



**UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
"DR. JACOBO BUCARAM ORTIZ"
CARRERA AGROINDUSTRIA**

**TRABAJO DE TITULACIÓN COMO REQUISITO PREVIO PARA LA
OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE
INGENIERO AGROINDUSTRIAL**

**“EVALUACIÓN DE EXTRACTO DE HOJAS DE TÉ VERDE
(*Camellia sinensis*) Y ACEITE ESENCIAL DE ROMERO
(*Rosmarinus officinalis* L) COMO DESINFECTANTE EN
SUPERFICIES INERTES”**

**AUTOR
DELGADO DUCHE DIOSTEDE SAMUEL**

**TUTORA
BLGA. SHIRLEY MONCAYO BAÑO, Ph.D.**

**GUAYAQUIL, ECUADOR
2025**



**UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
"DR. JACOBO BUCARAM ORTIZ"
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 EXTRACTO DE HOJAS DE TÉ VERDE (*Camellia sinensis*) Y ACEITE ESENCIAL DE ROMERO (*Rosmarinus officinalis* L) COMO DESINFECTANTE EN SUPERFICIES INERTES**, realizado por el estudiante **DELGADO DUCHE DIOSTEDE SAMUEL**; con cédula de identidad **N° 0953236098** de la carrera AGROINDUSTRIA, Unidad Académica Dr. Jacobo Bucaram Ortiz - Guayaquil, 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,

Blga. Shirley Moncayo Baño, Ph.D.

Guayaquil, 25 de noviembre del 2024



UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
“DR. JACOBO BUCARAM ORTIZ”
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 EXTRACTO DE HOJAS DE TÉ VERDE (*Camellia sinensis*) Y ACEITE ESENCIAL DE ROMERO (*Rosmarinus officinalis* L) COMO DESINFECTANTE EN SUPERFICIES INERTES”, realizado por el estudiante **DELGADO DUCHE DIOSTEDE SAMUEL**, el mismo que cumple con los requisitos exigidos por la Universidad Agraria del Ecuador.

Atentamente,

Ing. Luis Calle Mendoza Msc.
PRESIDENTE

Ing. Daniel Borbor Suarez. Msc
EXAMINADOR PRINCIPAL

Ec. Alex Ibarra Velasquez. Msc
EXAMINADOR PRINCIPAL

Blga. Shirley Moncayo Baño. PhD
EXAMINADOR SUPLENTE

Guayaquil, 23 de septiembre del 2025

DEDICATORIA

Toda gran travesía inicia con el miedo a lo desconocido, pero en el transcurso del camino admiramos y aprendemos en el proceso.

Con especial cariño, le dedico el presente trabajo de investigación a mis padres: Franklin y Graciela por haberme apoyado día tras día a lo largo de estos años de carrera, quienes son la luz de mi vida y sin los cuales no hubiera avanzado tan lejos, a mis hermanos por quienes cada día trato de ser el mejor ejemplo de constancia y disciplina. A mis compañeros de vida, cuyos nombres pertenecen a aquellas amistades que han brindado una palabra de apoyo y una mano amiga que hacen de mi día a día algo muy hermoso.

A mis tíos, Bryan, Juan, Enrique y Gabriela, porque sin su apoyo durante el proceso de elaboración de la tesis y consejo nohabría culminado con éxito esta ingeniería.

AGRADECIMIENTO

Con aprecio a la Dra. Shirley Moncayo mi más sincero agradecimiento por su orientación y templanza durante este largo camino, por aceptar ser mi guía en un tiempo completamente ajetreado.

A mí querida Ing. Grace Medina e Ing. Elian Ortega quien con mano amiga me ayudo en los momentos cuando pensé que todo estaba perdido, muchísimas gracias.

No podría olvidar a mis amigos Danny, Isabel, Mabel, Mayckol, Clarita, Solange, Yamel, Benjamín, y sobre todo a mi amada Sara, quienes gracias a su compañía hicieron de esta aventura algo inolvidable, gracias.

Autorización de Autoría Intelectual

Yo DIOSSTEDE SAMUEL DELGADO DUCHE, en calidad de autor(a) del proyecto realizado, sobre “EVALUACIÓN DE EXTRACTO DE HOJAS DE TÉ VERDE (*Camellia sinensis*) Y ACEITE ESENCIAL DE ROMERO (*Rosmarinus officinalis* L) COMO DESINFECTANTE EN SUPERFICIES INERTES”, 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 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.

Guayaquil, mayo 21 del 2025

DELGADO DUCHE DIOSSTEDE SAMUEL

C.I. 0953236098

RESUMEN

Día a día se procesan alimentos que son susceptibles a la contaminación microbiana en superficies inertes en la industria cárnica, por lo cual se buscó aprovechar la capacidad antimicrobiana del té verde y romero en un desinfectante como alternativa a los productos de limpieza de superficies regulares convencionales. Para ello se evaluó la actividad antibacteriana de 7 concentraciones (200, 150, 100, 50, 25, 10 y 5 mg/mL) del extracto etanólico de té verde (*Camellia sinensis*) y el aceite esencial de romero (*Rosmarinus officinalis* L) empleando el método de difusión en disco (Kirby – Bauer) frente a *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, obteniendo un CMI favorable de 200 mg/mL. Se formuló el desinfectante a partir de la dilución de 250 mg/mL añadido respectivamente a una solución estándar diluida en agua destilada con etanol al 70%. La eficacia antimicrobiana del desinfectante se determinó mediante un hisopado de superficies según la guía técnica peruana N 461-2007/MINSA, comprobándose que el desinfectante redujo considerablemente las UFC de las bacterias presentes en la superficie inerte.

Palabras clave: romero, té verde, antimicrobiano, desinfectante, superficies

ABSTRACT

Every day, meals that are susceptible to microbial contamination are processed on inert surfaces in the meat industry. Therefore, we sought to take advantage of the antimicrobial capacity of green tea and rosemary in a disinfectant as an alternative to conventional regular surface cleaning products. To this regard, the antibacterial activity of seven concentrations (200, 150, 100, 50, 25, 10, and 5 mg/mL) of ethanolic extract of green tea (*Camellia sinensis*) and essential oil of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L) was evaluated using the Kirby-Bauer disk diffusion method (Kirby-Bauer) method against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*, obtaining a favorable MIC of 200 mg/mL. The disinfectant was formulated from a dilution of 250 mg/mL added respectively to a standard solution diluted in distilled water with 70% ethanol. The antimicrobial efficacy of the disinfectant was determined by swabbing surfaces according to Peruvian technical guideline N 461-2007/MINSA, confirming that the disinfectant significantly reduced the CFU of bacteria present on the inert surface.

Key words: *rosemary, green tea, antimicrobial, disinfectant, surfaces.*

ÍNDICE GENERAL

1 INTRODUCCIÓN	1
1.1 Antecedentes del problema.....	1
1.2 Planteamiento y formulación del problema.....	2
1.4 Delimitación de la investigación	4
1.5 Objetivo general	4
1.6 Objetivos específicos	4
1.7 Hipótesis.....	5
2. MARCO TEÓRICO.....	6
2.1 Estado del arte	6
2.2 Bases científicas y teóricas de la temática.....	9
2.3 Marco legal.....	19
3 MATERIALES Y MÉTODOS.....	22
3.1 Enfoque de la investigación.....	22
3.2 Metodología.....	23
4. RESULTADOS.....	34
5. DISCUSIÓN	37
6. CONCLUSIONES.....	41
7. RECOMENDACIONES	42
8. BIBLIOGRAFÍA.....	43
9. ANEXOS.	53

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo N°1: Descripción de la norma MINSA 461-2007	53
Anexo N°2: Proceso de obtención de aceite esencial de romero	57
Anexo N°3: Flujograma del proceso para obtención extracto de hojas de té verde.....	58
Anexo N°4: Halos de inhibición de la evaluación antimicrobiana de aceite esencial de romero frente a <i>Escherichia coli</i>	59
Anexo N°5: Halos de inhibición de la evaluación antimicrobiana de té verde frente a <i>Escherichia coli</i>	59
Anexo N°6: Halos de inhibición de la evaluación antimicrobiana de té verde frente a <i>Staphylococcus aureus</i>	59
Anexo N°7: Halos de inhibición de la evaluación antimicrobiana de aceite esencial de romero frente a <i>Staphylococcus aureus</i>	59
Anexo N°8: Análisis estadísticos	60
Anexo N°9: Preparación extracto etanolico y aceite esencial	62
Anexo N°10: Evaluación de pruebas antibacteriana de aceite esencial de romero y extracto etanolico de té verde.....	64
Anexo N°11: Resultados de pruebas antibacterianas	66
Anexo N°12: Evaluación de la actividad antibacteriana del desinfectante	68

1 INTRODUCCIÓN

1.1 Antecedentes del problema

La contaminación cruzada de los alimentos se presenta como una problemática en establecimientos de producción y su expendio. Según Sornoza (2014) en los mercados de Guayaquil habitualmente se exhiben frutas a la venta, mariscos, carnes, entre otros insumos en superficies donde son susceptibles a la contaminación por patógenos que provienen de su entorno de producción. Según la resolución 233- 1998 del Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA), las buenas prácticas de fabricación y los procesos operativos estandarizados de saneamiento (POES) son los procedimientos de salud que las industrias deben seguir para garantizar la seguridad alimentaria. En este sentido, resulta crucial llevar a cabo medidas que garanticen la limpieza y desinfección de instalaciones, equipos y procesos de producción, con el objetivo de prevenir enfermedades derivadas del consumo de alimentos (Rabán, 2021).

Los productos al ser colocados en las encimeras albergan agentes patógenos que los vendedores no eliminan, ya que su proceso de limpieza se limita a lavarlos con agua para quitar la contaminación superficial y mejorar su apariencia sin considerar el uso de agentes desinfectantes para preservar la seguridad alimentaria.

En la actualidad hay demanda de alimentos listos para el consumo, los cuales, al no seguir los protocolos de limpieza adecuados, ocasionan enfermedades, evidenciando que los productos empleados no logran eliminar eficazmente los patógenos perjudiciales para los seres humanos (Castro y Gil, 2017).

Los desinfectantes convencionales a menudo contienen productos químicos agresivos, lo que ha llevado a la exploración de opciones más amigables con el medio ambiente y potencialmente menos perjudiciales para la salud humana (Domingo & López, 2003). La existencia de residuos de productos de limpieza con biodegradabilidad lenta en cuerpos de agua provoca un gran impacto ambiental, puesto que liberan grandes cantidades de fosfatos que exceden los nutrientes necesarios en ecosistemas acuáticos (Peirón, 2018).

La búsqueda y el interés en los aceites esenciales y los extractos de plantas como agentes desinfectantes ha perdurado y expandido su alcance. La investigación científica ha respaldado las propiedades antimicrobianas de

compuestos presentes en plantas, lo que ha llevado a la inclusión de estos ingredientes en productos de limpieza y desinfección para su uso en la industria alimentaria ayudando a prevenir la contaminación y garantizar la inocuidad de los alimentos.

Tanto el té verde y el romero se han destacado por sus propiedades antioxidantes y antibacterianas debido a la presencia de compuestos como catequinas y polifenoles, por lo que fue sugerido su posible utilidad como materias primas en el desarrollo de un desinfectante.

1.2 Planteamiento y formulación del problema

1.2.1 Planteamiento del problema

El consumo de alimentos contaminados debido a la ausencia de buenas prácticas agrícolas y de manufactura representa un grave problema de salud pública y medioambiental. A diario se consumen alimentos que son susceptibles a la absorción y acumulación de contaminantes químicos y biológicos en el entorno, resultando en residuos tóxicos que afectan la calidad del producto y, consecuentemente, la salud de quienes los consumen (Burgos Carbo, 2020).

De acuerdo con Guzmán (2022), el uso de desinfectantes sintéticos ha sido una práctica común en la industria agrícola para reducir la carga de microorganismos patógenos y garantizar la seguridad microbiológica de los productos. Sin embargo, su uso indebido o excesivo puede plantear varios peligros tanto para la salud humana como para el medio ambiente y el uso continuo de desinfectantes sintéticos puede contribuir al desarrollo de resistencia en microorganismos patógenos, lo que hace que estos agentes antimicrobianos sean menos efectivos con el tiempo consiguiendo aumentar la posibilidad de brotes de enfermedades transmitidas por alimentos.

El uso de un desinfectante de superficies, se centra en la necesidad de eliminar las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA'S) en las áreas de producción, transporte, almacenamiento y expendio. Según Cortés et al. (2021), la mayoría de las bacterias tienen la capacidad de crear biofilms en la superficie, lo que les permite sobrevivir a pesar del empleo de químicos de control como compuestos clorados, oxígeno activo y otros métodos físicos como la irradiación ultravioleta.

Son numerosas las hierbas medicinales que se emplean por sus propiedades antimicrobianas, y entre ellas se encuentra el romero (*Rosmarinus officinalis* L.). Este interés se atribuye a variados compuestos químicos como los terpenos 1,8-cineol, alfa-pineno, alcanfor, alfa-terpineol, canfeno, borneol, acetato de bornilo, limoneno, beta cariofileno, que se emplean en el ámbito medicinal e industrial (Rozman y Jersek, 2009).

Varios estudios indican que la hoja del té verde presenta propiedades antioxidantes y antibacterianas, debido a que contiene compuestos como los polifenoles, catequinas y flavonoides, los cuales ayudan en la correcta desinfección de las superficies inertes en contacto con alimentos, por lo cual, representa una alternativa de innovación que podría incorporarse como una alternativa como desinfectante natural (Hinostroza y Villaizan, 2022).

1.2.2 Formulación del problema

¿Los extractos de hojas de té verde y aceite esencial de romero servirán para la formulación de un desinfectante que reduzca la carga microbiana en las superficies inertes de producción alimentarias?

1.3 Justificación de la investigación

El empleo de un desinfectante para su aplicación sobre las superficies inertes de producción alimentaria se centró en la búsqueda de alternativas más naturales y sostenibles para la desinfección en entornos alimentarios.

En la industria alimentaria, la necesidad de desinfectar superficies en contacto con los alimentos de manera eficaz y segura es crucial para prevenir la contaminación y garantizar su inocuidad. Los desinfectantes convencionales a menudo contienen productos químicos agresivos, lo que ha llevado a la exploración de opciones más amigables con el medio ambiente y potencialmente menos perjudiciales para la salud humana a causa de los residuos.

Es importante considerar que el uso de ingredientes naturales en la fabricación de productos de limpieza puede contribuir a la preservación de la biodiversidad al promover prácticas agrícolas más sostenibles y la conservación de los hábitats naturales.

Los estudios científicos han destacado las propiedades antimicrobianas de los extractos de hojas de té verde y romero, gracias a la presencia de compuestos bioactivos como polifenoles, flavonoides, di y triterpenoides. Estos componentes

han demostrado tener efectos positivos contra ciertos microorganismos, lo que sugiere su utilidad en la formulación de desinfectantes (Escobedo et al., 2023). Plantas como el té verde ha recibido mucha atención de los científicos comprobando sus propiedades antivirales, antibacterianas, anticancerígenas, entre otras (Cayo y Cervantes, 2020). La inclusión de plantas naturales en productos de limpieza habitualmente con altas concentraciones de químicos puede beneficiar a las personas con alergias o sensibilidades químicas, ya que tienden a ser una opción de sustituto más segura y menos irritante para la salud.

Es importante que las personas puedan tener a su alcance nuevos productos que incentiven la agroindustria ecuatoriana empleando materia prima como el té verde y romero con propiedades funcionales, que además impulse la matriz productiva nacional.

1.4 Delimitación de la investigación

- **Espacio:** El desarrollo de la investigación se llevó a cabo en la provincia del Guayas, en el cantón Guayaquil, en la Universidad Agraria del Ecuador Campus Dr. Jacobo Bucaram Ortiz.
- **Tiempo:** Se realizó durante el segundo ciclo del periodo lectivo 2023 – 2024 en un tiempo aproximado de seis meses.
- **Universo:** El proyecto estuvo dirigido para los expendedores de alimentos e industria alimentaria como propuesta alternativa de desinfección de las superficies en contacto con los alimentos.

1.5 Objetivo general

Determinar la eficacia de extracto de hojas de té verde (*Camellia sinensis*) y aceite esencial de romero (*Rosmarinus officinalis L*) para su empleo como desinfectante de las superficies inertes de producción alimentaria.

1.6 Objetivos específicos

- Obtener el aceite esencial de romero (*Rosmarinus officinalis L*) mediante la técnica de hidrodestilación y el extracto etanólico de hojas de té verde (*Camellia sinensis*) por el método de maceración.
- Determinar la actividad antibacteriana del extracto etanólico del té verde (*Camellia sinensis*) y el aceite esencial de romero (*Rosmarinus officinalis L*)

de forma individual frente a las bacterias *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* mediante el método de difusión en agar con discos (Kirby-Bauer).

- Evaluar la eficacia del desinfectante elaborado a partir del extracto de té verde (*Camellia sinensis*) y el aceite esencial de romero (*Rosmarinus officinalis* L) aplicando el método del hisopado de superficies inertes en contacto con alimentos como control microbiológico indicado por la guía técnica peruana N 461-2007/MINSA.

