determinan la concentración, estabilidad y diversidad de los compuestos bioactivos presentes.

4.2.2. Comportamiento de cenizas en carne tratada con aceites esenciales

El contenido de ceniza mostró una ligera variación durante los 14 días de almacenamiento, manteniéndose los valores dentro de rangos normales para carne de res fresca. El tratamiento T1 presentó consistentemente niveles más altos (2,36–2,39%), mientras que los controles C1 y C2 registraron disminuciones más marcadas. Estos resultados coinciden con lo señalado por (Imbaquingo y Nogales, 2024), quienes reportaron valores de 2,32 a 2,40% en carne de res refrigerada, con tendencia a disminuir por pérdida de humedad que se asocia al exudado y cambios en la estructura muscular que está ligada al deterioro progresivo del tejido.

Las diferencias observadas en T1 pueden explicarse por el efecto antimicrobiano de los aceites esenciales, que tienden a reducir la descomposición proteica y la liberación de minerales durante el almacenamiento. (Martos, 2010) demostró que aceites esenciales con compuestos fenólicos como el timol, carvacol, eugenol, anetol, entre otros, estabilizan la estructura celular, reduciendo pérdidas de fracción mineral.

Las variaciones en el contenido de cenizas pueden explicarse en relación con el crecimiento microbiano, particularmente de *Pseudomonas fluorescens*, la cual utiliza minerales y otros nutrientes para su desarrollo, contribuyendo al deterioro del tejido. En este sentido, el menor descenso observado en T1 se asocia a un menor crecimiento microbiano, lo que limita la utilización de estos componentes y la degradación estructural. Este comportamiento concuerda con estudios que indican que la actividad microbiana influye en la redistribución de componentes minerales durante el almacenamiento de carne (Mendes et al., 2018).

Otro aspecto importante es el vehículo lipídico (aceite vegetal) utilizado para preparar el aceite esencial al 80 %, el cual pudo contribuir a la formación de una película hidrofóbica sobre la superficie de la carne. Esta capa lipídica reduce la pérdida de humedad y limita la migración de minerales hacia el exudado, favoreciendo la estabilidad de los parámetros fisicoquímicos durante el almacenamiento. Este efecto también ha sido documentado por Martos (2010), quien observó que sistemas con lípidos pueden disminuir la deshidratación y mantener la estabilidad de parámetros como cenizas y humedad. En conjunto, estos factores explican por qué el tratamiento T1 mantuvo valores más altos y consistentes, mientras que C2 presentó mayor variabilidad asociada a la actividad microbiana y al deterioro progresivo del tejido.

Estas diferencias en rendimiento y características fisicoquímicas tienen implicaciones directas sobre la actividad antimicrobiana de la mezcla de aceites esenciales, ya que determinan la concentración, estabilidad y diversidad de los compuestos bioactivos presentes.

Estos resultados indican que la aplicación de la mezcla de aceites esenciales contribuye a una mayor estabilidad mineral de la carne durante el almacenamiento refrigerado, lo que sugiere un menor grado de deterioro estructural.

Como limitación, este estudio no se evaluó directamente la pérdida de exudado ni cambios en humedad, factores que podrían explicar con mayor precisión las variaciones observadas.

Futuros estudios deberían relacionar el contenido de ceniza con parámetros de pérdida por goteo y textura, para comprender mejor el efecto de los aceites sobre la matriz cárnica.

4.2.3. Contenido de grasa en carne durante el almacenamiento

Los resultados del análisis de grasa mostraron diferencias claras entre los tratamientos. El control C1 y el inoculado C2 mantuvieron valores relativamente estables en un rango de 17,1% a 19,54%, mientras que el tratamiento T1 registró valores significativamente superiores (24,75–23,56%) a lo largo del periodo de almacenamiento. Esta tendencia sugiere que la presencia del aceite esencial provocó una retención lipídica mayor en la carne tratada, probablemente debido a su efecto protector frente a la pérdida de humedad y la oxidación superficial, factores que suelen acelerar la disminución del contenido graso.

Las diferencias observadas en el contenido de grasa se relacionan principalmente con la actividad de *Pseudomonas fluorescens*, bacteria psicrótrofa con capacidad lipolítica, que produce enzimas como lipasas responsables de la degradación de lípidos durante el almacenamiento. El mayor descenso en C2 se asocia a su mayor crecimiento microbiano, mientras que en T1, el efecto antimicrobiano del aceite esencial limitó parcialmente esta actividad, contribuyendo a una mayor estabilidad de la fracción grasa.

A su vez, este comportamiento coincide con lo reportado por (Imbaquingo y Nogales, 2024), quienes documentaron que la carne refrigerada experimenta un descenso gradual de grasa asociado a la oxidación lipídica y a la deshidratación progresiva del tejido. En el presente estudio se observó un patrón similar en los controles, mientras que T1 logró mitigar la disminución, manteniéndose por encima de los valores registrados en C1 y C2. Esto refuerza la idea de que el aceite esencial no solo influyó en la estabilidad fisicoquímica del producto, sino que permitió conservar de mejor manera el contenido lipídico frente a los procesos propios del almacenamiento.

En el caso del tratamiento T1, la presencia del aceite esencial parece haber influido tanto en la protección antioxidante como en el comportamiento superficial de la grasa. Ujilestari et al. (2023) demostraron que los aceites esenciales con compuestos terpénicos, como el limoneno, pineno, linalol, entre otros, reducen significativamente la oxidación lipídica al actuar sobre radicales libres, generando mayor estabilidad de la fracción grasa. Asimismo, el vehículo lipídico (aceite vegetal) agregado al tratamiento puede

haber aumentado el contenido inicial de grasa y ayudado a mantenerlo al constituir un recubrimiento parcial.

