



**UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
CARRERA DE AGROINDUSTRIA**

**TRABAJO DE TITULACIÓN PRESENTADO COMO REQUISITO
PARA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE
INGENIERA AGROINDUSTRIAL**

**EVALUACIÓN DE LOS ACEITES ESENCIALES DE RICINO,
(*Ricinus communis*), NEEM (*Azadirachta indica*), ORÉGANO
(*Origanum vulgare*) EN LA INHIBICIÓN Y CONTROL DE
Escherichia coli PARA QUESO FRESCO A NIVEL *IN VITRO***

**AUTOR
CARABALÍ BARBOSA ALISSON ROMINA**

**TUTOR
ING. JOAQUIN TEODORO MORAN BAJAÑA, PHD.**

MILAGRO, ECUADOR

2026



**UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
CARRERA AGROINDUSTRIA**

APROBACIÓN DEL TUTOR

El suscrito, docente de la Universidad Agraria del Ecuador, en mi calidad de Tutor, certifico que el presente trabajo de titulación: “EVALUACIÓN DE LOS ACEITES ESENCIALES DE RICINO, (*Ricinus communis*), NEEM (*Azadirachta indica*), ORÉGANO (*Origanum vulgare*) EN LA INHIBICIÓN Y CONTROL DE *Escherichia coli* PARA QUESO FRESCO A NIVEL *IN VITRO*” realizado por la estudiante CARABALÍ BARBOSA ALISSON ROMINA; con cédula de identidad N° 0302522487 de la carrera AGROINDUSTRIA, Ciudad Universitaria Milagro, ha sido orientado y revisado durante su ejecución; y cumple con los requisitos técnicos y legales exigidos por la Universidad Agraria del Ecuador; por lo tanto, se aprueba la presentación del mismo.

Atentamente,

Ph.D MORÁN BAJAÑA JOAQUÍN
TUTOR

Milagro, 16 de diciembre del 2025



**UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
CARRERA AGROINDUSTRIA**

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE SUSTENTACIÓN

Los abajo firmantes, docentes designados por el H. Consejo Directivo como miembros del Tribunal de Sustentación, aprobamos la defensa del trabajo de titulación: “**EVALUACIÓN DE LOS ACEITES ESENCIALES DE RICINO, (*Ricinus communis*), NEEM (*Azadirachta indica*), ORÉGANO (*Origanum vulgare*) EN LA INHIBICIÓN Y CONTROL DE *Escherichia coli* PARA QUESO FRESCO A NIVEL *IN VITRO***”, realizado por la estudiante **CARABALÍ BARBOSA ALISSON ROMINA**, el mismo que cumple con los requisitos exigidos por la Universidad Agraria del Ecuador.

Atentamente,

Ph.D GAVILÁNEZ LUNA FREDDY
PRESIDENTE

ING. NÚÑEZ RODRÍGUEZ PABLO, M.Sc
EXAMINADOR PRINCIPAL

ING. BUCARAM LARA GENESIS, M.Sc
EXAMINADOR PRINCIPAL

Milagro, 16 de diciembre del 2025

Dedicatoria

A Dios por ser mi guía, por brindarme sabiduría y paz en mi trayectoria universidad y sobre todo por cuidar a mi familia, a Mayra Lorena Barbosa Cagua, mi madre o mi mami como yo la llamo con cariño, por brindarme su apoyo, confianza y porque nunca ha dejado que me rinda, a Dorbal Carabalí Batioja, mi padre, por el apoyo y por sus consejos que contribuyen a forjar mi carácter. A mi Abuelita Bertha por brindarme su apoyo, amor y confianza de manera incondicional, también quiero dedicar este logro al cielo a mi mamita Melva sé que usted está orgullosa de mí, a mis docentes por el conocimiento impartido sin ellos nada de esto sería posible.

Agradecimiento

Mis agradecimientos infinitos y eternos son para Dios por que sin el esto no fuera posible, porque él es pilar fundamental en mi vida, quiero agradecer a mis padres por su apoyo incondicional, por el sacrificio que han hecho para poder brindarme la oportunidad de estudiar, a mis dos abuelas por su infinito apoyo y demás familiares por sus consejos y ánimos, también quiero agradecer a las amistades con las que desarollé un vínculo hermoso en esta etapa universitaria y a mis queridos docentes por cada conocimiento impartido, a mi tutor de tesis PhD. Joaquín Moran Bajaña, por la paciencia y guía en este interesante proyecto de tesis.

Autorización de Autoría Intelectual

Yo, **CARABALÍ BARBOSA ALISSON ROMINA**, en calidad de autor(a) del proyecto realizado, sobre “**EVALUACIÓN DE LOS ACEITES ESENCIALES DE RICINO, (*Ricinus communis*), NEEM (*Azadirachta indica*), ORÉGANO (*Origanum vulgare*) EN LA INHIBICIÓN Y CONTROL DE *Escherichia coli* PARA QUESO FRESCO A NIVEL *IN VITRO***” para optar el título de INGENIERO AGROINDUSTRIAL, por la presente autorizo a la UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR, hacer uso de todos los contenidos que me pertenecen o parte de los que contienen esta obra, con fines estrictamente académicos o de investigación.

Los derechos que como autor(a) me correspondan, con excepción de la presente autorización, seguirán vigentes a mi favor, de conformidad con lo establecido en los artículos 5, 6, 8; 19 y demás pertinentes de la Ley de Propiedad Intelectual y su Reglamento.

Milagro, 16 de diciembre del 2025

CARABALÍ BARBOSA ALISSON ROMINA

C.I. 0302522487

RESUMEN

La presencia de *Escherichia coli* en productos lácteos representa un riesgo significativo para la salud pública, ya que puede desencadenar enfermedades graves como el síndrome urémico hemolítico. Este estudio se enfocó en evaluar la eficacia de aceites esenciales de ricino, neem y orégano en la inhibición y control de *E. coli* a nivel *in vitro*. Mediante un diseño experimental completamente aleatorizado, se aplicaron diferentes concentraciones de estos aceites en muestras de queso fresco inoculadas con la bacteria. Se midieron variables como la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI), la formación de halos de inhibición, el recuento de unidades formadoras de colonias (UFC) y la reducción logarítmica de la población microbiana. Los resultados mostraron que el aceite esencial de orégano al 0,50% logró una inhibición completa del crecimiento bacteriano, destacándose sobre los demás aceites evaluados. El neem evidenció también un efecto antimicrobiano notable, mientras que el ricino mostró menor eficacia. A pesar de no hallarse diferencias estadísticamente significativas en algunos parámetros, el potencial de los aceites esenciales como alternativa natural para el control de *E. coli* en productos lácteos quedó demostrado. Se recomienda profundizar en investigaciones que contemplen la evaluación sensorial y la sinergia con otras sustancias, además de validaciones a escala industrial para garantizar la seguridad y aceptabilidad del producto final.

Palabras clave: *Escherichia coli*, aceites esenciales, orégano, contaminación alimentaria, queso.

ABSTRACT

The presence of *Escherichia coli* in dairy products represents a significant public health risk, as it can lead to severe illnesses such as hemolytic uremic syndrome. This study focused on evaluating the efficacy of castor, neem, oregano, and nutmeg essential oils in inhibiting and controlling *E. coli* at the in vitro level. Using a completely randomized experimental design, different concentrations of these oils were applied to fresh cheese samples inoculated with the bacterium. Variables measured included the Minimum Inhibitory Concentration (MIC), inhibition zone formation, colony-forming unit (CFU) counts, and the logarithmic reduction of the microbial population. The results showed that oregano essential oil at 0.50% achieved complete bacterial growth inhibition, outperforming the other oils evaluated. Neem also demonstrated a notable antimicrobial effect, whereas castor oil showed lower efficacy. Despite the lack of statistically significant differences in some parameters, the potential of essential oils as a natural alternative for controlling *E. coli* in dairy products was evident. Further research is recommended to address sensory evaluation and the synergy with other substances, as well as industrial-scale validations to ensure product safety and acceptability.

Keywords: *Escherichia coli*, essential oils, oregano, food contamination, cheese.

ÍNDICE GENERAL

Índice general	ix
Índice de tablas	xi
Índice de figuras	xii
Introducción.....	14
1.1 Antecedentes del problema.....	14
1.2 Planteamiento y formulación del problema	15
1.2.1 Planteamiento del problema.....	15
1.2.2 Formulación del problema.....	16
1.3 Justificación de la investigación	17
1.4 Delimitación de la investigación	18
1.5 Objetivo general	18
1.6 Objetivos específicos.....	18
1.7 Hipótesis.....	18
2. Marco teórico.....	20
2.1 Estado del arte.....	20
2.2 Bases teóricas	22
2.2.1 Características de <i>Escherichia coli</i> en alimentos y productos lácteos	22
2.2.2 Riesgos asociados con la contaminación por <i>Escherichia coli</i> en productos lácteos.....	23
2.2.3 Propiedades antimicrobianas de los aceites esenciales	24
2.2.4 Mecanismos de acción de los aceites esenciales en bacterias	24
2.2.5 Determinación de la concentración mínima efectiva	25
2.2.6 Métodos de evaluación de la actividad antimicrobiana <i>in vitro</i>	26
2.2.7 Ricino (<i>Ricinus communis</i>)	28
2.2.8 Neem (<i>Azadirachta indica</i>).....	28
2.2.9 Orégano (<i>Origanum vulgare</i>).....	29
2.3 Marco legal.....	29
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	32
3.1 Enfoque de la investigación.....	32
3.1.1 Tipo de investigación	32
3.1.2 Diseño de investigación.....	32
3.2 Metodología	32
3.2.1 Variables.....	32

3.2.1.1 Variable independiente	32
3.2.1.2 Variable dependiente.....	32
3.3 Diseño experimental	33
3.4 Recolección de datos.....	33
3.4.1Recursos	34
3.5 Métodos y técnicas	34
3.5.1 <i>Análisis estadístico</i>	34
4. RESULTADOS	37
5. DISCUSIÓN.....	41
6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	44
6.1 Conclusiones.....	44
6.2 Recomendaciones.....	44
7. Bibliografía.....	45
8. ANEXOS	51

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Distribución de los tratamientos y factores bajo estudio	33
Tabla 2. ANOVA del experimento	36
Tabla 3. Resultados de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) ($\mu\text{L/mL}$)	37
Tabla 4. Resultados sobre la zona inhibitoria (mm)	38
Tabla 5. Resultados de los recuentos de colonias en UFC/mL	38
Tabla 6. Reducción logarítmica a las 24 h (Log UFC/g).....	39
Tabla 7. Reducción logarítmica a las 48 h (Log UFC/g).....	39
Tabla 8. Base de datos de resultados de Concentración Mínima Inhibitoria CMI originales y datos transformados y Recuento de colonias (UFC/g).....	59
Tabla 9. Base de datos de resultados de Diámetro de Inhibición (mm), Log reducción a 24 horas, datos transformados, Log reducción a 48 horas y datos transformados (Log UFC/g).....	61

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. La autora está esterilizando los utensilios y recipientes.....	63
Figura 2. La autora está realizando la medición y preparación de los medios de cultivos	63
Figura 3. Imágenes de los aceites esenciales de neem, ricino y orégano.	64
Figura 4. Soluciones de cultivo principales inoculadas con la cepa de <i>E. coli</i> y las muestras de queso.....	64
Figura 5. La autora preparando los materiales para sembrar en el ensayo	65
Figura 6. Realizando la inoculación a partir de una placa con colonias de <i>E. coli</i> en placas de Petri con Mc Conkey Agar	65
Figura 7. Realizando la inoculación a partir de una placa con colonias de <i>E. coli</i> en placas de Petri con Mc Conkey Agar	66
Figura 8. La autora realiza la medición del halo de inhibición presente en la placa de cultivo, utilizando el calibrador milimétrico.....	66
Figura 9. Cajas de Petri con medio Mc Conkey con los discos impregnados de aceites esenciales	67
Figura 10. Cajas de Petri con las siembras y realizando el control bacteriano	67

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. ANAVA de la Concentración Mínima Inhibitoria	51
Anexo 2. ANAVA de los resultados de conteo de colonias viables	53
Anexo 3. ANAVA de los resultados del diámetro de inhibición.....	54
Anexo 4. ANAVA de los resultados de la reducción logarítmica a las 24 y 48 horas	
.....	55

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Antecedentes del problema

La presencia de *Escherichia coli* en alimentos, especialmente en productos lácteos, es un problema crítico de salud pública debido a su asociación con problemas de higiene y salubridad. Esta bacteria, comúnmente encontrada en el ambiente, puede representar un riesgo significativo para la salud humana cuando ciertas cepas patogénicas, como *E. coli* O157:H7, contaminan los alimentos. Las infecciones gastrointestinales y el síndrome urémico hemolítico son algunas de las enfermedades graves asociadas con la ingestión de alimentos contaminados con la bacteria patógena (Ruiz, 2019).

