

**UNIVERSIDAD NACIONAL  
TORIBIO RODRÍGUEZ DE MENDOZA DE AMAZONAS**



**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
ESCUELA PROFESIONAL DE ENFERMERÍA**

**TESIS PARA OBTENER  
EL TÍTULO PROFESIONAL DE  
LICENCIADA EN ENFERMERÍA**

**EFFECTOS DEL ACEITE ESENCIAL PIPER ADUNCUM,  
CITRUS X TANGELO Y ORIGANUM VULGARE SOBRE  
ESCHERICHIA COLI**

**Autora: Bach. Maria Martha Aliaga Ruiz.**

**Asesora: Dra. Sonia Tejada Muñoz.**

**Registro: (.....)**

**CHACHAPOYAS – PERÚ**

**2024**

## **DEDICATORIA**

A Dios, por su gran amor, sus cuidados y su ayuda en cada momento de mi vida, por ser la luz que ilumina mi camino, quien en su infinita bondad me obsequió cristalizar mi sueño dorado e imposible.

A mis Padres, por brindarme la vida, ser ejemplos de trabajo, honestidad y sacrificio, por su compañía y enseñarme a cultivar los valores y a luchar por mis sueños.

A mis hermanos y sobrinos, por su compañía, apoyo y consejos que me brindaron cada vez que los necesité, por guiarme y ser parte importante de mi vida. Que esta pequeña luz brille en sus corazones como ejemplo de esfuerzo y dedicación.

A mis amigos los incondicionales. En especial a mi mejor amigo por estar a mi lado en los buenos y en los más difíciles momentos de mi vida, por ser el soporte y motivo que me impulsó a seguir adelante. Te llevo en mi corazón con amor y aprecio.

A todo aquel que lucha por sus sueños y persevera aun cuando todo parece perdido.

## **AGRADECIMIENTO**

A Dios, por darme la sabiduría y guiarme en cada paso de la vida, por allanar mi camino y haberme permitido conocer a todas aquellas personas que fueron mi apoyo y ayuda en esta etapa de mi vida.

A la todos los docentes de la Escuela Profesional de Enfermería, por el esfuerzo, la dedicación y el tiempo que invirtieron durante mi preparación profesional.

A mi asesora de tesis Dra. Sonia Tejada Muñoz, por su gran interés, compromiso, así como por su valiosa ayuda y orientación prestada en la realización de la presente investigación

A la Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias, por el apoyo de todos los que lo conforman, en especial al Ing. MSC. Guillermo Idrogo Vásquez, Mg. Sc. Walter Daniel Sánchez Aguilar, MSC. Elí Pariente Mondragón, MSC. Segundo Chávez Quintana, Ing. Miguelina Zayda Silva Zuta, Ing. Eisen Carlos Usquiza Cruz y a los laboratoristas Señora Anita y Charito, así como por la infraestructura que hizo posible este estudio.

A todos que directa o indirectamente hicieron posible el desarrollo de esta investigación  
Muchas gracias.

**AUTORIDADES DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL TORIBIO RODRÍGUEZ  
DE MENDOZA DE AMAZONAS**

Jorge Luis Maicelo Quintana Ph. D.

**Rector**

Dr. Oscar Andrés Gamarra Torres

**Vicerrector Académico**

Dra. María Nelly Luján Espinoza

**Vicerrectora de Investigación**

Dr. Yshoner Antonio Silva Diaz

**Decano de la Facultad de Ciencias de la Salud**

## VISTO BUENO DEL ASESOR DE LA TESIS



**UNTRM**

**REGLAMENTO GENERAL**  
PARA EL OTORGAMIENTO DEL GRADO ACADÉMICO DE  
BACHILLER, MAESTRO O DOCTOR Y DEL TÍTULO PROFESIONAL

### ANEXO 3-L

#### VISTO BUENO DEL ASESOR DE TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL

El que suscribe el presente, docente de la UNTRM (x)/Profesional externo ( ), hace constar que ha asesorado la realización de la Tesis titulada "Efectos del aceite esencial Piper aduncum, Citrus x tangelo y Origanum vulgare sobre Escherichia coli"; del egresado María Martha Aliaga Ruiz de la Facultad de Ciencias de la Salud Escuela Profesional de Eufemencia de esta Casa Superior de Estudios.

El suscrito da el Visto Bueno a la Tesis mencionada, dándole pase para que sea sometida a la revisión por el Jurado Evaluador, comprometiéndose a supervisar el levantamiento de observaciones que formulen en Acta en conjunto, y estar presente en la sustentación.

Chachapoyas, 11 de Enero de 2024

Firma y nombre completo del Asesor

Doa. Sonia Tejada Muñoz

**JURADO EVALUADOR DE LA TESIS**

(RESOLUCIÓN DE DECANATO N° 045-2024-UNTRM-VRAC/FACISA)



---

MSc. Yamira Iraisá Herrera García  
Presidente



---

Mg. Roly Torrejón Quiroz  
Secretario



---

Mg. Neyser Mercedes Vigo Maicelo  
Vocal

# CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD DE LA TESIS



**UNTRM**

**REGLAMENTO GENERAL**  
PARA EL OTORGAMIENTO DEL GRADO ACADÉMICO DE  
BACHILLER, MAESTRO O DOCTOR Y DEL TÍTULO PROFESIONAL

## ANEXO 3-Q

### CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD DE LA TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL

Los suscritos, miembros del Jurado Evaluador de la Tesis titulada:

*Efectos del aceite esencial de Aduncum Citrus x faujas*  
*de Origanum vulgare sobre Escherichia Coli*

presentada por el estudiante ( ) / egresado (X) Maria Martha Olguin Cruz

de la Escuela Profesional de Superior

con correo electrónico institucional 4781476971@untrm.edu.pe

después de revisar con el software Turnitin el contenido de la citada Tesis, acordamos:

- La citada Tesis tiene 14 % de similitud, según el reporte del software Turnitin que se adjunta a la presente, el que es menor (X) / igual ( ) al 25% de similitud que es el máximo permitido en la UNTRM.
- La citada Tesis tiene \_\_\_\_\_ % de similitud, según el reporte del software Turnitin que se adjunta a la presente, el que es mayor al 25% de similitud que es el máximo permitido en la UNTRM, por lo que el aspirante debe revisar su Tesis para corregir la redacción de acuerdo al Informe Turnitin que se adjunta a la presente. Debe presentar al Presidente del Jurado Evaluador su Tesis corregida para nueva revisión con el software Turnitin.

Chachapoyas, 16 de Mayo del 2024

  
SECRETARIO

  
PRESIDENTE

  
VOCAL

OBSERVACIONES:

.....  
.....

# REPORTE DEL SOFTWARE TURNITIN

## Informe de tesis

### INFORME DE ORIGINALIDAD

<b>14%</b> INDICE DE SIMILITUD	<b>14%</b> FUENTES DE INTERNET	<b>4%</b> PUBLICACIONES	<b>4%</b> TRABAJOS DEL ESTUDIANTE
-----------------------------------	-----------------------------------	----------------------------	--------------------------------------

ENCONTRAR COINCIDENCIAS CON TODAS LAS FUENTES (SOLO SE IMPRIMIRÁ LA FUENTE SELECCIONADA)

6%

\* **hdl.handle.net**

Fuente de Internet

Excluir citas

Apagado

Excluir coincidencias

Apagado

Excluir bibliografía

Apagado



MSc. Yamira Inés Herrera García

# ACTA DE SUSTENTACIÓN DE LA TESIS



## ANEXO 3-5

### ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL

En la ciudad de Chachapoyas, el día 21 de mayo del año 2021, siendo las 8:00am horas, el aspirante: Aliaga Ruiz Maria Martha, asesorado por Lejada Mañoz Sonia defiende en sesión pública presencial () / a distancia ( ) la Tesis titulada: Efectos del aceite esencial Piper aduncum, Citrus x tangelo y Drigamum vulgare Sobre Escherichia coli, para obtener el Título Profesional de Licenciada en Enfermería, a ser otorgado por la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas; ante el Jurado Evaluador, constituido por:

Presidente: M.Sc. Yamira Troisa Herrera García.

Secretario: Mg. Roly Barrejon Guiróz.

Vocal: Mg. Naysa Mercedes Vigo Maricelo.



Procedió el aspirante a hacer la exposición de la Introducción, Material y métodos, Resultados, Discusión y Conclusiones, haciendo especial mención de sus aportaciones originales. Terminada la defensa de la Tesis presentada, los miembros del Jurado Evaluador pasaron a exponer su opinión sobre la misma, formulando cuantas cuestiones y objeciones consideraron oportunas, las cuales fueron contestadas por el aspirante.

Tras la intervención de los miembros del Jurado Evaluador y las oportunas respuestas del aspirante, el Presidente abre un turno de intervenciones para los presentes en el acto de sustentación, para que formulen las cuestiones u objeciones que consideren pertinentes.

Seguidamente, a puerta cerrada, el Jurado Evaluador determinó la calificación global concedida a la sustentación de la Tesis para obtener el Título Profesional, en términos de:

Aprobado () por Unanimidad () / Mayoría ( ) Desaprobado ( )

Otorgada la calificación, el Secretario del Jurado Evaluador lee la presente Acta en esta misma sesión pública. A continuación se levanta la sesión.

Siendo las 9:50am horas del mismo día y fecha, el Jurado Evaluador concluye el acto de sustentación de la Tesis para obtener el Título Profesional.

[Signature]  
SECRETARIO

[Signature]  
VOCAL

[Signature]  
PRESIDENTE

OBSERVACIONES:

## ÍNDICE DE CONTENIDO

Dedicatoria.....	ii
Agradecimiento.....	iii
Autoridades de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas .....	.iv
Visto Bueno del Asesor de la Tesis .....	v
Jurado Evaluador de la Tesis .....	vi
Constancia de Originalidad de la Tesis.....	vii
Reporte de Software Turnitin .....	viii
Acta de Sustentación de la Tesis.....	ix
Índice .....	x
Índice de Tablas .....	xi
Índice Figúras .....	xii
Índice de Anexos .....	xiii
Resumen.....	xiv
Abstract.....	xv
I. INTRODUCCIÓN.....	16
II. MATERIAL Y MÉTODOS .....	20
III. RESULTADOS .....	28
IV. DISCUSIÓN .....	36
V. CONCLUSIONES .....	39
VI. RECOMENDACIONES .....	40
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	41
ANEXOS .....	51

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Combinaciones de los factores A, B. y C.....	22
Tabla 2.	Resumen del Análisis de varianza (ANOVA) de la variable inhibición del crecimiento de <i>Escherichia coli</i> frente a los aceites esenciales de Tangelo y Orégano a 24, 48 y 72 horas de exposición.....	29
Tabla 3.	Medias de la variable diámetro de halo de inhibición del crecimiento de <i>Escherichia coli</i> a 24, 48 y 72 horas de exposición, año 2023.....	32
Tabla 4.	Sensibilidad de <i>E. coli</i> frente a los tratamientos en estudio a 24 h., de exposición según escala de Duraffourd.....	33
Tabla 5.	Sensibilidad de <i>E. coli</i> frente a los tratamientos en estudio a 48 h., de exposición según escala de Duraffourd.....	34
Tabla 6.	Sensibilidad de <i>E. coli</i> frente a los tratamientos en estudio a 72 h., de exposición según escala de Duraffourd.....	35

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Esquema del diseño de investigación.....	20
Figura 2.	Comparación de medias de diámetro de halos (mm) alcanzados por los aceites esenciales de matico, tangelo y orégano en la inhibición del crecimiento de <i>E. coli</i> a 24, 48 y 72 horas de exposición.....	28
Figura 3.	Comparación de medias de inhibición del crecimiento de <i>E. coli</i> a 24 horas de exposición para las interacciones según prueba de Tukey al 95% de confianza.....	29
Figura 4.	Comparación de medias de inhibición del crecimiento de <i>E. coli</i> a 24, 48 y 72 horas de exposición para aceites esenciales según prueba de Tukey al 95% de confianza.....	30
Figura 5.	Comparación de medias de inhibición del crecimiento de <i>E. coli</i> a 24, 48 y 72 horas de exposición para concentraciones según prueba de Tukey al 95% de confianza.....	31
Figura 6.	Comparación de medias de inhibición del crecimiento de <i>E. coli</i> a 24, 48 y 72 horas de exposición para dosis según prueba de Tukey al 95% de confianza.....	31

## ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Procedimiento para obtención de aceites y ejecución de la investigación	51
Anexo 2. Pruebas de verificación de supuestos del ANOVA.....	53
Anexo 3. ANOVA de la variable inhibición de <i>Escherichia coli</i> frente a los aceites de tangelo y orégano a 24, 48 y 72 horas de exposición.....	55

## RESUMEN

La investigación tuvo como objetivo evaluar los efectos del aceite esencial de *Piper aduncum*, *Citrus x tangelo* y *Origanum vulgare* sobre *Escherichia coli*. Mediante un Diseño Completo al Azar (DCA) con arreglo factorial de 3A x 3B x 2C. Factor A: Aceites (*Piper*, *Citrus* y *Origanum*). Factor B: Concentraciones (70, 90 y 100%). Factor C: dosis (30uL y 10uL). Un control positivo (Ciprofloxacino de 5 ug) y uno negativo (Tween 80). Con 20 tratamientos. Los aceites fueron extraídos por el método de arrastre con vapor de agua. Se efectuó un antibiograma según la técnica de Kirby Bauer, empleando discos de sensibilidad impregnados con los tratamientos mencionados, las placas fueron incubadas a 37°C, midiéndose el diámetro de halo con un vernier cada 24 horas. Los datos fueron sometidos a un Análisis de Varianza y a la prueba paramétrica de Tukey al 95% de confianza. Los resultados muestran alta significancia para aceites, concentraciones, dosis e interacción dosis con aceite. El orégano obtuvo mejores valores con 20.266, 23.093 y 21.567 mm de diámetro de inhibición a 24, 48 y 72 horas respectivamente. Los valores más altos se alcanzaron a concentraciones de 90 y 100% y a dosis de 30uL. Según escala Duraffourd, *Escherichia coli* fue sumamente sensible al aceite de orégano y sensible al tangelo, al aceite de matico no presentó sensibilidad. En conclusión, el aceite esencial de orégano a concentraciones de 90 y 100% y a dosis de 30uL posee efecto inhibitorio sumamente sensibles frente a *Escherichia coli*.