Estos resultados indican que la mezcla de aceites esenciales permitió reducir parcialmente la actividad lipolítica asociada al crecimiento de *Pseudomonas fluorescens*, contribuyendo a preservar la fracción grasa de la carne durante el almacenamiento

Una limitación del estudio fue no cuantificar indicadores de oxidación como TBARS o peróxidos. Investigaciones futuras deberían evaluar estos parámetros para confirmar el efecto antioxidante observado

4.2.4. Variación del TVB-N como indicador del deterioro proteico

El incremento del TVB-N está directamente asociado al crecimiento de *Pseudomonas fluorescens*, bacteria altamente proteolítica responsable de la degradación de proteínas y la liberación de compuestos nitrogenados volátiles durante el almacenamiento de carne refrigerada.

En el presente estudio, el tratamiento C2, que presentó mayor crecimiento microbiano, alcanzó los valores más altos de TVB-N, mientras que T1 mostró incrementos más lentos, evidenciando un menor grado de deterioro proteico. Esta diferencia permite establecer una relación directa entre el crecimiento microbiano y la degradación proteica, ya que la disminución del crecimiento de Pseudomonas fluorescens observada en el tratamiento T1 se relaciona con menores valores de TVB-N, evidenciando un control parcial del deterioro.

Los valores iniciales fueron similares, pero a partir del día 5 comenzaron a diferenciarse, mostrando C2 los valores más altos (hasta 28,98 mg/100 g) mientras que T1 permaneció más cercano al comportamiento de C1. Este patrón se ajusta a lo reportado por Maghraby et al. (2013) quien documentaron valores entre 7 y 18 mg/100 g dependiendo de la metodología y la carga microbiana. Bekhit et al. (2021) destacan que el TVB-N supera los límites aceptables de frescura (25–30 mg/100 g) entre los días 10 y 14 en presencia de bacterias proteolíticas, concordando con los resultados del control C2 en el presente estudio.

El tratamiento T1 mostró incrementos más lentos, lo cual evidencia que el aceite esencial ejerció un efecto de contención sobre el deterioro proteico. Dhifi et al. (2016), reportaron que los terpenos presentes en aceites esenciales causan inhibición enzimática de desaminasas y descarboxilasas microbianas, reduciendo la formación de compuestos

nitrogenados volátiles. Esto explica por qué T1 mantuvo niveles más bajos respecto a C2, aun en presencia de *Pseudomona fluorescens*. Además, el efecto sinérgico entre los aceites esenciales y el aceite portador pudo limitar parcialmente la actividad proteasa y desacelerar el deterioro.

Las diferencias observadas también pueden atribuirse a la cinética de crecimiento microbiano. *Pseudomonas fluorescens* es reconocida como una de las principales responsables del incremento de TVB-N debido a su alta capacidad de degradar aminoácidos; sin embargo, su desarrollo fue menor en T1, lo que refuerza la relación entre la inhibición microbiana y la reducción del deterioro proteico.

El menor incremento de TVB-N en el tratamiento con aceites esenciales sugiere un control parcial del deterioro proteico, lo que podría contribuir a extender la vida útil del producto. Como limitación, no se identificaron los compuestos nitrogenados individuales responsables del aumento del TVB-N. Futuros estudios deberían analizar aminas biógenas específicas para profundizar en el mecanismo de acción.

4.2.5. Comportamiento microbiano de *Pseudomonas fluorescens*

El crecimiento microbiano mostró el patrón típico de carne inoculada bajo refrigeración, alcanzando valores superiores a 9 log UFC/g en C2, mientras que T1 se mantuvo cercano a 8,5 log UFC/g al día 14, comportamiento similar al de C1. Mendes et al. (2018) también reportaron aumentos acelerados en carnes inoculadas con bacterias psicrótrofas, especialmente *Pseudomonas spp*., debido a su capacidad para crecer a bajas temperaturas y degradar proteínas, lípidos y carbohidratos de forma eficiente.

El deterioro microbiológico de la carne refrigerada se asocia generalmente con cargas microbianas cercanas a 10^7 UFC/g, nivel en el cual bacterias psicrótrofas del género *Pseudomonas* dominan la población microbiana y generan compuestos responsables del deterioro sensorial y fisicoquímico del producto (Wickramasinghe et al., 2019). En este estudio, el control C2 superó dicho umbral en el día 5, mientras que el tratamiento T1 lo alcanzó recién en el día 7, lo que evidencia un retraso aproximado de 2 días en el deterioro microbiológico, atribuido al efecto del aceite esencial.

El menor crecimiento observado en T1 evidencia un efecto antimicrobiano parcial parcial del aceite esencial aplicado Ujilestari et al. (2023) demostraron que mezclas 50/50 de aceites esenciales poseen actividad sinérgica contra bacterias deteriorativos, reduciendo significativamente los recuentos microbianos en carne. De igual manera, Dhifi et al. (2016) señalan que los compuestos terpénicos alteran la membrana celular

bacteriana, provocando pérdida de integridad, reducción de ATP y disminución de la capacidad de multiplicarse.

De esta manera, el efecto antimicrobiano de la mezcla puede explicarse por la acción complementaria de los compuestos bioactivos presentes en ambos aceites esenciales. Los monoterpenos asociados al aceite de arrayán, como a-pineno, β-pineno, limoneno y 1,8-cineol, pueden interactuar con la bicapa lipídica de la membrana bacteriana, especialmente en bacterias Gram negativas como *Pseudomonas fluorescens*, cuya envoltura celular contiene una membrana externa rica en lipopolisacáridos. Esta interacción altera la fluidez e integridad de la membrana, aumentando su permeabilidad y favoreciendo la fuga de iones, proteínas, metabolitos y ATP, lo que afecta directamente la producción de energía y el equilibrio celular.

