



UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA

SEDE QUITO

**CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA DE LOS RECURSOS
NATURALES**

**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE
UVILLA (PHYSALIS PERUVIANA) Y DIENTE DE LEÓN (TARAXACUM
OFFICINALE) EN UNA FORMULACIÓN PARA DESINFECCIÓN DE ALIMENTOS**

**Trabajo de titulación previo a la obtención del título de:
INGENIERAS EN BIOTECNOLOGÍA DE LOS RECURSOS NATURALES**

AUTOR: Arelys Elizabeth Alcaciega Farinango

Mishel Estefanía Pazmiño Salazar

TUTOR: Tatiana de los Ángeles Mosquera Tayupanta

Quito-Ecuador

2022

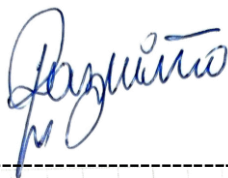
CERTIFICADO DE RESPONSABILIDAD Y AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Nosotras, Mishel Estefanía Pazmiño Salazar con documento de identificación N° 1722386065 y Arelys Elizabeth Alcaciega Farinango con documento de identificación N° 1750126961; manifestamos que:

Somos los autores y responsables del presente trabajo; y, autorizamos a que sin fines de lucro la Universidad Politécnica Salesiana pueda usar, difundir, reproducir o publicar de manera total o parcial el presente trabajo de titulación.

Quito, 03 de junio del año 2022

Atentamente,



Mishel Estefanía Pazmiño Salazar
1722386065



Arelys Elizabeth Alcaciega Farinango
1750126961

CERTIFICADO DE CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN A LA UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA

Nosotras, Mishel Estefanía Pazmiño Salazar con documento de identificación No. 1722386065 y Arelys Elizabeth Alcaciega Farinango con documento de identificación No. 1750126961, expresamos nuestra voluntad y por medio del presente documento cedemos a la Universidad Politécnica Salesiana la titularidad sobre los derechos patrimoniales en virtud de que somos autores del Trabajo experimental: “Evaluación de la actividad antibacteriana de extractos de uvilla (*Physalis peruviana*) y diente de león (*Taraxacum officinale*) en una formulación para desinfección de alimentos” el cual ha sido desarrollado para optar por el título de: Ingenieras en Biotecnología de los Recursos Naturales, en la Universidad Politécnica Salesiana, quedando la Universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente.

En concordancia con lo manifestado, suscribimos este documento en el momento que hacemos la entrega del trabajo final en formato digital a la Biblioteca de la Universidad Politécnica Salesiana.

Quito, 03 de junio del año 2022

Atentamente,

Mishel Estefanía Pazmiño Salazar
1722386065

Arelys Elizabeth Alcaciega Farinango
1750126961

CERTIFICADO DE DIRECCIÓN DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, Tatiana de los Ángeles Mosquera Tayupanta con documento de identificación N° 1711668010 docente de la Universidad Politécnica Salesiana, declaro que bajo mi tutoría fue desarrollado el trabajo de titulación: “Evaluación de la actividad antibacteriana de extractos de uvilla (*Physalis peruviana*) y diente de león (*Taraxacum officinale*) en una formulación para desinfección de alimentos”, realizado por Mishel Estefanía Pazmiño Salazar con documento de identificación No. 1722386065 y Arelys Elizabeth Alcaciega Farinango con documento de identificación No. 1750126961 obteniendo como resultado final el trabajo de titulación bajo la opción Trabajo experimental que cumple con todos los requisitos determinados por la Universidad Politécnica Salesiana.

Quito, 03 de junio del año 2022

Atentamente,



Tatiana de los Ángeles Mosquera Tayupanta
1711668010

DEDICATORIA

A Dios, mis padres Mónica y Fernando, a mi hermano Aryel, a mi bisabuelita Olga Valenzuela, a mis abuelitos Magdalena y Jorge, a mis tías Victoria, Silvia y Anita por ser mi apoyo incondicional y fuente de motivación para alcanzar mis sueños, anhelos y metas.

Arelys Elizabeth Alcaciega Farinango

A Dios, porque sin él nada de esto hubiera sido posible. A mi padre Miguel Pazmiño y a mi madre Vilma Salazar quienes han velado por mi bienestar y educación; me han entregado su amor incondicional, nunca han dejado de creer en mí y han dedicado su vida en formarme como una persona de bien. A mis hermanas Soraya y Daniela por ser mi mayor fuente de inspiración y ejemplo de constancia a pesar de las dificultades. A mi sobrina Julieth por ayudarme a salir de mi zona de confort y hacer de mis últimos años de universidad una experiencia maravillosa. Esto es para ustedes; gracias por ser los autores de mi vida.

Mishel Estefanía Pazmiño Salazar

AGRADECIMIENTO

A Dios por brindarme la salud y la fortaleza que me ha permitido cumplir cada uno de mis metas, de mis sueños y mis anhelos en este camino, a pesar de las dificultades de la vida siempre fue y ha sido mi fiel acompañante. A mi tutora Tatiana Mosquera por su paciencia, apoyo, ayuda, sus consejos y sobre todo por brindarnos su amor infinito.