**Palabras clave:** Aceites esenciales, *Escherichia coli*, concentraciones, dosis, sensibilidad.

## ABSTRACT

The objective of the research was to evaluate the effects of the essential oil of *Piper aduncum*, *Citrus x tangelo* and *Origanum vulgare* on *Escherichia coli*. Through a Complete Randomized Design (RCD) with a factorial arrangement of 3A x 3B x 2C. Factor A: Oils (*Piper*, *Citrus* and *Origanum*). Factor B: Concentrations (70, 90 and 100%). Factor C: dose (30uL and 10uL). A positive control (Ciprofloxacin 5 ug) and a negative control (Tween 80). With 20 treatments. The oils were extracted by the steam extraction method. An antibiogram was carried out according to the Kirby Bauer technique, using sensitivity discs impregnated with the aforementioned treatments. The plates were incubated at 37°C, measuring the halo diameter with a vernier caliper every 24 hours. The data were subjected to an Analysis of Variance and Tukey's parametric test at 95% confidence. The results show high significance for oils, concentrations, doses and dose-oil interaction. Oregano obtained better values with 20,266, 23,093 and 21,567 mm of inhibition diameter at 24, 48 and 72 hours respectively. The highest values were reached at concentrations of 90 and 100% and at doses of 30uL. According to the Duraffourd scale, *Escherichia coli* was extremely sensitive to oregano oil and sensitive to tangelo; it did not present sensitivity to matico oil. In conclusion, oregano essential oil at concentrations of 90 and 100% and at doses of 30uL has extremely sensitive inhibitory effects against *Escherichia coli*.

**Keywords:** Essential oils, *Escherichia coli*, concentrations, dosage, sensitivity.

## I. INTRODUCCIÓN

Las infecciones urinarias son comunes a nivel del mundo, afectan a más de 150 millones de individuos y aproximadamente el 50% a 70% son del sexo femenino y contraen esta infección siquiera una vez en su vida, siendo el causante de mayor frecuencia la *Escherichia coli* uropatógena en 65% a 70% de los casos presentados. También, es agente causal preponderante de las infecciones de los sistemas urinario y sanguíneo, también ocasiona alta morbilidad y mortalidad en todas partes del mundo (Croxen et al., 2018), originando grandes costos médicos y sociales (Manges, 2019); en Canadá la tasa de incidencia fue de 48,8 / 100 000 pacientes-año (Holland et al., 2020).

La bacteria *Escherichia coli* (*E. coli*) afecta principalmente la salud de las mujeres en edad fértil, en el embarazo y la menopausia. Sin embargo, los grupos con alto riesgo de infecciones graves están los niños menores de 5 años (Rothstein et al., 2019), adultos mayores de 65 años y personas cuyo sistema inmune esté debilitado (Centro de control y prevención de enfermedades [CDC], 2021). Las cepas enteropatógena y enterotoxigénica provocan diarrea sanguinolenta, síndrome urémico hemolítico y hasta la muerte (CDC, 2021).

La tasa de detección nosocomial de *E. coli* en Japón es alta, debido a la aparición de cepas que portan genes de resistencia (Chong et al., 2018). En los centros de atención fueron de 10 al 60% en Europa y 50% en China (Flokas et al., 2017). La tasa de prevalencia de colonización en Europa y América del Norte 10% y en Asia 50% (Karanika et al., 2016). En Lima la frecuencia de colonización en heridas crónicas en las extremidades inferiores fue 17,2% (Mendo et al., 2017).

El uso empírico de antibióticos ha desarrollado resistencia bacteriana ocasionando que muchos de ellos se hayan vuelto ineficaces (Mazzariol, 2017). En América Latina se han reportado altas proporciones de *E. coli* resistente a las “fluoroquinolonas de 17,5 a 18,9%, ampicilina 61,4%” Bours (como se citó en Aranda, 2016). Las tasas de resistencia muestran una tendencia al crecimiento de 2.4% en solo tres años (Bonkat, 2017). En Perú según la ubicación de los establecimientos de salud los valores más altos se presentaron en Madre de Dios 25% y Ucayali 76,2% (Marcos et al., 2020).

La gran capacidad de diseminación y persistencia de *E. coli* en el ámbito hospitalario y comunitario asociado a su resistencia a múltiples antibióticos limita las alternativas de tratamiento médico (Denisuik et al., 2018), y es un peligro latente para la salud de la población (Benavides et al., 2018). Lo que plantea la necesidad imperante de buscar nuevas estrategias en el tratamiento de las infecciones, una de ellas es el empleo de la fitoterapia lo que impacta en la resistencia microbiana (Silva et al., 2019).

Existen diversas variables que influyen en el efecto de los aceites esenciales (AE) en la inhibición del crecimiento de *E. coli*, entre ellas están: la especie, concentración de los principios activos, dosis, frecuencia de administración, parte del vegetal, clima, fertilización. Los mismos que afectan el contenido del principio activo necesario para expresar un efecto positivo (Queiroz et al., 2016).

Las investigaciones referentes al efecto de los aceites esenciales de *Piper aduncum* (Matico) en la inhibición de *E. coli* son controvertidas. Por un lado, ciertos estudios mostraron que tiene efecto positivo como bacteriostático (Aguilar y Zavaleta, 2019), pero otros estudios no hallaron evidencia de que el AE de matico presente efecto en la inhibición de *E. coli* (Flores y Puente, 2016). Además, no existen estudios realizados con AE de *Citrus x tangelo* (Tangelo), salvo un caso donde consideran a *Citrus cinensis* como Tangelo (otra especie) (Sesa y Torres, 2021). En cuanto a *Origanum vulgare* (Orégano), los estudios realizados apuntan hacia *Lippia origanoides* (Lizcano et al., 2021) y se centran como desinfectante de hortalizas o carne (Alvarez et al., 2019).

Li et al. (2022), en China al evaluar la composición química de cinco cítricos concluyen que los AE presentaban mayor cantidad de terpenos, d-limoneno y pineno. Abud et al. (2021), en Nicaragua estudiaron la actividad antimicrobiana de aceites esenciales de semillas de tres cítricos a diferentes concentraciones, contra *E. coli* (ATCC) 25922 y *Staphylococcus aureus* (ATCC) 25923. Los resultados muestran que los aceites a las concentraciones de 75 y 100% tienen efecto bactericida sobre *E. coli* y *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), mientras que a concentraciones menores no tiene efecto positivo.

Lopez (2018), en Ecuador, evaluó el efecto antimicrobiano del aceite esencial de *Origanum vulgare* en cepas de *E. coli* y *S. aureus*, a las concentraciones de 30, 60 y 90%, determinando la concentración mínima inhibitoria (MIC). Los resultados indican que la MIC para *E. coli* presenta turbidez al 30% y *S. aureus* no muestra turbidez. Concluye que

el aceite de orégano inhibe el crecimiento bacteriano en todas las concentraciones, siendo el diámetro mínimo y máximo del halo en *E. coli* de 13.01 mm y 17.62 mm respectivamente.

Queiroz et al. (2016), en Brasil, al estudiar la producción y composición del AE del orégano. Concluyen que los principales componentes son: carvacrol, terpineno, ortocymeno, myrceno. Así mismo, Acevedo et al. (2013) afirman que en su estudio encontraron al timol como componente mayoritario (67,51%) y que éste le confiere propiedades antibacterianas además del carvacrol. Cabrejos, S. y Vasquez, A. (2021), en su investigación realizada en Lima evaluaron la acción bactericida de *Piper aduncum* y *Mentha spicata* L contra a *E. coli*, y *Staphylococcus*, empleando la difusión en agar, para lo cual consideraron diferentes concentraciones de los extractos (50, 75 y 100%), concluyeron que las dos especies en estudio presentaron acción bactericida contra *S. aureus*, teniendo mejor acción *Piper aduncum* L.

Aguilar, L. y Zavaleta L, (2019), en Trujillo, al investigar la eficacia antimicrobiana del extracto de *Piper aduncum* sobre *E. coli*, a diferentes concentraciones (40%, 60%, 80% y 100%), obtuvieron como resultado que la eficacia del extracto es mejor cuanto más concentrado está. Concluyen que la concentración al 100% tuvo mejor efecto inhibiendo el crecimiento de *E. coli*.

Ingaroca et al. (2019), en Lima, al estudiar la composición química del matico encontraron principalmente “ $\beta$ -ocimeno, metileugenol, germacreno D, biciclogermacreno” en cantidades altas. Asimismo, Crislene et al. (2016), sostienen que en su estudio los contenidos de biciclogermacreno tiene un efecto positivo en la inhibición de *E. coli*. El fellandreno tiene actividad antibacteriana de amplio espectro.

La literatura científica también reporta que los aceites esenciales de *Origanum vulgare* y *Citrus x tangelo* contienen carvacrol y timol (Azimzadeh et al., 2023), acetato de linalilo y limoneno (Ambrosio et al., 2020) respectivamente. Los cuales son de gran importancia médica debido a su capacidad antimicrobiana y antiviral entre otras, sin embargo, están influenciados por diversos factores como genotipo, época de cosecha, y la distribución geográfica (Shange et al., 2019). Así mismo la concentración, cantidad y composición de estos aceites están influenciadas significativamente por la altitud, aumentando con ella (Öner & Yeşil, 2023). A demás la frecuencia (periodo de incubación) y la dosis de los

aceites tiene marcada importancia en el efecto inhibitorio de *E. coli*.

El estudio tuvo como objetivo general evaluar los efectos del aceite esencial de *Piper aduncum*, *Citrus x tangelo* y *Origanum vulgare* en la inhibición del crecimiento de *Escherichia coli*. Y los objetivos específicos: Identificar el aceite esencial de *Piper aduncum*, *Citrus x tangelo* y *Origanum vulgare* que presenta actividad en la inhibición del crecimiento de *Escherichia coli*; establecer la concentración y dosis del aceite esencial de *Piper aduncum*, *Citrus x tangelo* y *Origanum vulgare* que tiene mejor actividad en la inhibición del crecimiento de *Escherichia coli*; determinar la sensibilidad de *Escherichia coli* frente a los aceites esenciales de *Piper aduncum*, *Citrus x tangelo* y *Origanum vulgare*.

La investigación tuvo como hipótesis, el aceite esencial de *Piper aduncum*, *Citrus x tangelo* y *Origanum vulgare* tienen efecto significativo en la inhibición del crecimiento de *Escherichia coli*.

El aceite esencial puede definirse como la mezcla de varios compuestos aromáticos obtenidos de una planta entera o parte de ella por destilación (López, 2004). Dosis como la cantidad correcta de principio activo que garantice su efectividad, expresado en volumen y se suministrará de una vez (Estrada, 2006). Concentración es la magnitud que expresa la cantidad de una sustancia por unidad de volumen (RAE, 2021; UNAME, 2013). Periodo de incubación como el periodo de tiempo requerido para que se observe una respuesta (Gil & Vaqué, 2008). Crecimiento bacteriano *se* conceptualiza como aumento de la masa celular por división de las bacterias mediante fisión binaria o gemación (Caycedo et al., 2021). Ciprofloxacino es un antibiótico de amplio espectro empleado para tratar infecciones provocadas por bacterias (Martínez et al., 2010) y Tween 80 es un surfactante hidrofílico (Wei et al., 2008).