La contaminación por *E. coli* en productos alimenticios, sobretodo lácteos, puede ocurrir durante diversas etapas de producción y manipulación, incluyendo la cría del ganado, el procesamiento de la carne, la manipulación en los puntos de venta y el consumo final. Esta contaminación puede ser el resultado de prácticas deficientes de higiene, contaminación cruzada, uso de agua contaminada o inadecuado control de la temperatura, entre otros factores. Como resultado, la industria alimentaria enfrenta el desafío de prevenir y controlar eficazmente la contaminación por *E. coli* en los alimentos (Cáceres, 2019).

A pesar de los esfuerzos realizados para controlar la contaminación por *E. coli* en alimentos, este problema persiste en la industria alimentaria. Las enfermedades transmitidas por alimentos asociadas a este patógeno continúan representando una carga significativa para la salud pública, lo que subraya la necesidad de buscar nuevas estrategias para abordar esta preocupación. La investigación científica en este campo es crucial para desarrollar enfoques innovadores y efectivos para

reducir la presencia de *E. coli* en los alimentos y mejorar la seguridad alimentaria (Orellana y Salcedo, 2023).

En este contexto, la evaluación de los aceites esenciales de ricino, neem y orégano en la inhibición y control de *Escherichia coli* a nivel in vitro surge como una investigación relevante y prometedora.

Estos aceites esenciales han mostrado tener propiedades antimicrobianas en estudios previos, lo que sugiere su potencial uso como agentes naturales para reducir la contaminación bacteriana en productos alimenticio. Evaluar la eficacia de estos aceites esenciales contra *E. coli* podría proporcionar información valiosa para el desarrollo de estrategias de control más seguras y efectivas en la industria alimentaria.

1.2 Planteamiento y formulación del problema

1.2.1 Planteamiento del problema

La contaminación alimentaria por la bacteria entérica en productos alimenticios implica considerar diversos aspectos relacionados con la seguridad alimentaria y la salud pública. Es posible que la presencia de *E. coli* en alimentos como queso, yogur, crema de leche, etc., puede ocurrir durante diferentes etapas de producción, procesamiento y distribución. Esto incluye la contaminación en granjas, mataderos, plantas de procesamiento, puntos de venta y manipulación por parte del consumidores.

La contaminación por *E. coli* puede ser el resultado de múltiples factores, como la presencia de animales portadores en las granjas, la falta de medidas de higiene adecuadas durante el ordeño, la manipulación, la contaminación cruzada durante el envasado y el almacenamiento, y la manipulación inadecuada de alimentos por parte de los consumidores. Además, la resistencia de algunas cepas patogénicas

a los antibióticos tradicionales complica aún más el control de esta bacteria en la cadena alimentaria.

Las enfermedades transmitidas por alimentos, ETA's asociadas con *E. coli*, como las infecciones gastrointestinales y el síndrome urémico hemolítico, representan un grave riesgo para la salud pública. Estas enfermedades pueden resultar en síntomas graves, hospitalización e incluso la muerte, especialmente en poblaciones vulnerables como niños pequeños, personas mayores y personas con sistemas inmunológicos comprometidos.

En este contexto, la búsqueda de alternativas para prevenir y controlar la contaminación por *E. coli* en productos lácteos se convierte en una prioridad por lo que se justifica la evaluación de agentes antimicrobianos naturales, como los aceites esenciales de ricino, neem y orégano los cuales podrían ofrecer una solución prometedora para mejorar la seguridad alimentaria y reducir los riesgos asociados con la contaminación bacteriana en la industria alimentaria en general. Sin embargo, es fundamental realizar investigaciones científicas rigurosas para determinar la eficacia y seguridad de estos productos en la inhibición y control de la especie bacteriana en cuestión en productos alimenticios, antes de su posible implementación a nivel comercial.

1.2.2 Formulación del problema

¿Cuál es el impacto de la aplicación de los aceites esenciales de ricino, neem y orégano a nivel *in vitro* en la inhibición y control de *E. coli*, en productos lácteos como el queso considerando su potencial como alternativa natural para mejorar la seguridad alimentaria en respuesta a la contaminación bacteriana en la cadena de producción y distribución de productos alimenticios?

1.3 Justificación de la investigación

La justificación de esta investigación se basa en la necesidad de encontrar soluciones efectivas y naturales para controlar la contaminación bacteriana por *E. coli* en productos alimenticios, con un enfoque específico en productos lácteos.

Además, este estudio también puede abrir nuevas perspectivas en la aplicación de productos naturales en la industria alimentaria, promoviendo prácticas más sostenibles y respetuosas con el medio ambiente en la producción de alimentos. Dada la grave amenaza para la salud pública que representa la presencia de la bacteria bajo estudio en los alimentos, es esencial buscar nuevas estrategias que puedan mejorar la seguridad alimentaria y reducir los riesgos de enfermedades transmitidas por alimentos, especialmente en productos lácteos que son susceptibles a la contaminación bacteriana.

Los aceites esenciales de ricino, neem y orégano han demostrado tener propiedades antimicrobianas en estudios anteriores. Su evaluación a nivel *in vitro* para la inhibición y control de *E. coli* en productos alimenticios, especialmente en productos lácteos, proporcionará una oportunidad única para determinar su efectividad en un entorno controlado y reproducible. Al centrarse específicamente en productos de origen lácteo, esta investigación aborda un área crítica de la seguridad alimentaria y puede tener un impacto significativo en la reducción de la contaminación bacteriana en estos alimentos.

Además, al utilizar un enfoque *in vitro*, esta investigación permite evaluar la capacidad de los aceites esenciales para combatir la bacteria *E. coli* de manera precisa y eficiente, sin la necesidad de realizar ensayos en animales o estudios en humanos. Esto facilita una evaluación más rápida y ética de la eficacia de estos

compuestos, lo que podría acelerar su posible aplicación en la industria alimentaria, especialmente en la producción de productos lácteos.

Por lo tanto, la investigación propuesta tiene una justificación sólida al abordar un problema importante de seguridad alimentaria, ofreciendo una alternativa natural y potencialmente efectiva para controlar la contaminación bacteriana por *E. coli* en productos alimenticios, sobretodo, lácteos. Los resultados de esta investigación podrían tener implicaciones significativas para la industria alimentaria, ayudando a proteger la salud de los consumidores y garantizando la calidad y seguridad de los productos a partir de la leche.

1.4 Delimitación de la investigación

- **Espacio:** El trabajo experimental se desarrolló en el laboratorio de Microbiología de la Universidad Agraria del Ecuador, campus, Ciudad Universitaria “Dr. Jacobo Bucaram Ortiz” en Milagro, Guayas, Ecuador.
- **Tiempo:** El tiempo estimado que tomó el desarrollo del trabajo de titulación fue de tres meses entre octubre 2024 y enero 2025.
- **Población:** La población objetivo fueron los consumidores y productores de queso artesanal de la ciudad de Milagro y localidades aledañas

1.5 Objetivo general

Evaluar la eficacia de los aceites esenciales de ricino, neem y orégano en la inhibición y control de *Escherichia coli* en queso fresco a nivel *in vitro*.

1.6 Objetivos específicos

- Establecer las concentraciones mínimas efectivas de los aceites esenciales para inhibir el crecimiento de *E. coli* en queso fresco.
- Evaluar el impacto de los aceites esenciales en la viabilidad y actividad metabólica de *E. coli* en el queso.

- Comparar la eficacia antimicrobiana de los aceites esenciales con un control positivo (antibiótico convencional) y un control negativo (sin tratamiento) en la inhibición de *Escherichia coli* en queso fresco

1.7 Hipótesis

Los aceites esenciales de ricino, (*Ricinus communis*), neem (*Azadirachta indica*), orégano (*Origanum vulgare*) tienen un efecto inhibidor significativo sobre el crecimiento de *Escherichia coli* en queso fresco a nivel *in vitro*, siendo el aceite esencial de orégano el más efectivo debido a sus propiedades antimicrobianas potentes y bien documentadas.

2. MARCO TEÓRICO

2.1 Estado del arte

Los investigadores Leghari et al., (2021) del Departamento de Microbiología Veterinaria de la Sindh Agriculture University en Pakistán, evaluaron la capacidad de los aceites esenciales de árbol de té, clavo, albahaca y tomillo para combatir bacterias comúnmente encontradas en heridas de ganado, tales como *Staphylococcus aureus*, que es una bacteria que puede causar infecciones de la piel y del tejido blando; *Streptococcus pneumoniae* y *S. pyogenes* asociadas a infecciones respiratorias y de la piel; *E. coli* causante de infecciones urinarias, gastrointestinales y otras y *Klebsiella spp* bacteria causante de infecciones del tracto urinario, pulmonares y del torrente sanguíneo. Los resultados mostraron que los aceites esenciales, especialmente el de árbol de té y clavo, fueron altamente efectivos en inhibir el crecimiento de estas bacterias. Además, se observó que la combinación de ciertos aceites esenciales con antibióticos convencionales resultó en un efecto sinérgico, potenciando su acción antimicrobiana.

Investigadores del Departamento de Ingenierías del Instituto Tecnológico de Ciudad Valles, Wong-Paz et al., (2020) informan que la búsqueda de procesos más sostenibles y eficientes ha llevado a explorar nuevas formas de extraer compuestos valiosos de los residuos de cítricos. Los autores destacan que si bien los métodos tradicionales han sido útiles, las nuevas técnicas de extracción asistida ofrecen una alternativa más respetuosa con el medio ambiente. Al reducir el tiempo de extracción y la cantidad de solventes utilizados, estas tecnologías contribuyen a un futuro más sostenible.

Campo et al, (2019) de la Universidad Técnica de Machala, evaluaron a nivel *in vitro* la composición química y la actividad antibacteriana de los aceites esenciales

de hojas, flores y partes aéreas de *Minthostachys mollis* que crece en Quito, Ecuador el cual es un arbusto aromático originario de América Latina, conocido por sus aceites esenciales de valor medicinal. Tradicionalmente, se utiliza para tratar diversas dolencias, como problemas digestivos, espasmos, infecciones respiratorias, dolores musculares y reumatismo. Recientes investigaciones han evaluado su composición química y actividad antibacteriana contra *Staphylococcus aureus*, revelando una presencia significativa de monoterpenos en los aceites esenciales extraídos de hojas y flores (Mp1) y de partes aéreas (Mp2).

En un estudio realizado en la India en 2019 por Sirisha y Sujatha, (2019), se evaluó la actividad anticancerígena y el contenido de fenoles de aceites esenciales de *Rosmarinus officinalis*, *Azadirachta indica*, *Syzygium aromaticum* y *Cymbopogon nardus*. Los resultados demostraron que estos aceites tienen un fuerte potencial citotóxico en diferentes líneas celulares cancerígenas, destacando el aceite de clavo por su alto contenido de fenoles (45%) y su eficacia contra la línea celular de leucemia K-562.

Bermúdez et al., (2019), investigadores del Centro de Investigación en Nutrición Animal (CINA) de la Universidad de Costa Rica analizaron la composición química y la actividad antimicrobiana de aceites esenciales extraídos de hojas de *Psidium guajava* L. (guayaba) y *Cymbopogon citratus* (zacate de limón). Los resultados mostraron que ambos aceites poseen efectos antimicrobianos contra diez cepas bacterianas, siendo las bacterias grampositivas las más sensibles. El aceite de guayaba de Escazú presentó una mayor actividad, incluso eliminando *Escherichia coli* en matrices de harina de carne y hueso, aunque no controló completamente su colonización. Las observaciones logradas sugieren que los aceites esenciales podrían ser una alternativa prometedora a los antibióticos en la producción

pecuaria, aunque se requiere más investigación para determinar su viabilidad en la alimentación animal.

