



**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
ESCUELA PROFESIONAL DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y  
BIOQUÍMICAS**

**TESIS**

**“ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA Y DESINFECTANTE DEL ACEITE  
ESENCIAL DE *Rosmarinus officinalis* (romero) EN VEGETALES DE  
CONSUMO DIRECTO”**

**PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO  
FARMACÉUTICO**

**AUTORES:**

**Bach. Fuentes Landeo, Virginia Rossy**

**Bach. Montes Sevillano, Dayse Isabel**

**ASESOR:**

**Mg Q.F Diaz Uribe, Julio Luis**

**LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:**

**Recursos naturales**

**Huancayo - Perú**

**2021**

## **Dedicatoria**

A Dios quien como el guía que estuvo presente en el caminar de mi vida, dándome fuerzas para continuar con mis objetivos trazados.

A mi madre, a Milagros y a Rafael por su apoyo incondicional, por llenar mi vida con valiosos consejos, por estar pendiente en mi bienestar y alentarme a cumplir mis metas. A mi amor Franklin por su motivación constante durante la realización de esta tesis.

Con mi amor inmenso para mis hijos Mia y Fernando.

A mi madre porque siempre me motivo a superarme, a Ruben e hijos por su apoyo incondicional.

## **Agradecimiento**

Al asesor Mg. Diaz Uribe Julio Luis, por su tiempo, motivación y conocimientos científicos para guiarme durante el desarrollo de esta tesis.

A la Universidad Franklin Roosevelt honorable institución que permitió formarme profesionalmente.

## PÁGINA DEL JURADO

#### DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD

Yo, Virginia Rossy Fuentes Landeo, con DNI 44189606 egresado de la facultad de ciencias de la salud escuela profesional de ciencias farmacéuticas, con la tesis titulada "Actividad antimicrobiana y desinfectante del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* (romero) declaro bajo juramento que el trabajo de investigación desarrollada por mi persona es de mi autoría, debido que he respetado las normas de citas bibliográficas consultadas, por tanto el trabajo de investigación no ha sido plagiada total ni parcialmente. Los resultados obtenidos son reales, no han sido falseados ni copiados ya que constituirán aporte a la realidad investigada.

  
.....  
Virginia Rossy Fuentes Landeo  
DNI: 44189606

#### DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD

Yo, Daise Isabel Montes Sevillano, con DNI 43007316 egresado de la facultad de ciencias de la salud escuela profesional de ciencias farmacéuticas, "Actividad antimicrobiana y desinfectante del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* (romero) declaro bajo juramento que el trabajo de investigación desarrollada por mi persona es de mi autoría, debido que he respetado las normas de citas bibliográficas consultadas, por tanto el trabajo de investigación no ha sido plagiada total ni parcialmente. Los resultados obtenidos son reales, no han sido falseados ni copiados ya que constituirán aporte a la realidad investigada.

  
.....  
Daise Isabel Montes Sevillano  
DNI: 43007316

## ÍNDICE

Carátula.....	i
Dedicatoria.....	ii
Agradecimiento.....	iii
Página del jurado.....	iv
Declaratoria de autenticidad.....	v
ÍNDICE.....	vi
ÍNDICE DE CUADROS.....	viii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	ix
ÍNDICE DE TABLAS.....	x
RESUMEN.....	xi
ABSTRACT.....	xii
CAPITULO I.....	1
INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO II.....	38
MÉTODO.....	38
2.1 Tipo y diseño de investigación.....	38
2.1.1 Tipo de investigación.....	38
2.2.2 Diseño de la investigación.....	38
2.2 Operacionalización de variables dependiente e independiente.....	38
2.2.1 Variable independiente.....	38
2.2.2 Variable dependiente.....	38
2.3 Población, muestra y muestreo.....	39
2.3.1 Población.....	39
2.3.2 Muestra.....	40
2.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos, validez y confiabilidad.....	40
2.4.1 Técnicas.....	40
2.4.2 Instrumentos.....	40
2.5 Técnicas de procedimientos de la investigación.....	40

2.5.1 Obtención y clasificación del recurso vegetal.....	40
2.5.2 Selección y limpieza del recurso vegetal.....	41
2.5.3 Técnicas de extracción del aceite esencial de <i>Rosmarinus officinalis</i> L.....	41
2.6 Ensayos microbiológicos.....	45
2.7 Recolección de <i>Lactuca sativa</i> (lechuga).....	46
2.8 Preparación del desinfectante.....	47
2.9 Aplicación del desinfectante de romero.....	47
CAPÍTULO III.....	49
RESULTADOS.....	49
CAPÍTULO IV.....	52
DISCUSIÓN.....	52
CAPÍTULO V.....	54
CONCLUSIONES.....	54
CAPÍTULO VI.....	55
RECOMENDACIONES.....	55
REFERENCIAS.....	56
ANEXOS.....	65

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro N°1: Clasificación taxonómica de <i>Rosmarinus officinalis</i> L (romero).....	10
Cuadro N° 2: Composición química de <i>Rosmarinus officinalis</i> L (romero).....	13
Cuadro N°3: Norma sanitaria que establece los criterios microbiológicos.....	16
Cuadro N° 4: Clasificación taxonómica de <i>Lactuca sativa</i> (lechuga).....	17
Cuadro N° 5: Composición química de <i>Lactuca sativa</i> (lechuga).....	19
Cuadro N° 6: Diferencia entre bacterias Gram positivas y Gram negativas.....	26
Cuadro N° 7: Clasificación taxonómicamente de <i>Escherichia coli</i> .....	27
Cuadro N° 8: Clases de <i>Escherichia coli</i> patógena.....	28
Cuadro N° 9: Clasificación taxonómicamente de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	29
Cuadro N° 10: Secuencia de eventos patogénicos causados por <i>Staphylococcus aureus</i> ...30	
Cuadro N° 11: Mecanismos de acción de los agentes desinfectantes.....	31
Cuadro N° 12: Desinfectantes y antisépticos más comunes.....	33

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura N° 1: Hojas de <i>Rosmarinus officinalis</i> L (romero).....	11
Figura N° 2: Flores de <i>Rosmarinus officinalis</i> L (romero).....	12
Figura N° 3: Fruto de <i>Rosmarinus officinalis</i> L (romero).....	12
Figura N° 4: Flujograma de obtención del aceite esencial de romero.....	44
Figura N° 5: Evaluación de la actividad antimicrobiana del aceite esencial de romero.....	46
Figura N° 6: Recolección de <i>Lactuca sativa</i> y preparación del desinfectante.....	47
Figura N° 7: Aplicación del desinfectante de romero sobre <i>Lactuca sativa</i> .....	48

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N° 1: Características organolépticas del aceite esencial de romero.....	42
Tabla N° 2: Miscibilidad del aceite esencial de romero.....	42
Tabla N° 3: Caracterización de grupos funcionales del aceite esencial de romero.....	43
Tabla N° 4: Actividad antimicrobiana del aceite esencial de <i>Rosmarinus officinalis</i> L (romero) frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.....	49
Tabla N° 5: Actividad antimicrobiana del aceite esencial de <i>Rosmarinus officinalis</i> L (romero) frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.....	50
Tabla N° 6: Efecto desinfectante del aceite esencial de <i>Rosmarinus officinalis</i> L (romero) sobre <i>Lactuca sativa</i> .....	51

## RESUMEN

En la actualidad diversos estudios han demostrado que los metabolitos presentes en los recursos vegetales tienen actividad antimicrobiana sobre microorganismos patógenos que causan enfermedades transmitidas por alimentos. **Objetivo:** Determinar la concentración de aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L (romero) con actividad antimicrobiana y efecto desinfectante sobre los vegetales de consumo directo. **Metodología:** El método utilizado para la obtención de aceite esencial fue destilación por arrastre con vapor de agua, se determinó la actividad antimicrobiana del aceite esencial mediante el método de Kirby Bauer a las concentraciones de 100%, 80%, 60%, 40%, 20% y 10% frente a *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* y como efecto desinfectante se eligió la concentración al 40% para ser aplicado sobre la lechuga de consumo directo. **Resultados:** Sobre la actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L frente a *Escherichia coli* fueron de 10,0, 9,0, 9,0, 8,0, 7,0 y 0 mm respectivamente, para *Staphylococcus aureus* no presentaron actividad antimicrobiana. El aceite preparado como desinfectante al 40% fue aplicado sobre compósitos de *Lactuca sativa* (lechuga), observándose en compósito “A” antes de desinfectar la presencia de  $5,6 \times 10^2$  UFC para *Escherichia coli*,  $3,1 \times 10^2$  UFC de coliformes totales y ausentes para *Salmonella sp* según los indicadores del MINSA y en el compósito “B” tratado con el desinfectante presentó 20 UFC/g para *Escherichia coli*, <10 UFC/g para coliformes totales y ausente para *Salmonella sp*. **Conclusión:** El aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L (romero) presenta actividad antimicrobiana y efecto desinfectante sobre los vegetales de consumo directo debido a que reducen la carga microbiana y cumple con la norma técnica del MINSA/DIGESA.

**Palabras claves:** aceite esencial, *Rosmarinus officinalis* L (romero), antimicrobiano, desinfectante, vegetales de consumo directo.

## ABSTRACT

At present, several studies have show that the metabolites present in vegetables resources have antimicrobial activity on pathogenic microorganisms that cause foodborne diseases.

**Objective:** Determine the concentration of the essential oil of *Rosmarinus officinalis* L (rosemary) with antimicrobial activity and disinfectant effect on vegetables for direct consumption. **Methodology:** The method used to obtain the essential oil was steam distillation, determining the antimicrobial activity of the essential oil by the method of Kirby Bauer at the concentrations of 100%, 80%, 60%, 40%, 20 % and 10% compared to *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* and its disinfectant effect at 40% concentration to be applied on lettuce for direct consumption. **Results:** The antimicrobial activity of the essential oil of *Rosmarinus officinalis* L against *Escherichia coli* was 10.0, 9.0, 9.0, 8.0, 7.0 and 0 mm respectively, for *Staphylococcus aureus* did not present antimicrobial activity. The oil prepared as a 40% disinfectant was applied on composites of *Lactuca sativa* (lettuce), being observed in compound “A” before disinfecting the presence of  $5.6 \times 10^2$  CFU for *Escherichia coli*,  $3.1 \times 10^2$  CFU of total and absent coliforms in *Salmonella* sp according to the MINSA indicators and in the “B” compound treated with the disinfectant presented 20 CFU / g for *Escherichia coli*, <10 CFU / g for total coliforms and absent for *Salmonella* sp. **Conclusion:** The essential oil of *Rosmarinus officinalis* L (rosemary) has antimicrobial activity and disinfectant effect on vegetables for direct consumption reducing the microbial load and complies with the technical standard of the MINSA / DIGESA.

Keywords: essential oil, *Rosmarinus officinalis* L (rosemary), antimicrobial, disinfectant, vegetables for direct consumption.

# CAPITULO I

## INTRODUCCIÓN

Las Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETA) se dan por la ingesta de alimentos o aguas contaminadas con agentes químicos o microbiológicos, que afectan la salud del consumidor a nivel individual o grupal de la población (1). Siendo la lechuga una de las hortalizas que pueden ocasionar ETAS si no son bien lavadas y desinfectadas durante el consumo en ensaladas de la dieta diaria esto se debe muchas veces al cultivo con aguas servidas no tratadas. Es por eso crean la identidad de Dirección General de Salud Ambiental (DIGESA) como responsable de la vigilancia sanitaria de alimentos y bebidas en el Perú, para garantizar la salubridad e inocuidad de los alimentos. En base a los reportes epidemiológicos sobre el incremento de ETAs es indispensable implementar como medida preventiva al uso de los desinfectantes naturales con amplio espectro de acción sobre los alimentos de consumo directo.

Se conoce que el Perú es un país con gran diversidad de recursos naturales, según estudios realizados sobre los vegetales medicinales se comprobaron sus propiedades terapéuticas y en base a ello elaboraron presentaciones farmacológicas obtenidas a partir de extractos, aceites u otras. Este es el caso de *Rosmarinus officinalis* L (romero) originaria en el mediterráneo, cultivado en varios países del mundo con amplia propiedades terapéuticas, según estudios el que destaca es la actividad antimicrobiana por poseer alto contenido de aceites esenciales, ácidos fenólicos, y por consiguiente actúa como desinfectante reduciendo organismos nocivos a un nivel que no dañan la salud (2).

Por lo antes expuesto en esta investigación se busca determinar la actividad antimicrobiana y la elaboración de un desinfectante natural a base del aceite de *Rosmarinus officinalis* L (romero) sobre vegetales de consumo directo tal como *Lactuca sativa* (lechuga).

**De acuerdo a la descripción de la situación problemática:** El ser humano desde tiempos remotos ha utilizado varios de los recursos naturales para satisfacer sus necesidades (2). Por consiguiente, la organización mundial de la salud (OMS), ha definido la medicina tradicional como un conjunto de prácticas, aptitudes y conocimientos basadas en teorías, creencias y

experiencias indígenas de las diferentes culturas, para la prevención, diagnóstico y tratamiento de enfermedades mentales y físicas. (3).

Las ETAs se establecen uno de los problemas más extendidos a nivel mundial. Estas enfermedades se deben por la ingesta de alimentos preparados con mucha anticipación y sin conservación adecuada o puede producir en cualquier etapa del proceso que va desde su producción hasta el consumo. Según la OMS considera que entre 70 y 80% de las enfermedades diarreicas agudas (EDAS) son producidas por los alimentos y agua contaminada. Se estima que cada año la enfermedad diarreica se debe por transmisión alimentaria, cobrando vida de 2,2 millones de personas en su mayoría niños. El Perú no es ajeno a esta situación, durante el 2014 se informaron y estudiaron un total de 61 brotes de enfermedades transmitidas por alimentos (1).

*Lactuca sativa* (lechuga) es una de las hortalizas más comunes y consumida a nivel mundial, su producción se centra en las zonas más templadas y sub tropicales de América, es cultivada al aire libre en los suelos y de gran demanda en ensaladas por su valor nutricional. Como consecuencia pueden generar ETAs si no son correctamente lavadas y desinfectadas debido a que son cultivados con aguas servidas no tratadas, de tal manera existe la necesidad de preparar un desinfectante natural con actividad antimicrobiana frente a los microorganismo patógenos sustituyendo como producto no tóxico y ecológico que conserve el medio ambiente del planeta. (4-6)

Sin embargo Perú es un país con gran diversidad que cuenta con variedades de recursos naturales, por consiguiente presentamos a *Rosmarinus officinalis* L (romero) uno de los recursos naturales con investigación científica aplicados en cepas tipificadas obteniendo resultados alentadores y satisfactorios que posibilitan el uso de este recurso natural como alternativa en los tratamientos farmacológicos y como desinfectante natural en los alimentos. (7)

La presente investigación tuvo como finalidad determinar la actividad antimicrobiana y efecto desinfectante del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L (romero) sobre vegetales de consumo directo tal como *Lactuca sativa* (lechuga).

**Estableciendo la formulación del problema principal:** ¿A qué concentración el aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L (romero) presenta actividad antimicrobiana y efecto desinfectante sobre vegetales de consumo directo? y los Problemas específicos son:

- ¿A qué concentración del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L (romero) presenta actividad antimicrobiana frente a bacterias tipificadas?.
- ¿A qué concentración presenta efecto desinfectante el aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L (romero) sobre vegetales de consumo directo?.

**Como objetivo general de la investigación se plantea:** Determinar la concentración del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L (romero) con actividad antimicrobiana y efecto desinfectante sobre vegetales de consumo directo. Y en los objetivos específicos tenemos:

- Determinar la concentración del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L (romero) con actividad antimicrobiana frente a bacterias tipificadas.
- Determinar el efecto desinfectante del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L (romero) sobre vegetales de consumo directo.

**La justificación de esta investigación** se basa como las ETAs es un problema de salud pública frecuente en la población actual por la alta morbilidad que generan a nivel mundial, esto se debe a la ingesta de alimentos o aguas contaminadas que causan enfermedades diarreicas. Según la OMS se estima que anualmente las ETAs cobran vida de 2,2 millones de personas siendo en su mayoría niños, niñas, embarazadas y adultos mayores que son los más vulnerables a este tipo de enfermedad, por lo que es necesario implementar sistemas de prevención para garantizar la inocuidad de los alimentos. En toda cadena de producción se deben aplicar el Sistema de Análisis de Peligros y/o Principios de Higiene del Codex Alimentarius y Puntos Críticos de Control (HACCP). Enfatizando en la limpieza, desinfección y sanitización de los alimentos (8,9).

*Lactuca sativa* (lechuga) es la hortaliza con gran demanda de consumo diario por su aporte nutricional y propiedades terapéuticas, su cultivo es muchas veces con aguas servidas a falta de aguas sanitizadas, es por eso que esta hortaliza tienen gran cantidad de microorganismos que ocasionan las ETAs. Sin embargo, todos los compuestos químicos usados para la

desinfección tienen desventajas para la salud, por consiguiente, se dirige a los recursos naturales como alternativa para disminuir la toxicidad en los vegetales de consumo directo (6). Según estudios científicos han demostrado que el aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L tienen amplia propiedad terapéutica destacando su acción antimicrobiana debido a que constituyen al ácido rosmarinus y carnósico como metabolito principal, a la vez este recurso vegetal es biodegradable que preserva el medio ambiente. Sin embargo, aún no hay estudio como desinfectante ni como agente limpiador en los vegetales de consumo directo *Lactuca sativa* (lechuga) (2).

En esta investigación se pretende determinar la actividad antimicrobiana y el efecto desinfectante del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L (romero) frente a bacterias tipificadas presentes en *Lactuca sativa* (lechuga).

**En su importancia de la investigación:** Los recursos vegetales en la medicina brinda propiedades y beneficios terapéuticos de gran interés, en la actualidad es aplicado como alternativa en el tratamiento de múltiples enfermedades y como conservantes en los alimentos. En esta investigación se busca determinar la actividad antimicrobiana y efecto desinfectante del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L (romero) sobre vegetales de consumo directo tal como *Lactuca sativa* (lechuga), con la finalidad de disminuir las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) ocasionadas por las condiciones no adecuadas durante la producción, almacenamiento, distribución y preparación de los alimentos.

Este recurso vegetal contiene múltiples propiedades terapéuticos según referencia bibliográficas, por eso se amplió la investigación para demostrar que el aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L (romero) presenta actividad antimicrobiana y efecto desinfectante frente a bacterias tipificadas. Para así elaborar un desinfectante natural que ayuda a reducir las ETAs ocasionadas por *Lactuca sativa* (lechuga) y de esta manera contribuir con la sociedad.

**Viabilidad de la investigación:** El presente estudio es viable, porque se cuenta con el recurso natural todo el año, se puede recolectar en cualquier época, así mismo se tendrá la

asesoría por parte de los especialistas de la materia. Y para la determinación de los análisis microbiológicos se cuenta con laboratorios especializados.

#### **Limitaciones del estudio:**

- Una de las limitaciones que se presentó en la investigación fue por la escasa fuente de recopilación bibliográfica tanto nacional como internacional.
- Otra limitación que se presenta es el tiempo disponible para el desarrollo de ejecución de la tesis.

#### **En los antecedentes de la investigación a nivel nacional tenemos:**

##### **Carrillo J. Efecto antibacteriano *in vitro* de los aceites esenciales de las hojas de *Thymus vulgaris* (tomillo) y *Rosmarinus officinalis* L (romero) frente a cepa de *Escherichia coli*.**

Para optar el título profesional de Químico Farmacéutico, de la Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote Trujillo – **Perú 2018** en su objetivo: Evalúa el efecto antibacteriano *in vitro* de los aceites esenciales de las hojas de *Humus vulgaris* (tomillo) y *Rosmarinus officinalis* L (romero) frente a cepa de *Escherichia coli*, y su resultado: Encontró halos de inhibición de 9.0, 8.1, 8.8 y 15.3 mm respectivamente del aceite de *Thymus vulgaris* (tomillo) a las concentraciones de 5%, 10%, 25% y 100% y para el aceite de *Rosmarinus officinalis* L (romero) fue de 8.0, 10.9, 10.2 y 18, 3 mm respectivamente a las concentraciones de 5%, 10%, 25% y 100%. Conclusión: El aceite de *Rosmarinus officinalis* L (romero) presenta mayor actividad antibacteriano frente a *Escherichia coli* con halo de inhibición 18,3 mm al 100% (10).