1.7 Hipótesis

La hipótesis planteada para este estudio fue “La utilización de extracto de hojas de té verde y aceite esencial de romero para el desarrollo de un desinfectante permitirá eliminar microorganismos presentes en superficies inertes”

2. MARCO TEÓRICO

2.1 Estado del arte

En la ciudad de Huancayo – Perú, un estudio realizado por Fuentes y Montes (2021) determinó la actividad antimicrobiana y la elaboración de un desinfectante natural a base del aceite de *Rosmarinus officinalis* L (romero) sobre la *Lactuca sativa* (lechuga), con la finalidad de disminuir las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA). En este estudio, se aplicó el método de difusión en disco (Kirby Bauer) para primero determinar la actividad antimicrobiana y luego el efecto desinfectante del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L (romero). Se evaluaron 6 concentraciones del desinfectante usando el aceite esencial al 100%, 80%, 60%, 40%, 20% y 10%. Los resultados mostraron halos de inhibición frente a *Escherichia coli* ATCC 25922, con medidas de 10, 9, 9, 8 y 7 mm, respectivamente. La concentración del 10% no exhibió actividad antimicrobiana. La concentración del 40% se seleccionó para la preparación del desinfectante específico, diluyéndola en dimetilsulfóxido. Se destacó que la concentración del 100% mostró el mayor halo de inhibición de microorganismos, indicando una mayor actividad antimicrobiana. La evaluación frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, no presentó halos de inhibición a diferentes concentraciones, lo que sugiere la ausencia de actividad antimicrobiana. Como conclusión, los resultados fueron comparados con los indicadores permisibles del MINSA/DIGESA que son *Escherichia coli* 10^2 UFC/g y coliformes totales 10^2 UFC/g demostrando su efecto positivo como desinfectante al reducir la carga microbiana, sin embargo, aún no se encontraron antecedentes que indiquen efectividad antimicrobiana como un desinfectante sobre los vegetales de consumo directo.

En la investigación por Quispe Cruz (2023) obtuvo el aceite esencial de romero (AER) mediante destilación por arrastre de vapor de agua. Se evaluó la eficiencia bactericida del AER al 10 %, 50 % y 100 %, usando como diluyente dimetilsulfóxido (DMSO) y ceftriaxona como control positivo. En el ensayo de la eficiencia bactericida del desinfectante de AER al 50 % presentó una eficiencia bactericida sobre *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* del 99,9 % y en *Staphylococcus aureus* y *Bacillus spp.* una eficiencia de 79,13 % y 76,47 %, respectivamente.

En otras investigaciones, Rahardiyan (2019) identificó en las hojas de té verde, varios polifenoles, principalmente catequinas, las cuales desempeñan

múltiples funciones esenciales en la fisiología de las plantas y brindan beneficios potenciales para la salud humana, como propiedades antioxidantes, antialérgicas, antiinflamatorias, anticancerígenas, antihipertensivas y como agentes antimicrobianos. El polifenólico Galato de epigallocatequina (EGCG) del té verde tiene la capacidad de entrecruzarse con muchas proteínas y es el responsable de la actividad antibacteriana. Las altas concentraciones de catequinas del té (*Camellia sinensis*) en el estudio demostraron tener actividad antimicrobiana en este caso contra una bacteria grampositiva que se aísla de la carne roja llamada *Listeria monocytogenes*. En el estudio, se emplearon concentraciones de hasta 1000 ppm de extracto de catequina de té aplicado a un biofilms, las cuales resultaron ser beneficiosas para envoltorios de uso doméstico de carne, aves y mariscos. La perspectiva de la aplicación de la catequina del té verde como agente antimicrobiano en una película biodegradable comestible ha demostrado su efectividad y se recomienda continuar las investigaciones que aporten información en la lucha contra los patógenos transmitidos por los alimentos y al futuro del desarrollo de biocidas.

Un estudio llevado a cabo por Guerrero, Villota y Escobedo (2023) tuvo como objetivo formular un desinfectante utilizando aceites esenciales de orégano de monte y romero para el control de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, dos bacterias comúnmente presentes en alimentos de consumo diario. La extracción de los aceites se realizó mediante la técnica de arrastre de vapor, seguida del análisis de su composición mediante cromatografía de gases acoplada a un espectrómetro de masas. La evaluación de la actividad antimicrobiana del desinfectante se llevó a cabo determinando la concentración mínima inhibitoria (CMI), utilizando diluciones macro compuestas de aceite y agua para la formulación del desinfectante. Los resultados revelaron la presencia de compuestos antimicrobianos, como el Timol y el 2-Bornanona. La combinación de ambos aceites resultó en un incremento de la potencia de sus compuestos, generando halos de inhibición con diámetros de hasta 18,2 mm y de forma individual 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*, con un promedio de 13,19 mm de diámetro de los halos de inhibición. Para la cepa de *E. coli* se obtuvieron halos, con un promedio de 9,57 mm de diámetro.

Falcó et al (2019) evaluó la eficacia de nueve aceites esenciales en el desarrollo de una solución desinfectante natural (SAN) y su actividad antimicrobiana contra patógenos como *Escherichia coli* y *Salmonella enterica* en superficies de acero inoxidable, vidrio y polipropileno. Los aceites esenciales evaluados fueron de tomillo, orégano, romero, clavo, canela, eucalipto, lavanda, limón y menta. Los resultados del SAN mostraron que el aceite esencial de *Tillandsia capitata*, aplicado durante 10 minutos, redujo los niveles de *E. coli* en más de 3 log número de células y de *Salmonella enterica* en 1 log en condiciones de limpieza en las tres superficies probada. Los aceites esenciales pueden utilizarse como desinfectantes naturales para descontaminar las superficies en contacto con los alimentos, reduciendo así el riesgo de transferencia indirecta de patógenos bacterianos a los alimentos o a las personas

Por otro lado, Ríos, Garcia, Hernandez y Garcia-Munguia (2021) realizaron un trabajo de investigación donde estudiaron la actividad antimicrobiana de extractos con el fin de determinar si el extracto vegetal de estos contribuye como una alternativa de biocontrol para enfermedades bacterianas, efectiva, de bajo costo y menor impacto ambiental aplicado en cultivos de tomate y frijoles. Los extractos naturales fueron obtenidos en forma cruda por medio de maceración etanólica y concentrados por vía de rota evaporación a *Zingiber officinale* y *Maclura pomífera*. El análisis microbiológico *in vitro* fue realizado mediante antibiograma de 14 tratamientos con tres repeticiones de extractos crudos y concentrados sobre *Pseudomonas syringae* siendo más resistente que *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. La actividad bactericida fue evaluada por medio de antibiogramas con intervalos de 24 h por siete días. El mayor efecto inhibitorio lo mostraron los extractos de *Maclura pomífera* base etanol de 100 mg mL⁻¹ y *Zingiber officinale* de 100 mg mL⁻¹ base etanol. Los extractos de *Maclura pomífera* en bajas concentraciones, también mostraron actividad, siendo 10 mg mL⁻¹ la concentración más baja y efectiva en la inhibición bacteriana con una media de 0.41 cm de halo inhibitorio.

Nieto, et al. (2018) evaluó la susceptibilidad antibiótica del romero, donde los aceites esenciales mostraron ser activos contra todas las cepas clínicas de *Escherichia coli*: Los aceites esenciales que contenían principalmente carvacrol (67,0%) y γ -terpineno (15,3%) eran efectivos contra cepas Gram-negativas, incluyendo *Escherichia coli*, con valores de CMI de 0,025 μ L/mL a 0,78 μ L/mL

según el método de microdilución en caldo. Además, el aceite esencial de romero inhibe fuertemente *E. coli* ATCC 25922 con una CMI de $>6,4$ mg/L, es por ello que debido a que el romero es una hierba barata, disponible y no tóxica, estas consideraciones justifican la introducción de extractos de romero o aceites esenciales, con mayor contenido de compuestos fenólicos, en la industria alimentaria. La efectividad del aceite esencial de romero frente a *E. coli*, está relacionada con la acción combinada de los diferentes componentes minoritarios presentes en su fracción volátil y no debe asociarse a la acción de ningún componente en particular. Por lo cual *E. coli*, *L. monocytogenes* y *S. aureus*, son bacterias muy resistentes y destacan la importancia de la composición química y la proporción entre los componentes del aceite en su eficacia antimicrobiana.

2.2 Bases científicas y teóricas de la temática

2.2.1 *Camellia sinensis*

2.2.1.1. Generalidades.

Camellia sinensis se describe como un arbusto con una raíz principal robusta, cuyas hojas y brotes se emplean en la producción de té. El nombre genérico *Camellia* fue asignado por Linneo en reconocimiento al botánico y misionero jesuita del siglo XVII, Jiří Josef Camel (también conocido como Camellus), quien transportó plantas de camelias desde Las Filipinas a Europa; el nombre específico *sinensis* se deriva del latín y alude a la localización de esta especie en China (Xingtang, et al, 2021).

2.2.1.2. Descripción de la planta *Camellia sinensis*.

Son arbustos con hojas de color verde oscuro y de bordes aserrados las cuales miden 4-15 cm de longitud y 2-5 cm de ancho. Las flores, axilares, solitarias o en grupos de 3 o 4, tienen 5 sépalos, 6-8 pétalos y numerosos estambres, son de color blanco-amarillentas y miden 2-4 cm de diámetro (Instituto de Ecología Mexicano, 2023).

Tal como lo indica Dufresne y Farnworth (2001), las hojas de té verde se obtienen de diferentes variedades de una laurácea, es un árbol que puede alcanzar varios metros de altura que se produce en zonas de humedad alta y de temperaturas no extremas, pero independientemente de la altura a nivel del mar. El té después del agua es la bebida de mayor consumo mundial.

Aproximadamente un 76-78% del té que se consume en el mundo es negro, un 22% es té verde y menos de un 2% es Olong.

2.2.1.3. Taxonomía.

En base a la Fuente del Sistema Integrado de Información Taxonómica - SIIT América del Norte (Canadá, México, Estados Unidos) el té verde es botánicamente conocido como *Camellia sinensis* (Sistema Integrado de Información Taxonómica, 1999).

Tabla 1.
Clasificación taxonómica del té verde

CATEGORIA	NOMBRE
Reino	Plantae
Subreino	Viridaeplantae
División	<u>Tracheophyta</u>
Subdivisión	Spermatophytina
Infradivisión	Angiospermae
Clase	Magnoliopsida
Superorden	Ericales
Familia	Theaceae
Género	<i>Camellia</i>
Especie	<i>Camellia sinensis</i>

Fuente: Durairaj et al. (2019).

2.2.1.4. Composición química.

Las hojas frescas del árbol del té verde contienen cafeína, la cual ha sido asociada a la disminución y control del peso corporal en humanos, por medio de la estimulación de la termogénesis y la oxidación de las grasas. Contienen una alta cantidad de flavanoles (derivados de los flavonoides) conocidos como catequinas. Las principales catequinas presentes en el té son la epicatequina, la epigallocatequina, la epicatequina gallato, y la epigallocatequina gallato, siendo esta última la catequina más abundante en el té y la que concita mayor interés e investigación (Vázquez L. , 2017).

Los principales componentes del té verde se muestran en la tabla 2, siendo los más representativos las bases xánticas (cafeína, teofilina, teobromina, adenina y xantina) y polifenoles (flavonoides, catecoles, taninos catéquicos y ácidos fenólicos). Los flavonoides mayoritarios son el kempferol, la quercetina y la miricetina. (Luengo, 2002).

Tabla 2.
Componentes principales del té verde

Componentes	Té verde (%)
Catequinas	30 – 42
Teaflavinas	-
Polifenoles Sencillos	2
Flavonoles	2
Otros Polifenoles	6
Teanina	3
Aminoácidos	3
Péptidos/Proteínas	6
Ácidos Orgánicos	2
Azúcares	7
Otros Carbohidratos	4
Cafeína	3 – 6
Potasio	5
Otros minerales / Cenizas	5 – 8

Fuente: Durairaj et al. (2019).

2.2.1.5. Actividad biológica.

El té verde posee una rica concentración de compuestos bioactivos, entre ellos catequinas, polifenoles y antioxidantes. Estas sustancias han sido objeto de numerosos estudios por sus beneficios en la salud humana. Las catequinas presentes en el té verde, especialmente la epigallocatequina-3-galato (EGCG), han mostrado actividad antibacteriana y antiviral en diversos estudios. Se ha observado que estas sustancias pueden interferir con la capacidad de producción de algunos microorganismos. En el contexto de las bacterias, el té verde ha demostrado ser eficaz contra una variedad de cepas, incluyendo algunas resistentes a antibióticos convencionales (Ingaso Farm, 2019).

Su importancia radica en las propiedades antioxidantes de sus compuestos bioactivos. Un estudio realizado por Pacheco (2021) relacionó la actividad antioxidante de los extractos hidroalcohólicos del té verde con la presencia de polifenoles.

El extracto de té verde ha presentado actividad biocida frente a cepas de *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Shigella dysenteriae*, *Vibrio cholerae* y una importante actividad inhibitoria sobre los *Streptococcus cariogénicos* que incluyen al *Streptococcus mutans*, disminuyendo el riesgo de caries tanto *in vitro* como *in vivo* (Forero y Pabón, 2022). Varios trabajos demostraron que los

polifenoles del té inhiben la actividad de la colagenasa, el crecimiento y adherencia celular de *Porphyromona gingivalis* (Martínez , Funosas, y Pignolo, 2019).

2.2.1.6. Usos medicinales.

Algunos beneficios en la salud han sido adscritos al consumo de té verde, e incluyen los efectos de reducción del colesterol, protección contra enfermedades cardio-vasculares, cáncer, prevención de enfermedades neurodegenerativas, diabetes, enfermedades de hígado, propiedades anti mutanogénicas, protección contra osteoporosis, mejoramiento del flujo sanguíneo, eliminación de toxinas, mejoramiento de la resistencia a varias enfermedades y beneficios para la higiene oral (Parra y Ricardo, 2022).

2.2.2 *Rosmarinus officinalis* L

2.2.2.1. Generalidades.

Rosmarinus officinalis L. (Lamiaceae) se conoce de forma popular como romero y puede ser empleada tanto fresca como seca, como extracto o aceite esencial. Los extractos de romero se suelen preparar haciendo el tratamiento a toda la planta, aunque puede hacerse de alguna parte específica de la misma como flores, brotes, semillas, hojas, tallos y/o corteza. Puede ser utilizada en diferentes campos, incluyendo las industrias cosmética, farmacéutica y alimentaria (Vázquez et. al, 2022).

Es un arbusto aromático que crece en zonas litorales y zonas de montaña baja (laderas y collados), mayormente en los terrenos calcáreos, desde la costa hasta 1.500 m de altitud. Se cultiva con facilidad, incluso en macetas. El origen de su nombre latino de *rosmarinus* se creyó que estaba formado por dos vocablos: *ros* (rocío) y *marinus* (marino); porque, el romero es una planta mediterránea, que no suele alejarse mucho de las costas (Ministerio de agricultura y alimentación, 2022).

El romero posee propiedades medicinales, funcionales y aromáticas. Es reconocido por su contenido elevado de sustancias o principios activos con características bioquímicas u organolépticas específicas. Su uso abarca diferentes áreas, como la terapéutica, donde se emplean como plantas medicinales, así como en aplicaciones aromáticas o esencias, y también en el ámbito dietético o gastronómico, donde se utilizan como condimentos, esta planta es nativa del Mediterráneo, del norte y sur de África, así como de Asia Occidental (Jumique, 2023).

2.2.2.2. Taxonomía.

En la tabla 3 se describe la composición taxonómica del romero

Tabla 3.
Clasificación taxonómica del Romero

CATEGORIA	NOMBRE
Reino	Plantae
Subreino	Tracheobionta
División	Magnoliophyta
Subclase	Asteridae
Orden	Lamiales
Clase	Magnoliopsida
Familia	Lamiaceae
Género	<i>Rosmarinus</i>
Especie	<i>Rosmarinus officinalis</i>

Fuente: Vázquez et al. (2022).

2.2.2.3. Usos medicinales del romero.

El romero cuenta con propiedades carminativas, digestivas y antiespasmódicas, así como coleréticas, colagogas y hepatoprotectoras. Su impacto beneficioso en la digestión se manifiesta a través de varios mecanismos. En primer lugar, estimula la generación de jugos gastrointestinales. Además, provoca la relajación del músculo liso del tracto gastrointestinal, eliminando posibles espasmos y promoviendo las secreciones (González, Bravo y Ayala, 2020).

2.2.2.4. Composición química.

Los componentes que contiene el romero pueden agruparse en las categorías de flavonoides, terpenoides (monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos, triterpenos) y derivados hidroxicinámicos (Moreira et al, 2019).

La estructura del aceite esencial de romero puede experimentar cambios sustanciales, dependiendo de diversos factores como la porción de la planta cosechada, el lugar, el nivel de madurez de la planta al momento de la recolección y su origen geográfico, entre otros. Las hojas de romero contienen componentes químicos característicos de este aceite como el 1,8-cineol, α -pineno, alcanfor, acetato de bornilo, borneol, canfeno, α -terpineol. También contiene sesquiterpenos como beta cariofileno (Borges et al, 2019).

2.2.2.5. Actividad biológica del Romero.

El romero (*Rosmarinus officinalis* L) se destaca por su notable actividad biológica, que incluye propiedades antioxidantes y efectos antimicrobianos. La actividad biológica se atribuye a compuestos como los flavonoides, ácidos fenólicos y, especialmente, los aceites esenciales ricos en terpenos, como el alcanfor y el 1,8-cineol. Estos elementos confieren al romero propiedades antioxidantes que pueden contribuir a la protección celular contra el estrés oxidativo, un factor asociado a diversas enfermedades crónicas (Flores et al. 2020).

El romero ha ganado importancia en el campo de la investigación por sus diversos atributos biológicos como: antiinflamatorio, antimicrobiano, antioxidante y anticancerígeno, entre otros; Debido a la presencia de sus metabolitos secundarios como el ácido carnósico, el carnosol, el ácido rosmárico y el alcanfor, entre otros (Flores et al., 2020).

2.2.3 Generalidades de los desinfectantes

Se conoce como desinfectante al agente que mata o inactiva de forma física o química a los microorganismos tales como bacterias, hongos, virus y protozoos (European Commission, 2019; Beyer, 2023).

