

DESARROLLO DE UN DESINFECTANTE A PARTIR DE ACEITES ESENCIALES DE ORÉGANO DE MONTE Y ROMERO

Johana Valentina Escobedo Coral ¹, Andres Santiago Guerrero Dejoy ², Villota-Paz, J.M ³

¹ Ingeniera de procesos, Universidad Mariana, joescobedo@umariana.edu.co

² Ingeniero de procesos, Universidad Mariana, andressguerrero@umariana.edu.co

³ Maestría en Ciencias Ambientales, Grupo de Investigación GIIDOP, Universidad Mariana, javiervillota@umariana.edu.co

RESUMEN

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*, bacterias comunes en alimentos que se consumen a diario. Para ello, se realizó una extracción de aceites, empleando la técnica de arrastre de vapor, y se evaluó su composición mediante cromatografía de gases acoplada a un espectrómetro de masas. La actividad antimicrobiana se estableció con la concentración mínima inhibitoria (CMI), mediante macro-diluciones compuestas de aceite y agua. A partir de estas se formuló el desinfectante. Como resultados, se encontró que los dos aceites cuentan con compuestos antimicrobianos como *Timol* y *2-Bornanone*, las CMI obtenidas para la formulación fueron: 1:8 y 1:16 de orégano y romero. En conclusión, los aceites esenciales, tienen potencial inhibitorio y al unificarlos, sus compuestos se potencian, obteniendo halos de inhibición de hasta 18,2 mm de diámetro.

Palabras clave: Desinfectante; Orégano de monte; Romero; Aceites esenciales; Concentración mínima inhibitoria.

Recibido: 12 de abril de 2023. Aceptado: 19 de junio de 2023

Received: April 12, 2023. Accepted: June 19, 2023

ABSTRACT

DEVELOPMENT OF A DISINFECTANT FROM ESSENTIAL OILS OF MOUNT OREGANO AND ROSEMARY.

The aim of this study was to develop a disinfectant from essential oils of Mount oregano and Rosemary to control E. coli and S.aureus, bacteria present in the food industry. For this purpose, an extraction of oils was performed and its composition was evaluated by means of a gas chromatography coupled to a mass spectrometer. The antimicrobial activity was established with the minimum inhibitory concentration, by means of macrosolutions composed of oil and water, and from these the disinfectant was formulated. As results, it was found that the two oils have antimicrobial compounds such as Timol and 2-Bornanone, the CMIs obtained for the formulation of the disinfectant were of a ratio 1:8 and 1:16 of oregano and rosemary respectively. In conclusion, the essential oils studied have inhibitory potential and by unifying them, their compounds are enhanced, obtaining inhibition halos up to 18.2 mm in diameter.

Keywords: Disinfectant; Mount oregano; Rosemary; Essential oils; Minimum inhibitory concentration.

Cómo citar este artículo: J. Escobedo, A. Guerrero, V. Paz. "Desarrollo de un desinfectante a partir de aceites esenciales de orégano de monte y romero", *Revista Politécnica*, vol.19, no.38 pp.199-211, 2023. DOI:10.33571/rpolitec.v19n38a13

1. INTRODUCCIÓN

Los productos de desinfección son de vital importancia en la industria alimentaria, según Pérez et al (2017), se debe realizar limpieza de todos los utensilios, equipos, superficies y ambientes de trabajo para lograr alcanzar las condiciones de inocuidad, evitando las enfermedades de transmisión alimentaria, y cumplir así, con los estándares que establecen las leyes del sector alimentario, como la resolución 2674 de 2013 (Ministerio de Salud y Protección Social, 2013), en la cual, se establecen 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 alimentaria (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 reporta que el 84,2% de las entidades territoriales “en Colombia notificaron brotes de ETA, siendo Antioquia, Cali, Bolívar y Bogotá las que cuentan con el mayor número de brotes, de los cuales, se reportaron 483 brotes que involucran 4.550 casos”.