##### **Cueva, J. Actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L (romero) frente al crecimiento de *Streptococcus mutans* atcc 25175 *in vitro*.**

Para optar el título de cirujano dentista, de la universidad Norbert Wiener lima – Perú 2017. Su objetivo: Es determinar la actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L (romero) frente al crecimiento de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 *in vitro* y como resultado: El aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L (romero) a 72 horas presentó 38.4 mm y a las 168 horas 29.3 mm halo de inhibición, en caso del grupo control con gluconato de corhexidina al 0,12% a las 72 horas presentó 33.0 mm y a las 168 horas 30.6 mm halo de

inhibición. Conclusión: El aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L presenta mayor actividad antimicrobiana *in vitro* a las 72 horas sobre los cultivos de *Streptococcus mutans* ATCC25175(11).

**Castro, Y. Eficacia antibacteriana de los aceites esenciales de *Mentha piperita* “menta” y *Rosmarinus officinalis* L “romero” sobre *Staphylococcus aureus*. Estudio *in vitro*.** Para optar el título profesional de Médico Cirujano, de la Universidad Cesar Vallejo – Trujillo **Perú – 2016** Su objetivo: Fue evaluar la eficacia antibacteriana de los aceites esenciales de *Mentha piperita* “menta” y *Rosmarinus officinalis* L “romero” sobre las cepas de *Staphylococcus aureus*, estudio *in vitro*. Obtuvo como resultado: Los halos de inhibición de los aceites fueron: a 25% (6.7 mm), 50% (7.4 mm), 75% (8.0 mm) y 100% (7.4 mm), en comparación con la amoxicilina de 250mg presentó 26.1 mm del halo de inhibición. **CONCLUSIÓN:** El aceite de *Rosmarinus officinalis* L (romero) presenta efecto antibacteriana menor frente a *Staphylococcus aureus*. (12)

**Sosa, J. Efecto antibacteriano *in vitro* del extracto alcohólico de *Rosmarinus officinalis* L (romero) y el agua ozonizada sobre *Streptococcus mutans* y *Enterococcus faecalis*.** Para optar el título profesional de Cirujano Dentista, de la Universidad Señor de Sipán Lambayeque – **Perú 2015**. El objetivo: Determinar el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto alcohólico de *Rosmarinus officinalis* L (romero) y el agua ozonizada sobre *Streptococcus mutans* y *Enterococcus faecalis*, los resultados del extracto alcohólico de *Rosmarinus officinalis* L al 50mg/ml presentó 32.7 mm halo de inhibición en *Enterococcus faecalis* y 26.7 mm en *Streptococcus mutans*. Mientras que los halos de inhibición de gluconato clorhexidina al 0.12% obtuvo un promedio de 16.5 mm tanto para *Enterococcus faecalis* y *Streptococcus mutans*. **Conclusión:** Los extractos alcohólicos de *Rosmarinus officinalis* L (romero) presenta mayor actividad antibacteriano frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175 y *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. (13)

**San Román, I. Actividad antimicrobiana *in vitro* del extracto etanólico del *Rosmarinus officinalis* l (romero) sobre cultivos de bacterias anaerobias frecuentes en pacientes con bolsa periodontal.** Para obtener el título de cirujano dentista, de la universidad nacional Mayor de san Marcos Lima – **Perú 2013**. Objetivo: Determinar la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* L *in vitro* sobre cultivos de bacterias

anaerobias frecuentes en pacientes con periodontitis crónica. Sus resultados: Sobre el halo de inhibición del extracto de *Rosmarinus officinalis* L es de 13.3 mm y la clorhexidina al 0,12% es de 13,4 mm. Conclusión: El extracto de *Rosmarinus officinalis* L tiene mayor actividad antimicrobiana frente a bacterias anaerobias. (2)

**A nivel internacional tenemos a:**

**Pomagualle, F. Actividad antimicrobiana del extracto alcohólico y aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L “romero” frente a la cepa *Pseudomona aeruginosa*.** Para obtener el grado académico de magister en Farmacia clínica y Hospitalaria Abanto – Ecuador 2018. Su objetivo: Determinar la actividad antimicrobiana del aceite y extracto de *Rosmarinus officinalis* L sobre *Pseudomona aeruginosa*. En el resultado del extracto alcohólico de *Rosmarinus officinalis* L al 100% mostró 8,3 mm halo de inhibición y con las demás concentraciones no se observó halos. Mientras que para la gentamicina se obtuvo 20 mm halo de inhibición, en relación al aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L presentó 13,5 mm al 100% y 11 mm al 75%, en 50% y 25% no mostró sensibilidad. En comparación con la gentamicina 10ug negativo. Conclusión: El aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L (romero) presenta mayor acción antibacteriana sobre *Pseudomona aeruginosa*. (14)

**Martínez, J. Evaluación del efecto bactericida del extracto de *Rosmarinus officinalis* L (romero) *in vitro* en cepa certificada de *Escherichia coli*.** Para obtener el grado de Médico Veterinario Zootecnista de la Universidad Técnica de Ambato – Cevallos - Ecuador 2017. Objetivo: Determinar el efecto bactericida del extracto de *Rosmarinus officinalis* L (romero) *in vitro* en cepa certificada de *Escherichia coli*. Resultado: Al 20% y 40% presentaron halo de inhibición de 5,5mm y 6,8 mm frente a *Escherichia coli* ATCC 25922, en caso del 60% y 80% fueron de 9,1 y 10.9mm de halo de inhibición. Conclusión: El extracto oleoso de *Rosmarinus officinalis* L (romero) posee actividad antimicrobiana en cepas bacterianas como: *Escherichia coli* ATCC 25922. (15)

**Solano, X; Moya, T; Zambrano, M. Inhibición del *Streptococcus mutans*, mediante el uso de extracto acuoso y oleoso de *Rosmarinus officinalis* L “romero”.** Ecuador, artículo realizado por la universidad Central de Ecuador Ecuador- 2016. OBJETIVO: Evaluar la inhibición del *Streptococcus mutans*, mediante el uso del extracto acuoso y oleoso de

*Rosmarinus officinalis* L “romero” RESULTADOS: El extracto acuoso no presentó actividad antimicrobiana y el extracto oleoso presentó 11,9 mm de halo de inhibición, mientras la clorhexidina presentó 16,1 mm halo de inhibición. CONCLUSIÓN: El extracto oleoso de *Rosmarinus officinalis* L (romero) mostró mayor acción antibacteriana frente al *Streptococcus mutans* en comparación al extracto acuoso. (16)

**Bonilla, D; etal/ y cols. Efecto del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L (romero) sobre *Porphyromonas gingivales* cultivada in vitro,** artículo realizado por la Universidad Nacional de Colombia Bogotá – **Colombia 2016.** OBJETIVO: Determinar la susceptibilidad *in vitro* de *Porphyromonas gingivales* STCC33277 frente al aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L. RESULTADOS: El aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L demostró una Concentración Mínima Inhibitoria contra *Porphyromonas gingivales* STCC33277 es de 1000ug/ml con un efecto bacteriostático y a la concentración de 1200 ug/ml bactericida y para metronidazol fue de 0,071ug/ml CONCLUSIÓN: que el aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L (romero) se considera como un aporte importante en la búsqueda de nuevos principios activos que lleven a posteriores estudios contra los agentes patógenos periodontales. (17)

**Castaño, P; etal/ y cols. Actividad bactericida del extracto etanólico y del aceite esencial de hojas de *Rosmarinus officinalis* L (romero) sobre algunas bacterias de interés alimentario.** Revista de la Universidad de Antioquia Medellín **Colombia 2010.** OBJETIVO: Evaluar la actividad bactericida y determinar la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) del extracto etanólico y del aceite esencial de hojas de *Rosmarinus officinalis* L sobre microorganismos de interés alimentario: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, *Shigella sonnei*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonasaeruginosa*, *Bacillus cereus* y *Lactobacillus plantarum*. RESULTADO: El extracto etanólico y el aceite esencial de hojas de *Rosmarinus officinalis* L (romero) mostró actividad antimicrobiana contra las bacterias *Escherichia coli*, *Shigella sonnei*, *Salmonella typhimurium* y *Listeria monocytogenes* con 19,8, 25,0 mm respectivamente para Gram positivos *Staphylococcus aureus* y *Bacillus cereus* 17,0 mm respectivamente CONCLUSIÓN: El aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* presenta mayor espectro de acción contra las bacterias Gram negativas a comparación con las bacterias Gram positivas evaluadas en el estudio. (18)

## **Entre las Bases Teóricas tenemos:**

### **Fitoterapia**

La fitoterapia proviene del (griego *fyton*, “planta”; “vegetal” y *therapeia*, terapia), también conocida como herbolaria (del latín *herba*, “hierba”) es la ciencia que estudia el uso extractivo de los recursos medicinales o sus derivados con fines útiles ya sea terapéuticos, para la prevención y tratamiento de diferentes patologías. (19)

Los tipos de fitoterapia que encontramos son:

- **Fitoterapia clásica:** Incluye la utilización de recursos vegetales con función terapéutica, pero bajo la perspectiva de uso empírico, folclórico o popular. (20)
- **Fitoterapia farmacéutica:** Utiliza productos de origen vegetal obtenidos por procesos de extracción o por dilución en alcohol etílico u otros disolventes. (21)

### ***Rosmarinus officinalis L (romero)***

#### **Generalidades**

*Rosmarinus officinalis* es un recurso vegetal común en la península Ibérica distribuida en la cuenca del mediterráneo del norte de África el sur de Europa y el sur oeste de Asia. Según los estudios el nombre de *Rosmarinus* es proveniente de la unión de los vocablos “rho”, arbusto y “myrinus”, aromático. El origen del nombre específico “*officinalis*” pone en manifiesto su aplicación como planta medicinal. Sin embargo, el género *Rosmarinus* presenta varias especies entre ellas: Está *Rosmarinus officinalis*, *Rosmarinus eriocalyx* y *Rosmarinus tomentosus* y otras variedades de taxones. De estos taxones, *Rosmarinus officinalis* es más ampliamente distribuido, llegando a la zona occidental de Andalucía. Su hábitat está relacionada con su gran capacidad de adaptación a distintas condiciones ambientales. (22-23)

El romero crece en la costa y sierra del Perú hasta los 3500 msnm, formando parte del bosque, en laderas de tierras bajas y en lugares secos. Es un arbusto leñoso de hojas perennes,

erguida, hasta 2 metros de altura, con vida media de 5 a 15 años; lo encontramos de color verde, con tallos jóvenes borrosos y tallos añosos de color rojo, tiene la corteza resquebrajada, se desarrolla en climas tropicales, subtropicales y húmedos. En los suelos áridos y secos, pero no se adapta a las tierras arcillas compactas. (23)

### Clasificación taxonómica

Según el Científico Carlos Linneo naturalista, botánico y Zoólogo identificó y clasificó como *Rosmarinus officinalis* 1753, texto que fue publicado en *Species plantarum* (24). Como se muestra el cuadro N° 1.

Cuadro N° 1: Clasificación Taxonómica de *Rosmarinus officinalis* L (romero).

<b>Reino</b>	<b>Plantae</b>
<b>División</b>	Magnoliophyta
<b>Clase</b>	Magnoliopsida
<b>Orden</b>	lamiales
<b>Familia</b>	Lamiaceae
<b>Genero</b>	<i>Rosmarinus</i>
<b>Especie</b>	<i>Officinalis</i>
<b>Nombre común</b>	Romero, romero coronario.

Fuente: <http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index./2014>

### Descripción botánica

- **Altura:** Es un arbusto aromático de hoja perenne, que presenta tallo leñoso y muy ramificado entre 1 a 2 metro de altura. (11,24)
- **Tallo:** Angosto, leñoso y muy ramificado. (24)

- **Hojas:** Presentan hojas pequeñas y abundantes, son opuestas, estrechas y largas crecen directamente en el tallo sin pedúnculo, con unas dimensiones entre 1,5 y 3 cm de longitud y con 2 0 3 mm de anchura. El borde de las hojas son caracterizadas por ser aguda, entero oscilando entre linear y lanceolado con márgenes sentados algo afilados. La parte superior es de color verde oscuro en la cara y un tinte blanquecino o grisáceo por el envés, estas hojas son blandas cuando están frescas y secas se desmoronan (24-25). Como se muestra la figura N° 1.



Figura N° 1: hojas de *Rosmarinus officinalis* L (romero)

Fuente: <http://fichas.infojardin.com/arbustos/rosmarinus-2013>.

- **Flor:** Presentan flores labiadas de una sola pieza y están agrupadas en inflorescencia densas, que se pueden encontrar en las axilas de las hojas. Sus flores presentan dos labios bien marcados, el superior con dos lóbulos y el inferior con tres lóbulos, de los cuales el intermedio es alargado y cóncavo. Presentan dos estambres recurvados cuyas anteras están formadas por una teca curvada, un gineceo bicarpelar cuyo ovario tetra lobular contiene formación de un falso septo en la pared del carpelo, presentan un estilo cuyas dimensiones oscilan de 10 a 20mm, las núculas que producen las inflorescencias del romero son ovoides aplanadas y de color castaño. Sus flores son de color azulado, violáceo o rosa, y nacen en forma de ramilletes en la unión del tallo con la hoja con un tamaño aproximado de 5 mm (24-25). Como se muestra la figura N° 2.



Figura N° 2: Flores de *Rosmarinus officinalis* L (romero)

Fuente: <http://fichas.infojardin.com/arbustos/rosmarinus-2013>.

- **Fruto:** Se encuentran encerrado en el fondo del cáliz, mide 1 mm y está formado por cuatro pequeñas nuececitas de color parduzco. (25-26), como se observa la figura N°3.



Figura N° 3: Fruto de *Rosmarinus officinalis* L (romero)

Fuente: <http://eprints.uanl.mx/11388/1/1080215518.pdf>-2013.

- **Corola:** Su corola es bilabiada de una pieza. El color azul violeta pálido, rosa o blanco con cáliz verde o algo rojizo, también acampanado con manchas Violáceas en el interior y tienen dos estambres encorvados que están soldados a la corola con pequeño diente. Son flores axilares, muy aromáticas y melíferas, se localizan en la cima de las ramas. (25-26)

- **Cáliz:** Mide de 3 a 4 mm, son de color verde o púrpura y esparcidamente tomentoso, es subgladro y con nervios marcados. (27)

### Composición química

Se ha reportado diversos compuestos químicos los cuales han sido agrupados de manera general por diversos autores (2,27). Como se observa el cuadro N° 2.

Cuadro N° 2: Composición química del *Rosmarinus officinalis* L (romero).

<b>Composición química del <i>Rosmarinus officinalis</i> L (romero).</b>	
Ácidos fenólicos	(Cafeico, clorogénico, labiatico, neoclorogénico rosmarínico), colina, taraxasterol, lupeol, campesterol, taninos.
Flavonoide	(Derivados del luteol y del epigenol), apigenina, diosmetina, diosmina, hispidulina, luteolina, cirsimarina, neopritina, sinensetina, cupafolina.
Diterpenos	(Ácido carnósico, carnosol, rosmanol, rosmadial).
Ácidos triterpénicos	(Ácido ursólico) 2 a 4 %.
Alcoholes triterpénicos	(Alfa y beta - amirina, betulósido).
Alcaloides	Pequeñas cantidades de rosmaricina.
Elementos minerales	1,11% de sodio, 1.06% de potasio, 0.63% de calcio, 0.23 % de magnesio. 17ppm de hierro, 10 ppm de cobre, 26 ppm de zinc.
Aceite esencial 1,2 a 2 %	1,8-cinelo (30 - 40%), alcanfor (15 - 25%), borneol (16 - 20%), acetato de bornilo (hasta 7%), $\alpha$ -pineno (25%) como así como $\beta$ -pineno, linalol, canfeno, subinene, mirceno, $\alpha$ -felandreno, $\alpha$ -tirpene, limoneno, p-cimeno, terpinoleno, thujeje, copalene, terpinen-4ol, $\alpha$ -terpineol, cariofileno, metil chavicol, timol.

Fuente: [cybertesis.unmsm.edu.pe/xmlui/bitstream/handle/2013](http://cybertesis.unmsm.edu.pe/xmlui/bitstream/handle/2013).

## Usos medicinales

- **Actividad antiinflamatoria:** el ácido rosmarínico presentó actividad antiinflamatoria en animales de experimentación incrementando la producción de prostaglandinas E2, reduciendo la producción de leucotrienos B4 en leucocitos polimorfonucleares. También inhibe completamente el mecanismo – dependientes de las reacciones inflamatorias; disminuye el edema inducido en roedores e inhibe la anafilaxis cutánea pasiva; el extracto metanólico de “romero”, aplicado tópicamente en ratones, inhibe la hiperplasia e inflamación de la piel producida por compuestos químicos. (28)
- **Actividad antibacteriana:** Según los estudios previos sobre la actividad antimicrobiana del romero es debido a varios de sus componentes tales como: El ácido carnósico, ácido rosmarínico, y carnosol, que han exhibido efectos antibacterianos contra diversas bacterias Gram negativas y Gram positivas. Como es el caso de *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomona aeruginosa*, *Enterococcus faecalis*, *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus epidermidis*, *Helicobacter pylori*, etc. En previas investigaciones del aceite esencial de romero presentaron componentes como el alcanfor, borneol y verbenona en mayor cantidad, esto demuestra acción antimicrobiana más potente. Sin embargo, el contenido abundante de pineno 1,8 – cineol actúa como capacidad bactericida. Los extractos polifenólicos del romero posee mayor cantidad de carnosol en comparación al ácido carnósico incrementando su capacidad bacteriostática. (27-28)
- **Actividad anti fúngica:** El extracto glicólico de *Rosmarinus officinalis* L mostró efectos fungistáticos y fungicida sobre cepas de *Candida albicans*, *Candida glabrata* y *Candida tropicalis*. (28).
- **Efectos antioxidantes:** Según los estudios *in vitro*, la capacidad de la actividad antioxidante ha sido atribuida al ácido rosmarínico, seguido por el resto de di terpenos fenólicos. se les considera responsables del 90% de la actividad. El ácido carnósico resultar ser un excelente inactivador de radicales peróxilo, es decir es un antioxidante primario. (29)

- **Actividad antiviral:** Se realiza estudios *in vitro* de las células y muestran que el extracto acuoso de *Rosmarinus officinalis* L mostró una alta actividad antiviral contra el herpes simple tipo 1, tipo 2 y una cepa que resiste al Aciclovir. (28-29)
- **Efectividad antitumoral:** Estudios realizados *in vivo* y a su vez *in vitro*, se determina que el ácido carnósico presente en el aceite esencial ha demostrado un efecto que consiste en el incremento de la apoptosis de las células del cáncer hepático, la inhibición del glioma inducido por el factor de necrosis tumoral y la protección frente al tumor cutáneo y mamario inducido en ratones. (29)
- **Actividad en el sistema nervioso central:** El efecto neuroprotector de extracto de *Rosmarinus officinalis* L se investigó previamente contra la acrilamida (neurotóxico) en ratas albinas. La administración del extracto de hojas de “romero” causa disminución de norepinefrina, dopamina y epinefrina en diferentes áreas del cerebro, efecto que se atribuyó a la presencia del ácido cafeico y el ácido rosmarínico. (30)
- **Otros usos:** Las hojas son empleadas en cocina para aromatizar carne o guisos. Por su parte las propiedades aromatizantes del aceite hacen que sea muy usado por la industria cosmética, como así también en la elaboración de insecticidas y detergentes. Sus propiedades antioxidantes son aprovechadas en la industria de los embutidos. una de las posibles aplicaciones del extracto del romero es usarlo como tratamiento antimicrobiano en los alimentos para prevenir el problema de la salud pública y económica demostrándose que el extracto y el aceite esencial posee tanto actividad bactericida y bacteriostática como medida preventiva frente al deterioro de los alimentos. (29-30)

### ***Lactuca sativa* (lechuga)**

#### **Generalidades**

Son hortalizas de hojas, básica en la alimentación y nutrición de la población mundial, su producción es en cualquier época del año, su consumo es prácticamente fresco, es herbácea dicotiledónea, su cultivo se conoce desde hace mucho tiempo, sus hojas están expuestas a

serie daños principalmente durante la post cosecha. *Lactuca sativa* es la más antigua existiendo referencias desde 4500 A.C. Los egipcios, griegos y romanos la extendieron por toda Europa. Sin embargo, los romanos ya conocían distintas variedades. (31). Su valor nutricional resalta por su contenido alto de fibra, es buen abastecedor de vitaminas, minerales y sales, También, contienen flavonoides con actividad antioxidante y fito esterol que participan en importantes funciones tales como la reducción de niveles de colesterol en sangre y actividad anti cancerígena. Tiene bajo aporte calórica que indica que es el ingrediente básico en las dietas alimenticias. (31-32). Según la resolución N° 071 del MINSA/DIGESA establece un conjunto de normas sanitarias con criterios microbiológicos de inocuidad y calidad sanitaria para alimentos y bebidas de consumo humano. Como se muestra el cuadro N° 3 (33).