Collaguazo (2019), frente a la necesidad de encontrar soluciones a la problemática relacionada con la resistencia a los antibióticos en *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli* estudió el potencial antibacteriano del aceite esencial de *Hedyosmum sp.* contra estas bacterias. Los resultados mostraron que este aceite natural, a nivel *in vitro*, fue efectivo contra algunas de estas bacterias, especialmente *Pseudomonas aeruginosa*, ofreciendo una esperanza para el desarrollo de nuevos tratamientos.

2.2 Bases teóricas

2.2.1 Características de *Escherichia coli* en alimentos y productos lácteos

Escherichia coli es la principal bacteria comensal que habita en el intestino humano y de los animales de sangre caliente, en especial los bovinos, y encabeza el grupo bacteriano que a partir de ella toma su nombre, los coliformes, se caracteriza por ser un bacilo Gram negativo, no posee capacidad para esporular, pero posee serovariiedades patógenas causantes de enfermedades diarreicas y nefrológicas (Montesdeoca y Ramirez, 2024).

Los mismos autores (Montesdeoca y Ramirez, 2024), asocian a las condiciones higiénicas durante su elaboración a la contaminación de los quesos frescos que se expenden en centros de abastos como mercados y lugares de expendio con una alta frecuencia por lo general.

La clasificación de *Escherichia coli* se fundamenta en la diversidad de sus factores de virulencia, codificados en plásmidos o fagos, que determinan mecanismos patogénicos específicos. La adherencia a células epiteliales intestinales y la producción de toxinas son características distintivas de cepas

patogénicas como ETEC, EPEC, EHEC y EICE. Estas cepas son responsables de brotes de gastroenteritis asociados al consumo de alimentos o agua contaminados. La capacidad de adquirir rápidamente resistencia a múltiples antimicrobianos, mediada por la transferencia horizontal de genes, confiere a estas bacterias una elevada adaptabilidad y un significativo impacto en salud pública (Montesdeoca y Ramirez, 2024),

2.2.2 Riesgos asociados con la contaminación por *Escherichia coli* en productos lácteos

La leche, debido a su composición nutricional y a las condiciones físico-químicas propias, constituye un medio de cultivo idóneo para el crecimiento bacteriano. Como consecuencia, puede actuar como vehículo de transmisión de agentes patógenos zoonóticos. La contaminación de la leche puede ocurrir en cualquier etapa de la cadena productiva, incluyendo la producción primaria, y no siempre se asocia a signos clínicos evidentes en el animal (Aguilera et al., 2014).

Escherichia coli y en particular la serovariedad productora de Shiga toxina (STEC= Shiga Toxin *Escherichia coli*) es un patógeno zoonótico que puede colonizar el tracto gastrointestinal del ganado bovino. La transmisión a humanos ocurre principalmente a través del consumo de alimentos contaminados, como carne de vacuno poco cocida, leche no pasteurizada y agua contaminada con materia fecal. La contaminación fecal de cuerpos de agua y la manipulación inadecuada de alimentos a lo largo de la cadena de producción cárnica son vías importantes de transmisión. La supervivencia de STEC en alimentos depende de factores intrínsecos y extrínsecos, siendo la temperatura un factor crítico para su inactivación (Vinderola y Rivas, 2020).

2.2.3 Propiedades antimicrobianas de los aceites esenciales

Algunos investigadores proponen que compuestos de *Dorstenia brasiliensis*, *Schinus molle* y *Malva sylvestris* pueden interferir con funciones clave de la membrana celular, como el transporte electrónico, el intercambio de nutrientes, la síntesis de proteínas y la actividad enzimática, lo que lleva a deformaciones estructurales. Hoy en día, la preferencia de los consumidores se inclina hacia alimentos conservados mediante métodos que no alteren sus propiedades sensoriales ni nutricionales. Por esto, el uso de extractos naturales en la conservación de alimentos ha ganado interés, debido a su eficacia en inhibir el crecimiento de diversas bacterias (Gómez y Bethsua, 2014).

La extracción de aceites esenciales de residuos cítricos, especialmente del limón, ha captado la atención de la industria farmacéutica y cosmética. Estos aceites, ricos en terpenoides con propiedades antifúngicas, son ampliamente utilizados en la elaboración de perfumes, medicamentos y alimentos debido a sus características aromáticas y saborizantes (Wong et al., 2020).

2.2.4 Mecanismos de acción de los aceites esenciales en bacterias

Los aceites esenciales, obtenidos principalmente por hidrodestilación o destilación por vapor, exhiben una amplia gama de actividades biológicas, incluyendo propiedades antimicrobianas, antioxidantes, antitumorales y antiinflamatorias. Su estabilidad, biodisponibilidad, selectividad y biocompatibilidad contribuyen a su potencial terapéutico (Ibarra Castillo, 2022).

Los aceites esenciales, además de su actividad antibacteriana directa, también pueden actuar como agentes sensibilizadores, restaurando la efectividad de los antibióticos frente a microorganismos resistentes. Debido a la constante exposición de las plantas a diversos microorganismos del suelo, los aceite esenciales pueden

representar una fuente potencial de nuevos compuestos con actividad inhibitoria de bombas de eflujo, incluso en ausencia de propiedades antibacterianas directas (Agreles et al., 2021).

La mayor sensibilidad de las bacterias Gram-negativas a los aceites esenciales puede atribuirse a las diferencias estructurales de sus paredes celulares. Mientras las Gram-positivas poseen una gruesa capa de peptidoglicano, las Gram-negativas tienen una capa más delgada y una membrana externa rica en lipopolisacáridos, incluyendo el lípido A. Este último componente, al ser hidrofóbico, facilita la penetración de los aceites esenciales en la célula bacteriana, lo que provoca desestabilización de las membranas y muerte celular (Esther et al., 2017, López- et al., 2017).

2.2.5 Determinación de la concentración mínima efectiva

La concentración mínima inhibitoria (CMI) es la concentración más baja de un antimicrobiano sea un antibiótico o un agente antifúngico, natural o artificial que impide el crecimiento visible de un microorganismo específico en condiciones de laboratorio. Es decir, es la menor cantidad de un fármaco necesaria para detener la multiplicación de bacterias, hongos u otros microorganismos (Montero-Recalde et al., 2019).

Para la determinación de la CMI se realiza generalmente diluciones con agua destilada-aceite en relaciones 1:1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16 y 1:32; aclarando que la mezcla debe homogenizarse por un tiempo de 10 minutos a una temperatura de 30°C (Escobedo-Coral et al., 2023).

Posteriormente a las diluciones se debe realizar un antibiograma por triplicado de cada dilución para los aceites a evaluar. Se incuba a 35 °C por 24 horas y se

evalúa la relación cantidad y crecimiento para los aceites en estudio (Ocampo Cachay, 2019).

2.2.6 *Métodos de evaluación de la actividad antimicrobiana in vitro*

A continuación, se detallan los métodos más comunes según Rang y Dale (2020):

2.2.6.1 Método de Dilución en Caldo

Sirve para establecer la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de un aceite esencial. El procedimiento es: Se prepara una serie de diluciones del aceite esencial en caldo nutritivo. Se inocula cada dilución con el microorganismo de interés y se incuban. La menor concentración que previene el crecimiento visible del microorganismo se considera la CMI.

2.2.6.2 Método de Dilución en Agar

Se emplea para determinar la CMI y la Concentración Mínima Bactericida (CMB). El procedimiento es: Se preparan placas de agar con diferentes concentraciones del aceite esencial. Se inoculan con el microorganismo y se incuban. La CMI se determina observando la menor concentración que inhibe el crecimiento en el agar.

2.2.6.3 Método de Difusión en Agar (Método de Kirby-Bauer)

Empleado para evaluar la actividad antimicrobiana comparativa. Se aplican discos impregnados con el aceite esencial sobre un ágar inoculado con el microorganismo. Se mide el diámetro de la zona de inhibición alrededor de los discos para evaluar la actividad antimicrobiana.

2.2.6.4 Método de Ensayo de Turbidez

El objetivo de esta técnica es evaluar la eficacia del aceite esencial en inhibir el crecimiento microbiano y se inocula el microorganismo en un medio líquido con diferentes concentraciones del aceite esencial. Se mide la turbidez del medio en

diferentes intervalos de tiempo, ya que la turbidez indica el crecimiento del microorganismo.

2.2.6.5 Método de Ensayo de Coloración con Azul de Metileno

El propósito de este método es determinar la viabilidad microbiana después del tratamiento con aceite esencial y se procede después de tratar el microorganismo con el aceite esencial, se agrega azul de metileno. Las células vivas mantienen el colorante, mientras que las muertas lo liberan. Se cuenta el número de células teñidas para evaluar la actividad antimicrobiana.

2.2.6.6 Ensayo de Actividad Antifúngica por Método de Microdilución

Tiene por objetivo determinar la CMI para hongos. Es similar al método de dilución en caldo, pero adaptado para hongos. Se prepara una serie de diluciones del aceite esencial en un medio de cultivo adecuado para hongos.

2.2.6.7 Método de Inhibición de Crecimiento en Placas de Agar

El objetivo de esta técnica es evaluar el efecto del aceite esencial sobre el crecimiento del microorganismo en placas de agar y se siembra el microorganismo en placas de agar y se coloca el aceite esencial en un punto específico. Se observa la inhibición del crecimiento alrededor del punto de aplicación.

2.2.6.8 Ensayo de Eficiencia Antimicrobiana por Método de Muestras Aisladas

La prueba busca evaluar la actividad antimicrobiana contra cepas específicas y se realizan pruebas similares a los métodos de dilución o difusión, pero utilizando cepas aisladas del microorganismo para obtener datos específicos sobre la actividad del aceite esencial.

2.2.7 Ricino (*Ricinus communis*)

El ricino (*Ricinus communis*) es una planta de rápido crecimiento, originaria de África, que se ha naturalizado en diversas regiones del mundo. Sus características morfológicas incluyen hojas grandes y palmeadas, y flores que dan lugar a frutos espinosos. El ricino es una especie versátil con múltiples usos, pero también presenta riesgos asociados a su toxicidad (Valerio et al., 2023).

El aceite de ricino, extraído de las semillas, ha sido utilizado tradicionalmente en medicina debido a sus propiedades terapéuticas. Sin embargo, las semillas contienen ricina, una toxina proteica altamente peligrosa. Otras partes de la planta, como las hojas, han sido empleadas en la medicina tradicional para tratar diversas afecciones, aunque su uso debe ser cuidadoso debido a la presencia de compuestos potencialmente tóxicos .

Estudios fitoquímicos han identificado en las hojas de ricino una variedad de compuestos bioactivos, incluyendo alcaloides, terpenoides, ácidos fenólicos y flavonoides, los cuales podrían conferir a la planta propiedades antimicrobianas

2.2.8 Neem (*Azadirachta indica*)

Azadirachta indica, comúnmente conocido como neem, es un árbol tropical originario de la India y Birmania. Perteneciente a la familia Meliaceae, esta especie ha sido utilizada durante siglos en diversas aplicaciones. Estudios científicos recientes han profundizado en el análisis de sus componentes, especialmente en sus semillas, corteza y hojas, revelando la presencia de compuestos con propiedades antisépticas, antivirales, antibacterianas, antipiréticas y antiinflamatorias (Labrada-Hechavarría et al., 2018).

La semilla del neem contiene un alto porcentaje de ácidos grasos, siendo el ácido oleico (52.8%) el más abundante seguido del Ácido Esteárico 21,4%. Ácido

Linoleico 2,1%. Otros ácidos grasos 2,3%. El aceite extraído de estas semillas, caracterizado por su sabor amargo y olor fuerte, también es rico en vitamina E y aminoácidos esenciales. La composición exacta de este aceite puede variar según la procedencia y el momento de recolección de las semillas (Chica Tinoco, 2018) .