En este sentido, el efecto antimicrobiano de la mezcla lo explica Ujilestari et al. (2023) que por la acción complementaria de los compuestos bioactivos presentes en ambos aceites esenciales. Los monoterpenos asociados al aceite de arrayán, como a-pineno, β-pineno, limoneno y 1,8-cineol, pueden interactuar con la bicapa lipídica de la membrana bacteriana, especialmente en bacterias Gram negativas como Pseudomonas fluorescens, cuya envoltura celular contiene una membrana externa rica en lipopolisacáridos. Esta interacción altera la fluidez e integridad de la membrana, aumentando su permeabilidad y favoreciendo la fuga de iones, proteínas, metabolitos y ATP, lo que afecta directamente la producción de energía y el equilibrio celular.

Esta pérdida de integridad facilita el ingreso o la acción de compuestos fenólicos presentes en el aceite de sunfo, como carvacrol y otros derivados terpénicos, los cuales pueden intensificar el daño de membrana, alterar proteínas y enzimas asociadas al metabolismo bacteriano, interferir con la respiración celular y disminuir la síntesis de ATP. Como consecuencia, la célula pierde su capacidad de mantener funciones esenciales, reduce su multiplicación y puede llegar a perder viabilidad.

Comparando los resultados con los antecedentes, el comportamiento de T1 coincide con lo observado en estudios donde aceites esenciales como orégano, tomillo o laurel lograron reducir entre 1 y 3 log UFC/g el crecimiento de bacterias psicrótrofas. Aunque la reducción observada en este estudio fue moderada, sí representa un retraso en la proliferación, lo que contribuye a extender la vida útil relativa de la carne tratada.

Estos resultados confirman que la mezcla de aceites esenciales ejerció un efecto inhibidor parcial sobre Pseudomonas fluorescens, retrasando su proliferación durante el

almacenamiento refrigerado. Sin embargo, el crecimiento microbiano también pudo estar influenciado por el tipo de envase utilizado, ya que las muestras fueron almacenadas en fundas plásticas, las cuales permiten cierta permeabilidad al oxígeno y favorecer el desarrollo de bacterias aerobias como *Pseudomonas fluorescens*. A pesar de ello, el tratamiento con aceites esenciales mostró un menor crecimiento microbiano en comparación con el control inoculado, evidenciando su efecto antimicrobiano durante el almacenamiento.

En conjunto, los resultados obtenidos evidencian que el deterioro de la carne durante el almacenamiento refrigerado estuvo dominado principalmente por el crecimiento de *Pseudomonas fluorescens*, más que por los cambios fisicoquímicos por si solos. El incremento progresivo del recuento microbiano se asoció directamente con la degradación de proteínas y lípidos, reflejada en el aumento de TVB-N y la disminución del contenido graso, respectivamente. En este contexto, el tratamiento con aceites esenciales (T1) no inhibió completamente el crecimiento microbiano, pero sí logró retardarlo, lo que se tradujo en una menor velocidad de deterioro proteico y lipídico en comparación con el control inoculado (C2). Esto demuestra que la acción antimicrobiana parcial del aceite esencial tuvo un efecto indirecto sobre la estabilidad fisicoquímica del producto, evidenciando que el control del crecimiento de *Pseudomonas fluorescens* es el factor determinante en la extensión de la vida útil de la carne refrigerada.

V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

- La extracción de los aceites esenciales de *Clinopodium nubigenum* (sunfo) y *Myrcianthes* hallii (arrayán) mediante el método de arrastre de vapor resultó adecuada, permitiendo la obtención de aceites con características apropiadas para su posterior aplicación en carne de res.
- La determinación de la concentración mínima inhibitoria permitió establecer que la combinación de aceites esenciales en proporción 50:50, aplicada al 80 % respecto al aceite vegetal, presentó actividad antimicrobiana frente a *Pseudomonas fluorescens*, evidenciada por inhibición completa del crecimiento a partir de 8 % v/v en agar.
- La aplicación del tratamiento T1 (carne + *Pseudomonas fluorescens* + aceites esenciales) mostró una reducción del crecimiento microbiano en comparación con el control inoculado (C2), con diferencias de hasta 0,71 log UFC/g durante el almacenamiento refrigerado.
- El tratamiento con la combinación de aceites esenciales permitió retardar el crecimiento de *Pseudomonas fluorescens* durante el almacenamiento refrigerado, evidenciado por la superación del umbral de deterioro microbiológico (7 log UFC/g) en el día 7 para T1, mientras que el control inoculado C2 lo alcanzó en el día 5. Este comportamiento representa una extensión aproximada de 2 días en la vida útil microbiológica de la carne tratada.
- El análisis fisicoquímico mostró que el tratamiento con aceites esenciales contribuyó a una mayor estabilidad en los parámetros de cenizas y grasa, en comparación con los controles, lo que sugiere un efecto protector frente a procesos de exudación y degradación estructural.
- En conjunto, el tratamiento T1 presentó un comportamiento más estable durante el periodo de almacenamiento, evidenciando que la combinación de aceites esenciales de sunfo y arrayán constituye una alternativa natural con potencial para la conservación de carne de res.
- De manera general, la combinación de aceites esenciales aplicada en carne de res permitió mejorar su estabilidad microbiológica y fisicoquímica, cumpliendo

con el objetivo general del estudio y demostrando su viabilidad como estrategia de conservación natural.