Cuadro N° 3: Norma Sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para alimentos y bebidas de consumo humano.

<b>Frutas y hortalizas frescas (sin ningún tratamiento).</b>						
Agentes microbiano	Categorías	Clases	n	c	Limite por g o ml	
					m	M
<i>Escherichia coli</i>	50	3	50	2	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>
<i>Salmonella sp</i>	10	2	5	0	Ausencia/25gr	

Fuente: [https://www.saludarequipa.gob.pe/desa/archivos/Normas\\_Legales/alimentos/rm591minssanormal.pdf2008](https://www.saludarequipa.gob.pe/desa/archivos/Normas_Legales/alimentos/rm591minssanormal.pdf2008).

### **Clasificación taxonómica**

Según el científico Carlos Lineo naturalista, botánico y zoólogo realizó la publicación en *Species plantarum* (34) sobre la clasificación como se observa el cuadro N° 4.

Cuadro N° 4: Clasificación Taxonómica *Lactuca sativa* (lechuga)

<b>Reino</b>	Plantae
<b>División</b>	Espermatofita
<b>Clase</b>	Angiospermas
<b>Subclase</b>	Dicotiledónea
<b>Orden</b>	Asterales
<b>Familia</b>	Asteraceae
<b>Genero</b>	<i>Lactuca</i>
<b>Especie</b>	<i>sativa</i>
<b>Nombre común</b>	Lechuga

Fuente: <https://conectarural.org/sitio/sites/default/files/20lechuga.pdf>.2016.

### Descripción botánica

- **Raíz:** Su principal raíz es pivotante, corta y puede llegar hasta 30 cm de profundidad, con pequeñas ramificadas; crece muy rápido, con abundante látex, tiene numerosas raíces laterales, las cuales se desarrollan en la capa superficial del suelo con una profundidad de 5 a 30 cm. (34-35)
- **Tallo:** En función a la variedad y su comportamiento, puede cambiar considerablemente, el tallo es pequeño, corto, cilíndrico y no se ramifica; cuando finaliza la etapa comercial el tallo se alarga hasta 1,2 metro de longitud, con ramificación del extremo y presencia, en cada punta, de las ramillas terminales de una inflorescencia. (35)

- **Hojas:** Por su forma son lanceoladas, oblongas y redondas. El borde de los limbos es liso, lobulado, ondulado, aserrado o dentado, lo cual depende de la variedad. Su color es verde amarillento claro u oscuro, su flor es rojiza, púrpura o casi morado, por su consistencia pueden ser más rígidas y crujientes. (36)
- **Flores:** Se agrupan en capítulos en forma de corimbos o racimos compuestos por 10 a 25 floretes, con receptáculo plano, rodeado por brácteas imbricadas. Sus pétalos periféricos ligulados, amarillos o blancos. Presentan corola tubular de borde dentado, su androceo está formado por cinco estambres adheridos a la base de la corola, con presencia de cinco estambres adheridos a la base de la corola, con presencia de cinco anteras soldadas que forman un tubo polínico que rodea al estilo. (35-36).
- **Cáliz:** Es filamentosos y al madurar, la semilla forma el papis o vilano, que actúa como órgano de diseminación anemófila o sea, por el viento. (36)
- **Pétalos:** Son soldados (gamosépalos). (36)
- **Gineceo:** Es unilocular, con ovario ínfero y el estigma bifido, que se poliniza al desarrollarse y atravesar el tubo de las anteras. Los lóbulos del estigma se separan, lo que permite la caída del polen sobre los papilos estigmáticos. (36)
- **Semilla:** El fruto es un aquenio típico y la semilla es exalbuminosa, plana y picuda, la cual es un fruto; de forma achatada, ovalada, con tres a cinco costillas en cada cara, de color blanco, amarillo, marrón o negro. Mide de 2 a 5 mm, en la base se encuentra el pappus plumoso, lo cual facilita la diseminación por el viento; este se desprende fácilmente, con lo cual el aquenio de la semilla queda limpio. (36)

### Composición química

Se ha reportado diversos compuestos químicos, las cuales han sido agrupadas de manera general por diversos autores (37) como se muestra el cuadro N° 5.

Cuadro N° 5: Composición química de *Lactuca sativa* (lechuga).

<b>Composición química de <i>Lactuca sativa</i></b>	
Agua	90 – 95%.
Proteínas	1,5% (alanina, cisteína, histidina, glicina, leusina, serina, lisina, tirosina, valina y ácido glutámico).
Ácidos	Cítrico, oxálico, malico.
Flavonoides	Luteolina, carotenos y quercetina.
Hidratos de carbono	1,5%.
Fibra	1% (pectina).
Lípidos	0.3% (linoleico, oleico, palmítico, esteárico).
Vitaminas	A,C,E,B1,B2,B3,B9,K.
Minerales	Fosforo, hierro, calcio, potasio, cobre, cobalto, silicio, molibdeno.

Fuente: <http://www.publicacionescajamarcultivos-hortícolas aire-libre.2017>.

### **Propiedades**

En su valor nutricional poseen alto contenido de agua, bajo en carbohidratos, proteínas y lípidos. En general son buenas fuentes de vitaminas y minerales siendo la más importante vitamina C. en el aspecto medicinal *Lactuca sativa* (lechuga) contiene principios sedantes por lo que presenta un efecto tranquilizante. Ayuda a calmar los nervios, controlar las palpitations y tratar trastorno del sueño como el insomnio. Es considerada como uno de los mejores diuréticos, se recomienda en casos de obesidad, hipertensión arterial, edemas, insuficiencia renal y cistitis. Mejora la mala circulación en general y reduce el riesgo de padecer arteriosclerosis. *Lactuca sativa* (lechuga) es adecuada para el aparato digestivo porque presenta propiedad carminativa, liberando del organismo las flatulencias. (36,38)

### **Extracción de aceites esenciales**

Los métodos extractivos empleados en la escala industrial en los aceites esenciales más comunes se basan en el arrastre a vapor. Estos aceites esenciales son compuestos volátiles,

se caracterizan por un fuerte olor y mayoritariamente están presentes en plantas aromáticas como metabolitos secundarios. Los aceites esenciales de *Rosmarinus officinalis* L generalmente se obtienen por destilación de arrastre con vapor (39). A continuación, se explica los métodos de extracción.

**Métodos directos:** Se utiliza principalmente en productos naturales de cítricos, ya que sus aceites están disponibles en la cascara del producto orgánico, y el calor de las técnicas de refinación pueden alterar su composición. El aceite de cítricos está contenido en numerosas células del epicarpio. Al exprimir la corteza estas células se rompen y liberan el aceite, que se recoge rápidamente para evitar que sea reabsorbido por la corteza esponjosa. (39)

**Destilación:** Este método consiste en aislar por medio de calentamiento, en diferentes recipientes, sustancias volátiles que son llamadas esencias, generalmente inmiscibles en medio acuoso, de otras más fijas, en este punto se enfrían para poder convertirse nuevamente a fluido líquido. Este método es lo más usado en los recursos naturales entre ellos tenemos:

- **Destilación por arrastres con vapor de agua:** Este método tiene como principio separar líquidos inmiscibles entre sí, y además de separar sustancias orgánicas insolubles en agua y ligeramente volátiles y no volátiles. Este proceso es el más accesible para poder extraer aceites esenciales. En esta técnica se aprovecha la propiedad que tienen las moléculas de agua en estado de vapor de asociarse con moléculas de aceite (16,40)

Esta destilación sigue la ley de Dalton sobre las presiones parciales es decir es efectuada al entrar al contacto el vapor del agua con la esencia liberada, para que posteriormente sea condensada. En este método de destilación de arrastre con vapor de agua permite extraer toda sustancia volátil en el rango de temperatura, este proceso nos da mayor control de la velocidad con la cual se destila. El objetivo principal es minimizar las pérdidas de los componentes oxigenados como son los fenoles. (40)

**Entre sus ventajas:** Es de muy bajo costo, debido a que se emplea agua en lugar de solventes de alto costo, la materia prima no requiere ser quemada, y el resultado será

2 fases una de hidrosol y el aceite esencial, cuya composición dependerá de la solubilidad del compuesto en agua. (40-41)

- **Métodos de extracción con solventes:** Para la aplicación de este método se emplean disolventes volátiles, donde la muestra es secada y molida se coloca en contacto con disolventes orgánicos tales como el alcohol, cloroformo solubilizando la esencia y extrayendo otras sustancias tales como grasa y ceras. Algunos disolventes utilizados en este método de extracción tienen restricción.

En cuanto a los residuos máximos que pueden quedarse son aceites esenciales como materia prima en la industria de los perfumes o alimentos, estos límites varían de acuerdo a las diferentes legislaciones. Los disolventes derivados del petróleo, como éter di etílico, ciclo hexano, hexano, acetato de metilo, propanol, etc. Son tóxicos al inhalarlo, al contacto con la piel y dependiendo del tiempo de exposición será la gravedad de los defectos. Los extractos obtenidos con este método suelen ser oscuro llegando a arrastrar algunos pigmentos de fuentes naturales. (42)

### **Actividad antimicrobiana**

Es la capacidad de destruir, inactivar los microorganismos. También son sustancias de cualquier compuesto químico, natural o sintético. Así como los productos de origen natural desempeñan un importante papel en el desarrollo de nuevos fármacos, ya que estas son la base de la medicina lo que nos permite nuevos descubrimientos, entre ellos los antibacterianos, en los últimos años más de la mitad de los productos farmacéuticos usados son derivados de fuentes naturales. (43)

### **Métodos para evaluar la actividad antibacteriana**

Existen variedad de métodos que se pueden emplear *in vitro* la susceptibilidad de bacterias ante agentes microbianos. Los métodos para evaluar la actividad antibacteriana están clasificados, en: Métodos de dilución y métodos de difusión (44)

## **A. Método de difusión en disco (Kirby Bauer)**

Esta técnica es el método originalmente descrito por Bauer et/al. O conocido como método de difusión en disco o en pozo es estandarizado y actualmente se encuentra recomendado por el Sub comité de Ensayos de Susceptibilidad de NCCLS, de Estados Unidos. Su fundamento es reconocer en forma cuantitativa, el efecto en un conjunto de sustancias, ensayadas individualmente, sobre determinado grupo de cepas bacteriana. (44)

El método tiene como fin basar la relación que existe entre la determina concentración de una sustancia para inhibir una cepa bacteriana, que es medible por medio del halo de inhibición de crecimiento en la superficie de una placa de agar con un medio de cultivo adecuado para el crecimiento de la bacteria. El disco de papel el filtro debe ser de 6mm de diámetro, impregnado con la cantidad y concentración correspondiente de la sustancia. (44)

Consiste en inocular y sembrar sobre la superficie de Mueller Hinton. Se impregnan de 10 a 25uL de los extractos, estándares y blancos. Se coloca sobre la superficie de la placa de agar previamente inoculada. Luego se procede a incubar  $35 \pm 2$  °C por 48 horas en el caso de las levaduras, posteriormente se procede a medir el halo de inhibición incluyendo el diámetro de los discos y esto es comparado con las diferentes sustancias del estudio, con el antibiótico control. (45)

El fundamento de este método consiste en establecer, de forma cuantitativa el efecto de un conjunto de sustancias, ensayados individualmente, sobre las cepas bacterianas aisladas. El método se basa en la relación entre la concentración de la sustancia necesaria para inhibir el crecimiento de una cepa microbiana y por medio del halo de inhibición se hace la medida respectivas en la superficie de una placa de agar con un medio de cultivo adecuado y sembrado homogéneamente con la bacteria a ensayar y sobre la cual se ha depositado un disco de papel filtro de 6 mm de diámetro, o se ha sembrado en pozo impregnado con una cantidad conocida de la sustancia. (44-45)

## B. Método de dilución

Viene ser la cuantificación de la actividad *in vitro* de los antimicrobianos, se evalúa mediante variaciones del método de dilución. Estas técnicas dependen de los métodos que se basan en la determinación del crecimiento del microorganismo en presencia de concentraciones crecientes del antimicrobiano, que se encuentra diluido en el medio de cultivo (caldo o agar). (46)

El método de dilución en agar o en caldo como test de susceptibilidad microbiana es 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. (46)

En esta técnica de dilución el caldo, son utilizados en tubos o micro plasma (micro dilución) que contienen concentraciones crecientes del extracto vegetal. El organismo en estudio es inoculado en los diferentes tubos o pozos de las micro placas y la concentración mínima inhibitoria es determinada después de la incubación. En el método de dilución en agar, las placas se siembran por profundidad con una determinada concentración de extracto vegetal, luego se inoculan con el microorganismo en estudio y se incuban por 24 horas, después de esta, se examina si el microorganismo crece o no en cada una de las placas, la principal desventaja de este método es la cantidad necesaria de muestra a evaluar. (46)

Los métodos de micro dilución en caldo son una técnica útil para determinar la concentración mínima inhibitoria (MIC), en un gran número de muestras. La ventaja sobre los métodos de dilución radica en un aumento de la sensibilidad para cantidades pequeñas, lo cual es importante cuando se trabaja con productos naturales, además permite diferenciar entre un efecto bactericida o bacteriostático. (45-46).

## **Enfermedades Transmitida por Alimento (ETA)**

La Organización Mundial de la Salud (OMS), definió a las ETA como “una enfermedad de carácter tóxico e infeccioso que se cree que es causada, por el consumo de alimentos o agua contaminada. (47)

Las ETAs son provocadas por el consumo de agua o alimentos contaminados con microorganismos o parásitos, o por las sustancias tóxicas que aquellos producen, ocasionando problemas sanitarios más comunes y de mayor impacto sobre la salud de las personas en el mundo. Afectando principalmente a la población de escasos recursos, a niños, mujeres embarazadas y ancianos. Los brotes de ETA podrían perjudicar tanto al comercio como al turismo, provocando pérdidas de ingresos, desempleo y demandas. Además, el deterioro de los alimentos ocasiona pérdidas, es costoso y puede influir negativamente en el comercio y en la confianza de los consumidores. (3, 47)

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que cada año mueren 1 millón de niños menores de 5 años en países en vías de desarrollo, lo que implica 2.700 decesos por día. Según el Sistema de Vigilancia Epidemiológica de ETA (SIEVETA), en América Latina durante el año 2000 se reportaron más de 500 brotes de Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETA), los cuales ocurrieron en un 40% en el ámbito doméstico y solo un 9% en puestos callejeros y restaurantes. Se estima que cada año las enfermedades diarreicas de transmisión alimentaria o hídrica cobran vida de 2,2 millones de personas, en su mayoría niños. La diarrea es el síntoma agudo más frecuente de las enfermedades de transmisión alimentaria. (47)

El Perú no es ajeno a esta situación, durante el 2014 se informaron y estudiaron un total de 61 brotes de ETA y hasta el III trimestre del 2015 se han notificado 27 brotes de ETA, 52% menor a lo reportado al mismo periodo en el 2014, siendo el departamento de Lima el que reporta el mayor número de brotes de ETA. (47)

Solo el 38% de hogares tienen acceso a agua, las ETAS son indudablemente, un importante problema de salud pública, las cuales a menudo ocurren brotes, por lo que la vigilancia epidemiológica es de vital importancia. Nuestro país incluye la notificación obligatoria e

inmediata de las ETAS al sistema de la vigilancia, también desarrolla una vigilancia de los agentes patógenos causantes de ETA más frecuentes en el país mediante una variedad de método de tipificación. (47)

Mediante el Sistema de Vigilancia Epidemiológica, entre los años 2010 al 2012 se han reportado un promedio de 35 brotes de ETA por año, 47% de los cuales se relacionaron clínicamente en casos agudos de salmonelosis. Los alimentos mayormente implicados fueron los preparados con mayonesa 43% (crema de mayonesa), ensaladas). El total de personas afectadas fueron 2800 y 51% de los brotes reportados tuvieron entre 10 a 50 afectados en promedio. Mediante los programas de vigilancia sanitaria de alimentos, se reportaron al *Staphylococcus aureus* y *Salmonellas Sp* como los patógenos más frecuentes en alimentos contaminados. (9,47)

Es por eso la Dirección General de Salud Ambiental (DIGESA) es responsable de la vigilancia sanitaria de alimentos y bebidas a través de la dirección de higiene de alimentos, zoonosis y protección al ambiente (1). En base a los reportes epidemiológicos citados es indispensable implementar las medidas preventivas con el uso de los desinfectantes sobre los alimentos de consumo directo.

## **Bacterias**

Las bacterias son microorganismos unicelulares la cual se reproducen por medio de la fisión binaria. Poseen los mecanismos necesarios para la producción de energía y material genético para el desarrollo y crecimiento. Se integran el reino procariota (pro de primitivo y cariota de núcleo). Todo organismo vivo se divide en dos tipos de células: Procariotas y eucariotas. Tienen estructuras en común como la membrana celular, los ribosomas encargados de la síntesis proteica y el ácido desoxirribonucleico (ADN) portador de la información genética (48). Las diferencias entre bacterias Gram positivas y bacterias Gram negativas se muestra el cuadro N° 6.

Cuadro N° 6: Diferencia entre bacterias Gram positivas y Gram negativas

Bacterias Gram positivas	Bacterias Gram negativas
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pared celular simple.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pared celular compleja.</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Capa de peptidoglucano gruesa.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Capa de peptidoglucano fina.</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• No cuentan con capa externa de lipopolisacáridos.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Cuentan con capa externa de lipopolisacáridos.</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Tienen una red de mureína que está bien desarrollada.</li> <li>• Retienen cristal violeta/ color azul violeta</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Cuentan solamente con una capa de mureína.</li> <li>• Retienen safranina - color rojo/ rosado.</li> </ul>

Fuente: <https://okdiario.com/curiosidades/2017/01/26/bacterias-gram-positivas-697551>.

