UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
INGENIERA AGRICOLA MENCION AGROINDUSTRIAL

EFECTO ANTIMICROBIANO DEL ACEITE ESENCIAL DEL ARANDANO AZUL *(Vaccinium corymbosum)* COMO INHIBIDOR DE LA *Escherichia coli* EN CONDICIONES *In vitro*

ANALISIS QUIMICO, BIOQUIMICO, MICROBIOLOGICO Y ORGANOLEPTICO DE LOS PRODUCTOS AGROPECUARIOS

Trabajo de titulación presentado como requisito para la obtención del título de

INGENIERO AGRICOLA MENCION AGROINDUSTRIAL

AUTOR
LOPEZ ENGRACIA JUNIOR RODOLFO

TUTOR
MORAN BAJAÑA JOAQUIN TEODORO

CIUDAD – ECUADOR

2020

Dedicatoria

A Dios, por guiar mi camino, permitiéndome llevar a cabo con éxito el presente proyecto de investigación, por saber que a pesar de las adversidades que se presenten, él siempre está impulsándome a seguir adelante con plena confianza y seguridad de que el me protege.

A mi padre Rodolfo Lopez y a mi madre Marcia Engracia, por darme lo maravilloso regalos de la vida, por ser esos seres que me ha demostrado su amor incondicional, por ser unos ejemplos de valores, ética y moralidad, por cuidarme y velar para que yo pueda salir adelante y por ser siempre estar hay para mí.

A mis hermanos Jonathan, Axel, Helen, Jennifer y Pamela por su apoyo e impulso para que yo termine siendo un profesional y un ejemplo a seguir, porque ellos siempre a confiando en mí, siempre han sido unos hermanos amorosos, comprensivo y por enseñarnos que no importan las dificultades y adversidades de la vida que todo lo que una persona se proponga lo pueda lograr.

A mi enamorada Maria Jose Rodríguez y a su familia: su papa Eduardo Rodríguez, Bepsi Andaluz y su hermana Elly Rodríguez Andaluz por su incondicional y constante apoyo para lograr la culminación de este proyecto investigativo y mis estudios universitario, por sus consejos, su amor y comprensión.

Agradecimiento

A Dios, por permitirme alcanzar esta meta, llenándome de fuerza y sabiduría por cumplir con éxito todos los objetivos que he propuesto en mi vida, por colocar en mi camino a personas maravillosas que han sido mi apoyo para el cumplimiento del presente trabajo de investigación.

A mi padre y a mi madre por sus esfuerzos y sacrificios, por ser los pilares fundamentales en mi vida y por brindarme todos los recursos necesarios para que yo pueda culminar una carrera universitaria.

A mi tutor al Dr. Joaquín Moran Bajaña, por haber compartido conmigo sus conocimientos a lo largo de mi carrera como estudiante y la realización del presente proyecto. Por ser un excelente profesional, pero sobre todo por haberme brindado su amistad, sus consejos, tiempo y apoyo.

A la Universidad Agraria del Ecuador por abrirme las puertas para seguir una carrera universitaria, a sus excelentes docentes, por impartir sus cocimientos en el aula de clases y su gentileza afuera de ella.

Índice general

Dedicatoria 2

Agradecimiento 4

Índice general 5

Índice de tablas 8

Índice de figura 9

1. Introducción 10

1.1 Antecedentes del problema 10

1.1.1 Planteamiento del problema 11

1.1.2 Formulación del problema 12

1.2 Justificación de la investigación 12

1.3 Delimitación de la investigación 13

1.4 Objetivo general 14

1.5 Objetivos específicos 14

1.6 Hipótesis 14

2. Marco teórico 15

2.1 Estado del arte 15

2.2 Bases teóricas 16

2.2.1 Fundamento teórico 16

1.2.2 Descripción taxonómica 17

1.2.3 Valor nutricional del arándano azul 18

2.2.6 Escherichia coli 19

2.2.7 Antimicrobianos 20

2.2.8 medio de cultivo selectivo 20

2.2.9 Antibióticos 21

2.3 Marco legal 23

2.3.1 Ecuador Plan Nacional toda una vida 2017 – 2021 23

2.4 Normas técnicas relacionadas 24

3. Materiales y métodos 25

3.1 Enfoque de la investigación 25

3.1.2 Diseño de la investigación 25

3.2 Metodología 25

3.2.3 Diseño experimental 26

3.2.4 Recolección de datos 26

3.2.5 Análisis estadístico 31

4. Resultados 33

4.1 Extraccion mediante arrastre por vapor el aceite esencial de arándanos azules 33

4.2 Análisis de las características fisicoquímica (pH, Índice de acidez y solubilidad en alcohol) del aceite esencial de arándanos azules 33

4.2.1 pH. 34

4.2.2 Índice de acidez. 34

4.2.3 Solubilidad en alcohol. 34

4.3 Establecer el efecto mínimo inhibitorio del aceite esencial en el control de la Escherichia coli. 35

4.4 Determinar la vida útil del aceite esencial bajo condiciones de temperatura ambiente. 39

5. Discusión 41

6. Conclusiones 45

7. Recomendaciones 46

8. Bibliografías..... 47

9. ANEXOS 53

9.1 Cronograma de actividades 53

Índice de tablas

Tabla 1. Tratamientos a evaluar……....21

Tabla 2. Dosificaciones del aceite esencial..……..…….....22

Tabla 3. Esquema de análisis de Varianza…….....27

Tabla 4. Rendimiento del aceite extraído del aceite esencial de arándanos azules. 33

Tabla 5. Resultados de los análisis fisicoquímicos del aceite esencial de arándanos azules.....33

Tabla 6. Promedios de análisis de carga microbiana UFC/g.....35

Tabla 7. Análisis de la varianza del resultado de la medición de la carga microbiana UFC/g.....36

Tabla 8. Promedios de la actividad antimicrobiana de aceite esencial de arándanos azules en agar MacConkey.....36

Tabla 9. Análisis de la varianza del resultado del agar MacConkey.....37

Tabla 10. Promedios de la actividad antimicrobiana de aceite esencial de arándanos azules en agar azul de metileno.....38

Tabla 11. Análisis de la varianza del resultado del agar azul de metileno.....38

Tabla 12. Descripción de análisis de vida útil 0, 10, 20, 30 días de manera natural.....39

Índice de figura

Figura 1. Diagrama de flujo de la extracción de aceite esencial del arándano azul…….....25

Figura 2. Cronograma de actividades…….....53

Figura 3. Extracción del aceite esencial.....54

Figura 4. Medición del pH, en el pH metro digital.....54

Figura 5. Medición del pH, con tiras Macherey-Nagel.....55

Figura 6. Medición de solubilidad en alcohol.....55

Figura 7. Preparación de medios de cultivo. ….....56

Figura 8. Medios de cultivo gelificado …….....56

Figura 9. Cepa ATCC 25922 Escherichia coli...…….....57

Figura 10. Cajas Petri sembrada con cepas ATCC 25922.....…….....57

Figura 11. Efecto antimicrobiano del aceite esencial.....…….....58

Figura 12. Medición de halos de inhibición 58

Figura 13. . Resultados de laboratorio.....59

1. Introducción

1.1 Antecedentes del problema

Los productos alimenticios están frecuentemente propensos a la contaminación causada por diversos agentes, pero sobre todo por microorganismo patógenos algunos de ellos adquiridos durante el almacenamiento, el transporte o el procesamiento, lo que trae consigo pérdidas significativas en la calidad, cantidad y composición de nutrientes.

Según la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, los casos registrados de pérdidas de alimentos en mal estado en los que se incluyen cereales, granos, nueces, frutas, verduras, carnes y especias, se reportan en cifras equivalentes a toneladas métricas de alimentos cada año (FAO, 2015).

Los microorganismos (MO) se encuentran ampliamente distribuida en la naturaleza, en reservorios acuáticos y animales, cepas patógenas de *Escherichia coli* han sido identificada como el principal agente etiológico responsable de los brotes de enfermedades transmitidas por alimentos; esta bacteria está asociada a enfermedades gastrointestinales producto del consumo de alimentos contaminados tanto en origen como en proceso por falta de higiene e inadecuadas prácticas de procesamiento y conservación (Shah, 2017).

Cabeza et al., (2015). Advierte que la presencia de MO en alimentos representa un desafío importante para la industria de alimento respecto a las consecuencias que llevan desde el punto de vista en la salud pública, alteraciones física y microbiológica en los alimentos.

La Organización Mundial de la Salud, afirma que las enfermedades transmitidas por el agua y los alimentos presentan un problema creciente y generalizado de

salud pública, se estima que afecta a 1 de cada 3 personas al año en todo el mundo, y dan lugar a 2,2 millones de muertes afectando mayoritariamente a la población infantil, desencadenando así el problema de salud pública más extendido mundialmente (OMS, 2015).

La bibliografía consultada no reporta mayores hallazgos a los efectos de *Vaccinium corymbosum* frente al crecimiento bacteriano; por lo tanto, el presente trabajo pretende investigar el efecto de diferentes concentraciones del aceite esencial de *V. corymbosum* sobre el efecto inhibitorio en el control sobre la *E. coli* y valorar su uso potencial en la industria alimentaria, farmacéutica y microbiológica (Neri y col., 2009).

Bravo (2013) afirma que el Ecuador es un país mega diverso con mayor número de especies de plantas por unidad de área en América del Sur. Muchas de estas plantas cuentan con propiedades medicinales, que no son explotada por los pueblos rurales.

1.1.1 Planteamiento del problema

Existe una creencia generalizada de que el arándano puede tratar las infecciones del tracto urinario. No hay evidencia concluyente de que sea *in vitro* o en estudios *in vivo* para confirmar esto (Vicente y Lowe, 2007).

El impacto en la salud humana de las infecciones por *Escherichia coli* en entorno comunitario y alimenticio ha llevado a una investigación intensiva de este microorganismo en los últimos años, donde este patógeno es el agente causal de una gama amplia de intoxicación alimentaria que se da por alimentos contaminados por su mala manipulación e higiene alimentaria (Figueiredoa, 2017).

En esta última década se ha demostrado que alguno de los medicamentos que se encuentra disponible en el mercado, presentan toxicidad para el organismo, el

uso indebido de antibióticos produce resistencia tanto en el hombre como en los animales convirtiéndose en una gran amenaza para la salud y seguridad alimentaria; donde los seres humanos se encuentran en una lucha de supervivencia, incluyendo a los patógenos bacterianos y hospederos (Mira, 2017).

Por lo tanto, las personas no tienen un consumo de arándanos regular por su alto costo, debido a esto no se llevan a cabo a procesos agroindustriales para su transformación en productos que puedan suplir las necesidades del consumidor (Loor, 2016).

El propósito de esta investigación es evaluar la actividad antimicrobiana del aceite esencial del arándano azul en el control de *Escherichia coli* bajo condiciones *in vitro.*

1.1.2 Formulación del problema

¿El aceite esencial de arándano azul demostrará actividad antibacteriana bajo condiciones *in vitro*?