Por otra parte, Cusiche-Pérez y Miranda-Zambrano (2019), informan sobre la alta toxicidad en los alimentos preparados por los restaurantes o centros de elaboración de alimentos, debido a las trazas de hipoclorito de sodio (NaClO), y contaminación en fuentes hídricas debido a los vertimientos de cloro, por lo que llegan a ser nocivos para los consumidores finales, es por eso que se deben encontrar nuevas alternativas, sin embargo, existe un bajo conocimiento sobre el uso de nuevas opciones como lo son los aceites esenciales de plantas aromáticas con potencial bactericida, y escasos estudios orientados a conocer los múltiples usos de los aceites esenciales. La oferta es escasa en el sector de desinfectantes elaborados a partir de aceites esenciales dentro de la industria alimentaria, esto se debe a que los desinfectantes convencionales cumplen con su rol de desinfección gracias a su amplio espectro de inhibición, y se encuentran posicionados en el mercado a un bajo costo.

Con base en lo dicho anteriormente, se pretende demostrar el potencial inhibitorio de los aceites esenciales, 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 que otros desinfectantes convencionales no tienen, brindando no solo conocimiento e innovación para el sector de desarrollo productivo en Nariño, sino que también es amigable con el medio ambiente protegiendo la biodiversidad, generando un mayor apoyo a los productores locales de plantas promisorias e incentivando a la investigación sobre los potenciales usos de estas.

De acuerdo a lo anterior se planteó 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 así su porcentaje de inhibición frente a dichas bacterias por medio de sensidiscos de celulosa e identificando los compuestos inhibitorios de los aceites esenciales *Lippia origanoides* y *Salvia rosmarinus* a través de la cromatografía de gases acoplado a espectro de masas (GC-MS). Se encontró la concentración mínima inhibitoria (CMI) de los dos aceites esenciales, para ambas cepas, obteniendo los factores para la formulación del desinfectante. Dichas pruebas se realizaron en los laboratorios especializados de la sede de Alvernia de la Universidad Mariana, en el municipio de San Juan de Pasto, Nariño, Colombia.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Se tomaron como muestra las plantas de Orégano de monte, provenientes de la vereda la Recta, situada en el municipio de Taminango corregimiento de el Remolino Panamericano en límites entre los departamentos de Nariño y Cauca, al suroccidente de Colombia, con coordenadas geográficas 1°39'50"N 77°19' 17"W. Según Arango-Bedoya et al (2014), el sector se caracteriza por tener un clima tropical seco, con una temperatura promedio de 24°C, con una baja precipitación (700 - 900 mm/año) y “vegetación típica de un enclave subxerófitico”

Por otro lado, la obtención de romero se realizó en la vereda el Romerillo, la cual cuenta con una altitud de 2.790 metros. El Romerillo está situado al sureste de Cumpamba, y al sur de Motilon, sus respectivas coordenadas geográficas son 1°08'26"N 77°31' 35"W.

Para la recolección, se siguió lo dicho por Granados-Sánchez (2013). Se dejaron pasar las primeras lluvias de la primera semana del mes de agosto, las cuales suelen prolongarse hasta octubre. La recolección se realizó de acuerdo con técnicas empíricas, con las manos, se recolectaron las hojas caídas de preferencia que aún no se

encontraran secas, alcanzando una cantidad de 6 kilogramos de hojas Orégano de monte y 10 kilogramos de hojas de Romero.

2.1 Extracción por arrastre por vapor

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%, tal y como lo especifican García y Villota, (2016). Seguidamente, se realizó una separación de las hojas con el tallo, raíces e impurezas, y posterior a esto, se cortaron las hojas en partes pequeñas aproximadamente de 3 cm para aumentar el área de contacto material - vapor (Arango-Bedoya et al., 2014), y se procedió a pesar la materia prima.