### *Escherichia coli*

#### **Generalidades**

Es un bacilo Gram negativo, no forma esporas, móviles (con flagelo peritricos), son grupos numeroso de bacterias entéricas, anaerobio facultativo, tienden a vivir fácilmente entre 15 y 45°C (mesó filas) con un pH de 4.5 a 9, son termo sensibles, reducen de nitratos a nitritos y producen vitamina B y K. Están conformados por una pared celular formada por peptidoglucano, por lo que q impide que el reactivo de tinción, sea retenido y es por esto q se le designa como una Gram negativa estructuralmente la mayoría forma fimbrias y pilis los cuales les sirven para desplazarse. (7, 49)

*Escherichia coli* es un microorganismo comúnmente encontrado en el intestino del ser humano y de los animales de sangre caliente. La mayoría de las cepas de *Escherichia coli*

son inofensivas. La bacteria se transmite al hombre principalmente por el consumo de alimentos contaminados, como productos de carne picada cruda o poco cocida, leche cruda y hortalizas y semillas germinadas crudas contaminadas. *Escherichia coli* O157: H7 es el serotipo de *Escherichia coli* productora de toxina Shiga más importante por su impacto en la salud público. (50)

Sin embargo, algunas subespecies de *Escherichia coli* se asocian con enfermedades como meningitis neonatal, infecciones urinarias y gastroenteritis, la cual es de especial interés en este estudio, debido a que está asociada al consumo de alimentos contaminados. Entre las especies patógenas de *Escherichia coli*, existen cinco clases de ésta, que pueden causar gastroenteritis y son caracterizados dentro de un grupo conocido como EEC (*Escherichia coli entero virulentas*) según su capacidad patógena se distinguen en seis cepas. (50)

### **Taxonomía**

Según Theodore von, bacteriólogo clasificó taxonómicamente. (50), como se observa el cuadro N° 7.

Cuadro N° 7: Clasificación taxonómicamente de *Escherichia coli*

Reino	Bacteria
<b>Filo</b>	Proteobacteria
<b>Clase</b>	Gammaproteobacteria
<b>Orden</b>	Enterobacteriales
<b>Familia</b>	Enterobacteriaceae
<b>Género</b>	<i>Escherichia</i>
<b>Especie</b>	<i>E. coli</i>
<b>Nombre binominal</b>	<i>Escherichia coli</i>

**Fuente:** <http://biologia1bch.blogspot.com/2011/11/escherichia-2011>.

## Patologías

En el siguiente cuadro se describe las patologías frecuentes de *Escherichia coli*. (50), Como se muestra el cuadro N° 8.

Cuadro N° 8: Clases de *Escherichia coli patógenas* (entero virulenta). (44)

Nombre	Efectos provocados
Entero invasivas(EIEC)	Invaden y traspasan los intestinos, produciendo diarrea severa.
Entero hemorrágica (EHEC)	A este grupo perteneciente <i>Escherichia coli</i> O157:H7 producen varias cito toxinas, neurotoxinas y entero toxinas, incluida la toxina Shiga (vero toxina), y causan una diarrea sanguinolenta; en el 2 a 7% de los casos causante, con alto índice de mortalidad a nivel mundial.
Entero toxigénica(ETEC)	Produce una toxina que ataca la mucosa intestinal y es la causa más común de la diarrea del viajero.
Entero patogénica (EPEC)	Causa diarrea principalmente entre los recién nacidos.
Entero agregativa(EA <sub>g</sub> EC)	Puede causar diarrea aguda y crónica por largos periodos en niños.

Fuente:<https://www.msmanuals.com/es-pe/professional/enfermedades2011>.

## *Staphylococcus aureus*

### Generalidades

Los *Staphylococcus* son grupo amplio Gram positiva. Cuyo diámetro oscila de 0.8 a 1 micrómetro de diámetro, se caracterizan por que se encuentran agrupados en racimos

similares al de la uva, a la fecha se han reportado 35 especies conocidas con 17 subespecies en el género *Staphylococcus*. (51)

Es aerobio y anaerobio facultativo por lo que puede crecer con o sin oxígeno, no presenta movilidad ni forma cápsula. Son muy sensibles a los desinfectantes y al calor, la presencia de sus toxinas en alimentos, es debido a la falta de higiene, y estas pueden llevar a una intoxicación. Gracias a su sencilla propagación, esta permite que se transfiera de una especie a otra, siendo frecuentes los casos humano – animales y viceversa. En relación con su metabolismo, es anaerobio facultativo, coagulasa positiva, catalasa positiva y oxidasa negativo. (52)

La principal fuente de *Staphylococcus aureus* en el hombre es la garganta, nariz, brazos, yema de huevo brazos, piel erosionada o forúnculos, tracto intestinal y ojos. (7,52)

Debido a ello los alimentos implicados en la intoxicación son aquellos que no cumplen con los parámetros de crecimiento del microorganismo tales como productos cárnicos, ave, leche producto de pastelería con crema y huevo fundamentalmente. (52)

### **Taxonomía**

Según Theodore Von, bacteriólogo clasifíco taxonómicamente. (53), Como se observa el cuadro N° 9.

Cuadro N° 9: Clasificación taxonómica de *Staphylococcus aureus*.

<b>Reino</b>	<b>Bacteria</b>
<b>Filo</b>	Firmicutes
<b>Clase</b>	Bacilli
<b>orden</b>	Bacillales
<b>Familia</b>	Staphylococcaceae
<b>genero</b>	<i>Staphylococcus</i>
<b>especie</b>	<i>S. aureus</i>
<b>Nombre binominal</b>	<i>Staphylococcus aureus</i>

Fuente: <http://www.higiene.edu.uy/cefa/2008/Staphylococcus.pdf>

## Patologías

En el siguiente cuadro se describe las patologías frecuentes de *Staphylococcus aureus*. (53), Como se observa el cuadro N° 10 y 11.

Cuadro N° 10: Infecciones producidas por *Staphylococcus aureus*. (47)

<b>Invasión directa</b>
<b>Superficial</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Piodermas, incluyendo impétigo y paroniquia.</li></ul>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Infecciones de piel y tejidos blandos, forúnculos, celulitis, linfangitis, etc.</li></ul>
<b>Profunda</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Artritis séptica.</li></ul>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Osteomielitis</li></ul>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Piomiositis.</li></ul>
<b>Diseminación por vía sanguínea</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Bacteriemia con o sin shock o falla multiorgánica.</li></ul>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Formación de abscesos metastásicos (cerebro, Pulmón, Hígado, bazo, retro peritoneo, riñón, tracto genital, etc.</li></ul>
<b>Enfermedades mediadas por toxinas</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Síndrome de piel escaldada.</li></ul>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Intoxicación alimentaria.</li></ul>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Síndrome del shock tóxico.</li></ul>

Fuente: <http://www.higiene.edu.uy/cefa/2008/Staphylococcus.p>.

Cuadro N° 11: Secuencia de eventos patogénicos en infecciones serias causada por *Staphylococcus aureus*. (53)

Colonización, portador, producción de toxinas.
Rotura de barrera cutánea mucosa.
<p>Invasión</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Celulitis, infangitis.</li> <li>• Formación de absceso.</li> <li>• Eventual invasión de la sangre.</li> </ul>
Bacteriemia
<p>Síndrome de sepsis.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Componentes de la pared.</li> <li>• Toxinas del shock tóxico.</li> <li>• Rol de los mediadores disparados.</li> </ul>
<p>Complicaciones</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Abscesos supurados metastásicos, endocarditis, etc.</li> <li>• Shock séptico o falla multiorgánica.</li> </ul>
Muerte

Fuente: <http://www.higiene.edu.uy/cefa/2008/Staphylococcus.pdf>.

### **Desinfectante**

Es un agente químico que inhibe o destruye el crecimiento de microorganismos patógenos en fase vegetativa o no esporulada. Los desinfectantes no necesariamente destruyen todos los microorganismos, sino los reducen a un nivel que no dañan la salud ni la calidad de los bienes percederos. (54)

Según la Food and Drug Administration (FDA), el desinfectante es una sustancia que depositada sobre un material vivo o inerte, destruye en 10 o 15 minutos como máximo todos los microorganismos patógenos, alterando lo menos posible el sustrato donde residen y abarcando todas las formas vegetativas de las bacterias, los hongos y virus. Estos desinfectantes deben seleccionarse teniendo en cuenta el tipo de microorganismo que se desea eliminar, el tipo de producto que se elabora y el material de las superficies que entran en contacto con el producto utilizado. (7,54)

### **Mecanismo de acción de los agentes desinfectantes**

Los desinfectantes actúan como desnaturalizantes o precipitantes de proteínas. Inhiben enzimas y causan muerte celular. Son más potentes, más rápidos y termoestable que los antisépticos. Dentro de los principales mecanismos de acción de los desinfectantes se encuentran: (7,55).

- Daño de la pared celular, llevando al microorganismo a la lisis.
- Alteración de la permeabilidad de la membrana citoplasmática, impidiendo el transporte selectivo de nutrientes al interior de la célula bacteriana.
- Alteración de la naturaleza coloidal del citoplasma, desnaturalizándola o coagulándola.
- Inhibición de la acción enzimática y formación de anti metabolitos. Como se observa el cuadro N° 12.

Cuadro N° 12: Mecanismo de acción de los agentes desinfectantes

<b>Objetivo</b>	<b>Desinfectante</b>
Pared celular	Formaldehido, hipoclorito y mercuriales.
Membrana citoplasmática, acción sobre el potencial de la membrana	Anilidas y hexaclorofeno
Enzimas de la membrana, acción sobre la cadena de transporte de electrones	Hexaclorofeno
Acción sobre el ATP	Clorhexidina y óxido de etileno.
Acción sobre enzimas con grupos-SH	Óxido de etileno, glutaraldehido, peróxido de hidrógeno, hipoclorito, yodo y mercuriales.
Acción sobre la permeabilidad general de membrana	Alcoholes, clorhexidina, y compuestos de amonio cuaternario
Ribosomas	Peróxido de hidrogeno y mercuriales
Ácidos nucleicos Hipocloritos	Hipocloritos
Grupos tiol	Óxido de etileno, glutaraldehido, peróxido de hidrógeno, hipoclorito, mercuriales.

Fuente: <https://javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis232.pdf>.2008.

## Grupo de desinfectantes

**Halógenos y sus compuestos – cloro:** Elimina la mayoría de las células vegetativas, hongos y virus. Estos oxidan los componentes celulares, usualmente usado en la desinfección del agua. Es el más usado en la industria. (7,56)

**Compuestos de amonio cuaternario:** Estos compuestos rompen la membrana citoplasmática debido a que disuelven las capas lipídicas, y desnaturalizan las proteínas, son muy eficaces frente a hongos, levadura, bacteria Gram positiva y mientras que su acción es menor frente a bacteria Gram negativo. (56)

**Compuestos fenólicos:** Presentan activa frente a bacterias vegetativas, pero son inactivas en frente de esporas. También son fungicidas y virucidas. Desnaturalizan proteínas y dañan la membrana celular. Ejemplos: Fenol, cresol, hexaclorofeno, etc. (7,57)

**Alcoholes:** Desnaturaliza las proteínas, también actúan disolviendo lípidos por lo que pueden dañar las membranas celulares. Son activos contra bacterias vegetativas pero no sobre esporas. Los más utilizados son el alcohol isopropilico y el alcohol etílico. (7,57).

**Desinfectantes ácidos:** Es una serie de ácidos orgánicos, cuenta con propiedades antimicrobianas, se consideran toxicológicamente seguros y biológicamente activos, se utilizan conjuntamente para operaciones de enjuagado y desinfección. Se emplean generalmente ácidos como acéticos, láctico. (7,57)

**Desinfectante Natural:** son recursos naturales con propiedad antimicrobiana como tenemos: Al tomillo reduce a *Listeria monocytogenes*, el aceite de orégano reduce a *Escherichia coli*, el aceite de clavo reduce al *Staphylococcus aureus*, entre otros. (4,57)  
Como se observa el cuadro N° 13.

Cuadro N° 13: Desinfectantes y antisépticos más comunes

<b>Agentes químicos</b>	<b>Acción</b>	<b>Usos</b>
Etanol (50% -70%).	Desnaturaliza proteínas y solubiliza lípidos.	Antiséptico usado en piel.
Isopropanol (50% -70%).	Desnaturaliza proteínas y solubiliza lípidos.	Antiséptico usado en piel.
Formaldehido (8%)	Reacciona con grupos $\text{HN}_2\text{-SH}$ Y $\text{COOH}$ .	Desinfectante, mata esporas.
Tintura de yodo (2% $\text{I}_2$ – 70% alcohol).	Inactiva proteínas.	Antiséptico usado en piel.
Cloro ( $\text{Cl}_2$ ) gas.	Forma ácido hipocloroso fuerte agente oxidante.	Desinfección general y particular para agua potable.
Nitrato de plata ( $\text{AgNO}_3$ ).	Precipita proteínas.	Desinfección en general, usado en ojo de recién nacido
Cloruro de mercurio.	Inactiva proteínas por reacción de los grupos sulfuros.	Desinfectante, en ocasiones usado como componente para la piel.
Detergentes (amonios cuaternarios).	Ruptura de membranas celulares.	Desinfectante antiséptico para la piel.
Compuesto fenólico (hexaclorofenol).	Desnaturaliza proteínas y rompen de membranas celulares.	Antiséptico a bajas concentraciones, desinfectante a altas concentraciones.
Óxido de etileno gas.	Agente alquilante.	Desinfectante usado para esterilizar objetos sensibles al calor como goma y plástico

Fuente: <https://javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis232.pdf>.2008.

## Definición de términos básicos

- **Hoja:** Son estructuras laminares o en forma de aguja que brotan lateralmente del tallo o ramas que tienen un crecimiento limitado y tienen tejidos fotosintetizadores.
- **Antiinflamatorio:** Sustancia o medicamento que disminuye la inflamación en el cuerpo.
- **Antimicrobiano:** Sustancia que destruye microorganismos, tales como las bacterias, de modo que les impide crecer y causar enfermedad.
- **In vitro:** En el laboratorio (afuera del cuerpo) Es lo opuesto a in vivo.
- **Aceite esencial:** Los aceites esenciales contienen sustancias químicas naturales que otorgan su esencia (olor y sabor específico) a los vegetales.
- **Taxonómica:** Ciencia que trata de los principios, métodos y fines de la clasificación generalmente científica que se aplica dentro de la biología para la ordenación jerarquizada.
- **Látex:** Jugo que circula por los vasos de algunos vegetales que se coagula en contacto con el aire.
- **Inflorescencia:** Conjunto de flores que nacen agrupadas de un mismo tallo, el racimo o la espiga son algunas de las formas que pueden adoptar las inflorescencias.
- **Extracto:** Preparación de una sustancia obtenida de vegetales, animales o bacterias y usada como medicamentos.
- **Antioxidante:** Sustancia que protege las células de los daños que causan los radicales libres.
- **Extracción:** Es un procedimiento de separación de una sustancia que puede disolverse en dos disolventes no miscibles.
- **Agar:** Es un polisacárido constituido por galactosa, un azúcar simple, cuando se disuelve con agua en alta temperatura al enfriarse adquiere su consistencia de gelatina.
- **Metabolitos:** Sustancia que el cuerpo elabora o usa cuando descompone los alimentos, los medicamentos o sustancias químicas; o su propio tejido (por ejemplo, la grasa o el tejido muscular).

- **Destilación:** Es el proceso que se utiliza para llevar a cabo la separación de diferentes líquidos, o sólidos que se encuentren disueltos en líquidos, o incluso gases de una mezcla.
- **Halo de inhibición:** Es la zona alrededor de un disco de antibióticos en un antibiograma en el que no se produce crecimiento bacteriano en una placa de agar inoculada con el germen.

## **Hipótesis de la Investigación**

### **Hipótesis general**

La concentración del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L (romero) presenta actividad antimicrobiana y efecto desinfectante sobre vegetales de consumo directo.

### **Hipótesis específicas**

- La concentración del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L (romero) modifica significativamente la actividad antimicrobiana frente a bacterias tipificadas.
- La concentración del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L (romero) presenta efecto desinfectante sobre vegetales de consumo directo.

## CAPÍTULO II

### MÉTODO

#### 2.1 Tipo y diseño de investigación

##### 2.1.1 Tipo de investigación:

- **Analítico:** Porque son estudios que establecen relación entre los dos variables dependiente e independiente.
- **Longitudinal:** Porque la variable dependiente será medida en diferentes momentos.
- **Prospectivo:** Porque recolecta los datos correspondientes a los hechos que ocurren después de iniciada la investigación.

##### 2.1.2 Diseño de la investigación

- **Experimental:** Porque se manipuló la variable de la concentración del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L (romero).

#### 2.2 Operacionalización de variables dependiente e independiente

##### 2.2.1 Variable independiente

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

**Indicador:** 100%,80%,60%,40%,20% y 10%.

##### 2.2.2 Variable dependiente

##### Indicadores

- |   |   |
|---|---|
| <ul style="list-style-type: none"><li>• Actividad antimicrobiana.</li><li>• Efecto desinfectante.</li></ul> | <ul style="list-style-type: none"><li>• Halos de inhibición.</li><li>• Recuerdo de unidades formadoras de colonia UFC/g.</li><li>• Ausencia/presencia</li></ul> |
|---|---|

## Operacionalización de variables dependiente e independiente

Variables	Definición conceptual	Dimensiones	Indicadores	Punto de corte
<b>Independiente</b> Concentración del aceite esencial <i>Rosmarinus officinalis</i> L. (romero).	Aceite esencial obtenido por destilación en arrastre de vapor.	Concentración en mg/dl.	100 % 80 % 60 % 40 % 20 % 10%	Porcentaje
<b>Dependiente</b> Actividad antimicrobiana.	Capacidad de inactivar al microorganismo y evitar su proliferación.	Halo de inhibición.	Diámetro.	Milímetro.
<b>Dependiente</b> Efecto desinfectante.	Capacidad de destruir o inhibir el crecimiento del microorganismo patógenos.	Recuento de unidades formadoras de colonia UFC/g.  Ausencia/ presencia g	Recuento de UFC por centímetro cuadrado	$\geq 1$

### 2.3 Población, muestra y muestreo

#### 2.3.1 Población

- Planta entera (hojas, flores y tallo) de *Rosmarinus officinalis* L. (romero).

### 2.3.2 Muestra

- Aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L. (romero) a diferentes concentraciones (100%, 80%, 60%, 40%, 20% y 10%).

## 2.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos, validez y confiabilidad

### 2.4.1 Técnicas

Las técnicas que se emplearon, se detalla a continuación:

- **Destilación por arrastre de vapor:** Es la técnica más común para extraer aceites esenciales, esta técnica es cuando el vapor de agua entra en contacto con el *Rosmarinus officinalis* L (romero) y libera la esencia, para luego ser condensada. (35,36)
- **Método de difusión en Agar Kirby Bauer:** Es una prueba estandarizada para determinar la sensibilidad de las bacterias patógenas. Se emplearon diferentes concentraciones del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L (romero) para determinar la actividad antimicrobiana (38).
- **Prueba de desafío en los vegetales de consumo directo:** Se empleó el desinfectante preparado con aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L (romero) y DMSO (dimetilsulfoxido) al 40%, se aplicó sobre *Lactuca sativa* (lechuga) muestra en estudio y se controló el tiempo indicado por el MINSA según norma técnica de desinfección de hortaliza de esta manera se determinó su efecto desinfectante del aceite esencial de romero (38).

### 2.4.2 Instrumentos

La ficha de la EVALUACIÓN MICROBIOLÓGICA, ver en el ANEXO N° 3

## 2.5 Técnicas de procedimiento de la Investigación

### 2.5.1 Obtención y clasificación del recurso vegetal

*Rosmarinus officinalis* L (romero) fue recolectada en la provincia de Tarma del departamento de Junín a 3050 msnm en el mes de enero 2021.

Realizando su clasificación taxonómica en el herbario de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, (ver anexo N° 2).

### **2.5.2 Selección y limpieza del recurso vegetal**

Se seleccionó el recurso teniendo en cuenta el estado físico y sus características, libre de signos de enfermedades o pigmentadas (35), (ver anexo N°4), se limpió con algodón embebido con agua desionizada y se dejó secar 24 horas para ser envueltos con papel Kraff. (35)

### **2.5.3 Técnica de extracción del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L (romero).**

#### **A. Método de destilación por arrastre a vapor**

El aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L (romero) se obtuvo por el método de destilación de arrastre de vapor en el laboratorio de orgánica de la facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. (36), (ver anexo N° 5).