1.2 Justificación de la investigación

Los principales componentes químicos de los arándanos son las proantocianidinas, mayoritariamente del tipo A, las antocianinas, los flavonoles, ácidos fenólicos, ácidos málico y cítrico, iridoides, ácido ursólico, fructosa y otros azúcares, donde se ha observado un efecto beneficioso sobre el mantenimiento de la salud debido a su composición que le proporciona un beneficio adicional gracias a la actividad inhibitoria de la adherencia bacteriana, por lo que puede presentar un efecto beneficioso en determinada patologías (Risco y col., 2010).

Teniendo en cuenta que en la actualidad existen enfermedades recurrentes causadas por muchas bacterias cuales se encuentran *Escherichia coli* capaces de

invadir y causar infecciones, además se sabe que están siendo resistentes a los antibióticos tradicionales por el uso irracional de los mismos.

No obstante, con el fin de garantizar la seguridad alimentaria, existe la necesidad de generar medidas de control eficaces con inhibidores microbianos, que garanticen la reducción de la actividad bacteriana y que a su vez no generen efectos secundarios por su consumo; además de que estos métodos de conservación de alimentos estén exentos de productos químicos y además presenten compuestos antimicrobianos seguros y eficaces, lo que abre paso a numerosos estudios con productos naturales, como es el caso de los aceites esenciales de arándanos azules.

Actualmente existe una gran demanda de productos alimenticios que contengan una mínima o nula cantidad de aditivos químico, obligando a la industria alimentaria a adquirir alternativas naturales para extender la vida de anaquel de un producto. Razón por la cual se han desarrollado nuevas investigaciones con base científica acerca del uso de las frutas y especias como conservantes naturales (Bonilla, 2012).

Se han comprobado que los aceites esenciales con mayor efectividad antibacteriana son los de clavo de olor, tomillo y orégano, lo que presenta una posibilidad para su uso en la conservación de productos alimenticios, evitando de esta manera potenciales enfermedades ocasionada por bacterias presente en los mismo (Ramos, 2010).

1.3 Delimitación de la investigación

- **Espacio:** Laboratorio de Biotecnología de Alimentos en la Facultad de Ciencias Agraria de la Universidad Agraria del Ecuador Campus Milagro Provincia del Guayas.

- **Tiempo:** Período de siete meses de mayo hasta diciembre del 2019.
- **Población:** Consumidores de arándanos del cantón Milagro y sus alrededores.

1.4 Objetivo general

Evaluar la actividad antimicrobiana del aceite esencial del arándano azul en el control de *Escherichia coli* bajo condiciones *in vitro*.

1.5 Objetivos específicos

- Extraer mediante arrastre por vapor el aceite esencial de arándano azul.
- Establecer el efecto mínimo inhibitorio del aceite esencial de arándano en el control de la *Escherichia coli.*
- Determinar la vida útil del aceite esencial bajo condiciones de temperatura ambiente.

1.6 Hipótesis

El aceite esencial de arándano azul posee función inhibitoria sobre *E. coli* bajo condiciones *in vitro*.

2. Marco teórico

2.1 Estado del arte

Adrianzen y Chiroque (2017) en un estudio cuyo objetivo era evaluar el efecto *in vitro* del zumo de *Vaccinium corymbosum* observaron mejores resultados inhibitorios de *E. coli* con concentraciones del zumo de arándano en valores de 50 µL. Estos autores reactivaron cepas de *E. coli* en caldo Müller Hinton y se incubó durante 18 horas a 37 °C. Luego se tomó una asada del crecimiento bacteriano y se ajustó con solución fisiológica al patrón de turbidez de Mac Farland N° 0.5 (1.5×10^8 UFC/mL) para la realización del ensayo se procedió a determinar la concentración mínima bactericida (CMB) y la concentración mínima inhibitoria (CMI). En la investigación se pudo evidenciar que el zumo de *Vaccinium corymbosum.* Difunde sobre la cepa de *E. coli,* a la concentración de 100 % v/v, observándose un halo de 4 mm de diámetro.

Ángel (2015) trituró algunos frutos de arándano y obtuvo el extracto del cual preparó concentraciones al 75 % y 50 % por dilución con agua destilada estéril (v/v). Este investigador evaluó el efecto de este extracto sobre el crecimiento de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* empleando una prueba de sensibilidad mediante el método de Kirby Bauer, utilizó 50 µL de extracto de cada concentración vertidos en los pocillos de 6 mm de diámetro en placas con agar Muller – Hinton inoculadas con los patógenos por asada en superficie por separado; se emplearon como tratamiento control, discos de sensibilidad de Gentamicina.

La lectura se hizo a las 18 horas de incubación a 37 °C en estufa. Se midieron los diámetros de los halos de inhibición (mm) de cada una de las concentraciones para *E. coli* y *S. aureus*, cuyos promedios se analizaron mediante una prueba de ANOVA determinar diferencias significativas. Los resultados demostraron que

existe correlación positiva entre la concentración del extracto de arándanos y el efecto inhibitorio.

Sadiki et al. (2014) investigaron sobre la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales de Tomillo *(Thymus vulgaris)* y Arrayan *(Myrtus communis)* por índice de concentración inhibitoria fraccional. Se utilizaron dos cepas bacterianas *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, concluyendo que el mayor efecto inhibitorio fue el aceite de tomillo, además realizaron el estudio de una mezcla de los dos aceites esenciales, la cual mostro un efecto antimicrobiano sinérgico parcial, este hallazgo sugiere que la mezcla de los dos aceites en concentraciones baja podría considerarse como una alternativa para reemplazar a aditivos antimicrobiano sintético o químico.

Martucci y col., (2015) analizaron la composición química de dos aceites esenciales obtenido por hidrodestilacion a partir de hojas de orégano *(Origanum vulgare)* y lavanda *(Lavandula officinallis)* completamente formada y secas. Comprobaron la efectividad de los aceites esenciales de orégano, lavanda y una mezcla de ambas (50:50) en la inhibición de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus.* Los dos aceites inhibieron el crecimiento de los microorganismos probados, siendo más sensibles las bacterias Gram positiva.

2.2 Bases teóricas

2.2.1 Fundamento teórico

El Arándano o blueberry, es catalogado un alimento con grandes ventajas nutricionales debido a que se encuentra libre de sodio, grasas y colesterol, posee bajo contenido de calorías, es rico en fibras, vitaminas C. dentro de su valor nutricional se destaca que contiene antocianinas siendo estas pigmentos de color rojo oscuro y morado, están intervienen en el metabolismo celular de ser humano

causando un deterioro en el cáncer, el envejecimiento, problemas cardiacos, así como la enfermedad de Alzheimer etc. (Burgos, 2009).

Según algunos estudios indican que el arándano, es una fruta muy eficiente para la salud diaria de las personas por lo que las mismas lo enfocan en la dieta, dado que sirve para potenciar la capacidad de la memoria, mejora en el rendimiento a nivel cerebral; también nos hace saber que el arándano posee pigmentos naturales que ayudan en el proceso de aprendizaje mejorando conexiones neuronales y ayuda en la comunicación entre células (Matt, 2012).

1.2.2 Descripción taxonómica

El arándano es una fruta cuyo nombre científico es *Vaccinium corymbosum* el cual pertenece a la familia Ericácea. Se trata de arbustos erectos o rastreros que alcanzan una altura de 1.5 a 2.5 m. Estos frutos crecen mejor en suelos ácidos porque contienen un pH 4 -5 durante la mayor parte del año; sus tierras son franco arenoso o arcilloso con muy poca profundidad y de baja fertilidad se requiere de suelos húmedos con buen drenaje, pero con humedad superficial durante los meses de verano. Si se llega a tener un mal manejo del agua puede provocar un crecimiento pobre, con escasa producción frutal en algunos casos con la muerte de los arbustos (González, 2004).

Fruto: Son comestibles de forma redondeada, poseen una pulpa bastante jugosa, cuya coloración cambia a la par que su grado de maduración, variando desde el blanco, pasando por el purpura hasta conseguir su color azul característico (González, 2004).

1.2.3 Valor nutricional del arándano azul

Estos frutos poseen un bajo valor calórico, son ricos en vitamina C, potasio, hierro y calcio, el cual es necesario en la transmisión y generación del impulso nervioso, en la actividad muscular normal e intervienen además en el equilibrio de agua dentro y fuera de la célula. Además, los frutos constituyen una buena fuente de fibra que mejora el tránsito intestinal. También contienen taninos, los cuales confieren propiedades astringentes (Ostrolucka et al. 2008).

la composición nutricional de arándano azul por cada 100 gr energía 30 gr, proteína 0.60 gr, grasa total 0.20 gr, colesterol 0 mg, glúcidos 6.90 gr, fibra 1.80 gr, calcio 12 mg, hierro 0.50 mg, yodo 0 mg, vitamina A 5 mg, vitamina C 17 mg, vitamina D 0 mg, vitamina E o mg, folato 6 mg (UNNE, 2010).

Los aceites esenciales pueden ser obtenido a partir de materia vegetal y frutas, mediante tres principales métodos (Stashenko, 2009).

- **Arrastre con vapor**

Este método se lleva acabo con vapor seco sobrecalentado, generado por una caldera o calderin, el vapor entra en contacto con la materia a una presión más alta que la atmosférica, la corriente de vapor provoca rupturas en las células o canales oleíferos en la planta, frutas y arrastra la mezcla volátil, misma que es condensada al pasar por un refrigerante. Este procedimiento es utilizado para extraer aceites de rizomas, raíces, semillas de hojas secas y frutos (Jirovets y Buchbauer, 2010).

- **Destilación con agua-vapor**

Este método de Extracción se realiza con vapor húmedo, proveniente del agua en ebullición, mismo que traspasa el material vegetal y frutal suspendido encima y apoyado sobre una malla. Los aceites de las herbáceas en su mayoría por este método (Jirovets y Buchbauer, 2010).

- **Hidrodestilacion**

Este se realiza sumergiendo la materia prima directamente en el agua, que se calienta a hervor. Esto tipo de extracción se utiliza para la destilación del material delicado como por ejemplo las flores, rosa, etc. (Sovova, y Alesksoyski, 2006).

2.2.5 Aceites esenciales

Los aceites esenciales son sustancias altamente concentradas de la parte de la planta de la cual se extraen y consisten en una mezcla de sustancias aromáticas, en general los aceites esenciales se definen como mezclas de componentes volátiles (Servicio Nacional de Aprendizaje, 2010).

Los componentes químicos principales de los aceites esenciales son hidrocarburos alcoholes fenoles aldehídos cetonas, etc. estos se han estudiado en su mayoría por su sabor y fragancia para dar sabor a los alimentos, bebidas, sin embargo, los aceites esenciales y sus componentes están ganando mayor interés debido a su potencial uso multifuncional, debido a esto muchos autores informan de las propiedades antimicrobianas, antifúngica, antioxidantes y de captura de radicales de los mismos (Gonzales y Molina, 2012).

2.2.6 Escherichia coli

Ray y Bhunia (2010) informan que la familia *Enterobacteriaceae,* son bacilos Gram negativos de gran importancia en la patología infecciosa, es el grupo de microorganismos que más frecuentemente se aísla en los laboratorios clínicos de microbiología, produciendo infecciones tanto en pacientes con inmunidad conservada como en inmunodeprimidos y son causantes de diferentes tipos de infecciones tanto de adquisición en la comunidad como nosocomiales.