En la extracción por arrastre de vapor se realizó una desinfección del extractor multipropósito con una solución de NaClO a una concentración del 5,25%, adicional a ello, se fijaron los pasadores en posición vertical. Posteriormente y teniendo en cuenta la investigación de García y Villota (2016), se suministraron las hojas de la planta a utilizar. Se colocaron sobre la malla inferior y se cerró la tapa; se conectaron todas las líneas de vapor de caldera, vapores producidos, retroalimentación de líquido y de salida de líquidos por medios 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, el cual posteriormente fue separado del agua por la operación unitaria de decantación.

Se tuvieron en cuenta variables como tiempo y presión, las cuales corresponden a 4 horas y 2 psi respectivamente, esto a una temperatura de 28°C y humedad relativa de 66% (García y Villota, 2016; Villota, 2015).

Para calcular el rendimiento de extracción se hizo uso de la ecuación 1, propuesta por León et al. (2015).

$$\%Rendimiento = \frac{W_{ae}}{W_{mv}} * 100 \quad (1)$$

Donde W_{AE} es el peso obtenido del aceite y W_{MV} es el peso del material vegetal fresco

Caracterizar los compuestos activos de aceites esenciales mediante cromatografía de gases acoplada a un espectrómetro de masas.

El análisis cromatográfico y la identificación de los componentes de los aceites esenciales de *Lippia origanoides* y *Salvia rosmarinus*, se realizaron simultáneamente, con un cromatógrafo de gases combinado con un espectrómetro de masas (GC/MS) SHIMADZU GC17A, 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), "presión de 92,3 kPa, su fase móvil es 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)"

2.2 Tinción de Gram

Para el reconocimiento microscópico de cada una de las cepas, se realizó una tinción de gram para cada cultivo, haciendo uso de los reactivos, Violeta de gram, Lugol, Alcohol cetona y Safranina. Se siguió la metodología de Esaú-López et al.,(2013), donde se añadió el microorganismo en agua destilada sobre el portaobjetos y se flameó hasta secar, se tiñó el microorganismo con violeta de gram y se enjuaga, dicho procedimiento se repitió pero añadiendo lugol, luego una mezcla de alcohol cetona y por último safranina la cual funciona como un colorante secundario para teñir las bacterias que no pudieron retener la violeta de gram.

Se evaluó la morfología de las cepas, con ayuda de un microscopio digital marca Leyca DM500, haciendo uso de el lente de 100x con ayuda de aceite de inmersión

2.3 Método de antibiograma

Se usaron las cepas verificadas de *Escherichia coli* ATCC25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC6538P, las cuales fueron aportadas por el laboratorio de microbiología de la Universidad Mariana. Las cepas fueron replicadas a través del método de estriado sistemático con ayuda de un asa metálica. Se dejaron las cepas de *S. aureus* y *E.*

coli 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, de acuerdo a lo propuesto a diferentes autores como (Medrano y Medrano, 2020; Cabrera, 2019; Carhuallanqui-Pérez et al., 2020).

Posteriormente, con ayuda de una pinza metálica estéril, se adicionaron los discos de sensibilidad de celulosa (con el aceite esencial al 100%) en las placas Petri en 3 lugares, no menores de 15 mm del borde de la placa. Se colocaron las placas Petri (por triplicado) en la incubadora a 35°C por 24 horas.

Pasadas las 24 horas, se procedió a medir el diámetro de los halos de inhibición con ayuda de un Calibre (pie de rey) y se compararon los resultados según la cepa y el medio de cultivo. (Condori y Vilcanzan, 2019). Adicionalmente 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.

2.4 Determinación de CMI en E.coli y S.aureus

Para la determinación de las CMIs se realizaron diluciones de agua destilada-aceite en relaciones 1:1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16 y 1:32; Cabe aclarar que para poder homogenizar la mezcla se utilizó un limpiador de ultrasonido marca Fisherbrand modelo FB11203. El proceso se realizó por un tiempo de 10 minutos a una frecuencia de 35Hz 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.

