



# Universidad **Mariana**

Desarrollo de un desinfectante a partir de aceite esencial de orégano de monte (*Lippia origanoides*) y romero (*Salvia rosmarinus*) para el control de *E. coli* y *Staphylococcus aureus* en frutas y vegetales

Andrés Santiago Guerrero Dejoy  
Johana Valentina Escobedo Coral  
Autores

Universidad Mariana  
Facultad de Ingeniería  
Programa de procesos  
San Juan de Pasto  
Año

Desarrollo de un desinfectante a partir de aceite esencial de orégano de monte (*Lippia origanoides*) y romero (*Salvia rosmarinus*) para el control de *E. coli* y *Staphylococcus aureus* en frutas y vegetales

Andrés Santiago Guerrero Dejoy  
Johana Valentina Escobedo Coral  
Autores

Informe de investigación para optar al título de: Ingeniero de procesos

MSc. Ing. Javier Mauricio Villota Paz  
Asesor

Universidad Mariana  
Facultad de Ingeniería  
Programa de procesos  
San Juan de Pasto  
2023

Artículo 71: los conceptos, afirmaciones y opiniones emitidos en el Trabajo de Grado son responsabilidad única y exclusiva del (los) Educando (s)

Reglamento de Investigaciones y Publicaciones, 2007  
Universidad Mariana

## Contenido

Introducción .....	9
1. Resumen del proyecto .....	10
1.1. Descripción del problema .....	10
1.2. Justificación .....	12
1.3. Objetivos.....	14
1.3.1. Objetivo general.....	14
1.3.2. Objetivos específicos .....	15
1.4. Marco referencial o fundamentos teóricos .....	15
1.4.1 Antecedentes .....	15
1.4.2. Marco teórico.....	19
1.4.3. Marco contextual .....	27
1.5. Metodología .....	27
1.5.2. Enfoque de investigación.....	27
1.5.3. Tipo de investigación.....	28
1.5.4. Técnica e instrumentos de recolección de información.....	28
2. Resultados y discusión .....	36
2.1. Localización y cuantificación de plantas promisorias de Orégano de monte ( <i>Lippia origanoides</i> ) y Romero ( <i>Salvia rosmarinus</i> ) en el departamento de Nariño .....	36
2.2. Recolección y transporte de plantas promisorias Orégano de monte y romero hacia el laboratorio de operaciones unitarias de la Universidad Mariana .....	36
2.3. Cuantificación del aceite obtenido.....	36
2.7. Caracterizar los compuestos activos de aceites esenciales de Orégano de monte y romero mediante cromatografía de gases acoplada a un espectrómetro de masa .....	38
2.7.1 Análisis cromatográfico de aceite esencial de orégano de monte .....	38
2.7.1 Análisis cromatográfico de aceite esencial de romero .....	40
2.8. Crecimiento de <i>E. coli</i> y <i>S. aureus</i> .....	42

<i>2.10 Aplicación de aceite esencial de Orégano de monte y Romero en sensidiscos para el control de E. coli y S. aureus</i> .....	43
<i>2.11. Determinar la Concentración Mínima Inhibitoria para E. coli y S. aureus</i> .....	48
2.11.1. Concentración mínima inhibitoria para aceite esencial de romero .....	49
2.11.2. Concentración mínima inhibitoria para aceite esencial de Orégano de monte .....	52
<i>2.12. Formular un desinfectante a base de aceites esenciales de orégano de monte y romero efectivo en el control de E. coli y Staphylococcus aureus</i> .....	55
<i>2.13. Revisar NTC del poder bactericida</i> .....	58
<i>2.14. Diseñar una ficha técnica del desinfectante</i> .....	58
3. Conclusiones .....	60
4. Recomendaciones.....	62
Referencias bibliográficas .....	63

## **Índice de Tablas**

Tabla 1. Componentes del romero .....	21
Tabla 2. Componentes del orégano .....	23
Tabla 3. Comparación de condiciones de crecimiento para E.coli y S.aureus .....	32
Tabla 4. Datos de análisis cromatográfico de aceite esencial de orégano de monte.....	39
Tabla 5. Datos de análisis cromatográfico de aceite esencial de romero .....	41
Tabla 6. Halos de inhibición (mm) del aceite esencial de romero .....	44
Tabla 7. Halos de inhibición (mm) del aceite esencial de orégano de monte .....	46
Tabla 8. Análisis de varianza CMI aceite esencial de romero en S.aureus.....	49
Tabla 9. Análisis de varianza CMI aceite esencial de romero en E.coli .....	51
Tabla 10. Análisis de varianza CMI aceite esencial de orégano de monte en S.aureus .....	52
Tabla 11. Análisis de varianza CMI aceite esencial de orégano de monte en E.coli.....	54
Tabla 12. Análisis de varianza de antibiograma del desinfectante en E.coli y S.aureus.....	55

## **Índice de Ilustraciones**

Ilustración 1. Perfil cromatográfico de aceite esencial de orégano de monte .....	38
Ilustración 2. Perfil cromatográfico de aceite esencial de romero .....	40
Ilustración 3. Crecimiento de E.coli y S.aureus .....	42
Ilustración 4. Tinción de Gram para S.aureus y E.coli .....	43
Ilustración 5. Halos de inhibición de Romero y orégano de monte en S.aureus.....	48
Ilustración 6. Porcentaje de inhibición para formulación del desinfectante.....	57

## **Índice de Ecuaciones**

Ecuación 1. Fórmula para calcular el porcentaje de rendimiento .....	30
Ecuación 2. Volumen de contenedor (extractor).....	30
Ecuación 3. Densidad del lecho. ....	30

## **Introducción**

El presente trabajo busca un desarrollo verificable y replicable de un desinfectante natural con potencial inhibitorio sobre los patógenos Gram positivos (*Staphylococcus Aureus*) y Gram negativos (*Escherichia coli*), presentes en las superficies del sector industrial alimentario, donde se trabaja la manipulación de alimentos para el consumo humano. Cabe resaltar que el sector de estudio para este proyecto será la región de Nariño.

Por medio de este trabajo se desea reconocer los principales factores para la elaboración de un desinfectante que ayude a la limpieza y desinfección en la industria alimentaria, y que a su vez no incluya componentes perjudiciales para la salud de los seres humanos.

Se pretende demostrar el potencial inhibitorio de los aceites esenciales obtenidos a partir de fuentes naturales, además de enfocarlo en el plan de desarrollo nacional, articulando en los componentes de “tecnología e innovación”, “mi Nariño sostenible” y la estrategia de “agricultura y desarrollo rural” ya que el desinfectante a elaborar tiene beneficios y características diferenciales respecto a otros desinfectantes convencionales, lo cual brinda no solo conocimiento e innovación para el sector de desarrollo productivo en Nariño, sino también un aporte positivo con el medio ambiente protegiendo así la biodiversidad, generando un mayor apoyo a los productores locales de plantas promisorias e incentivando a la investigación sobre los potenciales usos de estas.

El alto consumo de productos químicos convencionales como el hipoclorito de sodio, se da debido a la falta de conocimiento y estudios sobre las múltiples propiedades que poseen las plantas promisorias, el cual puede llegar a ser corrosivo a la hora de consumir pequeñas trazas en los alimentos o el daño a las fuente hídricas al ser vertido por los canales de desecho, es por eso que el objetivo del trabajo es desarrollar un desinfectante a partir de aceites esenciales de orégano de monte (*Lippia origanoides*) y romero (*Salvia rosmarinus*), para el control de patógenos como *E.coli* y *S.aureus* en la industria alimentaria Nariñense.

## 1. Resumen del proyecto

En la industria de limpieza y desinfección existe un escaso conocimiento de los potenciales usos de las plantas promisorias como lo son el orégano de monte (*Lippia origanoides*) y romero (*Salvia rosmarinus*), ya que estas especies, tienen potencial uso como agente inhibidor antimicrobiano. En este sentido, el presente estudio tuvo como objetivo el desarrollo de un desinfectante a partir de aceites esenciales de Orégano de monte y Romero para el control de *E.coli* y *S.aureus*, dos bacterias presentes en la preparación y consumo de frutas y vegetales. Para ello se realizó una extracción por arrastre con vapor para las dos plantas aromáticas, un antibiograma para cada aceite esencial. La composición de cada aceite se determinó mediante una cromatografía de gases acoplada a un espectrómetro de masa (GC/MS). La actividad antimicrobiana se determinó por medio de la concentración mínima inhibitoria (CMI) mediante un método de macro-dilución compuesta del aceite esencial y agua, y según este se obtuvieron las cantidades mínimas, necesarias para la formulación del desinfectante. Como resultados, se encontró que los dos aceites cuentan con compuestos antimicrobianos y/o bactericidas como *Timol* y *2-Bornanone*, las CMI obtenidas para la formulación del desinfectante fueron de una relación 1:8 y 1:16 de aceites esenciales de orégano y romero respectivamente. En conclusión, los aceites esenciales estudiados, cuentan con un potencial inhibitorio y al unificarlos, sus compuestos se potencian, obteniendo halos de inhibición hasta de 18,2 mm de diámetro.

**Palabras clave:** *Desinfectante; Orégano de monte; Romero; Aceites esenciales; Antimicrobiano.*

### 1.1. Descripción del problema

Los productos de desinfección permiten hacer limpieza de todos los utensilios, equipos, superficies y ambientes de trabajo, es por eso que son de vital importancia en la industria alimentaria, según Pérez et al (2017), es necesario la limpieza del espacio de trabajo para lograr alcanzar las condiciones de inocuidad, evitando las enfermedades de transmisión alimentaria y así cumplir con los estándares que establecen algunas normas del sector alimentario, como la resolución 2674 de 2013, ya que de acuerdo al Ministerio de Salud y Protección Social (2013), los productos de

desinfección deben cumplir con ciertos requisitos para las diversas etapas relacionadas con la manipulación de los alimentos y materias primas.

Las normas de sanidad en el sector alimentario, existen para evitar la propagación de enfermedades de transmisión alimentarias (ETAs), causadas por patógenos, bacterias, virus o incluso parásitos que están presentes en los alimentos. Según MinSalud (2017), es posible producir toxinas preformadas en los alimentos que pueden llegar a ser ingeridas y afectar la mucosa intestinal. Es importante resaltar que según MinSalud (2021), “se reportan que el 84,2 % de las entidades territoriales en Colombia notificaron brotes de ETA, siendo Antioquia, Cali, Bolívar y Bogotá las entidades territoriales con el mayor número de brotes, se reportaron 483 brotes que involucran 4.550 casos”.

Por otra parte, debido a las altas trazas de hipoclorito de sodio (NaClO) se presenta una alta toxicidad en los alimentos preparados por los restaurantes. La mayoría de veces los desinfectantes convencionales pueden ser nocivos para los consumidores finales, es por eso que se deben encontrar alternativas hacia estos productos; Sin embargo, existe un bajo conocimiento sobre la utilidad de los aceites esenciales de plantas aromáticas con potencial bactericida, por lo que la oferta de desinfectantes elaborados a partir de aceites esenciales es aún incipiente dentro del sector de la industria alimentaria, este comportamiento también se debe a que los desinfectantes convencionales cumplen con su rol de desinfección y se encuentran en el mercado a un bajo costo.

De acuerdo a lo anterior se plantea la formulación de un desinfectante a partir de aceite esencial de orégano de monte (*Lippia origanoides*) y romero (*Salvia rosmarinus*), para el control de *E.coli* y *S. aureus* en los procesos alimentarios que conlleven la manipulación de frutas y vegetales, evaluando el porcentaje de inhibición del desinfectante, frente a dichas bacterias por medio de sensidiscos e identificando los compuestos inhibitorios de los aceites esenciales del orégano de monte y romero a través de la cromatografía de gases acoplado a espectro de masas GC-MS, dichas pruebas serán realizadas en la sede de Alvernia de la universidad Mariana.

Con base en lo anterior, se plantea la siguiente pregunta de investigación.

¿Cómo se puede lograr el 75% de inhibición para el control de *E. coli* y *S. aureus* empleando el desinfectante elaborado a base de aceite esencial de orégano de monte (*Lippia origanoides*) y romero (*Salvia rosmarinus*)?

## 1.2. Justificación

La FDA resalta que los productos pueden estar contaminados desde su etapa de crecimiento al estar en contacto con la tierra, agua o fertilizantes, de igual manera en la etapa post-cosecha de los alimentos, donde el riesgo de contaminación es bastante alto, debido a que se pasa por distintas etapas de manipulación para llegar hasta la distribución de los alimentos. Es por eso que se debe realizar una desinfección, la cual, según el Ministerio de Salud de Perú (2022), corresponde a la disminución de microorganismos generados ya sea por medios químicos o físicos que puedan llegar a afectar la inocuidad del alimento.

A través de diferentes estudios, Castillo y Becerra (2019), han demostrado que el aceite esencial de *Origanum vulgare L.* (orégano), tiene efecto bactericida frente a diferentes bacterias Gram positivas y Gram negativas, algunas relacionadas con las ETAs.

Los compuestos antimicrobianos son los que permiten la inactivación o eliminación de un microorganismo y dichos compuestos pueden ser encontrados en algunas plantas promisorias. Para el caso de los aceites esenciales orégano de monte y romero, sus principales compuestos antimicrobianos son el *carvacrol* y el *timol*. Sin embargo, según Mera-Mendoza (2020), “El contenido de los componentes puede variar según la especie, temporada de cosecha y origen geográfico. La acción de los antimicrobianos se da mediante la desintegración de la membrana externa de las bacterias Gram negativas, liberando parte del lipopolisacárido y aumentando la permeabilidad del ATP (*trifosfato de adenosina*)”.

En Colombia existen las Normas técnicas sectoriales (NTS) como las NTS 002 y NTS 004 que incentivan el uso de bioproductos dentro del sector de hotelería y restaurantes. Teniendo requisitos

ambientales que promueven la protección de la biodiversidad, apoyando programas de protección y uso sostenible.

Por otra parte, la gobernación de Nariño (2020), establece un plan de Desarrollo Departamental llamado “Mi Nariño, en defensa de lo nuestro” esta investigación se articula con la estrategia denominada mi Nariño competitivo, en el componente ciencia, tecnología e innovación, cuyo objetivo es promover la generación de conocimiento de alto valor que dé respuesta a las necesidades sociales y oportunidades de desarrollo productivo. Igualmente, la investigación se articula con la estrategia denominada mi Nariño sostenible, cuyo objetivo es implementar acciones para proteger la biodiversidad, mediante la articulación de actores que desarrollen políticas públicas, para el cuidado de los ecosistemas y el aprovechamiento de las oportunidades de crecimiento verde, esta investigación también forma parte de la estrategia de agricultura y desarrollo rural ya que permite agregar valor a sus productos, generando oportunidades de entrada a mercados más rentables y la sofisticación del aparato productivo.

Según el Gobierno de Colombia (2018), los emprendedores contribuyen al crecimiento, a través de la creación de empleo y el desarrollo de nuevos productos y procesos, que conllevan a la creación de mercados y competencia dentro de los existentes.

La producción de orégano y romero se debe tener en cuenta para evaluar la rentabilidad del proyecto, teniendo en cuenta lo anterior, el ministerio de agricultura (2022), expone que el reporte de producción y rendimiento nacional por cultivo por parte del romero es de 3 ton/ha en el 2019. Para el año 2020, Cundinamarca se destacó como el mayor productor de romero con 81 toneladas de la producción nacional. Este mismo expone que, para el Orégano, el reporte de producción, rendimiento y participación municipal en el departamento de Nariño según el ministerio de agricultura indica que hay una producción de 31,20 Toneladas para el año 2018 específicamente en la finca Olaya Herrera, la cual contribuye con un rendimiento de 1,01 Ton/ha.