2.2.9 Orégano (*Origanum vulgare*)

El orégano, (*Origanum vulgare*), pertenece a la familia Labiaceae, y es una planta herbácea vivaz muy aromática, es rica en aceites esenciales, principalmente carvacrol y timol. Estos compuestos le confieren propiedades antioxidantes y antimicrobianas, lo que lo convierte en un potencial sustituto de aditivos químicos en alimentos. Además de estos compuestos principales, el aceite esencial de orégano contiene flavonoides, alcoholes, terpenos y ácidos fenólicos, entre otros. La composición química del aceite puede variar según las condiciones de cultivo y el quimiotipo predominante. El quimiotipo timol, caracterizado por altos niveles de timol, es especialmente efectivo contra bacterias, al alterar su membrana celular y aumentar su permeabilidad (Lopez, 2018).

El aceite esencial de orégano, rico en compuestos aromáticos como el timol y el carvacrol, presenta una potente acción antimicrobiana. Esta sustancia natural puede ser incorporada en alimentos, especialmente en productos cárnicos como el pollo, con el propósito de frenar el desarrollo de *Staphylococcus aureus* y neutralizar la producción de toxinas que este microorganismo genera (Grande et al., 2023).

2.3 Marco legal

Plan de Desarrollo para el Nuevo Ecuador

Principales soluciones y propuestas de la ciudadanía:

- Rehabilitar y mejorar la infraestructura agrícola, acuícola y ganadera, brindando asistencia técnica y facilidades para mejorar la calidad de insumos y maquinaria para pequeños y medianos productores;

- Mejorar y socializar las políticas de acceso a créditos preferenciales con tasas de interés acorde a las necesidades del sector agrícola, acuícola y ganadero;
- Fortalecer cadenas de comercialización que beneficien al productor;
- Regularizar las transacciones de compraventa de productos agrícolas para garantizar el pago de precios justos directamente al productor;
- Implementar programas de capacitación en agricultura sostenible para pequeños y medianos productores;
- Mejorar la política de focalización de subsidios agrícolas;
- Promover la inversión extranjera con un marco regulatorio que brinde seguridad jurídica;
- Incentivar las exportaciones de productos elaborados por las microempresas;
- Fortalecer los mecanismos de control del contrabando;
- Facilitar los trámites aduaneros para generar mayor competencia y diversificación de productos en el mercado;
- Implementar programas de capacitación para productores en áreas relacionadas a la expansión en mercados internacionales;
- Proponer reformas legales que promuevan el empleo adecuado, el fortalecimiento institucional y un marco jurídico estable;
- Ampliar la oferta de carreras tecnológicas en las universidades e institutos que permitan una adecuada inclusión laboral;
- Implementar programas con fondos semilla provenientes de cooperación internacional no reembolsables;
- Invertir en obras y desarrollo productivo con énfasis en la economía popular y solidaria;
- Implementar programas de capacitación para las micro y pequeñas empresas;
- Fomentar políticas que faciliten y motiven la creación de emprendimientos que garanticen el empleo digno (Secretaría Nacional de Planificación, 2024, p.28-29).

Resolución No. 12 326 SUBSECRETARÍA DE LA CALIDAD

Considerando: Que de conformidad con lo dispuesto en el Artículo 52 de la Constitución de la República del Ecuador, “Las personas tienen derecho a disponer de bienes y servicios de óptima calidad y a elegirlos con libertad, así como a una información precisa y no engañosa sobre su contenido y características”; Que mediante Ley No. 2007-76, publicada en el Suplemento del Registro Oficial No. 26 del 22 de febrero de 2007, se establece el Sistema Ecuatoriano de la Calidad, que tiene como objetivo establecer el marco jurídico destinado a: “i) Regular los principios, políticas y entidades relacionados con las actividades vinculadas con la evaluación de la conformidad, que facilite el cumplimiento de los compromisos internacionales en esta materia; ii) Garantizar el cumplimiento de los derechos ciudadanos relacionados con la seguridad, la protección de la vida y la salud humana, animal y vegetal, la preservación del medio ambiente, la protección del consumidor contra prácticas engañosas y la corrección y sanción de estas prácticas; y, iii) Promover e incentivar la cultura de la calidad y el mejoramiento de la competitividad en la sociedad ecuatoriana”; Que el Instituto Ecuatoriano de Normalización, INEN, entidad competente en materia de Reglamentación,

Normalización y Metrología, ha formulado la Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2667 MICROBIOLOGÍA. DETERMINACIÓN E IDENTIFICACIÓN DE Escherichia coli O157 EN ALIMENTOS DE CONSUMO HUMANO Y ANIMAL; Que en su elaboración se ha seguido el trámite reglamentario; Que mediante Informe Técnico-Jurídico contenido en la Matriz de Revisión No. 186-ITJ-2012-N de fecha 28 de diciembre de 2012, se sugirió proceder a la aprobación y oficialización de la Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2667 MICROBIOLOGÍA. DETERMINACIÓN E IDENTIFICACIÓN DE Escherichia coli O157 EN ALIMENTOS DE CONSUMO HUMANO Y ANIMAL; Que de conformidad con la Ley del Sistema Ecuatoriano de la Calidad, el Ministerio de Industrias y Productividad es la institución rectora del Sistema Ecuatoriano de la Calidad; en consecuencia, es competente para aprobar y oficializar con el carácter de VOLUNTARIA la Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2667 MICROBIOLOGÍA. DETERMINACIÓN E IDENTIFICACIÓN DE Escherichia coli O157 EN ALIMENTOS DE CONSUMO HUMANO Y ANIMAL, mediante su promulgación en el Registro Oficial, a fin de que exista un justo equilibrio de intereses entre proveedores y consumidores; Que mediante Acuerdo Ministerial No. 11446 del 25 de noviembre de 2011, publicado en el Registro Oficial No. 599 del 19 de diciembre de 2011, la Ministra de Industrias y Productividad delega a la Subsecretaría de la Calidad la facultad de aprobar y oficializar las propuestas de normas o reglamentos técnicos y procedimientos de evaluación de la conformidad propuestos por el INEN, en el ámbito de su competencia, de conformidad con lo previsto en la Ley del Sistema Ecuatoriano de la Calidad y en su reglamento general; y, En ejercicio de las facultades que le concede la Ley, Resuelve: ARTÍCULO 1.- Aprobar y oficializar con el carácter de VOLUNTARIA la Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2667 (Microbiología. Determinación e identificación de Escherichia coli O157 en alimentos de consumo humano y animal), que especifica un método para la determinación e identificación de Escherichia coli serotipo O157. ARTÍCULO 2.- Disponer al Instituto Ecuatoriano de Normalización, INEN, que de conformidad con el Acuerdo Ministerial No. 11256 del 15 de julio de 2011, publicado en el Registro Oficial No. 499 del 26 de julio de 2011, publique la Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2667 MICROBIOLOGÍA. DETERMINACIÓN E IDENTIFICACIÓN DE Escherichia coli O157 EN ALIMENTOS DE CONSUMO HUMANO Y ANIMAL, en la página web de esa institución, www.inen.gob.ec. ARTÍCULO 3.- Esta norma técnica ecuatoriana NTE INEN 2667 MICROBIOLOGÍA. DETERMINACIÓN E IDENTIFICACIÓN DE Escherichia coli O157 EN ALIMENTOS DE CONSUMO HUMANO Y ANIMAL entrará en vigencia desde la fecha de su promulgación en el Registro Oficial. COMUNÍQUESE Y PUBLÍQUESE en el Registro Oficial. Dado en Quito, Distrito Metropolitano, 28 de diciembre de 2012. f.) Mgs. Ana Elizabeth Cox Vásquez, Subsecretaria de la Calidad. MIPRO.- MINISTERIO DE INDUSTRIAS Y PRODUCTIVIDAD.- Certifico es fiel copia del original.- Firma: Illegible.- Fecha: 11 de enero del 2013 (INEN, 2007. p.2-3).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Enfoque de la investigación

3.1.1 *Tipo de investigación*

La propuesta investigativa fue de tipo experimental, así como aplicada al buscar resolver un problema práctico, en este caso, mejorar la seguridad alimentaria de los quesos frescos. El nivel de conocimiento de la investigación fue exploratorio, descriptivo y explicativo.

3.1.2 *Diseño de investigación*

El diseño planteado fue experimental donde se comparó un grupo experimental (queso tratado con aceites) con un grupo control (queso sin tratamiento).

3.2 Metodología

3.2.1 *Variables*

Según el tipo de investigación, se incluyeron las variables.

3.2.1.1 **Variable independiente**

Tipo de aceite esencial, concentración mínima inhibitoria del aceite sobre *E. coli*

3.2.1.2 **Variable dependiente**

Objetivo 1:

- Concentración mínima inhibitoria (CMI). Menor concentración del aceite esencial que impide visiblemente el crecimiento de *E. coli* en un medio de cultivo sólido
- Zona de inhibición. Diámetro del halo de inhibición alrededor de los discos impregnados con aceite esencial en un ensayo de difusión en agar

Objetivo 2:

- Recuento de colonias viables en placas de agar

Objetivo 3:

- Log reducción logarítmica (LR): Reducción logarítmica de la población de *E. coli* a partir de las 24 horas como población inicial y luego a las 48 horas como población final.

3.3 Diseño experimental

Según la investigación, se aplicó el diseño completamente aleatorizado DCA con arreglo factorial 3x4 con 3 repeticiones y consideró como unidad experimental a 200 gramos de queso fresco por cada tratamiento cada repetición estuvo representada en igual número de cajas de Petri. Los factores de estudio fueron:

- **Factor 1:** Tipo de aceite (orégano, neem y ricino)
- **Factor 2:** Concentración (1, 10, 25, 50% López-Pantoja et al., 2007)

Tabla 1.
Distribución de los tratamientos y factores bajo estudio

Tratamiento	Factor 1: Tipo de Aceite	Factor 2: Concentración %	Combinación
T1	Orégano	1	Orégano 1%
T2	Orégano	10	Orégano 10%
T3	Orégano	25	Orégano 25%
T4	Orégano	50	Orégano 50%
T5	Ricino	1	Ricino 1%
T6	Ricino	10	Ricino 10%
T7	Ricino	25	Ricino 25%
T8	Ricino	50	Ricino 50%
T9	Neem	1	Neem 1%
T10	Neem	10	Neem 10%
T11	Neem	25	Neem 25%
T12	Neem	50	Neem 50%

Carabalí, 2025

3.4 Recolección de datos

3.4.1 Recursos

Humanos: El tesista y el tutor

Materiales: Placas de Petri, tubos de ensayo, pipetas, puntas, medios de cultivo, reactivos químicos, etc.

Equipos: Autoclave, estufa de incubación, balanza analítica, pH-metro, cabina de flujo y materiales de vidrio, etc..

3.5 Métodos y técnicas

Preparación de las muestras

Se dividió el queso en porciones de 200 gramos de un mismo bloque de queso artesanal para evitar sesgos.

Se inoculó cada porción con una suspensión estándar de *Escherichia coli* para asegurar que cada porción tenga una carga bacteriana inicial conocida.

Se aplicó cada tratamiento al queso.

Las muestras fueron incubadas a 37.5 °C, durante 24-48 horas para permitir la interacción entre el queso, los aceites esenciales y las bacterias.

A partir de estos eventos se procedió a evaluar las variables de respuesta

Para la preparación de las concentraciones de los aceites esenciales se utilizó los siguientes materiales:

- Aceite esencial (orégano, ricino y neem).
- Tween 80
- Agua destilada y esterilizada
- Matraz de 100 mL para cada concentración
- Pipetas o jeringas calibradas para medir volúmenes pequeños

El procedimiento de preparación fue:

En el matraz se midió cada concentración por separado (0.50, 0.25, 0.10 y 0.01% del AE), y a cada una se le agregó:

- 1 mL de Tween 80
- Se completó con agua destilada hasta enrasar a 100 mL y mezcló suavemente hasta homogeneizar

Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)

Para esto se preparó los medios de cultivo sólidos (Soya Tripticasa y como opción agar MacConkey-Sorbitol, caldo E. C. y caldo Verde Brillante Bilis Lactosa para el crecimiento de *E. coli*.

Para este último se realizó un ensayo de dilución en serie de las concentraciones de los aceites esenciales (1, 10, 25 y 50 ml) utilizando Tween 80 (Polisorbato) como vehículos de dilución sobre el medio de cultivo donde creció *E. coli*. Se evaluó las muestras tratadas de queso a diferentes concentraciones de aceite esencial.