5.2. RECOMENDACIONES

- Se recomienda evaluar otros métodos de extracción de aceites esenciales, tales como hidrodestilación asistida por microondas o extracción con solventes verdes, con el fin de comparar rendimientos, composición química y actividad antimicrobiana frente a microorganismos deteriorativos como *Pseudomonas fluorescens.*
- Se recomienda ampliar la evaluación del efecto antimicrobiano de los aceites esenciales frente a otros microorganismos de interés en alimentos, como *Escherichia coli, Salmonella spp.* y *Staphylococcus aureus,* con el fin de determinar el espectro de acción de la combinación de aceites.
- Se sugiere aplicar la misma metodología en diferentes matrices alimentariasos cárnicos, tales como carne de cerdo, ovino, aves y carne molida, así como en productos pesqueros frescos, donde la presencia de *Pseudomonas fluorescens* también constituye un factor determinante del deterioro.
- Se recomienda realizar la caracterización química de los aceites esenciales mediante técnicas como cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS), con el fin de identificar los compuestos responsables de la actividad antimicrobiana observada.
- Se recomienda incluir el análisis de indicadores de oxidación lipídica, como TBARS o índice de peróxidos, para confirmar el efecto antioxidante de los aceites esenciales observado en este estudio.
- Se sugiere evaluar parámetros adicionales como pérdida por goteo, humedad y textura, con el fin de comprender de manera más integral el efecto de los aceites esenciales sobre la calidad de la carne durante el almacenamiento.
- Se recomienda evaluar el uso de diferentes tipos de envase y métodos de conservación, como envasado al vacío o atmósfera modificada, para determinar su efecto en el crecimiento de Pseudomonas fluorescens y en la extensión de la vida útil de la carne refrigerada.

VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Adelakun, O. E., Oyelade, O. J., & Olanipekun, B. F. (2016). Use of Essential Oils in Food Preservation. *Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety*, 71–84. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-416641-7.00007-9

Agrocalidad. (2016). *Manual de procedimiento para la vigilancia y control de la inspección ANTE y POST-Mortem de animales de abasto en mataderos*. https://www.agrocalidad.gob.ec/wp-content/uploads/2020/05/fae3.pdf

Al-Mazrouei, M. A., Al-Kharousi, Z. S., Al-Kharousi, J. M., & Al-Barashdi, H. M. (2024). Microbiological Evaluation of Local and Imported Raw Beef Meat at Retail Sites in Oman with Emphasis on Spoilage and Pathogenic Psychrotrophic Bacteria. *Microorganisms*, *12*(12), 2545. https://doi.org/10.3390/microorganisms12122545

Azizah, F., Nursakti, H., Ningrum, A., & Supriyadi. (2023). Development of Edible Composite Film from Fish Gelatin–Pectin Incorporated with Lemongrass Essential Oil and Its Application in Chicken Meat. *ResearchGate*, *15*(9). https://doi.org/10.3390/polym15092075

Bekhit, A. E.-D. A., Holman, B. W. B., Giteru, S. G., & Hopkins, D. L. (2021). Total volatile basic nitrogen (TVB-N) and its role in meat spoilage: A review. *Trends in Food Science & Technology*, *109*, 280–302. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.01.006

Bermúdez, A., Goyes, M. J., & Salazar, D. F. (2023). *Actividad antimicrobiana in vitro del extracto hidroalcohólico de las hojas de Myrcianthes hallii sobre Proteus spp In Vitro Antimicrobial Activity of the Hydroalcoholic Extract of the Leaves of Myrcianthes hallii on Proteus spp*. https://medisur.sld.cu/index.php/medisur/article/view/5857/4212

Burt, S. (2004). Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International Journal of Food Microbiology*, *94*(3), 223–253. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022

Campo, M. M., Romero, J. V., Guerrero, A., Bouzaida, M. D., Resconi, V. C., Tesniere, G., Santolaria, P., & Olleta, J. L. (2024). Nutrient composition of beef from the pyrenees. *Journal of Food Composition and Analysis*, *133*. https://doi.org/10.1016/j.jfca.2024.106452

Cannon, J. B., Cantrell, C. L., Astatkie, T., & Zheljazkov, V. D. (2013). Modification of yield and composition of essential oils by distillation time. *Industrial Crops and Products*, *41*, 214–220. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.04.021

Cazar R., M.-E. (2013). *Formulación de mezclas de aceites esenciales como inhibidores de Listeria monocytogenes*. http://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/11196

Chemat, F., & Boutekedjiret, C. (2015). Extraction // Steam Distillation. *Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering*. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409547-2.11557-4

CLSI. (2020). *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing* [Manual]. Clinical and Laboratory Standards Institute. https://www.nih.org.pk/wp-content/uploads/2021/02/CLSI-2020.pdf

Cofre, D. (2022). *Aplicación de aceites esenciales como aditivos naturales en los sistemas alimentarios* [Tesis de Ingeniería, Universidad Técnica de Ambato. Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología. Carrera de Biotecnología]. https://repositorio.uta.edu.ec/handle/123456789/34988

Colina-Márquez, J. Á., Contreras, E., Ruiz, J., & Monroy, L. (2022). Comparación de dos métodos de extracción para el aceite esencial de la cáscara de pomelo (Citrus maxima). *Revista Ing-Nova*, *1*(1), 85–98. https://doi.org/10.32997/rin-2022-3729

CONAL. (2020). *Recomendaciones para la correcta manipulación de alimentos en carnicerías* [Manual]. Ministerio de Salud Argentina. https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/anmat_manipulacion_carnicerias.pdf#:~:text=Temperatura%20de%20refrigeraci%C3%B3n:%20Las%20carnes%20crudas%20y,C%20(menor%20a%202%C2%B0C%20para%20carne%20picada).