Se pesó 10 kg de *Rosmarinus officinalis* L cortado en mitad para ser colocado en la tolva (destilador), y se sometió a una corriente de vapor de agua arrastrando el aceite esencial, luego se condensó el destilado arrastrado por el vapor en la pera de decantación, se observó una mezcla acuosa inmisible, la cual fue separada por decantación.

Después de haber separado ambas fases se usó sulfato de sodio anhidro ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) para estar exento de agua. Se guardó en frasco de vidrio ámbar, donde se rótulo y almacenó en refrigeración, (ver figura N° 4).

#### **B. Determinación preliminar del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L. (romero).**

Tabla N° 1: Características organolépticas del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L.

(romero), ver en el ANEXO 6.

Características del aceite de *Rosmarinus officinalis* L. (romero)

<b>Líquido</b>	Oleoso
<b>Olor</b>	Agradable
<b>Color</b>	Ligeramente amarillo
<b>Sabor</b>	Ardiente picante
<b>pH</b>	3

Tabla 2: Miscibilidad del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L. (romero) con solventes orgánicos en polaridad creciente. Ver ANEXO 7

<b>Solvente</b>	<b>Resultado</b>
Éter etílico	(+++)
N-hexano	(++)
Cloroformo	(+++)
Acetato de etilo	(++)
N-butanol	(++)
Metanol	(++)
DMS	(+++)
Etanol absoluto	(++)
<b>LEYENDA: Miscible (+++); Poco soluble (++); No miscible(-)</b>	

Tabla N° 3: Caracterización de grupos funcionales orgánicos en el aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L. (romero), ver ANEXO 8.

Reactivos	Grupos funcionales	Resultados
R- Schiff	Cetonas	(+++)
2,4-Dinitrofenilhidrazina	Aldehídos	(+++)
Cloruro Férrico	Fenoles	(+++)
Hidrocarburos Insaturados (permanganato de potasio)	Productos insaturados (alquenos, alquinos)	(+++)
Br <sub>2</sub> /Cl <sub>4</sub> C	Hidrocarburos insaturados	(+++)
Hidrocarburo aromáticos (se agrega H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> []).	Sustancias aromáticas esterés.	(+++)

**LEYENDA: Evidencia (+++); Poca evidencia (++); Negativa (-)**

### C. Determinación de porcentaje de rendimiento

Se utilizó el peso total del recurso que fue 10 kg, y el volumen obtenido en la destilación fue de 70 ml. (36).

$$P = \frac{\text{ml del aceite esencial} \times 100}{\text{g del romero total}}$$

$$P = \frac{70\text{ml} \times 100}{10000\text{g}}$$

$$P = 0.7\%$$

Rendimiento = 0.7% p/v.

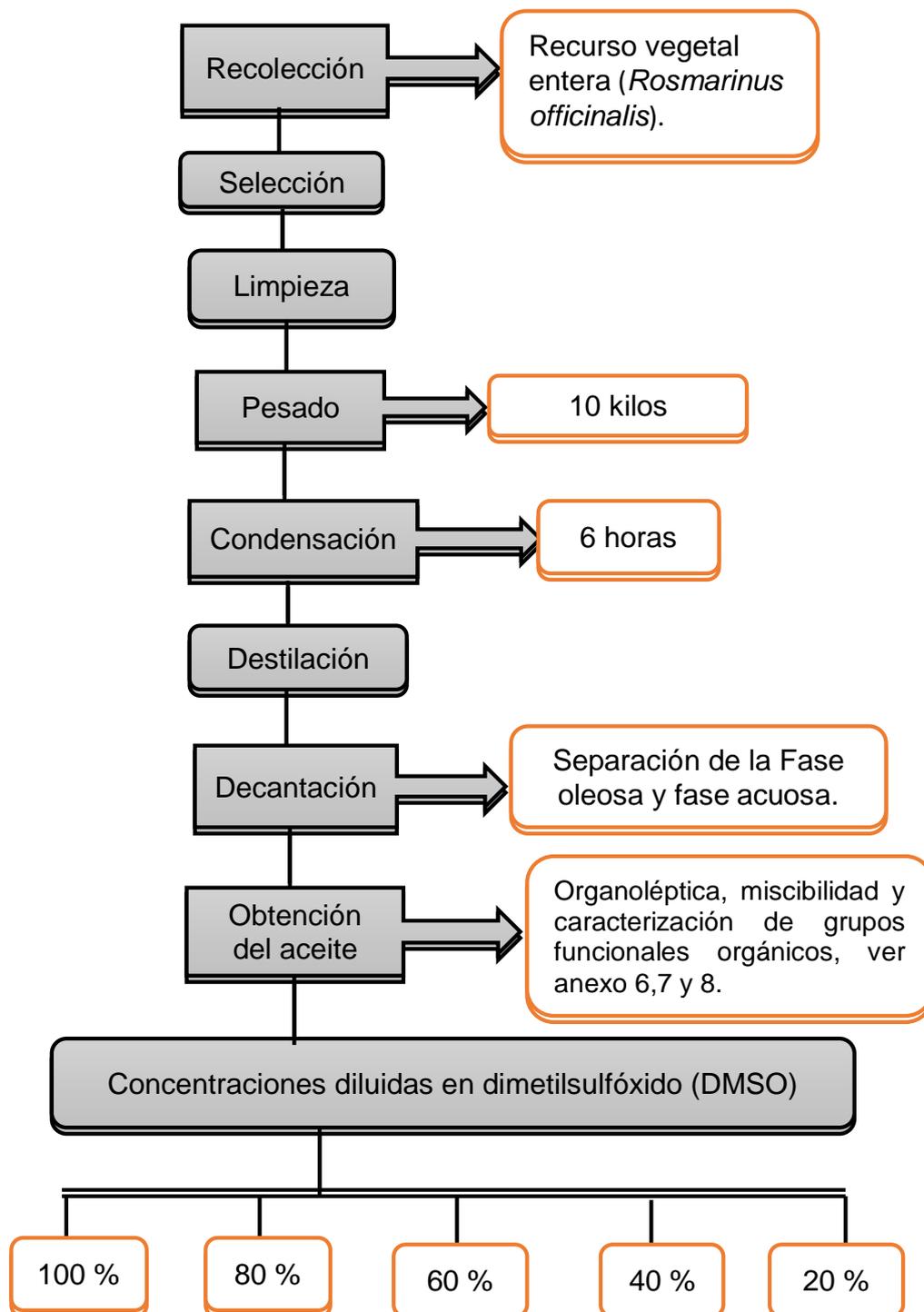


Figura N° 4: Flujograma de obtención del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L (romero).

**Fuente:** Elaboración propia 2021.

## 2.6 Ensayos microbiológicos

### A. Preparación de medio de cultivo Plate Count

Se determinó la actividad antimicrobiana frente a dos bacterias a diferentes concentraciones con el aceite esencial de *Rosmarinus officinalis L*, en el laboratorio microbiológico BIOEN LAB S.A.C. (Ver anexo N° 10 y N° 11).

- Se trabajó con dos cepas tipificadas *Escherichia coli ATCC 25922* y *Staphylococcus aureus ATCC 25923*.
- El medio de cultivo plate count (APC) se preparó según las instrucciones del fabricante, se dejó solidificar a temperatura del medio ambiente por 15 minutos, se rotuló las placas en la parte posterior con el nombre de la sustancia a investigar (aceite esencial de *Rosmarinus officinalis L* (romero). Se realizó el control de esterilidad incubando el material a 35°C por 24 horas. (38)
- Se preparó los inóculos y se llevó a la escala 0,5 de Mac Farland. (38)
- A partir del inóculo elaborado anteriormente se sembró con un hisopo estéril en placas con agar plate count. Para ello se introdujo el hisopo en el tubo donde se preparó la suspensión bacteriana, se humedeció y luego se presionó el hisopo contra las paredes del tubo a fin de escurrir el exceso de líquido. (38)
- El disco de papel Whatman N° 3 de 6mm, se sumergió con aceite esencial de *Rosmarinus officinalis L* (romero) a concentraciones de (100%, 80%, 60%, 40%,20% y 10%, (ver anexo N° 10). Se dejó reposar por 30 minutos y se llevó las placas a ser incubadas a 24 horas  $\pm$  2 horas a 35°C  $\pm$  1 °C en condiciones de aerobiosis. Luego se procedió a examinar cada placa, midiendo con un vernier los diámetros de halos de inhibición. (38) (Ver figura N° 5).

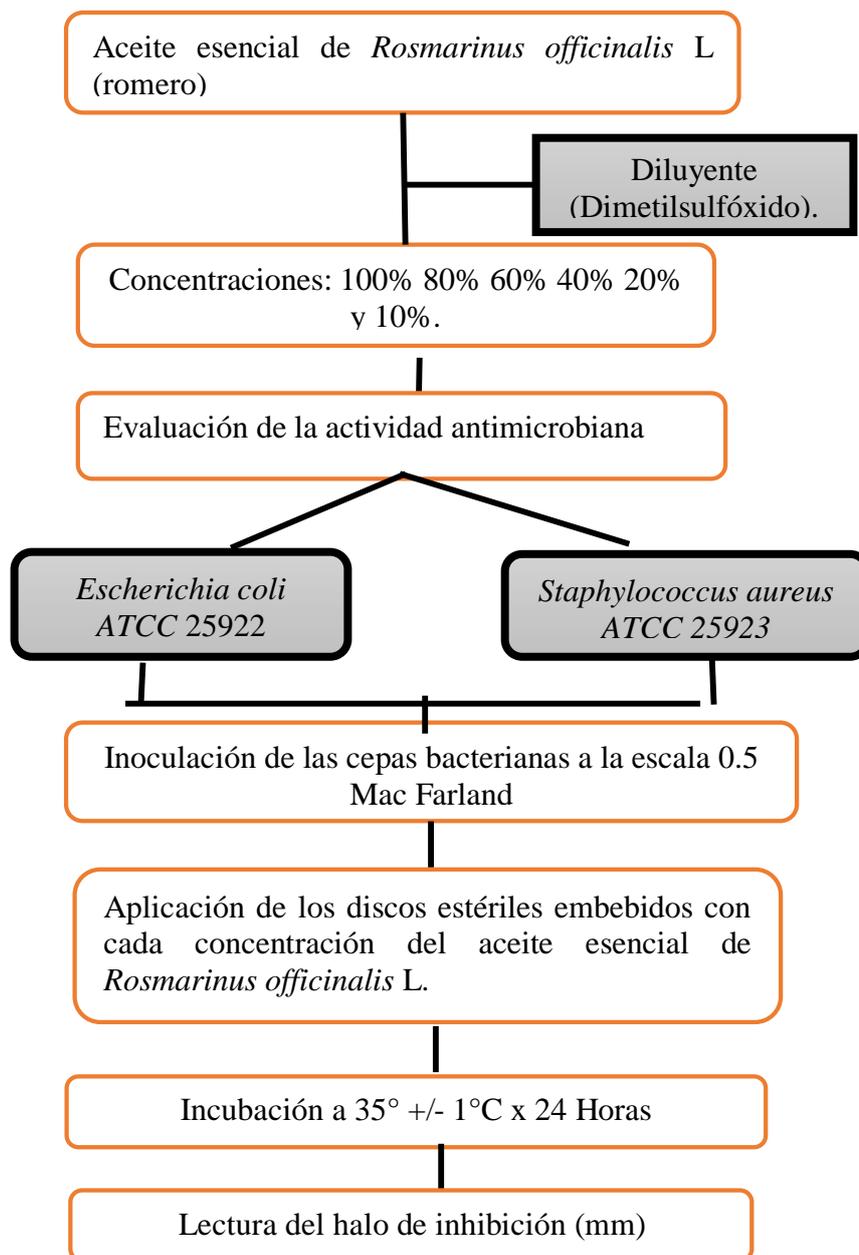


Figura N° 5: Evaluación de la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales de *Rosmarinus officinalis* L.

**Fuente:** Elaboración propia 2021.

## 2.7 Recolección de *Lactuca sativa* (lechuga)

Se recolectó en bolsa de primer uso con cierre hermético 5 muestras de lechugas del mercado “CERES” del distrito de Ate – Lima. Seguidamente se transportó en caja

térmica con refrigerantes para su conservación hasta llegar al laboratorio de ciencias farmacéuticas y Bioquímica de la Universidad Privada Franklin Roosevelt

## 2.8 Preparación del desinfectante

40 ml del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* se diluyó en 60 ml de dimetilsulfóxido.

## 2.9 Aplicación del desinfectante de romero sobre *Lactuca sativa*

- Se seleccionaron hojas de lechugas para preparar los compósitos, se separó dos compósitos con peso de 100g.
- Compósito “A” sin desinfectar fue colocado en bolsa estéril con cierre hermético y transportado en caja térmica con refrigerante hasta llegar al laboratorio CERTILAB donde se realizó el ensayo microbiológico. (Ver anexo N° 14).
- Compósito “B” después de desinfectar, fue lavado con agua de caño a chorro, dejando escurrir por 5 minutos y seguidamente se aplicó el desinfectante de romero preparado al 40% por 5 minutos según norma del MINSa, una vez tratado se colocó en bolsa estéril con cierre hermético rotulado, finalmente se transportó en caja térmica con refrigerante al laboratorio CERTILAB para el ensayo microbiológico. Todo esto se realizó atendiendo los requerimientos del MINSa según indicadores que son: *Escherichia coli* y *Salmonella* sp, (Ver figura N° 7).



Figura N°6: Recolección de *Lactuca sativa* y preparación del desinfectante

**Fuente:** Elaboración propia 2021.

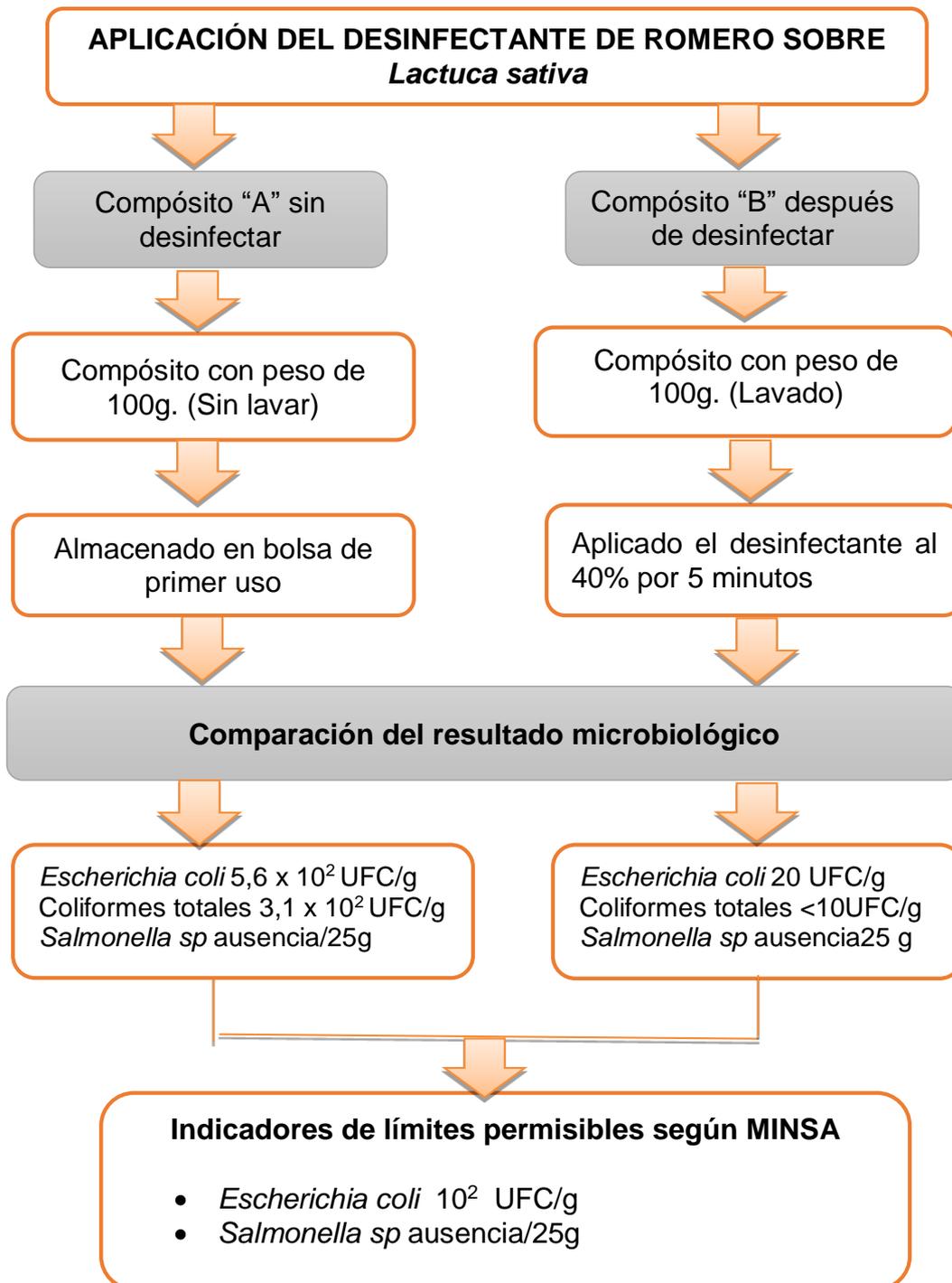


Figura N° 7: Aplicación del desinfectante de romero sobre *Lactuca sativa*.

**Fuente:** Elaboración propia 2021.

## CAPÍTULO III

### RESULTADOS

En la presente investigación se realizaron ensayos microbiológico para determinar la actividad antimicrobiana y efecto desinfectante del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L (romero) sobre vegetales de consumo directo a concentraciones de 100%, 80%, 60%, 40%, 20% y 10%, según la prueba de sensibilidad microbiológica y la concentración se eligió al 40% para preparar el desinfectante determinado. La preparación al 40% fue diluida en dimetilsulfóxido.

Los resultados obtenidos fueron registrados para su interpretación y análisis estadísticos. A continuación se detallan.

**Tabla N°4**

**Actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L (romero) frente a *Escherichia coli* ATCC 25922.**

CEPAS		<i>Escherichia coli</i>			
Concentración del aceite esencial de <i>Rosmarinus officinalis</i> L (romero).  (%)	Halos de inhibición (mm).				
	n			$\bar{X}$	
	1	2	3		
100	10,0	10,0	10,0	10,0	
80	9,0	9,0	9,0	9,0	
60	9,0	9,0	9,0	9,0	
40	8,0	8,0	8,0	8,0	
20	7,0	7,0	7,0	7,0	
10	-	-	-	-	

**LEYENDA:**  
n= número de repeticiones de ensayo microbiológico.  
□=promedios.  
(-)= negativo.

Fuente: Elaboración propia 2021.

La **tabla N°4** muestra los resultados de la actividad antimicrobiana que presentó el aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L (romero), a las concentraciones de 100%, 80%, 60%, 40% y 20% frente a *Escherichia coli* ATCC 25922, evidenciándose halos de inhibición de 10, 9, 9, 8 y 7 mm respectivamente. Sin embargo a la concentración del 10% no presentó actividad antimicrobiana. Se observa que a la concentración del 100% presentó mayor halo de inhibición, indicando mayor actividad antimicrobiana. (Ver anexo N° 11)

**Tabla N°5**

**Actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L (romero) frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.**

CEPAS		<i>Staphylococcus aureus</i>			
Concentración del aceite esencial de <i>Rosmarinus officinalis</i> L (romero)	Halos de inhibición (mm).	n			$\bar{X}$
		1	2	3	
		(%)			
100	-	-	-	-	
80	-	-	-	-	
60	-	-	-	-	
40	-	-	-	-	
20	-	-	-	-	
10	-	-	-	-	

**LEYENDA:**  
n= número de repeticiones de ensayo microbiológico.  
 $\bar{X}$ =promedios.  
(-)= negativo.

Fuente: Elaboración propia 2021.