Posteriormente, se hace uso de la extracción de los aceites esenciales por arrastre de vapor, es el método más común para la obtención de aceites esenciales. Según Casado (2018), “Es de los

métodos más usados en la actualidad a nivel industrial debido a la sencillez del proceso y los buenos resultados que proporciona en cuanto a cantidad, calidad y pureza de los aceites esenciales”.

El origen de la idea de un desinfectante base de aceite esencial de orégano de monte y romero, es contribuir de alguna forma con la conservación del medio ambiente, Cusiche-Pérez y Miranda-Zambrano (2019) informan que los productos de aseo y limpieza convencionales generalmente se encuentran compuestos por cloro, que al estar en contacto con compuestos orgánicos forman productos clorados, los cuales son bastante abrasivos al ser vertidos en fuentes hídricas y provocan la muerte de los seres que habitan en esos cuerpos de agua.

Atendiendo a la problemática del vertimiento de cloro a las fuentes hídricas, se busca prevenir la contaminación de los cuerpos de agua por dichas acciones, con la idea de disminuir la contaminación, prevenir enfermedades y la destrucción del ecosistema mediante el uso de desinfectantes naturales.

El desarrollo del proyecto de investigación resalta su importancia para los integrantes de la comunidad académica representada en docentes y estudiantes universitarios, puesto que con los resultados obtenidos se tendrá mayor conocimiento en el área de estudio, igualmente se podrán continuar y desarrollar nuevos proyectos con otras materias primas y productos de la región. Asimismo, con esta investigación se quiere generar un mayor conocimiento del potencial en plantas promisorias locales con el fin de generar un mayor apoyo al productor local el cual puede generar una economía estable con un cultivo rentable.

### **1.3. Objetivos**

#### ***1.3.1. Objetivo general***

Desarrollar un desinfectante a partir de aceites esenciales de orégano de monte (*Lippia origanoides*) y romero (*Salvia rosmarinus*), para el control de patógenos en la industria alimentaria Nariñense.

### 1.3.2. *Objetivos específicos*

- Obtener el aceite esencial de plantas de orégano de monte y romero como principales componentes activos de un desinfectante.
- Determinar el potencial de inhibición de los aceites esenciales de orégano de monte (*Lippia origanoides*) y romero (*Salvia rosmarinus*) en *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*.
- Formular un desinfectante a base de aceites esenciales de orégano de monte (*Lippia origanoides*) y romero (*Salvia rosmarinus*) con actividad antimicrobiana efectiva para el control de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*.

## 1.4. Marco referencial o fundamentos teóricos

### 1.4.1 *Antecedentes*

A continuación, se citan en orden cronológico las investigaciones realizadas con aceites esenciales de orégano y romero o plantas promisorias.

Copur et al. (2010), determinaron que el aceite esencial de orégano (*Origanum onites*) funciona como desinfectante para huevos incubables. Los autores aplicaron aceite esencial de orégano en dos dosis 0,55 y 0,75  $\mu\text{l}/\text{cm}^3$  y dos tiempos de exposición, 3 y 6 h. Los huevos tratados con formaldehído se usaron como control positivo y los huevos sin tratar se usaron como control negativo. Los resultados que se obtuvieron en la investigación fueron satisfactorios debido a que el número total de bacterias, levaduras y moho en la superficie de la cáscara de huevo se redujo significativamente por la fumigación con aceite esencial, dichos resultados se midieron como UFC/mL. La fumigación con aceite esencial de orégano produjo una buena reducción microbiana en comparación con el tratamiento con formaldehído. Las actividades microbianas del aceite esencial se atribuyeron a su interacción con las membranas celulares microbianas por medio de sus propiedades fisicoquímicas y formas moleculares que influyen en sus enzimas, portadores, canales iónicos y receptores.

Dos Santos-Rodriguez et al. (2017) estudiaron la capacidad de formación de biopelículas de *Staphylococcus aureus* de superficies en contacto con alimentos y evaluaron los efectos del aceite esencial de *Origanum vulgare* L. (orégano) y *carvacrol* (CAR) contra las células planctónicas y sésiles de aislamientos seleccionados, así como sus efectos sobre la formación de biopelículas en el acero inoxidable a lo largo del tiempo.

De esta investigación, los autores concluyeron que hubo una alta frecuencia de productores de biopelículas entre los aislamientos de *S. aureus* recuperados de superficies en contacto con alimentos. El orégano y *carvacrol* mostraron eficacia para inhibir el crecimiento de células planctónicas de aislados seleccionados de *S. aureus*; sin embargo, se necesitaron cantidades más altas de estos compuestos para inhibir el crecimiento de células sésiles.

Rodriguez et al. (2018) evaluaron la eficacia del uso del aceite esencial de *Origanum vulgare* L. (orégano) y *carvacrol* (CAR) para eliminar biopelículas formadas en superficies de acero inoxidable. Los recuentos de células sésiles (SSC) en biopelículas jóvenes y maduras formadas por *Staphylococcus aureus* en superficies AISI304 se evaluaron después de 10 y 15 minutos de exposición a orégano y CAR. Se realizaron análisis de microscopía electrónica de barrido para evaluar la ultraestructura de las células sésiles.

Como resultado, la CMI (Concentración mínima inhibitoria) contra células sésiles fueron efectivos para erradicar biopelículas preformadas en poliestireno. Las dosis sub-CMI de 1,25, 0,62 y 0,31  $\mu\text{L}/\text{mL}$  de CAR en caldo de carne redujeron los recuentos de células sésiles de los aislamientos en superficies de acero inoxidable con el tiempo (360 h).

En otro estudio, Vidács et al. (2018) evaluaron el efecto de eliminación de biopelículas de aceites esenciales seleccionados (canela, mejorana y tomillo) contra biopelículas inmaduras y maduras de *Escherichia coli* y *Listeria monocytogenes* formadas en superficies de polipropileno (PP). Los autores utilizaron el diseño de caja de superficie de respuesta-Behnken (BBD) con tres variables y 17 ensayos para optimizar la concentración de aceites esenciales (AE) (1,1 a 15,8

mg/mL), el tiempo de desinfección (10 min) y el nivel de pH (4,5 a 7,5) en las soluciones de desinfección a base de AE.

Dalla-Costa, Moura, y Millezi, (2019) determinaron la actividad antimicrobiana anti biopelícula e identificaron los principales componentes del aceite esencial (AE) obtenido de las hojas de *Cymbopogon flexuosus*. La actividad antibacteriana y anti biopelícula se determinó frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 29 213, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27 853, *Salmonella Typhimurium* ATCC 14 028 y *Listeria monocytogenes* ATCC 19117. El efecto del aceite esencial sobre la biopelícula se evaluó cuantificando el número de células viables (UFC) y la biomasa por análisis cristal violeta (CV).

Los resultados mostraron acción contra *L. monocytogenes*, *S. aureus* y *S. Typhimurium* con valores de CMI y CMB (Concentración mínima bactericida) de  $3,9 \mu\text{L mL}^{-1}$ , mostrando así una actividad antimicrobiana satisfactoria, dado que esta fue la concentración más baja probada. Para la actividad antibiofilm, se observó una reducción significativa ( $P < 0,05$ ) para *S. typhimurium* y *S. aureus*.

Čabarkapa et al. (2019) se enfocaron en el objetivo para determinar los compuestos bioactivos en cuatro aceites esenciales (AE) de *Origanum heracleoticum*, *Origanum vulgare*, *Thymus vulgaris* y *Thymus serpyllum* y evaluar su actividad antimicrobiana y anti-biofilm contra *Salmonella*.

Los resultados relacionados con la eficacia de los aceites esenciales y los EOC (los componentes del aceite esencial, *carvacrol* y *timol*) en la erradicación de biopelículas preformadas de 48 h de antigüedad indicaron que la reducción de la biopelícula se produjo de manera dependiente de la dosis a lo largo del tiempo.

Da Silva Bomfim et al. (2020) El objetivo de este estudio fue evaluar la actividad antifúngica y anti aflatoxigénica del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L. (REO) frente a *Aspergillus flavus*. El REO se obtuvo por hidrodestilación y sus componentes mayoritarios se identificaron

como 1,8-cineol (*eucaliptol*, 52,2 %), *alcanfor* (15,2 %) y  $\alpha$ -*pineno* (12,4 %) mediante GC/MS y NMR.

La aplicación de SOM (3 %) en el aire ambiente también redujo sus recuentos de TMAB y moho-levadura en un 92 y 84,6 % respectivamente. Si bien el etanol se usa comúnmente para la desinfección de ambientes, equipos y superficies, el SOM es una alternativa importante que también se puede usar para la desinfección de varias superficies y del aire.

Lira et al. (2020) evaluaron la eficacia del aceite esencial de *Origanum vulgare L.* (orégano) y *Rosmarinus officinalis L.* (romero) para inactivar células sésiles de *Salmonella entérica serovar Enteritidis 86* (SE86) en biopelículas jóvenes y maduras formadas sobre acero inoxidable.

De esta investigación se concluyó que el romero y orégano demostraron eficacia para erradicar las células sésiles SE 86 en biopelículas preformadas sobre acero inoxidable, mostrando un efecto dependiente del tiempo y un modo de acción multiobjetivo en la membrana celular bacteriana.

Rossi et al. (2020) realizaron una revisión, en la cual informan sobre las propiedades anti-biopelícula de los aceites esenciales en el control de biopelículas bacterianas (inhibición, eliminación y prevención de la dispersión de biopelículas) en superficies en contacto con alimentos. Se discute la relación entre el efecto de los aceites esenciales y la composición, concentración, bacterias involucradas y superficies. Además, dilucidan los posibles sitios de acción. Los hallazgos demuestran la alta capacidad de control de biopelículas de los AE a través de la regulación de genes y proteínas implicados en la motilidad, Quorum Sensing y matriz de exopolisacáridos (EPS).

En la investigación de Senturk, Gul, y Kilic (2021) desarrollaron un desinfectante novedoso a partir de varios aceites esenciales que contienen componentes activos con actividad antimicrobiana. La mezcla de aceites de orégano, canela y clavo (1: 1: 1) con una concentración de aceite del 10 % (SOM) se usó como potencial desinfectante en varias áreas y mostró la actividad antimicrobiana más alta entre las combinaciones de aceites probadas.

### **1.4.2. Marco teórico**

A continuación, se presentan los aspectos más importantes que dan sustento teórico al desarrollo de la presente investigación.

**1.4.2.1. Desinfectante.** Ford y O'Brien (2014) plantean que el cloro dio su primera aparición en un estado gaseoso en 1910 y fue clasificado como un elemento químico gracias al químico Sir Humphrey Davy, el nombre cloro significa verde pálido y fue mayormente conocido tras la epidemia de cólera en Inglaterra, donde se identificó el potencial desinfectante del cloro y fue de gran ayuda para poder combatir la epidemia de 1854.

“El cloro es generalmente considerado un oxidante no selectivo altamente destructivo, que reacciona con una gran variedad de compuestos subcelulares y afecta los procesos metabólicos. El compuesto actúa sobre la membrana celular, cambiando su permeabilidad, inhibe el transporte de sustancias, fragmenta las proteínas y reacciona con los nucleótidos” (Porcel et al., 2013).

**1.4.2.2. Aceites esenciales.** Ortuño-Sanchez (2006) expone que los aceites esenciales son utilizados desde el siglo XVI por Paracelso el cual preparaba medicamentos naturales a base de aceites esenciales de distintas plantas debido a sus componentes, actualmente los aceites esenciales hacen parte del mercado y se han experimentado nuevos productos a base de distintas plantas promisorias debido a sus propiedades y características.

Padrini y Lucheroni (2000) plantean que los aceites esenciales, dependiendo el tipo de planta contienen una mezcla de sustancias distintas como lo son terpenos, alcoholes, ésteres, aldehídos, entre otras, se presentan en cantidades mínimas según su masa vegetal, los aceites esenciales se encuentran presentes en las hojas, ramas y piel.

**1.4.2.3. Romero.** Rodríguez et al. (2017) comenta que el romero es una planta proveniente del mediterráneo y su inicio data del año 1950, actualmente sus tallos, hojas y flores son de gran valor para la industria alimenticia y cosmética, para la obtención de la planta se debe de tener en cuenta

que tiene un mejor crecimiento en climas que oscilan entre los 19 °C y 25 °C y crece aproximadamente entre los 1600 a 2600 msnm y preferiblemente en suelos arenosos y rocosos con una humedad relativa del 50%.

En la tabla 1, se evidencia que el romero es una planta la cual contiene una alta variedad de principios activos. Según Rodríguez et al. (2017):

Al tener un alto contenido en aceites esenciales, cuyos ingredientes activos son flavonoides, ácidos fenólicos y principios amargos, genera una acción tónica y estimulante sobre el sistema nervioso, circulatorio y corazón, además de ser colerético, colagogo, antiespasmódico, diurético, emenagogo y antigonadotrópico.

**Tabla 1**

*Componentes del romero*

<b>Metabolitos</b>	<b>Actividad biológica</b>	<b>Usos</b>	<b>Referencias</b>
Canfeno	Antifúngica	Promotor del crecimiento e inmunoestimulante en peces, como control en tratamiento de la caspa.	(Borges et al., 2018) (Karim et al., 2017)
Galocatequina	Antioxidante	Control de la oxidación en alimentos y conservador de alimentos.	(Karim et al., 2017).
Timol	Insecticida	Fumigante natural en el control de plagas.	(Ali et al., 2019) (Kowalski et al., 2018)
Terpinoleno	Antifúngica y antibacteriana	Aditivo aromático en jabones y como tratamiento en el control de la caspa.	(Borges et al., 2018) (Ali et al., 2019) (Elbahnasawy et al., 2019)
Carvacrol	Insecticida	Fumigante natural en el control de plagas.	Fumigante natural en el control de plagas.
Rosmaquinona	Antioxidante y antiinflamatoria.	Conservador de alimentos preparados.	(Beltrán et al., 2017) (El-Desouky et al., 2019).

**Fuente.** (Flores-Villa et al., 2020)

Avila-Sosa et al. (2011) expone que el romero es una planta con un alta adaptabilidad y fácil reproducción generando una fácil exportación y acceso para utilizarlo en las diferentes áreas requeridas. Su mayor uso se da en la industria de medicina naturalista con fines terapéuticos, esta planta aromática también es utilizada en la industria alimentaria o gastronómica como condimento y esta planta también tiene un uso aromático debido a su esencia.

**1.4.2.4. Orégano.** Según Klauer (2009), “El orégano se desarrolla desde el nivel del mar hasta los 3800 m.s.n.m., consiguiendo mejores producciones en alturas comprendidas entre los 2400 a 3000 m.s.n.m”.

Spiridon (2002) plantea que existe una distinción entre los tipos de orégano, siendo orégano el europeo (*Origanum sp*) y mexicano (*Lippia sp*) siendo el primero el más utilizado debido a su complicada y amplia diversidad morfológica y química la cual contiene aproximadamente 49 taxones con 42 especies.

La taxonomía del orégano y más específicamente del género *Origanum* se puede observar en la tabla 2, sin embargo, los compuestos de esta planta varían en cuanto a su contenido de aceite esencial. Según Spiridon (2002) generalmente, los taxones que cuentan con más del 2% de aceite esencial, se caracterizan por tener como compuestos principales, *carvacrol* y/o *timol* (con cantidades de *-terpineno* y *p-cimeno*) o por *linalol*, *terpineno-4-ol* e hidrato de *sabineno*.