Lo descrito anteriormente se realizó después de la incubación, y se identificó la concentración más baja del aceite esencial que inhibe el crecimiento visible de *E. coli*.

Zona de Inhibición

Con las mismas diluciones se impregnó los discos de papel estéril con el aceite esencial sobre placas de Petri con los inoculados de *E. coli*.

Con lo anterior se procedió a medir el diámetro del halo de inhibición alrededor del disco.

Se realizó lo mismo con muestras de queso en cajas de Petri con medio de cultivo mezclado con las diluciones de los aceites esenciales para verificar los halos de inhibición respectivos.

Recuento de Colonias Viables

En la incubación, se tomó una alícuota de cada muestra de queso y realizó un recuento en placa en medio agar de recuento en placa PCA o Standar Methods.

Se contó todas las colonias viables y calculó el número de unidades formadoras de colonias (UFC) por gramo de queso.

Log Reducción (LR)

Se comparó el recuento de colonias viables en las muestras tratadas calculando mediante la siguiente fórmula:

$$LR = \log_{10} \left(\frac{N_0}{N_t} \right)$$

Donde:

N_0 = es el número inicial de UFC a las 24 horas

N_t = es el número final de UFC en la muestra del tratamiento a las 48 horas

3.5.1 Análisis estadístico

El análisis estadístico fue inferencial utilizando el análisis de varianza (ANOVA, se aplicó la prueba de Tukey para identificar diferencias significativas entre los tratamientos considerando el error de tipo I con un margen de confianza del 95%.

El Anova se presenta a continuación en la Tabla 2.

Tabla 2.
ANOVA del experimento

Fuente de variación	GL
Factor A (a-1)	2
Factor B (b-1)	3
Interacción (A*B) (a-1) (b-1)	6
Error ab(r-1)	24
Total abr-1	35

Carabalí, 2025

El modelo estadístico se plantea como:

$$Y_{ij} = \mu + j_i + j_i + \epsilon_{ij}$$

Donde:

- Y_{ij} = respuesta observada.
- μ = media general.
- j_i = efecto del i-ésimo de tratamientos
- ϵ_{ij} error experimental

4. RESULTADOS

Los resultados sobre la Concentración Mínima Inhibitoria CIM, se presentan en la Tabla 3 a continuación, donde se puede observar que no se detectó significancia entre las medias de los tratamientos, a pesar de que las placas con aceite de orégano con 0.50 (% v/v) de concentración no presentaron crecimiento alguno. No obstante, los tratamientos T1 (orégano 0.01%) logró una alta inhibición de 8.6×10 UFC/g mientras que el T7 (Neem 0.25%) mostró una inhibición de 1.07×10 . El coeficiente de variación calculado fue de 21.2%..

Tabla 3.

Resultados de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) (μ L/mL)

TRATAMIENTO	ACEITE ESENCIAL	CONCENTRACIÓN (% V/V)	CMI
T1	Orégano	0,01	$8,60 \times 10^1$
T2	Orégano	0,10	$7,67 \times 10^0$
T3	Orégano	0,25	$4,00 \times 10^1$
T4	Orégano	0,50	$0,00 \times 10^0$
T5	Neem	0,01	$1,17 \times 10^1$
T6	Neem	0,10	$3,40 \times 10^1$
T7	Neem	0,25	$1,07 \times 10^1$
T8	Neem	0,50	$2,77 \times 10^1$
T9	Ricino	0,01	$4,67 \times 10^1$
T10	Ricino	0,10	$8,47 \times 10^1$
T11	Ricino	0,25	$4,57 \times 10^1$
T12	Ricino	0,50	$3,73 \times 10^1$
CV (%)			21,2

Carabalí, 2024

El análisis de los tratamientos donde se evaluó el efecto de los aceites esenciales de orégano, neem y ricinos expresados en milímetros (mm) en referencia a los halos o zonas de inhibición se presentan en la Tabla 4. Los datos analizados si mostraron significancia entre los tratamientos siendo los tratamientos con orégano en todas las concentraciones estudiadas los que lograron una mejor respuesta aún a pesar que estadísticamente fueron similares a los demás tratamientos exceptuando al T12 (ricino 0.50%) quien presentó la zona más baja de inhibición (0.33 mm). El CV calculado fue de 34.6%.

Tabla 4.
Resultados sobre la zona inhibitoria (mm)

TRATAMIENTO	ACEITE ESENCIAL	CONCENTRACIÓN (% V/V)	DIÁMETRO DE INHIBICIÓN (mm)
T1	Orégano	0,01	7,07a*
T2	Orégano	0,10	6,13a
T3	Orégano	0,25	6,57a
T4	Orégano	0,50	6,17 ^a
T5	Neem	0,01	2,00ab
T6	Neem	0,10	1,33ab
T7	Neem	0,25	1,67ab
T8	Neem	0,50	3,33ab
T9	Ricino	0,01	1,33ab
T10	Ricino	0,10	1,77ab
T11	Ricino	0,25	2,00ab
T12	Ricino	0,50	0,33b
CV (%)			27,96

*/Letras iguales no difieren estadísticamente

Carabalí, 2024

La evaluación de los aceites esenciales de orégano, neem y ricino a diferentes concentraciones donde se contó en UFC/mL las colonias viables tal como se muestra en la Tabla 5, donde se pudo detectar significancia entre los tratamientos para lo cual se observó que la placa de Petri con aceite de orégano (T4) con 0.50% logró inhibición total al no mostrar crecimiento de colonias mientras que los conteos más altos fueron para T11 (ricino 0.25%) la cual fue de $4,6 \times 10^2$ (4,66E+02). El CV obtenido fue del 13.29%.

Tabla 5.
Resultados de los recuentos de colonias en UFC/mL

TRATAMIENTO	ACEITE ESENCIAL	CONCENTRACIÓN (% V/V)	CONTEO DE COLONIAS VIABLES (UFC/mL)
T1	Orégano	0,01	2,25E+02bcd*
T2	Orégano	0,10	3,40E+01ab
T3	Orégano	0,25	1,02E+02abc
T4	Orégano	0,50	0,00E+00a
T5	Neem	0,01	1,19E+02abc
T6	Neem	0,10	3,46E+02de
T7	Neem	0,25	1,94E+02abcd
T8	Neem	0,50	2,89E+02cde
T9	Ricino	0,01	1,19E+02abc

T10	Ricino	0,10	3,54E+02de
T11	Ricino	0,25	4,66E+02e
T12	Ricino	0,50	1,82E+02abcd
CV (%)			29,81

*/Letras iguales no difieren estadísticamente

Carabalí, 2024

En las Tablas 6 y 7 se exhiben los resultados para las reducciones a las 24 y 48 horas de iniciados los crecimientos con los tratamientos (aceites esenciales) en donde no se detectó significancia entre las medias analizadas siendo estadísticamente similares entre si para ambas observaciones en el tiempo indicado. Los coeficientes de variación obtenidos fueron de 29.3 y 30.9%.

Tabla 6.
Reducción logarítmica a las 24 h (Log UFC/g)

TRATAMIENTO	ACEITE ESENCIAL	CONCENTRACIÓN (% V/V)	MEDIA ORGINAL	REDUCCIÓN LOG 24 H
T1	Orégano	0,01	2,35	$2,20 \times 10^1$
T2	Orégano	0,10	1,53	$2,67 \times 10^0$
T3	Orégano	0,25	2,01	$8,17 \times 10^1$
T4	Orégano	0,50	0,00/ND	$0,00 \times 10^0$
T5	Neem	0,01	2,08	$4,10 \times 10^1$
T6	Neem	0,10	2,54	$1,49 \times 10^2$
T7	Neem	0,25	2,29	$8,00 \times 10^2$
T8	Neem	0,50	2,46	$2,24 \times 10^2$
T9	Ricino	0,01	2,08	$4,36 \times 10^2$
T10	Ricino	0,10	2,55	$3,11 \times 10^2$
T11	Ricino	0,25	2,67	$4,03 \times 10^2$
T12	Ricino	0,50	2,26	$9,00 \times 10^2$
CV (%)				29,3

Carabalí, 2024

Tabla 7.
Reducción logarítmica a las 48 h (Log UFC/g)

TRATAMIENTO	ACEITE ESENCIAL	CONCENTRACIÓN (% V/V)	MEDIA ORIGINAL	REDUCCIÓN LOG 48 H
T1	Orégano	0,01	2,35	$1,13 \times 10^1$
T2	Orégano	0,10	1,53	$2,00 \times 10^0$
T3	Orégano	0,25	2,01	$4,37 \times 10^1$
T4	Orégano	0,50	0,00/ND	$0,00 \times 10^0$
T5	Neem	0,01	2,08	$3,33 \times 10^1$
T6	Neem	0,10	2,54	$1,47 \times 10^2$
T7	Neem	0,25	2,29	$7,71 \times 10^2$
T8	Neem	0,50	2,46	$2,04 \times 10^2$

T9	Ricino	0,01	2,08	$4,11 \times 10^2$
T10	Ricino	0,10	2,55	$2,62 \times 10^2$
T11	Ricino	0,25	2,67	$3,70 \times 10^2$
T12	Ricino	0,50	2,26	$8,38 \times 10^2$
CV (%)				30,9

Carabalí, 2024

5. DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos, evidencian que el aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare L.*) exhibe un fuerte potencial antimicrobiano en las distintas evaluaciones realizadas. Si bien no se detectaron diferencias estadísticas significativas ($p>0.05$) entre los tratamientos para la Concentración Mínima Inhibitoria (CIM), las placas de Petri tratadas con orégano al 0,50% (v/v) no presentaron crecimiento alguno, lo que apunta a un efecto inhibitorio completo. Estos hallazgos concuerdan con estudios recientes que indican que concentraciones superiores al 0,3% de aceite de orégano pueden generar una inhibición sustancial, gracias principalmente a los compuestos fenólicos (carvacrol, timol) que alteran la permeabilidad de la membrana bacteriana (Rueda-Puente et al., 2018).

En cuanto al aceite de neem (*Azadirachta indica*), los resultados reflejan también un notable efecto antimicrobiano, como se aprecia en el tratamiento T7 (neem al 0,50%), que logró una inhibición de $1,07 \times 10$ UFC/g. Investigaciones previas sugieren que la azadiractina y otros limonoides presentes en el neem pueden alterar rutas metabólicas y estructuras de los microorganismos, respaldando su acción bactericida (Ibarra Castillo, 2022).

Los datos con las mediciones de los halos de inhibición (mm), muestran que el orégano mantuvo un desempeño destacado, alcanzando zonas de inhibición más amplias en la mayoría de los tratamientos. Ello se condice con lo expuesto por Valerio et al., (2023) quienes reportan que el carvacrol, principal componente del aceite de orégano, puede desestabilizar la membrana microbiana y provocar la salida de componentes intracelulares, resultando en mayores diámetros de inhibición. En contraste, el tratamiento T12 (ricino 0,50%) exhibió la zona más baja

(0,33 mm), lo que sugiere una efectividad menor de *Ricinus communis* frente a los otros aceites evaluados. Esto podría deberse a diferencias en la composición fitoquímica y mecanismos de acción, ya que, aunque el aceite de ricino contiene ácido ricinoleico con propiedades antimicrobianas, su efecto puede ser más limitado frente a microorganismos específicos (Valerio et al., 2023).

Por otro lado, los recuentos en UFC/mL (Tabla 5) confirmaron la total inhibición del crecimiento bacteriano en el tratamiento con orégano al 0,50% (T4), reafirmando la potencia antimicrobiana de este aceite esencial cuando se emplea en concentraciones relativamente altas (Lesly Grande et al., 2023). El coeficiente de variación (CV) moderado (13,29%) respalda la consistencia de dichos resultados.

Finalmente, la falta de significancia estadística en la reducción de colonias a 24 y 48 horas (Tablas 6 y 7) evidencia que, si bien los aceites esenciales ejercen una acción antimicrobiana, la variabilidad en la eficacia a lo largo del tiempo no difirió lo suficiente entre los tratamientos como para considerarse significativa. Este fenómeno puede atribuirse a la estabilidad de los compuestos bioactivos y/o a la adaptación de las poblaciones bacterianas bajo las condiciones del ensayo (Esther et al., 2017).