De acuerdo a la metodología establecida con anterioridad, se determinó hacer uso de un diseño experimental basado en el aspecto cualitativo tomando como referencia la teoría fundamentada, el análisis se realizó de forma unifactorial con la ayuda del programa InfoStat versión estudiantil, utilizando un nivel de confianza del 95% y un error aceptado del 5%. Se tomó el porcentaje de inhibición como variable dependiente y el aceite diluido en agua como las variables de clasificación.

2.5 Formulación del desinfectante

Teniendo en cuenta la CMI para los dos aceites, se realizó una mezcla con los dos, 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 35Hz a una temperatura de 30°C.

2.6 Análisis del poder bactericida del producto en E. coli y S.aureus

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 discos de celulosa con la ayuda de pinzas estériles, se dejó incubar a 35 °C por 24 horas (Medrano y Medrano, 2020), y se procedió a hacer la lectura de los halos de inhibición de cada disco, con ayuda del software AutoCAD, empleando la misma técnica de medición utilizada para el antibiograma.

2.7 Diseño de la ficha técnica del desinfectante

Para el diseño de la ficha técnica se siguieron las recomendaciones dadas por Díaz-Castillo et al., (2019), donde se desarrollaron estrategias por medio de diagramas que permiten identificar los peligros y evaluar los riesgos a los cuales se podrían exponer las personas y el medio ambiente al hacer uso del desinfectante, se incluyeron las posibles presentaciones del producto, sus componentes y especificaciones.

3. RESULTADOS

Posterior al pretratamiento de la materia prima, se obtuvieron 9,8 kilogramos de hojas de Romero, de lo cual se logró extraer 78,5 mL equivalentes a 64,76 g de aceite esencial teniendo en cuenta que su densidad es de 0,825 g/mL, por lo cual, se alcanzó un rendimiento de 0,66 % empleando la ecuación 1.

Para el caso del Orégano de monte, se obtuvieron 5,7 kilogramos de hojas, logrando 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 %.

Los compuestos activos, tiempo de retención, y cantidad presente en el aceite esencial de Orégano de monte arrojados como resultado por el GC-MS se pueden observar en la Tabla 1, donde se presentan los componentes que se encuentran en mayor proporción en el aceite esencial y se resalta el compuesto activo que tiene un potencial inhibitorio, antimicrobiano y bactericida que contribuye en la formulación del desinfectante.

Tabla 1. Datos de análisis cromatográfico de *Lippia Origanoides*.

No. Pico	Tiempo de retención	Cantidad relativa	Compuesto
12	16,620	57,91	Timol
5	11,460	12,88	β -cimeno
3	10,665	5,21	β -mirceño
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

Asimismo, para Romero se puede observar en la Tabla 2, los componentes que se encuentran en mayor proporción en el aceite esencial, resaltando los compuestos que contribuyen en la formulación del desinfectante.

Tabla 2. Datos de análisis cromatográfico de *Salvia Rosmarinus*.

No. Pico	Tiempo de retención	Cantidad relativa	Compuesto
7	5,922	5,38	β -pineno
18	7,783	4,70	-2-Bornanona
11	6,558	4,89	Eucalyptol
4	5,586	2,65	α-terpineno
2	5,383	2,43	2,6,6-Trimethylbicyclo
6	5,921	2,24	Sabinene
28	9,833	2,47	Caryophyllene

Para la siembra de los microorganismos, se utilizaron dos cepas certificadas, ATCC6538P para *S. Aureus* y ATCC25922 para *E.coli*, las cuales fueron dispuestas por el laboratorio de Microbiología de la Universidad Mariana. Previó a la siembra, se realizó un reconocimiento microscópico de cada una de las cepas, por medio de una tinción de gram, como se puede ver en las Figuras 1 y 2. Se encontró que *E.coli* se encuentra presente en forma de bacilos largos gram negativos, y *S.aureus* se encuentra en forma de cocos, de los cuales algunos forman parejas.