Según Tong, et al, (2021) los requisitos más importantes que deben reunir los agentes desinfectantes son varios, aunque ningún desinfectante presenta todos a la vez y son:

- a. Fuerte acción biocida frente a bacterias Gram positivas, Gram negativas, virus, esporas de mohos y esporas bacterianas.
- b. Estable en presencia de residuos orgánicos y aguas duras.
- c. Estable en forma concentrada e incluso cierta estabilidad en forma diluida.
- d. Facilidad de arrastre por aclarado y no dejar residuos tras el mismo.
- e. No corrosivo y escasa toxicidad.
- f. No teñir las superficies ni dejar olores persistentes.
- g. Económico

2.2.3.1. Importancia de la desinfección.

La limpieza y desinfección es el proceso de eliminación de la suciedad y agentes patógenos del área de procesamiento de alimentos, de las superficies, el equipo de procesamiento de alimentos, de los contenedores de almacenamiento y transporte de alimentos y de cualquier otro utensilio o implemento utilizado en los

procesos de fabricación, limpieza o mantenimiento. La suciedad se refiere a los restos derivados del proceso alimentario, el entorno de fabricación, los operarios del proceso y todas las actividades de mantenimiento y limpieza asociadas, las cuales deberán ser inocuas (Holah, 2018).

El Codex Alimentarius, organismo internacional que establece las normas para los alimentos, define la higiene alimentaria como "todas las condiciones y medidas necesarias para garantizar la seguridad e idoneidad de los alimentos en todas las fases de la cadena alimentaria" (Codex Alimentarius, 2020)

Según el Codex Alimentarius (2020), la seguridad alimentaria es "la garantía de que los alimentos no causarán daño al consumidor, cuando son preparados y consumidos de acuerdo con su uso previsto", mientras que la idoneidad de los alimentos es "la garantía de que los alimentos son aceptables para el consumo humano de acuerdo con su uso previsto". Implícitamente, se refiere a aspectos de calidad como: ausencia de deterioro, ausencia de cuerpos extraños y autenticidad de los alimentos.

La limpieza y desinfección son parte vital para cumplir con dichos parámetros y se consideran una buena práctica de higiene (BPH) o una buena práctica de fabricación (BPF) y son las BPH/BPM las cuales ayudan a garantizar la fabricación continua de alimentos seguros y saludables. La limpieza y desinfección tanto de las materias primas como de las áreas de fabricación (superficies) son requisitos claves de las directrices de higiene alimentaria del *Codex Alimentarius* y es probable que sea un requisito legal en todos los países en los que la higiene alimentaria está legislada.

2.2.3.2. Desinfectantes naturales.

Este tipo de desinfectantes provienen del mundo vegetal y son capaces de inhibir el crecimiento de microorganismos o de eliminarlos. La actividad biológica de un desinfectante natural radica mucho en los principios activos mayoritarios que contiene cada planta o el extracto que será empleado para desinfectar una superficies o alimento, pero éstos suelen estar acompañados de otros principios que potencian o modulan la acción de los primeros (Zamora, Leobardo, y González, 2022).

En las plantas, los componentes activos siempre se encuentran biológicamente equilibrados debido a la presencia de sustancias complementarias

que interactúan entre sí, de modo que, por lo general, no se acumulan en el organismo y se limitan sus efectos no deseados. A pesar del aumento en las investigaciones y estudios científicos sobre las plantas, aún no se comprenden completamente muchos de los principios activos responsables de sus propiedades. Estos componentes activos, conocidos como metabolitos secundarios, continúan siendo en gran medida desconocidos (Espitia, Lozano, y Suárez, 2022).

En la actualidad se encuentran disponibles en el mercado productos comerciales que son biodegradables y elaborados a partir de extractos de cítricos. Estos productos tienen la capacidad de frenar el crecimiento de hongos, bacterias y virus. Es necesario incentivar la investigación sobre alternativas naturales, seguras, económicas y biodegradables que coadyuven a fortalecer estrategias de prevención y mitigación de la enfermedad (Schneegans et al, 2022).

2.2.3.3. Desinfectantes sintéticos.

Es considerado un desinfectante sintético, todo aquel que contenga baja presencia de producto natural o elaboración orgánica, y puede llegar a contener sustancias fuertes y tóxicas como lejía, agua dura, limpiadores antical, etc. El uso excesivo o incorrecto de estos desinfectantes puede tener efectos adversos para la salud humana y el medio ambiente, a diferencia de los desinfectantes naturales que tienden a ser menos tóxicos en su composición y pueden ser una opción más segura para ciertos usos (Maes et al, 2019).

La desinfección sintética es usada en la industria alimentaria porque elimina rápidamente gérmenes nocivos y microorganismos patógenos, hongos o esporas utilizando detergentes de limpieza especialmente formulados. Este proceso se ve afectado por diversos elementos, como el tiempo de exposición, la temperatura durante la aplicación, la concentración del desinfectante, la tensión superficial de la solución desinfectante, el pH, así como la cantidad y ubicación de los microorganismos o el tipo específico de microorganismo que se pretende eliminar. Así, mientras que la limpieza es capaz de eliminar el 80% de la carga microbiana, la desinfección de las superficies debe conseguir una reducción de la contaminación microbiana de alrededor del 95% (Munizaga et al, 2021).

2.2.4 Métodos de evaluación de actividad antimicrobiana

Los métodos de evaluación de actividad antimicrobiana se aplican en varios campos, entre ellos en el ámbito hospitalario. Muchos de los estudios y nuevas

evaluaciones antimicrobianas son realizados *in vitro*, aislando bacterias cultivadas o entrenadas en laboratorios para su uso. Los métodos para evaluar la actividad antibacteriana están clasificados en tres grupos principales: Métodos de dilución, métodos de difusión y bioautografía (Donaghy et al., 2019; Rojas, García y López, 2005).

2.2.4.1. Método de dilución.

En una prueba de dilución seriada semi cuantitativa, se determina la actividad bacteriostática mediante una serie de diluciones decrecientes del desinfectante en un caldo nutritivo e inoculando los tubos con una solución de bacterias. Tras la incubación a 37°C por 24 horas se observa cual es la mínima concentración que inhibe el crecimiento microbiano (Pinar, 2019).

En otro método se diluyen diferentes concentraciones de la sustancia antimicrobiana en caldo de cultivo y se inoculan con microorganismos. Se observa la concentración mínima inhibidora (CMI) que impide el crecimiento visible. Además es comúnmente utilizado para determinar la concentración mínima bactericida (MBC) y la concentración mínima inhibitoria (MIC), la cual es definida como la concentración más baja de sustancia que puede inhibir el crecimiento visible de un microorganismo después de incubar por 24 horas, y la (MBCs) como la concentración más baja que puede prevenir el crecimiento de un organismo después de subcultivar en un medio libre del compuesto evaluado. Estas variables son una herramienta para investigar nuevos antimicrobianos (Ramirez, 2009).

La medición de la actividad *in vitro* de los antimicrobianos generalmente se realiza mediante diversas formas de los métodos de dilución. La Concentración Mínima Inhibitoria (MIC) se considera el estándar de oro en comparación con otros enfoques para evaluar la susceptibilidad antimicrobiana. No solo confirma resistencias poco comunes, sino que también proporciona respuestas concluyentes cuando los resultados obtenidos por otros métodos son ambiguos (Benkova, Soukup, y Marek, 2020).

2.2.4.2. Método de Difusión.

En investigaciones para determinar actividad antimicrobiana están presentes las técnicas de difusión (en disco o en pozo), además estos métodos han sido ampliamente usados a través de los años para evaluar extractos de plantas con

actividad antimicrobiana con el fin de estudiar compuestos polares, y los métodos de dilución para sustancias polares y no polares (Ncube, Afolayan y Okoh, 2008).

Para realizar la difusión se realiza colocando un disco impregnado con la sustancia antimicrobiana en una placa de agar con cultivo bacteriano (Método de Kirby-Bauer). La formación de un halo de inhibición alrededor del disco es el indicador de la actividad antimicrobiana. Este método fue estandarizado y es actualmente recomendado por el Subcomité de Ensayos de Susceptibilidad del Comité Nacional de Estándares de Laboratorio Clínico (NCCLS) de Estados Unidos. El fundamento de esta determinación es establecer, en forma cuantitativa, el efecto de un conjunto de sustancias, ensayados individualmente, sobre las cepas bacterianas que se aíslan de procesos infecciosos (Yin, et al, 2021).

Este método permite estudiar el efecto del antimicrobiano en varios microorganismos en una misma placa. A su vez presenta la desventaja de requerir cantidades importantes de antimicrobiano en la incorporación al agar. Existen diferentes métodos para determinar la concentración del inóculo: usando la escala de McFarlan, por lectura de absorbancia (previa realización de la recta de calibrado), mediante cámara de Thoma, etc (Pérez y Rivas, 2022).

2.2.4.3. Método de Bioautografía.

La Bioautografía es una técnica sencilla y rápida, útil para la purificación de sustancias antibacterianas. Este método combina las ventajas de la cromatografía en capa fina y la detección de actividad antimicrobiana, permitiendo ver directamente las fracciones con actividad antimicrobiana (Colorado, Galeano, y Martínez, 2007).

El ensayo a través de cromatogramas ayuda a la localización de compuestos activos, incluso en matrices complejas como los derivados de productos naturales. Vazquez (2022) define este método como una variación de los métodos de difusión en agar, donde el analito es absorbido dentro de una placa de cromatografía en capa fina (TLC) al ser colocado como muestras a evaluar, y separándolo, utilizando una fase móvil específica. Luego la placa es llevada y colocada en forma invertida sobre una caja de Petri previamente inoculada con el microorganismo a evaluar. Posteriormente la placa se lleva a incubación según los requerimientos del microorganismo seleccionado, finalmente se observa el halo de inhibición donde se

encuentra el compuesto activo. Para visualizar mejor los resultados se puede utilizar algún indicador.

2.2.5 Aceites esenciales

Son sustancias volátiles y altamente concentradas que se extraen de plantas, flores, frutas, hojas, raíces, cortezas y otras partes de plantas. Estos aceites son llamados "esenciales" porque contienen la esencia misma de la planta de la cual se derivan, capturando su aroma distintivo y las propiedades químicas que le confieren diversas características (Huong et al 2020).

2.2.5.1. Aplicación de los aceites esenciales.

Se emplean para la extracción de diversos principios activos, como el anetol y el eugenol, o se utilizan como excipientes y aromatizantes en la formulación de jarabes y otras formas farmacéuticas. Además, en industrias como la alimentaria, licorera y confitera, se emplean comúnmente como agentes aromatizantes y también como aditivos en desinfectantes (Lopez, 2004).

Los aceites esenciales se utilizan habitualmente en aromaterapia para promover el bienestar emocional y físico, y también su uso se aplica en productos de cuidado personal y limpieza debido a sus propiedades fragantes y, en algunos casos, antibacteriano o antiinflamatorios. Es importante utilizar aceites esenciales con precaución, diluirlos adecuadamente antes de su aplicación directa en la piel, y conocer sus propiedades individuales y posibles contraindicaciones (Vaca, Vazquez, y Costilla, 2023).

2.3 Marco legal

En función de la presente investigación se empleará la legislación afín al tema investigado, donde argumenta y expone la base legal en la que se sustenta la investigación, recurriendo a la norma suprema, leyes, reglamentos, decretos, acuerdos y normas nacionales e internacionales vigentes donde se destacan: la Constitución de la República del Ecuador, ley orgánica del régimen alimentario, la resolución ARCSA-de-067-2015-ggg: normativa técnica sanitaria para alimentos procesados, plantas procesadoras de alimentos, establecimientos de distribución, comercialización, transporte y establecimientos de alimentación y por último la guía técnica para el análisis microbiológico de superficies en contacto con alimentos y bebidas.

2.3.1 La Constitución de la República del Ecuador (2008)

Art. 13.- Las personas y colectividades tienen derecho al acceso seguro y permanente a alimentos sanos, suficientes y nutritivos; preferentemente producidos a nivel local y en correspondencia con sus diversas identidades y tradiciones culturales. El Estado ecuatoriano promoverá la soberanía alimentaria. (pág. 29)

2.3.2 La Ley Orgánica Del Régimen Alimentario (2011)

La ley orgánica del régimen alimentario establece en el Capítulo IV Sanidad e inocuidad alimentaria, en el art 24 lo siguiente.

Art. 24.- La sanidad e inocuidad alimentarias tienen por objeto promover una adecuada nutrición y protección de la salud de las personas; y prevenir, eliminar o reducir la incidencia de enfermedades que se puedan causar o agravar por el consumo de alimentos contaminados (pág. 8).

Resolución ARCSA-de-067-2015-ggg: normativa técnica sanitaria para alimentos procesados, plantas procesadoras de alimentos, establecimientos de distribución, comercialización, transporte y establecimientos de alimentación (2015).

Art. 131.- Aseguramiento de Calidad. - Todas las operaciones de fabricación, procesamiento, envasado, almacenamiento y distribución de los alimentos deben estar sujetas a un sistema de aseguramiento de calidad apropiado. Los 47 procedimientos de control deben prevenir los defectos evitables y reducir los defectos naturales o inevitables a niveles tales que no represente riesgo para la salud. Estos controles variarán dependiendo de la naturaleza del alimento y deberán rechazar todo alimento que no sea apto para el consumo humano (pág. 45) .

2.3.3 Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1 529-2:2013 (2013)

Como referente nacional en la toma de muestras en superficies y de acuerdo con lo establecido por el instituto de Normalización ecuatoriano, la norma NTE INEN 1529- 2:2013 tiene como indicadores generales para la toma de muestras de superficies inertes y vivas, y al momento de realizar la toma de muestras, lo debe realizar un agente autorizado o un agente independiente autorizado que ha recibido formación técnica apropiada. El o la agente debe actuar independientemente y no aceptar la interferencia de terceros. Bajo su responsabilidad puede recibir ayuda de otros. Cuando sea posible, se debe permitir a los delegados de las partes interesadas presenciar la toma de muestras, una vez tomadas las muestras deben ser almacenadas en refrigeración a 2°C y el congelador debe operar a temperaturas menos de -20°C.

2.3.4 Guía Técnica Peruana para el análisis microbiológico de superficies e contacto con alimentos y bebidas MINSA 461-2007

Para fines investigativos se empleará la norma MINSA 461-2007 procedente de Perú, como guía e indicador en el desarrollo de la metodología y técnicas del

presente estudio.

Sección 7.1 Procedimiento para la selección de la muestra

El procedimiento para seleccionar las muestras, debe estar en función de los riesgos sanitarios relacionados a las diferentes etapas de la cadena alimentaria, sea la de fabricación, la de elaboración y/o expendio.

En establecimientos de elaboración y expendio

a) Superficies inertes Se seleccionarán aquellas superficies que están en contacto con los alimentos destinados al consumo directo, como utensilios, vajilla, superficies de corte, menaje, equipos, entre otros.

En la sección 7.2. Selección del método de muestreo, indica que la selección del método de muestreo debe estar en función de las características de la superficie a muestrear. Para el método de muestreo mediante el hisopo indica que se deberá aplicar para superficies inertes regulares e irregulares, tales como tabla de picar, bandejas, mesas de trabajo, utensilios, cuchillas de equipos, cortadora de embutidos, cortadora de pan de molde, fajas transportadoras, tolvas, mezcladoras, pisos, paredes y otros.

3 MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Enfoque de la investigación

La investigación fue de tipo mixto incorporando enfoques documentales, experimentales y exploratorios.

3.1.1 Tipo y alcance de la investigación

El proyecto perteneció al tipo de investigación experimental y aplicada, donde se evaluó la capacidad antimicrobiana de distintas concentraciones de extracto de hojas de té verde (*Camellia sinensis*) y el aceite esencial de romero (*Rosmarinus officinalis* L) por separado, obteniendo datos para el desarrollo de tres formulaciones de un desinfectante de superficies inertes.

El enfoque de la investigación fue descriptivo y explicativo dado que demostró el efecto combinado del aceite esencial de romero y extracto de té verde como antibacteriano y su aplicación en la desinfección de las superficies inertes de producción alimentaria.

3.1.2 Diseño de investigación

Esta investigación fue clasificada como un estudio de tipo experimental investigativo, ya que implicó la evaluación inicial de materias primas usando siete concentraciones de extracto de hojas de té verde (*Camellia sinensis*) y aceite esencial de romero (*Rosmarinus officinalis* L): 200, 150, 100, 50, 25, 10 y 5 mg/mL, junto a un control positivo y un control negativo, con el objetivo de determinar la actividad antibacteriana frente a los microorganismos *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*.

En la siguiente fase se realizó la formulación del desinfectante tomando en cuenta la concentración mínima inhibitoria (CIM) del extracto y aceite esencial para su creación y añadirlo en una solución de etanol al 70 % como un blanco de control para así evaluar su acción en una superficie regular inerte de productos cárnicos aplicando el método de hisopado, siguiendo la guía peruana de las técnicas para el análisis microbiológico de superficies en contacto con alimentos y bebidas, donde posteriormente se contó las unidades formadoras de colonias sembradas por triplicado en discos compact dry para mesófilos aerobios.

3.2 Metodología

3.2.1 Variables

3.2.1.1. Variable independiente.

- Concentraciones de extracto de té verde
- Concentraciones de aceite esencial de romero
- Formulación de desinfectante natural de las dos materias primas seleccionadas

3.2.1.2. Variable dependiente.

- Actividad antibacteriana del extracto de té verde y el aceite esencial romero.
- Recuento bacteriano en unidad formadoras de colonia (UFC/mL) de la superficie tratada con desinfectante.

3.2.2 Matriz de operacionalización de variables

Tabla 4.