Los resultados confirman la importancia de profundizar en estudios que evalúen factores como la sinergia entre distintos aceites, la interacción con matrices alimentarias y las variaciones en la sensibilidad microbiana. Además, la variabilidad de los coeficientes de variación (entre 13 y 34%) sugiere la necesidad de un mayor control experimental y de la estandarización en la preparación de los aceites. Aun así, se puede concluir que el orégano se vislumbra como un excelente candidato para aplicaciones antimicrobianas, seguido del neem, mientras que el ricino

presenta una actividad más limitada bajo las condiciones específicas de este estudio.

6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

6.1 Conclusiones

- El aceite esencial de orégano requiere menores concentraciones para inhibir el crecimiento de *E. coli* en queso fresco, en comparación con los aceites de neem y ricino.
- El tratamiento con aceite de orégano disminuye significativamente la viabilidad de *E. coli*, reduciendo su actividad metabólica y, por ende, su capacidad de proliferación en el queso fresco.
- La actividad del aceite de orégano sugiere que podría ser una alternativa natural viable para el control de *E. coli* en productos lácteos. Estudios previos han mostrado que ciertos aceites esenciales pueden compararse favorablemente con antibióticos en términos de actividad antimicrobiana

6.2 Recomendaciones

- Se recomienda considerar el uso de aceite esencial de orégano como conservante natural en la producción de queso fresco, debido a su eficacia antimicrobiana contra *E. coli*.
- Es importante evaluar el impacto organoléptico del aceite de orégano en el producto final para asegurar la aceptación del consumidor.
- Se sugiere realizar estudios comparativos con antibióticos convencionales y explorar combinaciones de aceites esenciales para determinar posibles efectos sinérgicos en la inhibición de patógenos.

7. BIBLIOGRAFÍA

- Agreles, M. A. A., Cavalcanti, I. D. L., & Cavalcanti, I. M. F. (2021). The Role of Essential Oils in the Inhibition of Efflux Pumps and Reversion of Bacterial Resistance to Antimicrobials. *Current Microbiology*, 78(10), 3609–3619. <https://doi.org/10.1007/s00284-021-02635-1>
- Aguilera-Becerra, A. M., Urbano-Cáceres, E. X., & Jaimes-Bernal, C. P. (2014). Bacterias patógenas en leche cruda: problema de salud pública e inocuidad alimentaria. *Ciencia y Agricultura*, 11(2), 83–93. <https://doi.org/10.19053/01228420.3860>
- Bermúdez-Vásquez, M. J., Granados-Chinchilla, F., & Molina, A. (2019). Composición química y actividad antimicrobiana del aceite esencial de Psidium guajava y Cymbopogon citratus. *Agronomía Mesoamericana*, 30(1), 147–163. <https://doi.org/10.15517/am.v30i1.33758>
- Cáceres, M. (2019). Formación de biofilms por cepas Escherichia coliverocitoxigénica(VTEC) y Escherichia colienteropatogénica (EPEC) sobre distintas superficies, sometidas a distintas condiciones de estrés. In *Tesis Doctoral: Vol. I.* <https://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/84043>
- Chica Tinoco Verónica María. (2018). *Efecto Antibacteriano Del Extracto De Hojas De Neem Sobre Cepas De Streptococcus Mutans. Estudio in Vitro. Figura 1*, 98. <https://www.dspace.uce.edu.ec/entities/publication/129bd073-617b-474c-855f-92f2be100e8d>
- Collaguazo Enriquez, E. (2019). Actividad antibacteriana del aceite esencial de Hedyosmum sp. del bosque natural Jacarón, Provincia de Chimborazo. Octubre 2018 - febrero 2019 [UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO FACULTAD]. In *Tesis de pre grado.*

- <http://dspace.unach.edu.ec/handle/51000/5533>
- Escobedo-Coral, J. V., Guerrero-Dejoy, A. S., & Villota-Paz, J. M. (2023). Desarrollo de un desinfectante a partir de aceites esenciales de Orégano de monte y Romero. *Revista Politécnica*, 19(38), 199–211.
- <https://doi.org/10.33571/rpolitec.v19n38a13>
- Esther, M., Alarcón, T., Pájaro, N. P., & Méndez, G. L. (2017). esenciales de diferentes especies del género Citrus Resumen Antibacterial activity in vitro of essential oils Introducción. *Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm*, 46(2), 160–175.
- http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0034-74182017000200160&script=sci_arttext
- Gómez, E., & Bethsua, E. (2014). Extracción de compuestos bioactivos a partir de fuentes naturales. *Ciencias de La Ingeniería y Tecnología*, 4(1), 45–50.
- https://www.academia.edu/download/101859167/ARTICULO_206.pdf
- Ibarra Castillo, C. (2022). Estudio documental de la actividad antimicrobiana de aceites esenciales y extractos de origen natural frente a bacterias multirresistentes. In *Tesis de pregrado* (Issue 8.5.2017). Universidad de Talca.
- INEN. (2012). INEN 2667 MICROBIOLOGÍA. DETERMINACIÓN E IDENTIFICACIÓN DE Escherichia coli O157 EN ALIMENTOS DE CONSUMO HUMANO Y ANIMAL. In *Instituto Nacional Ecuatoriano de Normalización*.
- <https://www.fao.org/faolex/results/details/fr/c/LEX-FAOC123360/>
- Labrada-Hechavarría, Y., Cordoví-Velázquez, J. M., Ledea-Rodríguez, J. L., Rapado-Paneque, M., & Rosabal-Cordoví, Ú. M. (2018). Caracterización física y química de aceite esencial de Azadirachta indica A Juss expuesto a radiación gamma. *Rev. Cubana Quím*, 30(3), 2224–5421.
- <http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S2224->

54212018000300006&script=sci_arttext

- Leghari, F., Kamboh, A. A., Leghari, R. A., Korejo, N. A., & Malhi, K. K. (2021). Antimicrobial potential of tea tree, clove, basil and thyme essential oils against bacterial isolates of bovine wounds. *Journal of Animal and Plant Sciences*, 31(5), 1270–1276. <https://doi.org/10.36899/JAPS.2021.5.0327>
- Lesly Grande, V., Rosa González, V., Juan Lucas, L., Andrea Carhuallanqui, P., José Guevara, F., & Daphne Ramos, D. (2023). Efecto antimicrobiano del aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*) frente a *Staphylococcus aureus* en carne de pollo. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Peru*, 34(1), 1–10. <https://doi.org/10.15381/RIVEP.V34I1.24598>
- López-Mata, M. A., Valbuena-Gregorio, E., Quihui-Cota, L., Morales-Figueroa, G., Ruiz-Cruz, S., Campos-García, J. C., Díaz-Meza, E., & Pablos-Rodríguez, D. E. (2017). Effect of microemulsions of essential oils on human erythrocyte and pathogens bacteria. *Revista Mexicana de Ingenieria Biomedica*, 38(1), 247–254. <https://doi.org/10.17488/RMIB.38.1.19>
- López-Pantoja, Y., Angulo-Escalante, M., Martínez-Rodríguez, C., Soto-Beltrán, J., & Chaidez-Quiroz, C. (2007). Efecto antimicrobiano de extractos crudos de neem (*Azadirachta indica* A. Juss) y venadillo (*Swietenia humilis* Zucc) contra *E. coli*, *S. aureus* y el bacteriófago P22. (Spanish). *Bioquímia*, 32(4), 117–125. <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=14314>
- Lopez, E. (2018). Efecto antimicrobiano in vitro del aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*) sobre cepas certificadas de *Escherichia coli* Y *Staphylococcus aureus* [UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO]. In *Tesis de pregrado*. <https://repositorio.uta.edu.ec/handle/123456789/27546>
- Mercedes Campo Fernández, Daysi Lorena Ambuludí Fárez, Nelly Cecilia Cepeda

- Roblez, Ingrid Márquez Hernández, Diana San Martín Galván, O. C. R. (2019). Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* Griseb contra el *Staphylococcus aureus*. *Revista Cubana de Farmacia*, 19(5), 1–23. <https://revfarmacia.sld.cu/index.php/far/article/view/183/175>
- Montero-Recalde, M., Morocho-Núñez, M. J., Avilés-Esquivel, D., Carrasco-Cando, Á., & Erazo-Gutierrez, R. (2019). Eficacia antimicrobiana del aceite esencial de eucalipto (*Eucalyptus spp*) sobre cepas de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus*. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Peru*, 30(2), 932–938. <https://doi.org/10.15381/rivep.v30i2.16099>
- Montesdeoca Tamay Jennyfer Alexandra, Ramirez Infante Alexandra Elizabeth, T. S. S. M. (2024). Determinación de Coliformes spp y *Escherichia coli* en quesos frescos del mercado 9 de Octubre , Cuenca. *TESLA Revista Científica*, 4(1), 1–9. <https://doi.org/https://doi.org/10.55204/trc.v4i1.e294>
- Ocampo Cachay, N. (2019). Obtención de un película antimicrobiana biodegradable a partir de suero de leche y aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*), para envasado de queso fresco [UNIVERSIDAD NACIONAL TORIBIO RODRÍGUEZ DE MENDOZA DE AMAZONAS]. In *Tesis de pregrado*. http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S2224-54212018000300006&script=sci_arttext
- Orellana-Suarez, K., & Salcedo-Burgos, E. A. (2023). Enfermedades transmitidas por alimentos: factores sociodemográficos y de riesgo. *MQRInvestigar*, 7(3), 1440–1457. <https://doi.org/10.56048/mqr20225.7.3.2023.1440-1457>
- Rang, H. P. ; M. M. D. J. M. R. P. K. . (2020). *Farmacología* (Elsevier Limited (ed.); 7a.). <https://www.edicionesjournal.com/E->

book/9788491136446/Rang+y+Dale++Farmacología

Rueda-Puente, E. O., Jaime, R., & Peña, H. (2018). Evaluación de la actividad antibacteriana in vitro de aceites esenciales de orégano y tomillo contra *Ralstonia solanacearum* Resumen Introducción. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 20, 4251–4261.

http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-09342018000804251

Ruiz, M. J. (2019). Aislamiento e identificación de bacterias ácido lácticas con actividad inhibitoria de bacterias implicadas en enfermedades transmitidas por alimentos. In *Tesis doctoral*.

<https://www.ridaa.unicen.edu.ar/handle/123456789/2096>

Secretaría Nacional de Planificación. (2024). Plan de Desarrollo para el Nuevo Ecuador 2024-2025. In *Gráficas Imago*.