**Tabla 2**

*Componentes del orégano*

<b>Compuesto</b>	<b>%</b>
Linalool	1,47
Cis sabinene hydrate	18,66
Terpineol	2,76
Linalyl acetate	7,4
Thymyl-metyl-eter	1,52
Thymyl-metyl-eter	2,07

*Fuente. (Plaus-Emilia et al., 2001)*

Según Burgos et al. (2016), “El orégano se caracteriza por crecer en diferentes tipos de suelos, siempre y cuando posean buen drenaje. Además, tolera valores de pH alcalinos y le es favorable una buena disponibilidad de fósforo y nitrógeno”

Ingram’s (2001) expresa que el aceite esencial de orégano, por medio de sus componentes posee propiedades medicinales, los aceites esenciales pueden ser extraídos por medio de una destilación la cual garantiza una alteración mínima de los principios activos, generando que dichas las propiedades se conservan de mejor forma.

**1.4.2.5. Escherichia coli.** Institute of medicine Washington D.C (2002) expone que *E. coli* es una bacteria bastante simple, al igual que otras bacterias se encuentran presentes en rocas que existen desde hace miles de años, por lo que *E. coli* tiene una existencia bastante prolongada y almacena toda esa información genética desde su existencia hasta la actualidad, sintetizando de la misma manera las herramientas que le permiten hacer sus funciones celulares básicas.

Sung y Jeong (2009) Comenta que a través de diversas investigaciones se ha encontrado que *E. coli*, puede llegar a ser un buen modelo para los estudios de sistemas debido a su estructura simple, generando así la oportunidad de desarrollar estrategias, métodos y herramientas mediante estudios biológicos, también visualizando un potencial uso de este microorganismo para aplicaciones biotecnológicas las cuales podrán extenderse a otros organismos, tomando estrategias metabólicas.

**1.4.2.6. Staphylococcus aureus.** Palavecino (2007) expone que *Staphylococcus aureus* ha sido reconocido a nivel histórico como uno de los mayores causantes de enfermedades a nivel mundial por lo que se encuentra directamente ligado a las infecciones adquiridas por las diferentes comunidades. Se sabe que dichas infecciones generadas por *S. aureus* llegaron a ser las causantes de bastantes muertes en las diversas comunidades cuando aún no se contaba con la disponibilidad de antibióticos; no obstante, al ser descubierta la penicilina los casos de infecciones producidas por este microorganismo disminuyeron; sin embargo, a través del tiempo *S. aureus* desarrollo una resistencia debido a la producción de  $\beta$ -lactamasas.

Según Palavecino (2007), “*Staphylococcus aureus* es un patógeno versátil asociado con diversas estaciones de presencia clínica. Recientemente los factores genéticos subyacentes a la virulencia de esta bacteria se entienden de manera significativa”.

Honeyman et al. (2002) plantearon que *Staphylococcus aureus* es un microorganismo presente en la piel de los seres vivos, a pesar de esto llega a ser bastante invasivo hasta el punto de ser considerado como uno de los mayores causantes de múltiples enfermedades en los seres vivos generando en estos afecciones y alteraciones en el sistema inmune.

**1.4.2.7. Extracción por arrastre de vapor.** Rodríguez-Cabra et al. (2017) comentaron que existen diferentes formas de extracción de aceites esenciales. Entre las principales metodologías, se encuentra el método de destilación de arrastre con agua-vapor, el cual consiste en traspasar el material vegetal apoyado en una malla; por otro lado, está el método de destilación con vapor sobrecalentado, donde se genera vapor en una caldera y este arrastra el aceite volátil de la materia orgánica

García y Villota (2016) afirman que el método de arrastre de vapor funciona debido a que el contacto del material vegetal con el vapor genera la producción de compuestos aromáticos y esenciales, los cuales son más volátiles que el agua y esto hace que se vaporice y sean arrastrados junto con el vapor hasta el condensador, donde son condensados junto con el vapor de agua.

Según García y Villota (2016), “Las condiciones de operación permiten obtener el componente volátil, con impurezas, lo cual lo hace insoluble en agua, ya que el producto destilado formará dos fases al condensarse, permitiendo así la separación del producto y del agua fácilmente”.

Suquillo (2017) afirma que en la destilación por arrastre de vapor una de las condiciones más importantes a tener en cuenta es que el componente sea insoluble en agua debido que así se podrá llevar a cabo en la última fase, una separación de los aceites esenciales del agua.

**1.4.2.8. Cromatografía de gases - espectrometría de masas (GC-MS).** McMaster (2008) propone que en los últimos 10 años se han presentado cambios con respecto a la tecnología, aumentando la capacidad de almacenamiento en el software siendo cada vez más sencillos para su uso y su procesamiento de datos es cada vez más sofisticado comparado a los sistemas más antiguos como lo es el DEC 10, RTE con un sistema de operador bastante anacrónico.

McMaster (2008) afirma que el uso de la cromatografía de gases líquidos junto con la masa espectrometría es utilizada básicamente como una herramienta analítica que ayuda a identificar los compuestos de una mezcla y facilita el desarrollo de un análisis comercial.

Existen las aplicaciones por los métodos de HPLC y LC-MS. Según Stashenko y René-Martínez (2010):

Mientras que las aplicaciones de HPLC y LC-MS predominan en bioquímica, medicina, biología molecular o farmacología, donde hay que separar biomoléculas, moléculas muy polares o de alto peso molecular, en ciencias agrícolas (e.g., pesticidas) y ambientales (e.g., contaminantes prioritarios, etc.) Se usan prioritariamente GC o GC-MS. Los análisis de aceites esenciales y perfumes, aromas y fragancias, algunos productos naturales, drogas y sus metabolitos, productos del petróleo, gasolina, aceite Diesel, etc. contaminantes ambientales prioritarios, residuos de pesticidas, acelerantes de incendios maliciosos, residuos de explosivos u otros analitos de interés forense, serán los objetos típicos de aplicación de la técnica GC, que emplea diferentes sistemas de detección, según el tipo de muestra. Entre los detectores GC se destaca el MSD por su capacidad de proporcionar información química estructural sobre los analitos presentes en mezclas.

**1.4.2.9. Antibiograma.** Bernal y Guzmán (1984) plantean que se evalúan los microorganismos utilizando pruebas de sensibilidad como de resistencia por medio de un proceso donde se hace uso de discos, dicha técnica es descrita por Bauer, Kirby, Sherris y Turk, es utilizada en los laboratorios clínicos como una prueba rápida que ayuda a determinar la inhibición frente a los microorganismos y establecer una concentración inhibitoria mínima (CIM).

Díaz-Soto (2013) expone que el método de antibiograma es una prueba que se realiza in vitro y se realiza con el fin de conocer la reacción de los microorganismos con los antibióticos para poder confirmar su eficacia determinando si los microorganismos presentan tanto sensibilidad como resistencia.

### **1.4.3. Marco contextual**

Para el desarrollo del desinfectante a base de aceites esenciales de orégano de monte y romero se tomará como muestra las plantas provenientes del municipio de Taminango corregimiento de El Remolino Panamericano en límites entre los departamentos de Nariño y Cauca, al suroccidente de Colombia. Según Arango-Bedoya et al (2014). “La microrregión del estudio se caracteriza por un clima tropical seco, con temperatura promedio de 24 °C, suelos semiáridos, baja precipitación (700 - 900 mm/año) y vegetación típica de un enclave subxerofítico”.

Las respectivas coordenadas geográficas 1°39'50"N 77°19' 17"W para el orégano, mientras que para la obtención de romero se realizará en la aldea el Romerillo la cual cuenta con una altitud de 2790 metros. El Romerillo está situada al sureste de Cumpamba, y al sur de MOTILON, sus respectivas coordenadas geográficas son 1°08'26"N 77°31' 35"W.

## **1.5. Metodología**

### **1.5.2. Enfoque de investigación**

La investigación es secuencial y probatoria, por lo que su enfoque pertenece al ámbito cuantitativo. Según Hernández-Sampieri et al (1991):

Cada etapa precede a la siguiente y no se puede brincar o eludir pasos, el orden es riguroso, aunque, desde luego, se puede redefinir alguna fase. Parte de una idea, que va agotándose y, una vez delimitada, se derivan objetivos y preguntas de investigación, se revisa la literatura y se construye un marco o una perspectiva teórica. De las preguntas se establecen hipótesis y determinan variables; se desarrolla un plan para probarlas (diseño); se miden las variables en un determinado contexto; se analizan las mediciones obtenidas (con frecuencia utilizando métodos estadísticos), y se establece una serie de conclusiones respecto de la(s) hipótesis.

### **1.5.3. Tipo de investigación**

El tipo de investigación que se va utilizar es experimental, según Hernández-Sampieri et al (1991). “Para esta clasificación de investigaciones, se manipulan intencionalmente una o más variables independientes para analizar las consecuencias que la manipulación tiene sobre una o más variables dependientes dentro de una situación de control para el investigador” (p. 101).

### **1.5.4. Técnica e instrumentos de recolección de información**

A continuación, se da a conocer la metodología empleada para el desarrollo de un desinfectante a partir de aceites esenciales de orégano de monte y romero para el control de *E. coli* y *S. aureus* en frutas y vegetales, realizando un seguimiento por medio de actividades para poder cumplir con los objetivos específicos.

**1.5.4.1. Obtener el aceite esencial de plantas de orégano de monte y romero como principales componentes activos de un desinfectante.**

**1.5.4.1.1. Localización y cuantificación de plantas promisorias de orégano de monte (*Lippia origanoides*) y romero (*Salvia rosmarinus*) en el departamento de Nariño.** Para la realización de esta actividad se tomó como muestra las plantas provenientes del municipio de Taminango corregimiento de El Remolino Panamericano en límites entre los departamentos de Nariño y Cauca, y la finca “El Romerillo” la cual está situada al sureste de Cumpamba, y al sur de Motilon.

**1.5.4.1.2. Recolección y transporte de plantas promisorias órgano de monte (*Lippia origanoides*) y romero (*Salvia rosmarinus*) hacia el laboratorio de operaciones unitarias de la Universidad Mariana.** Según Granados-Sánchez (2013), se debe pasar las primeras lluvias de la primera semana del mes de agosto, las cuales suelen prolongarse hasta el mes de octubre. La recolección se hizo de acuerdo a las técnicas empíricas, con las manos, actividad de la que se

recolectaron las hojas caídas de preferencia hojas que aún no se encontraran secas. Posteriormente se transportó la materia prima hacia la sede Alvernia en bolsas de polietileno.

**1.5.4.1.3. Realizar pretratamiento (Secado, tamaño de partícula) de la materia prima con el fin de obtener un rendimiento adecuado.** Se dejaron secar las hojas al medio ambiente en un lugar con sombra sobre una superficie de 2 m por 1,8 m, por un tiempo de 8 días, a una temperatura ambiente de 18 °C y una humedad relativa del 71 % (García y Villota, 2016). El procedimiento se llevó a cabo en el laboratorio de operaciones unitarias de la sede Alvernia de la Universidad Mariana, la sede se cuenta con una altura de 2.651 msnm, y unas coordenadas geográficas 1°13'11"N 77°17'52"W. Al transcurso de los 8 días, se realizó una separación de la hoja con el tallo, raíces e impurezas, posteriormente se redujo el tamaño de partícula de las hojas en un tamaño aproximado de 3 cm para aumentar el área de contacto material - vapor (Arango-Bedoya et al., 2014) y se tomó el dato del peso inicial de la materia prima.

**1.5.4.1.4. Extracción de aceites esenciales empleando un extractor multipropósito utilizando la técnica de arrastre de vapor.** Para la extracción de las hojas de orégano de monte y romero, se ingresó la materia prima en el extractor localizado en la sede Alvernia, el cual cuenta con una fuente de alimentación de 220V y está construido en acero inoxidable 304.

Para realizar la extracción por arrastre de vapor se fijaron los pasadores en posición vertical. Posteriormente y siguiendo metodología de Villota (2015) “se suministraron las hojas de orégano de monte seco previamente identificado, seleccionado, pesado y triturado. Se colocaron sobre la malla inferior y se cerró la tapa; luego se conectaron todas las líneas de vapor de caldera, vapores producidos, retroalimentación de líquido y de salida de líquidos por medio de las uniones universales correspondientes”. A la manguera de salida de líquidos se le instaló un vaso florentino con capacidad de 250 mL, donde se cargó el 70% de agua, este ayudó a retener el aceite esencial y posteriormente fue separado del agua por la operación unitaria de decantación.

Las condiciones de operación fueron; tiempo de 4 horas, presión de 2 psi, temperatura de 28 °C y humedad relativa de 66% (García y Villota, 2016; Villota, 2015).

Para el vaciado de la columna se retiró la tapa, removiendo los tornillos y se procedió a girar el equipo e iniciar con el proceso de limpieza.

**1.5.4.1.5. Rendimiento del aceite esencial obtenido.** Se siguió la ecuación planteada por León et al. (2015) para calcular el rendimiento de extracción partiendo del peso de la materia prima que ingresa y sale del proceso, por medio de la Ecuación 1.

**Ecuación 1.** Fórmula para calcular el porcentaje de rendimiento

$$\%Rendimiento = \frac{W_{ae}}{W_{mv}} \times 100$$

Donde  $W_{ae}$  es la masa del aceite y  $W_{mv}$  es el peso del material vegetal fresco

También se tuvo en cuenta la densidad del lecho con el que se está trabajando, con el fin de conocer cómo afecta en la eficiencia de la extracción, por lo que se tuvo en cuenta el volumen del contenedor con la materia prima, el cual es calculado por medio de la Ecuación 2.

**Ecuación 2.** Volumen de contenedor (extractor)

$$V = \pi * \left(\frac{\theta}{2}\right)^2 * hr$$

Donde  $\theta$ , corresponde al diámetro del lecho en el reactor y  $hr$  a la altura del lecho.

Con el volumen del reactor con el que se va a trabajar, se puede proceder a realizar el cálculo de la densidad del lecho por medio de la Ecuación 3.

**Ecuación 3.** Densidad del lecho.

$$\rho_{lecho} = \frac{m}{v}$$

Donde  $m$ , corresponde a la masa que ingresa al reactor, y  $v$  al volumen del lecho

**1.5.4.1.6. Almacenamiento de aceites esenciales en envases ámbar a una temperatura adecuada.** De acuerdo a las características físicas y químicas de los aceites esenciales, se realizó el almacenaje en contenedores herméticos, llenos y protegidos de la luz (Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios, 2018). Se depositaron los aceites esenciales de las plantas promisorias de orégano de monte y romero en envases ámbar debido a que son frascos generalmente de vidrio que se caracteriza por su color el cual tiene el objetivo de filtrar luz ultravioleta y no deteriorar el aceite esencial.

**1.5.4.1.7. Caracterizar los compuestos activos de aceites esenciales de Orégano de monte (*Lippia origanoides*) y Romero (*Salvia rosmarinus*) mediante cromatografía de gases acoplada a un espectrómetro de masa.** El análisis cromatográfico y la identificación de los componentes de los aceites esenciales de orégano de monte y romero, fueron realizados simultáneamente, con un cromatógrafo de gases combinado con un espectrómetro de masas (GC/MS) SHIMADZU GC17A ubicado en la sede de Alvernia de la Universidad de Mariana, donde se tomó como volumen de la inyección 1 µL de cada aceite esencial extraído.

Las variables de operación que se utilizaron para la identificación de los componentes son, según García y Villota (2016), “una presión de 92,3 kPa, con fase móvil de Helio AP a flujo de 1,0 mL/min con una tensión de 120 V a 220 V para un tipo de columna RTQ-BOND (Restek Bellofonte 30 m x 0,25 mm x 0,10 µm)”

**1.5.4.2. Determinar el potencial de inhibición de los aceites esenciales de orégano de monte (*Lippia origanoides*) y romero (*Salvia rosmarinus*) en *E. coli* y *S. aureus*.**

**1.5.4.2.1. Conocer las características de crecimiento de *E. coli* y *S. aureus*.** Se realizó una consulta por medio de diferentes plataformas como lo son SCIELO, DOAJ, entre otros. Con el fin de determinar cuáles son las mejores condiciones de crecimiento de *E. coli* y *S.aureus*, las cuales se pueden apreciar en la tabla 3 y según esto se determinó el procedimiento para replicar estas cepas y evaluación de su crecimiento.