A mi familia por ser mi apoyo incondicional en todos los momentos de mi vida, a mi madre Mónica Farinango y a mi padre Fernando Alcaciega por sus consejos que me han permitido forjarme en la persona que soy ahora, a mi hermano Aryel Alcaciega por ser mi compañía eterna, a mis abuelitos Magdalena Obando y Jorge Farinango por su confianza y apoyo, a mis tías Victoria Obando por sus conocimientos y su amor; Silvia Obando y Anita Farinango por sus infinitos consejos y a toda mi familia por brindarme su respaldo y cariño en todo momento.

A mis amigos Samyr Quilumbaquin, Daniel Cayán, Jessica Alba, Jennifer Cumbajin y Jorge Necpas por ser mi apoyo en este transcurso de mi vida, por las anécdotas vividas y las enseñanzas en toda mi etapa universitaria. A Mishel Pazmiño, por su amistad, por sus consejos y por su cariño infinito. También a las personas que creyeron en mí desde el principio y me han brindado apoyo siempre Camila Medina, Victor Moreno, José Guevara y Cesar Holguín que han sido parte fundamental de este proceso y definitivamente a Diego Toapanta por brindarme su amor incondicional siempre.

Arelys Elizabeth Alcaciega Farinango

A la Universidad Politécnica Salesiana que es testigo de los años de esfuerzo, sacrificio y dedicación que se ven reflejados en estas páginas. A la carrera de Ingeniería en Biotecnología de los Recursos Naturales por brindarme la oportunidad de formarme en sus aulas y convertirme en la profesional que siempre soñé. A mis profesores por su paciencia, dedicación y entrega; en especial a mi tutora MSc. Tatiana Mosquera por haber confiado en nosotras y quien ha guiado con entereza, esfuerzo y constancia la construcción de este trabajo de investigación. A los laboratorios de Ciencias de la Vida CIVABI por habernos facilitado los medios suficientes para que este trabajo llegue a un feliz término. A la MSc. Laura Huachi y a todos los técnicos de laboratorio por su apoyo oportuno en todas las actividades propuestas durante el desarrollo de nuestro trabajo experimental.

A mis amigos Andrea Tafur, Arelys Alcaciega y Samyr Quilumbaquin por su confianza, apoyo y cariño incondicional durante estos años. Finalmente, mi agradecimiento más profundo y sentido para Daniel Endara por ser parte motivadora e inspiradora en mi vida personal y profesional.

Mishel Estefanía Pazmiño Salazar

Resumen

En Ecuador las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA' s) siguen siendo un problema de interés epidemiológico debido a la gran facilidad que tienen las bacterias de propagarse principalmente por la mala manipulación, limpieza o conservación de frutas y vegetales. Patógenos bacterianos como *Salmonella* o *E. coli* son responsables de las principales enfermedades gastrointestinales en nuestro país debido a la falta de información sobre buenas prácticas de manufactura, escasos hábitos higiénico-sanitarios y alternativas desinfectantes orgánicas en el mercado ecuatoriano.

Por tal motivo, la presente investigación tiene como objetivo evaluar la capacidad inhibitoria de cinco formulaciones obtenidas a partir de los extractos fluidos de diente de león (*Taraxacum officinale*) y uvilla (*Physalis peruviana*) frente a *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 y *Escherichia coli* ATCC 25922.

Las formulaciones se evaluaron mediante el método de Microdilución en caldo y la valoración de resultados se realizó mediante un análisis estadístico ANOVA, donde se evidenció que la mejor fórmula frente a *S. typhimurium* y *E. coli* fue la Formula 2; compuesta del extracto de diente de león a una concentración del 50 %, seguida de la Formula 3 (25 % de uvilla y 75 % de diente de león).

Aunque las fórmulas hayan actuado de forma favorecedora con las dos bacterias, el mejor porcentaje de inhibición bacteriana fue frente a *S. typhimurium* con un 98 % en las tres placas. Con esto se comprueba que las dos especies vegetales evaluadas en esta investigación poseen actividad antibacteriana sobre patógenos causantes de ETA' s y que las formulaciones representan un producto promisorio de la industria ecuatoriana.

PALABRAS CLAVE: ETA' s, microdilución en caldo, antibacteriano, patógenos

Abstract

In Ecuador, foodborne diseases (ETAS's) continue to be a problem of epidemiological interest due to the great ease with which bacteria can spread, mainly due to poor handling, cleaning or preservation of fruits and vegetables. Bacterial pathogens such as *Salmonella* or *E. coli* are responsible for the main gastrointestinal diseases in our country due to the lack of information on good manufacturing practices, poor hygienic-sanitary habits and organic disinfectant alternatives in the ecuadorian market.

For this reason, the present research aims to evaluate the inhibitory capacity of five formulations obtained from fluid extracts of dandelion (*Taraxacum officinale*) and uvilla (*Physalis peruviana*) against *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 and *Escherichia coli* ATCC 25922.

The formulations were evaluated by the broth microdilution method and the results were evaluated by ANOVA statistical analysis, which showed that the best formulation against *S. typhimurium* and *E. coli* was Formula 2, composed of dandelion extract at a concentration of 50 %, followed by Formula 3 (25 % uvilla and 75 % dandelion).

Although the formulas acted favorably on both bacteria, the best degree of bacterial inhibition was against *S. typhimurium*. This proves that the two plant species evaluated in this research have antibacterial activity against pathogens causing ETA's and that the formulations represent a promising product for the Ecuadorian industry.