<https://www.planificacion.gob.ec/wp-content/uploads/2024/02/PND2024-2025.pdf>

Sirisha, K. B., & Sujatha, K. (2019). Anti-cancer and Anti-oxidant activity of essential oils of *Rosmarinus officinalis*, *Azadirachta indica*, *Syzygium aromaticum* and *Cymbopogon nardus*. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 8(3), 4493–4498. <https://www.phytojournal.com/archives/2019.v8.i3.8743/anti-cancer-and-anti-oxidant-activity-of-essential-oils-of-Itemgtrosmarinus-officinalisItemgt-Itemgtazadirachta-indicalItemgt-Itemgtsyzygium-aromaticum-Itemgtand-Itemgtcymbopogon-nardus-Itemgt>

Valerio, F., Herrera Cano, A. N., Majul, L., Borrelli, N. P., Rivera, M. C., & Suárez, M. E. (2023). Efecto inhibitorio in vitro de extractos de hojas de ricino (*Ricinus communis*) sobre el crecimiento de *Alternaria tenuissima*. *Revista de La*

- Facultad de Agronomía, 121(2), 116.* <https://doi.org/10.24215/16699513e116>
- Vinderola, G., & Rivas, M. (2020). Hemolytic uremic syndrome and yoghurt: Popular belief and scientific evidence. *Revista Chilena de Nutricion, 47(1)*, 148–152.
<https://doi.org/10.4067/S0717-75182020000100148>
- Wong-Paz, J. E., Aguilar-Zárate, P., Veana, F., & Muñiz-Márquez, D. B. (2020). Impacto de las tecnologías de extracción verdes para la obtención de compuestos bioactivos de los residuos de frutos cítricos. *TIP Revista Especializada En Ciencias Químico-Biológicas, 23,* 1–11.
<https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2020.0.255>

ANEXOS

Anexo 1. ANAVA de la Concentración Mínima Inhibitoria

CMI					
Variable	N	R ²	R ²	Aj	CV
CMI	36	0,31	0,00	93,30	

CMI

Variable	N	R ²	R ²	Aj	CV
CMI	36	0,31	0,00	93,30	

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	18374,31	11	1670,39	0,99	0,4858
tipo de Aceite esencial	7620,06	2	3810,03	2,25	0,1275
Concentración (% v/v)	709,42	3	236,47	0,14	0,9354
tipo de Aceite esencial*Co..	10044,83	6	1674,14	0,99	0,4558
Error	40698,00	24	1695,75		
Total	59072,31	35			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=41,98303

Error: 1695,7500 gl: 24

tipo de Aceite esencial	Medias	n	E.E.
Ricino	57,17	12	11,89 A
Orégano	51,42	12	11,89 A
Neem	23,83	12	11,89 A

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

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=53,55065

Error: 1695,7500 gl: 24

Concentración (% v/v)	Medias	n	E.E.
0,01	50,33	9	13,73 A
0,25	45,00	9	13,73 A
0,10	43,33	9	13,73 A
0,50	37,89	9	13,73 A

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

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=121,23174

Error: 1695,7500 gl: 24

tipo de Aceite esencial	Concentración (% v/v)	Medias	n	E.E.
Orégano	0,01	86,00	3	23,77 A
Ricino	0,10	80,00	3	23,77 A
Orégano	0,25	65,67	3	23,77 A
Ricino	0,01	50,00	3	23,77 A
Ricino	0,25	49,67	3	23,77 A
Ricino	0,50	49,00	3	23,77 A
Orégano	0,50	34,67	3	23,77 A
Neem	0,10	30,67	3	23,77 A
Neem	0,50	30,00	3	23,77 A
Neem	0,25	19,67	3	23,77 A
Orégano	0,10	19,33	3	23,77 A
Neem	0,01	15,00	3	23,77 A

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

CMI TRANSFORMADO

Variable	N	R ²	R ²	Aj	CV
CMI TRA	36	0,43	0,17	19,51	

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1,57	11	0,14	1,64	0,1514
tipo de Aceite esencial	0,57	2	0,28	3,24	0,0567
Concentración (% v/v)	0,07	3	0,02	0,28	0,8422
tipo de Aceite esencial*Co..	0,93	6	0,16	1,78	0,1457
Error	2,10	24	0,09		
Total	3,67	35			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,30152

Error: 0,0875 gl: 24

tipo de Aceite esencial	Medias	n	E.E.
Ricino	1,65	12	0,09 A
Orégano	1,56	12	0,09 A
Neem	1,35	12	0,09 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,38460**

Error: 0,0875 gl: 24

Concentración (% v/v)	Medias	n	E.E.
0,25	1,56	9	0,10 A
0,10	1,55	9	0,10 A
0,50	1,51	9	0,10 A
0,01	1,44	9	0,10 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,87069**

Error: 0,0875 gl: 24

tipo de Aceite esencial	Concentración (% v/v)	Medias	n	E.E.
Ricino	0,10	1,90	3	0,17 A
Orégano	0,25	1,74	3	0,17 A
Orégano	0,01	1,70	3	0,17 A
Ricino	0,25	1,69	3	0,17 A
Orégano	0,50	1,54	3	0,17 A
Ricino	0,50	1,52	3	0,17 A
Neem	0,10	1,49	3	0,17 A
Neem	0,50	1,47	3	0,17 A
Ricino	0,01	1,47	3	0,17 A
Neem	0,25	1,26	3	0,17 A
Orégano	0,10	1,25	3	0,17 A
Neem	0,01	1,17	3	0,17 A

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

Anexo 2. ANAVA de los resultados de conteo de colonias viables

Recuento de colonias (UFC/g)

Variable	N	R ²	R ²	Aj	CV
Recuento de colonias (UFC/..	36	0,76	0,65	29,81	

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	367621,67	11	33420,15	6,92	<0,0001
tipo de Aceite esencial	51963,50	2	25981,75	5,38	0,0118
Concentración (% v/v)	90157,67	3	30052,56	6,22	0,0028
tipo de Aceite esencial*Co..	225500,50	6	37583,42	7,78	0,0001
Error	115943,33	24	4830,97		
Total	483565,00	35			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=70,86146

Error: 4830,9722 gl: 24

tipo de Aceite esencial Medias n E.E.

Ricino	275,75	12	20,06	A
Neem	240,25	12	20,06	A B
Orégano	183,50	12	20,06	B

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

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=90,38599

Error: 4830,9722 gl: 24

Concentración (% v/v) Medias n E.E.

0,10	279,89	9	23,17	A
0,25	275,67	9	23,17	A
0,50	220,56	9	23,17	A B
0,01	156,56	9	23,17	B

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

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=204,62218

Error: 4830,9722 gl: 24

tipo de Aceite esencial Concentración (% v/v) Medias n E.E.

Ricino	0,25		461,67	3	40,13	A
Ricino	0,10		346,00	3	40,13	A B
Neem	0,10		341,33	3	40,13	A B
Neem	0,50		286,33	3	40,13	A B C
Orégano	0,01		232,33	3	40,13	B C
Neem	0,25		202,00	3	40,13	B C
Ricino	0,50		189,33	3	40,13	B C
Orégano	0,50		186,00	3	40,13	B C
Orégano	0,25		163,33	3	40,13	B C
Orégano	0,10		152,33	3	40,13	B C
Neem	0,01		131,33	3	40,13	C
Ricino	0,01		106,00	3	40,13	C

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

Anexo 3. ANAVA de los resultados del diámetro de inhibición

DIAMETRO DE INHIBICIÓN						
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV		
DIAMETRO DE INHIBICIÓN	36	0,71	0,58	27,96		

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	95,00	11	8,64	5,45	0,0003
tipo de Aceite esencial	80,17	2	40,08	25,32	<0,0001
Concentración (% v/v)	9,89	3	3,30	2,08	0,1292
tipo de Aceite esencial*Co..	4,94	6	0,82	0,52	0,7870
Error	38,00	24	1,58		
Total	133,00	35			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=1,28286

Error: 1,5833 gl: 24

tipo de Aceite esencial	Medias	n	E.E.
Orégano	6,58	12	0,36 A
Ricino	3,75	12	0,36 B
Neem	3,17	12	0,36 B

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

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=1,63633

Error: 1,5833 gl: 24

Concentración (% v/v)	Medias	n	E.E.
0,01	5,33	9	0,42 A
0,25	4,56	9	0,42 A
0,50	4,11	9	0,42 A
0,10	4,00	9	0,42 A

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

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=3,70443

Error: 1,5833 gl: 24

tipo de Aceite esencial	Concentración (% v/v)	Medias	n	E.E.
Orégano	0,01	7,00	3	0,73 A
Orégano	0,25	6,67	3	0,73 A B
Orégano	0,10	6,33	3	0,73 A B C
Orégano	0,50	6,33	3	0,73 A B C
Neem	0,01	4,67	3	0,73 A B C D
Ricino	0,25	4,33	3	0,73 A B C D
Ricino	0,01	4,33	3	0,73 A B C D
Ricino	0,10	3,33	3	0,73 A B C D
Ricino	0,50	3,00	3	0,73 B C D
Neem	0,50	3,00	3	0,73 B C D
Neem	0,25	2,67	3	0,73 C D
Neem	0,10	2,33	3	0,73 D

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

Anexo 4. ANAVA de los resultados de la reducción logarítmica a las 24 y 48 horas

Log red 24h						
Variable	N	R ²	R ²	Aj	CV	
Log red 24h	36	0,25	0,09	183,52		

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2776334,08	11	252394,01	0,72	0,7069
tipo de Aceite esencial	916465,50	2	458232,75	1,31	0,2880
Concentración (% v/v)	652156,75	3	217385,58	0,62	0,6075
tipo de Aceite esencial*Co..	1207711,83	6	201285,31	0,58	0,7455
Error	8385234,67	24	349384,78		
Total	11161568,75	35			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=602,62180

Error: 349384,7778 gl: 24

	tipo de Aceite esencial	Medias	n	E.E.
Ricino	530,08	12	170,63	A
Neem	293,83	12	170,63	A
Orégano	142,33	12	170,63	A

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

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=768,66277

Error: 349384,7778 gl: 24

	Concentración (% v/v)	Medias	n	E.E.
0,25	476,67	9	197,03	A
0,50	435,00	9	197,03	A
0,10	192,67	9	197,03	A
0,01	184,00	9	197,03	A

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

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=1740,15298

Error: 349384,7778 gl: 24

	tipo de Aceite esencial	Concentración (% v/v)	Medias	n	E.E.
Ricino	0,50		894,00	3	341,26 A
Neem	0,25		845,33	3	341,26 A
Ricino	0,01		455,00	3	341,26 A
Ricino	0,25		443,67	3	341,26 A
Ricino	0,10		327,67	3	341,26 A
Orégano	0,50		250,00	3	341,26 A
Neem	0,50		161,00	3	341,26 A
Orégano	0,10		142,33	3	341,26 A
Orégano	0,25		141,00	3	341,26 A
Neem	0,10		108,00	3	341,26 A
Neem	0,01		61,00	3	341,26 A
Orégano	0,01		36,00	3	341,26 A

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

LOG 24 TRANSFORMADO

Variable	N	R ²	R ²	Aj	CV
LOG 24 TRA	36	0,38	0,09	27,60	

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	5,09	11	0,46	1,33	0,2689
tipo de Aceite esencial	2,59	2	1,29	3,71	0,0394
Concentración (% v/v)	1,56	3	0,52	1,49	0,2427
tipo de Aceite esencial*Co..	0,95	6	0,16	0,45	0,8353
Error	8,36	24	0,35		
Total	13,45	35			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,60183

Error: 0,3485 gl: 24

tipo de Aceite esencial Medias n E.E.

Ricino	2,51	12	0,17	A
Neem	2,01	12	0,17	A B
Orégano	1,90	12	0,17	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,76766**

Error: 0,3485 gl: 24

Concentración (% v/v) Medias n E.E.

0,50	2,36	9	0,20	A
0,25	2,30	9	0,20	A
0,10	2,05	9	0,20	A
0,01	1,84	9	0,20	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=1,73787**

Error: 0,3485 gl: 24

tipo de Aceite esencial Concentración (% v/v) Medias n E.E.