**Tabla 3**Comparación de condiciones de crecimiento para *E. coli* y *S. aureus* según diferentes autores

AUTOR/ES	MICROORGANISMO	CONDICIONES DE CRECIMIENTO
(Carhuallanqui-Pérez et al., 2020)	<i>Staphylococcus aureus</i>	Incubación a 37 °C durante 24 h
(Cabrera, 2019)	<i>Staphylococcus aureus.</i> <i>Escherichia coli</i>	Incubación a 37 °C y agar Sabouraud dextrosa a 35 (± 2 °C) durante 24 horas.
(Medrano y Medrano, 2020)	<i>Staphylococcus aureus.</i> <i>Escherichia coli</i>	Incubación a 35 °C por 2 a 8 horas aproximadamente hasta que se produzca un crecimiento moderado.
(Instituto Nacional de Salud, 2011)	<i>Staphylococcus aureus.</i>	Para su crecimiento requiere de temperaturas entre 30 a 37 °C, pH entre 7,0 a 7,5; tolera concentraciones de sal hasta del 10% y una actividad acuosa (aw) mínima de 0,86.
(Castellanos et al., 2019)	<i>Escherichia coli</i>	Su óptimo desarrollo se encuentra en el entorno de la temperatura corporal de los animales de sangre

---

		caliente (35 a 45 °C).
(Castellanos et al., 2019)	<i>Staphylococcus aureus</i> .	La temperatura óptima de crecimiento va de 35 a 40 °C y el pH óptimo oscila entre 7,0 y 7,5 aunque soportan pH mucho más extremos.

---

Se trabajó con cepas certificadas para cada microorganismo, los cuales corresponden a *Escherichia coli* (ATCC 25922) y *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538P), fueron obtenidas del laboratorio de microbiología de la Universidad Mariana. La siembra de los microorganismos se realizó a una temperatura de 35°C y un tiempo de incubación de 48 horas de acuerdo a lo expuesto por Medrano y Medrano, (2020). Para la fase de crecimiento se empleó una incubadora marca binder la cual permitió mantener una temperatura constante para el crecimiento óptimo de los microorganismos.

**1.5.4.2.2. Realizar siembra de *E. coli* y *S. aureus* en las condiciones óptimas de crecimiento dentro del laboratorio de la Universidad Mariana.** Las cepas fueron replicadas (triplicado), a través del método de estriado sistemático con ayuda de un asa metálica, las dos cepas tuvieron un tiempo de incubación de 24 a 48 horas en medio Baird Parker, PTC y Cromocultd respectivamente, se incubaron a 35 °C (pH 7,0 y 10 g/L de NaCl) en una atmósfera húmeda con tensión de oxígeno normal.

**1.5.5.2.3. Aplicación de aceite esencial de orégano de monte y romero en sensidiscos para el control de *E. coli* y *S. aureus*.** Se llevaron a la autoclave los materiales: Placas Petri, pipetas, tubos de ensayo, pinza, hisopos y discos de sensibilidad de celulosa, durante 15 min a 121 °C. Se impregnaron los discos de sensibilidad con el respectivo aceite esencial (en una concentración pura) y se adicionaron, con la ayuda de la pinza estéril, dentro de las placas Petri en 3 lugares, no menores de 15 mm del borde de la placa (Proceso por triplicado). Posteriormente se ingresaron las placas Petri en una estufa, incubadora a 35 °C por 24 horas,

luego se midieron los halos de inhibición con la ayuda de un pie de rey (Condori y Vilcanzan, 2019).

**1.5.5.2.4. Determinar la Concentración Mínima Inhibitoria para *E. coli* y *S. aureus*.** Para la determinación de la CMI se realizaron diluciones de agua destilada-aceite en relaciones 1:1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16 y 1:32. Para homogenizar la mezcla se utilizó el equipo limpiador de ultrasonido marca Fisherbrand modelo FB11203. El proceso se realizó por un tiempo de 10 minutos a una frecuencia de 35 Hz a una temperatura de 30°C.

Posterior a las diluciones se procedió a realizar un antibiograma por triplicado de cada dilución para los dos tipos de aceites en *E.coli* y *S.aureus*. Se dejaron incubar a 35 °C por 24 horas y se evaluó la relación cantidad y crecimiento para los aceites de orégano de monte y romero.

Para el análisis de los resultados obtenidos, se realizó un diseño experimental unifactorial, basado en el aspecto cualitativo, correspondiente a los halos de inhibición. El procedimiento se llevó a cabo con la ayuda del programa InfoStat, utilizando un nivel de confianza del 95%, se tomó el porcentaje de inhibición como variable dependiente y las relaciones de aceite diluido en agua como variables de clasificación.

**1.5.5.3. Formular un desinfectante a base de aceites esenciales de orégano de monte (*Lippia origanoides*) y romero (*Salvia rosmarinus*) efectivo en el control de *E. coli* y *S. aureus*.**

**1.5.5.3.1. Determinar concentraciones para el desinfectante.** Teniendo en cuenta la CMI para los dos aceites, se realizó una mezcla en una base de agua destinada, en su respectiva concentración previamente encontrada, de igual forma para homogeneizar el contenido agua-aceite, se hizo uso del equipo limpiador de ultrasonido marca Fisherbrand modelo FB11203, por un tiempo de 10 minutos a una frecuencia de 35 Hz a una temperatura de 30°C.

**1.5.5.3.2. Análisis del poder bactericida en *E. coli* y *S. aureus*.** Para el análisis del poder bactericida del desinfectante se hizo mediante la evaluación de las cantidades de los dos aceites esenciales en mL necesarias para inhibir ambas cepas, para esto se tomó la formulación del

desinfectante y se impregnó en diferentes sensidiscos de celulosa con la ayuda de pinzas estériles, se dejó incubar a 35 °C por 24 horas, y se procedió a hacer la lectura midiendo los halos de inhibición de cada disco, para la medición se empleó el software AutoCAD versión estudiantil, apoyándose de una regla inmersa en las fotografías capturadas, que permitió tomar una referencia de la medida real, para poder estimar una escala natural 1:1, y así tener el valor en milímetros de manera más precisa para el halo de inhibición (Medrano y Medrano, 2020).

Para el análisis de los resultados obtenidos, se realizó un diseño experimental para conocer si los resultados obtenidos representan valores significativos en el estudio, para ello se elaboró un diseño unifactorial en donde se tomó como factor único la combinación del aceite y el porcentaje de inhibición como variable dependiente, y las concentraciones de aceites como variables de clasificación para cada cepa. Para un total de 2 tratamientos uno para cada cepa por triplicado.

Por medio de este procedimiento, se evaluó el crecimiento de las dos cepas frente a la cantidad mínima necesaria de aceite para la formulación del desinfectante y se generó la siguiente hipótesis.

¿La combinación de aceite esencial de orégano de monte (*Lippia origanoides*) y romero (*Salvia rosmarinus*) maximizan el porcentaje inhibitorio del desinfectante frente a *E.coli* y *S.aureus* a un 75%.?

**1.5.5.3.3. Revisar NTC del poder bactericida.** La revisión de las Normas Técnicas Colombianas se hace con el fin de tener una base normativa para el desarrollo del desinfectante, con el fin de tener claros los estándares mínimos requeridos del producto y dar cumplimiento de los diferentes parámetros establecidos.

**1.5.5.3.4. Diseñar ficha técnica del desinfectante.** Se diseñó una ficha técnica para permitir evaluar de una forma más clara las características que posee el desinfectante a base de aceites esenciales de orégano de monte y romero, contemplando aspectos importantes a tener en cuenta para el consumidor, como advertencias, presentación y componentes.

## **2. Resultados y discusión**

### **2.1. Localización y cuantificación de plantas promisorias de Orégano de monte (*Lippia origanoides*) y Romero (*Salvia rosmarinus*) en el departamento de Nariño**

Se encontró que los proveedores de las plantas aromáticas son:

-Vereda el Romerillo, situada al sur del Motilon, para el caso del romero

-Vereda la recta, situada en el municipio de Taminango, corregimiento el Remolino para el caso del Orégano de monte.

El orégano de monte, se obtuvo en un sector de producción con un clima cálido; según InfoAgro (2020), este tipo de clima brinda mayores posibilidades de tener un crecimiento a la planta.

El romero, se encuentra en la vereda “el Romerillo” con una altitud de 2.790 msnm; lo cual, según Rodríguez et al. (2017) le brinda un buen ecosistema de crecimiento a esta planta de estudio.

Por otra parte, la producción de los dos tipos de plantas es aproximadamente de 3.000 kilogramos al año.

### **2.2. Recolección y transporte de plantas promisorias Orégano de monte y romero hacia el laboratorio de operaciones unitarias de la Universidad Mariana**

Se recolectaron manualmente 10 kg de romero y 6 kg de orégano de monte, posterior a realizar el pretratamiento se obtuvieron 9,8 kilogramos para el romero, y 5,7 kilogramos de orégano de monte, con un ajuste de tamaño de partícula de 3 x 3 cm, y una humedad del 78%.

### **2.3. Cuantificación del aceite obtenido**

Para el caso del romero, se obtuvo un volumen en el reactor de 45804 cm<sup>3</sup>, y una densidad de lecho de 0,214 g/cm<sup>3</sup>. Para esta planta, se logró extraer 78,5 mL de aceite esencial, equivalentes a 64,76

g, teniendo en cuenta que su densidad es de 0,825 g/mL, por lo que se alcanzó un rendimiento de extracción de 0,66 %.

El rendimiento obtenido concuerda con los estudios realizados por Vélez-Mendoza et al. (2019) en donde se hace uso del método de arrastre por vapor para obtener aceite esencial de romero, en este estudio emplean 100 g de materia vegetal y obtienen un rendimiento del 0,53% por lo que existe concordancia en los resultados obtenidos, teniendo en cuenta que en el estudio de Vélez el proceso se llevó a cabo con las hojas húmedas por lo que esto afectó el porcentaje de rendimiento, ya que se puede obtener mejores resultados al someter la materia prima a un proceso de secado previo a la extracción.

Por otro lado, para el orégano de monte, se obtuvo un volumen de 8143 cm<sup>3</sup> en el reactor, y una densidad de lecho de 0,699 g/cm. Para esta planta, se logró extraer 100 mL equivalentes a 91,3 g de aceite esencial, teniendo en cuenta que su densidad es de 0,913 g/mL, obteniendo un rendimiento de 1,60 %.

El rendimiento obtenido concuerda con los estudios realizados por Vera y Zambrano, (2017) en donde se hace uso del método de arrastre por vapor para obtener aceite esencial de orégano, en este estudio emplean 60 g de materia vegetal y realizan 5 réplicas, de las cuales obtuvieron un rendimiento promedio de 0,83% por lo que los resultados obtenidos, son superiores a este estudio; no obstante, en el estudio de Vera y Zambrano no se realizó un pre-tratamiento adecuado de la materia prima, como la reducción de partícula para aumentar la superficie de contacto y un proceso de secado más efectivo.

Por otro lado, según Arango et al. (2009) el factor de empaquetamiento o densidad del lecho y el tiempo de extracción influyen en el rendimiento de los aceites obtenidos. A partir de los rendimientos logrados, se puede decir que al tener menor densidad de lecho su rendimiento será menor, tal como se evidenció con la extracción de romero, la cual tuvo un % de rendimiento de 0,66 a diferencia del orégano el cual obtuvo 1,60% y una mayor densidad de lecho, confirmando la importancia de este factor.

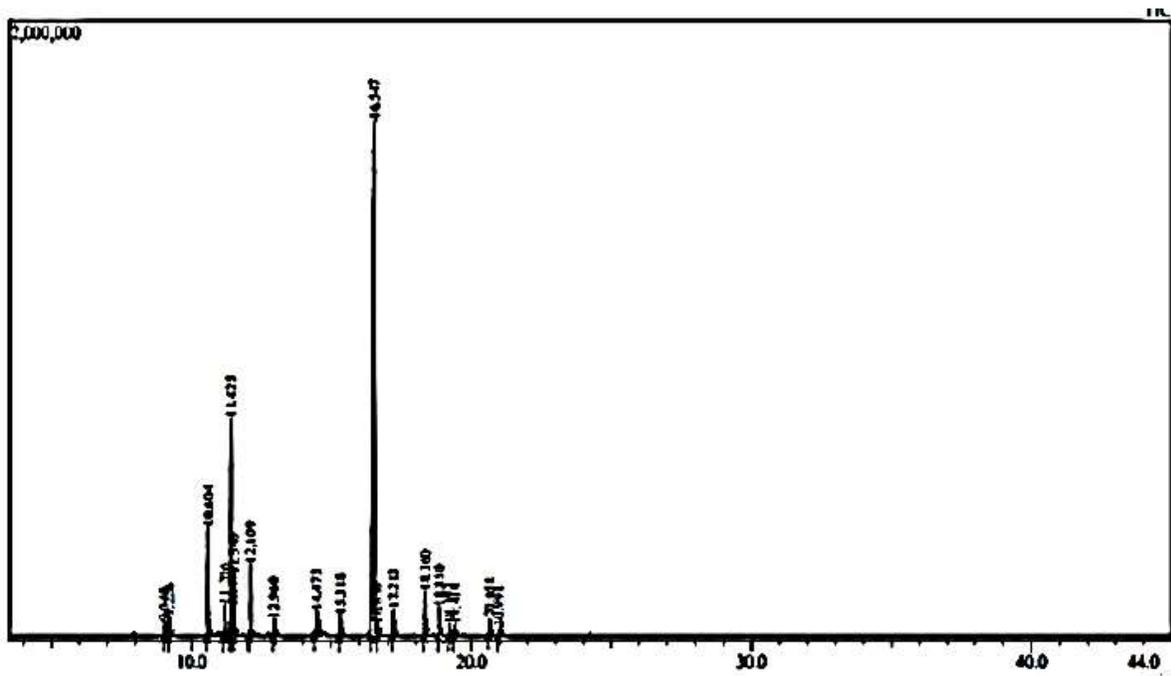
## 2.7. Caracterizar los compuestos activos de aceites esenciales de Orégano de monte y romero mediante cromatografía de gases acoplada a un espectrómetro de masa

### 2.7.1 Análisis cromatográfico de aceite esencial de orégano de monte

Los compuestos activos presentes en el aceite esencial de orégano de monte arrojados como resultado por el GC-MS se pueden observar en la siguiente ilustración 1. De igual forma arrojó la composición del aceite esencial de orégano de monte, tiempo de retención y la cantidad de cada compuesto según el pico como se observa en la tabla 4.