KEYWORDS: ETA's, broth microdilution, antibacterial, pathogens

Índice de contenidos

1. Fundamentación teórica.....	4
1.1. Uvilla (<i>Physalis peruviana</i> L.)	4
1.1.1. Clasificación taxonómica	4
1.1.2. Descripción botánica	4
1.1.3. Distribución geográfica	5
1.1.4. Composición química.....	6
1.1.4.1. Propiedades antibacterianas	6
1.1.5. Uso etnobotánico.....	6
1.2. Diente de león (<i>Taraxacum officinale</i>).....	7
1.2.1. Clasificación taxonómica	7
1.2.2. Descripción botánica	7
1.2.3. Distribución geográfica	8
1.2.4. Composición química.....	9
1.2.4.1. Propiedades antibacterianas	9
1.2.5. Uso etnobotánico.....	9
1.3. Extractos vegetales	10
1.3.1. Tipos de extractos.....	10
1.3.2. Métodos de obtención de extractos vegetales	11
1.3.2.1. Extracción con solventes	12
1.3.2.1.1. Extracción continua o progresiva.....	12
1.3.2.1.2. Extracción discontinua o simultanea	13
1.4. Inocuidad alimentaria	14
1.4.1. Enfermedades de Transmisión alimenticia (ETA' s)	14
1.4.2. Bacterias	15

1.4.2.1.	Bacterias gramnegativas.....	16
1.5.	Sensibilidad antimicrobiana	18
1.5.1.	Pruebas de sensibilidad antimicrobiana	18
1.5.2.	Métodos de dilución	18
1.5.2.1.	Método de microdilución en caldo.....	19
1.6.	Desinfectantes.....	20
1.6.1.	Desinfectantes alimentarios.....	20
2.	Materiales y métodos	21
2.1.	Recolección del material vegetal	21
2.2.	Identificación y selección del material vegetal.....	21
2.3.	Secado y desinfección	22
2.4.	Molienda y tamizaje	22
2.5.	Obtención de extractos fluidos	23
2.5.1.	Percolación	24
2.6.	Preparación de las formulaciones de <i>P. peruviana</i> y <i>T. officinale</i>	26
2.7.	Determinación de la Concentración mínima inhibitoria (CMI)	28
2.7.1.	Activación del hisopo KWIK-STICK™:.....	28
2.7.2.	Resiembra de las cepas ATCC (American Type Culture Collection).....	28
2.7.3.	Preparación del inóculo bacteriano	29
2.7.4.	Preparación del colorante cloruro de trifeniltetrazolio al 0, 8% (TTC)	29
2.7.5.	Preparación de las microplacas de 96 pocillos.....	30
2.7.6.	Análisis de Concentración mínima inhibitoria (CMI).....	32
2.7.1.	Análisis estadístico.....	32
3.	Resultados y discusión	34

3.1.	Obtención de extractos vegetales acuosos.....	34
3.1.1.	Preparación de las formulaciones.....	34
3.2.	Determinación de la CMI de los extractos acuosos por el método de microdilución en caldo.....	34
3.2.1.	Evaluación de la CMI para <i>S. typhimurium</i> ATCC® 14028™.....	35
3.2.2.	Evaluación de la CMI para <i>E. coli</i> ATCC® 25922™.....	36
3.3.	Análisis cuantitativo del MIC.....	37
3.4.	Resultados del análisis estadístico.....	39
3.5.	Análisis estadístico de varianza (ANOVA).....	40
3.5.1.	ANOVA del porcentaje de inhibición (Abs) de <i>E. coli</i> frente a las diferentes formulaciones.....	40
3.5.1.	ANOVA del porcentaje de inhibición (Abs) de <i>S. typhimurium</i> a las diferentes formulaciones.....	41
3.6.	Análisis multivariado de conglomerados de encadenamiento simple.....	43
3.6.1.	Análisis de conglomerados frente a <i>E. coli</i> ATCC® 25922™.....	44
3.6.2.	Análisis de conglomerados frente a <i>S. typhimurium</i> ATCC® 14028™.....	45
	Conclusiones	50
	Recomendaciones	51
	Bibliografía	52
	Anexos	64

Índice de figuras

Figura 1 Características morfológicas de la planta de uvilla	5
Figura 2 Características morfológicas del diente de león	8
Figura 3 Clasificación de los métodos extractivos.....	11
Figura 4 <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 y <i>Salmonella typhimurium</i>	16
Figura 5 Método de microdilución en caldo	19
Figura 6 Proceso de molienda y tamizado	23
Figura 7 Proceso de obtención de los extractos fluidos	26
Figura 8 Formulaciones.....	27
Figura 9 Preparación de la CMI	30
Figura 10 Distribución de la microplaca	31
Figura 11 Preparación de la microplaca.....	33
Figura 12 Resultados de Microdilución en Caldo para <i>S.typhimurium</i>	35
Figura 13 Resultados de Microdilución en Caldo para <i>E. coli</i>	36