La **tabla N°5** muestra que el aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L (romero) a las diferentes concentraciones frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 no presentan halos de inhibición por lo tanto no hay actividad antimicrobiana. (Ver anexo N° 11).

**Tabla N°6**  
**Efecto desinfectante del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L (romero) sobre *Lactuca sativa*.**

<b>Indicador</b>	<b>Compósito “A” sin desinfectar</b>	<b>Compósito “B” después de desinfectar</b>	<b>Limite permisible Según MINSA</b>
<i>Escherichia coli</i>	5,6x10 <sup>2</sup> UFC/g	20 UFC/g	10 <sup>2</sup> UFC/g
<b>Coliformes totales</b>	3,1x10 <sup>2</sup> UFC/g	<10 UFC/g	10 <sup>2</sup> UFC/g
<i>Salmonella sp</i>	Ausencia /25g	Ausencia /25g	Ausencia/25g

Fuente: Elaboración propia 2021.

La **tabla N°6** muestra los resultados obtenidos de los compósitos. En el compósito “A” sin desinfectar indica para *Escherichia coli* 5,6x10<sup>2</sup> UFC/g, coliformes totales 3,1x10<sup>2</sup> UFC/g y ausencia de *Salmonella sp*, sin embargo en el compósito “B” después de desinfectar expone el resultado 20x10 UFC/g para *Escherichia coli*, <10 UFC/g para coliformes totales y ausencia de *Salmonella sp*. Estos resultados fueron comparados con los indicadores de la norma sanitaria microbiológica N° 071 del MINSA/DIGESA observándose que el desinfectante preparado a base del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L (romero) al 40% redujo la carga microbiana. (Ver anexo N° 13)

## CAPÍTULO IV

### DISCUSIÓN

El aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L (romero) obtenido por el método de destilación de arrastre a vapor de agua, se trabajó con seis concentraciones de 100%, 80%, 60%, 40%, 20% y 10%. La evaluación antimicrobiana fue por el método de Kirby Bauer, frente a cepas tipificadas como *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Los resultados del experimento antimicrobiano en base al aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L (romero) sobre *Escherichia coli* ATCC 25922 presentaron halos de inhibición 10mm, 9mm, 9mm, 8mm y 7mm para las concentraciones de 100%, 80%, 60%, 40% y 20% con descenso del efecto antimicrobiano. Sin embargo, en los estudios realizados por **Carrillo J**, sobre el efecto antibacteriano *in vitro* del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L (romero) en *Escherichia coli*. Indica que a concentración de 100%, 25%, 10% y 5% presentaron halos de 18,3mm, 10,9mm, 10,2mm y 8mm respectivamente (10), esto puede deberse a que utilizaron solo hojas en la extracción del aceite a diferencia de la presente investigación se utilizó todo el recurso vegetal. Asimismo los valores obtenidos difieren de **Martinez J**, que a concentraciones de 20%, 40%, 60% y 80% mostró halos de inhibición de 5,5mm, 6,8mm, 9,1mm y 10,9mm observándose una tendencia de incremento en su efecto antibacteriano en cada aumento de concentración del aceite(15), dicha diferencia en los valores obtenidos posiblemente se deba a la zona geográfica de cada región y al lugar de procedencia ya que Martinez J, recolectó las hojas de *Rosmarinus officinalis* (romero) en Ecuador y en nuestro estudio el recurso fue recolectado de Tarma- Junín.

El aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* (romero) frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 no presentaron actividad antimicrobiana con ninguna de las concentraciones, sin embargo en la investigación realizada por **Castro Y**, evaluó la eficacia antimicrobiana de los aceites esenciales *mentha piperita* “menta” y *rosmarinus officinalis* L “romero” sobre *Staphylococcus aureus*. Indica que el aceite a concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% presentaron halos de 6,7mm, 7,4mm, 8mm y 7,4mm respectivamente. Esta diferencia pudo deberse a la zona climatológica de la región o al sinergismo con otro recurso vegetal.

El estudio realizado del desinfectante de *Rosmarinus officinalis* (romero) se aplicó sobre compósitos, en compósito A sin desinfectar mostró a *Escherichia coli*  $5,6 \times 10^2$  UFC/g, coliformes totales  $3,1 \times 10^2$  UFC y ausencia de *Salmonella* Sp. y en el compósito B después de desinfectar indica a *Escherichia coli* 20 UFC/g, coliformes totales  $< 10$ UFC estos 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 como desinfectante al reducir la carga microbiana, sin embargo aún no se encontraron antecedentes que analicen como desinfectante sobre los vegetales de consumo directo.

## CAPÍTULO V

### CONCLUSIONES

- El aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L (romero) a diferentes concentraciones presentó actividad antimicrobiana y efecto desinfectante sobre vegetales de consumo directo.
- El aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L (romero) a concentraciones de 100%, 80%, 60%, 40% y 20% presentó actividad antimicrobiana frente a *Escherichia coli*, siendo halos de inhibición de 10 mm, 9 mm, 9 mm, 8 mm y 7 mm respectivamente, mientras que para *Staphylococcus aureus* no presentó actividad antimicrobiana.
- El aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L (romero) al 40% presentó efecto desinfectante sobre vegetales de consumo directo.

## CAPÍTULO VI

### RECOMENDACIONES

- Realizar más investigaciones sobre las propiedades terapéuticas del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L (romero) para elaborar un posible desinfectante y aplicar en la industria alimentaria.
- Continuar con el estudio sobre sus propiedades del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L (romero). Frente a otras bacterias Gram (+) y Gram (-).
- Motivar a los profesionales de salud a realizar más estudios experimentales con el aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L (romero) para emplearse como alternativa en el tratamiento natural antibacteriano y de esta manera disminuir la resistencia antibacteriana.
- Realizar estudios comparativos sobre los factores que alteren la actividad antimicrobiana de *Rosmarinus officinalis* (romero).
- Realizar más ensayos sobre las formulaciones a menor concentración del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* (romero) con efecto desinfectante.

## REFERENCIAS

1. Boletín epidemiológico. Enfermedades transmitidas por alimentos [en línea] 2015 [Citado 2018 14] Disponible en: <http://www.dge.gob.pe/portal/docs/vigilancia/boletines/2015/34.pdf>.
2. **San Roman I**, Actividad antimicrobiana in vitro de extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* (romero) sobre cultivos de bacterias anaerobias frecuentes en pacientes con bolsa periodontal. [Tesis para obtener el título de Cirujano Dentista] Perú: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2013 [Citado: 2018 Noviembre 13] Disponible en: [http://cybertesis.unmsm.edu.pe/xmlui/bitstream/handle//cybertesis/San%20roman\\_si.pdf?sequence=1](http://cybertesis.unmsm.edu.pe/xmlui/bitstream/handle//cybertesis/San%20roman_si.pdf?sequence=1).
3. Organización Mundial de la Salud. Medicina tradicional [en línea]. [Citado: 2018 noviembre 13] Disponible en: [http://www.who.int/topics/traditional\\_medicine/definitions/es/](http://www.who.int/topics/traditional_medicine/definitions/es/).
4. **Flamenco, J; Guevara, G**. Formulación de tres productos desinfectantes y evaluación de su actividad antimicrobiana. [Tesis para optar el grado de licenciatura en Química y Farmacia] El Salvador: Universidad de El Salvador: 2011 [Citado 2018 Diciembre 22] Disponible en: [http://ri.ues.edu.sv/id/eprint/2410/1/formulacion\\_\\_de\\_tres\\_productos\\_desinfectantes\\_y\\_evaluacion\\_dp\\_su\\_actividad\\_antimicrobiana.pdf](http://ri.ues.edu.sv/id/eprint/2410/1/formulacion__de_tres_productos_desinfectantes_y_evaluacion_dp_su_actividad_antimicrobiana.pdf).
5. **Bocanegra O**; Influencia de tres dosis crecientes de biofertilizante biol en la producción de lechuga (*Lactuca sativa* L) var. Great lakes 659 en condiciones del valle de Santa Catalina. [ Tesis para optar el título profesional de Ingeniero Agrónomo] Perú: Universidad Privada Antenor Orrego; **2014** [Citado 2018 noviembre 14] Disponible en: [http://repositorio.upao.edu.pe/bitstream/upaorep/864/1/bocanegra\\_oscar\\_biol\\_produccion\\_lechuga.pdf](http://repositorio.upao.edu.pe/bitstream/upaorep/864/1/bocanegra_oscar_biol_produccion_lechuga.pdf).

6. **Saavedra G**: Manual de producción de lechuga. [en línea] **2017**. [Citado 2018 noviembre 15] Disponible en: <http://www.inia.cl/wp-content/upload/ManualesdeProduccion/09%20Manual%20Lechuga>.
7. **Latour L**; Eficacia de un desinfectante biodegradable a base de cítricos en el control de crecimiento de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. [tesis para optar el título profesional de Ingeniera en Industrias Alimentarias] Perú: Universidad del centro del Perú; **2013** [Citado 2018 noviembre 15] Disponible en: <http://repositorio.uncp.edu.pe/bitstream/handle/UNCP/2667/Latour%20Toro.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
8. **Alvarez, K; Gallegos, L.** efecto desinfectantes de las saponinas extraídas de la cascara de quinua (*Chenopodium quínoa Wild.*) en superficies de producción de una industria láctea [Tesis para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico y Bioquímico] Perú: Universidad Inca Garcilaso de la Vega: 2018 [ Citado 2018 noviembre 22] Disponible en: <http://repositorio.uigv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.11818/2887/TESIS%20ALVAREZ%20ESPINOZA%20KENNIA%20GALLEGOS%20SALAZAR%20LIZET.pdf?sequence=3&isAllowed>.
9. Enfermedades transmitidas por alimentos [en línea] disponible en: <http://www.panalimentos.org/comunidad/educacion1.asp?cd=152&>.
10. **Carrillo J**; Efecto antibacteriano *in vitro* de los aceites esenciales de las hojas de *Thymus vulgaris* (tomillo) y *Rosmarinus officinalis* (romero) frente a cepa de *Escherichia coli*. [tesis para optar el título profesional de Químico Farmacéutico] Perú: Universidad Católica Los Ángeles De Chimbote; **2018** [Citado 2018 noviembre 18] Disponible en: [http://repositorioo.uladech.edu.pee/bitstream/handle/123456789/5259/aceites\\_esenciales\\_escherichia\\_coli\\_carrillo\\_%20santisteban\\_javier.pdf?sequence=1&isallowed=y](http://repositorioo.uladech.edu.pee/bitstream/handle/123456789/5259/aceites_esenciales_escherichia_coli_carrillo_%20santisteban_javier.pdf?sequence=1&isallowed=y).
11. **Cueva J**; actividad antimicrobiana del aceite esencial de romero (*Rosmarinus officinalis*) frente al crecimiento de *Streptococcus mutans* ATCC

- 25175 *in vitro*. [Tesis para optar el título de Cirujano Dentista] Perú: Universidad Norbert Wiener 2017 [Citado 2018 noviembre 18] Disponible en: <http://repositorio.uwiener.edu.pe/bitstream/handle/123456789/1031/TITULO%20-20Cueva%20Rosales%2c%20Javier.pdf?sequence=1&i>.
12. **Castro Y**; Eficacia antibacteriana de los aceites esenciales de *mentha piperita* “menta” y *Rosmarinus officinalis* “romero” sobre *staphylococcus aureus*, estudio *in vitro*. [Tesis par obtener el título profesional de Médico Cirujano] Perú: Universidad Cesar Vallejo 2016 [Citado 2018 noviembre 18] Disponible en: [http://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/UCV/553/castro\\_ny.pdf?sequence=1](http://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/UCV/553/castro_ny.pdf?sequence=1).
13. **Sosa J**; Efecto antibacteriano in vitro del extracto alcohólico de *Rosmarinus officinalis* (romero) y del agua ozonizada sobre *Streptococcus mutans* Y *Enterococcus faecalis*. [tesis para optar el título profesional de Cirujano Dentista] Perú: Universidad Señor De Sipán 2015 [Citado 2018 noviembre 18] Disponible en: <http://repositorio.uss.edu.pe/bitstreaan/handle/uss/129/tesis%20final%20josue%2025-11-2015.pdf;jsessionid=0A2AD36A80B8B699B919F>.
14. **Pomaguayi F**; Actividad antimicrobiana del extracto alcohólico y aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* “romero” frente a la cepa *Pseudomona aeruginosa*. [Tesis para optar el grado de Magister en Farmacia Clínica y Hospitalaria] Ecuador: Universidad autónoma los andes 2018 [Citado 2018 noviembre 18] Disponible en: <http://dspace.uniandes.edu.ec/bitstream/123456789/8799/1/PIUAMFCH031-2018.pdf>.
15. **Martinez J**; Evaluación del efecto bactericida del extracto de romero (*Rosmarinus officinalis*) *in vitro* en cepa certificada de *Escherichia coli* [tesis para obtener el grado de Médico Veterinario Zootecnista] Ecuador: universidad técnica de Ambato 2017 [Citado 2018 noviembre 18] Disponible en: [file:///d:/romeroo/articul%20intern/romero %20int%203.pdf](file:///d:/romeroo/articul%20intern/romero%20int%203.pdf).

16. **Solano X; Moya T; Zambrano M.** Inhibición del *streptococcus mutans*, mediante el uso de extracto acuoso y oleoso de *Rosmarinus officinalis* “romero”. [Revista odontológica] Ecuador: Universidad Central de Ecuador **2016** [citado 2018 noviembre 18] Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo5815882pdf>.
17. **Bonilla D;** etal / y cols. efecto del aceite esencial de *Rosmarinus Officinalis* sobre *Porphyromonas gingivalis* cultiva *in vitro*. [Revista Colombiana de Ciencias Químico Farmacéuticas] Colombia: Universidad Nacional de Colombia **2016** [Citado 2018 noviembre 20] Disponible en: <https://revistas.unal.edu.co/index.php/rccquifa/article/view/59942/5795>.
18. **Castaño P;** etal/ y cols. Actividad bactericida del extracto etanólico y del aceite esencial de hojas de *Rosmarinus officinalis* sobrealgunas bacterias de interés alimentario. [Revista de la Facultad de Química Farmacéutica] Colombia: Universidad de Antioquia Medellín Colombia **2010** [Citado 2018 noviembre 20] Disponible en: <https://aprendeenlinea.udea.edu.co/revistas/index.php/vitae/article/viewFile/6334/5835>.
19. **Cañegas C.** Manual de plantas medicinales para guinea ecuatorial [en línea] **2012** [Citado 2018 noviembre 20] Disponible en: [http://www.innovacion.gob.sv/inventa/attachments/article/5852/manual\\_plantas\\_medicinales\\_v2.pdf](http://www.innovacion.gob.sv/inventa/attachments/article/5852/manual_plantas_medicinales_v2.pdf).
20. Tipos de fitoterapia [en línea] disponible en: <http://www.tuguaesoterica.com/blog/terapias/tipos-de-fitoterapia/a>.
21. **Hernández A.** Boletín latinoamericano y del caribe de plantas medicinales y aromáticas. [en línea] **2004** [Citado 2018 noviembre 20] Disponible en: [http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/mednat/blacpma\\_v4\\_n4.\\_fitoterapia.\\_bases\\_legales.\\_pdf.pdf](http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/mednat/blacpma_v4_n4._fitoterapia._bases_legales._pdf.pdf).

22. Romero [en línea] disponible en:  
[http://www.peruecologico.com.pe/flo\\_romero\\_1.htm](http://www.peruecologico.com.pe/flo_romero_1.htm).
23. **Cervera M**; Aceites esenciales en el género “*Rosmarinus L*”. De la península Ibérica [Tesis para optar el grado de doctor en Biología] Madrid: Universidad Complutense de Madrid; **2016** [Citado 2018 noviembre 15] Disponible en:  
<https://eprints.ucm.es/36388/1/T36956.pdf>.
24. **Lax Vanesa**; Estudio de la Variabilidad Química, Propiedades Antioxidantes y Biocidas de Poblaciones Espóntanea de *Rosmarinus officinalis*. L en la región de Murcia. [Tesis para optar el grado de Doctor en Biología] Murcia: Universidad de Murcia; **2014** [Citado 2018 noviembre 16] Disponible en:  
<https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/284820/TVLV.pdf>.
25. Romero clasificación [en línea] [Citado 2018 noviembre 21] disponible en:  
<https://natusfera.gbif.es/taxa/355-Rosmarinus-fficinalis#Taxonomía>.
26. Propiedades del romero [en línea] [Citado 2018 noviembre 21] disponible en:  
<http://romeroysusbeneficos.blogspot.com/>.
27. **Estrada S**. “Determinación de la actividad antibacteriana *in vitro* de los extractos de romero (*Rosmarinus officinalis*) y tomillo (*Tymus vulgaris*). [Tesis para optar el grado de Bioquímico Farmacéutico] Ecuador: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; **2010** [Citado 2018 Noviembre 22] Disponible en:  
<http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/699/1/56T00229.pdf>
28. Plantas medicinales Españolas *Rosmarinus officinalis* [en línea] [citado 2018 noviembre 22] disponible en:  
[https://www.researchgate.net/publication/277265095\\_Plantass\\_medicinales\\_espanolas\\_Rosmarinus\\_officinalis\\_L\\_Lamiaceae\\_romero](https://www.researchgate.net/publication/277265095_Plantass_medicinales_espanolas_Rosmarinus_officinalis_L_Lamiaceae_romero).
29. **López M**. El romero Planta aromática con efectos antioxidantes [en línea] vol. 27 N° 7. España: Editorial Elsevier S.A **2008** [Citado 2018 noviembre 23] disponible en:

<http://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-el-romero-planta-aromatica-con-13124840>.

30. **Alonso J.** Tratado de fitofármacos y nutraceuticos. editorial corpus 1 edición, argentina **2004**.
31. Lechuga, taxonomía y descripciones botánicas morfológicas, fisiológicas y ciclo biológico. [ En línea] [Citado 2018 noviembre 23] disponible en: <http://www.agroes.es/cultivos-agricultura/cultivos-huerta-horticultura/lechuga/402-lechugas-descripción-morfología-y>.
32. **Galvis, J; Gonzales, G; Flores, A.** Manual de procesamiento y conservación (*Lactuca sativa*) de lechugas variedades verdes y moradas crespas mínimamente procesadas [ en línea] **2016** [Citado 2018 noviembre 23] disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/317177930\\_Manual\\_de\\_procesamiento\\_y\\_conservacion\\_de\\_lechugas\\_Lactuca\\_sativa\\_L\\_variedades\\_verde\\_y\\_morada\\_crespa\\_minimamente\\_procesadas](https://www.researchgate.net/publication/317177930_Manual_de_procesamiento_y_conservacion_de_lechugas_Lactuca_sativa_L_variedades_verde_y_morada_crespa_minimamente_procesadas).
33. Norma sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano disponible en: [https://www.saludarequipa.gob.pe/dessa/archivos/Normas\\_Legales/alimentos/RM591MINSANORMA.pdf](https://www.saludarequipa.gob.pe/dessa/archivos/Normas_Legales/alimentos/RM591MINSANORMA.pdf)
34. Modelo tecnológico para el cultivo de lechuga bajo buenas prácticas agrícolas en el oriente Antioqueño [En línea] 2016 [Citado 2018 noviembre 23] disponible en: <https://conectarural.org/sitio/sitess/default/files/documentos/manual%20del%20cultivo%20de%20la%20lechuga.pdf>.
35. Marhuenda, J; Garcia, J lechuga [en línea] disponible en: <http://www.publicacionescajamar.es/uploads/cultivos-hortícolas-al-aire-libre/10-cultivos-hortícolas-al-aire-libre.pdf>.