#### Ilustración 1

*Perfil cromatográfico de aceite esencial de orégano de monte.*



**Tabla 4***Datos de análisis cromatográfico de aceite esencial de orégano de monte*

No. Pico	Tiempo de retención	Cantidad relativa	Compuesto
12	16,620	57,91	Timol
5	11,460	12,88	$\beta$ -cimeno
3	10,665	5,21	$\beta$ -mirceno
8	12,155	3,61	-terpineno
7	11,580	2,89	1,8-cineol
15	18,405	2,39	trans-cariofileno
10	14,590	2,11	4-terpineol
16	18,905	1,47	-humuleno

Los compuestos activos mayoritarios que se encuentran en la tabla 4 se pueden aproximar con los resultados encontrados por Stashenko et al. (2007) quienes en su investigación comparativa de metabolitos secundarios volátiles encontraron *timol* (56 %), *p-cimeno* (13 %) y *1,8 cineol* (9 %) (Stashenko et al., 2007). De igual manera, en el estudio realizado por Figueroa (2013), se encontró que la extracción se hizo por el método de arrastre con vapor, y que los compuestos mayoritarios

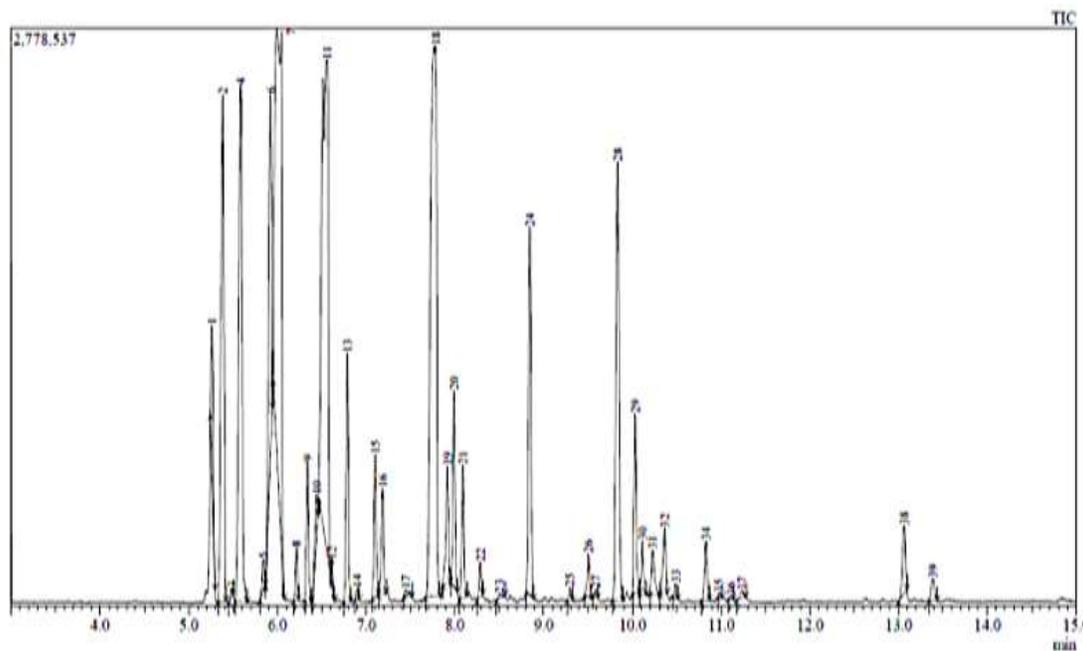
presente en el aceite de orégano de monte fueron el *timol* (83 %), seguido de *p-cimeno* (5,5 %), *β-mirceno* (3 %), *γ-terpineno* (2,5 %).

### 2.7.1 Análisis cromatográfico de aceite esencial de romero

Los compuestos activos presentes en el aceite esencial de romero arrojados como resultado por el GC-MS se pueden observar en la siguiente ilustración 2. De igual forma arrojó la composición del aceite esencial de romero, tiempo de retención, la cantidad de cada compuesto según el pico como se observa en la tabla 5.

#### Ilustración 2

*Perfil cromatográfico de aceite esencial de romero.*



**Tabla 5***Datos de análisis cromatográfico de aceite esencial de romero*

No. Pico	Tiempo de retención	Cantidad relativa	Compuesto
7	5,922	5,38	$\beta$ -pineno
18	7,783	4,70	-2-Bornanone
11	6,558	4,89	Eucalyptol
4	5,586	2,65	$\alpha$ -terpineno
2	5,383	2,43	2,6,6-Trimethylbicyclo
6	5,921	2,24	Sabinene
28	9,833	2,47	Caryophyllene
24	8,844	1,97	Endobornylacetate

Los compuestos activos mayoritarios que se encuentran en la tabla 5 se pueden aproximar con los resultados encontrados por Hurtado, (2016) quienes encontraron  *$\beta$ -pineno* (3,4%), *Eucaliptol* (20%) y  *$\alpha$ -terpineno* (2,5%), de igual manera en el estudio realizado por Pulido-Arango et al. (2018), se encontró que los compuestos mayoritarios presentes en el aceite de romero son, el *Eucaliptol* que sirve como antiséptico y desinfectante ante procesos virales, seguido de  *$\alpha$ -pineno* y *2-Bornanone*, el cual contiene actividades antimicrobianas, antiinflamatorias y antioxidantes, lo

cual ofrece un beneficio para el desarrollo del desinfectante, aportando más características indirectas en la desinfección .

## 2.8. Crecimiento de *E. coli* y *S. aureus*

Las dos cepas fueron incubadas a una temperatura de 35°C por un tiempo de 24 a 48 h, y sus resultados con respecto al crecimiento se puede observar en la ilustración 3, ambos microorganismos presentan crecimiento en los respectivos medios de cultivo.

### Ilustración 3

*Crecimiento de E.coli y S.aureus.*

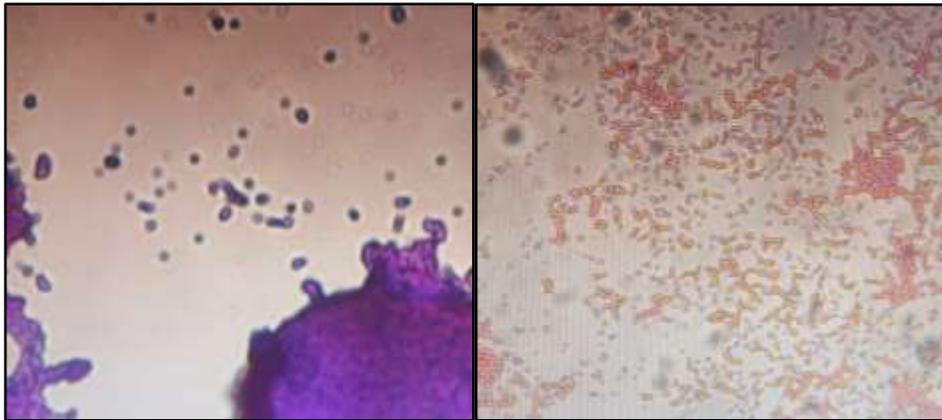


Para el reconocimiento microscópico de cada una de las cepas se realizó una tinción de gram para cada cultivo, donde se reconocieron que para *E.coli* son en forma de bacilos largos gram negativos como se observa en la ilustración 4. Mientras que, para *S.aureus* se observó forma de cocos, y algunos se encuentran en parejas. La caracterización morfológica de *E. coli* y *S.aureus* obtenida en la presenta investigación coincide con el estudio realizado por Pulido-Arango et al. (2018) quienes dicen que *E.coli* se encuentra integrada con bacilos Gram negativos, no esporulados, móviles con flagelos peritricos, y para el caso de *S.aureus*, Pasachova-Garzón et al.

(2019) afirma que, el microorganismo corresponde a un coco inmóvil de 0,8 a 1 micrómetro de diámetro, y puede llegar a formar racimos de uvas cuando se juntan, responde positivamente a la tinción de Gram y no posee movilidad.

#### **Ilustración 4**

*Tinción de Gram para *S. aureus* y *E. coli*.*



#### **2.10 Aplicación de aceite esencial de Orégano de monte y Romero en sensidiscos para el control de *E. coli* y *S. aureus***

La evaluación del efecto inhibitorio del aceite esencial de orégano de monte y romero se determinó a las 48 horas por medio de sensidiscos de celulosa, obteniendo como resultado el halo de inhibición; se tuvo en cuenta para la evaluación, la comparación con un testigo químico (NaClO). Los resultados obtenidos para los diferentes medios de cultivo se muestran en la tabla 6.

**Tabla 6***Halos de inhibición (mm) del aceite esencial de romero.*

<b>Bacteria</b>		<i>Staphylococcus aureus</i>	
<b>Tratamiento</b>	Medio de cultivo	Promedio	Desv
<b>Blanco</b>	PTC	0	0
<b>Aceite de romero</b>	PTC	13,18	4,98
	<i>% Halo PTC</i>	<b>13,66%</b>	<b>5,17%</b>
	Baird-Parker Agar	11,59	1,38
	<i>% Halo Baird-Parker</i>	<b>12,02%</b>	<b>1,43%</b>
<b>Bacteria</b>		<i>Escherichia coli</i>	
<b>Tratamiento</b>	Medio de cultivo	Promedio	Desv
<b>Blanco</b>	PTC	0	0
<b>Aceite de romero</b>	Chromocult®	9,57	0,48

<b>% Halo Chromocult</b>	<b>9,92%</b>	<b>0,50%</b>
PTC	8,17	0,82
<b>% Halo PTC</b>	<b>8,47%</b>	<b>0,85%</b>

Como resultado, se puede apreciar en la tabla 6, que se obtuvieron halos de inhibición desde 7,38 hasta 16,35 mm, presentándose mayor inhibición en la cepa de *S.aureus* en el medio PTC, con halos de inhibición entre 7,71%, 16,34% y 16,94%. Valores porcentuales calculados con base de cálculo los promedios obtenidos y la medida total de la caja Petri (diámetro de la caja 96,5 mm). La cepa *S.aureus* contó con un promedio de 13,19 mm de diámetro de los halos de inhibición, con una desviación de 4,98. Por otro lado, *E.coli* presentó mayor inhibición del aceite en el medio Chromocult, con halos de inhibición que representan el 10,45%, 9,88% y 9,44%. Se presentó un promedio en los halos de 9,57 mm con una desviación de 0,48.

Estos resultados, concuerdan con el estudio realizados por Solano et al. (2018) donde se determina el potencial de inhibición del romero frente al grupo de bacterias como los cocos piógenos, grupo en el cual también pertenecen los *Staphylococcus*. Teniendo como referencia al *streptococcus* como microorganismo de estudio para Solano, se obtienen medidas de 11,93 mm de halo de inhibición. Así mismo, según Valdivieso-Ugarte et al. (2019) han demostrado la eficacia de los aceites esenciales contra varios patógenos transmitidos, observando inhibición de *S.aureus* al estar en contacto con el aceite esencial de romero, por lo cual refuerza el uso de estos componentes para el desarrollo de un desinfectante.

**Tabla 7**

*Halos de inhibición (mm) del aceite esencial de orégano de monte*

<b>Bacteria</b>		<b><i>Staphylococcus aureus</i></b>	
<b>Tratamiento</b>	Medio de cultivo	Promedio	Desv
<b>Blanco</b>	PTC	0	0
<b>Aceite de orégano</b>	PTC	96,5	0
	<i>% Halo PTC</i>	<b>100,00%</b>	<b>0,00%</b>
	Baird-Parker Agar	96,5	0
	<i>% Halo Baird-Parker</i>	<b>100,00%</b>	<b>0,00%</b>
<b>Bacteria</b>		<b><i>Escherichia coli</i></b>	
<b>Tratamiento</b>	Medio de cultivo	Promedio	Desv
<b>Blanco</b>	PTC	0	0

<b>Aceite de orégano</b>	Chromocult®	59,76	16,31
	<b>% Halo Chromocult</b>	<b>61,93%</b>	<b>16,90%</b>
	PTC	77,9	4,72
	<b>% Halo PTC</b>	<b>80,73%</b>	<b>4,90%</b>

Por otro lado, para el antibiograma realizado con aceite esencial de orégano de monte se puede apreciar en la tabla 7, que se obtuvieron halos de inhibición desde 50,2 hasta 96,5 mm presentándose mayor inhibición en la cepa de *S.aureus* en ambos medios, con un porcentaje de inhibición del 100% para todas las réplicas, y con un promedio de 96,5 mm de diámetro de halos de inhibición con una desviación de 0, por otro lado para *E.coli*, se presentó mayor inhibición del aceite en el medio PTC, con halos de inhibición que representan el 76,17%, 80,10% y 85,91%, presentando un promedio en los halos de 77,9 mm con una desviación de 4,72.

Los resultados obtenidos, concuerdan con los estudios realizados por Lopez, (2018) quien indica que el aceite de orégano impide el crecimiento de bacterias, en la cepa *Staphylococcus aureus* con un halo de valor máximo de 25 mm al 90% en una dilución, de igual manera para la cepa *E.coli*.

De acuerdo a los antibiogramas realizados, se pudo evidenciar que existe actividad antimicrobiana en los aceites esenciales de orégano y romero, no obstante se encontró que *E.coli* es una bacteria que posee mayor resistencia en comparación a *S.aureus*, debido a su mayor adaptación y mecanismos de resistencia. No obstante, a pesar de ser microorganismos resistentes, se presentó inhibición en especial por parte del aceite esencial de orégano de monte, esto se debe al contenido de *Timol*, este comportamiento tienen concordancia con respecto a los estudios de

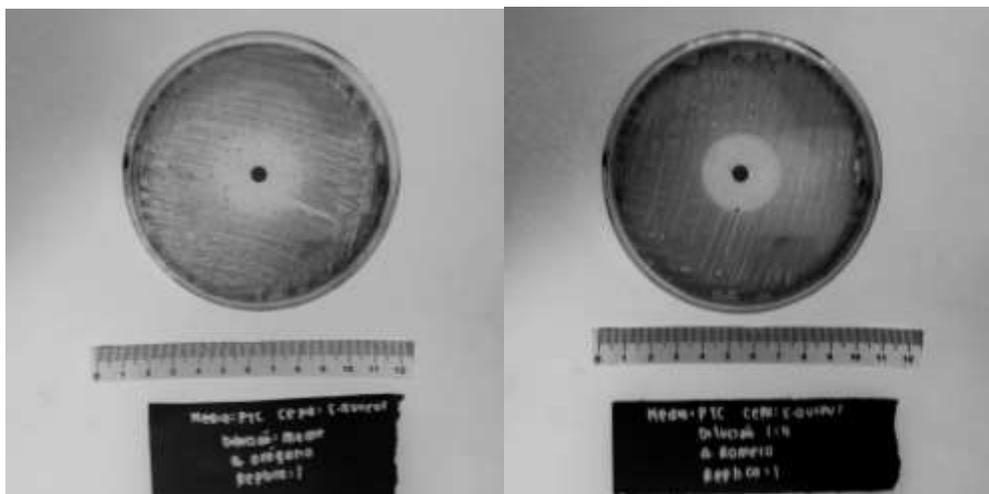
Carhuallanqui Pérez et al. (2020) el cual plantea que los compuestos presentes en el aceite esencial de Orégano permiten desintegrar la membrana externa de las bacterias.

### 2.11. Determinar la Concentración Mínima Inhibitoria para *E. coli* y *S. aureus*

Se encontró que la CMI de *E.coli* es de una dilución 1:8 en relación agua destilada-aceite esencial de orégano de monte, lo que representa el 6,25% de aceite, para el aceite esencial de romero la CMI en esta cepa se encontró en una dilución con una relación 1:16 de agua destilada-aceite, lo que representa una cantidad del 3,125% de aceite.

#### Ilustración 5.

*Halos de inhibición de Romero y orégano de monte en S.aureus.*



Por otro lado, para la cepa de *S.aureus* la CMI con el aceite esencial de orégano de monte y romero se encontró en una relación 1:32, lo que representa el 1,156% de aceite.

Por lo tanto, se tomaron las cantidades de aceites esenciales formuladas para inhibir *E.coli* para la formulación del desinfectante, debido a que se encuentran los aceites en mayor proporción y esto permite realizar la desinfección de manera efectiva para ambas cepas.

Cabe resaltar que, para la debida interpretación de los resultados obtenidos sobre el análisis estadístico, se empleó el manual de Infostat (2008), el cual explica que, en el análisis de los datos obtenidos, se presentan diferencias para cada variable obtenida. Para el caso de esta investigación se realizó la evaluación de los valores obtenidos con el p-valor (0,05) y se analizaron con respecto a la significancia permitida para evaluar si los resultados son significativos o no. Posterior a esto se estudió el comportamiento de los tratamientos con la prueba tukey, para verificar si las variables tienen comportamientos similares entre ellas y se agrupan entre sí.