Índice de tablas

Tabla 1 Clasificación taxonómica de <i>Physalys peruviana</i>	4
Tabla 2 Clasificación taxonómica de <i>Taraxacum officinale</i>	7
Tabla 3 Concentraciones iniciales.....	26
Tabla 4 Formulaciones finales para evaluación	27
Tabla 5 Lectura de absorbancias de la MIC obtenidas mediante el equipo Auto Microplate Reader para <i>E. coli</i> ATCC® 25922™.....	38
Tabla 6 Lectura de absorbancias de la MIC obtenidas mediante el equipo Auto Microplate Reader para <i>S. typhimurium</i> ATCC® 14028 ™.....	39
Tabla 7 Análisis de varianza de las formulaciones frente a <i>E. coli</i> ATCC® 25922™	40
Tabla 8 Resultados de comparación de la prueba Duncan, para evaluar la capacidad inhibitoria del testigo frente a <i>E. coli</i>	40
Tabla 9 Resultados de comparación de la prueba Duncan, para determinar la mejor formulación frente a <i>E. coli</i>	41
Tabla 10 Análisis de varianza de las formulaciones frente a <i>S. typhimurium</i> ATCC® 14028 ™	41
Tabla 11 Resultados de comparación de la prueba Duncan, para evaluar la capacidad inhibitoria del testigo frente a <i>S. typhimurium</i>	42
Tabla 12 Resultados de comparación de la prueba Duncan, para determinar la mejor formulación frente a <i>S. typhimurium</i>	43
Tabla 13 Matriz de distancia euclídea para <i>E. coli</i>	44
Tabla 14 Análisis de varianza de los conglomerados de <i>E. coli</i>	44
Tabla 15 Resultado de comparación mediante la prueba Duncan para los conglomerados en <i>E. coli</i>	45
Tabla 16 Matriz de distancias euclídeas para <i>S. typhimurium</i>	45

Tabla 17 Análisis de varianza de los conglomerados de <i>S.typhimurium</i>	46
Tabla 18 Resultado de comparación mediante la prueba Duncan para los conglomerados de <i>S.typhimurium</i>	46

Introducción

La ingesta incidental de alimentos contaminados por agentes etiológicos o Enfermedades de Transmisión alimenticia (ETA' s) representan un problema de salud a nivel mundial (Soto et al., 2016). De acuerdo con la OMS, la falta de inocuidad alimentaria trasmite alrededor de 200 enfermedades diferentes; desde la diarrea hasta el cáncer (OMS, 2020).

En Ecuador, el 7,1 % de la población presenta inseguridad alimentaria; es decir alrededor de 1,2 millones de personas (Viteri et al., 2020) presentan casos de intoxicación alimentaria por la mala manipulación, limpieza o conservación de frutas y vegetales (SIVE, 2021a).

En 2020 se reportó 3,275 casos de intoxicación alimentaria en Ecuador (SIVE, 2020a) debido a *Salmonella* con un 21,40 %; *Shigella* con un 26,56 % y *E. coli* con un 12 %, lo que posiciona a las ETA' s como una de las causas de morbilidad y mortalidad en el país (SIVE, 2021a).

Estas enfermedades presentan una serie de síntomas gastrointestinales e incluso complicaciones severas como meningitis, sepsis, síndrome de Guillan Barré o la muerte (Public Health England, 2020), que pueden ser producidas por patógenos bacterianos de carácter infeccioso o tóxico como *Salmonella* o *Escherichia coli* (Cano & Sánchez, 2017; SIVE, 2021b), que pueden ser inactivadas con el uso de plantas sin generar efectos secundarios en el ser humano (Argote et al., 2017).

Por otra parte, Ecuador es un país rico en biodiversidad con cerca de 3200 especies de plantas con usos medicinales (Araujo et al., 2020) y su estudio etnobotánico se enfoca en el conocimiento que las comunidades indígenas tienen sobre sus beneficios (Jiménez et al., 2019).

Mediante validación científica se reconoce la importancia de realizar una formulación con actividad desinfectante de alimentos con dos especies conocidas en el país: diente de león (*Taraxacum officinale*) y uvilla (*Physalis peruviana*) ya que poseen efectos antibacterianos sobre los agentes mencionados (Prakash et al., 2015).

El diente de león (*Taraxacum officinale*) es una especie principalmente estudiada por su capacidad de combatir estos patógenos gracias a su contenido de flavonas (González et al., 2012; Martínez et al., 2019), así como también la uvilla (*Physalis peruviana*) que gracias a los compuestos fenólicos y monoterpenos ayuda a combatir la mayoría de microorganismos (Montes, 2020).

Un estudio realizado en la provincia de Bolívar comprobó que los extractos de uvilla como agente antimicrobiano es una buena alternativa en la formulación de desinfectantes orgánicos (Montes, 2020); por otra parte una publicación elaborada por la Universidad Regional Autónoma en 2018 demostró que el extracto de las hojas de diente de león constituye una fuente importante de compuestos químicos antimicrobianos con elevado potencial desinfectante (Chacha, 2018).

Por esta razón, la formulación de un desinfectante bactericida orgánico para frutas y vegetales a partir de los extractos de uvilla y diente de león; representa una nueva alternativa para reducir en gran parte la carga microbiana en este tipo de alimentos considerando la actual tendencia de consumir productos naturales y la escasez de alternativas desinfectantes orgánicas en el mercado ecuatoriano.

La presente investigación contempla la colección de hojas de uvilla en la provincia de Cotopaxi y de diente de león en la provincia de Pichincha; mientras que los análisis se los realizará laboratorios de Ciencias de la Vida (CIVABI) de la Universidad Politécnica Salesiana Quito campus Girón.

El objetivo general de la investigación será evaluar la actividad antibacteriana de los extractos de uvilla (*Physalis peruviana*) y diente de león (*Taraxacum officinale*), en una formulación desinfectante frente a *E. coli* y *S. typhimurium* , dado que son indiscutibles los grandes aportes

científicos que las plantas le han brindado a la humanidad como tratamiento preventivo para combatir infecciones(García & Rodríguez, 2021).