## II. MATERIAL Y MÉTODOS

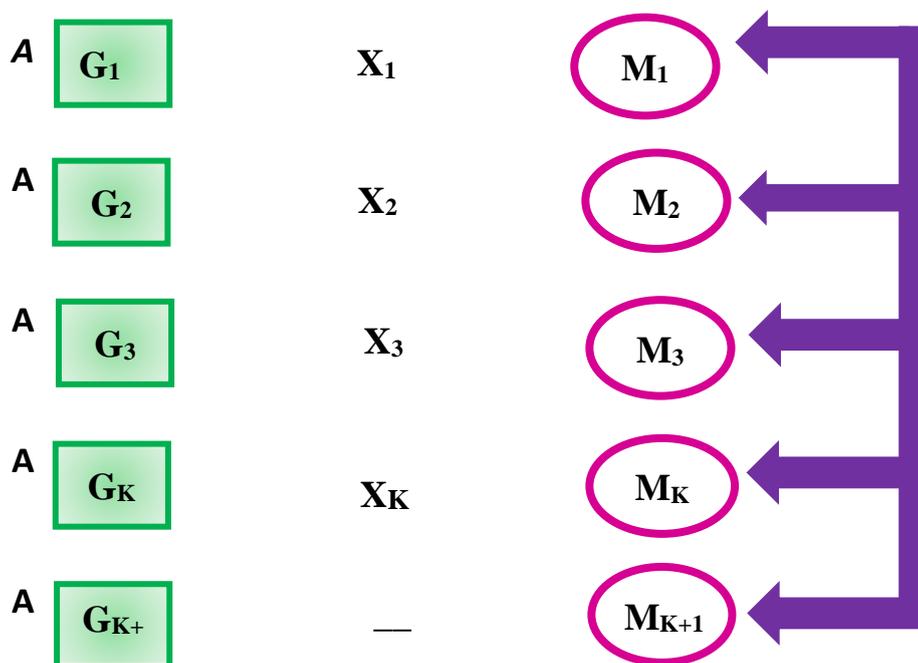
### Metodología

#### Tipo y diseño de la investigación

La investigación tuvo un enfoque cuantitativo, tipo causal, diseño experimental puro con posprueba únicamente y grupo control (Hernández, 2014; Hernández et al., 2018).

**Figura 1**

*Esquema del diseño de investigación*



Donde:

**X<sub>1</sub>**: Aceite esencial al 100% de concentración.

**X<sub>2</sub>**: Aceite esencial al 90% de concentración.

**X<sub>3</sub>**: Aceite esencial al 70% de concentración.

**X<sub>K</sub>**: Ciprofloxacino 5 mg (Control +).

— : Tween 80 (Control -).

**G<sub>1</sub> ... G<sub>K+1</sub>**: Cepa de *E. coli*.

**M<sub>1</sub> ... M<sub>K+1</sub>**: Medición de la variable independiente.

## Diseño estadístico

En la investigación se empleó un Diseño Completo al Azar (DCA) con arreglo factorial de 3A x 3B x 2C. Factor A: Aceites (*Piper*, *Citrus* y *Origanum*). Factor B: Concentraciones (70, 90 y 100%). Factor C: dosis (30uL y 10uL). Un control positivo (Ciprofloxacino de 5 ug) y uno negativo (Tween 80). Con 20 tratamientos y 15 repeticiones.

### Modelo aditivo lineal

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + C_k + (AB)_{ij} + (AC)_{ik} + (BC)_{jk} + (ABC)_{ijk} + e_{ijk}$$

#### Dónde:

$Y_{ijk}$  = Representa la observación correspondiente al nivel (i) del factor A, al nivel (j) del factor B y al nivel (k) del factor C.

$\mu$  = Efecto medio verdadero de la media global

$A_i$  = Efecto producido por el nivel i – ésimo del factor A

$B_j$  = Efecto producido por el nivel j – ésimo del factor B.

$C_k$  = Efecto producido por el nivel k – ésimo del factor C.

$(AB)_{ij}$  = Efecto producido por la interacción del nivel i – ésimo del factor A con el nivel j – ésimo del factor B.

$(AC)_{ik}$  = Efecto producido por la interacción del nivel i – ésimo del factor A con el nivel k – ésimo del factor C.

$(BC)_{jk}$  = Efecto producido por la interacción del nivel j – ésimo del factor B con el nivel k – ésimo del factor C.

$(ABC)_{ijk}$  = Efecto producido por la interacción del nivel i – ésimo del factor A con el nivel j – ésimo del factor B y el nivel k – ésimo del factor C.

$e_{ijk}$  = Efecto producido por el error.

## Tratamientos y distribución

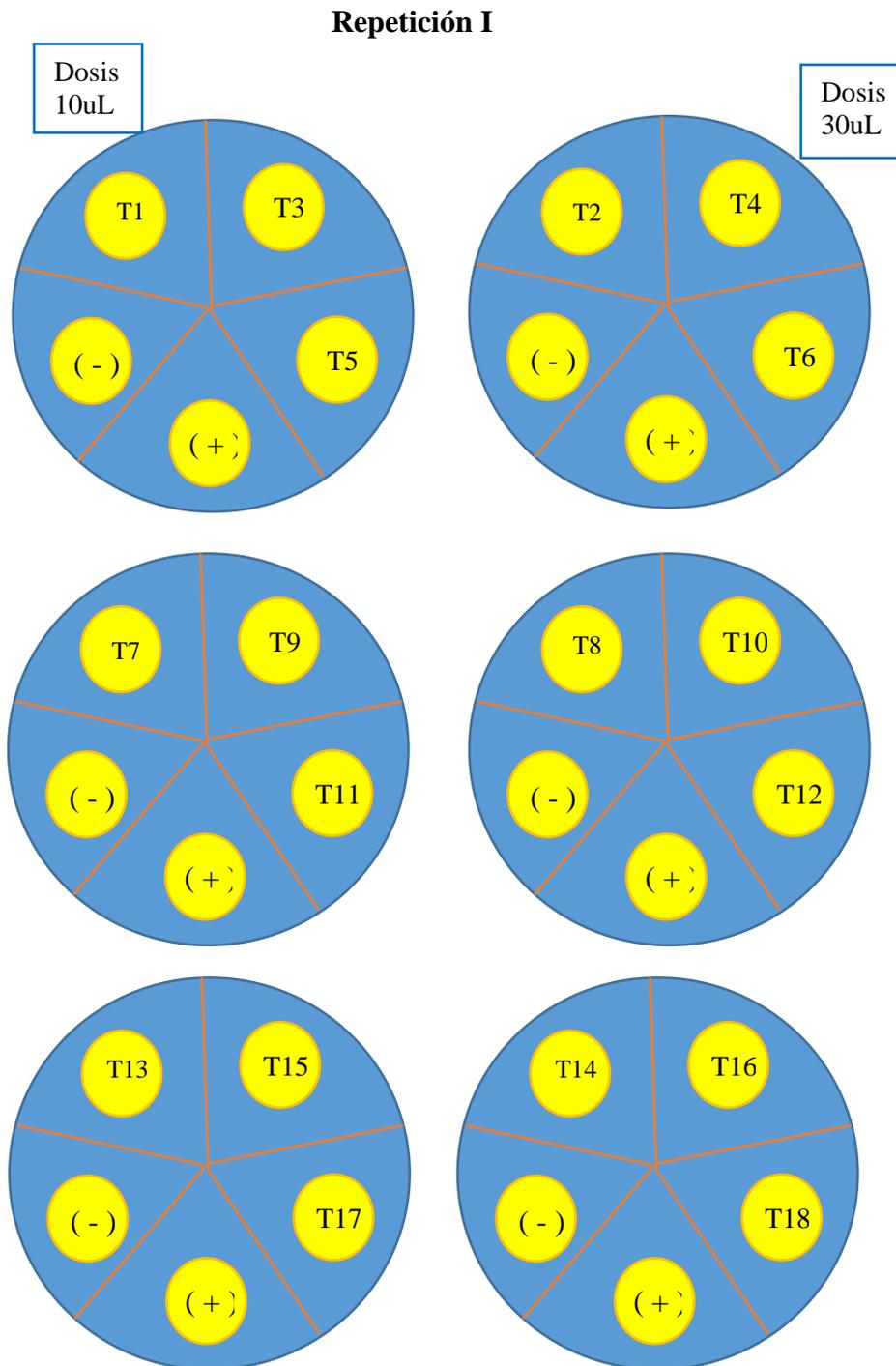
**Tabla 1**

Formación de los tratamientos por combinaciones de factores A, B, y C.

FACTORES						
P:	A: ACEITE	B:	C:	COMBINACIÓN	TRATAMIENTO	
<i>Escherichia coli</i>	ESENCIAL (AE)	CONCENTRACIÓN	DOSIS			
<i>P: Escherichia coli</i>	A 1 = <i>Piper Aduncum</i>	B1 = 100%	C1 = 10 uL	$P A_1 B_1 C_1$	T1	
			C2 = 30 uL	$P A_1 B_1 C_2$	T2	
		B2 = 90%	C1 = 10 uL	$P A_1 B_2 C_1$	T3	
			C2 = 30 uL	$P A_1 B_2 C_2$	T4	
		B3 = 70%	C1 = 10 uL	$P A_1 B_3 C_1$	T5	
			C2 = 30 uL	$P A_1 B_3 C_2$	T6	
	A2 = <i>Citrus x tangelo</i>	B1 = 100%	C1 = 10 uL	$P A_2 B_1 C_1$	T7	
			C2 = 30 uL	$P A_2 B_1 C_2$	T8	
		B2 = 90%	C1 = 10 uL	$P A_2 B_2 C_1$	T9	
			C2 = 30 uL	$P A_2 B_2 C_2$	T10	
		B3 = 70%	C1 = 10 uL	$P A_2 B_3 C_1$	T11	
			C2 = 30 uL	$P A_2 B_3 C_2$	T12	
	A3 = <i>Origanum vulgare</i>	B1 = 100%	C1 = 10 uL	$P A_1 B_1 C_1$	T13	
			C2 = 30 uL	$P A_1 B_1 C_2$	T14	
		B2 = 90%	C1 = 10 uL	$P A_1 B_2 C_1$	T15	
			C2 = 30 uL	$P A_1 B_2 C_2$	T16	
		B3 = 70%	C1 = 10 uL	$P A_1 B_3 C_1$	T17	
			C2 = 30 uL	$P A_1 B_3 C_2$	T18	
	Control (+) Ciprofloxacino 5 ug					T19
	Control (-) Tween 80					T20

Fuente: La tabla muestra cómo se formaron los tratamientos en el estudio siguiendo el Diseño Completos al Azar para la ejecución de la experimentación.

**Distribución de los tratamientos en estudio formados en la tabla 1.**



Descripción: Se representa a las placas Petri con los tratamientos en estudio formados en la tabla 1: T1 ( $P A_1 B_1 C_1$ ) está conformado por la bacteria *Escherichia coli* ( $P$ ) con aceite esencial de Piper ( $A_1$ ) a una concentración de 100% ( $B_1$ ) y dosis de 10 uL ( $C_1$ ), el T2 ( $P A_1 B_1 C_2$ ) constituido por  $P$  con aceite esencial A1 a una concentración B1 y dosis de 30 uL ( $C_2$ ) ..., Control positivo (+) y control negativo (-).

## **Población, muestra y muestreo**

### **Población**

Estuvo conformada por plantas de Matico (*Piper aduncum*), Tangelo (*Citrus x tangelo*) y Orégano (*Origanum vulgare*), seleccionadas por sanidad, color de follaje verde, hojas que no presentaron hongos y daños por insectos, se empleó el método no probabilístico. Las plantas fueron recolectadas (6 kilogramos de cada una) en el mes de marzo del 2023, en los distritos de Levanto y Magdalena respectivamente, provincias de Chachapoyas, región Amazonas.

### **Muestra**

Estuvo conformada por 5 kilogramos (kg) de hojas de cada una de las especies vegetales en estudio: Matico (*Piper aduncum*), Tangelo (*Citrus x tangelo*) y Orégano (*Origanum vulgare*). (Flores y Puentes, 2016). Obteniéndose el aceite esencial mediante destilación por arrastre de vapor.

### **Muestreo.**

En el estudio se empleó el muestreo no probabilístico por conveniencia en la selección de las plantas medicinales (Matico, tangelo y orégano) y la cepa de *Escherichia coli* (Hernández, 2014).

### **Criterios de inclusión**

- Cepa de *E. coli* con certificado de pureza del laboratorio de Investigación en suelo y aguas (LABISAG) de la de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas (UNTRM – A).
- Aceites esenciales sin contaminación.
- Cajas Petri con medio de cultivo que se encuentren en buen estado.