Escherichia coli O157:H7 es una bacteria reconocida como patógeno causante de un cuadro de colitis hemorrágica (CH) que puede llegar a ser severo, de

compromiso para la vida en niños especialmente de cero a cinco años y adultos más vulnerables (Moran y Lantero, 2016).

2.2.7 Antimicrobianos

Son utilizado de manera abundante en la industria alimenticia como conservantes y aditivos, durante mucho tiempo se han utilizado antimicrobiano de origen sintético o puramente químico, los cuales han ocasionado daño en la salud de los consumidores, provocando un rechazo por parte de la población a los productos procesados, motivo que ha obligado a la búsqueda de nuevos alimentos de origen natural para sustituir, lo anteriormente utilizados, se estima que del 1 a 10 % aproximadamente 500 000 especies de planta existente en el planeta tienen uso como conservante de alimento (Rodríguez, 2011).

Lo antimicrobiano o conservadores tienen al menos tres tipos de acción sobre un microorganismo como son: inhibición de la biosíntesis de los ácidos nucleicos o de la pared celular, daños a la integridad de la membrana, interferencia con la mayoría de los procesos metabólico esencial (Rodríguez, 2011).

2.2.8 medio de cultivo selectivo

Los medios de cultivo selectivos proporcionan las características necesarias para el desarrollo de un determinado microorganismo (Castro, 2014).

- **Agua peptonada buferada (Difco, USA)**

Medio de cultivo empleado para el enriquecimiento de microorganismo a partir de diferente muestra, es ampliamente utilizado en los protocolos de control higiénico de los alimentos para la búsqueda de patógenos (Casado y col., 2012).

- **Caldo de *Escherichia coli* (Difco, USA)**

Hajna y Perry (2015), mediante un esfuerzo por mejorar los métodos para la detección de bacterias del grupo de coliformes y de *E. coli*. Este medio consiste de

un caldo tamponado de lactosa con la adición de un 0,15% de una Mezcla de Sales Biliares. El crecimiento de las bacterias formadoras de esporas y estreptococos fecales es inhibido por las sales biliares, mientras que el crecimiento de *E. coli* es intensificado por su presencia. Este medio puede ser utilizado a 37°C para la detección de organismos coliformes o a una temperatura de 44,5°C o 45,5°C para el aislamiento de *E. coli*.

- **Agar MacConkey – Sorbitol (Difco, USA)**

Las peptonas son fuentes de nitrógeno. D-Sorbitol es un carbohidrato fermentable. La mayoría de las cepas hemorrágicas de *E. coli* no fermentan D-sorbitol y producen colonias incoloras en agar MacConkey Sorbitol. Las sales biliares y el cristal violeta son agentes selectivos que inhiben el crecimiento de organismos Gram positivos. El rojo neutro es un indicador del pH (Kaper y col., 1998).

- **Eosin Methylene Blue Agar**

Contiene colorantes de azul de metileno y eosina Y que inhiben las bacterias Gram-positivas en cierto grado. Los colorantes también actúan como indicadores diferenciales en respuesta a la fermentación de la lactosa o la sacarosa por parte de los microorganismos. Los coliformes producen colonias de color negro azulado, mientras que las colonias de *Salmonella* y *Shigella* son incoloras o de color ámbar transparente. Las colonias de *Escherichia coli* pueden exhibir un brillo verde metálico característico debido a la rápida fermentación de la lactosa (Farmer, 2003).

2.2.9 Antibióticos

Los antibióticos son sustancia química que se utiliza para tratar diversas infecciones tanto en humanos como en animales y tiene la propiedad de inhibir la proliferación de organismo infeccioso, cuyo caso tendrá acción bactericida. La

acción antibacterial de los antibióticos ocasiona un cambio en la capacidad de alimentarse y/o reproducirse de las células microbianas.

Penicilina

En 1928 Fleming descubrió la penicilina desde ese entonces comenzó la llamada época de los antibióticos. Donde la introducción de este antibiótico genero una reducción significativa de la morbilidad debida a enfermedades infecciosa y prolongo la esperanza de vida de la población (Jun y Helgi, 2010).

Estructura química

La penicilina en su estructura química tiene un anillo tiazolidinico unido a un anillo betalactámicos, una cadena lateral izquierda que es la que le da las diferentes actividades antibacterianas y unas cadenas derecha que da las solubilidades de las penicilinas sódicas, potásica, procainicas etc. (Bertram, 2002).

Eritromicina

La eritromicina es un antibiótico de la familia de los macrólidos. Funciona para impedir la síntesis de proteínas en las bacterias. Donde fue el primer macrólidos descubierto en 1952, por J. M. McGuire y colaboradores. El compuesto se halló en los productos metabólicos de una cepa *Strwptomyces erytherus* (Avendaño y Lopez, 2001).

Gentamicina

Neomicina es un compuesto que hace parte de la familia de antibióticos aminoglucósidicos con acción bactericida que inhibe la síntesis de proteínas en las células bacterianas sensibles, por lo general bacilos Gram negativos dentro los cuales se encuentra la Escherichia coli. Y algunos microorganismos Gram positivos (Arriola, 2012).

2.3 Marco legal

2.3.1 Ecuador Plan Nacional toda una vida 2017 – 2021

El Buen Vivir o Sumak Kawsay, es una idea movilizadora que ofrece alternativas a los problemas contemporáneos de la humanidad. El Buen Vivir construye sociedades solidarias, corresponsables y recíprocas que viven en armonía con la naturaleza, a partir de un cambio en las relaciones de poder. El Sumak Kawsay fortalece la cohesión social, los valores comunitarios y la participación activa de individuos y colectividades en las decisiones relevantes para la construcción de su propio destino y felicidad. Se fundamenta en la equidad con respeto a la diversidad, cuya realización plena no puede exceder los límites de los ecosistemas que la han originado.

Objetivo 5: Impulsar la productividad y competitividad para el crecimiento económico sostenible de manera redistributiva y solidaria.
5.2 Promover la productividad, competitividad y calidad de los productos nacionales, como también la disponibilidad de servicios conexos y otros insumos, para generar valor agregado y procesos de industrialización en los sectores productivos con enfoque a satisfacer la demanda nacional y de exportación.
5.3 Fomentar el desarrollo industrial nacional mejorando los encadenamientos productivos con participación de todos los actores de la economía.
5.4 Incrementar la productividad y generación de valor agregado creando incentivos diferenciados al sector productivo, para satisfacer la demanda interna, y diversificar la oferta exportable de manera estratégica.
5.6 Promover la investigación, la formación, la capacitación, el desarrollo y la transferencia tecnológica, la innovación y el emprendimiento, la protección de la propiedad intelectual, para impulsar el cambio de la matriz productiva mediante la vinculación entre el sector público, productivo y las universidades (Plan Nacional de Desarrollo, 2017, p.80).

Objetivo 6: Desarrollar las capacidades productivas y del entorno para lograr la soberanía alimentaria y el Buen Vivir Rural.
6.1 Fomentar el trabajo y el empleo digno con énfasis en zonas rurales, potenciando las capacidades productivas, combatiendo la precarización y fortaleciendo el apoyo focalizado del Estado e impulsando el emprendimiento.
6.3 Impulsar la producción de alimentos suficientes y saludables, así como la existencia y acceso a mercados y sistemas productivos alternativos, que permitan satisfacer la demanda nacional con respeto a las formas de producción local y con pertinencia cultural (Plan Nacional de Desarrollo, 2017, p.84).

Políticas y lineamientos estratégicos

1. Diversificar y generar mayor valor agregado en la producción nacional.
2. Promover la intensidad tecnológica en la producción primaria, de bienes intermedios y finales.

3. Impulsar la producción y la productividad de forma sostenible y sustentable, fomentar la inclusión y redistribuir los factores y recursos de la producción en el sector agropecuario, acuícola y pesquero.
4. Fortalecer la economía popular y solidaria y las micro, pequeñas y medianas empresas en la estructura productiva (SENPLADES, 2015, p.359).

Ley orgánica del régimen de la soberanía alimentaria

Título I

Principios generales

Artículo 1. Finalidad. - Esta Ley tiene por objeto establecer los mecanismos mediante los cuales el Estado cumpla con su obligación y objetivo estratégico de garantizar a las personas, comunidades y pueblos la autosuficiencia de alimentos sanos, nutritivos y culturalmente apropiados de forma permanente. El régimen de la soberanía alimentaria se constituye por el conjunto de normas conexas, destinadas a establecer en forma soberana las políticas públicas agroalimentarias para fomentar la producción suficiente y la adecuada conservación, intercambio, transformación, comercialización y consumo de alimentos sanos, nutritivos, preferentemente provenientes de la pequeña, la micro, pequeña y mediana producción campesina, de las organizaciones económicas populares y de la pesca artesanal así como microempresa y artesanía; respetando y protegiendo la agro biodiversidad, los conocimientos y formas de producción tradicionales y ancestrales, bajo los principios de equidad, solidaridad, inclusión, sustentabilidad social y ambiental. El Estado a través de los niveles de gobierno nacional y subnacionales implementará las políticas públicas referentes al régimen de soberanía alimentaria en función del Sistema Nacional de Competencias establecidas en la Constitución de la República y la Ley (Asamblea Nacional del Ecuador, 2011, p.1).

2.4 Normas técnicas relacionadas

- 2.4.1 INEN NTE INEN-ISO ACEITES ESENCIALES. MUESTREOS (ISO 212:2007, IDT)
- 2.4.2 NORMA INEN NTE INEN-ISO 856 ACEITE ESENCIAL DE MENTA PIPERITA (Mentha × Piperita L.) (ISO 856:2006, IDT)

3. Materiales y métodos

3.1 Enfoque de la investigación

3.1.1 Tipo de investigación

El diseño de la investigación será acorde experimental y de campo.

3.1.2 Diseño de la investigación

El presente proyecto será una investigación de tipo experimental porque se evaluará el efecto antimicrobiano del aceite esencial del arándano azul como inhibidor de la *E. coli.*

3.2 Metodología

3.2.1 Variables

Las variables planteadas son las siguientes:

3.2.1.1. Variable independiente

Las concentraciones de los aceites esenciales

3.2.1.2. Variable dependiente

- La carga microbiana (UFC/g)
- Los halos de inhibición (mm)

3.2.2 Tratamientos

Tabla 1. Tratamientos a evaluar

Nº	FORMULACION
1	2,5 µl ACEITE ESENCIAL
2	5,0 µl ACEITE ESENCIAL
3	7,5 µl ACEITE ESENCIAL
4	10 µl ACEITE ESENCIAL
5	PENICILINA
6	ERITROMICINA
7	GENTAMICINA

Lopez, 2019.

3.2.3 Diseño experimental

Para valorar estadísticamente los resultados de las variables se emplearán un diseño completamente al azar, considerando tres repeticiones por cada tratamiento (7). Como consecuencia de este ensayo se obtendrá 21 unidades experimentales (3 cajas Petri por tratamiento) en las cuales se realizarán evaluaciones del efecto inhibidor del aceite μ esencial del arándano azul como antimicrobiano en el control de *E. coli.*

Tabla 2. Tabla de dosificaciones del aceite esencial.