Figura 1. Tinción de gram *E.coli*

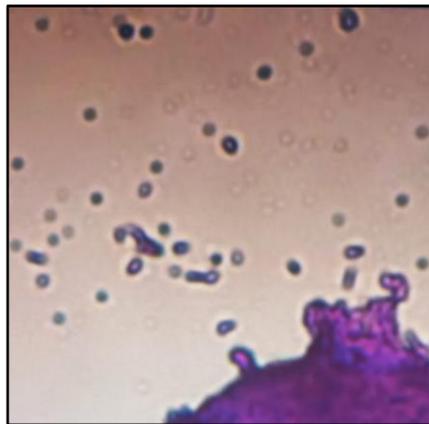


Figura 2. Tinción de gram *S.Aureus*

La evaluación del efecto inhibitorio del aceite esencial de Orégano de monte y Romero se determinó a las 48 horas por medio de discos de celulosa. Obteniendo como resultado el halo de inhibición, se tuvo en cuenta para la evaluación la comparación con un testigo químico (NaClO).

Por medio de la Figura 3 se observa el crecimiento obtenido de *S.aureus* en el medio de cultivo PTC donde se obtuvieron halos de inhibición con un mayor diámetro.

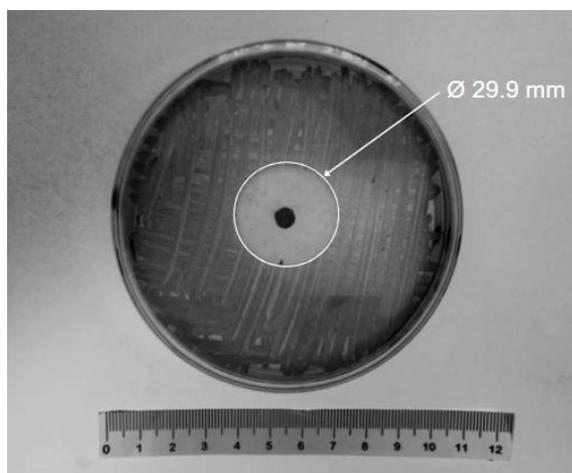


Figura 3. Inhibición de Romero a *S. aureus* en PTC

Como resultado, para el aceite esencial de Romero, se obtuvieron halos de inhibición desde 7,38 mm hasta 16,35 mm, presentando mayor inhibición en la cepa de *S.aureus* en un medio PTC, con un promedio de 13,19 mm de diámetro de los halos de inhibición.

Para la cepa de *E.coli*, en la Figura 4 se observa el crecimiento obtenido en el medio de cultivo chromocult, ya que en este medio se obtuvieron halos con mayor medida de diámetro, con un promedio de 9,57 mm.

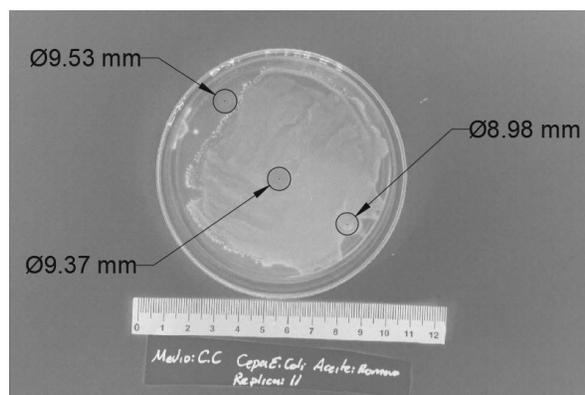


Figura 4. Inhibición de Romero a *E.coli* en Chromocult.

En el antibiograma para *Lippia origanoides*, se obtuvieron halos de inhibición desde 50,2 mm hasta 96,5 mm presentándose mayor inhibición en la cepa *S.aureus* en ambos medios, con un porcentaje de inhibición del 100% para todas las réplicas, con un promedio de 96,5 mm de diámetro de halos de inhibición. Por otro lado, para *E.coli*, se presentó mayor inhibición del aceite en el medio PTC, con un promedio de halos de 77,9 mm.