Por otro lado, dentro de los objetivos específicos se plantea obtener los extractos de diente de león (*Taraxacum officinale*) y uvilla (*Physalis peruviana*) mediante percolación, elaborar una solución desinfectante a través de un diseño experimental completamente al azar y evaluar la capacidad antibacteriana de la formulación.

Finalmente, la hipótesis de investigación (Hi) establece que el desinfectante natural obtenido de los extractos de uvilla y diente de León disminuyen la carga microbiana presente en frutas y vegetales; mientras que la hipótesis nula (Ho) sostiene que los extractos obtenidos no cumplen con los análisis microbiológicos para formular un desinfectante natural.

1. Fundamentación teórica

1.1. Uvilla (*Physalis peruviana* L.)

Physalis peruviana L. es la especie más característica del género *Physalis*, la cual se identifica por el cáliz que contiene sus frutos. Es una planta herbácea, perenne originaria de la región andina; especialmente de Perú, Ecuador y Colombia (Perea et al., 2010). Crece en condiciones que se ubican entre 1800 y 2800 metros sobre el nivel del mar, a temperaturas entre los 13 y 18 grados centígrados; a pesar de crecer como una planta silvestre se destaca por sus propiedades antiinflamatorias y antioxidantes (Crosley et al., 2019; L. Ruiz et al., 2018).

1.1.1. Clasificación taxonómica

Tabla 1

Clasificación taxonómica de *Physalys peruviana*

Reino:	Plantae.
Division:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Subclase:	Magnoliidae
Orden:	Solanales
Familia:	Solanaceae
Género:	<i>Physalis</i> L
Especie:	<i>Physalis peruviana</i>
Nombres Comunes:	Uchuva, uvilla, tomatillo, capulí, aguaymanto

Nota. Fuente: (Tropicos, 2021).

1.1.2. Descripción botánica

Descrita por el científico sueco Carlos Linneo en 1753. Es una especie de tallo erecto, ramificado, pubescente y cilíndrico que logra alcanzar los 300 cm de alto (Dostert et al., 2012). Hojas acorazonadas, opuestas y alternadas que crecen hasta los 15 cm de longitud y 10 cm de ancho (Sierra y Selva Exportadora, 2021). Sus frutos son bayas de aproximadamente 3 cm de diámetro, con un peso entre los 4 y 10 g (Calvo, 2009). El epicarpio (cáscara) es liso, ceroso, de color naranja y envuelve a una pulpa de color amarillo. (Gimenez et al., 2021). Posee flores

axilares solitarias de corola amarilla en forma de campana de donde se desarrolla y elonga la baya (véase Figura 1).

Figura 1

Características morfológicas de la planta de uvilla



Figura 1. Planta de uvilla en etapa de cosecha

Fuente: (ICA, 2019)

1.1.3. Distribución geográfica

Su origen procede de los andes peruanos (Bonilla et al., 2019) y actualmente el aguaymanto en Perú, uvilla en Ecuador, uchuva en Colombia o golden berry en inglés se encuentra distribuida en la zona andina de Sudamérica, trópicos y subtrópicos de África, China, Malasia, Australia y las Antillas (Crosley et al., 2019; Tenorio, 2017).

En Ecuador el cultivo de uvilla se encuentra distribuido en las provincias de: Carchi, Imbabura, Cotopaxi, Tungurahua y Chimborazo, gracias a las condiciones agroclimáticas de la región andina de nuestro país (Moreno et al., 2019).

1.1.4. Composición química

La planta de uvilla es altamente valorada por sus múltiples compuestos químicos, dentro de ellos cabe destacar la presencia de alrededor de 15 ácidos grasos en su fruto, de los cuales el ácido linoleico y el ácido oleico son predominantes, además vitamina E, A, C y carotenos (provitamina A) (Oiga & Rojas, 2015). Por otro lado, las hojas y raíces de uvilla tienen alta presencia de withanólidos, alcaloides como physoperuviana y algunos ensayos sobre extractos de *Physalis peruviana* demuestran su actividad antimicrobiana, antioxidante e insecticida sobre larvas en tabaco y algodón (Fischer et al., 2014; Mendoza et al., 2021).

1.1.4.1. Propiedades antibacterianas

Estudios de caracterización sobre *Physalis peruviana* demuestran que monoterpenos y compuestos fenólicos como 1-hexanol, eucaliptol y 4-terpeno presentes en hojas y tallos de uvilla son los encargados de actuar como inhibidores de microorganismos (Cueva et al., 2017; Yilmaztekin, 2014). Además, que la presencia de sustancias activas como physalinas en los extractos etanólicos de uvilla podrían ser utilizados como antibióticos naturales frente a *Salmonella* (F Bayas et al., 2018; Zavala et al., 2006).

1.1.5. Uso etnobotánico

Desde su introducción a Perú como tratamiento del escorbuto hasta la actualidad, el consumo de *Physalis peruviana* como planta promisorio de la salud ha demostrado la versatilidad de los compuestos nutricionales y bioactivos de esta exótica especie (Gallón et al., 2021).