### **Criterios de exclusión**

- Especie vegetal en mal estado con síntomas de pudrición o manchas negras.
- Muestras de especies diferentes a las consideradas en el estudio.

### **Variables**

#### **Variables independientes**

- ✓ Aceite esencial de Matico (*Piper aduncum*), Tangelo (*Citrus x tangelo*) y Orégano (*Origanum vulgare*)

- ✓ Concentraciones de 70, 90 y 100%
- ✓ Dosis: 10 uL y 30 uL.

### **Variable dependiente**

- ✓ Inhibición del crecimiento de *Escherichia coli* (actividad antibacteriana)

### **Variable interviniente**

- ✓ Periodo de incubación (tiempo de exposición)

### **Instrumentos de recopilación de datos para la variable independiente**

#### **Identificación Taxonómica de las especies en estudio**

Las plantas utilizadas en la investigación fueron recolectadas en diferentes lugares. Matico, en el distrito de Levanto. Hojas de Tangelo en el distrito de Magdalena y Orégano en el centro poblado de Zuta, distrito de Magdalena, provincia de Chachapoyas, región Amazonas.

Se recolectaron muestras de la planta conteniendo hojas, ramas, flores y fruto para el caso del *Piper aduncum* y *Citrus x Tangelo*, la planta completa para el caso del *Origanum vulgare*. Se anotaron las características del lugar como altitud, precipitación, coordenadas geográficas entre otras y también las características de la planta como altura, frondosidad, clima, tipo de suelo, forma de tallo etc., después las muestras fueron colocadas en una prensa botánica y luego transportadas al laboratorio de dendrología siendo identificadas por el herbario KUELAP de la Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias (FICA) de la UNTRM – A.

#### **Selección y preparación del material vegetal**

En campo se recolectó 6 Kg de cada especie vegetal, se empacó en papel craft, se colocaron en bolsas plásticas por separado e inmediatamente fueron transportados al laboratorio de Genética Vegetal de la FICA. En el laboratorio se procedió a pesar, limpiar las hojas eliminando algunos residuos de tierra, después se separaron las hojas frescas y no dañadas, limpias de fragmentos oscuros o atacados por insectos u hongos, quedando un peso promedio de 5.0 kg (Flores y Puente, 2016). Seguidamente el material seleccionado se lavó con agua de caño a chorro, luego con agua destilada estéril, después se desinfectó con hipoclorito de sodio al 0.5%. A

continuación, se colocó sobre papel por 24 horas a temperatura ambiente y bajo sombra. Finalmente se llevó a estufa a 37°C por 24 horas para su secado.

### **Preparación del Aceite esencial de cada especie vegetal**

Los aceites esenciales fueron extraídos a partir de las hojas, empleando un equipo de destilación de arrastre con vapor de agua el cual consta de tres componentes: la cámara de agua, la cámara de hojas y el sistema de enfriamiento. En el que se colocaron 5 kg de hojas y 10 litros de agua bidestilada en sus respectivas cámaras, luego se procedió a hervir mediante una fuente de calor (cocina a gas); el vapor de agua con los componentes volátiles pasó a través del sistema de enfriamiento hasta un colector (matraz) donde se separó el aceite del agua por diferencia de densidades. Luego se procedió a diluirlos con Tween 80 hasta obtener las concentraciones de 70, 90 y 100%. Finalmente se obtuvo las dosis de 10 y 30 uL y se almacenaron en frascos de vidrio color ámbar a 4 °C hasta su uso. De la misma forma se procedió para cada una de las especies vegetales.

### **Instrumentos de recopilación de datos para la variable dependiente.**

#### **Actividad antibacteriana**

La bacteria *Escherichia coli* fue donada por el laboratorio de Investigación en suelo y aguas (LABISAG) de la UNTRM – A.

#### **Reactivación de la cepa**

Se empleó Agar Müller Hinton que es un medio de cultivo no selectivo y no diferencial, donde se sembró la cepa de *E. coli* mediante la técnica de agotamiento; la cual fue aislada luego de 24 h de incubación a 37 °C para la obtención del cultivo joven.

#### **Preparación del inóculo (Estandarización)**

Con un asa bacteriológica redonda se tomó de 2 – 3 colonias de *E. coli* activadas y se colocaron en un tubo de ensayo con 5 ml de solución salina al 0.9%, se colocó en un vortex y se agitó hasta alcanzar el valor de turbidez de 0.5 ( $1 \times 10^8$  UFC/mL) fijada por la escala de McFarland.

## **Prueba de sensibilidad**

Se empleó la técnica de Kirby Bauer. Sugerido por el Comité nacional de estándares de laboratorio clínico. Para ello se cortó discos de papel filtro Whatman N° 4 de 6 mm de diámetro con un perforador y se esterilizaron, a los cuales se aplicaron los AE de las tres especies, a las concentraciones de 70%, 90% y 100% (las diluciones se realizaron con Tween 80) a dosis de 10 uL y 30 uL de cada tipo de AE, con una micropipeta. Los discos para el control negativo se les impregnó con Tween 80. Luego todos los discos se secaron a estufa a 30 °C. Para el control positivo se utilizó discos de sensibilidad conteniendo 5 ug de ciprofloxacino.

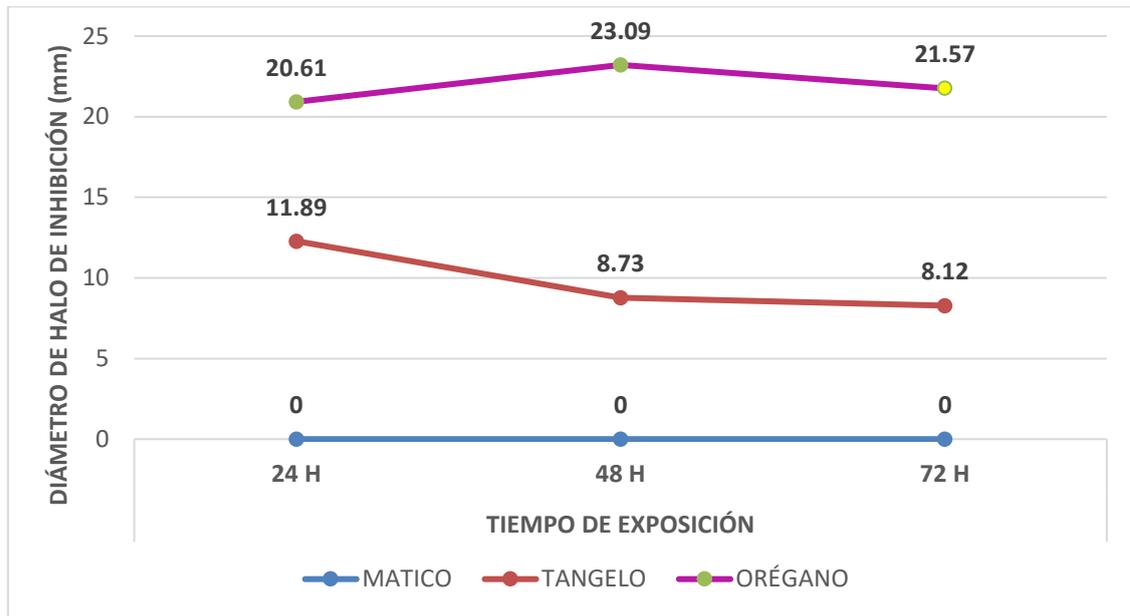
En las placas Petri con Agar Müller Hinton se sembró la bacteria activada y estandarizada, mediante la técnica de siembra masiva, se dejó secar por seis minutos y se procedió a colocar 5 discos por placa (3 discos con las distintas concentraciones y dos correspondientes al control positivo y negativo) distribuidos uniformemente y presionándolos con una pinza para que tengan buen contacto con el medio de cultivo. Finalmente, las placas se incubaron en posición invertida en una estufa por 24 h a 37 °C.

Los diámetros de los halos de inhibición se midieron a las 24, 48 y 72 h. y para determinar la sensibilidad se empleó la escala de Duraffourd.

## **Análisis de datos**

Los valores de los datos obtenidos a partir de la investigación fueron procesados con los programas estadísticos IBM SPSS Statistics 23 e INFOSTAT 2017. {0.683 (P>0.05) y la homogeneidad con la prueba de Levene, el resultado fue 0.063 (P>0.05). Luego se realizó un análisis de varianza al 5% de significancia y la prueba honesta de Tukey al 95% de confianza. El grado de sensibilidad se interpretó según criterio de Duraffourd.

### III. RESULTADOS



**Figura 2**

*Comparación de medias de diámetro de halos (mm) alcanzados por los aceites esenciales de matico, tangelo y orégano en la inhibición del crecimiento de *E. coli* a 24, 48 y 72 horas de exposición.*

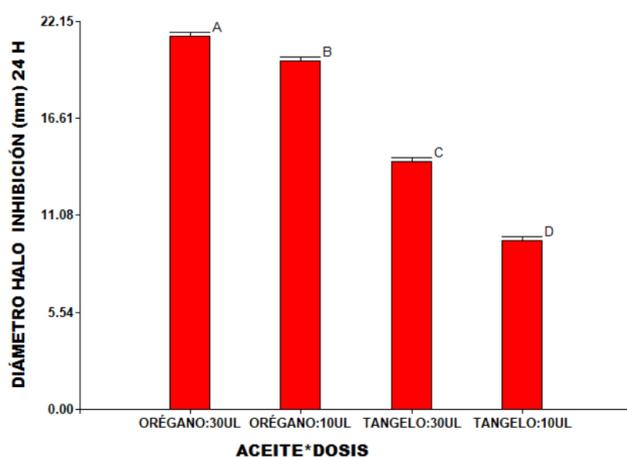
La figura 2, muestra que el aceite esencial de orégano presentó los valores promedios más altos, el aceite de tangelo los valores más bajos, y el aceite de matico no tuvo resultados positivos en la inhibición de *E. coli* bajo ningún periodo de tiempo en estudio (24, 48 y 72 h). Asimismo, el aceite esencial de tangelo, presentó mayor actividad durante las 24 h., y el aceite de orégano a las 48 h de exposición; además, presenta mayor actividad antibacteriana en todos los tiempos de exposición en comparación con el aceite de tangelo. También se observa que la actividad antibacteriana de los AE decrece con el tiempo de exposición.

**Tabla 2**

*Resumen del Análisis de varianza (ANOVA) de la variable inhibición del crecimiento de Escherichia coli frente a los aceites esenciales de Tangelo y Orégano a 24, 48 y 72 horas de exposición, año 2023.*

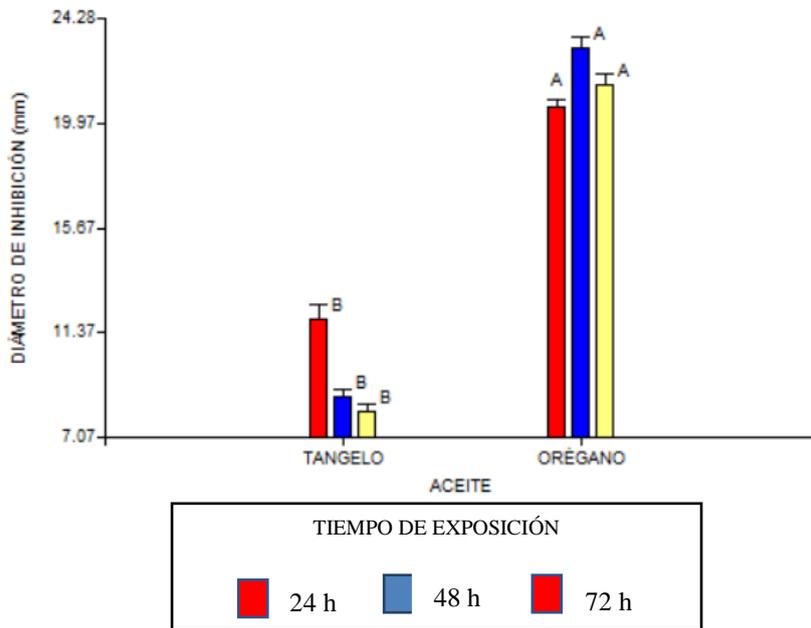
F. V.	GL	24 h		48 h		72 h	
		F	P	F	P	F	P
Aceite	1	1533.85	<.0001	2663.24	<.0001	2425.01	<.0001
Concentración	2	28.98	<.0001	36.83	<.0001	27.91	<.0001
Dosis	1	46.04	<.0001	13.78	<.0001	49.57	<.0001
Aceite x Concentración	2	0.74	0.49	2.53	0.101	0.14	0.871
Aceite x Dosis	1	176.12	<.0001	0.64	0.433	4.65	0.041
Concentración x Dosis	2	1.76	0.194	0.52	0.603	1.40	0.266
Aceite x Concentración x Dosis	2	0.96	0.39	0.55	0.581	0.69	0.51
Error	24						
Total	36						
Total corregido	35						
CV		4.11%		5.25%		5.50%	

La tabla 2, muestra diferencias estadísticas altamente significativas ( $P < 0.05$ ) en aceites x dosis (a 24 h), y para aceite, concentración y dosis en los tres periodos de exposición en estudio. Los coeficientes de variación presentan valor óptimo para este tipo de investigación.