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 que *S.aureus* debido a su mayor adaptación y mecanismos de resistencia. Sin embargo, a pesar de que los dos microorganismos son resistentes, se presentó inhibición en especial por parte del aceite esencial de *Lippia Origanoides*, esto se debe a su alto contenido de *Timol*.

Para la concentración mínima inhibitoria de los aceites esenciales estudiados, se encontró que la CMI en la cepa *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, por otro lado, 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.

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 los aceites se encuentran en una mayor proporción y esto permite realizar la desinfección de manera efectiva para ambas cepas.

El estudio del antibiograma del desinfectante en *E.coli* y *S.aureus*, se determinó por medio de un análisis de varianzas, y un test tukey por separado, y con las dos cepas, tomando un nivel de confianza del 95% y un error permitido de 0.05.

Tabla 3. Análisis de la varianza de antibiograma del desinfectante en *E.coli* y *S.aureus*.

Cuadro de análisis de la varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	
Modelo	636,2		3	212,0	16,3	0,016
Tratamiento	636,2		3	212,0	16,3	0,016
Error	267,2	8	33,4			
Total	903,4	11				

Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=0,00000

Error: 0,0500 gl:1

Tratamiento	Medias	n	E.E.	
Blanco	0,00	3	3,34	A
SAR1:AO1	10,53	3	3,34	B
EAR1:AO2	17,41	3	3,34	C
TQ	18,13	3	3,34	D

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

De acuerdo a los resultados obtenidos en la Tabla 3, se puede observar que el p-valor obtenido es del 0.0165, 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%.

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 mm² y el

resultado obtenido en la combinación de *E.coli* es de 221,671 mm² con respecto al total del área de la caja petri, la cual es de 7313,84 mm².

Para el diseño de la ficha técnica del producto se diseñó un boceto de esta, en donde se presenta la información necesaria para que el consumidor haga un uso correcto del producto, en la Figura 5 se aprecia una vista general de cómo se presenta la ficha hacia el operario o el usuario que adquiera el desinfectante y las medidas de seguridad a tener en cuenta.

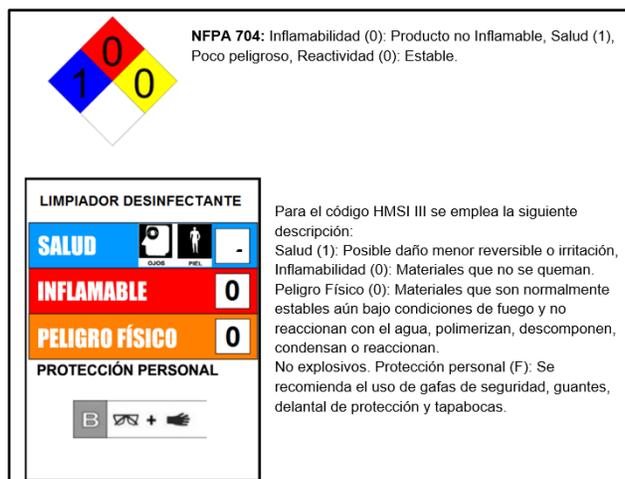


Figura 5. Medidas de seguridad del producto

4. DISCUSIÓN (O ANÁLISIS DE RESULTADOS)

4.1 Extracción de aceites esenciales.

El rendimiento obtenido para el aceite esencial de Romero concuerda con los estudios realizados por Vélez-Mendoza et al. (2019) en donde se hace uso del método de arrastre por vapor, empleando 100 g de materia vegetal y obteniendo 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 rendimiento del aceite esencial de Orégano de monte, los resultados concuerdan con los estudios realizados por Vera y Zambrano (2017), en donde se emplean 60 g de materia vegetal, obteniendo un rendimiento del 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 pretratamiento adecuado de la materia prima, como la reducción de partícula para aumentar la superficie de contacto y un proceso de secado más controlado. *Análisis de la varianza de antibiograma del desinfectante en E.coli y S.aureus.*