Es usada en la medicina tradicional contra la dermatitis en forma de emplasto, el asma, la malaria y la hepatitis (Hernández et al., 2021; S.-J. Wu et al., 2004). Particularmente las partes aéreas de la planta como las hojas y frutos son aquellas que juegan un papel importante en la salud, dado que sus múltiples preparaciones se recetan como medicina natural para los dolores de cabeza, desordenes estomacales e infecciones (Olga Lock et al., 2016). Por otra parte, la

infusión de las raíces de uvilla es empleada para reducir la fiebre y calmar los dolores menstruales (Gengaihi et al., 2013).

1.2. Diente de león (*Taraxacum officinale*)

El diente de león es una planta medicinal compuesta que se produce anualmente de forma vertical en terrenos baldíos, orillas de caminos, praderas entre los 1300 a 3000 metros sobre el nivel del mar (Xicay & Roca, 2018). Aunque es considerada como maleza para cultivos y pastizales difícil de eliminar ya que su raíz es subterránea y penetrante; sus propiedades medicinales, depurativas, antiinflamatorias y diuréticas han despertado el interés de la comunidad científica (Aguirre et al., 2019; Hurtado et al., 2021).

1.2.1. Clasificación taxonómica

Tabla 2

Clasificación taxonómica de *Taraxacum officinale*

Reino:	Plantae.
División:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Subclase:	Asteridae
Orden:	Asterales
Familia:	Asteraceae
Género:	<i>Taraxacum</i>
Especie:	<i>Taraxacum officinale</i>
Nombre Común:	diente de león, achicoria silvestre, amargón, corona de fraile

Nota. Fuente: (Tropicos, 2021).

1.2.2. Descripción botánica

Taraxacum officinale es una planta herbácea, perenne y acaule de raíz pivotante que desprende un látex color blanco (Aguirre et al., 2019). Tiene hojas simples, alternas con bordes dentados que crecen desde la parte superior de la raíz, alcanzan un tamaño de 36,5 cm de largo y 11 cm de ancho (Aguirre et al., 2019). Su característica más notoria es la flor (véase Figura 2)

hermafrodita, cíclica de color amarillo que emerge desde el centro de sus hojas (Xicay & Roca, 2018). Posee un fruto tipo aquenio con un vilano pedicelado (Aguirre et al., 2019; Tello et al., 2020).

Figura 2

Características morfológicas del diente de león



Figura 2. Planta de diente de león en etapa de florecimiento

Fuente: (TN Nursery, 2019)

1.2.3. Distribución geográfica

Es probable que su origen sea europeo y se haya extendido hasta las zonas más cálidas del norte como Siberia, Groenlandia y el este de Canadá (Cacak et al., 2021). También es muy común encontrar *T. officinale* en algunas zonas del continente americano y Nueva Zelanda (L. E. Muñoz, 2018). Se conoce que hoy en día es ampliamente naturalizada en todas las regiones del mundo (Renobales & Sallés, 2001).

Por otra parte, en Ecuador fue introducida de forma accidental en la región andina. Crece entre los 2000 a 4500 metros sobre el nivel del mar por todo el país, pero particularmente en las provincias de Carchi, Azuay, Loja y Pichincha (Aguirre et al., 2019).

1.2.4. Composición química

Las hojas de *Taraxacum officinale* están conformadas principalmente de lactonas sesquiterpénicas, ácidos fenólicos, cumarinas como la vitamina A en concentraciones mayores que en la zanahoria (Cacak et al., 2021). Las raíces, hojas y flores contienen grandes cantidades de flavonoides, lactonas y ácidos fenólicos que son aprovechados en la industria farmacéutica para el desarrollo y formulación de nuevos medicamentos porque su concentración no representa riesgos, efectos secundarios o reacciones alérgicas (Khan et al., 2018).

Cabe destacar que la raíz contiene inulina, un polisacárido con propiedades probióticas importante en la fibra dietética (Pfingstgraf et al., 2021). Por otro lado, las hojas de diente de león contienen un 7,5 % de polifenólicos como: taninos, alcaloides, esteroides y flavonoides responsables de la actividad fitoquímica de esta planta (Vicharra & Castro, 2017).

1.2.4.1. Propiedades antibacterianas

El potencial antimicrobiano del *T. officinale* no se ha explorado ampliamente, pero estudios recientes demuestran que los extractos acuosos de hojas y raíces de diente de león son eficaces contra microorganismos patógenos como *Escherichia coli*, mientras que los extractos de la raíz son eficaces en la inhibición de *Staphylococcus aureus* (Chen et al., 2021), gracias a los terpenoides, glucósidos, taninos y metabolitos bioactivos que aceleran el tiempo de muerte de estos microorganismos (Lateef & Issah, 2012).

1.2.5. Uso etnobotánico

Aunque siempre ha sido considerada como hierba la mala, el diente de león es una planta con valiosas aplicaciones medicinales como diurético en caso de dolencias estomacales o como tónico laxante para problemas reumáticos (Khan et al., 2018). Gracias a sus múltiples propiedades actualmente se usan sus hojas en ensaladas, té y a menudo se utilizan las raíces de *T. officinale* como sustituto del café (Pfingstgraf et al., 2021). En algunas comunidades se

considera que el diente de león es un potente purificador de la sangre ya que ha sido efectivo en el tratamiento de eczema, mala digestión y retención de líquidos (Lis & Olas, 2019).