Ricino	0,25		2,65	3	0,34	A
Ricino	0,50		2,49	3	0,34	A
Ricino	0,10		2,46	3	0,34	A
Ricino	0,01		2,44	3	0,34	A
Orégano	0,50		2,41	3	0,34	A
Neem	0,25		2,32	3	0,34	A
Neem	0,50		2,19	3	0,34	A
Orégano	0,25		1,93	3	0,34	A
Orégano	0,10		1,90	3	0,34	A
Neem	0,10		1,81	3	0,34	A
Neem	0,01		1,72	3	0,34	A
Orégano	0,01		1,36	3	0,34	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)**Log reducción a 48h**

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Log reducción a 48h	36	0,25	0,00	181,70

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2388436,22	11	217130,57	0,72	0,7103
tipo de Aceite esencial	628153,56	2	314076,78	1,04	0,3691
Concentración (% v/v)	585901,56	3	195300,52	0,65	0,5929
tipo de Aceite esencial*Co..	1174381,11	6	195730,19	0,65	0,6915
Error	7253112,67	24	302213,03		
Total	9641548,89	35			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=560,46622

Error: 302213,0278 gl: 24

tipo de Aceite esencial	Medias	n	E.E.
Ricino	473,83	12	158,70 A
Neem	281,50	12	158,70 A
Orégano	152,33	12	158,70 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=714,89202**

Error: 302213,0278 gl: 24

Concentración (% v/v)	Medias	n	E.E.
0,50	440,22	9	183,25 A
0,25	418,22	9	183,25 A
0,01	194,33	9	183,25 A
0,10	157,44	9	183,25 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=1618,42296**

Error: 302213,0278 gl: 24

tipo de Aceite esencial	Concentración (% v/v)	Medias	n	E.E.
Ricino	0,50	905,00	3	317,39 A
Neem	0,25	745,00	3	317,39 A
Ricino	0,01	411,67	3	317,39 A
Ricino	0,25	387,67	3	317,39 A
Orégano	0,50	269,33	3	317,39 A
Ricino	0,10	191,00	3	317,39 A
Orégano	0,10	153,67	3	317,39 A
Neem	0,50	146,33	3	317,39 A
Neem	0,10	127,67	3	317,39 A
Orégano	0,25	122,00	3	317,39 A
Neem	0,01	107,00	3	317,39 A
Orégano	0,01	64,33	3	317,39 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)**LOG 48 TRANSFORMADO**

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
LOG 48 TRA	36	0,24	0,00	26,84

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2,59	11	0,24	0,71	0,7218
tipo de Aceite esencial	1,30	2	0,65	1,95	0,1642
Concentración (% v/v)	0,68	3	0,23	0,68	0,5709
tipo de Aceite esencial*Co..	0,60	6	0,10	0,30	0,9300
Error	8,01	24	0,33		
Total	10,60	35			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,58905

Error: 0,3338 gl: 24

tipo de Aceite esencial	Medias	n	E.E.
Ricino	2,42	12	0,17 A
Orégano	2,05	12	0,17 A
Neem	1,99	12	0,17 A

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

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,75135

Error: 0,3338 gl: 24

Concentración (% v/v)	Medias	n	E.E.
0,50	2,39	9	0,19 A
0,25	2,09	9	0,19 A
0,10	2,09	9	0,19 A
0,01	2,04	9	0,19 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=1,70097**

Error: 0,3338 gl: 24

tipo de Aceite esencial	Concentración (% v/v)	Medias	n	E.E.
Ricino	0,50	2,61	3	0,33 A
Ricino	0,25	2,59	3	0,33 A
Orégano	0,50	2,45	3	0,33 A
Ricino	0,01	2,31	3	0,33 A
Ricino	0,10	2,17	3	0,33 A
Neem	0,50	2,11	3	0,33 A
Orégano	0,10	2,10	3	0,33 A
Neem	0,10	2,01	3	0,33 A
Neem	0,01	1,97	3	0,33 A
Neem	0,25	1,87	3	0,33 A
Orégano	0,01	1,83	3	0,33 A
Orégano	0,25	1,82	3	0,33 A

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

Tabla 8. Base de datos de resultados de Concentración Mínima Inhibitoria CMI originales y datos transformados y Recuento de colonias (UFC/g)

Tratamiento	tipo de Aceite esencial	Concentración (% v/v)	Repetición	CMI	CMI TRA/*	Recuento de colonias (UFC/g)
T1	Orégano	0,01	1	209	2,32	187
T1	Orégano	0,01	2	28	1,45	235
T1	Orégano	0,01	3	21	1,32	275
T2	Orégano	0,1	1	28	1,45	191
T2	Orégano	0,1	2	20	1,30	80
T2	Orégano	0,1	3	10	1,00	186
T3	Orégano	0,25	1	125	2,10	122
T3	Orégano	0,25	2	37	1,57	189
T3	Orégano	0,25	3	35	1,54	179
T4	Orégano	0,5	1	32	1,51	186
T4	Orégano	0,5	2	36	1,56	194
T4	Orégano	0,5	3	36	1,56	178
T5	Neem	0,01	1	16	1,20	147
T5	Neem	0,01	2	11	1,04	111
T5	Neem	0,01	3	18	1,26	136
T6	Neem	0,1	1	33	1,52	374
T6	Neem	0,1	2	29	1,46	320
T6	Neem	0,1	3	30	1,48	330
T7	Neem	0,25	1	16	1,20	186
T7	Neem	0,25	2	31	1,49	272
T7	Neem	0,25	3	12	1,08	148
T8	Neem	0,5	1	24	1,38	272
T8	Neem	0,5	2	34	1,53	253
T8	Neem	0,5	3	32	1,51	334

T9	Ricino	0,01	1	121	2,08	112
T9	Ricino	0,01	2	15	1,18	92
T9	Ricino	0,01	3	14	1,15	114
T10	Ricino	0,1	1	90	1,95	237
T10	Ricino	0,1	2	72	1,86	228
T10	Ricino	0,1	3	78	1,89	573
T11	Ricino	0,25	1	44	1,64	450
T11	Ricino	0,25	2	58	1,76	447
T11	Ricino	0,25	3	47	1,67	488
T12	Ricino	0,5	1	101	2,00	182
T12	Ricino	0,5	2	10	1,00	127
T12	Ricino	0,5	3	36	1,56	259

/*Datos transformados (Log10)

Tabla 9. Base de datos de resultados de Diámetro de Inhibición (mm), Log reducción a 24 horas, datos transformados, Log reducción a 48 horas y datos transformados (Log UFC/g)

Tratamiento	tipo de Aceite esencial	Concentración (% v/v)	Repetición	DIAMETRO DE INHIBICIÓN	Log reducción a 24h	LOG 24 TRA/*	Log reducción a 48h	LOG 48 TRA/*
T1	Orégano	0,01	1	9	108	2,07	52	1,79
T1	Orégano	0,01	2	5	0	1,00	107	2,07
T1	Orégano	0,01	3	7	0	1,00	34	1,64
T2	Orégano	0,1	1	6	187	2,29	227	2,37
T2	Orégano	0,1	2	6	0	1,00	29	1,59
T2	Orégano	0,1	3	7	240	2,40	205	2,33
T3	Orégano	0,25	1	6	3	1,11	0	1,00
T3	Orégano	0,25	2	6	248	2,41	277	2,46
T3	Orégano	0,25	3	8	172	2,26	89	2,00
T4	Orégano	0,5	1	7	181	2,28	298	2,49
T4	Orégano	0,5	2	7	293	2,48	240	2,40
T4	Orégano	0,5	3	5	276	2,46	270	2,45
T5	Neem	0,01	1	6	4	1,15	38	1,68
T5	Neem	0,01	2	4	87	1,99	223	2,37
T5	Neem	0,01	3	4	92	2,01	60	1,85
T6	Neem	0,1	1	3	105	2,06	57	1,83
T6	Neem	0,1	2	3	0	1,00	45	1,74
T6	Neem	0,1	3	1	219	2,36	281	2,46
T7	Neem	0,25	1	2	45	1,74	8	1,26
T7	Neem	0,25	2	3	2434	3,39	2227	3,35
T7	Neem	0,25	3	3	57	1,83	0	1,00
T8	Neem	0,5	1	2	255	2,42	205	2,33

T8	Neem	0,5	2	5	75	1,93	39	1,69
T8	Neem	0,5	3	2	153	2,21	195	2,31
T9	Ricino	0,01	1	4	1088	3,04	1033	3,02
T9	Ricino	0,01	2	4	87	1,99	35	1,65
T9	Ricino	0,01	3	5	190	2,30	167	2,25
T10	Ricino	0,1	1	3	230	2,38	76	1,93
T10	Ricino	0,1	2	4	155	2,22	80	1,95
T10	Ricino	0,1	3	3	598	2,78	417	2,63
T11	Ricino	0,25	1	3	400	2,61	313	2,51
T11	Ricino	0,25	2	6	508	2,71	367	2,58
T11	Ricino	0,25	3	4	423	2,64	483	2,69
T12	Ricino	0,5	1	1	129	2,14	281	2,46
T12	Ricino	0,5	2	4	78	1,94	87	1,99
T12	Ricino	0,5	3	4	2475	3,40	2347	3,37

/*Datos transformados Log10(n+10)



Figura 1. La autora está esterilizando los utensilios y recipientes.



Figura 2. La autora está realizando la medición y preparación de los medios de cultivos



Figura 3. Imágenes de los aceites esenciales de neem, ricino y orégano.



Figura 4. Soluciones de cultivo principales inoculadas con la cepa de *E. coli* y las muestras de queso



Figura 5. La autora preparando los materiales para sembrar en el ensayo



Figura 6. Realizando la inoculación a partir de una placa con colonias de *E. coli* en placas de Petri con Mc Conkey Agar



Figura 7. Realizando la inoculación a partir de una placa con colonias de E. coli en placas de Petri con Mc Conkey Agar



Figura 8. La autora realiza la medición del halo de inhibición presente en la placa de cultivo, utilizando el calibrador milimétrico.

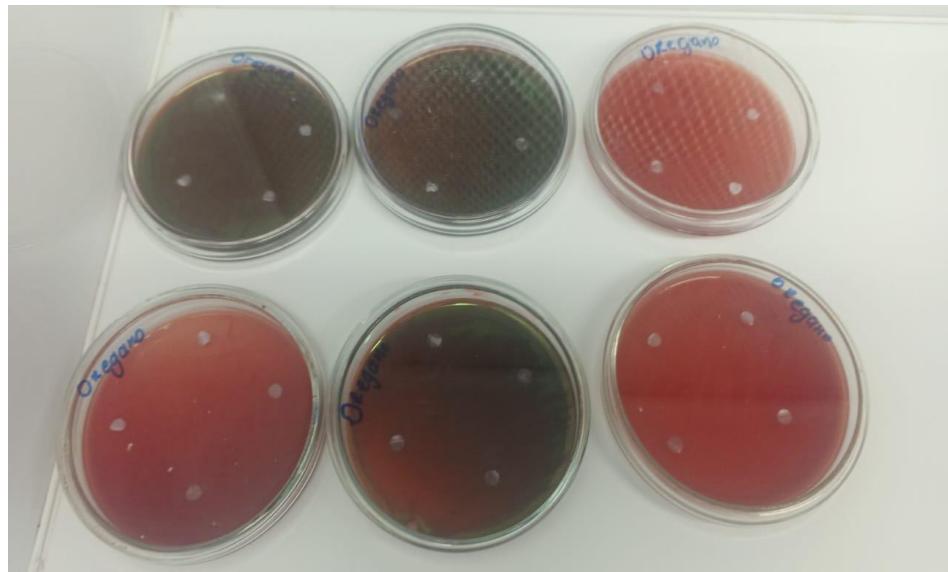


Figura 9. Cajas de Petri con medio Mc Conkey con los discos impregnados de aceites esenciales

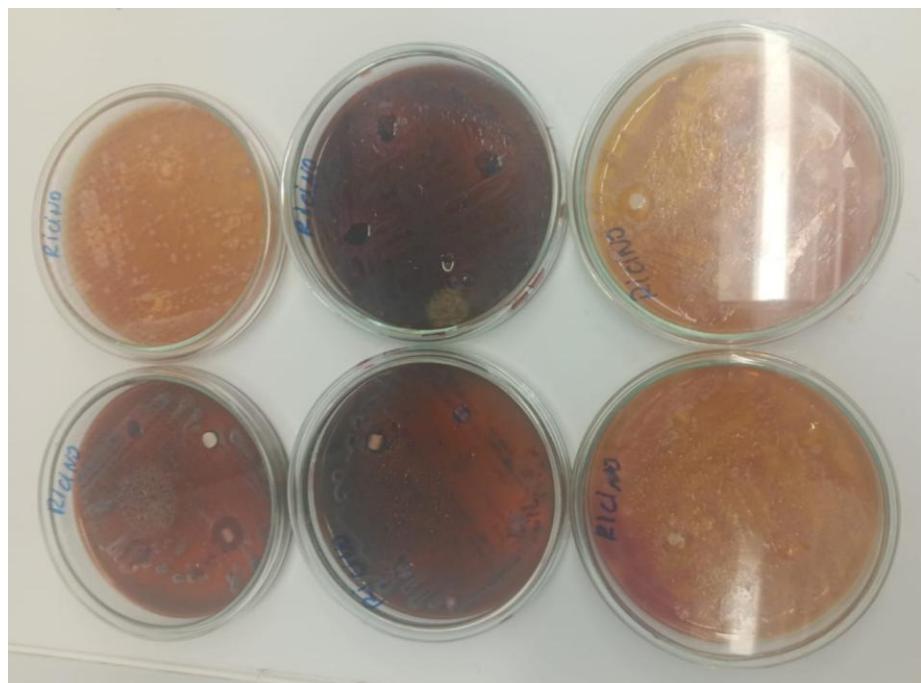


Figura 10. Cajas de Petri con las siembras y realizando el control bacteriano