Crespo, Y. A., Bravo Sánchez, L. R., Quintana, Y. G., Cabrera, A. S. T., Bermúdez Del Sol, A., & Mayancha, D. M. G. (2019). Evaluation of the synergistic effects of antioxidant activity on mixtures of the essential oil from Apium graveolens L., Thymus vulgaris L. and Coriandrum sativum L. using simplex-lattice design. *Heliyon*, *5*(6), e01942. https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e01942

Dhifi, W., Bellili, S., Jazi, S., Bahloul, N., & Mnif, W. (2016). Essential Oils' Chemical Characterization and Investigation of Some Biological Activities: A Critical Review. *Medicines*, *3*(4), 25. https://doi.org/10.3390/medicines3040025

Espinoza, S. G. E. (2020). *Uso de aceites esenciales, provenientes de especies vegetales, como preservantes naturales en alimentos* [Tesis de Ingeniería, Universidad de las Américas]. https://dspace.udla.edu.ec/bitstream/33000/13041/4/UDLA-EC-TIAG-2020-49.pdf

FDA. (2018). *Tabla de almacenamiento en el refrigerador y congelador*. Food and Drug Administration. https://www.fda.gov/media/74435/download

Fuentes, L., Gonzáles, V., & Umpiérrez, N. (2025). Indicadores microbiológicos en alimentos. *SERVICIO DE REGULACION ALIMENTARIA*. https://doi.org/10.4067/S0301-732X2003000100011

García, G. (2023). *Envasado de alimentos en atmósfera modificada, clave en la conservación de alimentos*. https://thefoodtech.com/packaging-y-procesamiento/envasado-de-alimentos-en-atmosfera-modificada-clave-en-la-conservacion-de-alimentos/

García, G. (2025). *Conservación de productos cárnicos: Factores clave para garantizar inocuidad y calidad*. https://thefoodtech.com/soluciones-y-tecnologia-alimentaria/conservacion-de-productos-carnicos-factores-clave-para-garantizar-inocuidad-y-calidad/

García-Argüelles, L. Á., López-Medina, F. L., Moreno-Toiran, G., & Ortigosa-Garcell, C. (2018). El método experimental profesional en el proceso de enseñanza-aprendizaje de la Química General para los estudiantes de la carrera de ingeniería mecánica. *Revista Cubana de Química*, *30*(2), 328–345.

Gilardoni, G., Malagon, O., Morocho, V., Negri, R., Tosi, S., Guglielminetti, M., Vidari, G., & Finzi, P. V. (2011). Phytochemical researches and antimicrobial activity of Clinopodium nubigenum Kunth (Kuntze) raw extracts. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, *21*, 850–855. https://doi.org/10.1590/S0102-695X2011005000139

Heredia, N., Dávila, J. E., Soto, L. S., & García, S. (2014). *Productos cárnicos: Principales patógenos y estrategias no térmicas de control*. *8*(1), 520–542.

Hernández, R., Fernández, C., & Baptista, M. (with Méndez, S., & Mendoza, C.). (2014). *Metodología de la investigación* (6a ed.). INTERAMERICANA EDITORES, S.A. https://apiperiodico.jalisco.gob.mx/api/sites/periodicooficial.jalisco.gob.mx/files/metodologia_de_la_investigacion_-_roberto_hernandez_sampieri.pdf (Obra original publicada en Mc Graw Hill Education)

Hernández-Ochoa, L., Aguirre-Prieto, Y. B., Nevárez-Moorillón, G. V., Gutierrez-Mendez, N., & Salas-Muñoz, E. (2014). Use of essential oils and extracts from spices in meat protection. *Journal of Food Science and Technology*, *51*(5), 957–963. https://doi.org/10.1007/s13197-011-0598-3

Horcada Ibáñez, A. L., & Polvillo Polo, O. (2010). *Conceptos básicos sobre la carne*. Junta de Andalucía Consejería de Agricultura y Pesca. https://idus.us.es/server/api/core/bitstreams/27720fdc-564a-490e-ba7c-d336ac9a7ecc/content

Imbaquingo, A., & Nogales, D. (2024). *Evaluación de calidad e inocuidad de la carne de res expendida en los mercados de Tulcán—Ecuador* [Tesis de Ingeniería, Universidad Politécnica Estatal del Carchi]. http://repositorio.upec.edu.ec/handle/123456789/2268

ISO. (2026). *ISO 279: Determination of Relative density at 20 °C - Reference method*. International Standard Cofirmed. https://www.iso.org/standard/25308.html

Madigan, M., Bender, K., Buckley, Daniel, Sattley, Mathew, & Stahl, David. (2018). *Brock Biology of Microorganisms* (15a ed.). Pearson Education. https://api.pageplace.de/preview/DT0400.9781292235196_A31976983/preview-9781292235196_A31976983.pdf#:~:text=Veteran%20authors%20Madigan%2C%20Bender%2C%20Buckley%2C%20and%20Stahl,reorganizing%20and%20refreshing%20our%20coverage%20of%20immunology (Obra original publicada en 2018)

Maghraby, O., Hassouba, M., & El-Mossalami, E. (2013). Effect of Methodology on the Determination of Total Volatile Basic Nitrogen as an Index of Quality of Meat and Fish. *Egyptian Journal of Food Safety*, *1*(2), 23–34. https://doi.org/10.21608/ejfsj.2013.135900