Aceites esenciales
μl
2,5
5,0
7,5
10

Lopez, 2019.

3.2.4 Recolección de datos

3.2.4.1. Recursos Materiales

- Aceite esencial de arándano

Equipo de laboratorio:

- Balanza (Elite 200-3)
- Equipo de Destilación (Selecta)
- Rotavapor (Heidolph)

Insumos:

- 8 kg de Arándanos azules
- Agua

Utensilios:

- Caja Petri
- Cuchillo
- Aza
- Matraz

Reactivos:

- Agar MacConkey sorbitol 500gr. (Difco, USA)
- Caldo de *Escherichia coli.* (Difco, USA)
- Eosin Methylene Blue Agar. (Difco, USA)
- Discos de ensayo de antibiograma (Difco, USA)
- Cultivo de *E. coli.* (ATCC 25922, INSPI- Ecuador, 2019)

Material farmacológico:

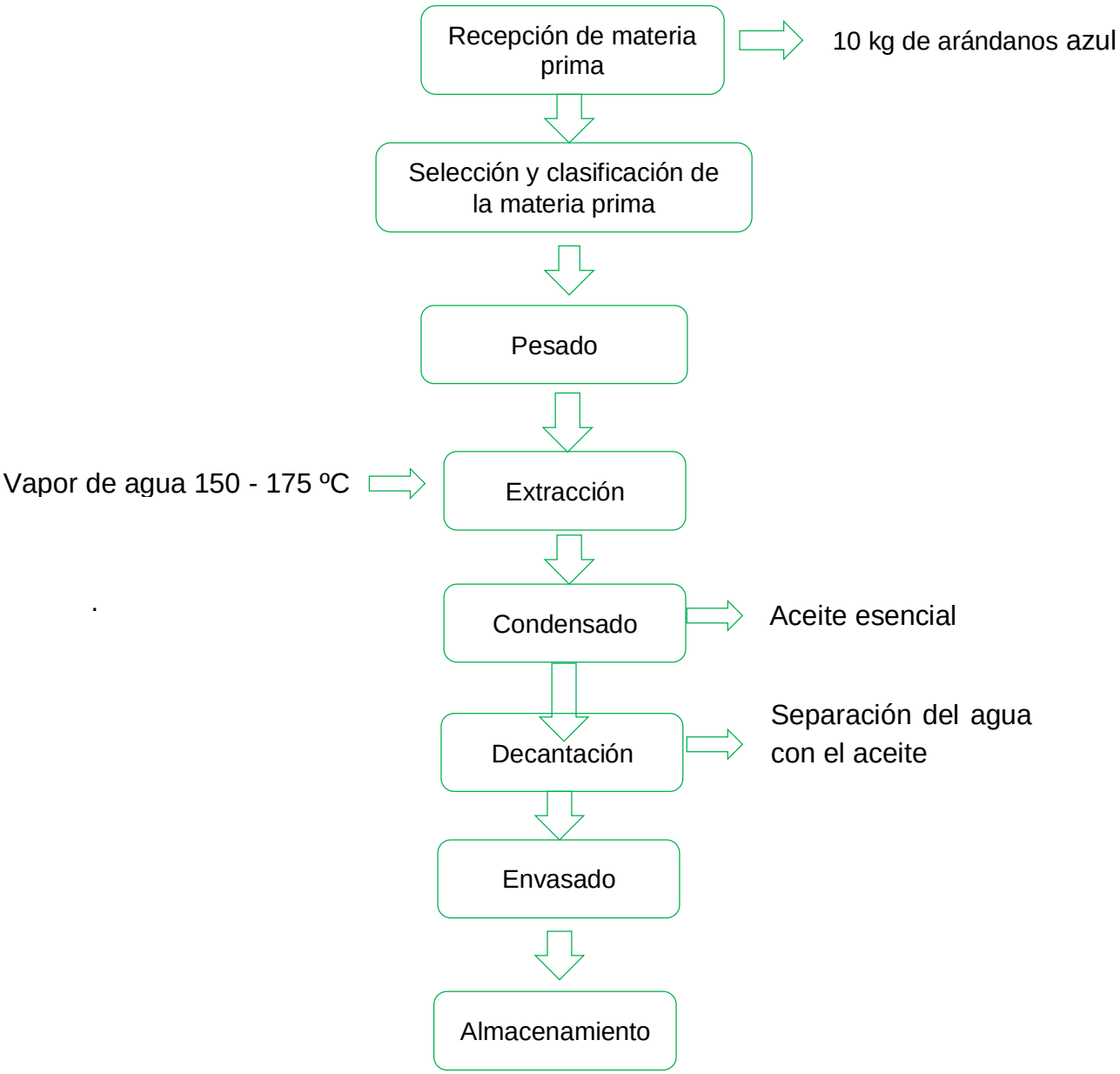
- Penicilina
- Eritromicina
- Neomicina

Equipo de proceso:

- Mandil
- Cofia
- Guante
- Mascarilla

3.2.4.2. Métodos y técnicas

Proceso de extracción de aceite esencial de arándanos azules.



.

Lopez, 2020.

Figura 1. Diagrama de flujo de la extracción de aceite esencial del arándano azul

3.2.4.3 Procedimiento para la extracción de aceite esencial de arándanos azules

Recepción de la materia prima: Se lava la materia prima que vamos a utilizar en este caso será los arándanos azules.

Selección y clasificación de la materia prima: Se procederá a clasificar la fruta que este en buen estado.

Se procederá a seleccionar los arándanos que cumplan con los requisitos para elaborar el aceite esencial, separando los que no tengan las características organolépticas aptas para la producción.

Pesado: Se pesa todo el arándano obtenido en la selección y clasificación.

Extraccion: En el primer balón de destilación se agrega agua para generar vapor. A partir del vapor que se genera (150 - 175°C), vamos a producir un arrastre del vapor del aceite esencial que se encuentra en el arándano, el cual va continuar en forma de vapor hasta el tubo refrigerante.

Condensación: En el tubo refrigerante se condesa el vapor convirtiéndose en estado líquido, consigo va a llevar el aceite. Se tendrá una mezcla de agua y el aceite esencial del arándano. En un decantador se va a separar el agua del aceite esencial.

Envasado: Se envasa el producto en un frasco de vidrio.

Almacenado: Se lo almacena a temperatura ambiente.

Obtención de Bacteria

Fue pedida la cepa de *E. coli* al Centro de Investigaciones Microbiológica Dr. Henry Parra en la ciudad de Guayaquil.

Preparación del medio de cultivo agar MacConkey (Difco, USA)

Fundamento

Es un medio selectivo diferencial utilizado para el aislamiento y diferenciación de bacilos Gram negativo fermentadores y no fermentadores de lactosa. Se utiliza con frecuencia para el aislamiento de coliformes.

Preparación

De acuerdo a las instrucciones.

Preparación de Eosin Methylene Blue Agar (Difco, USA)

Fundamento

Contiene colorantes de azul de metileno y eosina Y que inhiben las bacterias Gram-positivas en cierto grado. Los colorantes también actúan como indicadores diferenciales en respuesta a la fermentación de la lactosa o la sacarosa por parte de los microorganismos.

Preparación

De acuerdo a las instrucciones

Método de determinación de sensibilidad antimicrobiana por difusión

La sensibilidad bacteriana a los antimicrobianos in vitro se puede determinar por varios métodos, pero el método que se va a utilizar es por determinación de sensibilidad antimicrobiana por difusión.

Preparación del Inóculo

1. Se esteriliza la caja Petri
2. Preparación del medio de cultivo y siembra la cepa, dejando incubar por 24 horas a una temperatura de 37°C.
3. Colocar los aceites esenciales en los discos antibiograma para incluirlos en la caja Petri para continuar con la incubación de la cepa.
4. Después de las 24 horas que se dejó incubar la cepa, se preparan los viales con las diferentes concentraciones del aceite y del testigo, colocando los discos en el cultivo.
5. Observar el halo de inhibición, medir el diámetro y ver resultados.

Determinación del pH

El pH del aceite esencial de arándano azul será medida será medido por un pH-metro, previamente calibrado con soluciones tapón de pH 2, 4 y 7 (Ríos Vázquez, 2010).

Vida útil del aceite esencial de arándano azul

Se realizará una prueba de enranciamiento en laboratorio particular donde se tomará muestra a los 10, 20 y 30 días para determinar su vida útil.

Estabilidad oxidativa mediante el método Rancimat

La estabilidad oxidativa se determinará en el equipo Rancimat (Metrohm, modelo 743, Switzerland), incluido en los estándares internacionales AOCS Cd 12b-92. Un flujo de aire de 15 L/h filtrado y seco se burbujeo en una muestra de 5,0 ± 0,1 g de aceite contenida en un tubo de reacción posteriormente fijada en un bloque de calefacción a temperaturas de 80, 90, 100 y 110°C. El aire efluente que contienen los ácidos orgánicos volátiles de la muestra se recogen en un recipiente de policarbonato con 60 ml de agua destilada, la conductividad (µS/cm) del agua se registrara continuamente.

Se estimará la vida útil mediante el método de extrapolación a temperatura ambiente de almacenamiento 25 °C, estableciendo una relación matemática entre los valores de OSI y la temperatura (80, 90, 100 y 110°C), utilizados en el equipo Rancimat, tal como lo han señalado para aceites esenciales, Nakataniet et al. (2001) y Méndez et al. (1996).

3.2.5 Análisis estadístico

Para valorar estadísticamente los efectos de los tratamientos se empleará el análisis de varianza, cuyo esquema se indica en la Tabla 2. Los datos serán sometidos a pruebas de normalidad y homocedasticidad. Donde se utilizará la

prueba de Tukey. Estos análisis se analizarán al 5 % de probabilidad de error tipo 1. Cabe mencionar que el análisis se realizara con el programa Excel del paquete office y con el software estadístico Infostat.

Tabla 3. Esquema de análisis de Varianzas.

Fuente de variación	Grados de libertad
Tratamientos (t-1)	6
Error cr(t-1)	14
Total n-1	20

Lopez, 2019.

4. Resultados

4.1 Extraccion mediante arrastre por vapor el aceite esencial de arándanos azules

Tabla 4. Rendimiento del aceite extraído del aceite esencial de arándanos azules.

Materia prima	Materia seca	Cantidad de aceite	Rendimiento
Arándano azul	200 g	3 ml	1,5 %

Lopez, 2020.

Para la obtención del aceite esencial de los arándanos azules, aplico el método de arrastre por vapor, donde se calentó el balón que contienen agua destilada a una temperatura de 150°C - 175 °C, el vapor pasa por un tubo de vidrio que lo conlleva al segundo balón con la muestra seca es decir con los arándanos azules, donde este vapor se mezcla con el fruto para extraer su propiedades volátiles como el aceite, luego llega a un refrigerante serpentín teniendo una temperatura de 20 °C donde se condensa el vapor y ese vapor se transforma en aceite esencial en el cual se lo recolecto en un frasco ámbar de 30 ml. El resultado del rendimiento del aceite extraído de arándanos azules se muestra en la tabla 4. Para calcular el rendimiento de la extracción del aceite esencial de los arándanos azules se utilizó la siguiente ecuación. % Rendimiento = (ml de aceite esencial) / (g de arándano

4.2 Análisis de las características fisicoquímica (pH, Índice de acidez y solubilidad en alcohol) del aceite esencial de arándanos azules

Tabla 5. Resultados de los análisis fisicoquímicos del aceite esencial de arándanos azules.