4.2 Compuestos activos de aceites esenciales.

Con respecto a los compuestos activos mayoritarios, se encontró que, los resultados para el Orégano de monte (tabla 1) se pueden aproximar con los resultados encontrados por Stashenko y René-Martínez, (2010), quienes en su investigación comparativa de metabolitos secundarios volátiles encontraron timol (56%), p-cimeno (13%) y 1,8 cineol (9%) (Stashenko y René-Martínez,2010), de igual manera en el estudio realizado por Figueroa et al, (2013), se encuentra que la extracción se hizo por el método de arrastre con vapor, y que el compuestos mayoritario presente en el aceite de orégano de monte es el timol (83 %), seguido de p-cimeno (5,5 %), β-mirceno (3 %), γ-terpineno (2,5 %) (Figueroa, et al, 2013).

Para los compuestos activos presentes en el aceite esencial de Romero, se pueden apreciar en la tabla 2 como los resultados se asemejan a los estudios realizados por Hurtado,(2016), quien en su investigación encontró β-

pineno (3,4%), Eucalyptol (20%) y α -terpineno (2,5%), de igual manera en el estudio realizado por Pulido-Arango et al.(2018), encontramos que los compuestos mayoritarios presentes en el aceite de Romero son, el Eucalyptol que sirve como antiséptico y desinfectante ante procesos virales, seguido de α -pineno y 2-Bornanona 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.

4.3 Tinción de Gram.

La identificación de las cepas se basan en las características morfológicas de *E. coli* y *S.aureus*, las cuales coinciden con las investigaciones de Pulido-Arango et al.,(2018), quien dice que *E.coli* se encuentra integrada con bacilos Gram negativos, no esporulados, móviles con flagelos peritricos y según Pasachova-Garzón et al., (2019) el *S.Aureus*, es 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.

4.4 Antibiograma.

Los resultados obtenidos para el aceite esencial de Romero en las dos cepas, 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, de igual forma según Valdivieso-Ugarte et al.,(2019) ha 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 del desinfectante.

El antibiograma del aceite esencial de Orégano de monte en las dos cepas, presenta halos de inhibición desde 50,2 hasta 96,5 mm, con una inhibición del 100% en *S.aureus*. Los resultados obtenidos, concuerdan con los estudios realizados por López, (2018), quien indica que se determinó 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 *Escherichia coli*.

De acuerdo a los antibiogramas realizados, se pudo evidenciar que existe actividad antimicrobiana en los aceites esenciales de orégano de monte y romero, no obstante se encontró que *E.coli* es una bacteria que posee mayor resistencia que *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, esto se debe al alto 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.

4.5 Determinación de CMI

La CMI de *E.coli*, se encuentra en una dilución 1:8 en relación agua destilada-aceite esencial de orégano de monte, y 1:16 con aceite de romero, mientras que en la cepa *S.aureus*, la CMI se encuentra en una relación 1:32 para ambos aceites esenciales.

Los resultados obtenidos, concuerdan con los de 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. También, hay concordancia con lo dicho por Martínez-Cotrino y Vasquez-Lescano, (2022), donde se 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.

4.6 Análisis del poder bactericida del producto

Finalmente, La investigación concuerda, ya que, según Llanos, (2022) se realizaron 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.

Finalmente, se sabe que hay inhibición por parte de los aceites esenciales hacia los microorganismos debido a sus compuestos activos, esto lo puede confirmar estudios como el de Castillo y Becerra (2019), quienes explican

que se ha 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, por lo que es coherente presenciar halos de inhibición en las cepas de estudio.

5. CONCLUSIONES

Existe un mayor rendimiento en la extracción de aceite de orégano de monte 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%.

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 presencia el compuesto de Timol para el Orégano de monte, y 2-Bornanone para el Romero que sirven como compuestos antimicrobianos ideales para el desarrollo del desinfectante, sin embargo, se cuenta 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.

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, 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.