### 2.11.1. Concentración mínima inhibitoria para aceite esencial de romero

El análisis de la concentración mínima inhibitoria para el caso del aceite esencial de romero se determinó por medio de un análisis de varianzas y un test tukey, teniendo en cuenta un nivel de confianza del 95%, tomando una significancia y un error de 0.05, en la Tabla 8 se presentan los resultados obtenidos sobre el porcentaje de inhibición presentado para la cepa *S.aureus*.

**Tabla 8**

*Análisis de la varianza CMI aceite esencial de romero en S.aureus*

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

<b>F.V.</b>	<b>SC</b>	<b>gl</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>p-valor</b>
<b>Modelo</b>	1589,84	5	317,97	452,08	<0,0001
<b>Tratamiento</b>	1589,84	5	317,97	452,08	<0,0001
<b>Error</b>		8,44	12	0,70	
<b>Total</b>	1598,28		17		

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,00000**

*Error: 0,0500 gl: 1*

<b>Tratamiento</b>	<b>Medias</b>	<b>E.E</b>
<b>Blanco</b>	0,003	0,48 <sup>a</sup>
<b>1:32</b>	6,883	0,48B
<b>1:16</b>	7,183	0,48C
<b>1:8</b>	8,463	0,48D
<b>1:2</b>	11,643	0,48E
<b>1:4</b>	30,263	0,48F

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )*

De acuerdo a los resultados derivados, por medio de la Tabla 8, se puede observar que el p-valor obtenido es del 0.0001, siendo menor a la significancia estadística la cual corresponde a un valor del 0,05, y por esta razón se entiende que los valores obtenidos del factor dilución, presentan un efecto significativo sobre la variable dependiente, halo de inhibición.

Posterior a esto se realizó la prueba tukey para identificar como se agrupan los tratamientos y los resultados obtenidos representan un comportamiento diferente para todos los tratamientos. Por otro lado, se puede apreciar según las medias de los tratamientos, como todas las diluciones presentan potencial inhibitorio, obteniendo la concentración mínima inhibitoria en el tratamiento con la dilución 1:32, el cual cuenta con una media de 6,88% de porcentaje de inhibición de aceite en la cepa *S.aureus*.

**Tabla 9***Análisis de la varianza CMI aceite esencial de romero en E.coli***Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

<b>F.V.</b>	<b>SC</b>	<b>gl</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>p-valor</b>
<b>Modelo</b>	192,16	5	38,43	13,01	0,0002
<b>Tratamientos</b>	192,16	5	38,43	13,01	0,0002
<b>Error</b>	35,46	12	2,96		
<b>Total</b>	227,62	17			

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,00000***Error: 0,0500 gl: 1*

<b>Tratamiento</b>	<b>Medias</b>	<b>E.E</b>
<b>1:32</b>	0,003	0,99 <sup>a</sup>
<b>Blanco</b>	0,003	0,99B
<b>1:4</b>	4,803	0,99C
<b>1:8</b>	6,743	0,99D
<b>1:16</b>	6,773	0,99E
<b>1:2</b>	8,153	0,99F

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )*

De acuerdo a los resultados obtenidos y expresados en la Tabla 9, se puede observar que el p-valor obtenido es del 0.0002, al igual que las pruebas con *S.aureus* este valor llega a ser inferior al valor de significancia estadística la cual corresponde a un valor del 0,05 y por esta razón se

entiende que los valores obtenidos del factor dilución, presentan un efecto significativo sobre la variable dependiente, halo de inhibición.

Por medio de la prueba Tukey se encontró que todos los tratamientos presentan un comportamiento diferente. Por otro lado, se puede apreciar según las medias de los tratamientos, las diluciones que presentan potencial inhibitorio, y por este medio, se entiende que la concentración mínima inhibitoria se encuentra en el tratamiento con la dilución 1:16, el cual cuenta con una media de 6,77% de porcentaje de inhibición de aceite en la cepa *E.coli*.

### 2.11.2. Concentración mínima inhibitoria para aceite esencial de Orégano de monte

El análisis de la concentración mínima inhibitoria para el caso del aceite esencial de orégano de monte se determinó por medio de un análisis de varianzas y un test tukey, teniendo en cuenta un nivel de confianza del 95%, tomando una significancia y un error de 0.05, en la Tabla 10 se presentan los resultados obtenidos sobre el porcentaje de inhibición presentado para la cepa *S.aureus*.

**Tabla 10**

*Análisis de la varianza CMI aceite esencial de orégano de monte en S.aureus*

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

<b>F.V.</b>	<b>SC</b>	<b>gl</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>p-valor</b>
<b>Modelo</b>	1442,03	5	288,41	2,21	0,1203
<b>Tratamiento</b>	1442,03	5	288,41	2,21	0,1203
<b>Error</b>	1562,76	12	130,23		
<b>Total</b>	3004,79	17			

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,00000**

Error: 0,0500 gl: 1

Tratamiento	Medias	E.E
<b>Blanco</b>	0,003	6,59 <sup>a</sup>
<b>1:32</b>	6,813	6,59B
<b>1:16</b>	7,643	6,59C
<b>1:2</b>	8,323	6,59D
<b>1:8</b>	8,633	6,59E
<b>1:4</b>	28,983	6,59F

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

De acuerdo a los resultados obtenidos, por medio de la Tabla 10, se puede observar que el p-valor obtenido es del 0,1203, siendo superior al valor de significancia estadística la cual corresponde a 0,05; por esta razón se entiende que los valores obtenidos del factor dilución, no presentan un efecto significativo sobre la variable dependiente, halo de inhibición.

Adicional a lo anteriormente dicho, por medio de la prueba tukey, se evidencia un comportamiento diferente para todos los tratamientos. De lo anterior se puede entender que todas las diluciones presentan potencial inhibitorio, obteniendo la concentración mínima inhibitoria en el tratamiento con la dilución 1:32, el cual cuenta con una media de 6,81% de porcentaje de inhibición de aceite en la cepa *S.aureus*.

El resultado obtenido concuerda con Carhuallanqui Pérez et al.,(2020) el cual concluye que el aceite de orégano tiene una actividad antimicrobiana contra *S.aureus*. y su CMI es 2%, similar al CMI de dilución de 1:32 el cual en porcentajes es 1,156% de aceite.

**Tabla 11.***Análisis de la varianza CMI aceite esencial de orégano de monte en E.coli*

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

<b>F.V.</b>	<b>SC</b>	<b>gl</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>p-valor</b>
<b>Modelo</b>	1355,68	5	271,14	96,67	<0,0001
<b>tratamiento</b>	1355,68	5	271,14	96,67	<0,0001
<b>Error</b>	33,66	12	2,80		
<b>Total</b>	1389,34	17			

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,00000***Error: 0,0500 gl: 1*

<b>Tratamiento</b>	<b>Medias</b>	<b>E.E</b>
<b>1:16</b>	0,003	0,97 <sup>a</sup>
<b>1:32</b>	0,003	0,97B
<b>Blanco</b>	0,003	0,97C
<b>1:8</b>	9,673	0,97D
<b>1:2</b>	15,753	0,97E
<b>1:4</b>	22,043	0,97F

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )*

De acuerdo a los resultados obtenidos, por medio de la Tabla 11, se puede observar que el p-valor obtenido es del 0.0001, este valor llega a ser inferior al valor de significancia estadística la cual corresponde a 0,05 y por esta razón se entiende que los valores obtenidos del factor dilución, presentan un efecto significativo sobre la variable dependiente, halo de inhibición.

Por medio de la prueba tukey se encontró que todos los tratamientos presentan un comportamiento diferente. De lo anterior, también se entiende por medio de las medias, que todas las diluciones presentan potencial inhibitorio y cifras representativas, por medio del análisis se entiende que la concentración mínima inhibitoria se encuentra en el tratamiento con la dilución 1:8, el cual cuenta con una media de 9.67% de porcentaje de inhibición de aceite en la cepa *E.coli*.

Teniendo en cuenta lo dicho anterior concuerda con Martínez-Cotrina y Vasquez-Lescano, (2022) el cual concluye que el aceite de orégano tiene una actividad antimicrobiana contra *E.coli*. y su CMI es 5%, similar al CMI de dilución de 1:8, lo que representa el 6,25% de aceite.

## 2.12. Formular un desinfectante a base de aceites esenciales de orégano de monte y romero efectivo en el control de *E. coli* y *Staphylococcus aureus*

Teniendo en cuenta las CMIs anteriores con sus respectivos porcentajes de aceite, se hace una dilución de los aceites, con sus respectivas cantidades de acuerdo a su concentración, en una base de 25 mL en agua destilada, homogeneizando el agua y los dos porcentajes respectivos de aceite por medio del ultrasonido Fisherbrand FB11203 a 35 Hz, para posteriormente realizar un antibiograma.

**Tabla 12**

*Análisis de la varianza de antibiograma del desinfectante en E.coli y S.aureus*

<b>Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)</b>					
<b>F.V.</b>	<b>SC</b>	<b>gl</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>p-valor</b>
<b>Modelo</b>	636,20	3	212,0716,35	0,0165	
<b>Tratamiento</b>	636,20	3	212,07	16,35	0,0165
<b>Error</b>	267,22	8	33,40		
<b>Total</b>	903,42	11			

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,00000**

*Error: 0,0500 gl: 1*

<b>Tratamiento</b>	<b>Medias</b>	<b>E.E</b>
<b>Blanco</b>	0,003	3,34 <sup>a</sup>
<b>SAR1:AO1</b>	10,533	3,34B
<b>EAR1:AO2</b>	17,413	3,34C
<b>TQ</b>	18,133	3,34D

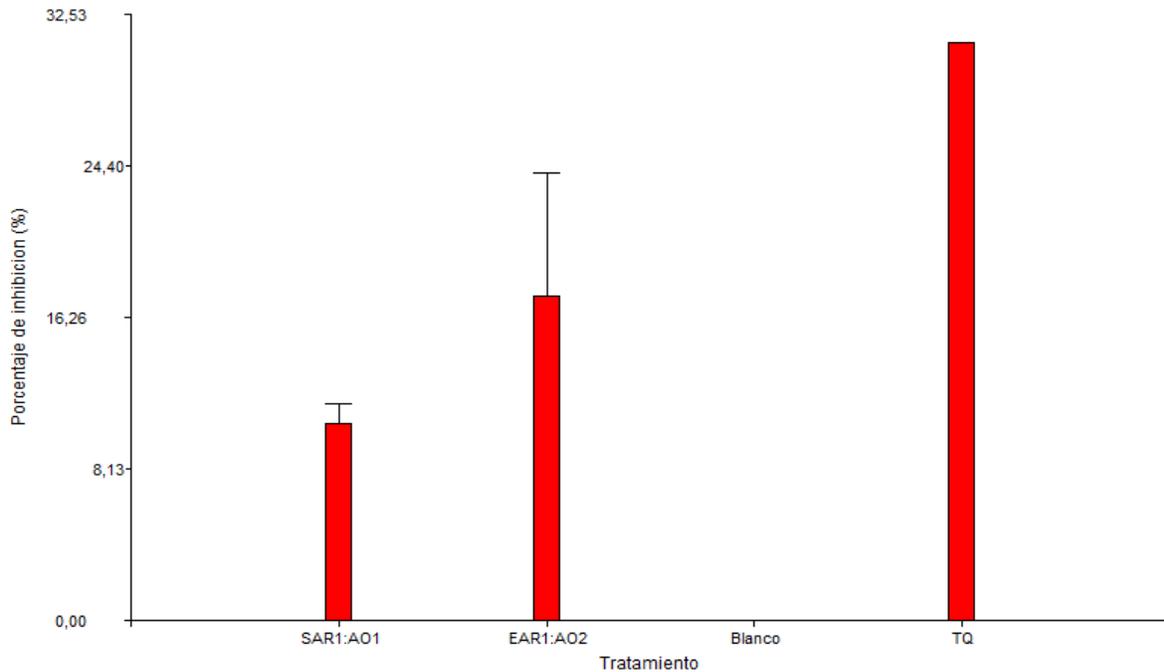
*Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )*

De acuerdo a los resultados obtenidos, por medio de la Tabla 12, se puede observar que el p-valor obtenido es del 0.0012, siendo menor a la significancia estadística la cual corresponde a un valor del 0,05, y por esta razón se entiende que los valores obtenidos son significativos.

Posterior a esto se realizó la prueba tukey para identificar cómo se agrupan los tratamientos, los resultados obtenidos representan un comportamiento diferente para todos los tratamientos. El parámetro SAR1:AO1, representa la combinación realizada en partes iguales (1:1) de los dos aceites esenciales estudiados en la cepa *S.aureus*. Por otro lado, el parámetro EAR1:AO2, representa la combinación realizada en relación 1:2 de los aceites esenciales en la cepa *E.coli*. De lo anterior se puede entender que la mejor formulación para el desarrollo del desinfectante a base de aceites esenciales se encuentra en el tratamiento para *E.coli*, el cual cuenta con una media en el porcentaje de inhibición del 17,41%. Por otro lado, se evidencia al realizar una comparación entre las CMI utilizadas, y las medias obtenidas en la prueba del antibiograma para la formulación del desinfectante que existe potenciación en la actividad inhibitoria.

## Ilustración 6

### Porcentaje de inhibición para formulación del desinfectante



De la ilustración 6, se puede apreciar como el porcentaje de inhibición del tratamiento correspondiente a la formulación 1:2 de los aceites esenciales de Romero y Orégano de monte respectivamente para el control de *E.coli*, cuenta con un el mayor error estándar, sin embargo presenta el mayor porcentaje de inhibición en comparación del tratamiento en relación 1:1 para el microorganismo *S.aureus*, esto se debe a que se cuenta con mayor concentración de los aceites. El comportamiento del tratamiento EAR1:AO2 con respecto al porcentaje de inhibición se asemeja al del testigo químico (NaCl). Sin embargo, al tener un error estándar bastante mayor, se puede entender que no se presentan estimaciones bastante precisas en la media.

La investigación concuerda con los resultados reportados por Llanos, (2022) en la cual se realiza mezclas de los aceites *Origanum vulgare* “orégano” y *Rosmarinus officinalis* “romero” a tres diferentes combinaciones, las cuales fueron 50%, 75% y 100%, de las cuales se alcanzaron halos

de inhibición promedio de 11,1; 16,2; y 21,9 mm de diámetro respectivamente frente a *Escherichia coli*, mostrando efecto antibacteriano.

Teniendo en cuenta los halos de inhibición obtenidos de la combinación de los aceites esenciales, se realizó la formulación del desinfectante con los resultados obtenidos de la relación EAR1:AO2, ya que su similitud con un desinfectante común es del 92,16%, dado que el área de inhibición del testigo químico es de 240,528 mm<sup>2</sup> y el resultado obtenido en la combinación de *E.coli* es de 221,671 mm<sup>2</sup> con respecto al total del área de la caja petri, la cual es de 7313,84 mm<sup>2</sup>.

De lo anterior, se puede resaltar que se logra dar cumpliendo a la hipótesis planteada, por lo que sí es posible obtener un desinfectante que logre el 75% de inhibición para el control de *E. coli* y *Staphylococcus aureus*.

### **2.13. Revisar NTC del poder bactericida**

Por medio de la búsqueda, se encontró que no existen normas para desinfectantes naturales, por lo que se debe realizar una prueba de efectividad al producto y solicitar una aprobación al Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos (INVIMA).