	ANALISIS	RESULTADOS
FÍSICO	**Solubilidad en alcohol**	Insoluble
QUIMICO	**pH**	6
	Índice de acidez	0,2954 mg KOH / g

Lopez, 2020.

4.2.1 pH.

El resultado obtenido en la medición del pH en la cual se mide la acidez y la alcalinidad de una manera estandarizada de hidrógenos de una muestra en o en este caso que se le realizo al aceite esencial obtenido en la tabla 4. Para este procedimiento se siguió unas series de pasos: primero se colocó el aceite esencial obtenido en el vaso de precipitación de 25 ml, como segundo paso se utilizó dos medidores de pH, el primer medidor del pH fueron las tiras medidoras de la marca Macherey – Nagel y como el segundo medidor fue un pH metro digital, luego se procedió al tercer paso donde se obtuvo los mismos resultados iguales tanto como en la tira medidora y el pH metro digital en la cual lo podemos observar en la tabla 5.

4.2.2 Índice de acidez.

En un vaso de precipitación se pesó 2 gramos del aceite esencial, se añadió con una pipeta 5 ml de alcohol etílico, 6 gotas de fenolftaleína, mediante un equipo de titulación llamado bureta, se procedió a neutralizar la disolución con hidróxido de potasio 0.1 N, hasta observar un cambio de coloración persistente como podemos observar los resultados en la tabla 5, considerando a este como el punto final de la valoración respaldado mediante normas (NMX-K-418-1976).

4.2.3 Solubilidad en alcohol.

El aceite esencial de arándanos azules es insoluble en solventes orgánico como es el etanol al 70%-90%. Para determinar la solubilidad en alcohol se procedió a la colocación en dos tubos de ensayos 0,5 ml de aceite esencial de arándanos azules, luego se agregó 10 ml de agua destilada, 10 ml de etanol al 90% luego se agito cada uno de los tubos y se observó uno por uno para determinar si se produce o no enturbiamiento en la cual el resultado se puede observar en la tabla 5.

4.3 Establecer el efecto mínimo inhibitorio del aceite esencial en el control de la Escherichia coli.

Para la recolección de los resultados, se tomó los siguientes datos de los halos de inhibición de la bacteria *Escherichia coli*. Estos datos fueron tratados en el programa estadístico InfoStat por medio de un ANOVA con diseño de bloque completamente al azar para la comprobación de la hipótesis y el parámetro estadístico Tukey, para identificar las diferencias significativas para cada uno de los tratamientos y para comprobar la efectividad antimicrobiana del aceite esencial del arándano azul frente a la *Escherichia coli.*

Tabla 6. Promedios de análisis de carga microbiana UFC/g.

N°	Tratamientos	Repetición			Promedio
		1	2	3	
1	2,5 Aceite E.	86,0	70,3	84,7	80,3
2	5 Aceite E.	82,7	68,7	73,7	75,0
3	7,5 Aceite E.	79,7	64,3	67,7	70,6
4	10 Aceite E.	31,7	34,7	32,0	32,8
5	Penicilina	86,0	84,7	84,7	85,1
6	Erytromicina	35,2	37,3	36.9	36,3
7	Gentamicina	75,7	61.9	64.6	75,7

Lopez, 2020.

Tabla 7. Análisis de la varianza del resultado de la medición de la carga microbiana UFC/g.

Análisis de la varianza

Variable	N	R^2	R^2 Aj	CV
UFC(g)	21	0,94	0,91	9,34

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	7863,98	6	1310,66	36,74	<0,0001
TRATAMIENTOS	7863,98	6	1310,66	36,74	<0,0001
Error	499,47	14	35,68		
Total	8363,45	20			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=16,65270
Error: 35,6767 gl: 14

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.			
Penicilina	85,13	3	3,45	A		
2,5 Aceite E.	80,33	3	3,45	A	B	
5 Aceite E.	75,03	3	3,45	A	B	
7,5 Aceite E.	70,57	3	3,45	A	B	
Gentamicina	67,40	3	3,45		B	
Erytromicina	36,47	3	3,45			C
10 Aceite E.	32,80	3	3,45			C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)
Lopez, 2020.

Se puede observar en la tabla 6 y 7 que según los promedios y resultados del análisis de varianza mediante la prueba de Tukey al 5% de probabilidad presento el tratamiento 4 que es 10 µl y el antibiótico Eritromicina tienen menor carga microbiana frente a la *Escherichia coli* ya que este tratamiento y el testigo presentaron menor unidades formadoras de colonias. Teniendo así una diferencia significativa en los tratamientos 1 y el tratamiento 4 correspondiente a lo que es el aceite esencial de arándanos azules, en lo que son los antibióticos existe una diferencia significativa con el testigo 2 ya que este tiene una menor actividad microbiana frente a la Escherichia coli.

Tabla 8. Promedios expresada en medición de los halos de inhibición (mm) en agar MacConkey.

N°	Tratamientos	Repetición			Promedio
		1	2	3	
1	2,5 Aceite E.	8,7	6,3	10,0	8,3
2	5 Aceite E.	14,3	16,3	14,7	15,1
3	7,5 Aceite E.	21,0	21,3	19,3	20,6
4	10 Aceite E.	26,3	24,3	25,3	25,3
5	Penicilina	5,3	5,0	5,7	5,3
6	Eritromicina	24,7	23,7	21,7	23,3
7	Gentamicina	7,3	7,7	7,7	7,6

Lopez, 2020.

Se observa que el aceite esencial de arándanos azules los 10 µl presenta los halos de mayor tamaño que los demás tratamientos, referentes a los testigos el antibiótico Eritromicina presenta los halos de mayor tamaño que el resto de los

antibióticos, se quiere decir que la *Escherichia coli* es muy resistente a la penicilina y la gentamicina.

Tabla 9. Análisis de la varianza del resultado de la medición de los halos de inhibición en agar MacConkey

Variable	N	R^2	R^2 Aj	CV
HALOS (mm)	21	0,98	0,98	7,65

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1199,46	6	199,91	150,20	<0,0001
TRTATAMIENTOS	1199,46	6	199,91	150,20	<0,0001
Error	18,63	14	1,33		
Total	1218,10	20			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=3,21643

Error: 1,3310 gl: 14

TRTATAMIENTOS	Medias	n	E.E.			
10 Aceite E.	25,30	3	0,67	A		
Eritromicina	23,37	3	0,67	A	B	
7,5 Aceite E.	20,53	3	0,67		B	
5 Aceite E.	15,10	3	0,67			C
2,5 Aceite E.	8,33	3	0,67			D
Gentamicina	7,57	3	0,67			D
Penicilina	5,33	3	0,67			D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)
Lopez, 2020.

Se puede observar en la tabla 8 que según los resultados del análisis de varianza mediante la prueba de Tukey al 5% de probabilidad presento el tratamiento 4 que es 10 µl y el antibiótico Eritromicina tienen actividad antimicrobiana frente a la *Escherichia coli* ya que este tratamiento y el testigo presentaron halos de mayor tamaño. Teniendo así una diferencia significativa en los tratamientos 1 y el tratamiento 4 correspondiente a lo que es el aceite esencial de arándanos azules, en lo que son los antibióticos existe una diferencia significativa con el testigo 2 ya que este tiene una actividad inhibitoria frente a la Escherichia coli.

Tabla 10. Promedios expresada en medición de los halos de inhibición (mm) en agar Azul de Metileno.

N°	Tratamientos	Repetición			Promedio
		1	2	3	
1	2,5 Aceite E.	8,0	8,7	19,3	12,0
2	5 Aceite E.	14,3	16,3	14,7	15,1
3	7,5 Aceite E.	21,0	21,3	19,3	20,6
4	10 Aceite E.	26,0	24,3	26,3	25,5
5	Penicilina	5,0	5,0	5,7	5,2
6	Eritromicina	24,7	26,7	21,7	24,4
7	Gentamicina	7,3	7,7	7,7	7,6

Lopez, 2020.

Se observa que el aceite esencial de arándanos azules los 7,5 µl y los 10 µl presenta los halos de mayor tamaño que el del 2,5 µl, referentes a los testigos el antibiótico Eritromicina presenta los halos de mayor tamaño que el resto de los antibióticos, se quiere decir que la *Escherichia coli* es muy resistente a la penicilina y la gentamicina.

Tabla 11. Análisis de la varianza del resultado de la medición de los halos de inhibición en agar Azul de Metileno.

Variable	N	R^2	R^2 Aj	CV
HALOS (mm)	21	0,92	0,89	16,97

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1154,68	6	192,45	26,90	<0,0001
TRATAMIENTOS	1154,68	6	192,45	26,90	<0,0001
Error	100,17	14	7,16		
Total	1254,85	20			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=7,45769

Error: 7,1552 gl: 14

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.			
10 Aceite E.	25,53	3	1,54	A		
Eritromicina	24,37	3	1,54	A		
7,5 Aceite E.	20,53	3	1,54	A	B	
5 Aceite E.	15,10	3	1,54		B	C
2,5 Aceite E.	12,00	3	1,54			C D
Gentamicina	7,57	3	1,54			D
Penicilina	5,23	3	1,54			D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)
Lopez, 2020.

Se puede observar en la tabla 9 que según los resultados del análisis de varianza mediante la prueba de Tukey al 5% de probabilidad presento el tratamiento 3 y 4 que es el 7,5 y 10 µl y el antibiótico Eritromicina tienen actividad antimicrobiana frente a la *Escherichia coli* ya que estos tratamientos y el testigo presentaron halos de mayor tamaño. Teniendo así una diferencia no significativa en los tratamientos 3 y el tratamiento 4 correspondiente a lo que es el aceite esencial de arándanos azules ya que estos dos tratamientos presentaron halos de mayor tamaño, en lo que son los antibióticos existe una diferencia significativa con el testigo 2 ya que este tiene una actividad inhibitoria frente a la Escherichia coli entre los demás testigos.

4.4 Determinar la vida útil del aceite esencial bajo condiciones de temperatura ambiente.

Tabla 12. Descripción de análisis de vida útil 0, 10, 20, 30 días de manera natural.

Ensayos realizados	Métodos	Tiempo real 0 días	Tiempo real 10 días	Tiempo real 20 días	Tiempo real 30 días
Rancidez	NTE INEN 45:1973 **(Volumétrico)**	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo

Lopez, 2020.
Fuente: Laboratorio UBA, 2020.

Para determinar la vida útil del aceite esencial de los arándanos azules se realizó un análisis por el método de rancidez realizado a los 0, 10, 20 y 30 días de conservación natural de acuerdo a los criterios establecidos por la norma vigente NTE INEN 45:1973 al aceite esencial extraído por el método arrastre por vapor.