**Figura 3**

*Comparación de medias de inhibición del crecimiento de E. coli a 24 horas de exposición para las interacciones según prueba de Tukey al 95% de confianza.*

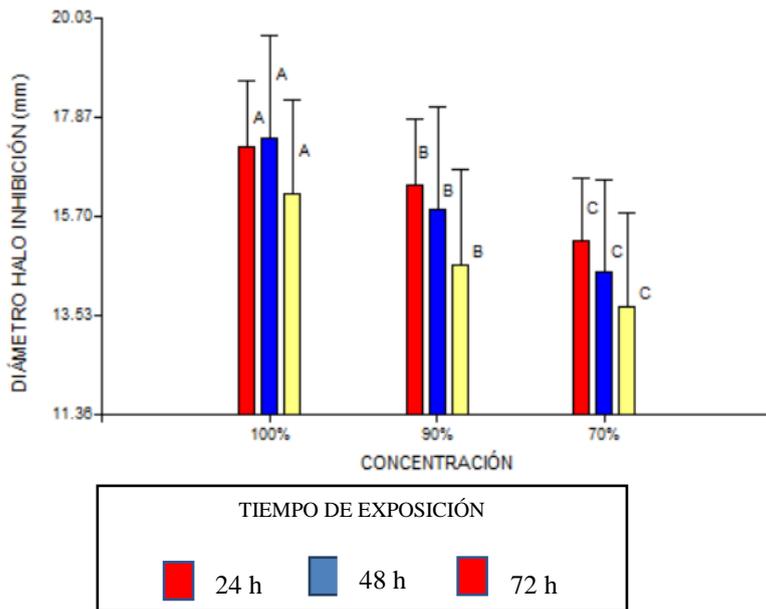
En la figura 3, se evidencia que existen diferencias estadísticas altamente significativas (Tukey  $p < 0.05$ ), donde los grupos A y B correspondientes a las interacciones aceite de orégano con dosis de 30 uL y 10 uL presentan los mejores valores que el grupo D con respecto a la inhibición de *Escherichia coli*.



**Figura 4**

*Comparación de medias de inhibición del crecimiento de E. coli a 24, 48 y 72 horas de exposición para aceites esenciales según prueba de Tukey al 95% de confianza.*

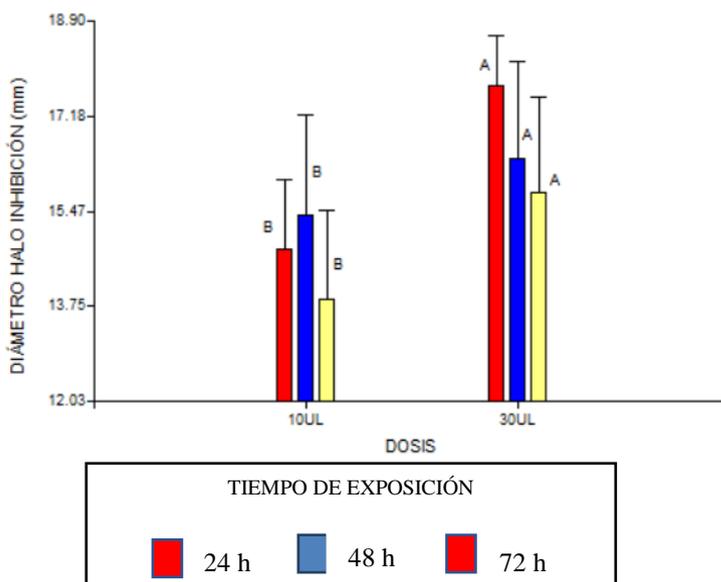
En la figura 4 se evidencia que, en los tres periodos de exposición, entre los aceites de Orégano y tangelo existe diferencias altamente significativas (Tukey  $p < 0.05$ ). El grupo A (aceite de orégano) alcanzó los mejores valores que el grupo B en la inhibición de *Escherichia coli*.



**Figura 5**

*Comparación de medias de inhibición del crecimiento de E. coli a 24, 48 y 72 horas de exposición para concentraciones según prueba de Tukey al 95% de confianza.*

En la figura 5, se evidencia que existen diferencias altamente significativas (Tukey  $p < 0.05$ ) para las tres concentraciones (70, 90 y 100%). El grupo A (concentración al 100%) logró los mejores valores que el grupo C (concentración 70%) en la inhibición del crecimiento de *E. coli*.



**Figura 6**

*Comparación de medias de inhibición del crecimiento de E. coli a 24, 48 y 72 horas de exposición para dosis según prueba de Tukey al 95% de confianza.*

En la figura 6, se evidencia que existen diferencias altamente significativas (Tukey  $p < 0.05$ ) para dosis. El grupo A (dosis 30uL) alcanzó los valores más altos que el grupo B (dosis 10uL) respecto a la inhibición del crecimiento de *E. coli*.

**Tabla 3**

*Medias de la variable diámetro de halo de inhibición del crecimiento de Escherichia coli a 24, 48 y 72 horas de exposición, año 2023.*

Aceite esencial	Concentraciones	Dosis	Tiempo de exposición		
			24 h	48 h	72 h
Medias de halo (mm)					
Orégano	100%	10uL	<b>20.800</b>	<b>24.400</b>	<b>22.067</b>
		30uL	<b>22.233</b>	<b>25.267</b>	<b>23.733</b>
	70%	10uL	18.467	<b>20.933</b>	<b>19.200</b>
		30uL	<b>20.333</b>	<b>21.500</b>	<b>21.533</b>
	90%	10uL	<b>20.400</b>	<b>22.733</b>	<b>19.667</b>
		30uL	<b>21.433</b>	<b>23.733</b>	<b>23.200</b>
Tangelo	100%	10uL	10.267	8.967	8.933
		30uL	15.600	10.967	10.033
	70%	10uL	9.033	7.200	6.367
		30uL	12.800	8.267	7.800
	90%	10uL	9.667	8.133	7.067
		30uL	13.967	8.833	8.533

En la tabla 3, se evidencia que los mayores valores fueron alcanzados por las interacciones del aceite de orégano a concentraciones de 90 y 100% con las dosis de 30 uL y 10 uL en los tres tiempos de exposición, respecto al diámetro de halo de inhibición del crecimiento de *Escherichia coli*.

**Tabla 4**

*Sensibilidad de E. coli frente a los tratamientos en estudio a 24 h., de exposición según escala de Duraffourd, año 2023.*

Tratamientos	Diámetro de halos de inhibición a 24 h Medias	Escala de sensibilidad de Duraffourd			
		Sensibilidad Nula (-): < 8 mm	Sensible (+): > 8 – ≤ 14 mm	Muy sensible (++) : > 14 - 20 mm	Sumamente Sensible (+++): >20 mm
<i>Aceite esencial Orégano</i>	20.611				+++
<i>Aceite esencial Tangelo</i>	11.889		+		
<i>Concentración 100%</i>	17.225			++	
<i>Concentración 90%</i>	16.367			++	
<i>Concentración 70%</i>	15.158			++	
<i>Dosis 10uL</i>	14.772			++	
<i>Dosis 30uL</i>	17.728			++	
<b>T1: (E. coli*<i>Aceite esencial Tangelo</i>*100%* Dosis 10uL)</b>	10.267		+		
<b>T2: (E. coli*<i>Aceite esencial Tangelo</i>*100%* Dosis 30uL)</b>	15.600			++	
<b>T3: (E. coli*<i>Aceite esencial Tangelo</i>*90%* Dosis 10uL)</b>	9.667		+		
<b>T4: (E. coli*<i>Aceite esencial Tangelo</i>*90%* Dosis 30uL)</b>	13.967			++	
<b>T5: (E. coli*<i>Aceite esencial Tangelo</i>*70%* Dosis 10uL)</b>	9.033		+		
<b>T6: (E. coli*<i>Aceite esencial Tangelo</i>*70%* Dosis 30uL)</b>	12.800		+		
<b>T7: (E. coli*<i>Aceite esencial Orégano</i>*100%* Dosis 10uL)</b>	20.800				+++
<b>T8: (E. coli*<i>Aceite esencial Orégano</i>*100%* Dosis 30uL)</b>	22.233				+++
<b>T9: (E. coli*<i>Aceite esencial Orégano</i>*90%* Dosis 10uL)</b>	20.400				+++
<b>T10: (E. coli*<i>Aceite esencial Orégano</i>*90%* Dosis 30uL)</b>	21.433				+++
<b>T11: (E. coli*<i>Aceite esencial Orégano</i>*70%* Dosis 10uL)</b>	18.467			++	
<b>T12: (E. coli*<i>Aceite esencial Orégano</i>*70%* Dosis 30uL)</b>	20.333				+++

La tabla 4, muestra que *Escherichia coli* fue sensible (+) a 67% de los tratamientos con aceite de tangelo y muy sensible (++) a 33%. Y en relación al aceite de orégano resultó sumamente sensible (+++) al 83.3% de los tratamientos y muy sensible (++) al 16.7%. Asimismo, reveló ser muy sensible (++) a las tres concentraciones y a las dos dosis en estudio.

**Tabla 5**

*Sensibilidad de E. coli frente a los tratamientos en estudio a 48 h., de exposición según escala de Duraffourd, año 2023.*

Tratamientos	Diámetro de halos de inhibición a 48 h		Escala de sensibilidad de Duraffourd		
	Medias	Sensibilidad Nula (-): < 8 mm	Sensible (+): > 8 – ≤ 14 mm	Muy sensible (++) : > 14 – 20 mm	Sumamente Sensible (+++) : >20 mm
<i>Aceite esencial Orégano</i>	23.094				+++
<i>Aceite esencial Tangelo</i>	8.728		+		
<i>Concentración 100%</i>	17.400			++	
<i>Concentración 90%</i>	15.858			++	
<i>Concentración 70%</i>	14.475			++	
<i>Dosis 10uL</i>	15.394			++	
<i>Dosis 30uL</i>	16.428			++	
<b>T1: (E. coli*<i>Aceite esencial Tangelo*100%* Dosis 10uL</i>)</b>	8.967		+		
<b>T2: (E. coli*<i>Aceite esencial Tangelo*100%* Dosis 30uL</i>)</b>	10.967		+		
<b>T3: (E. coli*<i>Aceite esencial Tangelo*90%* Dosis 10uL</i>)</b>	8.133		+		
<b>T4: (E. coli*<i>Aceite esencial Tangelo*90%* Dosis 30uL</i>)</b>	8.833		+		
<b>T5: (E. coli*<i>Aceite esencial Tangelo*70%* Dosis 10uL</i>)</b>	7.200		+		
<b>T6: (E. coli*<i>Aceite esencial Tangelo*70%* Dosis 30uL</i>)</b>	8.267		+		
<b>T7: (E. coli*<i>Aceite esencial Orégano*100%* Dosis 10uL</i>)</b>	24.400				+++
<b>T8: (E. coli*<i>Aceite esencial Orégano*100%* Dosis 30uL</i>)</b>	25.267				+++
<b>T9: (E. coli*<i>Aceite esencial Orégano*90%* Dosis 10uL</i>)</b>	22.733				+++
<b>T10: (E. coli*<i>Aceite esencial Orégano*90%* Dosis 30uL</i>)</b>	23.733				+++
<b>T11: (E. coli*<i>Aceite esencial Orégano*70%* Dosis 10uL</i>)</b>	20.933				+++
<b>T12: (E. coli*<i>Aceite esencial Orégano*70%* Dosis 30uL</i>)</b>	21.500				+++

La tabla 5, muestra que *Escherichia coli* fue sensible (+) al 100% de los tratamientos con aceite de tangelo. Y sumamente sensible (+++) al 100% de los tratamientos con aceite de orégano. También, resultó ser muy sensible (++) a las tres concentraciones y a las dos dosis en estudio.