Magi, G., Marini, E., & Facinelli, B. (2015). Antimicrobial activity of essential oils and carvacrol, and synergy of carvacrol and erythromycin, against clinical, erythromycin-resistant Group A Streptococci. *Frontiers in Microbiology*, *6*, 165. https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00165

Mamani, J. (2017). ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA "IN VITRO" DEL ACEITE ESENCIAL DE MENTA (Mentha piperita L.) FRENTE A Escherichia coli ENTEROPATÓGENA (EPEC). *Revista de Investigaciones*, *6*(3), 244–254. https://doi.org/10.26788/riepg.v6i3.107

Martindale, W., & Schiebel, W. (2017). The impact of food preservation on food waste. *British Food Journal (Croydon, England)*, *119*(12), 2510–2518. https://doi.org/10.1108/BFJ-02-2017-0114

Martínez, L., & Porras, A. (2021). *Lectura interpretada del antibiograma*. Guía ABE. https://www.guia-abe.es/generalidades-lectura-interpretada-del-antibiograma

Mateauda, J. (2013). *Estudio de la microflora bacteriana y cambios fisicoquímicos en carne bovina envasada al vacío y almacenada en frío* [Tesis de Licenciatura, Universidad de la República Uruguay]. https://www.colibri.udelar.edu.uy/jspui/bitstream/20.500.12008/1558/1/uy24-16260.pdf

Mendes, J. F., Martins, H. H. A., Otoni, C. G., Santana, N. A., Silva, R. C. S., Da Silva, A. G., Silva, M. V., Correia, M. T. S., Machado, G., Pinheiro, A. C. M., Piccoli, R. H., & Oliveira, J. E. (2018). Chemical composition and antibacterial activity of Eugenia brejoensis essential oil nanoemulsions against Pseudomonas fluorescens. *LWT*, *93*, 659–664. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.04.015

Microbiologics. (2025). *Pseudomonas fluorescens derived from ATCC® 13525™** [Manual]. https://www.microbiologics.com/core/media/media.nl?id=7409395&c=915960&h=aR1dmmoPsU3vyvFuCjpn9AyrXTzFgDzapp9Celu12-TtgGc2&_xt=.pdf

Mihai, R. A., Melo Heras, E. J., Cubi Insuaste, N. S., Topón Quinga, L. M., & Catana, R. D. (2025). Phenolic Composition and Antioxidant Activity of Myrcianthes hallii Leaf Essential Oil Across Phenological Stages: Application in Nutraceutical Fermented Beverage. *Fermentation*, *11*(11), 648. https://doi.org/10.3390/fermentation11110648

Molina, J. A. (2021). Los aceites esenciales y su actividad biológica Una propuesta didáctica. *Anales de Química de la RSEQ*, *117*(2), 165–165.

Nouri, M., Razavi, S. H., Afraei, M., Shafiepour, M., & Maleki Jahan, F. (2026). Recent trend in the shelf life extension of meat and meat products using edible packaging enriched with antimicrobial peptides (AMPs). *Food Control*, *181*, 111768. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2025.111768

OIRSA. (2016). *Manual de inspección de carne de bovino* [Manual]. https://www.oirsa.org/contenido/biblioteca/oirsa_manual_inspeccion.pdf

Olmedo, R. H. (2017). Antioxidantes en alimentos: Aceites esenciales. *Nexo Agropecuario*. https://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/186053

ONU. (2020). Objetivos y metas de desarrollo sostenible. *Desarrollo Sostenible*. https://www.un.org/sustainabledevelopment/es/sustainable-development-goals/

Orellana, S., & Yépez, L. (2021). *Estudio químico de los aceites esenciales extraídos del Bursera Graveolens para fomentar el desarrollo de emprendimientos económicamente sostenible de la comunidad San Marcos—Santa Elena*. [Escuela Superior Politécnica del Litoral]. http://www.dspace.espol.edu.ec/handle/123456789/52078

Pérez, É., & Rivas, A. (2021, junio 9). *Determinación de la sensibilidad de los microorganismos frente a antimicrobianos de origen natural y la concentración mínima inhibitoria por métodos fenotípicos* [Manual]. Universitat Politècnica de València. https://riunet.upv.es/handle/10251/167611

Prakash, B., Singh, P. P., Gupta, V., & Raghuvanshi, T. S. (2024). Essential oils as green promising alternatives to chemical preservatives for agri-food products: New insight into molecular mechanism, toxicity assessment, and safety profile. *Food and Chemical Toxicology*, *183*, 114241. https://doi.org/10.1016/j.fct.2023.114241

Quilca, V. (2016). *Secador de bandejas para hierbas aromáticas dedicado a la microindustria* [Tesis de Ingeniería, Universidad Tecnica del Norte]. https://repositorio.utn.edu.ec/bitstream/123456789/5516/1/04%20MEC%20126%20TRABAJO%20DE%20GRADO.pdf

Say, M., Kong, S., Nat, Y., Tan, C. P., & Tan, R. (2024). A study on the physicochemical characteristics of popular cooking oils in Cambodia. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, *1297*(1). https://doi.org/10.1088/1755-1315/1297/1/012002

Sevillano, R., Siche, R., Castillo, W., & Silva, E. (2019). Optimization of the extraction by steam extraction of rosemary essential oil (Rosmarinus officinalis) using sequential designs. *Manglar*, *16*(1), 53–61. https://doi.org/10.17268/manglar.2019.008

Simón, P. (2018). Vida útil en carnes frescas, carnes picadas y preparados cárnicos. *Eurocarne: La revista internacional del sector cárnico*, (269 (Septiembre 2018)), 83–96.