La tabla 6 nos muestra los resultados obtenidos que en los 0, 10, 20 y 30 días donde no presenta oxidación del aceite esencial de arándanos azules. Finalizado

el estudio y visto los comportamientos de rancidez en el periodo de estudio de 30 días bajo condiciones de estabilidad natural; se recomienda que el aceite esencial de arándanos azules, sea considerado para registro con un periodo de vida de 30 días (1 mes).

5. Discusión

Escobar (2018) en su estudio de investigación obtuvo aceite esencial a partir del mucilago del cacao, en el cual le aplicaron tres diferentes tratamientos con diferentes temperaturas de vapor y diferentes temperaturas de enfriamientos, en lo cual obtuvieron lo mismo resultados en los tres tratamientos una solución liquida turbia blanquecina, en que el porcentaje promedio del aceite esencial del mucilago del cacao fue del 1,5 %. Corroborando con nuestra investigación en la extracción del aceite esencial de arándanos azules obtuvimos un promedio similar de un 1.5 % de rendimiento de este aceite esencial.

Neumayer (2015), determino que los aceites esenciales son mezclas complejas de hasta más de 100 componentes que pueden tener la siguiente naturaleza química con un pH de 5,9, también realizo análisis de índice de acidez teniendo un resultado de 0,40 mg. Los Compuesto alifáticos de bajo peso molecular (alcanos, alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres y ácidos), Monoterpenos, sesquiterpenos, fenilpropano; como lo demuestra en la extracción del aceite esencial de limón, que contiene alrededor de 2 % de sustancias no volátiles en su mayoría en la forma de coumarince, alrededor de 18 alcoholes, 16 aldehídos, 11 esteres, 3 cetonas, 4 ácidos y 23 hidrocarburos. Los componentes mayoritarios del aceite esencial obtenido por prensado de la cascara son: 63 % de limoneno, sim embargo el aceite esencial de limón contiene propiedades antioxidantes y antimicrobiana, donde en nuestra investigación se evaluó la actividad antimicrobiana del aceite esencial del arándano azul, donde se determina que el arándano tiene propiedades antimicrobianas y antioxidantes y comparando los resultados de la investigación citada hay una diferencia significativa leve en lo que en nuestro resultado del pH es 6 y índice de acidez es 0,2954 mg KOH / g.

Stansheko (2009), añade que las propiedades principales físicas de los aceites esenciales son un olor pronunciado y fuerte; el sabor cáustico, irritante y concentrado, a veces dulce o amargo, o el sabor aromático y sensación de fármaco. Los aceites esenciales son activos; de peso específico de 0,8 a 2,0 a temperatura de 15 °C; con punto de ebullición de 150 a 300 °C; índice de refracción de 1,45 a 1,5. Además, se trastornan fácilmente bajo la acción de la luz, tornándose oscuro y modificando su olor. Este autor corrobora la investigación realizada de la extracción del aceite esencial de arándanos azules, donde podemos indicar que cuenta con las principales propiedades físicas los arándanos azules para determinar que si existe algún método que pueda extraer aceite esencial, donde el método más eficaz es el de arrastre por vapor y así coinciendo con los resultados de nuestra investigación.

Luengo (2004), mostro que el aceite esencial, normalmente componen del o,1 al 1% del peso seco de la planta. Son líquidos con escasas solubilidad en agua, solubles en alcohol y en disolventes orgánicos. Cuando están a temperatura ambiente y fresco son incoloros, ya que al oxidarse se resinifican y toman un color amarillento. La mayoría de los aceites son menos densos que el agua y con un alto índice de refracción. Por lo tanto, según el autor a los componentes de los aceites esenciales se corrobora con nuestra investigación añadiendo que el aceite de arándanos azules si se encuentra dicho componente y tienen una similitud en el color indicado.

Alberca & Huanca (2015), su trabajo de investigación se realizó con la finalidad de evaluar en índice de estabilidad oxidativa del aceite de moringa oleífera mediante la utilización del método acelerado de Rancimat, comenzaron con la recopilación teórica de la oxidación de aceite vegetales y sobre su influencia en la

vida útil, estos investigadores hicieron una extracción en frio del aceite esencial de moringa donde evaluaron composiciones físicas y químicas. La cantidad de aceite que obtuvieron fue determinada gravimétricamente y expresada en porcentaje en como peso donde demostraron un rendimiento del 22.89 %, teniendo una diferencia muy significativa con nuestra investigación donde se obtuvo un rendimiento del 1.5 % en la extracción del aceite esencial de arándanos azules.

Los aceites esenciales como aditivos naturales son indispensables para la elaboración de variedades de productos, son muy importante porque mantiene sus características organolépticas, y a su vez conservan el producto. Según (Maguna et al., 2006), desarrollo su investigación titulado Actividad Antimicrobiana de un grupo de Terpenoides, manifiesta que los terpenoides son los principales contribuyentes de la actividad antimicrobiana de los aceites esénciales, siguiendo en orden de actividad los terpenoides que contiene grupo alcoholes, luego poseen aldehídos y por último los que tienen grupos cetónicos.

Después de realizar la sensibilidad antimicrobiana al aceite esencial de arándanos azules frente a la *Escherichia coli,* se obtuvo que el tratamiento 4 de este aceite esencial presento mayor actividad antimicrobiana, que los otros tratamientos, también supero a dos antibióticos testigos, teniendo en cuenta que la Eritromicina también presento actividad antimicrobiana. Según la investigación de (Nanasombat & Lohasupthawee, 2005) demostraron que el aceite esencial de canela inhibe el crecimiento de *S. typhimurium* con halos de inhibición entre 8 mm y 9 mm, mientras su control positivo Amoxicilina manifestó mayor sensibilidad antimicrobiana con halo de inhibición de 29mm.

Jácome (2019) en su investigación evaluó el efecto bactericida de aceites esenciales de canela, jengibre y clavo de olor para aplicaciones agroindustriales

donde obtuvo seis tratamientos donde los evaluó frente a bacterias patógenas, para esto primero extrajeron aceites esenciales mediante el método de hidrodestilacion, luego realizaron la evaluación microbiológica con *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* en Muller-Hinton Agar, donde en tratamiento 1 (AE de canela) presento gran capacidad bactericida con 43,23 mm es sus halos frente a *S. aureus* y en *E. coli.* Nuestra investigación también presento actividad antimicrobiana en cepas control de *E. coli,* donde el tratamiento 4 fue el ganador con un promedio de 25,3 mm en halos de inhibición.

Solís (2016) en su estudio de investigación determinaron la actividad antimicrobiana de dos aceites esenciales de albahaca y canela frente a *Salmonella typhimurium* mediante la técnica de difusión de disco en agar Kirby-Bauer, como control positivo utilizaron Amikacina y como control negativo Tween 80 al 1%. Donde obtuvo como resultado que el 100% del aceite esencial de canela tiene mayor efecto inhibitorio frente a *S. typhimurium* con un promedio de porcentaje de inhibición 38,60 % y un promedio de halo inhibitorio 11,50 mm y en el aceite esencial de albahaca cuyo promedio de porcentaje de inhibición es de 19,03 % y en el promedio de halo inhibitorio de 5,75 mm, referente a nuestra investigación como resultado tenemos un promedio del tratamiento 4 y el testigo 2 que mostraron mayor efecto antimicrobiano con un promedio de 25,3 % en lo que es el aceite y 23,3 % en lo que es el antibiótico Eritromicina, lo que indica el potencial antimicrobiano del aceite esencial de arándanos azules ya que se lo puedo utilizar como conservantes en la industria de alimentos para inhibir los microorganismo.

6. Conclusiones

En virtud de los resultados obtenidos y la discusión planteada se acepta la hipótesis que el aceite esencial de arándanos azules posee función inhibitoria sobre *E. coli* bajo condiciones *in vitro.*

El aceite esencial extraídos mediante el método de hidrodestilacion presentó un rendimiento del 1,5 % con un pH de 6,0 que es considerado levemente acido.

Con respecto a la actividad inhibitoria del aceite esencial se indica que la concentración de 10 µL presenta mayor actividad que supera numéricamente eritromicina, aunque no presenta diferencia significativa estadísticamente.

Se estableció en 30 días el periodo de vida útil del aceite esencial de arándanos azules ya que a partir de allí presento rasgo de rancidez.

7. Recomendaciones

Se plantea las siguientes recomendaciones que en las próximas investigaciones se emplee otras metodologías de extracción de aceites esenciales.

Realizar nuevos estudios de investigación utilizando otros tipos de aceites utilizando frutas, cortezas, hojas y semillas, ya que el Ecuador cuenta con una gran variedad de plantas medicinales.

El aceite esencial de arándano azul se puede utilizar como conservantes naturales en empresa agroindustriales, motivo por el cual se recomienda hacer investigaciones, en donde se realice pruebas sensoriales para remplazar aditivos y conservantes químicos que se utilizan en ciertos alimentos.

No ingerir en grandes cantidades aceites esenciales porque presenta toxicidad para el ser humano.

8. Bibliografías

Adrianzen J; Chiroque J. (2017). Efecto in vitro del zumo de vaccinium corymbosum, sobre Escherichia coli. Trujillo

Ángel. (2015). Efecto del extracto del extracto de Vaccinium corymbosum sobre el crecimiento de Escherichia coli y Staphylococcus aureus en condiciones de laboratorio.

Alberca S; Huanca M. (2015). *EVALUACIÓN DEL ÍNDICE DE ESTABILIDAD OXIDATIVA DEL ACEITE DE MORINGA (Moringa oleífera Lam) POR EL MÉTODO RANCIMAT.* Peru.

Arriola, Lucrecia. Validación de métodos analíticos, fisicoquímicos y microbiológicos. Guatemala: Colegio de farmacéuticos y químicos de Guatemala, 2012.

Avendaño, Carmen; López (2001) [Primera edición 1993]. *Introducción a la química farmacéutica* (2ª edición). Madrid: McGraw-Hill/Interamericana de España. pp. 568-572. ISBN 978-84-486-0361-8.

Bertram G. katzung farmacología básica y clínica 8ª. Edición 2002. Manual moderno. México.

Bonilla, T. (2012). Aplicación del orégano como conservante para extender el tiempo de vida útil de hamburguesa refrigerada (Tesis de grado). Universidad Tecnológica Equinoccial. Quito, Ecuador. Recuperado de: http//repositorios.ute.edu.ec/handle/123456789/5010.

Bravo Velásquez, E. (2013). *Apuntes sobre la Biodiversidad del Ecuador.* Recuperado de: http://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/5581.

Burgos, M. (2009). pulevasalud.com. Obtenido de pulevasalud.com: http://www.pulevasalud.com/ps/contenido.jsp?ID=58177&TIPO_CONTENIDO=Arti culo &ID_CATEGORIA=104837&ABRIR_SECCION=2&RUTA=1-2-45-90-104837

Cabeza Herrera RA, Cabeza Herrera EA, Pisciotti Ortega DA. Actividad inhibitoria de extractos de Plutarchia coronaria sobre Salmonella serotipo Enteritidis ATCC 17036. Revista Bistua.2015.13(1):46-61

Casado, C., Torrico, G., & Medina, M. (2012). *MEDIOS DE CULTIVO EN UN LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA*. Recuperado de: https://libroslaboratorio.files.wordpress.com/2012/09/medios-de-cultivo-en-un- laboratorio-de-microbiologc3ada.pdf.