**Tabla 6**

*Sensibilidad de E. coli frente a los tratamientos en estudio a 72 h., de exposición según escala de Duraffourd, año 2023.*

Tratamientos	Diámetro de halos de inhibición a 72 h Medias	Escala de sensibilidad de Duraffourd			
		Sensibilidad Nula (-): < 8 mm	Sensible (+): > 8 – ≤ 14 mm	Muy sensible (++) : > 14 – 20 mm	Sumamente Sensible (+++) : >20 mm
<i>Aceite esencial Orégano</i>	21.567				+++
<i>Aceite esencial Tangelo</i>	8.122		+		
<i>Concentración 100%</i>	16.192			++	
<i>Concentración 90%</i>	14.617			++	
<i>Concentración 70%</i>	13.725		+		
<i>Dosis 10uL</i>	13.883		+		
<i>Dosis 30uL</i>	15.806			++	
<b>T1: (E. coli* Aceite esencial Tangelo*100%* Dosis 10uL)</b>	8.933		+		
<b>T2: (E. coli* Aceite esencial Tangelo*100%* Dosis 30uL)</b>	10.033		+		
<b>T3: (E. coli* Aceite esencial Tangelo*90%* Dosis 10uL)</b>	7.067	-			
<b>T4: (E. coli* Aceite esencial Tangelo*90%* Dosis 30uL)</b>	8.533		+		
<b>T5: (E. coli* Aceite esencial Tangelo*70%* Dosis 10uL)</b>	6.367	-			
<b>T6: (E. coli* Aceite esencial Tangelo*70%* Dosis 30uL)</b>	7.800	-			
<b>T7: (E. coli* Aceite esencial Orégano*100%* Dosis 10uL)</b>	22.067				+++
<b>T8: (E. coli* Aceite esencial Orégano*100%* Dosis 30uL)</b>	23.733				+++
<b>T9: (E. coli* Aceite esencial Orégano*90%* Dosis 10uL)</b>	19.667			++	
<b>T10: (E. coli* Aceite esencial Orégano*90%* Dosis 30uL)</b>	23.200				+++
<b>T11: (E. coli* Aceite esencial Orégano*70%* Dosis 10uL)</b>	19.200			++	
<b>T12: (E. coli* Aceite esencial Orégano*70%* Dosis 30uL)</b>	21.533				+++

La tabla 6, muestra que *Escherichia coli* presentó sensibilidad nula (-) a 50% de los tratamientos con aceite de tangelo y fue sensible (+) al otro 50%. En relación al aceite de orégano resultó sumamente sensible (+++) al 67 % de los tratamientos y muy sensible (++) al 33%. Además, reveló ser muy sensible (++) a las concentraciones de 90 y 100% y a la dosis de 30 uL.

#### IV. DISCUSIÓN

Tomando en cuenta los tres aceites esenciales (*Piper aduncum*, *Citrus x tangelo* y *Origanum vulgare*), así como los controles positivos (Ciprofloxacina) y negativo (Tween 80), en la variable inhibición del crecimiento de *E. coli*, la tendencia del efecto muestra que el aceite esencial de matico no tiene efecto inhibitor en ninguno de los tiempos en estudio.

Los resultados concuerdan con Gálvez (2018), quien al evaluar el AE de Piper bajo tres dosis (2.5uL, 5uL y 10uL), determinó que ninguna dosis presentó efecto inhibitor frente a *E. coli*. De igual manera, Cabrejos y Vásquez (2021) afirman, que los extractos (100, 75 y 50%) de *Piper aduncum* no presentaron acción bactericida contra *E. coli*; Otros investigadores reportan los mismos resultados (Flores y Puente 2016; Monzote et al., 2017; Lazo y Guayas, 2020; da Silva et al., 2020), datos que concuerdan con el estudio, donde se observó además que el matico no tuvo efecto inhibitorio en ninguno de los periodos de exposición; pero difieren a los registrados por Aguilar y Zavaleta (2019) quienes refieren que el AE de *Piper aduncum* tiene efecto inhibitorio sobre *E. coli*.

La autora infiere que podría explicarse debido a que el contenido y concentración de los metabolitos secundarios con actividad biológica se ven afectados por el lugar donde se cultivó la planta, ya que el ambiente y el clima, así como la fertilización influyen en el contenido del principio activo necesario para expresar un efecto positivo (Queiroz et al., 2016; Li et al., 2020).

El AE de orégano presentó valores de 23.094 mm para la frecuencia de 48 h, y el tangelo un valor de 11.889 mm de diámetro de halo a las 24 h. Esto concuerda con Li et al. (2022) quienes reportan valores de diámetro de halo de 11.33 mm para el aceite de citrus. Además, Lizcano et al. (2021) determinaron que los mayores valores de halo fueron alcanzados por el orégano con 20.64 mm en comparación con los Citrus cuyos valores fueron de 8 y 7 mm respectivamente. Se deduce que posiblemente la discrepancia en los valores obtenidos por los AE en el estudio sea debido a que las especies vegetales fueron colectadas en diferentes condiciones ambientales y como la composición de los AE está afectada por las condiciones climáticas, y genéticas de las plantas (Torrenegra et al., 2017) podría haber influido en los resultados (De Rossi et al., 2023).

En el estudio, las concentraciones de 90 y 100% alcanzaron valores de 15.858 y 17.400

mm respectivamente para la frecuencia de 48 horas; estos promedios son similares a los alcanzados por Abud et al. (2021) quienes obtuvieron medias de 15.13 y 12.10 mm de halo para las mismas concentraciones. Además, entre las concentraciones y el tamaño de diámetro de inhibición existe una relación proporcionalmente directa como se puede apreciar en los promedios mencionados, así a mayor concentración mayor tamaño de halo. Los resultados son corroborados por Zavaleta et al, (2019) y por Benites (2017) quienes afirman que mientras aumentaba la concentración (50, 75 y 100%) también aumentaba el diámetro del halo.

De otro lado, los resultados difieren a los reportados por Luque & Márquez (2019) quienes obtuvieron una media de 7.9 mm para una concentración de 75%. Se infiere que los metabolitos secundarios son sintetizados y almacenados en órganos especializados de la planta en una fase de crecimiento y bajo condiciones ambientales determinadas. Otro factor importante que induce la síntesis es la fertilización (Wink, 2018; Camacho et al., 2020) como el orégano y el tangelo han crecido en condiciones de riego y fertilización, se puede suponer que estas condiciones favorables influyeron en los promedios altos encontrados en el estudio. Al respecto diversas investigaciones coinciden que el factor más importante además de la especie es la fertilización de planta medicinal (Vatansever *et al.*, 2017; Saldaña et al., 2019).

En cuanto a las dosis, los valores más altos fueron registrados a dosis de 30uL con 17.728; 16.428 y 15.806 mm de halo para las frecuencias de 24, 48 y 72 horas; estos datos concuerdan con Al-Mnaser (2019) quien menciona que el efecto bactericida que mostró el aceite de orégano depende fuertemente de la dosis. Así mismo asevera que luego de las 48 horas de exposición de *E. coli* a estos compuestos la sensibilidad disminuye, lo cual se mostró en el aumento del número total de *E. coli* viables. Deduciéndose que la eficacia en la inhibición de *E. coli* podría deberse a la mayor solubilidad que presentan los metabolitos secundarios; y que la actividad bactericida de la planta depende directamente de su concentración (Vázquez et al., 2017).

En el estudio el AE de orégano alcanzó los mayores promedios en comparación con el tangelo a concentraciones de 90, 100% y a dosis de 30uL en los tres tiempos de exposición. Esto puede ser explicado debido a que los principios activos de cada uno de los aceites esenciales son distintos (Azimzadeh et al., 2023; Li et al., 2022) a quienes se les confiere sus propiedades antibacterianas frente a *E. coli* (Zairi et al., 2019; Denkova

et al, 2020). Además, la composición cambia por el ambiente y el clima (Queiroz et al., 2016), así como la síntesis y actividad antimicrobiana (Xue, 2023). De igual modo, la proporción de cada componente es distinta en cada especie e incluso en cada una de las partes de una misma planta (Lin et al., 2023).

Con respecto a la sensibilidad, a las 24 h de exposición para el AE de tangelo el 67% de los tratamientos fueron sensibles y 33% muy sensibles; para el aceite de orégano a 48 h de exposición el 100% de los tratamientos fueron sumamente sensibles. Asimismo, los AE empiezan a perder efectividad con el tiempo haciéndose notorio en los tratamientos con tangelo, es así que a las 72 h el 50% de los tratamientos con AE de tangelo presentan sensibilidad nula. Esto puede deberse a que AE de los cítricos tienen limitada actividad en la inhibición del crecimiento bacteriano (Jiménez et al., 2022).

Como se puede apreciar, la investigación contribuye al conocimiento de las propiedades medicinales de las especies en estudio y ofrece alternativas al tratamiento de infecciones provocadas por *E. coli*. De igual manera aporta a la etnobotánica al dar a conocer el uso de manera científica, pudiendo ser aprovechada por parte de los pobladores de las zonas rurales en beneficio de la población más vulnerable.

Asimismo, al quedar demostrado el efecto antibacteriano de los aceites esenciales frente a *E. coli*, se abren grandes posibilidades en su aplicación, éstos podrían ser utilizados como insumo en la fabricación de biopelículas para empaque y conservaciones de productos alimenticios y mantenerlos inocuos de bacterias no solo de *E. coli* (León et al., 2022), Otra aplicación importante, sería la producción de micro encapsulados conteniendo aceite esencial de orégano y tangelo (Chamba y Quispe, 2021), para combatir problemas de infecciones producidas por *E. coli* y la *salmonella*.

## V. CONCLUSIONES

- Los aceites esenciales de tangelo y orégano inhibieron el crecimiento de *Escherichia coli*; siendo el *Origanum vulgare* el que presentó los mejores valores (20.266, 23.093 y 21.567 mm) en diámetro de inhibición para las frecuencias de 24, 48 y 72 h respectivamente. Mientras que, el aceite de *Piper aduncum* no tuvo efecto alguno en la inhibición del crecimiento de *Escherichia coli*.
- Las concentraciones al 90% y 100% (16.367 y 17.225 mm en 24 h), la dosis de 30uL (17.728 mm en 24 h) evidencian los valores más altos en la inhibición del crecimiento de *Escherichia coli* en los tres periodos de evaluación.
- La bacteria *Escherichia coli*, fue sumamente sensible al aceite esencial de orégano y sensible al tangelo. En relación a las concentraciones y dosis, muy sensible. El mejor tiempo de exposición para el aceite esencial de tangelo fue 24 horas con más del 67% de tratamientos sensibles (+), y en el aceite de orégano fue a 48 h con 100% de tratamientos sumamente sensibles (+++).

## **VI. RECOMENDACIONES**

A futuros investigadores

- En trabajos posteriores estudiar parámetros como periodo de cosecha, edad y fertilización de la planta y con otras bacterias de importancia médica resistentes a los antibióticos además de *E. coli*. Que permita entender la influencia de la edad y fertilización de las plantas en relación al efecto antibacteriano que puedan ejercer.
- Continuar con los estudios de laboratorio empleando extractos de distintas plantas con propiedades antibacterianas y combinándolas con sustancias químicas que permitan una acción sinérgica en la inhibición del crecimiento de *E. coli*.

## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abud, M., Gutiérrez, E., Guevara, I. & Barillas, R. (2021). Acción bactericida del aceite esencial de semillas *Citrus aurantium*, *C. sinensis*, *C. reticulata*. *Revista Científica De FAREM-Estelí*, 10(40), 118–134. <https://doi.org/10.5377/farem.v10i40.13049>
- Acevedo, D., Navarro, M., & Monroy, L. (2013). Composición Química del Aceite Esencial de Hojas de Orégano (*Origanum vulgare*). *Información Tecnológica*, 24(4), 43–47. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642013000400005>
- Aguilar, L. y Zavaleta L, (2019). *Efecto del aceite esencial de hojas de Piper auduncum “Matico” sobre el crecimiento e Escherichia coli* [Tesis de pregrado Universidad de Trujillo]. <https://dspace.unitru.edu.pe/items/b0bee941-e3e1-4b1f-8e5c-a425e323dd2e>
- Al-Mnaser, A. (2019). *Phytochemicals (Carvacrol and oregano extract) as possible alternatives to antibiotics in poultry feed*. [PhD thesis, University of Reading]. Central Archive University of Reading]. <https://centaur.reading.ac.uk/85256/>
- Alvarez, M. V., Ortega-Ramirez, L. A., Silva-Espinoza, B. A., Gonzalez-Aguilar, G. A., & Ayala-Zavala, J. F. (2019). Antimicrobial, antioxidant, and sensorial impacts of oregano and rosemary essential oils over broccoli florets. *Journal of Food Processing and Preservation*, 43(3), e13889. <https://doi.org/10.1111/jfpp.13889>
- Ambrosio, C., Contreras, C., & Da Gloria, E. (2020). In vitro mechanism of antibacterial action of a citrus essential oil on an enterotoxigenic *Escherichia coli* and *Lactobacillus rhamnosus*. *Journal of applied microbiology*, 129(3), 541–553. <https://doi.org/10.1111/jam.14660>
- Aranda-Ventura J. (2016). Infección del tracto urinario por *Escherichia coli* Resistente a antibióticos tratada con *Vaccinium macrocarpon* (arándano rojo): reporte de caso. *Revista Peruana de Medicina Integrativa*, 1(2),50-53. <https://repositorio.essalud.gob.pe/handle/20.500.12959/3981>
- Azimzadeh, Z., Hassani, A., MandouLakani, B. A., Sepehr, E., & Morshedloo, M. R. (2023). Intraspecific divergence in essential oil content, composition and genes expression patterns of monoterpene synthesis in *Origanum*