36. Usos medicinales y aplicaciones curativas de la lechuga [en línea] disponible en: <https://www.plantasparacurar.com/usos-medicinales-y-aplicaciones-curativas-de-la-lechuga/>.
37. Propiedades de la lechuga [en línea] disponible en: <https://www.botanical-online.com/medicinalslactucasativa.htm>.
38. **Agüero María**; “Modelado de la evolución de índices de calidad integral de lechuga mantecosa desde la precosecha” [Tesis para optar el grado de Doctor en Ingeniería] Universidad de la plata hasta el consumidor. **2011** [Citado 2018 Noviembre 23] Disponible en: [http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/1458/Documento\\_completo\\_origin al.pdf?sequence=1](http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/1458/Documento_completo_origin al.pdf?sequence=1)
39. **Cárdenas E**; Determinación de parámetros de operación para la destilación por arrastre con vapor del agua del aceite esencial de Molle (*Schinus molle linneo*) en el equipo modular de extracción de aceites esenciales. [Tesis para optar título profesional de Ingeniero Químico] Perú: Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga. **2014** [Citado 2018 noviembre 23] Disponible en: [http://repositorio.unsch.edu.pe/bitstream/handle/UNSCH/1032/Tesis%20Q472\\_Car.pdf?sequence=1&isAllowed](http://repositorio.unsch.edu.pe/bitstream/handle/UNSCH/1032/Tesis%20Q472_Car.pdf?sequence=1&isAllowed).
40. **Rodas M**; Análisis de parámetros microbiológicos y fisicoquímicos de un aceite esencial de romero obtenido por medio de la destilación por arrastre de vapor. [ Tesis para optar el título de Ingeniero Químico] Guatemala: Universidad Rafael Landívar. **2012** [Citado 2018 noviembre 24] Disponible en: <http://biblio3.url.edu.gt/Tesis/2012/02/13/Rodas-Melisa.pdf>.
41. Introducción a la industria de los aceites esenciales de plantas medicinales y aromáticas [ en línea] disponible en: [https://repositorio.sena.edu.com/sitios/introduccion\\_industria\\_aceites\\_esenciales\\_pl antas\\_medicinales\\_aromaticas/pdf/aceites%20esenciales%20extraidos%20de%20pl antas%20medicinales%20y%20aromaticas.pdf](https://repositorio.sena.edu.com/sitios/introduccion_industria_aceites_esenciales_pl antas_medicinales_aromaticas/pdf/aceites%20esenciales%20extraidos%20de%20pl antas%20medicinales%20y%20aromaticas.pdf).

42. Aceites esenciales métodos de extracción [en línea] disponible en: [https://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No3-Vol-1/TSIA-3\(1\)-Peredo-Luna-et-al-2009.pdf](https://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No3-Vol-1/TSIA-3(1)-Peredo-Luna-et-al-2009.pdf).
43. Corzo D; Evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto etanólico [en línea] vol. 43 2012 [citado 2018 noviembre 24] disponible en: [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1870-01952012000300009](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-01952012000300009).
44. Metodologías para evaluar in vitro la actividad antibacteriana de compuestos de origen vegetal [en línea] 2009 [citado 2018 noviembre 24] disponible en: [revistas.utp.edu.com/index.php/revista-ciencia/article/download/2687](http://revistas.utp.edu.com/index.php/revista-ciencia/article/download/2687).
45. Sanchez, E; Castillo, s; Garcia P. actividad antimicrobiana universidad autónoma México [en línea] disponible en: <https://www.omniascience.com/monographs/index.php/monograficos/article/viewFile/334/247>.
46. Picaso J; Procedimiento de microbiología clínica métodos básico para el estudio de la sensibilidad de los antimicrobianos [en línea] <https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia11.pdf>.
47. Boletín epidemiológico [en línea] disponible en: <http://www.dge.gob.pe/boletines/2012/50.pdf>.
48. Pérez, M; Mota, M. Morfología y estructura bacteriana [en línea] disponible en: <http://www.higiene.edu.uy/cefa/2008/MorfologiayEstructuraBacteriana.pd>.
49. OMS *Escherichia coli* [en línea] disponible en: <http://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/e-coli>.

50. Manual versión para profesionales, infecciones *por Escherichia coli* [en línea] disponible en: <https://www.msdmanuals.com/es-pe/professional/enfermedades-infecciosas/bacilos-gramnegativos/inf>.
51. **Guadalupe, S; Manzo,z; Avalos, hector; Soto, M.** Microbiología general de *Staphylococcus aureus*: Generalidades, patogenicidad y métodos de identificación México 2014.
52. Etiopatogenia microbiológica genero *Staphylococcus aureus* [en línea] disponible en: <http://www.higiene.edu.uy/cefa/2008/Staphylococcus.pdf>.
53. Instituto nacional de seguridad e higiene en el trabajo, *Staphylococcus aureus* [en línea] disponible en: [www.insht.es/RiesgosBiologicos/Contenidos/Fichas%20de%20agentes%20biologicos/Fichas/Bacterias/Staphylococcus%20aureus.pdf](http://www.insht.es/RiesgosBiologicos/Contenidos/Fichas%20de%20agentes%20biologicos/Fichas/Bacterias/Staphylococcus%20aureus.pdf).
54. Antisépticos y desinfectantes: apuntando al uso racional. Recomendaciones del Comité Consultivo de Infecciones Asociadas a la Atención de Salud, Sociedad Chilena de Infectología [en línea] disponible en <https://scielo.conicyt.cl/pdf/rci/v34n2/art10.pdf>.
55. Evaluación de lo desinfectantes utilizados en el proceso de limpieza y desinfección del área de fitoterapéutico en laboratorios [ en línea] disponible en: <http://javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis232.pdf>
56. Métodos para la desinfección de frutas y hortalizas [ en línea] disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/28282408\\_Metodos\\_para\\_la\\_desinfeccion\\_de\\_frutas\\_y\\_hortalizas](https://www.researchgate.net/publication/28282408_Metodos_para_la_desinfeccion_de_frutas_y_hortalizas)
57. Chaveste S; Uso de ultrasonido como técnica alternativa en la desinfección de vegetales [ en línea] disponible en: [https://repositorio.itesm.mx/bitstream/handle/11285/567515/DocsTec\\_4579.pdf;jsessionid=78AB39C8C0D1D1F569FA1FE48762ED2A?sequence=1](https://repositorio.itesm.mx/bitstream/handle/11285/567515/DocsTec_4579.pdf;jsessionid=78AB39C8C0D1D1F569FA1FE48762ED2A?sequence=1)

# ANEXOS

## ANEXO N° 1: MATRIZ DE CONSISTENCIA

### TÍTULO: ACTIVIDAD ANTIMICROBIANAY EFECTO DESINFECTANTE DEL ACEITE ESENCIAL DE *Rosmarinus officinalis* L (romero) EN VEGETALES DE CONSUMO DIRECTO

PROBLEMA GENERAL	OBJETIVO GENERAL	HIPÓTESIS GENERAL	TIPO Y NIVEL DE INVESTIGACION	NIVEL Y MÉTODO DE INVESTIGACIÓN	VARIABLES	POBLACIÓN Y MUESTRA
<p>¿A qué concentración el aceite esencial de <i>Rosmarinus officinalis</i> L (romero) presenta actividad antimicrobiana y efecto desinfectante sobre vegetales de consumo directo?</p> <p><b>Problemas Específicos</b></p> <p><b>P.E.1:</b></p> <p>¿A qué concentración del aceite esencial de <i>Rosmarinus officinalis</i> L (romero) presenta actividad antimicrobiana frente a bacterias tipificadas?</p> <p><b>P.E.2:</b></p> <p>¿A qué concentración presenta el efecto desinfectante el aceite esencial de <i>Rosmarinus officinalis</i> L (romero) sobre vegetales de consumo directo?</p>	<p>Determinar la concentración del aceite esencial de <i>Rosmarinus officinalis</i> L (romero) con actividad antimicrobiana y efecto desinfectante sobre vegetales de consumo directo.</p> <p><b>Objetivos Específicos</b></p> <p><b>O.E.1:</b></p> <p>Determinar la concentración del aceite esencial de <i>Rosmarinus officinalis</i> L (romero) con actividad antimicrobiana frente a bacterias tipificadas.</p> <p><b>O.E.2:</b></p> <p>Determinar el efecto desinfectante del aceite esencial de <i>Rosmarinus officinalis</i> L (romero) sobre vegetales de consumo directo.</p>	<p>La concentración del aceite esencial de <i>Rosmarinus officinalis</i> L (romero) modificó la actividad antimicrobiana y efecto desinfectante sobre vegetales de consumo directo.</p> <p><b>Hipótesis Específicas</b></p> <p><b>H.E.1:</b></p> <p>La concentración del aceite esencial de <i>Rosmarinus officinalis</i> L (romero) modifica significativamente la actividad antimicrobiana frente a bacterias tipificadas.</p> <p><b>H.E.2:</b></p> <p>La concentración del aceite esencial de <i>Rosmarinus officinalis</i> L (romero) presenta efecto desinfectante sobre vegetales de consumo directo.</p>	<p><b>Tipo de Investigación:</b></p> <p><b>Analítico:</b> porque son estudios que establecen relación entre las dos variables dependiente e independiente.</p> <p><b>Longitudinal:</b> porque La variable dependiente será medida en diferentes momentos.</p> <p><b>Prospectivo:</b> porque recolecta los datos correspondientes a los hechos que ocurren después de iniciada la investigación.</p> <p><b>Nivel de Investigación:</b></p> <p><b>Explicativo:</b> porque su interés se centra en explicar porque ocurre un fenómeno y en qué condiciones se manifiesta, o porque se relacionan dos o más variables.</p>	<p><b>Método de Investigación:</b></p> <p><b>Deductivo:</b> utilizado para deducir conclusiones lógicas a partir de una serie de premisas o principios es un proceso de pensamiento que va de lo general a lo particular.</p> <p><b>Diseño de investigación:</b></p> <p><b>Experimental:</b> porque se pueden manipular las variables y pueden ser controladas.</p>	<p><b>Variable Independiente (X)</b></p> <p><b>X. 1:</b> concentración del aceite esencial de <i>Rosmarinus officinalis</i> L (romero).</p> <p><b>Indicadores:</b></p> <p><b>X.1:</b></p> <p>100% 80% 60% 40% 20%.</p> <p><b>Variable Dependiente (Y)</b></p> <p><b>Y.1:</b> Actividad antimicrobiana</p> <p><b>Y.2:</b> Efecto desinfectante.</p> <p><b>Indicadores:</b></p> <p><b>Y.1:</b> diámetro del Del halo de inhibición (mm).</p> <p><b>Y.2:</b> recuento de unidades formadoras de colonia UFC/g</p> <p><b>Y3:</b> ausencia y presencia.</p>	<p><b>Población :</b></p> <p>P.1: hoja de <i>Rosmarinus officinalis</i> L (romero)</p> <p>Procedente de Tarma - Junín</p> <p><b>Muestra:</b></p> <p>M.1: Aceite esencial de <i>Rosmarinus officinalis</i> L (romero).</p> <p><b>M2:</b> <i>lactuca sativa</i> (lechuga)</p>

## ANEXO N° 02

### Clasificación taxonómica de *Rosmarinus officinalis* L. (romero).



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS  
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA  
VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO  
MUSEO DE HISTORIA NATURAL



*“Año de la lucha contra la corrupción y la impunidad”*

#### CONSTANCIA N° 022-USM-2019

EL JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (planta estéril) recibida de **Virginia Rossy Fuentes Landeo**, estudiante de la Universidad Alas Peruanas; ha sido estudiada y clasificada como: ***Rosmarinus officinalis* L.** y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).

**DIVISION: MAGNOLIOPHYTA**

**CLASE: MAGNOLIOPSIDA**

**SUBCLASE: ASTERIDAE**

**ORDEN: LAMIALES**

**FAMILIA: LAMIACEAE**

**GENERO: *Rosmarinus***

**ESPECIE: *Rosmarinus officinalis* L.**

Nombre vulgar: "Romero"

Determinado por: Dra. Joaquina Albán Castillo

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para los fines que estime conveniente.

Lima, 28 de enero de 2019



**Mag. Asunción A. Cano Echevarría**  
JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

ACE/ddb

### ANEXO N° 03

#### Ficha de recolección de datos.

CEPAS	<i>Escherichia coli</i>				<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC			
Concentración del aceite esencial (%)	Halos de inhibición (mm)				Halos de inhibición (mm)			
	n			$\bar{X}$	n			$\bar{X}$
	1	2	3		1	2	2	
<b>100</b>								
<b>80</b>								
<b>60</b>								
<b>40</b>								
<b>20</b>								
<b>10</b>								

Fuente: Elaboración propia 2021.

#### ANEXO N° 04

Selección del *Rosmarinus officinalis* L (romero)



#### ANEXO N° 05

Extracción del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L (romero) por método arrastre a vapor.



## ANEXO N° 06

Separación y característica del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L  
(romero).



Color ligeramente amarillo del aceite de *Rosmarinus officinalis* L.

## ANEXO N° 07

Proceso Microbiológico



Dilución del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L (romero) en diferentes concentraciones con DMSO (dimetilsulfóxido).



**A**



**B**



**C**



**D**



**E**



**F**

**A:** Placa con siembra de *Escherichia coli* y aceite de *Rosmarinus officinalis* L al **10%** con halo de inhibición de 0,0mm.

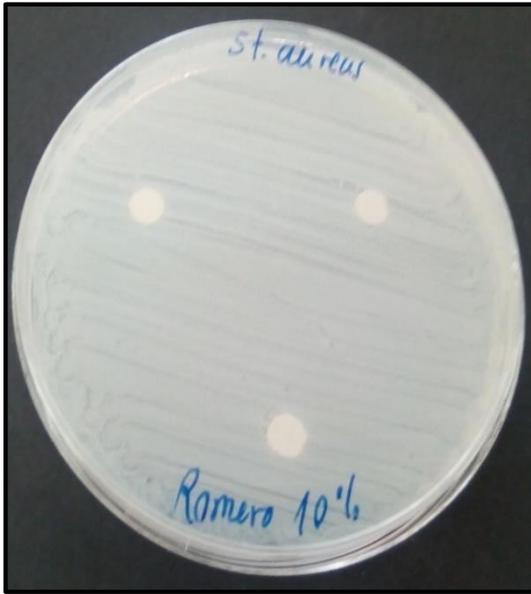
**B:** Placa con siembra de *Escherichia coli* y aceite de *Rosmarinus officinalis* L al **20%** con halo de inhibición de 7,0mm.

**C:** Placa con siembra de *Escherichia coli* y aceite de *Rosmarinus officinalis* L al **40%** con halo de inhibición de 8,0mm.

**D:** Placa con siembra de *Escherichia coli* y aceite de *Rosmarinus officinalis* L al **60%** con halo de inhibición de 9,0mm.

**E:** Placa con siembra de *Escherichia coli* y aceite de *Rosmarinus officinalis* L al **80%** con halo de inhibición de 9,0mm.

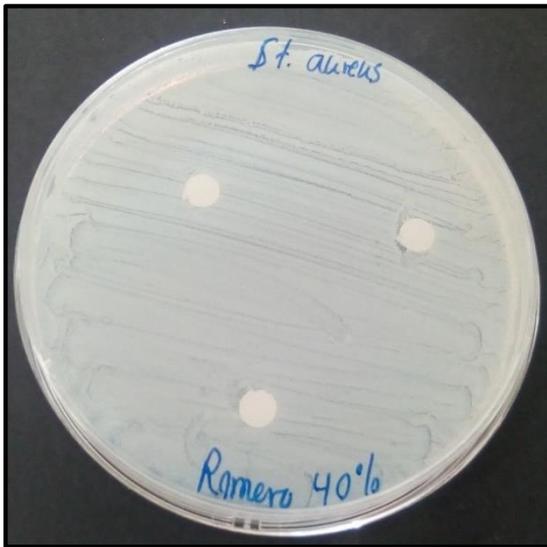
**F:** Placa con siembra de *Escherichia coli* y aceite de *Rosmarinus officinalis* L al **100%** con halo de inhibición de 10,0mm.



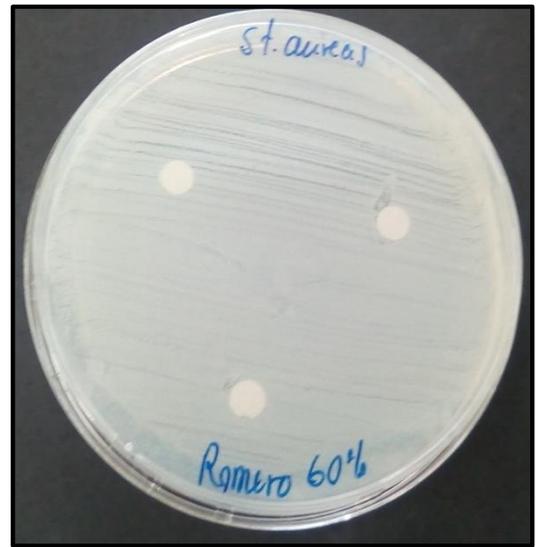
**G**



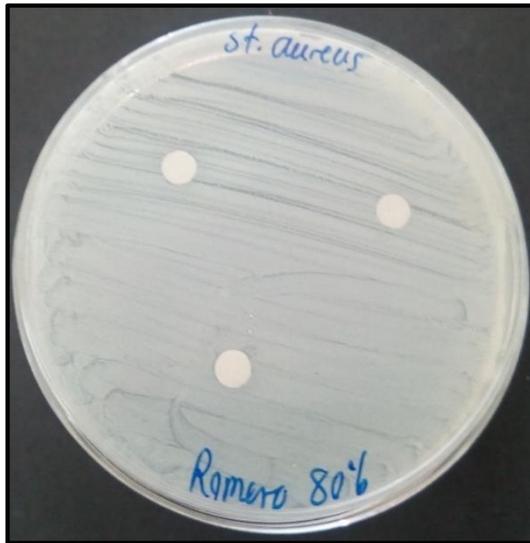
**H**



**I**



**J**



**K**

**G:**



**L**

Placa con siembra de *Staphylococcus aureus* y aceite de *Rosmarinus officinalis* L al **10%** con halo de inhibición de 0,0mm.

**H:** Placa con siembra de *Staphylococcus aureus* y aceite de *Rosmarinus officinalis* L al **20%** con halo de inhibición de 0,0mm.

**I:** Placa con siembra de *Staphylococcus aureus* y aceite de *Rosmarinus officinalis* L al **40%** con halo de inhibición de 0,0mm.