Operacionalización de las variables

Variable dependiente			
Variables	Tipo	Nivel de medida	Descripción
Actividad antibacteriana del extracto de té verde y aceite esencial de romero	Cuantitativo	Continua	Medida en milímetro de los halos de inhibición y la concentración mínima inhibitoria del extracto y aceite.
Recuento bacteriano (UFC/mL)	Cuantitativo	Discreta	Número de colonias bacterianas presentes en las placas Compact Dry.
Variables independientes			
Variables	Tipo	Nivel de medida	Descripción
Extracto de té verde	Cuantitativo	Discreta	200, 150,100, 50, 25, 10, 5 mg / mL
Aceite esencial de romero	Cuantitativo	Discreta	200, 150,100, 50, 25, 10, 5 mg / mL
Desinfectante natural	Cuantitativo	Continua	Formulación del desinfectante a testear sobre la superficie.

Elaborado por: El Autor, 2024.

3.2.3 Tratamientos

Para la presente investigación se determinó la actividad antibacteriana de 7 concentraciones diferentes de extracto de hojas de té verde (*Camellia sinensis*) y aceite esencial de romero (*Rosmarinus officinalis L*) (Tabla 5).

Tabla 5.
Tratamientos para la evaluación de la actividad antibacteriana

Materias primas	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
	mg/mL	mg/mL	mg/mL	mg/mL	mg/mL	mg/mL	mg/mL
Extracto de té verde	200	150	100	50	25	10	5
Aceite esencial de romero	200	150	100	50	25	10	5

Elaborado por: El Autor, 2024.

Luego de realizar la prueba de eficacia de actividad antibacteriana de las materias primas, la solución de limpieza fue formulada en base a la mejor concentración mínima inhibitoria del extracto de hojas de té verde y aceite esencial de romero, en este caso tomando de referencia la dilución de 250 mg en 1 mL de etanol.

Tabla 6.
Formulación de desinfectante

Ingredientes	Cantidad	%
Dilución de Aceite esencial de romero	5 g	17
Extracto etanólico de té verde	5 g	17
Etanol	14 mL	46
Agua	6 mL	20
Total	20 mL	100

Elaborado por: El Autor, 2024

3.2.4 Diseño experimental

El diseño experimental que se aplicó en el estudio fue el Diseño Completamente al Azar (DCA), en donde se realizaron dos tipos de evaluación. En el primer diseño, se trabajó con siete concentraciones de hojas de té verde (*Camellia sinensis*) y aceite esencial de romero (*Rosmarinus officinalis L*) con tres repeticiones para evaluar la actividad frente a *E. coli* y *S. aureus* con 20 µL de etanol

al 96% como control negativo y como control positivo, un disco del antibiótico de referencia Ampicilina 10 µg de marca comercial Oxoid™.

En el segundo diseño se evaluó por triplicado la formulación del desinfectante preparado a partir del extracto de té verde y el aceite esencial de romero para determinar su eficacia frente a mesófilos aerobios, tomando en consideración las técnicas de evaluación proporcionadas por la norma Mexicana NOM-189- SSA1/SCFI-2018, en productos y servicios en contacto con superficies inertes.

3.2.5 Recolección de datos

3.2.5.1. Recursos.

Los insumos, materiales, reactivos y equipos que se emplearon para la elaboración de extracto vegetal y aceite esencial.

3.2.5.1.1. Recursos bibliográficos.

- Artículos científicos
- Revistas científicas
- Centro de Información Agraria

3.2.5.1.2. Principales insumos.

- Aceite esencial de romero
- Extracto de hojas de té verde

3.2.5.1.3. Obtención del aceite esencial de romero (*Rosmarinus officinalis* L)

Reactivo

- Agua destilada

Materiales

- Vasos de precipitación 200 mL Boeco
- Mascarillas y cofia
- Balón de fondo redondo de 1000 mL
- Frascos ámbar de 10 mL
- Vaso de precipitación de 500 mL
- Cuchillo marca “Tramontina”

- Soporte
- Refrigerante Liebig Recto 300 mm
- Pinzas de laboratorio
- Trampa de Clevenger 1000 mL boca 24/29
- Micropipeta de 1 mL

Equipos

- Balanza analítica WL – 104
- Chiller
- Licuadora Osterizer (1,5L)
- Manta Calefactora

3.2.5.1.4. Obtención del extracto etanólico de hojas de té verde (*Camellia sinensis*) por el método de maceración

Reactivo

- Etanol al 96%

Materiales

- Embudo
- Matraz Erlenmeyer de 500 mL
- Papel Filtro
- Papel de aluminio
- Matraz de laboratorio de 50 mL
- Vasos de precipitación 200 mL Boeco

Equipos

- Rotavapor RV 3v Marca IKA

3.2.5.1.5. Determinación de la actividad antibacteriana

Reactivos

- Agua destilada
- Cloruro de sodio 0.9%
- Cloruro de Bario 0.05 mL al 1.175%
- Ácido Sulfúrico 9,95 mL al 1%
- Agar Müeller-Hinton
- Ampicilina
- Etanol al 96%

- Cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922
- Cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Equipos.

- Balanza analítica
- Incubadora
- Contador de colonias

Materiales

- Calibrador Vernier
- Gotero
- Asa Digralsky
- Disco blanco
- Cinta aislante blanca
- Tubo Eppendorf
- Cucharas plásticas pequeñas
- Papel aluminio
- Micropipeta de 10 a 100 microlitros
- Recipientes de material antioxidante
- Frascos ámbar de 20 mL
- Vaso de precipitación de 500 mL
- Discos antibiograma marca Oxoid

3.2.5.1.6 Evaluación de la eficacia del desinfectante

Reactivos

- Suero fisiológico

Materiales

- Hielera portátil
- Vaso de precipitación 200 mL Boeco
- Hisopos estériles
- Tubos de ensayo con tapa hermética de 10 mL
- Cajas Compact Dry de Coliformes totales
- Guantes descartables de primer uso
- Probeta de 100 mL
- Varilla agitadora

- frasco spray de 20 mL

Equipos.

- Contador de Colonias
- Incubadora

3.2.5.2. Métodos y técnicas.

3.2.5.2.1. Descripción del proceso para obtención aceite esencial de romero por Hidrodestilación.

Recepción de materia prima: En esta etapa se procedió a identificar y seleccionar las hojas de romero que no presentaron daño físico.

Pesado: Se pesó todas las hojas de romero obtenidas después de la selección.

Triturado: Se agregó a la licuadora el material vegetal y agua en proporciones iguales para luego ser trituradas.

Hidrodestilación: En el balón de destilación se agregó el licuado de las hojas de romero a temperaturas altas, donde el vapor caliente atravesó el material vegetal, liberando los compuestos volátiles (aceites esenciales) en forma de vapor y a través del condensador se enfrió y se transformó en una mezcla líquida de agua y aceite.

Condensado: Luego, en el tubo refrigerante se condensó el vapor convirtiéndolo en estado líquido, llevando junto a sí mismo el aceite esencial, por lo que se generó una mezcla de aceite esencial de romero y agua.

Decantación: En este proceso es fundamental separar la mezcla generada en el condensado mediante una pipeta Pasteur de 0,1 mL. Como resultado de esta etapa, se obtuvo el aceite esencial de romero.

Envasado: Se envasó en frascos ámbar de 30 mL.

Almacenamiento: Luego del envasado, se almacenó el frasco ámbar con aceite esencial de romero en un sitio donde no haya presencia de luz solar a refrigeración en 4°C.

(Ver anexo 2)

3.2.5.2.2. Descripción del proceso para obtención del extracto etanólico de las hojas de té verde por el método de maceración.

Recepción de materia prima: En esta etapa se recibió la materia prima, se evitó contaminaciones y se mantuvo el cuidado necesario para no ser mojado.

Selección: En esta etapa se identificó las hojas de té verde en buen estado, es decir, frescas y de buena calidad, las mismas que no presentaron daños físicos o presencia de posible crecimiento fúngico llegando a la obtención del extracto etanólico de té verde (500g).

Secado: El proceso de secado se efectuó mediante el empleo de secadores solares con continuo mezclado manual con el fin de lograr un secado homogéneo.

Triturado: De forma manual se trituró hasta quedar lo más fino posible.

Pesado: Se pesó todas las hojas de té verde obtenidas después del triturado.

Maceración: Se colocó las hojas de té en un Matraz Erlenmeyer de 500 mL para añadir 500 mL de etanol al 98% siendo su relación 2:1.

Reposo: Se dejó las hojas de té a temperatura ambiente en reposo durante 8 días.

Filtrado: Luego de cumplir el tiempo de reposo, se separó el solvente del material vegetal usando un embudo y papel filtro, el residuo resultante de cada maceración fue reutilizado hasta llegar al agotamiento vegetal.

Rotavapor: El líquido filtrado se lo colocó en un rotavapor para la eliminación eficiente y suave de los solventes de las muestras por evaporación para recuperar el etanol al 96% usado y dejar solo el extracto puro de té verde hasta llegar al agotamiento vegetal.

Envasado: Se guardó en un frasco ámbar de 30 mL a 4 °C.

(Ver Anexo 3)

3.2.5.2.3. Determinación de Actividad antimicrobiana del extracto de té verde y aceite esencial de romero.

Para el desarrollo del desinfectante fue fundamental evaluar la capacidad antimicrobiana de las materias primas por separado para conocer las concentraciones que provocaron la inhibición de crecimiento bacteriano. La actividad antimicrobiana se evaluó mediante el método de difusión en agar con discos (Kirby-Bauer) (Bauer et al., 1966), frente a las bacterias *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*.

Para la evaluación, una vez obtenidas las cepas a evaluar se preparó los inóculos seleccionando colonias del cultivo, las cuales fueron suspendidas en una solución de cloruro de sodio estéril al 0,9 %. La concentración de los inóculos bacterianos se ajustó mediante la elaboración del patrón de turbidez McFarland N° 0,5 ($1,5 \times 10^8$ UFC/mL) al utilizar 9,95 mL de ácido sulfúrico al 1% y 0,05 mL de cloruro de bario al 1,175% para su elaboración.

Los ensayos se realizaron en placas con agar Müller-Hinton (bacterias), y sobre las mismas se sembraron 100 μ L de los inóculos con una micropipeta de 100 μ L con la solución de microorganismo correspondiente, el cual se dispersó de manera homogénea a través de toda la superficie del agar usando un asa de Digralsky.

El extracto de hojas de té verde fue disuelto en etanol absoluto a una concentración de 200, 150, 100, 75, 25, 10 y 5 mg/mL, y de igual forma con el aceite esencial de romero.

Para la prueba, los discos para antibiogramas en blanco de 6 mm de diámetro se impregnaron con 20 μ L de cada solución de extracto/aceite. Los discos con las soluciones de prueba se colocaron sobre la superficie del agar de las placas inoculadas. Además, en cada placa, se colocó un disco en blanco impregnado con 20 μ L de etanol como control negativo y como control positivo un disco del antimicrobiano de referencia de marca comercial Oxoid™:

Las placas de ensayo se conservaron en refrigeración a 4 °C durante 30 minutos para facilitar la difusión de los extractos y aceites e inmediatamente después, se incubaron durante 24 horas a 37 °C.

Posteriormente después de 24 horas las placas se revisaron para observar la presencia de zonas de inhibición, ya que esto es considerado como indicador de

actividad antimicrobiana. Los diámetros de los halos se midieron con un calibrador Vernier y los resultados se reportaron en milímetros (mm).

La concentración mínima inhibitoria (CIM) se definió después de 24 horas de incubación al ser evaluados con los extractos y el aceite, se observó la menor concentración que inhibe el crecimiento microbiano visible.

3.2.5.2.4. Proceso de elaboración del desinfectante.

En esta etapa se realizó el desinfectante en base a la formulación diseñada tomando en cuenta la dilución de 250 mg/mL de aceite esencial de romero y extracto de té verde en etanol (Arévalo, *et al*, 2021).

Mezcla del desinfectante: En un frasco de 20 mL con 6 mL de agua destilada y 14 mL etanol, se integraron 5 gr extracto de té verde y aceite esencial de romero para tener una concentración de 250 mg/mL, para corresponder a la formulación anteriormente planteada.

Envase final: Se utilizó un embudo para verter la mezcla en un frasco pequeño de spray y etiquetando con la fecha de fabricación.

Almacenamiento: Se agitó bien la mezcla para asegurar que todos los ingredientes estén bien combinados, permaneció almacenado a temperaturas de 15°C a 25°C.

3.2.5.2.5. Toma de muestra por método de hisopo para superficies inertes.

Para la toma de muestra en las denominadas superficies inertes, se siguió el procedimiento establecido por la Resolución Ministerial Peruana 461-2007 “Guía Técnica Para El Análisis Microbiológico De Superficies En Contacto Con Alimentos Y Bebidas”. Se aplicó el método del hisopo en una superficie regular de un establecimiento cárnico, ubicado en la calle Roberto Serrano 52 S-E, de la ciudad de Guayaquil, según lo establecido por la Resolución Ministerial Peruana 461-2007 “Guía Técnica Para El Análisis Microbiológico De Superficies En Contacto Con Alimentos Y Bebidas”.

Una vez puestos los guantes estériles se procedió a colocar la plantilla (10 cm x 10 cm) sobre la superficie a muestrear, se sumergió el hisopo en suero fisiológico y se presionó ligeramente en la pared del tubo con un movimiento de rotación para quitar el exceso de solución. Con el hisopo inclinado en un ángulo de 30°, se frotó 4 veces la superficie delimitada por la plantilla, cada una en dirección

opuesta a la anterior, asegurando el hisopado en toda la superficie. Luego se colocó inmediatamente el hisopo en un tubo y se cerró herméticamente para evitar contaminación cruzada, se etiquetó el contenedor con la fecha, superficie muestreada y hora. Para su transporte se usó una hielera, puesto que el hisopo fue rápidamente procesado en el laboratorio (Dirección General de Salud Ambiental, 2007).

3.2.5.2.6. Determinación de Control microbiológico de las superficies tratadas con las formulaciones del desinfectante aplicando el método del hisopado.

Los análisis microbiológicos fueron realizados mediante métodos normalizados por organismos internacionales como ISO, AOAC o FDA/BAM, para lo cual se sembró en cajas Petri con agares específicos listos Compact Dry® para Coliformes totales.

Se realizó el conteo de colonias de las cajas Compact Dry® en un contador de colonias. Posteriormente, se procedió a realizar la multiplicación del número de colonias obtenidas (UFC), por el factor de dilución y por el volumen de solución diluyente utilizada al tomar la muestra establecida de 10 mL, luego se dividió este valor para el área de la superficie hisopada o muestreada (100 cm²). El resultado se expresó en UFC / cm² (Dirección General de Salud Ambiental, 2007).

3.2.6 Análisis estadístico

El análisis estadístico que se implementó se basó en un Diseño Completamente al Azar (DCA) con un valor de significancia del 0,05 %, conformado por siete tratamientos, los cuales fueron evaluados por una prueba antimicrobiana *in situ* mediante siembra en agar de discos para cada microorganismo a evaluar, para medir la diferencia significativa entre los valores obtenidos de concentraciones de extracto de hojas de té verde y aceite esencial de romero con efecto antimicrobiano. Además, se aplicó la prueba de Tukey al 5 %.

Tabla 7.**Análisis de varianza de las diferentes concentraciones**

Fuentes de variación	Grados de libertad
Total (n-1)	21-1=20
Factores (B-1)	2-1= 1
Tratamientos (T-1)	7 -1=6
Error experimental (R-1) (T-1)	(3-1) (7-1) = 12

Elaborado por: El Autor, 2024

Tras la obtención de los resultados correspondientes a la determinación de la actividad antibacteriana del extracto etanólico del té verde (*Camellia sinensis*) y el aceite esencial de romero (*Rosmarinus officinalis* L) frente a las bacterias, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, se llevó a cabo un análisis de varianza entre las repeticiones con el fin de evaluar la actividad antibacteriana del desinfectante en la superficie regular inerte frente a *Coliforme totales*. El análisis de varianza se detalla en la tabla 8.

Tabla 8.**Análisis de varianza del conteo formador de colonias.**

Fuentes de Variación	Grados de libertad
Total (n-1)	9-1=8
Factores (B-1)	2-1= 1
Tratamientos (T-1)	2 -1=1
Error experimental (R-1) (T-1)	(3-1) (2-1) = 2

Elaborado por: El Autor, 2024

H0: Ninguna combinación de las hojas de té verde (*Camellia sinensis*) y aceite esencial de romero (*Rosmarinus officinalis* L) tiene efecto antimicrobiano en las superficies.

H1: Al menos una combinación de las hojas de té verde (*Camellia sinensis*) y aceite esencial de romero (*Rosmarinus officinalis* L) tiene efecto antimicrobiano en las superficies.

4. RESULTADOS

4.1 Obtención del aceite esencial de romero (*Rosmarinus officinalis* L) mediante la técnica de hidrodestilación y el extracto etanólico de hojas de té verde (*Camellia sinensis*) por el método de maceración.

Se realizó la obtención del aceite esencial de romero y extracto etanólico de té verde a partir de cada método detallado en la parte metodológica.

Tabla 9.

Rendimiento de las materias primas.

Materia prima	Material vegetal	Disolvente	Cantidad Obtenida	Rendimiento
Té verde (extracto)	50 gr	157,8 g de etanol	4,2 g	2,1 %
Romero (Aceite Esencial)	100 gr	50 g agua	0.546 g	0,55 %

Elaborado por: El Autor, 2024

La tabla 9 detalla el rendimiento de cada materia prima procesada. El rendimiento para la obtención del extracto etanólico de té verde fue de 2,1 % y la recuperación del disolvente empleado para su maceración fue posible por el uso del rotavapor, lo cual resultó más económico y ecológico, además aplicar este método a las hojas de té verde hizo que conserve su color y sus componentes químicos. Por otro lado, el rendimiento de 100 g de hojas de romero para realizar el aceite esencial fue del 0.55%, lo cual es menor debido al método y a que los aceites esenciales no se encuentran en una proporción mayoritaria entre la composición total de la materia vegetal. Los métodos empleados no pueden compararse por tratarse de técnicas dirigidas a la extracción de diferentes compuestos, de distintas polaridades y propiedades.