1.3. Extractos vegetales

Los extractos vegetales son mezclas biológicamente activas formadas por moléculas de diferente solubilidad y estructura química (Bilia et al., 2018) que se obtienen de los tejidos de las plantas con el uso de solventes como agua, alcohol o la mezcla de estos (Santamaría et al., 2015). Ésta mezcla de sustancias biosintetizadas se compone principalmente por terpenos, ácidos, alcoholes, ésteres, aldehídos, etc. (Fernández et al., 2019) que tienen la capacidad de inhibir microorganismos, actuar en el tratamiento de enfermedades o permitir la innovación de la industria alimenticia, farmacológica y agropecuaria (Ramírez et al., 2016; Sáiz & López, 2011).

1.3.1. Tipos de extractos

La Farmacopea Estadounidense y Argentina, los clasifican según: la consistencia en extractos líquidos, en polvo o semisólidos (ANMAT, 2003; USP 30 - NF 25, 2007). Pero también se los puede clasificar según: la naturaleza del solvente en acuosos, alcohólicos, hidroalcohólicos, etéreos, etc. (ANMAT, 2003).

Al ser preparaciones que dependen del método extractivo, el grado de concentración de los solventes y la consistencia del producto final, Kuklinski (2003) los clasificó en:

- **Extractos fluidos:** Son aquellos que se obtienen a partir de una solución hidroalcohólica mediante percolación o maceración, en una relación 1:1 con el material vegetal de interés (Casares & Unfried, 2020; Guerra, 2015).
- **Extractos blandos:** Se obtienen a partir de disolventes acuosos o hidroalcohólicos y se caracterizan porque la concentración de principios activos en la droga original es menor

en comparación al preparado final, provocado que su consistencia sea semisólida, poco estable y de difícil manipulación (Kuklinski, 2003).

- **Extractos secos:** Este tipo de preparación sólida se consigue mediante evaporación del disolvente (López, 2021) hasta conseguir un polvo fino granuloso de fácil manipulación. Actualmente se obtiene por lixiviación logrando mayor estabilidad en el producto final (Stein et al., 2017).
- **Crioextractos:** Son extractos que se logran luego de haber congelado el material vegetal fresco en nitrógeno líquido de $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$, permitiendo la conservación total de los principios activos de la droga vegetal (Kuklinski, 2003).

1.3.2. Métodos de obtención de extractos vegetales

Para poder extraer y analizar los diferentes componentes activos presentes en hojas, tallos, raíces, frutos, cáscaras, etc. es necesario utilizar un método específico de separación con el fin de que la naturaleza del principio activo no se pierda durante la extracción (Ruiz, 2020). Para determinar el método extractivo correcto (véase Figura 3) de los diferentes agentes bioactivos se deben considerar factores como: la naturaleza del solvente, tiempo de contacto del material vegetal y el disolvente, el tiempo empleado en la extracción, la temperatura, etc. (Palacios, 2013).

Figura 3

Clasificación de los métodos extractivos

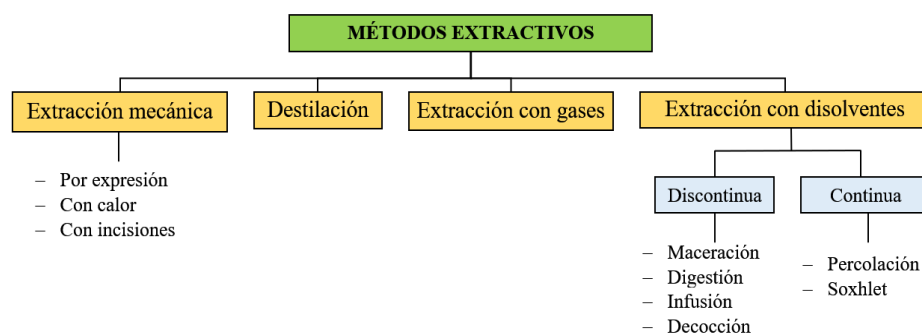


Figura 3. Métodos extractivos para aislar principios activos directamente del material vegetal

Fuente: (Kuklinski, 2003)

Elaborado por: (Las Autoras, 2022)

Para ejecutar una extracción directa de los principios activos del material vegetal se utiliza los siguientes métodos:

- **Extracción mecánica:** Este método extrae los principios activos disueltos en los fluidos propios del material vegetal; se puede realizar mediante expresión que consiste en aplicar presión sobre el material vegetal, por calor o a partir de incisiones que se realizan en la planta por donde fluirán los extractos. El producto final de este tipo de extracción se conoce como jugo (Palacios, 2013).
- **Destilación:** Es una técnica que utiliza una fuente de calor para realizar la separación de cada componente en función del grado de volatilidad de cada principio activo. Generalmente se usa técnicas de arrastre vapor o hidrodestilación para realizar este método (Palacios, 2013).
- **Extracción con gases:** También conocida como la tecnología de los solventes verdes. Se basa en el uso de solventes supercríticos como el dióxido de carbono que al estar en contacto con la muestra vegetal ejercerá una presión menor a la crítica logrando la liberación del extracto vegetal (Román et al., 2016).

1.3.2.1. Extracción con solventes

Esta técnica pone en contacto al material vegetal con el solvente, provocando la solubilización de los principios activos. El producto final de esta técnica es un extracto líquido que se concentra para poder eliminar la cantidad de disolvente necesario (Palacios, 2013).