Por el momento se puede utilizar como parámetro de referencia normas como:

- NTC 5150:2003 = Norma técnica para desinfectantes a base de componentes químicos
- NTC 6427:2020 = Norma técnica para desinfectantes a base de componentes químicos

No obstante, también se puede realizar una comparación con respecto a los productos Full-fresh, el producto con mayor similitud a un desinfectante a base de aceites esenciales para uso en frutas y vegetales es un jabón para frutas y vegetales, del cual, observando su ficha técnica se encuentra que hace uso de registros INVIMA y no hace seguimiento de parámetros según normativas, el producto cuenta con un pH de 7,00 - 8,50 y su presentación es de 500 cm<sup>3</sup>.

### **2.14. Diseñar una ficha técnica del desinfectante**

Se obtuvo una ficha técnica, la cual cuenta con su formulación, la futura presentación del desinfectante, sus advertencias y sus formas de uso para evitar los posibles riesgos por lo que se

evaluó por medio de estos posibles peligros, la dotación necesaria para manipular el producto dentro de la industria alimentaria.

Se encontró que el producto en aspectos de seguridad no presenta inflamabilidad, es un producto poco peligroso y con una reactividad estable, por lo que a la hora de manipular el producto en el sector industrial se debe cumplir con el uso de los elementos de protección personal básicos.

*Ver Anexo 1. Ficha técnica del producto*

### 3. Conclusiones

Los rendimientos obtenidos de la extracción son acertados y significativos, teniendo en cuenta que el rendimiento en los aceites esenciales por lo general es menor o igual al 1%. Según lo anterior, del aceite esencial de orégano de monte (*Lippia Origanoides*), se obtuvo un rendimiento de 1,75%, superior al de romero (*Salvia Rosmarinus*), el cual cuenta con un rendimiento de 0,8%.

Existe una concordancia con respecto a los compuestos obtenidos con respecto a los resultados de diferentes autores, encontrando diversidad de componentes y funcionalidad en estas plantas, por lo que se puede desarrollar múltiples usos para futuros proyectos, y difusión sobre las características de estas plantas, para el presente caso, se resalta la presencia del compuesto *Timol* para el Orégano de monte, y *2-Bornanone* para el Romero que sirven como compuestos antimicrobianos ideales para el desarrollo del desinfectante; incluso, cuentan con compuestos como *α-pineno* y *1,8 cineol*, que pueden aportar un buen aroma y tienen capacidades anti-inflamatorias y antioxidantes, por lo que se pueden evaluar futuros proyectos con este tipo de plantas aromáticas.

Se presenta una mayor inhibición en la cepa *S.aureus* para el caso de los dos aceites esenciales por separado, en una concentración del 100%, esto se debe a que *S.aureus* es un microorganismo que presenta menor resistencia en su pared celular, por lo que es más vulnerable que *E.coli*. No obstante, ambas cepas son bastante resistentes y perjudiciales para la salud humana, por lo que la presencia de inhibición por parte de los aceites esenciales en ambos microorganismos estudiados representa factibilidad en el uso de los aceites esenciales como agentes antimicrobianos influyendo al desarrollo de futuros desinfectantes, la generación de normas técnicas para un control y estandarización de productos naturales de este tipo.

Para la formulación del desinfectante se requiere más aceite esencial de orégano de monte, Ya que, las mejores relaciones de agua destilada - aceite de orégano fue en 1:8, mientras que, con el aceite esencial de romero fue en 1:16. Esto genera una mayor viabilidad técnica y económica, debido a que se necesitará menor cantidad de aceite esencial de romero, el cual, al tener un menor rendimiento, tendrá un mayor costo en su obtención.

Se resuelve la pregunta de investigación de forma positiva, ya que, es posible lograr el 75% de inhibición para el control de *E.coli* y *S.aureus* empleando el desinfectante elaborado a base de aceite esencial de orégano de monte (*Lippia origanoides*) y romero (*Salvia rosmarinus*), con una formulación que contiene 3,12% de romero y 6,25% de orégano de monte en agua destilada, formulación utilizada para EAR1:AO2 alcanzando una media de 17,41% de inhibición.

Finalmente, se recomienda realizar un plan de negocios del producto para futuros proyectos, evaluando la factibilidad de introducir este tipo de desinfectantes en el mercado, el impacto ambiental, económico, político y social que pueda generar su producción.

#### **4. Recomendaciones**

Para la creación del desinfectante se debe priorizar aspecto económico para la creación de un producto sostenible, teniendo en cuenta esta faceta de desarrollo, se trataría como base de la combinación el orégano ya que tiene un mayor rendimiento con un valor de 1,60%, a diferencia del romero, con un rendimiento de 0,66%. Los valores alcanzados, son significativos teniendo en cuenta que el rendimiento en los aceites se encuentra en rangos menores o iguales al 1%.

Para la formulación del desinfectante se requiere más aceite esencial de Orégano de monte, encontrándose en la dilución en relación 1:8 para E.coli y 1:32 para S.aureus, mientras que el aceite esencial de Romero cuenta con una relación agua destilada - aceite de 1:16 y 1:32. Esto genera una mayor viabilidad técnica y económica.

Por otro lado, se recomienda realizar un plan de negocios del producto para futuros proyectos, evaluando la factibilidad de introducir este tipo de desinfectantes en el mercado, el impacto ambiental, económico, político y social que pueda generar su producción.

## Referencias bibliográficas

- Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios. (2018). *Guía sobre aceites esenciales en productos cosméticos Comité para la Protección de la Salud de los Consumidores (CD-P-SC)*.
- Arteaga, J., Geraldine, F., & Pinto, L. (2015). Importancia de la tinción de gram para la identificación de la *Escherichia coli*.
- Arango Bedoya, O., Hurtado Benavides, A. M., Pantoja Daza, D., y Santacruz Chazatar, L. (2014). Antifungal activity of essential oil of *Lippia origanoides* H.B.K on the growth of *Phytophthora infestans*. *Acta Agronómica*, 64(2), 116–124. <https://doi.org/10.15446/acag.v64n2.42964>
- Arango, O., Hurtado, A., Castillo, P., & Santacruz, M. (2009). *ESTUDIO DE LAS CONDICIONES DE EXTRACCIÓN POR ARRASTRE CON VAPOR DEL ACEITE ESENCIAL DE LAUREL DE CERA (Morella pubescens)*.
- Avila-Sosa, R., Navarro-Cruz, A. R., Vera-López, O., Dávila-Márquez, R. M., Melgoza-Palma, N., y Meza-Pluma, R. (2011). *Romero (Rosmarinus officinalis L.): una revisión de sus usos no culinarios*.
- Bernal, M., y Guzman, M. (1984). *El Antibiograma de Discos Normalización de la Técnica de Kirby-Bauer*.
- Burgos, A., Schroeder, M., y Cañete, M. (2016). *Producción de orégano (Origanum sp) con fertilización nitrogenada en suelos arenosos de Corrientes*. 5–10.
- Britania S.A. (2022). Baird Parker Agar Base.
- Castillo, J. (2016). Plantas anuales, bianuales y perennes (vivaces).
- Čabarkapa, I., Čolović, R., Đuragić, O., Popović, S., Kokić, B., Milanov, D., y Pezo, L. (2019). Anti-biofilm activities of essential oils rich in carvacrol and thymol against *Salmonella*

- Enteritidis. *Biofouling*, 35(3), 361–375. <https://doi.org/10.1080/08927014.2019.1610169>
- Cabrera, C. E. (2019). Artículo Original Antimicrobial activity of a system based on a vegetable extract and three essential oils. *Ciencia e Investigación*, 22(1), 21–26.
- Carhuallanqui Pérez, A., Salazar Salvatierra, M. E., y Delgado, D. R. (2020). Efecto antimicrobiano del aceite esencial de Orégano frente a *Listeria monocytogenes* y *Staphylococcus aureus* Antimicrobial effect of the essential oil of Oregano against *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus*. *Rev. Investig. Altoandin*, 22(1), 25–33. <http://dx.doi.org/10.18271/ria.2020.530>
- Casado, I. (2018). *Optimización de la extracción de aceite esencial por destilación en corriente de vapor*.
- Castellanos, M., Hernandez, J., y Sandoval, A. (2019). *Formulación y evaluación de la actividad bactericida de un desinfectante para superficies obtenido a partir de aceite esencial de eucalipto (Eucalyptus globulus labil)*.
- Castillo, A., y Becerra, N. (2019). *Determinación de capacidad inhibitoria microbiana con aceite esencial de Naranja (Citrus x sinensis) y Romero (Rosmarinus officinalis) en Escherichia coli y Staphylococcus aureus por el método antibiograma*. 174. <http://repositorio.upeu.edu.pe/handle/UPEU/2671>
- Condori, D., y Vilcanzan, A. (2019). *Determinación de capacidad inhibitoria microbiana con aceite esencial de Naranja (Citrus x sinensis) y Romero (Rosmarinus officinalis) en Escherichia coli y Staphylococcus aureus por el método antibiograma*.
- Copur, G., Arslan, M., Duru, M., Baylan, M., Canogullari, S., y Aksan, E. (2010). Use of oregano (*Origanum onites* L.) essential oil as hatching egg disinfectant. *African Journal of Biotechnology*, 9(17), 2531–2538.
- Cusiche-Pérez, L., y Miranda-Zambrano, G. (2019). Universidad de Guanajuato. In *Ejido Santa Ma. del Refugio* (Vol. 201, Issue 2).

- da Silva Bomfim, N., Kohiyama, C. Y., Nakasugi, L. P., Nerilo, S. B., Mossini, S. A. G., Romoli, J. C. Z., Graton Mikcha, J. M., Abreu Filho, B. A. de, y Machinski, M. (2020). Antifungal and antiaflatoxic activity of rosemary essential oil (*Rosmarinus officinalis* L.) against *Aspergillus flavus*. *Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment*, 37(1), 153–161. <https://doi.org/10.1080/19440049.2019.1678771>
- Dalla Costa, K. A., Moura, R., y Millezi, A. F. (2019). Antimicrobial and antibiofilm activity of *Cymbopogon flexuosus* essential oil microemulsions. *Revista Ceres*, 66(5), 372–379. <https://doi.org/10.1590/0034-737X201966050006>
- Díaz-Soto, L. (2013). Lectura interpretada del antibiograma Construed reading of the antibiogram. In *Revista Cubana de Medicina Militar* (Vol. 42, Issue 3). <http://scielo.sld.cu502>
- dos Santos Rodrigues, J. B., de Carvalho, R. J., de Souza, N. T., de Sousa Oliveira, K., Franco, O. L., Schaffner, D., de Souza, E. L., y Magnani, M. (2017). Effects of oregano essential oil and carvacrol on biofilms of *Staphylococcus aureus* from food-contact surfaces. *Food Control*, 73, 1237–1246. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.10.043>
- Flamenco, J., y Glenda, G. (2011). *Formulacion de tres productos desinfectantes y evaluacion de su actividad antimicrobiana*.
- Flores-Villa, E., Sáenz-Galindo, A., Castañeda-Facio, A. O., y Narro-Céspedes, R. I. (2020a). Romero (*Rosmarinus officinalis* L.): su origen, importancia y generalidades de sus metabolitos secundarios. *TIP Revista Especializada En Ciencias Químico-Biológicas*, 23, 1–17. <https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2020.0.266>
- Flores-Villa, E., Sáenz-Galindo, A., Castañeda-Facio, A. O., y Narro-Céspedes, R. I. (2020b). Romero (*Rosmarinus officinalis* L.): su origen, importancia y generalidades de sus metabolitos secundarios. *TIP Revista Especializada En Ciencias Químico-Biológicas*, 23. <https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2020.0.266>

- Ford, D., y O'Brien, M. (2014). *Homemade Cleaners: Quick-and-Easy, Toxin-Free Recipes to Replace Your Kitchen Cleaner, Bathroom Disinfectant, Laundry Detergent, Bleach, Bug Killer, Air Freshener, and more....*
- Gamboa, V., y Figueroa, J. (2009). *Poder antibacterial de mieles de tetragonisca angustula, valorada por concentración mínima inhibitoria Antibacterial Power Of Honeys From Tetragonisca angustula Assessed By Minimum Inhibitory Concentration.*
- García, J., y Villota, J. (2016). *Evaluación in vitro de un bioinsumo a partir de orégano de monte y laurel de cera para el control de Phytophthora palmivora en cacao.*
- García-Villalpando, J., Castillo-Morales, A., Ramírez-Guzmán, M., Rendón-Sánchez, G., y Larqué-Saavedra, M. (1999). Comparación de los procedimientos de tukey, duncan, dunnett, hsu y bechhofer para selección de medias. In *Publicado como artículo en Agrociencia* (Vol. 35).
- Gobernación de Nariño. (2020). *Plan de Desarrollo Mi Nariño en Defensa de lo Nuestro 2020-2023.*
- Gobierno de Colombia. (2018). *Plan Nacional de Desarrollo(2018-2022).*
- Granados-Sánchez, D., Martínez-Salvador, M., López-Ríos, G. F., Borja-De La Rosa, A., y Rodríguez-Yam, G. A. (2013). Ecología, aprovechamiento y comercialización del orégano (*Lippia graveolens*) en Mapimí, Durango. *Revista Chapingo, Serie Ciencias Forestales y Del Ambiente*, 19(2), 305–321. <https://doi.org/10.5154/r.rchscfa.2012.05.035>
- Hernández-Sampieri, R., Fernández-Collado, C., y del Pilar Baptista-Lucio, M. (1991). *Metodología de la investigación.* www.FreeLibros.com
- Honeyman, A., Friendman, H., y Bendinelli, M. (2002). *Staphylococcus aureus Infection and Disease.*
- Hurtado, D. (2016). *Extracción de aceites esenciales de romero rosmarinus officinalis.*

[https://www.academia.edu/27223426/EXTRACCI%C3%93N\\_DE\\_ACEITES\\_ESENCIALES\\_DE\\_ROMERO\\_Rosmarinus\\_officinalis](https://www.academia.edu/27223426/EXTRACCI%C3%93N_DE_ACEITES_ESENCIALES_DE_ROMERO_Rosmarinus_officinalis)

Ingram's, C. (2001). *The Cure is in the Cupboard*.

Institute of Medicine Washington D.C. (2002). *Escherichia coli O157:H7 in ground beef: review of a draft risk assessment*. National Academies Press.

Infostat. (2008). *Manual infostat*.

Instituto Nacional de Salud. (2011). *Evaluación de riesgos de staphylococcus aureus enterotoxigénico en alimentos preparados no industriales en Colombia*.

InfoAgro. (2020). El cultivo del oregano.

Merck Millipore. (2022). Chromocult® Agar para coliformes.

Klauer, D. (2009). *Manual técnico de cultivo ecológico de orégano*.

León, G., Osorio, M., y Martínez, S. (2015). Comparison of two methods for extraction of essential oil from Citrus sinensis L. *Revista Cubana de Farmacia*, 49(4), 742–750. <http://scielo.sld.cu>

Llanos, V. (2022). *EFFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DE LA MEZCLA DEL ACEITE ESENCIAL DE Origanum vulgare "ORÉGANO" Y Rosmarinus officinalis "ROMERO" FRENTE A Staphylococcus aureus Y Escherichia coli*.

Lopez, E. (2018). *EFFECTO ANTIMICROBIANO IN VITRO DEL ACEITE ESENCIAL DE ORÉGANO (Origanum vulgare) SOBRE CEPAS CERTIFICADAS DE Escherichia coli Y Staphylococcus aureus*.