4.2 Determinación de la actividad antibacteriana del extracto etanólico del té verde (*Camellia sinensis*) y el aceite esencial de romero (*Rosmarinus officinalis* L) de forma individual frente a las bacterias *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* mediante el método de difusión en agar con discos (Kirby-Bauer).

Se realizó la evaluación antibacteriana de 7 concentraciones distintas del extracto etanólico de té verde y el aceite esencial de romero por separado mediante

el método de difusión en agar con discos (Kirby-Bauer). Los resultados se expresan en la tabla 10.

Tabla 10.

Halos de inhibición (mm) del extracto etanólico de té verde y aceite esencial de romero frente a *Escherichia coli*

	T1	Tratamientos					
		T2	T3	T4	T5	T6	T7
Extracto etanólico de té verde	7,33 ± 0,58	-	-	-	-	-	-
Aceite esencial de romero	7,67 ± 1,53	-	-	-	-	-	-

Nota: (-) no presentaron actividad

Elaborado por: El Autor, 2024

Los resultados obtenidos evidencian que tanto el extracto etanólico de té verde como el aceite esencial de romero presentan actividad antibacteriana frente a *Escherichia coli*, pero únicamente a una concentración de 200 mg/mL. Este hallazgo coincide con estudios previos que atribuyen propiedades antimicrobianas a los compuestos fenólicos presentes en ambos productos naturales, como los flavonoides en el té verde y los terpenos en el romero. La ausencia de halos de inhibición en concentraciones inferiores sugiere que la eficacia antimicrobiana está directamente relacionada con la dosis, lo cual es respaldado por el análisis estadístico (ANOVA tipo III), que mostró diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0,001$). El elevado coeficiente de variación indica una alta dispersión en los datos, posiblemente atribuible a factores como la volatilidad del aceite esencial o la estabilidad del extracto durante el proceso experimental. Estos resultados refuerzan el potencial de ambos compuestos como agentes antibacterianos naturales, aunque se requiere mayor investigación para optimizar su formulación y evaluar su eficacia en condiciones clínicas o industriales.

Tabla 11.

Halos de inhibición (mm) del extracto etanólico de té verde y aceite esencial de romero frente a *Staphylococcus aureus*

	T1	Tratamientos					
		T2	T3	T4	T5	T6	T7
Extracto etanólico de té verde	8,37 ± 0,55	-	-	-	-	-	-
Aceite esencial de romero	8,33 ± 1,15	-	-	-	-	-	-

Nota: (-) no presentaron actividad **Elaborado por: El Autor, 2024**

El extracto etanólico de té verde y el aceite esencial de romero tuvieron mayor actividad antibacteriana frente *Staphylococcus aureus* en comparación de la

obtenida frente a *Escherichia coli*, con halos de inhibición de $8.37 \pm 0,55$ mm y de $8,33 \pm 1,15$ mm. El control negativo (20 μ L de etanol) no presentó halos de inhibición. El control positivo (Ampicilina) obtuvo un promedio de halos de inhibición de $28,39 \pm 4,13$. La concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico de té verde y aceite esencial de romero frente a *S. aureus* fue de 200 mg/mL.

4.3 Evaluación de la eficacia del desinfectante elaborado a partir del extracto de té verde (*Camellia sinensis*) y el aceite esencial de romero (*Rosmarinus officinalis* L) aplicando el método del hisopado de superficies inertes en contacto con alimentos como control microbiológico indicado por la guía técnica peruana N 461-2007/MINSA.

La tabla presenta los resultados de la prueba microbiológica del hisopado de superficies regulares inertes acorde a la norma MINSA DIGESA 071.XV.2 sobre coliformes totales. Se incluyen tres evaluaciones: superficie sin limpiar, control positivo y desinfectante. Las pruebas se realizaron por triplicado.

Tabla 12.
Análisis de la prueba microbiológica del hisopado (UFC/cm²) in situ de Coliformes totales.

Repeticiones	Tratamientos		
	Superficie sin tratar	Control Positivo	Desinfectante
R1	20	17	19
R2	28	13	25
R3	31	11	20
Promedio	$26,33 \pm 5,69$	$13,67 \pm 3,06$	$21,33 \pm 3,21$

Elaborado por: El Autor, 2024

La evaluación microbiológica en la superficie sin limpiar de la carnicería muestra el conteo más alto de coliformes totales, con un promedio de $26,33 \pm 5,69$ UFC/cm², lo cual indica una alta contaminación inicial. En cuanto al control positivo, obtuvo un promedio menor con 13.67 UFC/cm². El desinfectante muestra una mayor eficacia que el control positivo con $21,33 \pm 3,21$ UFC/cm².

5. DISCUSIÓN

El objetivo de esta investigación fue evaluar la eficacia antimicrobiana de un desinfectante para la limpieza de superficies, mediante la incorporación de extracto de té verde y aceite esencial de romero en su formulación.

Al obtener las materias primas el rendimiento del extracto etanólico de té verde fue del 2,1%, con recuperación del disolvente gracias al uso del rotavapor, lo que lo hizo más económico y ecológico. La maceración permitió preservar el color y los componentes químicos del té. En cambio, el rendimiento del aceite esencial de romero fue menor (0,55%) debido a la baja proporción de aceites esenciales en la planta y a la técnica de extracción utilizada, tomando en cuenta que su rendimiento promedio es de 0.3% habitual de la planta en relación con la masa vegetal fresca cosechada. En la investigación de Jáuregui (2023) se extrajo el aceite esencial de hojas de *Rosmarinus officinalis* L. mediante hidrodestilación con arrastre de vapor en un equipo tipo Clevenger, colocando las hojas frescas durante 3 horas y deshidratando el aceite con sulfato de sodio anhidro. El rendimiento obtenido fue del 1,1%.

Aunque el rendimiento del aceite esencial de romero en esta investigación fue del 0.55%, Sierra, Márquez y Quiroz (2022) reportaron un rendimiento del 1.77% utilizando hidrodestilación con trampa de Clevenger. Esta diferencia podría atribuirse al uso de materia seca en su estudio, mientras que en el presente trabajo se empleó masa vegetal fresca, lo que influye directamente en la concentración de compuestos volátiles disponibles para la extracción.

El rendimiento del extracto etanólico de té verde obtenido en esta investigación (2.1%) fue inferior al reportado por Hernández-Lozada et al. (2019), quienes alcanzaron un 3.9% bajo condiciones de agitación prolongada durante 18 horas y centrifugación, utilizando 2 g de té verde pulverizado y 10 ml de etanol absoluto obtuvieron el extracto. Esta diferencia puede explicarse por la proporción de materia prima utilizada y la eficiencia del sistema de extracción, lo que refuerza la importancia de optimizar los parámetros técnicos para mejorar el rendimiento.

En base al análisis de los datos se evidencia que las diferencias en los rendimientos de extracción entre el té verde y el aceite esencial de romero se deben a la composición química de las plantas y las técnicas empleadas. El té verde, rico en catequinas, presenta un rendimiento mayor al ser extraído con etanol, un

solvente eficaz. En contraste, el aceite de romero tiene un rendimiento menor debido a la baja proporción de aceites esenciales en la planta y a la hidrodestilación, que, aunque efectiva, no recupera todos los compuestos volátiles. Así, la planta y el método de extracción influyen directamente en la cantidad de principios activos obtenidos. Además, ambos estudios muestran que el rendimiento y la calidad de los extractos dependen en gran medida de las técnicas de extracción utilizadas. La maceración con rotavapor permite una mayor recuperación de solvente y mejor preservación de los compuestos químicos en el caso del té verde. Por otro lado, la hidrodestilación, aunque más simple y económica, puede comprometer la integridad del aceite esencial de romero, resultando en un menor rendimiento y calidad. Esto resalta la importancia de elegir el método adecuado según el compuesto a extraer y su finalidad.

En el presente trabajo se realizó la evaluación antimicrobiana de siete concentraciones de aceite esencial de romero (200, 150, 100, 75, 25, 10 y 5 mg/mL). El mismo estudio lo realizó Fuentes y Montes (2021) a seis concentraciones de aceite esencial de romero, obtenido por arrastre de vapor y diluidas en DMSO (100%, 80%, 60%, 40%, 20% y 10%). Ambos estudios aplicaron el método de difusión en disco (Kirby-Bauer) frente a *Escherichia coli*. El aceite esencial de romero de la presente investigación tuvo actividad antibacteriana frente a *S. aureus*, a diferencia de lo evaluado por Fuentes y Montes. Esto podría ser consecuencia de la diversidad de compuestos químicos que poseen los aceites esenciales, ya que cada planta sintetiza compuestos de acuerdo a su medio ambiente, pudiendo variar entre individuos de una misma especie.

El extracto etanólico de té verde presentó actividad antimicrobiana frente *E. coli* y *S. aureus*, resultados similares a los expuestos por Rahardiyan (2019). La actividad antibacteriana del té verde podría estar relacionada a su composición química polifenólica en especial a la presencia de Galato de epigallocatequina (EGCG), el cual forma complejos con proteínas presentes en las membranas celulares bacterianas, degradándolas. Esta investigación confirma la eficacia del uso del té verde para el futuro desarrollo de biocidas

El aceite esencial de romero de la presente investigación muestra halos de inhibición limitados frente a *E. coli* (7,67 mm) y *S. aureus* (8,33 mm), lo cual difiere de lo observado por Guerrero et al (2023) que obtuvo halos de inhibición de 13,19 mm frente a *S. aureus* y de 9.57 mm para *E. coli*. Esta diferencia podría atribuirse

a la técnica de extracción y los medios de cultivo empleados. Guerrero usa una extracción por arrastre de vapor, la cual podría haber conservado mejor los componentes activos del aceite esencial. Por otra parte, Guerrero utiliza medios de cultivo específicos como Chromocult y PTC para la evaluación antibacteriana lo que podría cambiar la difusión del aceite en el agar.

En este caso García, Hernández y Arenas (2022) mencionan que las catequinas del té verde, particularmente el galato de epigallocatequina (EGCG), poseen propiedades antibacterianas que podrían complementarse con los componentes del romero, como el ácido rosmarínico. Esta sinergia no solo aumentaría la actividad antimicrobiana general, sino que también podría ayudar a reducir la concentración necesaria de cada compuesto, minimizando así el riesgo de toxicidad y promoviendo un uso más seguro de biocidas naturales.

La evaluación del desinfectante elaborado a partir de extracto de té verde y aceite esencial de romero, aplicando el método del hisopado en superficies de una carnicería mostró que la aplicación del desinfectante fue más eficaz en su actividad antibacteriana que el control positivo (etanol al 70%).

Falcó *et al.* (2019) evaluaron la eficacia de nueve aceites esenciales como desinfectantes naturales, destacando el uso de *Tillandsia capitata*, que logró reducir *E. coli* en más de 3 log en superficies como acero inoxidable, vidrio y polipropileno. Aunque el presente estudio se centró en romero y té verde, estos resultados refuerzan el potencial de los aceites esenciales como alternativas ecológicas para la desinfección, especialmente en ambientes donde la higiene es crítica. A pesar que la eficacia del desinfectante depende de factores como el tiempo de contacto y el tipo de superficie, ambas investigaciones confirman que los desinfectantes a base de extractos naturales y aceites esenciales son prometedores como productos biocidas.

Esto se respalda en la investigación de Quispe Cruz (2023), que evidencia que el aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L. presenta una significativa actividad bactericida en concentraciones del 50 % y 100 % tras un minuto de contacto, logrando una eficacia del 100 % en diversos aislamientos bacterianos. Este resultado sugiere que el aceite esencial de romero, al igual que el desinfectante de té verde y romero, puede ser una opción eficaz en comparación con desinfectantes tradicionales, especialmente contra patógenos como

Escherichia coli y *Pseudomonas aeruginosa*, lo que refuerza la necesidad de explorar extractos naturales para aplicaciones desinfectantes efectivas.

La cantidad de coliformes en la superficie tratada con desinfectante (21,33 UFC) es considerablemente menor que en la superficie sin limpiar (26,33 UFC), lo que indica que el desinfectante tiene algún efecto, aunque no es suficiente para eliminar la carga bacteriana a niveles aceptables y la variabilidad en las repeticiones sugiere que el rendimiento del desinfectante puede depender de factores como la técnica de aplicación, el tiempo de contacto, y la naturaleza de la superficie, sin embargo la composición de los aceites esenciales y extractos parece ser fundamental. Según lo mencionado por Nieto et al. (2018), compuestos como el carvacrol y el γ -terpineno son efectivos contra bacterias Gram-negativas, lo que resalta la importancia de los componentes activos en la formulación de desinfectantes. La proporción de estos compuestos podría explicar las variaciones en la eficacia observada. La composición química y la superficie tratada son factores clave para mejorar la efectividad de los desinfectantes naturales. En este contexto, es fundamental seguir investigando y optimizando la formulación de estos desinfectantes para maximizar su capacidad antimicrobiana, lo cual podría contribuir significativamente a la higiene y seguridad en entornos donde la contaminación bacteriana es una preocupación. Además, la integración de diferentes aceites esenciales podría ofrecer sinergias que potencialmente aumenten la eficacia global del desinfectante, abriendo nuevas vías para su aplicación en diversas industrias.

Si bien esta investigación se centró en superficies de contacto alimentario, otros estudios como el de Ríos, García, Hernández y García-Munguía (2021) han demostrado que los extractos vegetales obtenidos por maceración etanólica también pueden ser efectivos como agentes de biocontrol en cultivos agrícolas. En su estudio, extractos de *Maclura pomífera* y *Zingiber officinale* mostraron actividad bactericida frente a *Pseudomonas syringae*, lo que evidencia la versatilidad de los compuestos naturales en diferentes contextos antimicrobianos.

6. CONCLUSIONES

La obtención del extracto de hojas de té verde (*Camellia sinensis*) y del aceite esencial de romero (*Rosmarinus officinalis* L.) se realizó sin dificultades relevantes tanto en su procesamiento y la disponibilidad de materia prima. Ambos productos presentaron rendimientos dentro de los parámetros esperados, destacándose el extracto de té verde con un rendimiento del 2,1%, superior al 0,55% obtenido para el aceite esencial de romero. Cabe señalar que en este estudio se empleó masa vegetal fresca, lo cual influye directamente en la concentración de compuestos volátiles disponibles para la extracción, especialmente en el caso del romero y el empleo del rotavapor permitió recuperar el etanol utilizado durante el proceso, contribuyendo a la optimización de recursos y reducción de costos operativos.

Tanto el extracto de té verde como el aceite esencial de romero demostraron actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, con una concentración mínima inhibitoria (CMI) de 200 mg/mL. Estos resultados evidencian su potencial como fuentes de compuestos con propiedades antimicrobianas debido a los compuestos antibacterianos que poseen como los polifenoles y las catequinas. Además, la mezcla de ambos componentes generó un efecto sinérgico que intensificó su actividad, lo que refuerza su utilidad en formulaciones desinfectantes de origen natural.

La evaluación microbiológica realizada en superficies inertes de una carnicería reveló un alto nivel de contaminación inicial, con un promedio de $26,33 \pm 5,69$ UFC/cm² de coliformes totales en la superficie sin limpiar. El control positivo (etanol al 70%) mostró una reducción significativa, con un promedio de 13,67 UFC/cm². Sin embargo, el desinfectante elaborado a partir de extracto de té verde y aceite esencial de romero presentó una eficacia superior, con un promedio de $21,33 \pm 3,21$ UFC/cm², lo que confirma su capacidad para reducir la carga microbiana. En conjunto, estos hallazgos permiten aceptar la hipótesis planteada: el desinfectante natural logró eliminar eficazmente los microorganismos presentes en las superficies evaluadas, posicionándose como una alternativa viable frente a los desinfectantes químicos convencionales.

7. RECOMENDACIONES

A partir de los resultados obtenidos, se recomienda continuar con estudios complementarios que profundicen en la caracterización fitoquímica de los compuestos presentes en el extracto de té verde y el aceite esencial de romero, además se sugiere utilizar un método más rápido y controlado, o su vez realizar el mismo método de extracción para ambas materias primas a evaluar. Emplear equipos específicos para facilitar la separación con el aceite después de la condensación, ya que esto impacta en la pureza de la muestra almacenada y esto podría reducir el tiempo de destilación y mejorar la calidad del aceite.

Evaluar concentraciones más altas de extracto etanólico de té verde podría resultar un poco difícil debido a la relación de extracto y disolvente, sin embargo, es importante realizar evaluaciones antimicrobianas de extractos frente a diferentes cepas de microorganismos de interés con el fin de determinar su potencial como fuente de compuestos para el desarrollo de diversos productos biocidas, de la misma forma con el aceite esencial.

Se recomienda desarrollar nuevas formulaciones con variaciones en los métodos y proporciones de extracción del té verde y el aceite esencial de romero. También es fundamental verificar la calidad y pureza del desinfectante utilizado y para garantizar que no contribuya a la contaminación microbiológica, además, realizar pruebas adicionales en una mayor variedad de superficies para evaluar el impacto del desinfectante en su eficacia frente a bacterias menos comunes.