- vulgare subsp. vulgare and subsp. gracile under salinity stress. *BMC plant biology*, 23(380), 1-14. <https://doi.org/10.1186/s12870-023-04387-5>
- Benavides, J. A., Shiva, C., Virhuez, M., Tello, C., Appलगren, A., Vendrell, J., Solassol, J., Godreuil, S., & Streicker, D. G. (2018). Extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in common vampire bats *Desmodus rotundus* and livestock in Peru. *Zoonoses and public health*, 65(4), 454–458. <https://doi.org/10.1111/zph.12456>
- Benites Rodríguez, A. N. (2017). *Efecto bactericida in vitro de Piper aduncum sobre streptococcus pyogenes* [Tesis de pregrado, Universidad Nacional de Trujillo]. Repositorio Institucional - Universidad Nacional de Trujillo.
- Bonkat G., Pickard R., Bartoletti R., Bruyère F., Cai T., Geerlings SE., et al. Directrices
- Cabrejos, S. y Vásquez, A. (2021). *Actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de Mentha spicata L. “hierba buena” y Piper aduncum L. “matico” en cepas clínicas de Staphylococcus aureus* [Tesis de pregrado, Universidad María Auxiliadora]. Repositorio Institucional - Universidad María Auxiliadora.
- Camacho, M., Ramos-, D., Ávila, N., Sánchez, E. & López, S. (2020). Las defensas físico-químicas de las plantas y su efecto en la alimentación de los rumiantes. *Terra Latinoamericana*, 38(2), 443-453. Epub 20 de junio de 2020. <https://doi.org/10.28940/terra.v38i2.629>
- Caycedo Lozano, Liliana, Ramírez, Lucía Constanza Corrales, & Suárez, Diana Marcela Trujillo. (2021). Las bacterias, su nutrición y crecimiento: una mirada desde la química. *Nueva*, 19 (36), 49-94. Publicación electrónica del 17 de enero de 2021. <https://doi.org/10.22490/24629448.5293>
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). (2021). <https://www.cdc.gov/ecoli/outbreaks.html>. (consultado el 11/12/2021).
- Chong, Y., Shimoda, S., & Shimono, N. (2018). Current epidemiology, genetic evolution and clinical impact of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. *Infection, genetics and evolution: journal of molecular*

*epidemiology and evolutionary genetics in infectious diseases*, 61, 185–188.  
<https://doi.org/10.1016/j.meegid.2018.04.005>

Crislene Vaz Perigo, Roseli B. Torres, Luís C. Bernacci, Elsie F. Guimarães, Lenita L. Haber, Roselaine Facanali, Maria A.R. Vieira, Vera Quecini, Márcia. Ortiz M. Marques. (2016). The chemical composition and antibacterial activity of eleven Piper species from distinct rainforest areas in Southeastern Brazil. *Industrial Crops and Products*. 94, 528-539, ISSN 0926-6690,  
<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.09.028>

Croxen, M. A., Law, R. J., Scholz, R., Keeney, K. M., Wlodarska, M., & Finlay, B. B. (2013). Recent advances in understanding enteric pathogenic *Escherichia coli*. *Clinical microbiology reviews*, 26(4), 822–880.  
<https://doi.org/10.1128/CMR.00022-13>

da Silva, A. C. A., Matias, E. F. F., Rocha, J. E., Araújo, A. C. J., de Freitas, T. S., Campina, F. F., Costa, M. D. S., Silva, L. E., Amaral, W. D., Maia, B. H. L. N. S., Ferriani, A. P., Bezerra, C. F., Iriti, M., & Coutinho, H. D. M. (2020). Gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS) characterization and evaluation of antibacterial bioactivities of the essential oils from *Piper arboreum* Aubl., *Piper aduncum* L. e *Piper gaudichaudianum* Kunth. *Zeitschrift fur Naturforschung. C, Journal of biosciences*, 76(1-2), 35–42.  
<https://doi.org/10.1515/znc-2020-0045>

De Rossi, S., Di Marco, G., D'Agostino, A., Braglia, R., Mecca, G., Canini, A., & Gismondi, A. (2023). Influence of environmental conditions on the production of nutraceuticals in Italian edible plant landraces. *Food research international (Ottawa, Ont.)*, 165, 112483. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.112483>

Denisuik, A. J., Lagacé-Wiens, P. R., Pitout, J. D., MuLvey, M. R., Simner, P. J., Taylor, F., Karlowsky, J. A., Hoban, D. J., Adam, H. J., Zhanel, G. G., & Canadian Antimicrobial Resistance Alliance. (2013). MolecuLar epidemiology of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-, AmpC  $\beta$ -lactamase- and carbapenemase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolated from Canadian hospitals over a 5year period: CANWARD 2007-11. *The Journal of antimicrobial*

chemotherapy, 68 Suppl 1, i57–i65. <https://doi.org/10.1093/jac/dkt027> en PubMed PMID 24273877.

Denkova-Kostova, R., Teneva, D., Tomova, T., Goranov, B., Denkova, Z., Shopska, V., Slavchev, A., & Hristova-Ivanova, Y. (2020). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of essential oils from tangerine (*Citrus reticulata* L.), grapefruit (*Citrus paradisi* L.), lemon (*Citrus lemon* L.) and cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum* Blume). *Zeitschrift fur Naturforschung. C, Journal of biosciences*, 76(5-6), 175–185. <https://doi.org/10.1515/znc-2020-0126>

Estrada Campmany, Maria. (2006). Dosificación y márgenes terapéuticos. *Offarm*. 25 (5), 76-80, SN - 0212047X. <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-dosificacion-margenes-terapeuticos-13088618>

Flokas, M.E., Alevizakos, M., Shehadeh, F., Andreatos, N., Mylonakis, E. (2017). Extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing Enterobacteriaceae colonisation in long-term care facilities: a systematic review and meta-analysis. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 50(5), 649–656. doi:10.1016/j.ijantimicag.2017.08.003

Flores y Puente. (2016). *Actividad antibacteriana del aceite esencial de Piper aduncum “matico” sobre Escherichia coli* [Tesis pregrado Universidad Peruana Los Andes]. Repositorio Institucional- Universidad Peruana Los Andes.

Gálvez, C. (2018). *Evaluación del efecto antimicrobiano de Piper cumbricola Trel sobre microorganismos patógenos de relevancia clínica*. [Tesis pregrado Universidad ICESI]. Repositorio Institucional - Universidad ICESI.

García, H. (1953). *Esencias naturales*. Madrid, España.

Gil Cuesta, J., & Vaqué Rafart, J. (2008). Aspectos básicos de la transmisibilidad. *Vacunas*, 9(1), 25–33. [https://doi.org/10.1016/S1576-9887\(08\)71918-6](https://doi.org/10.1016/S1576-9887(08)71918-6)

Hammer, K. A., Carson, C. F., & Riley, T. V. (2003). Antifungal activity of the components of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil. *Journal of applied*

*microbiology*, 95(4), 853–860. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2003.02059.x>

Hernández, R., Fernández, C., y Baptista, M. (2014). Metodología de la investigación (6ª ed.). México D.F., México: McGRAW-HILL Interamericana. Recuperado de <https://www.esup.edu.pe/wp-content/uploads/2020/12/2.%20Hernandez,%20Fernandez%20y%20Baptista-Metodolog%C3%ADa%20Investigacion%20Cientifica%206ta%20ed.pdf>

Hernández, R., y Mendoza, C. (2018). *Metodología de la investigación: Las rutas cuantitativa, cualitativa y mixta*. McGRAW-HILL Interamericana. <http://repositorio.uasb.edu.bo:8080/handle/54000/1292>

Holland, M. S., Nobrega, D., Peirano, G., Naugler, C., Church, D. L., & Pitout, J. (2020). MoleculAr epidemiology of Escherichia coli causing bloodstream infections in a centralized Canadian region: a popuLation-based surveillance study. *Clinical microbiology and infection: the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 26(11), 1554.e1–1554.e8. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2020.02.019>

Ingaroca, S., Castro, A & Ramos, N. (2019). Composición química y ensayos de actividad antioxidante y del efecto fungistático sobre *Candida albicans* del aceite esencial de *Piper aduncum* L. "Matico". *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 85(2), 268-279. [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1810-634X2019000200013&lng=pt&tlng=es](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1810-634X2019000200013&lng=pt&tlng=es).

Jiménez, W., Zamora, J., Campoverde, J., & Mariscal, W. (2022). Actividad antioxidante y antimicrobiana del aceite esencial de citrus sinensis, citrus paradisis y citrus reticulata. *RECIAMUC*, 6(3), 399-407. [https://doi.org/10.26820/reciamuc/6.\(3\).julio.2022.399-407](https://doi.org/10.26820/reciamuc/6.(3).julio.2022.399-407)

Karanika, S., Karantanos, T., Arvanitis, M., Grigoras, C., Mylonakis, E. (2016). Fecal Colonization With Extended-spectrum Beta-lactamase-Producing Enterobacteriaceae and Risk Factors Among Healthy Individuals: A Systematic Review and Metaanalysis. *Clin. Infect. Dis.* 63, 310–318. doi:10.1093/cid/ciw283

- Lazo, P. y Guayas, J. (2020). *Evaluación in vitro de la actividad antibacteriana de los extractos etanólicos de Uncaria tomentosa; Piper aduncun; Artemisa absinthium frente a Escherichia coli ATCC 25922*. [Tesis pregrado Universidad de Cuenca]. Repositorio Institucional - Universidad de Cuenca.
- Li, Y., Kong, D., Fu, Y., Sussman, M. R., & Wu, H. (2020). The effect of developmental and environmental factors on secondary metabolites in medicinal plants. *Plant physiology and biochemistry: PPB*, 148, 80–89. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.01.006>
- Li, Y., Kong, D., Liang, HL y Wu, H. (2018). Contenido de alcaloides y composición de aceites esenciales de Mahonia breviracema cultivada en diferentes ambientes de luz. *Revista de botánica aplicada y calidad de los alimentos*, 9, 171-179. <https://core.ac.uk/download/pdf/235698228.pdf>
- Li, Y., Liu, S., Zhao, C., Zhang, Z., Nie, D., Tang, W., & Li, Y. (2022). The Chemical Composition and Antibacterial and Antioxidant Activities of Five Citrus Essential Oils. *MolecuLes (Basel, Switzerland)*, 27(20), 7044. <https://doi.org/10.3390/molecuLes27207044>
- Lin, M., Xu, C., Gao, X., Zhang, W., Yao, Z., Wang, T., Feng, X., & Wang, Y. (2023). Comparative study on secondary metabolites from different citrus varieties in the production area of Zhejiang. *Frontiers in nutrition*, 10, 1159676. <https://doi.org/10.3389/fnut.2023.1159676>
- Lizcano, A., Villamizar, R., Herrera, F., & Santos, J. (2021). Inactivación de Escherichia coli productora de toxina Shiga en carne bajo condiciones de refrigeración mediante el aceite esencial de *Lippia origanoides*. *BISTUA Revista De La Facultad De Ciencias Básicas*, 18 (1), 27–33. <https://doi.org/10.24054/bistua.v18i1.209>
- López Luegon, M Tránsito. (2004). Los aceites esenciales. *Offarm*. 23 (7), 88-91. SN - 0212047X. <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-los-aceites-esenciales-13064296>
- Luque, M., & Márquez, R. (2019). Actividad antioxidante y efecto antibacteriano del aceite esencial de cascaras de Citrus sinensis variedad Valencia Lat. [Tesis

Pregrado, Universidad Norbet Wiener]. Repositorio Institucional - Universidad Norbet Wiener.