Castro, A. (2014). *Bacteriología medica basada en problemas*. Recuperado de: http://www.academia.edu/13509918/bacteriologia_medica_basada_en_problemas_castro _2ed_medilibros_com

Escobar, Y. N. (2018). *OBTENCIÓN DE ACEITES ESENCIALES MEDIANTE DESTILACIÓN POR ARRASTRE DE VAPOR A PARTIR DEL MUCÍLAGO DE CACAO (Theobroma cacao L.).* MILAGRO : UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR .

Farmer III, J.J. 2003. Enterobacteriaceae: introduction and identification. In: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Yolken (ed.). Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

Figueiredoa, A. F. (2017). The role of biofilms in persistent infections and factors involved in ica-independent biofilm development and gene regulation in Staphylococcus aureus. *Critical Reviews in Microbiology*. 43(5) 602-620, doi: 10.1080/1040841X.2017.1282941.

Garcia, M., Medina, C., & Molina, C. (2012). Efecto antibacteriano del aceite esencial de orégano (*Lippia berladieri*) en bacterias patógenas de camarón *Litopenaeus vannamei*. *Revista Hidrobiologica. 22*(3)201-206.

Gonzalez, J. G. (junio de 2004). file. Obtenido de file: file:///C:/Users/USERR/Downloads/GUIA%20DEL%20ARANDANO.pdf

Hajna and Perry. 1943. Am J. Public Health. 33:550.

Instituto Ecuatoriano de Normalización. (2014). Norma Técnica Ecuatoriana ISO 856:2006 Aceite esencial de Piperita

Instituto Ecuatoriano de Normalización. (2014). Norma Técnica Ecuatoriana ISO 212:2007 Aceite esencial. Muestreo

Jacome, J. J. (2019). *EVALUACION DEL EFECTO BACTERICIDA DE ACEITES ESENCIALES DE CANELA (Cinnamomum verum), JENJIBRE (Zingiber officinale) Y CLAVO DE OLOR (Syzygium aromaticum) PARA APLICACIONES AGROINDUSTRIALES.* Quito.

Jirovets, L., & Buchbauer, G. (2010). Handbook of Essential Oils. Recuperado: https://ttngmai.files.wordpress.com/2012/09/handbookofessentionaloil.pdf.

Jung Cook, Helgi. Uso racional de antibióticos en México. Rev Mex Cienc Farm.2010;41(2):5-6

Kaper, J.B., O'Brien, A.D. (eds.). 1998: Escherichia coli O157:H7 and Other Shiga ToxinProducing E. coli strains. American Society for Microbiology, Washington, DC, USA.

Loor, J. (2016). Propuesta Para La Creación De Una Mermelada A Base Del Arándano “Vaccinium Corimbosium” Su Difusión Y Comercialización En La Ciudad De Guayaqui. Guayaquil

Lorsa. (2008). LEY ORGANICA DE SOBERANIA ALIMENTARIA. Quito: ASAMBLEA NACIONAL DEL ECUADOR. EDICIONES NACIONALES.

Luengo, M. T. (2004). Los aceites esenciales. OFFARM ÁMBITO FARMACÉUTICO, 89. Obtenido de http://es.labohevea.com/downloads/HE_es.pdf

Martucci, J. F., Genbe, L. B., Neira, L. M., & Ruseckaite, R. A. (2015). Oregano and Lavender essential oils as antioxidant and antimicrobial additives of biogenic gelatin films. *Industrial Crops and Products, 71*(1) 205-213. Recuperado de: https://pubag.nal.usda.gov/catalog/5429122

Maguna, F. P., Romero, A. M., Garro, O. A., y Okulik, N. B. (2006). Actividad Antimicrobiana de un grupo de Terpenoides. Comunicaciones Científicas y Tecnológicas en Internet. Argentina: Facultad de Agroindustrias.

Matt, W. (24 de abril de 2012). doctornews.org. Obtenido de doctornews.org: http://www.doctornews.org/los-cientificos-hallan-que-los-arandanos invierten-eldeficit-en-la-memoria-relacionado-con-el-envejecimiento/

Mendez, E.; Sanhueza, J.; Speisky, H.; Valenzuela, A. 1996. Validation of the Rancimat test for the assessment of the relative stability of fish oils. Journal of the American Oil Chemists Society 73: 1033–1037.

Mira, Naranjo, J. C. (2017). *Eficacia antimicrobiana in vitro del extracto de mastuerzo (tropaeolum majus) y tomillo (thymus vulgaris) sobre cepa certificada de Staphylococcus aureus* (Tesis de grado*)*. Universidad Tecnica de Ambato, Cevallos-Ecuador.

Morán, T., & Lantero, M. (2016). Identificación de Escherichia coli O157:H7 en carnes bovinas que abastecen la ciudad de Quevedo-Ecuador

Nakatani, N.; Tachibana, Y.; Kikuzaki, H. 2001. Establishment of a model substrate oil for antioxidant activity assessment by oil stability index method. Journal of the American Oil Chemists Society 78: 19– 23

Nanasombat, S., & Lohasupthawee, P. (2005). Actividad antibacteriana de extracto etanolico crudo y aceites esenciales de especias contra Salmonella y otras enterobacterias. Investigación. Departamento de Biología Aplicada, Facultad de Ciencias., Tailandia.

Neri E.; Celis C.; León S.; et al. El jugo de arándano y su papel en las infecciones de las vías urinarias. Ginecol Obstet Mex 2009; 77(11):512- 517.

Neumayer, M. C. (agosto de (2015)). INTRODUCCIÓN A LA OBTENCIÓN DE ACEITE ESENCIAL DE LIMÓN. redalyc.org, 149-151. Obtenido de http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=87701214.

ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACIÓN (FAO). Pérdidas y desperdicio de alimentos el mundo. Roma (Italia): 2015, 42 p.

ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD (OMS). Inocuidad de los alimentos (Nota descriptiva N° 399) [online]. 2015. Disponible: http://www.who.int/mediacentre/factsheets/ [citado 20 de marzo del 2017].

Ostrolucka, M., Gajdosova, A., Libiakova, G., Hrubikova, K. & Bezo, M. (2007). Protocol for micropropagation of selected Vaccinium spp. En: Jain, S.M., Haggman, H. (ed.). Protocols for micropropagation of Woody Trees and Fruits. Springer, p. 445-455

Ramos, M. (2010). Compuestos Antimicrobianos Adicionados en Recubrimientos Comestibles para Uso en Productos Hortofrutícolas. *Revista Mexicana de Fitopatología,* *28*(1) 44-57. Recuperado de: http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=6121420.

Risco E, Miguélez C, Sánchez E, Rouseaud A. Efecto del arándano americano (cysticlean), sobre la adherencia de Escherichia coli a células epiteliales de vejiga. estudio in vitro y ex vivo. Arch. Esp. Urol. 2010; 63 (6): 422-430.

Ríos Vázquez, E. (2010). EVALUATION OF THE ESSENTIAL OIL AND STUDY OF COLD CONSERVATION OF Cymbopogon citratus CULTUVATED IN THE REGION OF THR QUINDIO. *Revista Investigación Universidad del Quindio,* 24-28. Recuperado de: http://blade1.uniquindio.edu.co/uniquindio/revistainvestigaciones/adjuntos/pdf/bdad_RIUQ2003.pdf.

Rodríguez Sauceda, E. N. (enero de 2011). USO DE AGENTES ANTIMICROBIANO NATURALES EN LA CONSERVACION DE FRUTAS Y VERDURAS. *Revista Ra Ximhai. Universidad Autonoma Indigena de México,* *7*(1) 153-170. Recuperado de: http://www.redalyc.org/pdf/461/46116742014.pdf.

Sadiki, M., Balouiri, M., Barkai, H., Maataoui, H., Koraichi, S., & Elabed, S. (2014). Synergistic antibacterial effect of Myrtus communis and Thymus vulgaris essential oils fractional inhibitory concentration index. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences,* *6*(6), 121-124. http://www.jonnsaromatherapy.com/pdf/Sadiki_Synergistic_Myrtus_communis_Thymus _vulgaris_2014.pdf.

Servicio Nacional de Aprendizaje. Introducción a la industria de los aceites esenciales de plantas medicinales y aromáticas. 2010.

SHAH, M.K. et al. Efficacy of vacuum steam pasteurization for inactivation of Salmonella PT 30, Escherichia coli O157:H7 and Enterococcus faecium on low moisture foods. Food Microbiology, 244, 2017, p.111-118.

Sovova, H., & Aleksovski, A. (2006). Mathematical Model For Hydrodistillation of Essencial Oils. *Flavour. Frag. J*, 881-889. Recuperado de: https://doi.org/10.1002/ffj.1729.

Stashenko, E. (2009). ACEITES ESENCIALES. *Recuperado de: http://cenivam.uis.edu.co/cenivam/documentos/libros/1.pdf.*

Solis, A. J. (2016). *ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE LOS ACEITES ESENCIALES DE: ALBAHACA (Ocimum basilicum L) Y CANELA (Cinnamomum zeylanicum) FRENTE A LA BACTERIA: Salmonella typhimurium.* GUAYAQUIL: UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR.

UNNE. (2010). *Familia Corymbosum o Leguminosae.* USDA's National Nutrient Database for Standard Reference

Vincent S.; Lowe F. Cranberry juice for the prevention and treatment of urinary tract infections. Drugs of Today 2007;43(1):47-54

9. ANEXOS

9.1 Cronograma de actividades

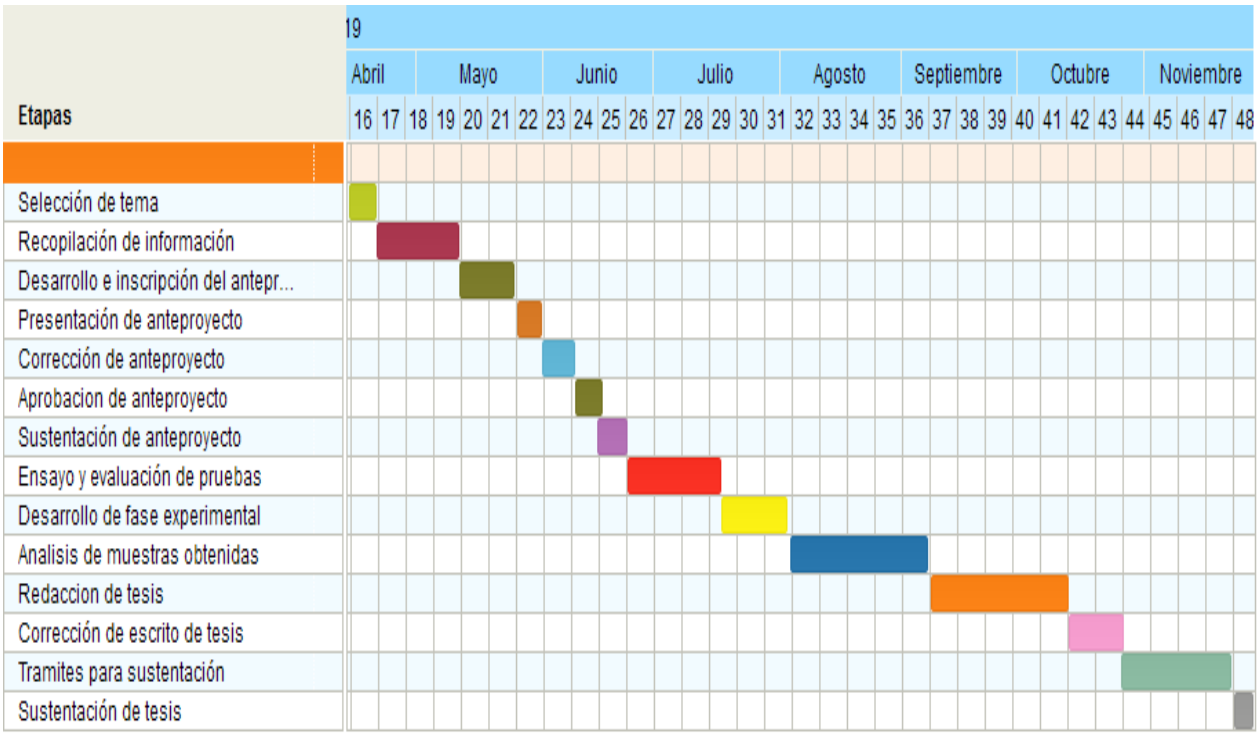


Figura 2. Cronograma de actividades
Lopez, 2019.