Finalmente, se recomienda promover la integración de estos desinfectantes naturales en programas de salud pública, educación ambiental y bioseguridad institucional, especialmente en contextos donde el uso excesivo de productos químicos ha generado resistencia microbiana o efectos adversos en la salud humana. La validación científica de alternativas naturales como las aquí estudiadas puede contribuir a una transición hacia prácticas más responsables y sostenibles. Para ello, será clave establecer alianzas entre universidades, centros de investigación, organismos reguladores y actores del sector productivo, que permitan escalar el impacto de esta propuesta y consolidar su aplicación en entornos reales.

8. BIBLIOGRAFÍA

- Ali, A., Chua , B., & Chow, Y. (2019). An insight into the extraction and fractionation technologies of the essential oils and Bioactive. *Trends in Analytical Chemistry*, 338-351. Obtenido de Trends in Analytical Chemistry: <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.05.040>
- ARCSA. (2017). *Normativa técnica sanitaria para alimentos procesados, plantas procesadoras de alimentos, establecimientos de distribución, comercialización, transporte y establecimientos de alimentación colectiva ARCSA-DE-067-2015-GGG*. . Obtenido de Agencia Nacional de Regulación, Control y Vigilancia Sanitaria: https://www.controlsanitario.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2015/12/Resolucion_ARCSA-DE-067-2015-GGG.pdf
- Arévalo Delgado, J., Cruz Romo, L., Rojas Campiño, F., Rosero Achicanoy, S., & Muñoz , J. (2021). El diseño de productos en Ingeniería de Procesos: Una aplicación en la elaboración de un desinfectante de alimentos a partir de aceite esencial de orégano. *Boletín Informativo CEI*, 8(3), 216–219. Obtenido de <https://revistas.umariana.edu.co/index.php/BoletinInformativoCEI/article/view/2904>
- Asamblea Nacional. (2008). *Constitución de la Republica del Ecuador* . Montecristi: Lexus.
- Asamblea Nacional. (2011). *La Ley Orgánica del Régimen Alimentario*. Obtenido de Suplemento del Registro Oficial No. 583 : chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/<https://www.gob.ec/sites/default/files/regulations/2019-04/LEY%20ORG%C3%81NICA%20DEL%20R%C3%89GIMEN%20DE%20LA%20SOBERAN%C3%8DA%20ALIMENTARIA%20-%20LORSA.pdf>
- Benkova, M., Soukup, O., & Marek, J. (2020). Antimicrobial susceptibility testing: currently used methods and devices and the near future in clinical practice., *Journal of Applied Microbiology*, 129(4), 806 - 822. doi:<https://doi.org/10.1111/jam.14704>
- Beyer, D. M. (2023). *¿Qué es un Desinfectante o Sanitizante?* Obtenido de <https://extension.psu.edu/que-es-un-desinfectante-o-sanitizante>

- Borges, R., Sánchez, B., Matias, A., Keita, H., & Tavares, J. (2019). Rosmarinus officinalis essential oil: A review of its phytochemistry, anti-inflammatory activity, and mechanisms of action involved. *Journal of Ethnopharmacology*, 229, 29-45. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jep.2018.09.038>
- Burgos Carbo, N. E. (2020). Análisis del manejo de prácticas agrícolas para mejorar el rendimiento de la palma aceitera en la zona de Los Ríos. [*Tesis de Pregrado, Universidad Técnica de babahoyo*]. *Archivo digital*, 35. Obtenido de <http://dspace.utb.edu.ec/handle/49000/8364>
- Castro Ibáñez, I., & Gil, M. I. (2018). Hortalizas listas para el consumo: Problemas actuales y posibles soluciones para reducir el riesgo microbiano en la cadena de producción. *LWT Food Science and Technology*, 85, 284-292. doi:<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.11.073>
- Cayo, C., & Cervantes, L. (2020). La actividad antibacteriana de Camellia sinensis comparada con propóleo frente al Streptococcus mutans. (R. c. Estomatología, Ed.) *Rev Cubana Estomatol vol.57 no.1 Ciudad de La Habana*, 57(1).
- Chiu, P., & Shiu Lai, L. (2010). Antimicrobial activities of tapioca starch/decolorized hsian-tsao leaf gum coatings containing green tea extracts in fruit-based salads, romaine hearts and pork slices. *International J Food Microbiol*, 139: 23–30.
- Codex Alimentarius. (2020). Plan Estratégico del Codex 2020-2025. *Organización de las Naciones Unidas para la alimentación y la agricultura*, 24. Obtenido de <https://www.fao.org/documents/card/es/c/CA5645ES>
- Colorado, J., Galeano, E., & Martínez, A. (2007). Desarrollo de la bioautografía directa como método de referencia para evaluar la actividad antimicrobiana de la gentamicina contra Escherichia coli / Development of direct bioautography as reference method for testing antimicrobial activity of gentamicin. *Portal regional da BVS*, 14((1)), 67-71.
- Consejo General de Colegios oficiales de Farmacéuticos. (2006). Catálogo de plantas medicinales. *Consejo General de Colegios oficiales de Farmacéuticos*, 60 - 63.
- Cortés-Higareda, M., Bautista-Baños , S., Ventura-Aguilar, R., Landa-Salgado, P., & Hernández-López, M. (2021). Bacterias patógenas de los alimentos agrícolas frescos y mínimamente procesados. Estado actual en el control del

- género salmonella. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, vol 22(1). Obtenido de <https://www.redalyc.org/journal/813/81367929003/html/#:~:text=Resumen%3A%20Las%20frutas%20y%20hortalizas,países%20en%20donde%20se%20detectan.>
- Dirección general de industria alimentaria. (2005). *Sustainable cultivation of tea*, N. Muraleedharan, UPASI tea research foundation, Buenos Aires. Obtenido de http://64.76.123.202/site/economias_regionales/producciones_regionales/01_origen_vegetal/05_infus
- Dirección General de Salud Ambiental. (2007). *Guía Técnica Para El Análisis Microbiológico De Superficies En Contacto con Alimentos y Bebidas*. http://www.sanipes.gob.pe/normativas/8_RM_461_2007_SUPERFICIES.pdf f: MINSA 461-2007.
- Domingo, D., & López, M. (2003). Plantas de acción antimicrobiana. *Rev Esq Quimioterapia*, 16(4), 385-393. Obtenido de <https://seq.es/seq/0214-3429/16/4/385.pdf>
- Donaghy, J., Jagadeesan, B., Goodburn, K., Grunwald, L., Jensen, O., Jespers, A., . . . Quentin, M. (2019). Relationship of Sanitizers, Disinfectants, and Cleaning Agents with Antimicrobial Resistance. *Journal of Food Protection*, 889 - 902.
- Dufresne , C., & Farnworth , E. (2001). A review of latest research finding on the health promotion properties of tea. *J Nutr Biochem*(12), 404-421.
- Durairaj, J., Radhakrishnan, B., Hudson, J., & Muraleedharan, N. (2019). *Guidelines on Tea Culture in South India (10th Revised Edition)*. Obtenido de <https://www.upasitearesearch.org/product/guidelines-on-tea-culture-in-south-india-10th-revised-edition/>
- Durán, P. (1999). Ingeniería, autocontrol y auditoria en la industria alimentaria. En P. Durán, *Ingeniería, autocontrol y auditoria en la industria alimentaria* (pág. 187). Ediciones Mundi-Prensa; 1er edición.
- Escobedo, J., Villota, J., & Andres, A. (2023). Desarrollo de un desinfectante a partir de aceites esenciales de Orégano de monte y Romero. *Revista Politécnica*(19), 199-211. doi:<https://doi.org/10.33571/rpolitec.v19n38a13>

- Espitia, J., Lozano, L., & Suárez, D. (2022). Efecto bactericida del ácido acético presente en el vinagre, una alternativa a desinfectantes sintéticos o químicos. *Revista Boletín Redipe*, 11(1), 440-451.
- European Commission. (2019). *ec.europa.eu*. Obtenido de https://ec.europa.eu/health/scientific_committees/opinions_layman/triclosan/es/glosario/def/desinfectante.htm
- Falco, I., Verdeguer, M., Aznar, R., & Sánchez, G. (2019). Sanitizing food contact surfaces by the use of essential oils. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 51(November 2019), 220–228. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ifset.2018.02.013>
- Flores, E., Galindo, A., Castañeda, A., & Narro, R. (2020). *Romero (Rosmarinus officinalis L.): su origen, importancia y generalidades de sus metabolitos secundarios*. Obtenido de <https://www.scielo.org.mx/pdf/tip/v23/1405-888X-tip-23-e20200266.pdf>
- Forero, J., & Pabón, G. (2022). Efecto antimicrobiano del té verde en microorganismos de la cavidad bucal. *Revista Odontologica Basandrina*, 6((2)).
- Fuentes, V., & Montes, D. (2021). Actividad antimicrobiana y efecto desinfectante del aceite esencial de *rosmarinus officinalis* (romero) en vegetales de consumo directo. [Tesis de pregrado, Universidad Roosevelt]. Archivo digital. Obtenido de Universidad Roosevelt: <http://hdl.handle.net/20.500.14140/413>
- García R, M., Hernández C, L., & Huertero, F. (2023). Catequinas del té verde: efectos antigenotóxicos y genotóxicos. Revisión sistemática. *Archivos Latinoamericanos de nutrición*, 72(3), 217. doi:<https://doi.org/10.37527/2022.72.3.006>
- González, F., Bravo, L., & Ayala, A. (2020). *Rosmarinus officinalis* L.(Rosemary): An ancient plant with uses in personal healthcare and cosmetics. *MDPI*, 7((4)), 77.
- Guerrero, A., Villota, J., & Escobedo, J. (2023). Desarrollo de un desinfectante a partir de aceites esenciales de Orégano de monte y Romero. *Revista Politecnica*, 19(38).
- Guzmán, C. S. (2022). Evaluación electrométrica y microbiológica de los desinfectantes titan plus 15%, biquat y citrosan utilizados en una planta procesadora de alimentos. *Universidad de Cordoba*, 35.

- Gyawali, R., & Narayan, P. (2022). Herbal Remedies in Cosmeceuticals Formulation: A Review on Nepalese perspectives. *American Journal of Health Sciences AJHS*, 2(1). Obtenido de https://www.researchgate.net/profile/Prem-Paudel/publication/360900983_Herbal_Remedies_in_Cosmeceuticals_Formulation/links/629108f088c32b037b55ae4d/Herbal-Remedies-in-Cosmeceuticals-Formulation.pdf
- Hinostroza, L., & Villaizan, L. (2022). Efecto inhibitorio del aceite esencial de la muña *Minthostachys mollis* y té verde *Camellia sinensis* frente a *Staphylococcus aureus*. *UPLA*, 89. Obtenido de <https://hdl.handle.net/20.500.12848/4172>
- Holah, J. (2018). Cleaning and Disinfection Objectives. *Reference Module in Food Science*, 50 -62. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.21203-1>
- Hugas, M. (2004). Progrma final, libro de resúmenes. *XIV Congreso de microbiología de los alimentos* (pág. 129). Girona: Sociedad Española de Microbiología.
- Huong, L., Huong, T., Huong, N., & Hung, N. (2020). Chemical composition and larvicidal activity of essential oils from *Zingiber montanum* (J. Koenig). *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 19((6)).
- Ingaso Farm. (2019). La epigallocatequina-3-galato del te verde inhibe las células de la granulosa.
- Instituto de Ecología Mexicano. (2023). *Inecol.mx*. Obtenido de <https://www.inecol.mx/inecol/index.php/es/ct-menu-item-25/planta-del-mes/37-planta-del-mes/596-camellia-sinensis>
- Jumique, A. (2023). Beneficios del romero: para qué sirve, propiedades y sus contraindicaciones. *Prensa Libre*, págs. <https://www.prensalibre.com/vida/salud-y-familia/beneficios-del-romero-para-que-sirve-propiedades-y-sus-contraindicaciones/>.
- Kumudavally, Phanindrakumar, Tabassum, A., Radhakrishna, K., & Bawa, A. (2008). Green tea - A potential preservative for extending the shelf life of fresh mutton at ambient temperature. *Food Chem*, 107: 426–433.
- López Aguirre, S., Pinos Rogriguez, J., Álvarez Fuentes, G., Garcia López, J., & Méndez Cortes, H. (2022). Uso potencial de extractos de Creosote bush (*Larrea tridentata*) como desinfectante sobre *Salmonella typhimurium* en

- instalaciones avícolas. *Informacion Técnica Económica Agraria*, 294-305.
doi:<https://doi.org/10.12706/itea.2020.004>
- Lopez, T. (2004). Los aceites esenciales, Aplicaciones farmacológicas, cosméticas y alimentarias. *Offarm*, 81-91.
- Lozano, R. B. (2022). Obtenido de <https://repositorio.zegelipae.edu.pe/handle/20.500.13065/310>
- Luengo, T. L. (2002). El té verde. *Offarm*, 129-132. Obtenido de <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-el-te-verde-13032231#:~:text=Los%20principales%20principios%20activos%20a,%2C%20teobromina%2C%20adenina%20y%20xantina.>
- Maes, S., Heyndrickx, M., Vackier, T., Steenackers, H., Verplaetse, A., & De Reu, K. (2019). Identification and Spoilage Potential of the Remaining Dominant Microbiota on Food Contact Surfaces after Cleaning and Disinfection in Different Food Industries. *Journal of Food Protection*, 262-275.
- Martinez , A., Funosas, E., & Pignolo, M. (2019). Efectividad del té verde en el tratamiento de periodontitis crónica. *Avances en Odontoestomatología*, 14-15.
- Ministerio de agricultura y alimentación. (2022). *mapa.gob.ec*. Obtenido de https://www.mapa.gob.es/es/ministerio/servicios/informacion/romero_tcm30-102884.pdf
- Moncayo, S., Cornejo, X., Castillo, J., & Valdez, V. (2021). Tamizaje fitoquímico preliminar de actividad antioxidante y contenido de fenoles y flavonoides de 18 especies de plantas nativas del occidente del Ecuador. *Trends in Phytochemical Research (TPR)*, 5(2), 47-61.
doi:<https://doi.org/10.30495/tpr.2021.1922658.1196>
- Mora, A., Parra, J., Arias, M., & Chaverri, J. (2013). Determinación de la capacidad antimicrobiana del té verde (*Camellia sinensis*) contra los agentes potencialmente patógenos *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Candida albicans* y *Aspergillus niger*. *ALAN Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 63(3), 50 - 62.
- Moreira, S., Alexandre , E., Pintado, M., & Saraiva, J. (2019). Effect of emergent non-thermal extraction technologies on bioactive individual compounds

- profile from different plant materials. *Food Research International*, 177-190. doi:<https://doi.org/10.1155/2017/9305047>
- Munizaga, M., Alvarez, E., Hempel, S., Sat-Yaber, M., Carranza, F., & Terán, K. (2021). Desinfección de Alicates de Ortodoncia. Actualización de Recomendaciones en Contexto de COVID-19. Revisión de la Literatura. *International journal of odontostomatology*,, 602-209.
- Ncube, N., Afolayan, A., & Okoh, A. (2018). Assessment techniques of antimicrobial properties of natural compounds of plant origin: current methods and future trends. *African Journal of Biotechnology*, 7((12)), 1797.
- Nieto, G., Ros, G., & Castillo, J. (1 de junio de 2018). *Propiedades antioxidantes y antimicrobianas del romero (Rosmarinus officinalis, L.)*. Obtenido de <https://doi.org/10.3390/medicines5030098>
- Pacheco, F. (2021). Extracción de compuesto fenólicos-actividad antioxidante en té verde. *Investigaciones Biomédicas (BIOMED-UC) "Dr. Francisco J. Triana Alonso"*, 5-6. Obtenido de https://www.researchgate.net/profile/Franklin-Coello/publication/349763950_Extraccion_de_compuesto_fenolicos-actividad_antioxidante_en_te_verde_Camellia_sinensis_bajo_un_diseno_factorial_3x3/links/6040cf604585154e8c758d84/Extraccion-de-compuesto-fenolicos
- Parra, H., & Ricardo, A. (2022). Efecto del té verde (*Camellia sinensis* L.) en las características fisicoquímicas, microbiológicas, proximales y sensoriales de yogurt durante el almacenamiento bajo refrigeración. *Limientech, Ciencia y tecnología Alimentaria*, 11(1), 65.
- Peirón, M. (2018). El impacto ambiental de los detergentes convencionales. *Opciones, Higiene y Cosmética*,. 1-6.
- Pérez, E., & Rivas, A. (2022). *Determinación de la sensibilidad de*. Valencia: Universitat Politècnica de València.
- Pinar, A. (2019). Métodos para evaluar susceptibilidad antimicrobiana. *Favet*, 32 - 52.
- Quispe Cruz, M. L. (2023). *Universidad Nacional de Cajamarca*. Obtenido de <http://hdl.handle.net/20.500.14074/5883>
- Rabán, M. C. (2021). *Universidad Nacional de Luján*. Obtenido de <https://ri.unlu.edu.ar/xmlui/bitstream/handle/rediunlu/1736/3%20-%2041%20->