Lira, M. C., Rodrigues, J. B., Almeida, E. T. C., Ritter, A. C., Tondo, E., Torres, S. M., Schaffner, D., de Souza, E. L., y Magnani, M. (2020). Efficacy of oregano and rosemary essential oils to affect morphology and membrane functions of noncultivable sessile cells of Salmonella

- Enteritidis 86 in biofilms formed on stainless steel. *Journal of Applied Microbiology*, 128(2), 376–386. <https://doi.org/10.1111/jam.14423>
- Ministerio de Salud y protección social, (2013), Resolución 2674 de 2013.
- Marin, J. (2006). *Modelo de diseño unifactorial completamente aleatorizado*.
- McMaster, M. (2008). *GC/MS: A Practical User* (Second Edition).
- Martinez-Cotrina, zully, & Vasquez-Lescano, J. (2022). *ACCIÓN ANTIBACTERIANA IN VITRO DEL ACEITE ESENCIAL DE LAS HOJAS DE Origanum vulgare L. (ORÉGANO) SOBRE Escherichia coli ATCC 25922*.
- Ministerio de Salud de Perú. (2022). *LAVADO Y DESINFECCIÓN DE FRUTAS Y VERDURAS*. [https://www.who.int/foodsafety/publications/consumer/manual\\_keys\\_es.pdf](https://www.who.int/foodsafety/publications/consumer/manual_keys_es.pdf)
- Medrano, E., y Medrano, D. (2020). *Actividad antimicrobiana y efecto desinfectante del aceite esencial de origanum vulgare l. (orégano) frente a staphylococcus aureus y escherichia coli" tesis para optar el título profesional de químico farmacéutico autores*.
- Mera-Mendoza, C. (2020). Caracterización química del aceite esencial de orégano como agente bioconservador en alimentos. *Universidad Ciencia y Tecnología*, 24(105), 54–62. <https://doi.org/10.47460/uct.v24i105.381>
- MinAgricultura. (2022, April 27). *Estadísticas home*. <https://www.agronet.gov.co/estadistica/Paginas/home.aspx?cod=4>
- MinSalud. (2017). *Guía para el Manejo de Emergencias Toxicológicas*.
- Minsalud. (2021). Boletín Epidemiológico Semanal, *Vigilancia de brotes de enfermedades transmitidas por alimentos, Colombia, 2020 preliminar*.
- Ortuño-Sanchez, M. F. (2006). *Manual práctico de Aceites esenciales, aromas y perfumes*.

- Padrini, F., y Lucheroni, M. (2000). (*Guías del bienestar.*) *Aceites esenciales para recuperar la vitalidad, el bienestar, la belleza.*
- Palavecino, E. (2007). *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) Protocols* (1st ed.). Humana Press.
- Pasachova-Garzón, J., Ramirez-Martinez, S., & Munoz-Molina, L. (2019). Staphylococcus aureus: generalidades, mecanismos de patogenicidad y colonización celular.
- Pulido-Arango, A. M., Riveros-Loaiza, L. M., & Rodriguez-Cabra, J. L. (2018). Identificación de componentes químicos del aceite esencial de romero (*Rosmarinus officinalis* L.) proveniente de cultivos orgánicos en la zona alta andina. *Revista Colombiana de Investigaciones Agroindustriales*, 5(1), 6–15. <https://doi.org/10.23850/24220582.658>
- Pérez, E., Barrera, C., y Castelló, M. (2017). Métodos para la desinfección en la industria alimentaria. *Universidad Politécnica de Valencia*, 1, 1–8. [https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/84175/Pérez%3BBarrera%3BCastelló - Métodos para la desinfección en la industria alimentaria.pdf?sequence=1](https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/84175/Pérez%3BBarrera%3BCastelló-Métodos%20para%20la%20desinfección%20en%20la%20industria%20alimentaria.pdf?sequence=1)
- Plaus-Emilia, A., Flores-Gloria, S., y Ataucusi-Sandra, G. (2001). Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial del *Origanum vulgare* (orégano). In *Rev Med Hered* (Vol. 12, Issue 1).
- Porcel, N., Urueña, R., Gaudioso, M., y Cecilia, M. (2013). *Bactericidia de hipoclorito de sodio sobre Staphylococcus cohnii productor de biofilm en una fábrica.*
- Remache, J. (2020). *Evaluación de desinfectantes para la inhibición de microorganismos Pseudomonas spp, Salmonella spp y Staphylococcus aureus*, Universidad Central Del Ecuador,. <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/22043>
- Rodrigues, J. B. dos S., Souza, N. T. de, Scarano, J. O. A., Sousa, J. M. de, Lira, M. C., Figueiredo, R. C. B. Q. de, de Souza, E. L., y Magnani, M. (2018). Efficacy of using oregano essential oil and carvacrol to remove young and mature *Staphylococcus aureus* biofilms on

- food-contact surfaces of stainless steel. *Lwt*, 93, 293–299. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.03.052>
- Rodríguez-Cabra, L. J., Pulido-Arango, M. A., Figueredo-Romero, V. L., Rodríguez-Machado, J. O., y Cuevo-Andrade, L. Jairo. (2017). Obtención de aceite esencial de romero (*Rosmarinus officinalis L.*) en el municipio de Guasca, Cundinamarca. In *Catalogación en la Publicación Universidad Nacional de Colombia*.
- Rossi, C., Chaves-López, C., Serio, A., Casaccia, M., Maggio, F., y Paparella, A. (2020). Effectiveness and mechanisms of essential oils for biofilm control on food-contact surfaces: An updated review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 0(0), 1–20. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1851169>
- Rondón, R. (2013). *Evaluación antimicrobiana in vitro del aceite esencial de Rosmarinus officinalis L. “romero” frente a bacterias patógenas Grampositivas y Gramnegativas*.
- Solano, X., Moya, T., & Zambrano, M. (2018). *Inhibición del streptococcus mutans, mediante el uso de extracto acuoso y oleoso de Rosmarinus officinalis “romero.”*
- Valdivieso-Ugarte, M., Gomez-Llorente, C., Plaza-Díaz, J., & Gil, Á. (2019). Antimicrobial, antioxidant, and immunomodulatory properties of essential oils: A systematic review. In *Nutrients* (Vol. 11, Issue 11). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/nu11112786>
- Sengun, I. Y., Senturk, S., Gul, S., y Kilic, G. (2021). Potential of essential oil combinations for surface and air disinfection. *Letters in Applied Microbiology*, 72(5), 526–534. <https://doi.org/10.1111/lam.13445>
- Spiridon E., K. (2002). *Oregano: The genera Origanum and Lippia* (1st ed.). CRC Press.
- Stashenko, E., y René-Martínez, J. (2010). GC y GC-MS: Configuración del Equipo Versus Aplicaciones. *Scientia Chromatographica*, 2, 33–59. [www.scientiachromatographica.com](http://www.scientiachromatographica.com)
- Sung, H. Y., y Jeong, H. (2009). *Systems Biology And Biotechnology Of Escherichia Coli* (1st

ed.). Springer Netherlands.

Suquillo, V. (2017). *Elaboración de una forma farmacéutica con el aceite esencial que presente la mejor actividad antifúngica de entre las especies Pimpinella anisum, Syzygium aromaticum, y Zingiber officinale para el tratamiento de los libros del Área Histórica de la Universidad Central del Ecuador.*

Sierra, R., Rodríguez, E., González, V., Delange, D., y Vicente, R. (2010). Preliminary studies of a lipid extract stability from the fruits of Roystonea regia in amber glass flasks. In *Revista Cubana de Farmacia* (Vol. 44, Issue 3). <http://scielo.sld.cu>

Vélez-Mendoza, B. S., Pita-Meza, M. N., Moreira-Mendoza, K. E., Pin-Mera, D. E., Oyervide-Vargas, A. M., y Riera, M. A. (2019). Obtención de aceite esencial de romero con fines cosméticos. *Prisma Tecnológico*, 10(1), 28–32. <https://doi.org/10.33412/pri.v10.1.2170>

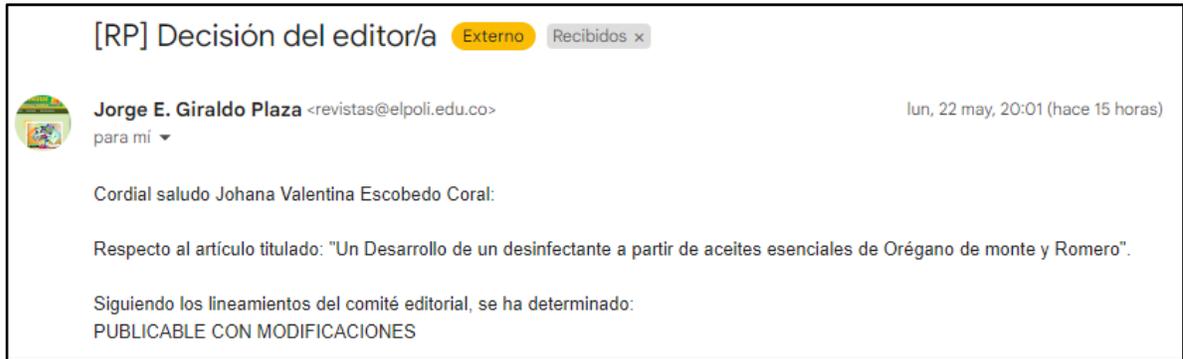
Vera, J., y Zambrano, J. (2017). EXTRACCIÓN DE ACEITE ESENCIAL DE ORÉGANO MEDIANTE ARRASTRE DE VAPOR.

Vidács, A., Kerekes, E., Rajkó, R., Petkovits, T., Alharbi, N. S., Khaled, J. M., Vágvölgyi, C., y Krisch, J. (2018). Optimization of essential oil-based natural disinfectants against *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* biofilms formed on polypropylene surfaces. In *Journal of Molecular Liquids* (Vol. 255). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2018.01.179>

Villota, J. (2015). *manual de buenas prácticas laboratorio de operaciones unitarias-lou*. [www.umariana.edu.co](http://www.umariana.edu.co)

## Anexos de difusión

- Proceso de revisión para publicación de artículo en la revista Politécnica (revista indexada, tipo C)



- Ponencia en I congreso internacional de ingeniería de procesos y VIII simposio virtual de investigación aplicado a la ingeniería de procesos



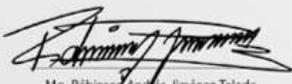
  UNIVERSIDAD MARIANA  
FACULTAD DE INGENIERÍA  
PROGRAMA DE INGENIERÍA DE PROCESOS

Certifica que:

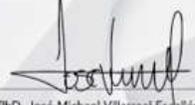
**Johana Valentina Escobedo Coral**

Participó en calidad de ponente en el:  
**Primer Congreso Internacional de Ingeniería de Procesos  
y VIII Simposio virtual de investigación aplicada a la Ingeniería de Procesos**  
Desarrollados del 2 al 4 de noviembre de 2022 en la ciudad de San Juan de Pasto,  
con una dedicación de 24 horas.

**Ponencia:**  
Desarrollo de un desinfectante de aceites esenciales para el control de E. Coli y S. Aureus

  
Mg. Robinson Andrés Jiménez Toledo  
Decano Facultad de Ingeniería

  
Mg. Johana Patricia Montenegro Córdoba  
Directora Programa Ingeniería de Procesos

  
Ph.D. José Michael Villarreal Escallón  
Organizador Principal

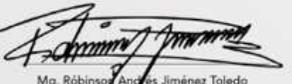
  UNIVERSIDAD MARIANA  
FACULTAD DE INGENIERÍA  
PROGRAMA DE INGENIERÍA DE PROCESOS

Certifica que:

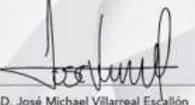
**Andrés Santiago Guerrero Dejoy**

Participó en calidad de ponente en el:  
**Primer Congreso Internacional de Ingeniería de Procesos  
y VIII Simposio virtual de investigación aplicada a la Ingeniería de Procesos**  
Desarrollados del 2 al 4 de noviembre de 2022 en la ciudad de San Juan de Pasto,  
con una dedicación de 24 horas.

**Ponencia:**  
Desarrollo de un desinfectante de aceites esenciales para el control de E. Coli y S. Aureus

  
Mg. Robinson Andrés Jiménez Toledo  
Decano Facultad de Ingeniería

  
Mg. Johana Patricia Montenegro Córdoba  
Directora Programa Ingeniería de Procesos

  
Ph.D. José Michael Villarreal Escallón  
Organizador Principal



- Ponencia en el II congreso internacional de ciencia e ingeniería (CICI)





**REDFING**  
RED DE FACULTADES DE INGENIERÍA  
NARIÑO

**II CONGRESO INTERNACIONAL DE CIENCIA E INGENIERÍA**

Universidad Mariana - Facultad de Ingeniería  
Certifica a:

**Johana Valentina Escobedo Coral**  
**1193479524**

Por su participación como ponente del proyecto "DISEÑO TÉCNICO Y COMERCIAL DE UN BIO-DESINFECTANTE A PARTIR DE ACEITE ESENCIAL DE ORÉGANO DE MONTE (LIPPIA ORIGANOIDES) Y ROMERO (SALVIA ROSMARINUS) PARA EL CONTROL DE E.COLI Y STAPHYLOCOCCUS AUREUS EN FRUTAS Y VEGETALES, EN LA EMPRESA PROBIONAR S.A.S" en el II Congreso Internacional de Ciencia e Ingeniería CICI

Dado en San Juan de Pasto, a los 24 días del mes de febrero de 2023

Facultad de Ingeniería

Mg. Robinson Jimenez Toledo.  
Decano Ingenierías  
Universidad Mariana

Mg. Fabia Camila Gómez  
Organizadora principal  
Universidad Mariana



**REDFING**  
RED DE FACULTADES DE INGENIERÍA  
NARIÑO

**II CONGRESO INTERNACIONAL DE CIENCIA E INGENIERÍA**

Universidad Mariana - Facultad de Ingeniería  
Certifica a:

**Andres Santiago Guerrero Dejoy**  
**1193476505**

Por su participación como ponente del proyecto "DISEÑO TÉCNICO Y COMERCIAL DE UN BIO-DESINFECTANTE A PARTIR DE ACEITE ESENCIAL DE ORÉGANO DE MONTE (LIPPIA ORIGANOIDES) Y ROMERO (SALVIA ROSMARINUS) PARA EL CONTROL DE E.COLI Y STAPHYLOCOCCUS AUREUS EN FRUTAS Y VEGETALES, EN LA EMPRESA PROBIONAR S.A.S" en el II Congreso Internacional de Ciencia e Ingeniería CICI

Dado en San Juan de Pasto, a los 24 días del mes de febrero de 2023

Facultad de Ingeniería

Mg. Robinson Jimenez Toledo.  
Decano Ingenierías  
Universidad Mariana

Mg. Fabia Camila Gómez  
Organizadora principal  
Universidad Mariana

- Mejor ponencia en CICI



**UNIVERSIDAD MARIANA - FACULTAD DE INGENIERÍA**  
**Reconoce a:**

**Andres Santiago Guerrero Dejoy, Javier Mauricio Villota Paz, Johana Valentina Escobedo Coral**

Como mejor trabajo presentado en el área temática *"Gestión de Procesos"* con el proyecto *"DISEÑO TÉCNICO Y COMERCIAL DE UN BIO-DESINFECTANTE A PARTIR DE ACEITE ESENCIAL DE ORÉGANO DE MONTE (LIPPIA ORIGANOIDES) Y ROMERO (SALVIA ROSMARINUS) PARA EL CONTROL DE E.COLI Y STAPHYLOCOCCUS AUREUS EN FRUTAS Y VEGETALES, EN LA EMPRESA PROBIONAR S.A.S"* en el II Congreso Internacional de Ciencia e Ingeniería CICI

Dado en San Juan de Pasto, a los 24 días del mes de febrero de 2023



Mg. Robynon Jimenes Toledo.  
Decano ingenierías  
Universidad Mariana



Mg. Fabio Camilo Gómez  
Organizador principal  
Universidad Mariana