Figura 3. Extraccion del aceite esencial.
Lopez, 2020.

Figura 4. Medición del pH, en el pH metro digital.
Lopez, 2020.

Figura 5. Medición del pH, con tiras Macherey-Nagel
Lopez, 2020.

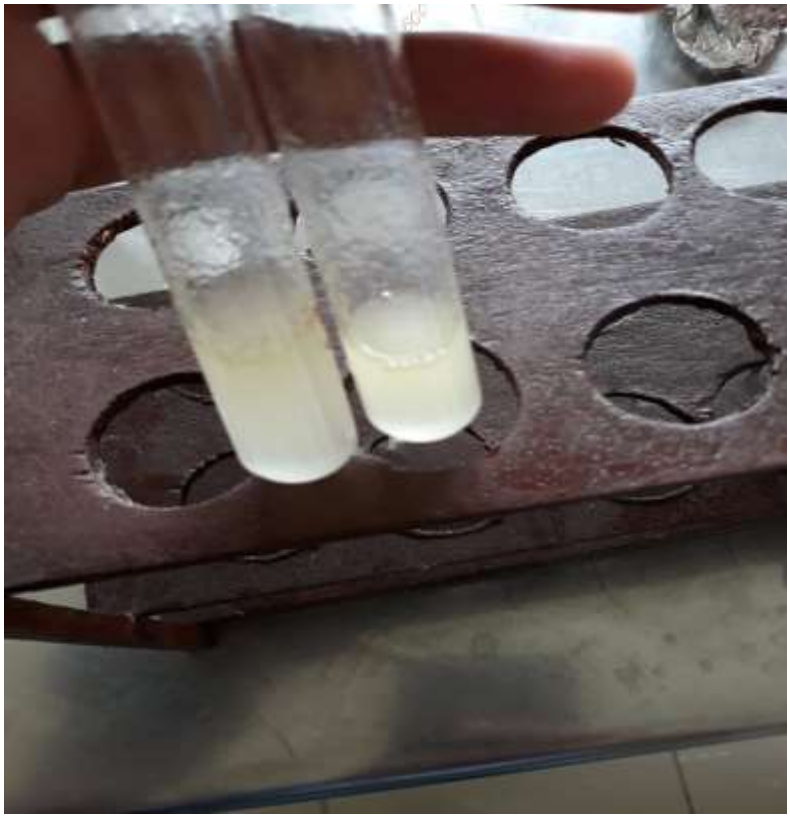


Figura 6. Medición de solubilidad en alcohol
Lopez, 2020.

Figura 7. Preparación de medios de cultivo
Lopez, 2020.

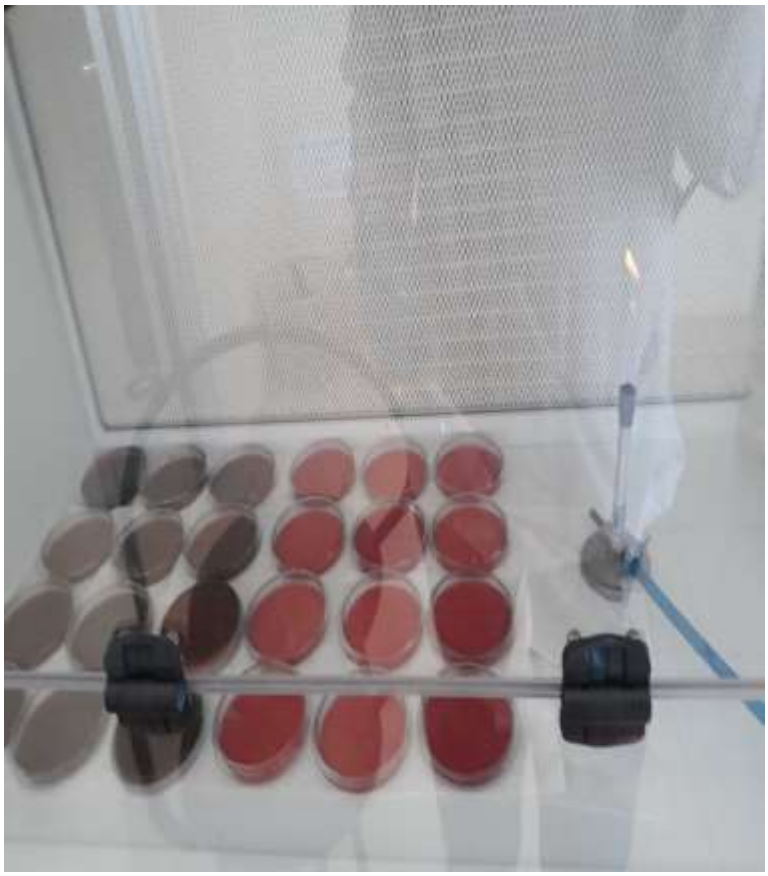


Figura 8. Medios de cultivo gelificado.
Lopez, 2020.

Figura 9. Cepa ATCC 25922 Escherichia coli.
Lopez, 2020.

Figura 10. Cajas Petri sembrada con cepas ATCC 25922
Lopez, 2020.

Figura 11. Efecto antimicrobiano del aceite esencial
Lopez, 2020.

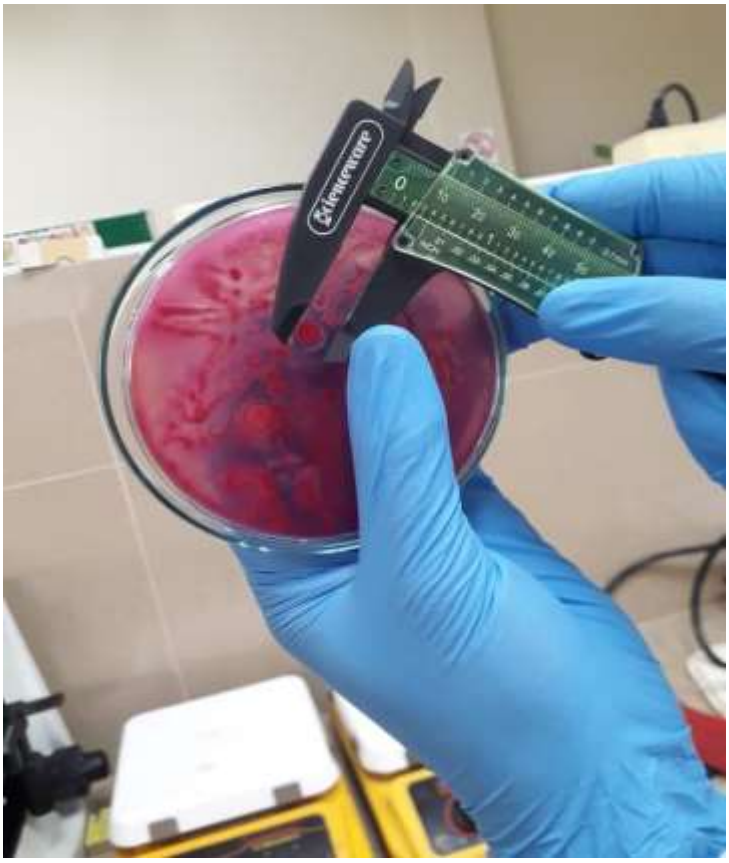


Figura 12. Medición de halos de inhibición
Lopez, 2020.

ANALYTICAL LABORATORIES
TESTING & CONSULTING

INFORME DE RESULTADOS
IDR 27159-2020

Fecha: 04 de Marzo del 2020

DATOS DEL CLIENTE			
Nombre	LOPEZ ENGRACIA JUNIOR RODOLFO		
Dirección	Ventanas		
Teléfono	0967243921		
Contacto	Sr Junior Lopez		
DATOS DE LA MUESTRA			
Tipo de muestra	Aceite esencial	Cantidad	Aprox. 40 mL
No. de muestras	1 (n=4)	Lote	**N/A**
Presentación	Frasco plástico	Fecha de recepción	23 de Enero del 2020
Toma de muestra	Realizado por el Cliente	Fecha toma de muestra	N/A
CONDICIONES DEL ANALISIS			
Temperatura (°C)	N/A	Humedad (%)	N/A
Fecha de Inicio de Análisis		06 de Febrero del 2020	
Fecha de Finalización del análisis		27 de Febrero del 2020	

RESULTADOS

FICHA DE ESTABILIDAD NATURAL

Temperatura= 30 ±5 °C | Humedad: 65 ± 5 %

CODIGO UBA-27159-1
CODIGO CLIENTE: **Aceite esencial de arándanos azules**

PARAMETROS	METODO	Tiempo Natural: 0 días	Tiempo Natural: 10 días	Tiempo Natural: 20 días	Tiempo Natural: 30 días
Rancidez	NTE INEN 45:1973 **(Volumétrico)**	**NEGATIVO**	**NEGATIVO**	**NEGATIVO**	**NEGATIVO**

CONCLUSIONES:

Finalizado el estudio y visto los comportamientos de rancidez en el periodo de estudio de 30 días bajo condiciones de estabilidad natural; se recomienda que el producto: "**Aceite esencial de arándanos azules**", sea considerado para registro con un periodo de vida de 30 días (1 mes).

Observaciones:

1. Los resultados emitidos en este informe, corresponden únicamente a la(s) muestra(s) recibidas por el laboratorio. No siendo extensivo a cualquier lote.
2. Este reporte no debe ser reproducido parcial o totalmente, excepto con la aprobación escrita por parte del laboratorio.
3. Nomenclatura: N.D. = No Detectable; N.A. = No aplica
4. La información relacionada con la toma de muestra fue proporcionada por el cliente.

Figura 13. Resultados de laboratorio.
UBA, 2020