%20JORNET%20RABAN%2c%20MARIA%20CLAUDIA.pdf?sequence=1&isAllowed=y

- Rahardiyan, D. (2019). *Antibacterial potential of catechin of tea (Camellia sinensis) and its applications* . Obtenido de Food Research 3 (1) : https://www.myfoodresearch.com/uploads/8/4/8/5/84855864/_1__fr-2018-097_rahardiyan.pdf
- Ramirez, L. S. (2009). METODOLOGIAS PARA EVALUAR IN VITRO LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA. *Scientia et Technica*, 263. Obtenido de <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/4713047.pdf>
- Ríos, E., García, A., Hernández, O., & García-Munguía, C. (2021). Actividad antimicrobiana de extractos de Zingiber officinale y Maclura pomifera sobre Pseudomona syringae. *Revista Mexicana de Ciencias Agropecuarias*, 12((2)), 247 -262.
doi:<https://cienciasagricolas.inifap.gob.mx/index.php/agricolas/article/view/2446>
- Rojas, J., García, A., & López, A. (2005). EVALUACIÓN DE DOS METODOLOGÍAS PARA DETERMINAR LA ACTIVIDAD. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de plantas medicinales y aromáticas*, 28-32.
- Rozman, T., & Jersek. (2009). Antimicrobial activity of rosemary extracts (Rosmarinus officinalis L.) against different. *Acta Agrícola Slovenia*(93), 51-58.
- Rutala, W., Barbee, S., Aguiar, N., Weber, D., & Sobsey, M. (2000). Antimicrobial activity of home disinfectants and natural products against potential human pathogens. *National Library of Medicine*, 33-8.
- Schneegans, N., López, V., Martínez, O., Guillén, D., & Rivas, P. (2022). Potencial de extracto de cítricos como desinfectante en la prevención de SARS-CoV-2. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 39.
- Sistema Integrado de Información Taxonómica. (1999). *academia-lab.com*. Obtenido de <https://academia-lab.com/enciclopedia/sistema-integrado-de-informacion-taxonomica/>.
- Sistema Integrado de Información Taxonómica. (17 de sep de 2015). *SIIT * América del Norte* . Obtenido de http://www.cbif.gc.ca/pls/itisca/next?v_tsn=506801&p_ifx=&p_lang=es

- Sornoza, W. G. (2014). *Tesis de Grado*. Obtenido de Universidad de Guayaquil: <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/7195>
- Sosa, R., Navarro, A., Vera, O., Dávila, R., Melgoza, N., & Meza, R. (2018). Romero (Rosmarinus officinalis L.): una revision de sus usos no culinarios. *Ciencia y Mar*, 11-12.
- Tong, C., Hong, H., Gang, C., Zhengyan, L., Aifeng, L., & Jianye, Z. (2021). Disinfectant resistance in bacteria: Mechanisms, spread, and resolution strategies. *Environmental Research*, 195, 121 -131. doi:<https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.110897>
- Vaca, E., Vazquez, J., & Costilla, N. (2023). Chemical composition and anti-proliferative activity of essential oils from some medicinal plants from Cachicadán, Región La Libertad. *Natural product research*, 1-6.
- Vargas, M. (2022). Evaluación de prácticas de higiene y condiciones de infraestructura en mercados de abastos de la región Amazonas. (Tesis de Pregrado). *Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas, Chachapoyas, Perú*.
- Vázquez, C., Sánchez, V., Zamora, S., & Sonia, S. (2022). Productos Vegetales. *Alimentos vegetales Autóctonos iberoamericanos*(<https://alimentos-autoctonos.fabro.com.mx/flor-de-jamaica.html>).
- Vázquez, L. (2019). *Nutrición Hospitalaria*. Obtenido de https://scielo.isciii.es/scielo.php?pid=S0212-16112017000300731&script=sci_arttext&tlng=pt
- Vazquez, M. (2022). *Pruebas de sensibilidad o antibiogramas*. Obtenido de Manual MSD: <https://www.msdmanuals.com/es/professional/enfermedades-infecciosas/diagnóstico-de-laboratorio-de-las-enfermedades-infecciosas/pruebas-de-sensibilidad-o-antibiogramas>
- Vinson J, Dabbaghy Y, Serry M, & Jang J. (1995). Plant flavonoids, especially tea flavonols, are powerful antioxidants using an in vitro oxidation model for heart disease. *Journal Agric food Science*(43), 2800-2802.
- Xingtang, Z., Chen, S., Shi, L., Gong, D., Zhang, S., Zhao, Q., . . . Minsheng, Y. (2021). Haplotype-resolved genome assembly provides insights into evolutionary history of the tea plant *Camellia sinensis*. *Nature Genetics*, 1250-1259. doi:<https://doi.org/10.1038/s41588-021-00895-y>

- Yin, D., Guo, Y., Li, M., Wu, W., Tang, J., Liu, Y., . . . Hu, F. (2021). Performance of VITEK 2, E-test, Kirby-Bauer disk diffusion, and modified Kirby-Bauer disk diffusion compared to reference broth microdilution for testing tigecycline susceptibility of carbapenem-resistant *K. pneumoniae* and *A. baumannii* in a multicenter st. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 1149-1154.
- Zamora, M., Leobardo, O., & González, R. (2022). Disinfectants effectiveness in Tomato brown rugose fruit virus (ToBRFV) transmission in tobacco plants. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 40((2)).

9. Anexos

Anexo N°1: Descripción de la norma MINSA 461-2007

GUÍA TÉCNICA PARA EL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE SUPERFICIES EN CONTACTO CON ALIMENTOS Y BEBIDAS

1. Finalidad

La presente Guía Técnica tiene por finalidad contribuir a asegurar la calidad sanitaria indispensable en la fabricación, elaboración y expendio de alimentos y bebidas destinados al consumo humano y a la implementación del Sistema de Análisis de Peligros y de Puntos Críticos de Control (HACCP: Hazard Analysis and Critical Control Points).

2. Objetivos

2.1. Uniformizar los procedimientos que se deben aplicar en la selección, toma de muestras y para los análisis microbiológicos de superficies vivas e inertes.

2.2. Establecer los límites microbiológicos para evaluar las condiciones higiénicas sanitarias de las superficies vivas e inertes que entran en contacto con los alimentos y bebidas.

2.3. Proporcionar a la Autoridad Sanitaria un instrumento para evaluar la efectividad de los Programas de Higiene y Saneamiento (PHS) y de Buenas Prácticas de Higiene en la manipulación de los alimentos.

3. Ámbito de aplicación

La presente Guía Técnica es de obligatorio cumplimiento en todo el territorio nacional, para efectos de vigilancia y control sanitario por parte de la Autoridad Sanitaria, según el ámbito de su competencia. Asimismo, la presente Guía Técnica podrá ser utilizada referencialmente por personas naturales o personas jurídicas en las operaciones de control sanitario que realicen.

4. Procedimientos a estandarizar

La presente Guía Técnica estandariza los procedimientos para la selección, toma de muestras y análisis microbiológicos; y establece los límites microbiológicos para superficies que están en contacto o relación directa con los alimentos.

5. Definiciones Operativas

Análisis microbiológico: Procedimiento que se sigue para determinar la presencia, identificación, y cantidad de microorganismos patógenos e indicadores de contaminación en una muestra.

Calidad sanitaria: Es el conjunto de requisitos microbiológicos, físico-químicos y organolépticos que debe cumplir un alimento para ser considerado inocuo y apto para el consumo humano.

Límites microbiológicos: Son los valores permisibles de microorganismos presentes en una muestra, que indican la aceptabilidad higiénico sanitaria de una superficie.

Gel refrigerante: Producto acumulador de frío, de descongelamiento retardado, no tóxico, no comestible y reutilizable que se emplea para mantener la cadena de frío.

Hisopo: Instrumento que tiene un extremo recubierto de algodón o de rayón estéril que se utiliza humedecido con solución diluyente para facilitar la recuperación bacteriana, en el muestreo de superficies.

Manipulador de alimentos: Toda persona que a través de sus manos toma contacto directo con alimentos envasados o no envasados, equipos y utensilios utilizados para su elaboración y preparación o con superficies que están en contacto con los alimentos.

Guía Técnica para el Análisis Microbiológico de Superficies en Contacto con Alimentos y Bebidas

Analytical Manual), Comisión Internacional de Especificaciones Microbiológicas para Alimentos (ICMSF: International Commission on Microbiological Specifications for Foods), Asociación Americana para la Salud Pública / Compendio de Métodos para el Análisis Microbiológico de Alimentos (APHA/CMMEF: American Public Health Association / Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods), entre otros; utilizando la técnica de recuento en placa.

Cálculo y expresión de resultados

a) Cálculo

Para superficies regulares: el número de colonias obtenidas (ufc) se multiplicará por el factor de dilución y por el volumen de solución diluyente utilizada en el muestreo (10 mL) y se dividirá entre el área de la superficie hisopada o muestreada (100 cm²).

Para superficies irregulares: el número de colonias obtenido (ufc) se multiplicará por el factor de dilución y por el volumen de la solución diluyente usada.

b) Expresión de resultados

Los resultados se expresarán:

- Para superficies regulares en: ufc / cm².

- Para superficies irregulares en: ufc/ superficie muestreada (ej. cuchilla de licuadora, cuchara, etc.). Se deberá expresar la cantidad de superficies muestreadas. (ej. ufc/ 4 cucharas).

c) Interpretación de resultados de acuerdo a los límites microbiológicos

SUPERFICIES INERTES				
MÉTODO HISOPO	Superficie Regular		Superficie Irregular	
ENSAYO	Límite de Detección del Método	Límite Permisible (*)	Límite de Detección del Método	Límite Permisible (*)
Coliformes totales	< 0,1 ufc / cm ²	< 1 ufc / cm ²	< 10 ufc / superficie muestreada	< 10 ufc / superficie muestreada
Patógeno	Ausencia / superficie muestreada en cm ² (**)	Ausencia / superficie muestreada en cm ² (**)	Ausencia / superficie muestreada	Ausencia / superficie muestreada

(*) En las operaciones analíticas, estos valores son indicadores de ausencia.

(**) Indicar el área muestreada, la cual debe ser mayor o igual a 100 cm².

8.3. Procedimiento para el control microbiológico con aplicación del método de la esponja

Procedimiento de análisis microbiológico

Sea por métodos rápidos o convencionales, los ensayos microbiológicos se realizarán utilizando métodos normalizados por organismos internacionales como la ISO, AOAC, FDA/BAM, ICMSF, APHA/CMMEF, entre otros; utilizando la técnica de recuento en placa.

Cálculo y expresión de resultados

a) Cálculo

Para superficies regulares: el número de colonias obtenidas (ufc) se multiplicará por el factor de dilución y por el volumen de solución diluyente utilizada en el muestreo (100 mL) y se dividirá entre el área de la superficie muestreada (100 cm²).

Para superficies irregulares: el número de colonias obtenido (ufc) se multiplica por el factor de dilución y por el volumen de solución diluyente utilizado en el muestreo (100 mL) y se divide entre las 4 superficies muestreadas (ej. cuchillas de licuadoras, utensilios como cucharas, vasos, etc.).

b) Expresión de resultados

Los resultados se expresarán:

- Para superficies regulares: ufc/ cm²
- Para superficies irregulares: ufc/ superficie muestreada (ej. cuchilla de licuadora, cubierto, etc).

c) Interpretación de resultados de acuerdo a los límites microbiológicos

SUPERFICIES INERTES				
MÉTODO ESPONJA	Superficie Regular		Superficie Irregular	
ENSAYO	Límite de Detección del Método	Límite Permisible (*)	Límite de Detección del Método	Límite Permisible (*)
Coliformes totales	< 1 ufc / cm ²	< 1 ufc / cm ²	< 25 ufc / superficie muestreada (**)	< 25 ufc / superficie muestreada (**)
Patógeno	Ausencia / superficie muestreada en cm ² (***)	Ausencia / superficie muestreada en cm ² (***)	Ausencia / superficie muestreada	Ausencia / superficie muestreada

(*) En las operaciones analíticas, estos valores son indicadores de ausencia.

(**) Para 4 utensilios.

(***) Indicar el área muestreada, la cual debe ser mayor o igual a 100 cm².

8.4. Procedimiento para el control microbiológico con aplicación del método del enjuague

Procedimiento de análisis microbiológico

Sea por métodos rápidos o convencionales, los ensayos microbiológicos se realizarán utilizando métodos normalizados por organismos internacionales como la ISO, AOAC, FDA/BAM, ICMSF, APHA/CMMEF, entre otros; utilizando la técnica de recuento en placa.

Cálculo y expresión de resultados**a) Cálculo**

Para superficies vivas: el número de colonias obtenidas (ufc) se multiplicará por el factor de dilución y por el volumen de solución diluyente utilizada en el muestreo (100 mL).

Para objetos pequeños o para el muestreo de superficies interiores de envases, botellas, bolsas de plástico, entre otros, el número de colonias obtenido (ufc) se multiplica por el factor de dilución y por el volumen de solución diluyente utilizado en el muestreo (100 mL) y se divide entre las 4 superficies muestreadas (ej. envases, bolsas de plástico).

b) Expresión de resultados

Los resultados se expresarán:

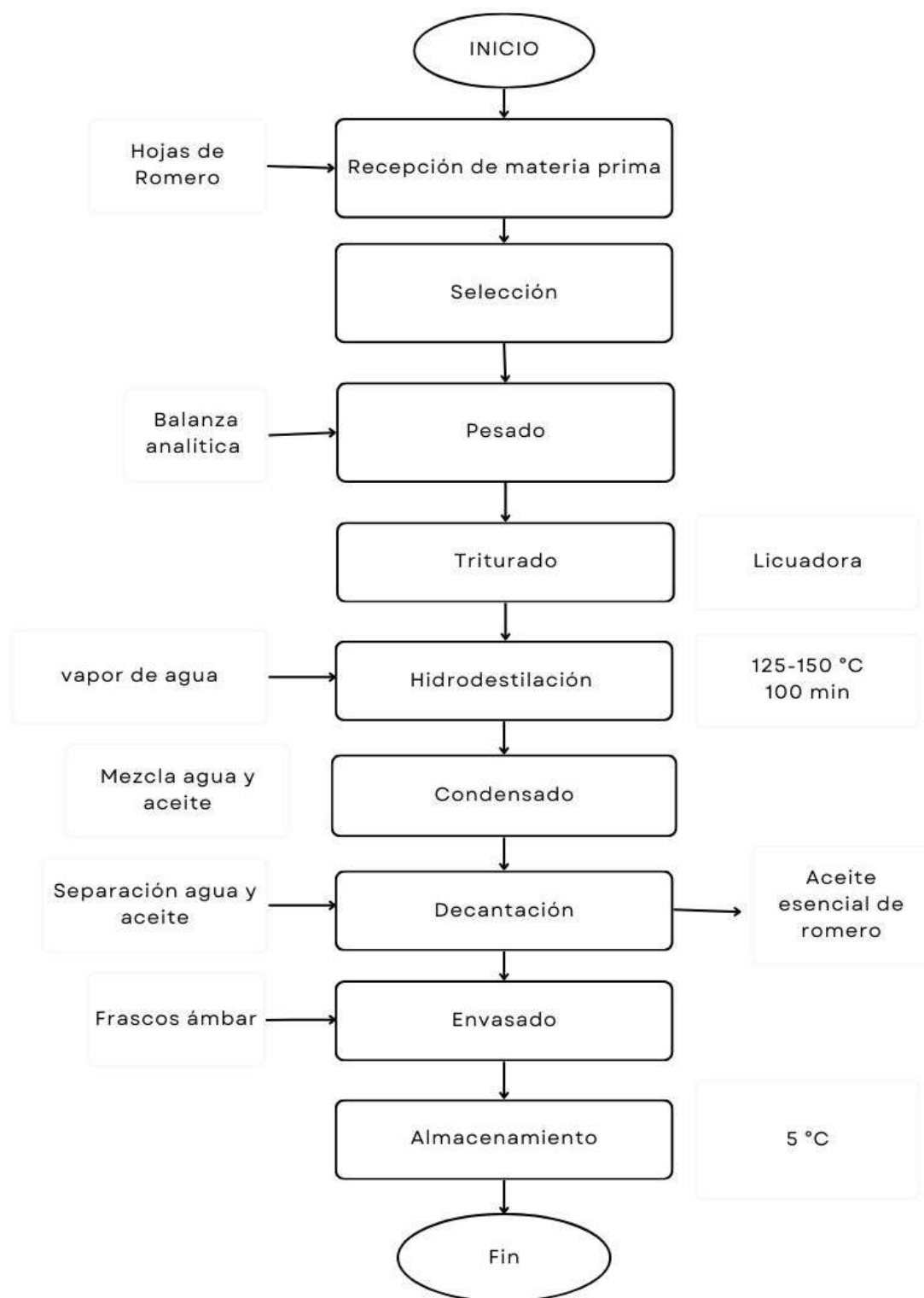
- Para superficies vivas: ufc/ manos.
- Para superficies internas: ufc/ superficie muestreada (ej. envases, bolsas de plástico, etc).

c) Interpretación de resultados de acuerdo a los límites microbiológicos

SUPERFICIES				
MÉTODO ENJUAGUE	Vivas		Pequeñas o Internas	
ENSAYO	Límite de Detección del Método	Límite Permisible (*)	Límite de Detección del Método	Límite Permisible (*)
Coliformes totales	< 100 ufc / manos	< 100 ufc / manos	< 25 ufc / superficie muestreada (**)	< 25 ufc / superficie muestreada (**)
<i>Staphylococcus aureus</i>	< 100 ufc / manos	< 100 ufc / manos	--	--
Patógeno	Ausencia / manos	Ausencia / manos	Ausencia / superficie muestreada	Ausencia / superficie muestreada