Manges, A. R., Geum, H. M., Guo, A., Edens, T. J., Fibke, C. D., & Pitout, J. (2019). Global Extraintestinal Pathogenic *Escherichia coli* (ExPEC) Lineages. *Clinical microbiology reviews*, 32(3), e00135-18. <https://doi.org/10.1128/CMR.00135-18>

Marcos-Carbajal, P., Galarza-Pérez, M., Huancahuire-Vega, S., Otiniano-Trujillo, M., & Soto-Pastrana, J. (2020). Comparison of *Escherichia coli* antibiotic-resistance profiles and incidence of betalactamase phenotypes in three private health facilities in Perú. *Biomedica : revista del Instituto Nacional de Salud*, 40(Supl. 1), 139–147. <https://doi.org/10.7705/biomedica.4772>

Martínez, M. E., Camacho, I. A., Gracia, Y. A., & Gracia, S. L. (2010). Evaluación in-vitro de doce marcas de comprimidos de ciprofloxacino que se comercializan en el mercado mexicano. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 41(4), 43-49. <https://www.redalyc.org/pdf/579/57916060006.pdf>

Mazzariol, A., Bazaj, A., & Cornaglia, G. (2017). MuLti-drug-resistant Gram-negative bacteria causing urinary tract infections: a review. *Journal of chemotherapy (Florence, Italy)*, 29(sup1), 2–9. <https://doi.org/10.1080/1120009X.2017.1380395>

Mendo-Lopez, R., Jasso, L., Guevara, X., Astocondor, A. L., Alejos, S., Bardossy, A. C., Prentiss, T., Zervos, M. J., Jacobs, J., & García, C. (2017). MuLtidrug-Resistant Microorganisms Colonizing Lower Extremity Wounds in Patients in a Tertiary Care Hospital, Lima, Peru. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 97(4), 1045–1048. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.17-0235>

Monzote, L., ScuLl, R., Cos, P., & Setzer, W. N. (2017). Essential Oil from *Piper aduncum*: Chemical Analysis, Antimicrobial Assessment, and Literature Review. *Medicines* (Basel, Switzerland), 4(3), 49. <https://doi.org/10.3390/medicines4030049>

Öner, E. K., & Yeşil, M. (2023). Effects of altitudes on secondary metabolite contents of *Origanum majorana* L. *Scientific reports*, 13(1), 10765. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-37909-0>

- Queiroz Luz, J. M., Macedo Silva, S., Silva Soares, J., Camargo de Oliveira, R., Ortiz Mayo Marques, M., & Facanali, R. (2016). Organic fertilization and composition of oregano essential oil. *Boletín Latinoamericano y Del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 15(5), 301–314. <https://www.redalyc.org/articuloLo.aa?id=85647558003>
- Real Academia Española: *Diccionario de la lengua española*, 23.<sup>a</sup> ed. Recuperado en 28 de abril del 2024 de, <https://dle.rae.es>
- Rothstein, J. D., Mendoza, A. L., Cabrera, L. Z., Pachas, J., Calderón, M., Pajuelo, M. J., CauLfield, L. E., Winch, P. J., & Gilman, R. H. (2019). Household Contamination of Baby Bottles and Opportunities to Improve Bottle Hygiene in Peri-Urban Lima, Peru. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 100(4), 988–997. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.18-0301>
- Saldaña-Sánchez, W.D., León-Morales, J.M., López-Bibiano, Y. *et al.* (2019). Effect of V, Se, and Ce on Growth, Photosynthetic Pigments, and Total Phenol Content of Tomato and Pepper Seedlings. *Journal Soil Science Plant Nutrition* 19, 678–688. <https://doi.org/10.1007/s42729-019-00068-1>
- Saquina, D. (2018). *Evaluación de la actividad antibacteriana del aceite esencial de naranja (citrus sinensis) sobre la cepa de Staphylococcus aureus*. [Tesis de Pregrado, Universidad Técnica de Ambato]. Repositorio Institucional - Universidad Técnica de Ambato.
- Sesa Tenazoa, I. S. y Torres Espinal, L. A. (2021). *Efecto antifúngico del aceite esencial de Citrus reticulata (mandarina) y Citrus sinensis (naranja tangelo) sobre Candida albicans in vitro* [Tesis Pregrado, Universidad Roosevelt]. Repositorio Institucional - Universidad Roosevelt.
- Shange, N., Makasi, T., Gouws, P., & Hoffman, L. C. (2019). Preservation of previously frozen black wildebeest meat (Connochaetes gnou) using oregano (Oreganum vulgare) essential oil. *Meat science*, 148, 88–95. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.10.012>
- Silva, A., Diodato, J. S., Castro, J. W., Matias, E., Silva, L. E., do Amaral, W., Maia, B.,

- Ferriani, A. P., Souza, A. K., Quintans-Júnior, L. J., & Coutinho, H. (2019). Effect of the essential oils from Piper sp. and blue led lights in the enhancement of the antibiotic activity of drugs against mdr bacterial strains. *Journal of photochemistry and photobiology. B, Biology*, *199*, 111604. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2019.111604>
- Torrenegra, M., Pájaro, N., & León, G. (2017). Actividad antibacteriana in vitro de aceites esenciales de diferentes especies del género Citrus. *Revista Colombiana de Ciencias Químico - Farmacéuticas*, *46* (2), 160-175. doi:http://dx.doi.org/10.15446/rcciquifa.v46n2.67934
- Universidad Autónoma Metropolitana (UNAME). (2013). Manual de prácticas de laboratorio. Química Analítica. Pp 106. <http://publicacionescbs.izt.uam.mx/DOCS/analitica.pdf>
- Vatansever, R., Ozyigit, I. I., & Filiz, E. (2017). Essential and Beneficial Trace Elements in Plants, and Their Transport in Roots: a Review. *Applied biochemistry and biotechnology*, *181*(1), 464–482. <https://doi.org/10.1007/s12010-016-2224-3>
- Vázquez-León, L. A., Páramo-Calderón, D. E., Robles-Olvera, V. J., Valdés-Rodríguez, O. A., Pérez-Vázquez, A., García-Alvarado, M. A., & Rodríguez-Jimenes, G. C. (2017). Variation in bioactive compounds and antiradical activity of Moringa oleifera leaves: influence of climatic factors, tree age, and soil parameters. *European Food Research and Technology*, *243*, 1593-1608. DOI: 10.1007/s00217-017-2868-4
- Wei Wang, Y. John Wang, D.Q. Wang. (2008). Dual effects of Tween 80 on protein stability. *International Journal of Pharmaceutics*, *347* (1, 2), 31-38. ISSN 0378-5173. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2007.06.042>.
- Wink M. (2018). Plant Secondary Metabolites Modulate Insect Behavior-Steps Toward Addiction?. *Frontiers in physiology*, *9*, 364 – 372. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.00364>
- Xue, L., Otieno, M., Colson, K., & Neto, C. (2023). Influence of the Growing Region on the Phytochemical Composition and Antioxidant Properties of North American

Cranberry Fruit (*Vaccinium macrocarpon* Aiton). *Plants* (Basel, Switzerland), 12(20), 3595. <https://doi.org/10.3390/plants12203595>

Zaïri, A., Nour, S., Khalifa, M. A., Ouni, B., Haddad, H., Khelifa, A., & Trabelsi, M. (2020). Phytochemical Analysis and Assessment of Biological Properties of Essential Oils Obtained from Thyme and Rosmarinus Species. *Current pharmaceutical biotechnology*, 21(5), 414–424. <https://doi.org/10.2174/1389201020666191019124630>

Zavaleta-Espejo G, Zavaleta-Castro C, Saldaña-Jiménez J, Aguilar-Sánchez A. (2019). Actividad antimicrobiana del extracto de *Piper angustifolium* (Piperaceae) sobre *Proteus mirabilis*. *Rev Investig la Univ Le Cordon Bleu* 6(1):77–84. <https://revistas.uLcb.edu.pe/index.php/REVISTAULCB/article/view/125/262>

## ANEXOS

### 7.1. ANEXO 1 Procedimiento para la obtención de los aceites esenciales y la ejecución de la investigación



**Figura 1**

Lavado y desinfección de las hojas de *Piper* con hipoclorito de sodio al 0.5%



**Figura 2.**

Extracción de aceite esencial por arrastre de vapor de agua



**Figura 3.**

Aceites esenciales de las tres especies vegetales



**Figura 4.**  
Distribución del Agar Mueller Hinton en placas petri y activación de la cepa.



**Figura 5.**  
Estandarización de *E. coli*, comparación con el estándar de Mc Farland.



**Figura 8.**  
Aplicación de los tratamientos a los sensidiscos e incubación a 37 °C.



**Figura 9.**

Medición y registro de halos de inhibición a 24, 48 y 72 h

## 7.2. ANEXO 2 Pruebas de verificación de los supuestos del ANOVA

**Tabla 1.**

*Prueba de normalidad para la variable diámetro de halo (mm) alcanzados por los aceites esenciales de tangelo y orégano en la inhibición del crecimiento de E. coli a 24 horas de exposición.*

	Kolmogorov- Smirnov a			Shapiro - Wilk		
	Estadístico	gl	sig	Estadístico	gl	Sig
Residuo para HALOmm24h	0,093	36	0,200*	0,978	36	0,683

\*Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

a. corrección de significación de Lilliefors

**Tabla 2.**

*Prueba de Homogeneidad de varianza (Levene) para la variable diámetro de halo (mm) alcanzados por los aceites esenciales de tangelo y orégano en la inhibición del crecimiento de E. coli a 24 horas de exposición.*

### Prueba de igualdad de Levene de varianzas de error<sup>a</sup>

Variable dependiente: Halo (mm) 24h

F	df1	df2	Sig
2,952	11	24	0,063

**Tabla 3.**

*Prueba de normalidad para la variable diámetro de halo (mm) alcanzados por los aceites esenciales de tangelo y orégano en la inhibición del crecimiento de E. coli a 48 horas de exposición.*

	Kolmogorov- Smirnov a			Shapiro - Wilk		
	Estadístico	gl	sig	Estadístico	gl	Sig
Residuo para DIAMETRO HALOINHIBICIÓNmm48h	0,112	36	0,200*	0,942	36	0,060

\*Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

a. corrección de significación de Lilliefors

**Tabla 4.**

*Prueba de Homogeneidad de varianza (Levene) para la variable diámetro de halo (mm) alcanzados por los aceites esenciales de tangelo y orégano en la inhibición del crecimiento de E. coli a 48 horas de exposición.*

**Prueba de igualdad de Levene de varianzas de error\***

Variable dependiente: Diámetro Halo

Inhibición (mm) 48h

F	df1	df2	Sig
3,030	11	24	0,061

**Tabla 5.**

*Prueba de normalidad para la variable diámetro de halo (mm) alcanzados por los aceites esenciales de tangelo y orégano en la inhibición del crecimiento de E. coli a 72 horas de exposición.*

	Kolmogorov- Smirnov a			Shapiro - Wilk		
	Estadístico	gl	sig	Estadístico	gl	Sig
Residuo para DIAMETRO HALOINHIBICIÓNmm72h	0,083	36	0,200*	0,971	36	0,465

\*Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

a. corrección de significación de Lilliefors

**Tabla 6.**

*Prueba de Homogeneidad de varianza (Levene) para la variable diámetro de halo (mm) alcanzados por los aceites esenciales de tangelo y orégano en la inhibición del crecimiento de E. coli a 72 horas de exposición.*

**Prueba de igualdad de Levene de varianzas de error\***

Variable dependiente: Diámetro Halo inhibición (mm)72h

<b>F</b>	<b>df1</b>	<b>df2</b>	<b>Sig</b>
2,190	11	24	0,053

Prueba la hipótesis nula que la varianza de error de la variable dependiente es igual entre grupos.

**7.3. ANEXO 3 Análisis de varianza (ANOVA) de la variable inhibición del crecimiento de *Escherichia coli* frente a los aceites esenciales de Tangelo y Orégano a 24, 48 y 72 horas de exposición.**

**Tabla 1**

*Análisis de varianza (ANOVA) a 24 horas de exposición.*

	<b>GL</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>F-Valor</b>	<b>Pr &gt; F</b>
Aceite	1	684.694	684.694	1533.850	<.0001
Concentración	2	25.872	12.936	28.980	<.0001
Dosis	1	20.551	20.551	46.040	<.0001
Aceite*Concentración	2	0.657	0.329	0.740	0.490
Aceite*Dosis	1	78.618	78.618	176.120	<.0001
Concentración*Dosis	2	1.567	0.784	1.760	0.194
Aceite*Concentración*Dosis	2	0.857	0.429	0.960	0.397
Error	24	10,713	0,446		
Total	36	10329,780			
Total corregido	35	823,530			

**CV= 4.11%**

**Tabla 2**

*Análisis de varianza (ANOVA) a 48 horas de exposición.*

<b>F. V.</b>	<b>GL</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>F-Valor</b>	<b>Pr &gt; F</b>
Aceite	1	1857.610	1857.610	2663.240	<.0001
Concentración	2	51.384	25.692	36.830	<.0001
Dosis	1	9.610	9.610	13.780	0.001
Aceite*Concentración	2	3.532	1.766	2.530	0.101
Aceite*Dosis	1	0.444	0.444	0.640	0.433
Concentración*Dosis	2	0.722	0.361	0.520	0.603
Aceite*Concentración*Dosis	2	0.774	0.387	0.550	0.581
Error	24	16,740	0,697		
Total	36	11054,700			
Total corregido	35	1940,816			

**CV= 5.25%**