Smith, C., Geornaras, I., & Nair, M. (2024). Impact of Spoilage Bacterial Populations on Discoloration of Beef Steaks. *Impact of Spoilage Bacterial Populations on Discoloration of Beef Steaks*, *8*(1), 1–13. https://doi.org/10.22175/mmb.17796

Stefanovic, O., Stankovic, M., & Čomić, L. (2011). In vitro antibacterial efficacy of Clinopodium vulgare L. extracts and their synergistic interaction with antibiotics. *Journal of Medicinal Plants Research*, *5*(17), 4070–4079.

Stratakos, A., & Koidis, A. (2016). Methods for Extracting Essential Oils. *Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety*, 31–38. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-416641-7.00004-3

Tajkarimi, M. M., Ibrahim, S. A., & Cliver, D. O. (2010). Antimicrobial herb and spice compounds in food. *Food Control*, *21*(9), 1199–1218. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2010.02.003

Tan, J., Mu, B., Li, H., Li, C., Gao, T., Meng, X., Zhao, C., Piao, C., Li, T., Wang, J., Li, H., & Li, G. (2025). A Comprehensive Study of Meat Quality and Flavor Characteristics of Different Sexes of Yanbian Yellow Cattle Using GC-IMS and LC-MS/MS Technologies. *Foods*, *14*(18), 3175. https://doi.org/10.3390/foods14183175

Ujilestari, T., Febrisiantosa, A., Sholikin, M., Wahyuningsih, R., & Wahyono, T. (2022). Nanoemulsion Application in Meat Product and Its Functionality: Review. *Journal of Animal Science and Technology*, *65*(2), 275–292. https://doi.org/10.5187/jast.2022.e120

Valencia, V., & Acero, V. (2013). Comparación de ácido láctico, ácido peroxiacético e hipoclorito de sodio en la desinfección de canales bovinas en un frigorífico de Bogotá, Colombia. *Revista de Medicina Veterinaria*, (26), 13–23.

Viuda, M. (2010). *Caracterización y aplicación de aceites esenciales de especias y aguas de lavado obtenidas como coproducto del proceso de obtención de fibra de cítricos como inhibidores naturales en productos cárnicos* [Tesis de doctorado, Universidad Miguel Hernández]. http://dspace.umh.es/handle/11000/1686

Yong, A., Calves, E., González, Y., Permuy, N., & Pavón, M. I. (2017). La conservación de alimentos, una alternativa para el fortalecimiento de la seguridad alimentaria a nivel local. *Cultivos Tropicales*, *38*(1), 102–107.

VII. ANEXOS

Anexo 1. Acta de la sustentación de Predefensa del TIC

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA ESTATAL DEL CARCHI

FACULTAD DE INDUSTRIAS AGROPECUARIAS Y CIENCIAS AMBIENTALES

CARRERA DE ALIMENTOS

ACTA

DE LA SUSTENTACIÓN ORAL DE LA PREDEFENSA DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

ESTUDIANTE:	CABASCANGO CACUANGO EDWIN ALEXANDER	**CÉDULA DE IDENTIDAD:**	1727696575
PERIODO ACADÉMICO:	2026A		
PRESIDENTE TRIBUNAL	MSC. WILMAN JENNY YAMBAY VALLEJO	**DOCENTE TUTOR:**	PHD. MIGUEL ANGEL ANCHUNDIA LUCAS
DOCENTE:	MSC. FREDDY GIOVANNY TORRES MAYANQUER		
TEMA DEL TIC:	"Evaluación de la capacidad antimicrobiana de una combinación sinérgica de aceite esencial de Clinopodium nubigenum (sunfo) y aceite esencial de Myrcianthes halli (arrayán) para incrementar la conservación de la carne de res"		

No.	CATEGORÍA	Evaluación cuantitativa	OBSERVACIONES Y RECOMENDACIONES
1	PROBLEMA - OBJETIVOS	9,00	
2	FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA	8,33	Colocar la taxonomía de la materia vegetal utilizada
3	METODOLOGÍA	9,00	
4	RESULTADOS	9,00	
5	DISCUSIÓN	8,00	
6	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	9,00	
7	DEFENSA, ARGUMENTACIÓN Y VOCABULARIO PROFESIONAL	9,00	
8	FORMATO, ORGANIZACIÓN Y CALIDAD DE LA INFORMACIÓN	9,00	

Obteniendo una nota de: 8,83 Por lo tanto, **APRUEBA** ; debiendo el o los investigadores acatar el siguiente artículo:

Art. 36.- De los estudiantes que aprueban el informe final del TIC con observaciones.- Los estudiantes tendrán el plazo de 10 días para proceder a corregir su informe final del TIC de conformidad a las observaciones y recomendaciones realizadas por los miembros del Tribunal de sustentación de la pre-defensa.

Para constancia del presente, firman en la ciudad de Tulcán el martes, 21 de abril de 2026

MSC. WILMAN JENNY YAMBAY VALLEJO
PRESIDENTE TRIBUNAL

PHD. MIGUEL ANGEL ANCHUNDIA LUCAS
DOCENTE TUTOR

MSC. FREDDY GIOVANNY TORRES MAYANQUER
DOCENTE

Anexo 2. Certificado del abstract por parte de idiomas

ABSTRACT- EVALUATION SHEET

NAME: Cabascango Cacuango Edwin Alexander
DATE: Jueves, 7 de mayo de 2026
Topic:"Evaluation of the antimicrobial capacity of a synergistic combination of essential oils from Clinopodium nubigenum (sunfo) and Myrcianthes hallii (arrayán) to enhance beef preservation".