6. AGRADECIMIENTOS

Se agradece a la Universidad Mariana- programa de Ingeniería de Procesos, Grupo de Investigación GIIDOP, por permitir la realización del proyecto en las mejores condiciones, brindando asesorías pertinentes a través del tiempo que se ha llevado a cabo el estudio. Adicionalmente a los coordinadores de los laboratorios de la sede Alvernia de la Universidad Mariana.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Artículos:

[1] Pérez, E., Barrera, C., & 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>

[6] Arango-Bedoya, O., Hurtado-Benavides, A. M., Pantoja-Daza, D., & 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>

[7] Granados-Sánchez, D., Martínez-Salvador, M., López-Ríos, G. F., Borja-De La Rosa, A., & 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>

[10] León, G., Osorio, M., & 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>

[11] Esaú-López, L., Hernández-Durán, M., Colín-Castro, C. A., Ortega-Peña, S., Cerón-González, G., & Franco-Cendejas, R. (2013). *Las tinciones básicas en el laboratorio de microbiología*. www.medigraphic.org.mx

[13] 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.

[14] Carhuallanqui Pérez, A., Salazar Salvatierra, M. E., & 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. Altoandín*, 22(1), 25–33. <http://dx.doi.org/10.18271/ria.2020.530>

[15] Condori, D., & 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.*

[17] Vélez--Mendoza, B. S., Pita-Meza, M. N., Moreira-Mendoza, K. E., Pin-Mera, D. E., Oyervide-Vargas, A. M., & 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>

[19] Stashenko, E., & René-Martínez, J. (2010). GC y GC-MS: Configuración del Equipo Versus Aplicaciones. *Scientia Chromatographica*, 2, 33–59. www.scientiachromatographica.com

[22] Pulido-Arango, A. M., Riveros-Loaiza, L. M., & Rodríguez-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>

[23] Pasachova-Garzón, J., Ramirez-Martinez, S., & Munoz-Molina, L. (2019). *Staphylococcus aureus: generalidades, mecanismos de patogenicidad y colonización celular.*

[24] Solano, X., Moya, T., & Zambrano, M. (2018). Inhibición del streptococcus mutans, mediante el uso de extracto acuoso y oleoso de *Rosmarinus officinalis* “romero.”

[25] 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>

[29] Castillo, A., & 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>

Libros:

[9] Villota, J. (2015). *Manual De Buenas Prácticas Laboratorio De Operaciones Unitarias-Lou.* www.umariana.edu.co

[21] 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

Reporte de un organismo o ente gubernamental:

[2] Ministerio De Salud Y Protección Social, (2013).

[3] MinSalud. (2017). *Guía para el Manejo de Emergencias Toxicológicas.*

[4] Minsalud. (2021). *La información es notificada semanalmente por las entidades territoriales (ET) al Instituto Nacional de Colombia.*

[16] Díaz-Castillo, J. P., Jhoana, H., Giraldo, M., Fernández Rodríguez, J. F., Lucia, C., Gómez, C., Fernando, M., Castro, S., Javier, Ó., & Medina, S. (2019). *Supervisión y coordinación GQSP Colombia-Programa de Calidad*

para la Cadena de Químicos Revisión y edición Fabián Benzo Moreira Consultor Experto Internacional en SGA.
www.gqspcolombia.org

Tesis:

[5] Cusiche-Pérez, L., y Miranda-Zambrano, G. (2019). Universidad de Guanajuato. In Ejido Santa Ma. del Refugio (Vol. 201, Issue 2).

[8] García, J., & 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.*

[12] Medrano, E., & 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*

[18] Vera, J., & Zambrano, J. (2017). EXTRACCIÓN DE ACEITE ESENCIAL DE ORÉGANO MEDIANTE ARRASTRE DE VAPOR.

[20] Figueroa, L. & Ruano, O. Evaluación de la sensibilidad del patógeno *Rhizoctonia solani* Aislado de papa (*Solanum tuberosum* L.) Frente al aceite esencial de Orégano silvestre *Lippia origanoides* H.B.K, y Determinación de la fracción más activa a nivel in vitro, 2013, Universidad de Nariño.

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

[27] Martínez-Cotrino, 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.

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