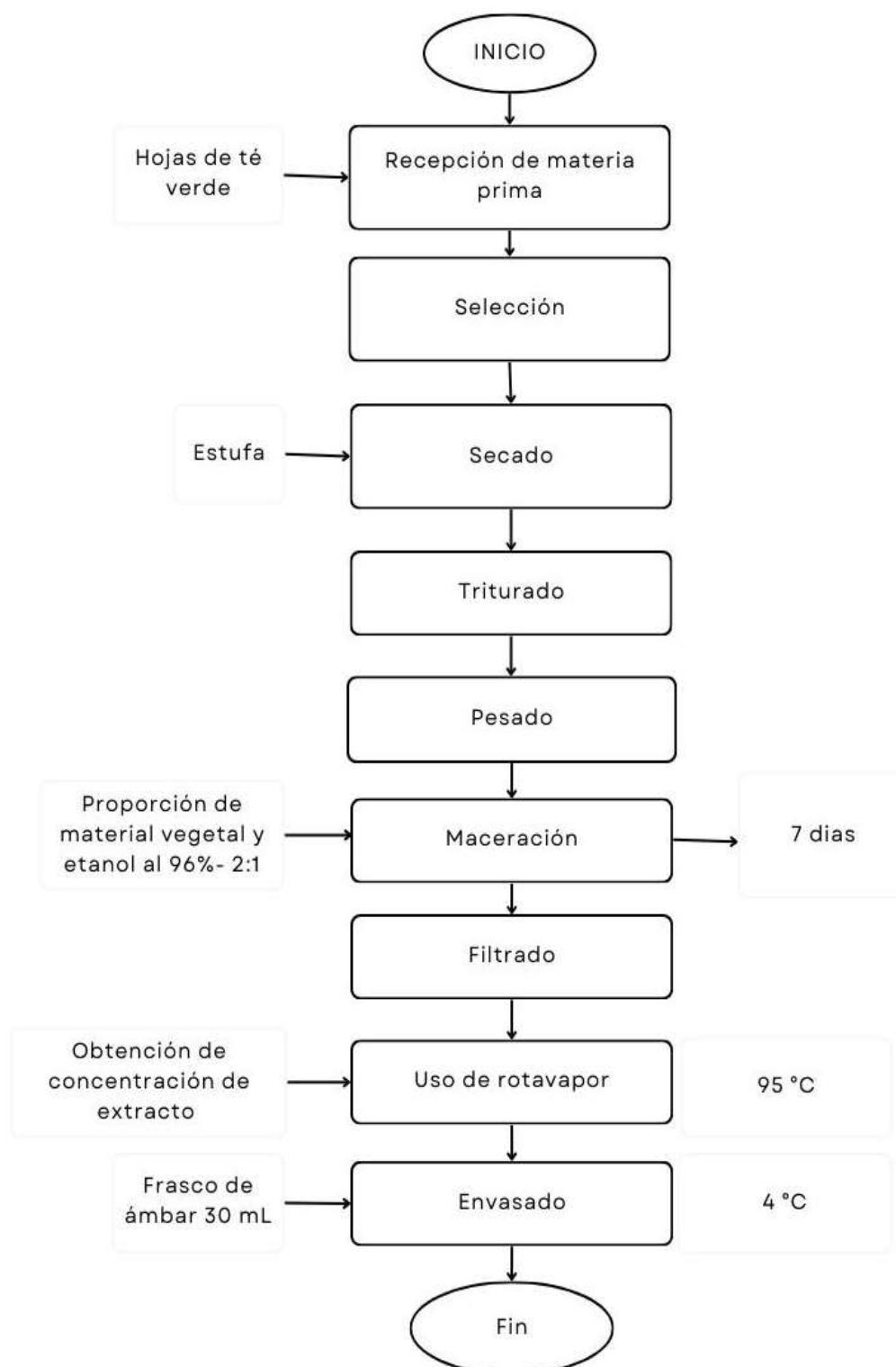
(*) En las operaciones analíticas, estos valores son indicadores de ausencia.

(**) Para 4 utensilios.

Anexo N°2: Proceso de obtención de aceite esencial de romero

Elaborado por: El Autor, 2024

Anexo N°3: Flujograma del proceso para obtención extracto de hojas de té verde



Elaborado por: El Autor, 2024

Anexo N°4: Halos de inhibición de la evaluación antimicrobiana de aceite esencial de romero frente a *Escherichia coli*

Repeticiones	Tratamientos									
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	AP1	AP2	AP3
R1	9	0	0	0	0	0	0	30	25	24
R2	8	0	0	0	0	0	0	29	26	22
R3	6	0	0	8	0	0	0	25	29	23

Elaborado por: El Autor, 2024

Anexo N°5: Halos de inhibición de la evaluación antimicrobiana de té verde frente a *Escherichia coli*

Repeticiones	Tratamientos									
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	AP1	AP2	AP3
R1	8	0	0	0	0	0	0	21	21	26
R2	7	0	0	0	0	0	0	27	23	28
R3	7	0	0	8	0	0	0	24	26	24

Anexo N°6: Halos de inhibición de la evaluación antimicrobiana de té verde frente a *Staphylococcus aureus*

Repeticiones	Tratamientos									
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	AP1	AP2	AP3
R1	9	0	0	0	0	0	0	29	32	26
R2	10	0	0	0	0	0	0	32	31	27
R3	8	0	0	8	0	0	0	22	22	23

Elaborado por: El Autor, 2024

Anexo N°7: Halos de inhibición de la evaluación antimicrobiana de aceite esencial de romero frente a *Staphylococcus aureus*

Repeticiones	Tratamientos									
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	AP1	AP2	AP3
R1	9	0	0	0	0	0	0	35	30	27
R2	7	0	0	0	0	0	0	32	34	25
R3	9	0	0	8	0	0	0	32	29	28

Elaborado por: El Autor, 2024

Anexo N°8: Análisis estadísticos

Análisis de la varianza

Staphylococcus aureus

Aceite de Romero (A.I)

Variable	N	R ²	R ²	Aj	CV
Aceite de Romero (A.I)	21	0,82	0,75	107,26	

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	220,95	6	36,83	10,89	0,0001
Tratamientos	220,95	6	36,83	10,89	0,0001
Error	47,33	14	3,38		
Total	268,29	20			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=5,12639

Error: 3,3810 gl: 14

Tratamientos	Medias	n	E.E.	
T2	0,00	3	1,06	A
T5	0,00	3	1,06	A
T6	0,00	3	1,06	A
T3	0,00	3	1,06	A
T7	0,00	3	1,06	A
T4	0,00	3	1,06	A
T1	9,33	3	1,06	B

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

Elaborado por: El Autor, 2024

Extracto de Té verde (A.I)

Variable	N	R ²	R ²	Aj	CV
Extracto de Té verde (A.I) ..	21	0,82	0,75	107,17	

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	206,00	6	34,33	10,76	0,0001
Tratamientos	206,00	6	34,33	10,76	0,0001
Error	44,67	14	3,19		
Total	250,67	20			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=4,97990

Error: 3,1905 gl: 14

Tratamientos	Medias	n	E.E.	
T6	0,00	3	1,03	A
T5	0,00	3	1,03	A
T3	0,00	3	1,03	A
T2	0,00	3	1,03	A
T7	0,00	3	1,03	A
T4	0,00	3	1,03	A
T1	9,00	3	1,03	B

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

Elaborado por: El Autor, 2024

Escherichia coli**Aceite de Romero (A.I)**

Variable	N	R ²	R ²	Aj	CV
Aceite de Romero (A.I)	21	0,83	0,76	104,36	

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	236,48	6	39,41	11,66	0,0001
Tratamientos	236,48	6	39,41	11,66	0,0001
Error	47,33	14	3,38		
Total	283,81	20			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=5,12639

Error: 3,3810 gl: 14

Tratamientos	Medias	n	E.E.	
T6	0,00	3	1,06	A
T2	0,00	3	1,06	A
T5	0,00	3	1,06	A
T3	0,00	3	1,06	A
T7	0,00	3	1,06	A
T4	0,00	3	1,06	A
T1	0,00	3	1,06	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)**Extracto de Té verde (A.I)**

Variable	N	R ²	R ²	Aj	CV
Extracto de Té verde (A.I) ..	21	0,76	0,66	123,15	

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	139,81	6	23,30	7,53	0,0009
Tratamientos	139,81	6	23,30	7,53	0,0009
Error	43,33	14	3,10		
Total	183,14	20			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=4,90501

Error: 3,0952 gl: 14

Tratamientos	Medias	n	E.E.	
T2	0,00	3	1,02	A
T6	0,00	3	1,02	A
T3	0,00	3	1,02	A
T7	0,00	3	1,02	A
T5	0,00	3	1,02	A
T4	0,00	3	1,02	A
T1	7,33	3	1,02	B

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

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
Resultado	6	7,50	1,05	0,96	0,8387

Elaborado por: El Autor, 2024

Prueba T para muestras Independientes

Clasific	Variable	Grupo 1		Grupo 2		n(1)	n(2)	Media(1)
Media(2)	Media(1)-Media(2)	LI(95)	LS(95)	pHomVar	T	p-valor	prueba	
COMPUESTO	Resultado {esencial de romero}	{extracto de té}				3	3	7,67
7,33	0,33	-2,28	2,95	0,2500	0,35	0,7415	Bilateral	

Elaborado por: El Autor, 2024

Evaluación de las 3 formulaciones de desinfectante Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
F. Desinfectante	15	0,99	0,99	4,80

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	8464,93	2	4232,47	484,63	<0,0001
Tratamientos	8464,93	2	4232,47	484,63	<0,0001
Error	104,80	12	8,73		
Total	8569,73	14			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=4,98636

Error: 8,7333 gl: 12

Tratamientos	Medias	n	E.E.	
T2	29,20	5	1,32	A
T1	69,80	5	1,32	B
T3	85,60	5	1,32	C

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

Elaborado por: El Autor, 2024

Anexo N°9: Preparación extracto etanolico y aceite esencial

Maceración de té verde



Proceso de maceración de hojas de té verde en etanol

Elaborado por: El Autor, 2024

Purificación de la maceración



Elaborado por: El Autor, 2024

Pesado de materiales para extracción de aceite esencial y pesado inicial de hojas de romero.



Elaborado por: El Autor, 2024

Instalación del equipo para la hidro destilación.



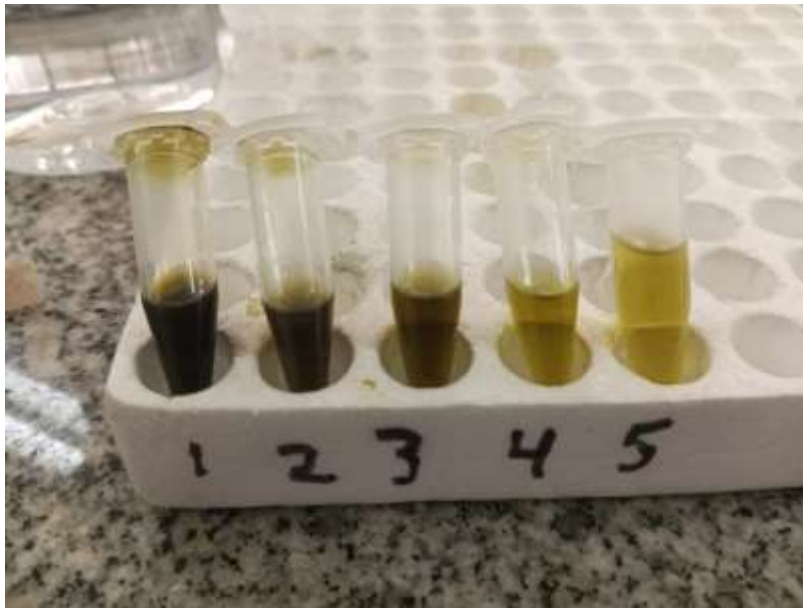
Elaborado por: El Autor, 2024

Anexo N°10: *Evaluación de pruebas antibacteriana de aceite esencial de romero y extracto etanolico de té verde.*

Pesado de medio de cultivo.



Elaborado por: El Autor, 2024
Diluciones de té verde.



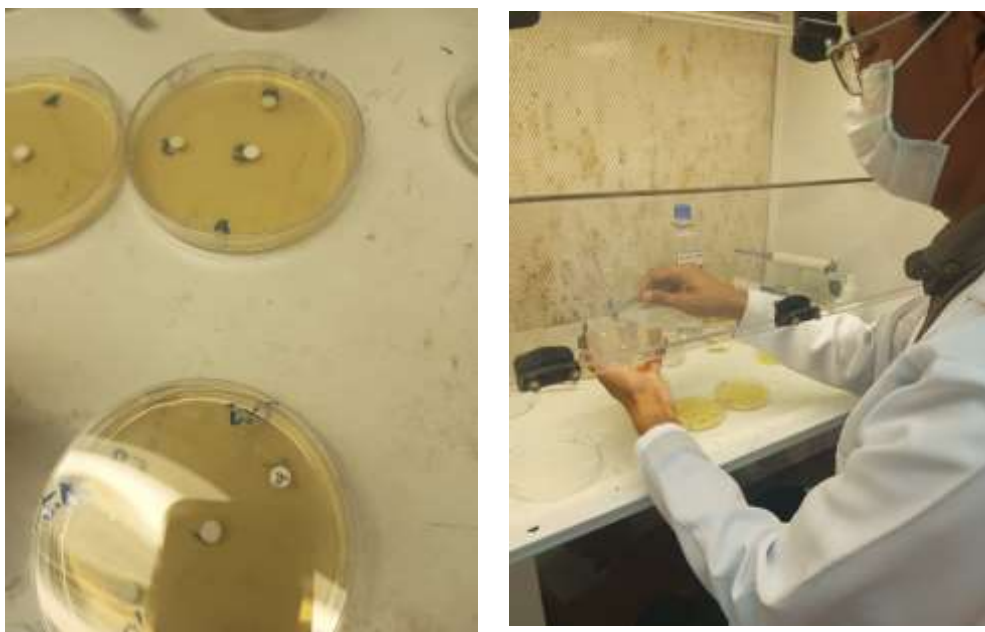
Elaborado por: El Autor, 2024

Tubos para siembra de microorganismos



Elaborado por: El Autor, 2024

Elaboración de repeticiones de antibiograma de aceite esencial de romero.



Elaborado por: El Autor, 2024

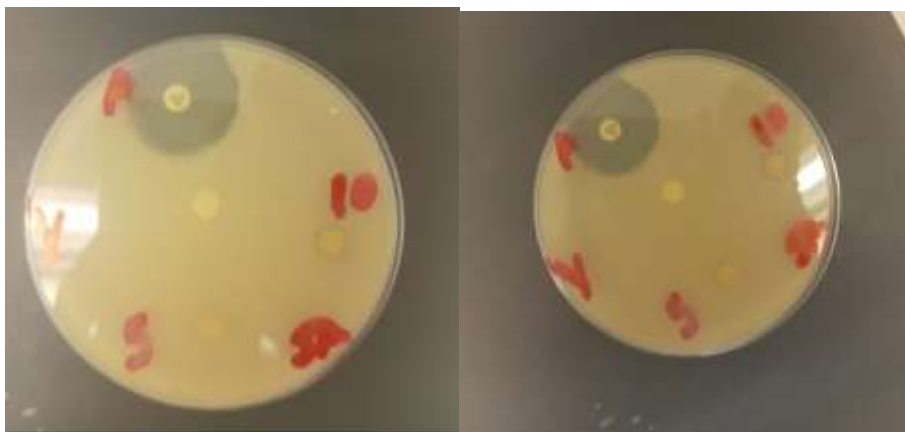
Anexo N°11: Resultados de pruebas antibacterianas

Disco antibiograma de aceite esencial en *E. Coli*.



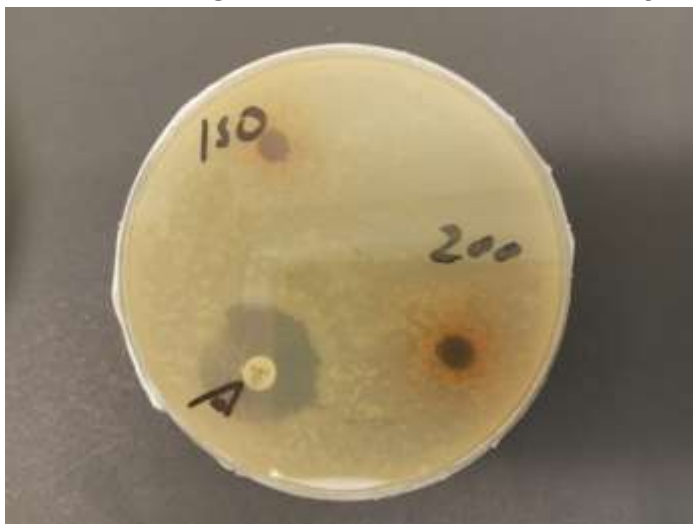
Elaborado por: El Autor, 2024

Disco antibiograma de aceite esencial de romero en *S. aureus*



Elaborado por: El Autor, 2024

Disco antibiograma de té verde de 100,50 y 25 frente a *E. coli*



Elaborado por: El Autor, 2024

Disco antibiograma de aceite esencial de romero frente a *S. aureus*



Elaborado por: El Autor, 2024

Anexo N°12: Evaluación de la actividad antibacteriana del desinfectante

Toma de muestras en la superficie cárnica.



Elaborado por: El Autor, 2024

Siembra De Muestras En Compact Dry.



Elaborado por: El Autor, 2024

Tubos de ensayo con muestra obtenida



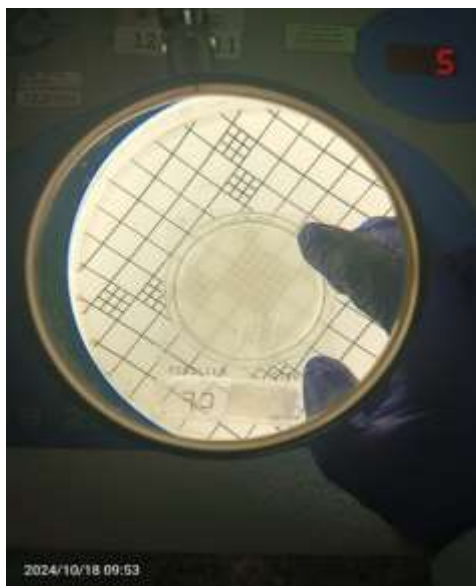
Elaborado por: El Autor, 2024

Muestra de conteo de ufc de placas de mesófilos aerobios



Elaborado por: El Autor, 2024

Conteo de UFC de Placas en laboratorio



Elaborado por: El Autor, 2024