MARKS AWARDED **QUANTITATIVE AND QUALITATIVE**

VOCABULARY AND WORD USE	Use new learnt vocabulary and precise words related to the topic	Use a little new ocabulary and some appropriate words related to the topic	Use basic vocabulary and simplistic words related to the topic	Limited vocabulary and inadequate words related to the topic
	EXCELLENT: 2 ☐	GOOD: 1,5 ☐	AVERAGE: 1 ☐	LIMITED: 0,5 ☐
WRITING COHESION	Clear and logical progression of ideas and supporting paragraphs.	Adequate progression of ideas and supporting paragraphs.	Some progression of ideas and supporting paragraphs.	Inadequate ideas and supporting paragraphs.
De	EXCELLENT: 2 ☐	GOOD: 1,5 ☐	AVERAGE: 1 ☐	LIMITED: 0,5 ☐
ARGUMENT	The message has been communicated very well and identify the type of text	The message has been communicated appropriately and identify the type of text	Some of the message has been communicated and the type of text is little confusing	The message hasn't been communicated and the type of text is inadequate
	EXCELLENT: 2 ☐	GOOD: 1,5 ☐	AVERAGE: 1 ☐	LIMITED: 0,5 ☐
CREATIVITY	Outstanding flow of ideas and events	Good flow of ideas and events	Average flow of ideas and events	Poor flow of ideas and events
	EXCELLENT: 2 ☐	GOOD: 1,5 ☐	AVERAGE: 1 ☐	LIMITED: 0,5 ☐
SCIENTIFIC SUSTAINABILITY	Reasonable, specific and supportable opinion or thesis statement	Minor errors when supporting the thesis statement	Some errors when supporting the thesis statement	Lots of errors when supporting the thesis statement
	EXCELLENT: 2 ☐	GOOD: 1,5 ☐	AVERAGE: 1 ☐	LIMITED: 0,5 ☐

TOTAL/AVERAGE

9 - 10: EXCELLENT
7 - 8,9: GOOD
5 - 6,9: AVERAGE
0 - 4,9: LIMITED

TOTAL 9

Anexo 3. Fotografías

Figura 5. Equipo de extracción de aceite esencial.

Figura 6. Aceite esencial de sunfo.

Figura 7. Medición de pH de los aceites esenciales.

Figura 8. Preparación de medios de cultivo y materiales.

Figura 9. Esterilización de materiales.

Figura 10. Cultivo de *Pseudomonas fluorescens.*

Figura 11. Preparación de medios de cultivo.

Figura 12. Preparación de proporciones de aceite esenciales.

Figura 13. Incubación de muestras.

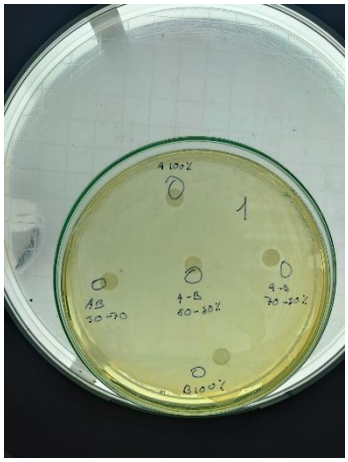


Figura 14. Resultados de susceptibilidad antimicrobiana.

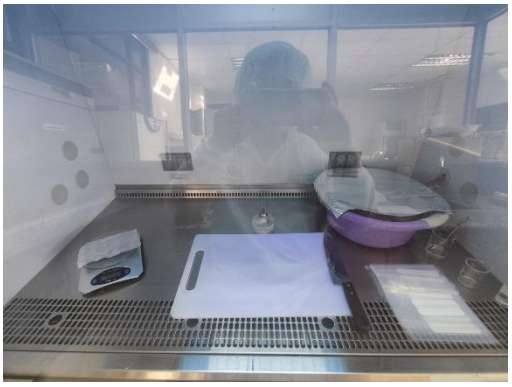


Figura 15. Esterilización de la cámara de flujo laminar

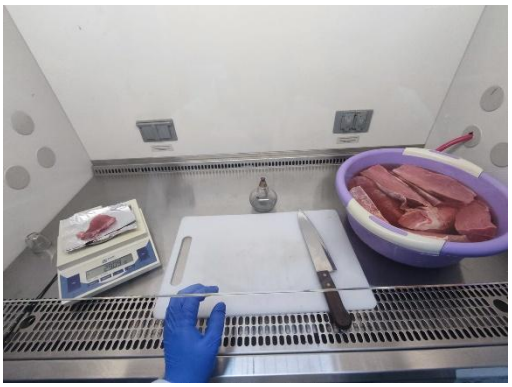


Figura 16. Preparación de muestras de carne.

Figura 17. Aceite esencial sinérgico al 80%.

Figura 18. Empaquetado de las muestras de carne.

Figura 19. Análisis de nitrógeno TVB-N.

Figura 20. Muestras con contenido de nitrógeno.

Figura 21. Titulación de muestras.

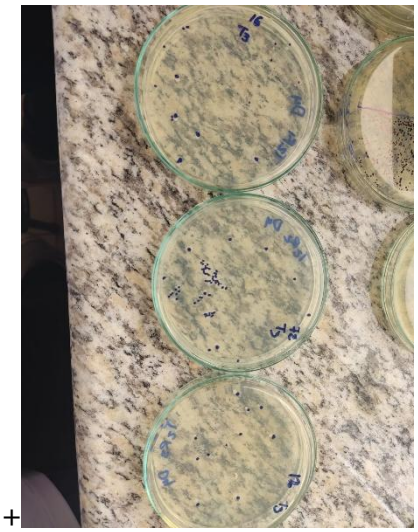


Figura 22. Resultados del cultivo microbiológico.

Figura 23. Análisis de grasa.