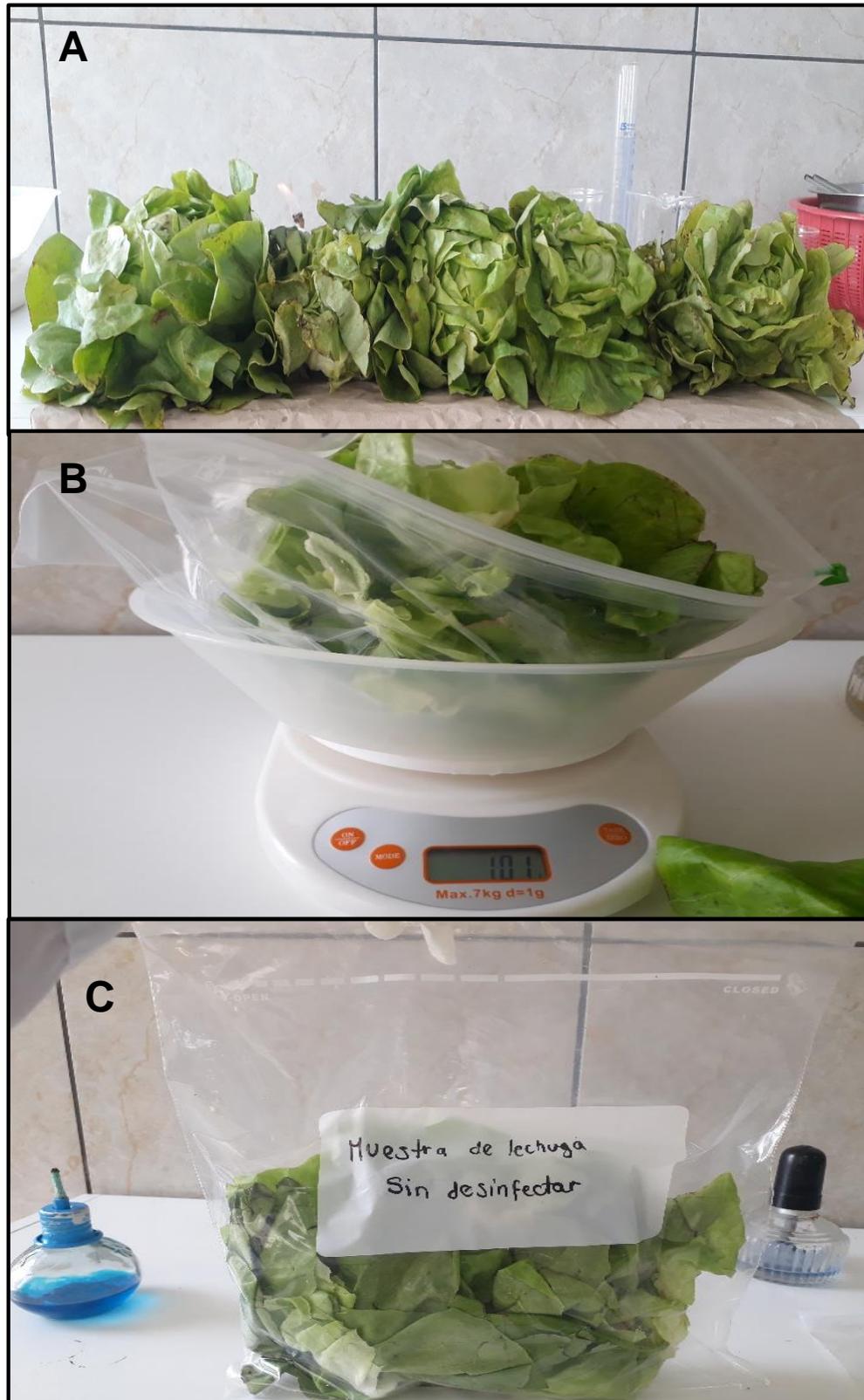
**J:** Placa con siembra de *Staphylococcus aureus* y aceite de *Rosmarinus officinalis* L al **60%** con halo de inhibición de 0,0mm.

**K:** Placa con siembra de *Staphylococcus aureus* y aceite de *Rosmarinus officinalis* L al **80%** con halo de inhibición de 0,0mm.

**L:** Placa con siembra de *Staphylococcus aureus* y aceite de *Rosmarinus officinalis* L al **100%** con halo de inhibición de 0,0mm.

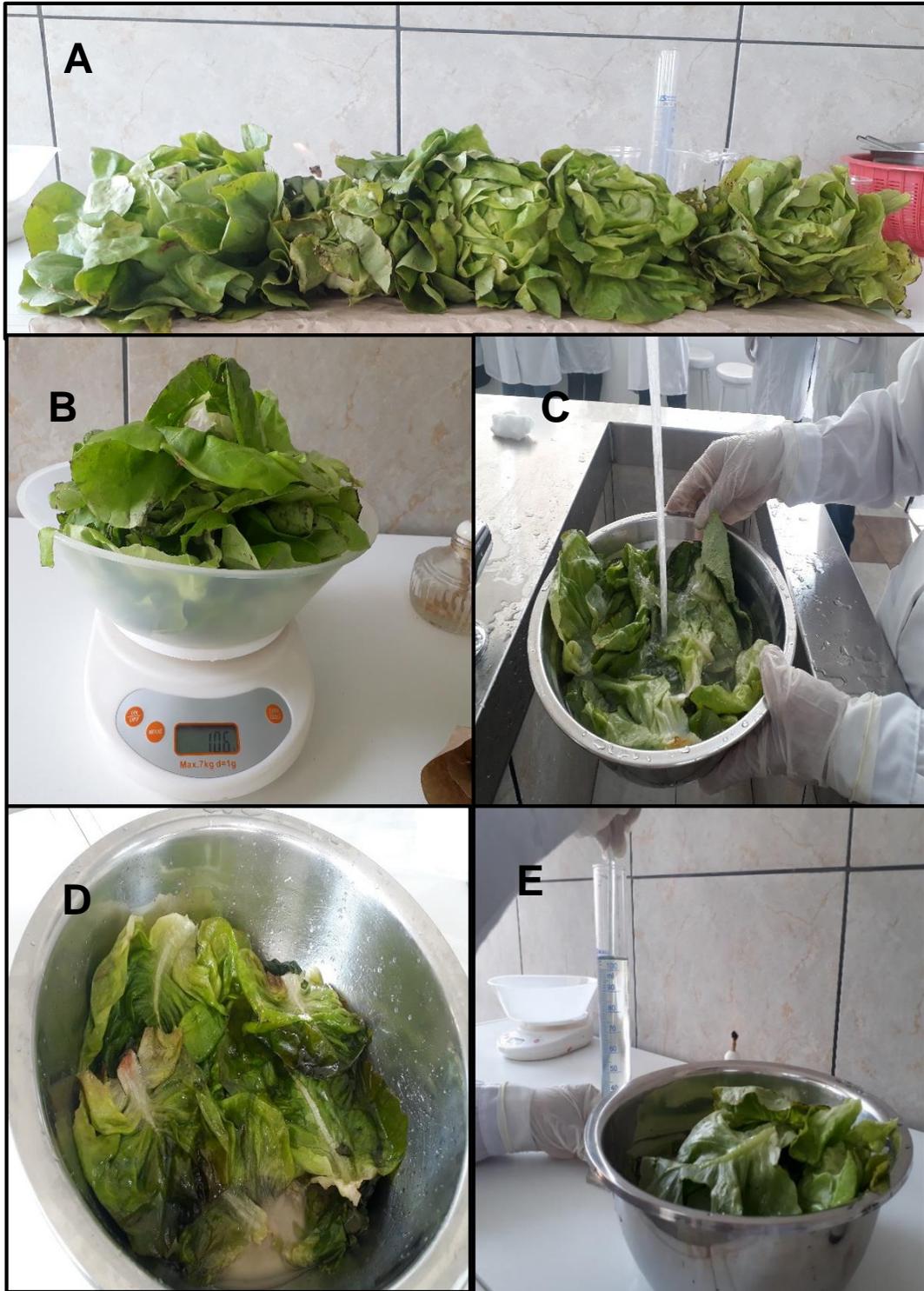
## ANEXO N° 08

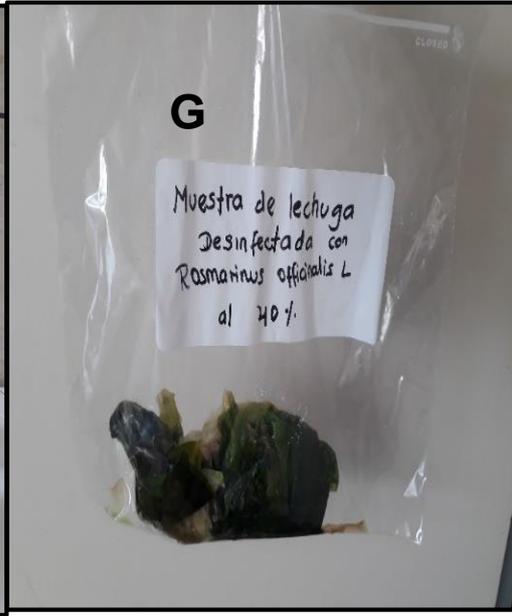
Preparación de *Lactuca sativa* (lechuga) antes de desinfectar.



## ANEXO N°09

Preparación de *Lactuca sativa* (lechuga) después de desinfectar con el aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* al 40%.





## ANEXO N° 10

Límites permisibles de la resolución N° 071 del Minsa/Digesa

<b>14. FRUTAS, HORTALIZAS, FRUTOS SECOS Y SIMILARES.</b>						
<b>14.1 Frutas y hortalizas frescas. ( sin ningún tratamiento)</b>						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g.	
					m	M
<i>Escherichia coli</i>	5	3	5	2	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>
<i>Salmonella sp.</i>	10	2	5	0	Ausencia/25 g	-----
<b>14.2 Frutas y hortalizas frescas semiprocesadas (lavadas, desinfectadas, peladas, cortadas y/o precocidas), refrigeradas y/o congeladas.</b>						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g.	
					m	M
Aerobios Mesófilos	1	3	5	3	10 <sup>4</sup>	10 <sup>6</sup>
<i>Escherichia coli</i>	5	3	5	2	10	10 <sup>2</sup>
<i>Salmonella sp.</i>	10	2	5	0	Ausencia/25 g	-----
<i>Listeria monocytogenes</i> (*)	10	2	5	0	Ausencia/25 g	-----
(*) Solo para frutas y hortalizas de tierra (a excepción de las precocidas).						
<b>14.3 Frutas y hortalizas desecadas, deshidratadas o liofilizadas</b>						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g.	
					m	M
Mohos	3	3	5	1	10	10 <sup>2</sup>
Levaduras	3	3	5	1	10	10 <sup>2</sup>
<i>Escherichia coli</i>	5	3	5	2	10	5x10 <sup>2</sup>
<i>Salmonella sp.</i>	10	2	5	0	Ausencia/25 g	---
<b>14.4 Frutas y hortalizas en vinagre, aceite o salmuera o fermentadas</b>						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g.	
					m	M
Levaduras	3	3	5	1	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>

## ANEXO N°11

Informe del ensayo microbiológico: Actividad antimicrobiana.



# BIOEN LAB S.A.C.

Pág. 1 de 2

### ENSAYOS MICROBIOLÓGICOS INFORME N° 215-2019

#### 1. IDENTIFICACIÓN DEL SOLICITANTE

Nombre: Virginia Rossy Fuentes Landeo  
DNI: 44189606  
Universidad: Alas Peruanas  
Facultad: Medicina Humana y Ciencias de la Salud  
Escuela Profesional: Farmacia y Bioquímica

#### 2. IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA

Ingrediente activo: Aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L. (Romero)  
Diluyente: Dimetilsulfóxido (DMSO)  
Cantidad recibida: 01 frasco de vidrio x 30 mL  
Cepas utilizadas para enfrentamiento:  
*Escherichia coli* ATCC 25922  
*Staphylococcus aureus* ATCC 25923  
Fecha de análisis: 26 de febrero del 2019  
Fecha de reporte: 27 de febrero del 2019

#### 3. MÉTODO DE ANÁLISIS:

Evaluación microbiológica *in vitro*. Método de difusión en agar por discos  
3.1 Medio de cultivo: Agar Plate Count (APC)  
3.2 Inóculo: 0,5 Mc Farland ( $1 \times 10^8$  UFC/mL)  
3.3 Discos: Papel filtro Whatman N°3, de 6 mm de diámetro  
3.4 Repeticiones: Tres  
3.3 Tiempo de incubación:  $24 \pm 2$  horas a  $35 \pm 1^\circ\text{C}$ , en aerobiosis.

#### 4. DATOS DEL ENSAYO

4.1. Concentraciones de aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L. (Romero). Según protocolo recibido, volumen final 1000  $\mu\text{L}$ .

CONCENTRACION (%)	ACEITE ESENCIAL ( $\mu\text{L}$ )	DILUYENTE ( $\mu\text{L}$ )
100	1000	0
80	800	200
60	600	400
40	400	600
20	200	800
10	100	900

  
Digo. Neil Kazabache V.  
c.i.P. 4861



## 5. CONTROLES:

Muestra	Medio de cultivo	Resultado
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	APC	Crecimiento
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	APC	Crecimiento
Sin sembrar (control del medio)	APC	No hubo crecimiento
Discos con DMSO	APC + <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	No hubo halo
Discos con DMSO	APC + <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	No hubo halo

## 6. RESULTADOS

6.1. Evaluación microbiológica *in vitro* de aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L. (Romero). Método difusión en agar por discos. Halos de inhibición en milímetros (mm).

<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	100 %	80 %	60 %	40 %	20 %	10 %
n						
1	10,0	9,0	9,0	8,0	7,0	0,0
2	10,0	9,0	9,0	8,0	7,0	0,0
3	10,0	9,0	9,0	8,0	7,0	0,0

n= número de repeticiones.

<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	100 %	80 %	60 %	40 %	20 %	10 %
n						
1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

n= número de repeticiones.

Método utilizado: Kirby Bauer y col. modificado.

  
Digo. NE. Lazabache V.  
C.B.P. 4001



# BIOEN LAB S.A.C.

## CONSTANCIA

El Gerente General de la empresa BIOEN LAB S.A.C., con RUC 20551506640, dedicada a ensayos y análisis técnicos, deja constancia que:

La Bachiller **Virginia Rossy Fuentes Landeo**, identificada con DNI 44189606, egresada de Facultad de Medicina Humana y Ciencias de la Salud, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, de la UNIVERSIDAD ALAS PERUANAS, realizó ensayos microbiológicos de actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L. "Romero", en nuestras instalaciones por medio del método de DIFUSIÓN EN AGAR (KIRBY BAUER Y COL. MODIFICADO) con las cepas *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para los fines que estime conveniente.

Lima, 26 de febrero del 2019

BIOEN LAB S.A.C.  
  
NEIL E. AZABACHE VENEGAS  
GERENTE GENERAL

## ANEXO N°12

### Informe del ensayo microbiológico: *Lactuca sativa* (LECHUGA CRIOLLA FRESCA).



#### INFORME DE ENSAYO N° N2181 - 2019

**Cliente:** FUENTES LANDEO VIRGINIA ROSSY  
**Dirección:** Av. Daniel Alcides Carrión N° 298 - Urb. Real Mz. D Lte. 9 - Santa Clara - Ate - Lima  
**R.U.C.:** 00044189606  
**e-mail:** rossyfuenteslandeo@gmail.com  
**Solicitud de Ensayo N°:** ENS-1749-2019/N  
**Nombre del Producto:** LECHUGA  
**Información proporcionada por el cliente:** M1: Lechuga sin desinfectar.  
**Características de la muestra:** **Presentación y Tipo de Envase:** Envasado en 01 bolsa de polietileno transparente sellada.  
**Acondicionamiento y Condiciones de Recepción:** En cooler con refrigerante, Temperatura: 3,8 °C.  
**Cantidad recibida:** 110 g.  
**Fecha de recepción:** 17 de abril de 2019  
**Fecha de ejecución de ensayos:** Del 17 al 21 de abril de 2019

#### ENSAYOS MICROBIOLÓGICOS

N°	Ensayo	Resultado	Unidades
01	N. Coliformes totales	56x10	UFC/g
02	N. E. coli	31x10	UFC/g
03	Det. Salmonella sp.	Ausencia	/25g

#### Métodos de ensayo utilizados:

01. AOAC 991.14, Cap. 17.3.04, 20Th Ed.: 2016 Coliform and *Escherichia coli* Counts in Foods.
02. AOAC 991.14, Cap. 17.3.04, 20Th Ed.: 2016 Coliform and *Escherichia coli* Counts in Foods.
03. ICMSF Microorganismos de los Alimentos. Su significado y métodos de enumeración. Método 1, Pág. 172-176, 2da Ed. Reimpresión 2000. 1983. *Salmonella* sin determinación serológica.

- Los resultados del presente Informe de Ensayo se relaciona únicamente a las muestras analizadas. No es un certificado de conformidad, ni certificado del sistema de calidad de quien produce la muestra.
- CERTILAB no es responsable de la información proporcionada por el cliente.
- Este documento al ser emitido sin el símbolo de acreditación, no se encuentra dentro del marco de la acreditación otorgada por INACAL-DA (Declaración exigida por el Reglamento de Uso del Símbolo de Acreditación y Declaración de la Condición de Acreditado DA-acc-05R. Sin embargo, el organismo emisor está ACREDITADO ante el INACAL).
- CERTILAB es responsable del Informe de Ensayo en sus versiones original y copia impresas, reproducciones adicionales son responsabilidad del cliente o usuario del documento.
- El presente Informe tiene una vigencia de 01 año después de la fecha de emisión.

San Miguel, 23 de abril de 2019



*Biol. Sara León Murín*  
Laboratorio de Microbiología  
C.B.P. 8889

Informe de Ensayo N° N2181-2019

Pág. 1 de 1

CERTIFICADORA Y LABORATORIOS ALAS PERUANAS S.A.C.  
Av. La Paz 1508, San Miguel, Lima - PERÚ  
Teléfono: (511) 578-4986 - 578-4970 - 578-5062 - 578-4542 E-mail: certilab@certilabperu.com

**INFORME DE ENSAYO**  
**N° N2182 - 2019**

**Cliente:** *FUENTES LANDEO VIRGINIA ROSSY*  
**Dirección:** *Av. Daniel Alcides Carrión N° 298 - Urb. Real Mz. D Lte. 9 - Santa Clara - Ate - Lima*  
**R.U.C.:** *00044189606*  
**e-mail:** *rossyfuenteslandeo@gmail.com*  
**Solicitud de Ensayo N°:** *ENS-1749-2019/N*  
**Nombre del Producto:** *LECHUGA*  
**Información proporcionada por el cliente:** *M2: Lechuga desinfectada con Rosmarinus Officialis L al 40%.*  
**Características de la muestra:** **Presentación y Tipo de Envase:** *Envasado en 01 bolsa de polietileno transparente sellada.*  
**Acondicionamiento y Condiciones de Recepción:** *En cooler con refrigerante, Temperatura: 3,8 °C.*  
**Cantidad recibida:** *130 g.*  
**Fecha de recepción:** *17 de abril de 2019*  
**Fecha de ejecución de ensayos:** *Del 17 al 21 de abril de 2019*

**ENSAYOS MICROBIOLÓGICOS**

N°	Ensayo	Resultado	Unidades
01	N. Coliformes totales	20	UFC/g
02	N. E. coli	<10	UFC/g
03	Det. Salmonella sp.	Ausencia	/25g

**Métodos de ensayo utilizados:**

01. AOAC 991.14, Cap. 17.3.04, 20th Ed.: 2016 Coliform and *Escherichia coli* Counts in Foods.
02. AOAC 991.14, Cap. 17.3.04, 20th Ed.: 2016 Coliform and *Escherichia coli* Counts in Foods.
03. ICMSF Microorganismos de los Alimentos. Su significado y métodos de enumeración. Método 1, Pág. 172-176, 2da Ed. Reimpresión 2000. 1983.  
*Salmonella* sin determinación serológica.

- Los resultados del presente Informe de Ensayo se relaciona únicamente a las muestras analizadas. No es un certificado de conformidad, ni certificado del sistema de calidad de quien produce la muestra.
- CERTILAB no es responsable de la información proporcionada por el cliente.
- Este documento al ser emitido sin el símbolo de acreditación, no se encuentra dentro del marco de la acreditación otorgada por INACAL-DA (Declaración exigida por el Reglamento de Uso del Símbolo de Acreditación y Declaración de la Condición de Acreditado DA-acr-05R. Sin embargo, el organismo emisor está ACREDITADO ante el INACAL).
- CERTILAB es responsable del Informe de Ensayo en sus versiones original y copia impresas, reproducciones adicionales son responsabilidad del cliente o usuario del documento.
- El presente Informe tiene una vigencia de 01 año después de la fecha de emisión.

San Miguel, 23 de abril de 2019



  
**Biol. Sara León Marín**  
 Laboratorio de Microbiología  
 C.B.P. 8889