1.3.2.1.1. Extracción continua o progresiva

En la extracción continua se pone en contacto al material vegetal con el disolvente de forma progresiva, es decir que constantemente se va cambiando en una sola dirección haciendo que los principios activos se separen por difusión celular (Kuklinski, 2003). Normalmente se usa

está técnica cuando no se puede extraer los principios activos de la planta incluso luego de haber probado con las técnicas mecánicas (Cáseres, 2020).

- **Percolación:** Se fundamenta en la maceración del material vegetal con ayuda de un disolvente que se renueva constantemente; es decir que el solvente se desplazará a través de la droga continuamente hasta que en la sustancia extraída se obtenga un rendimiento considerable de principios activos (Whalley, 2020)
- **Soxhlet:** Es un tipo de extracción líquida-sólida que se logra cuando el material vegetal molido se pone en contacto con el disolvente mediante ebullición, haciendo que el vapor del solvente se condense permitiendo la acumulación del producto final en el balón de destilación (Cáseres, 2020).

1.3.2.1.2. Extracción discontinua o simultanea

También conocida como extracción líquido-líquido, en este método se sumerge todo el material vegetal en el disolvente hasta que los principios activos logren propagarse en todas las direcciones (Kuklinski, 2003). Este tipo de extracción es mucho más eficiente ya que depende de la diferencia de solubilidad del disolvente y los principios activos de la droga (González et al., 2018).

- **Maceración:** Pone en contacto el solvente con el material vegetal durante un tiempo considerable hasta agotar la droga y saturar el disolvente. Normalmente esta técnica de extracción se realiza por 24 horas removiendo constantemente el preparado (Whalley, 2020).
- **Digestión:** Es un método parecido a la maceración, pero trabaja con temperaturas elevadas con el objetivo de que el solvente se volatilice por ebullición (Gonzales, 2004; Whalley, 2020).

- **Infusión:** Utiliza el agua como disolvente donde se introduce el material vegetal hasta que alcance el punto de ebullición (Kuklinski, 2003), posteriormente se filtra y se deja enfriar a temperatura ambiente (Linares, 2013).
- **Decocción:** Mantiene en ebullición al material vegetal duro como raíces, tallos o semillas junto al disolvente de 15 a 30 minutos hasta que se denote un cambio de color en el disolvente; se deja enfriar y se cierne (Kuklinski, 2003).

1.4. Inocuidad alimentaria

Se trata de la alimentación nutritiva y segura que no transmite ni causa daño a los consumidores (Canales et al., 2021). Aproximadamente 600 millones de personas se enferman y 420 000 mueren al año por parásitos, bacterias, toxinas, etc. que pueden contaminar los alimentos en cualquier momento (OMS, 2020). La inocuidad alimentaria debe garantizar que la cadena productiva de los alimentos se ejecute en perfectas condiciones (Bueso et al., 2018), asegurando que su ingesta no represente riesgos para la salud (Mensoza et al., 2020).

1.4.1. Enfermedades de Transmisión alimenticia (ETA' s)

Las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA' s) se consideran como uno de los mayores problemas a nivel mundial debido a que su principal medio de transmisión son los alimentos o el agua (ANMAT, 2019). La gran mayoría de ETA' s se producen por agentes bacterianos como *Salmonella*, *Staphylococcus*, *Clostridium*, etc. que producen intoxicaciones, infecciones bacterianas e inclusive la muerte del consumidor (Zuñiga & Caro, 2017).

La falta de información complementaria sobre trazabilidad, conocimiento en buenas prácticas de manufactura y escasos hábitos higiénico-sanitarios han acrecentado este problema sobre todo en países en vías de desarrollo (Zuñiga & Caro, 2017). De acuerdo con la ANMAT de Argentina las ETA' s se pueden clasificar en intoxicaciones o infecciones de la siguiente manera:

- **Infección alimentaria:** Son ETA' s transmitidas por la ingesta de alimentos contaminados por microorganismos patógenos como bacterias, parásitos y virus (ANMAT, 2019).
- **Intoxicación alimentaria:** ETA' s producidas por el consumo de alimentos contaminados por toxinas bacterianas o moho en cantidades tales que perjudiquen la salud del consumidor (ANMAT, 2019).

1.4.2. Bacterias

Las bacterias causantes de enfermedades de transmisión alimentaria no solo representan un problema de salud, sino también un impacto negativo en la sociedad debido a que disminuye la productividad, el comercio y generan gastos en medicinas y hospitalización (Soto et al., 2016).

Por otra parte; enfermedades gastrointestinales, dolores abdominales, sepsis, vómitos, etc. son complicaciones comunes producidas por bacterias como la *E. coli*, *Salmonella*, *Shigella*, *Campylobacter*, que a lo largo del tiempo han aumentado su resistencia a antibióticos, provocando la búsqueda de nuevas alternativas de control higiénico-alimentario (Soto et al., 2016).

En Ecuador, la mayor parte de bacterias alimentarias se transmiten por la mala manipulación y escasa desinfección de lugares de consumo y venta de alimentos como restaurantes, patios de comida, mercados y comercio informal. Por esa razón, durante el 2020 se reportaron 327,721 casos de vigilancia epidemiológica relacionados a intoxicaciones e infecciones alimentarias (SIVE, 2020b).

En la presente investigación se dará énfasis en dos bacterias de interés epidemiológico *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 y *Escherichia coli* ATCC 25922 (véase Figura 4) causantes de ETA' s en varios países alrededor del mundo.

Figura 4

Escherichia coli ATCC 25922 y *Salmonella typhimurium* ATCC 14028

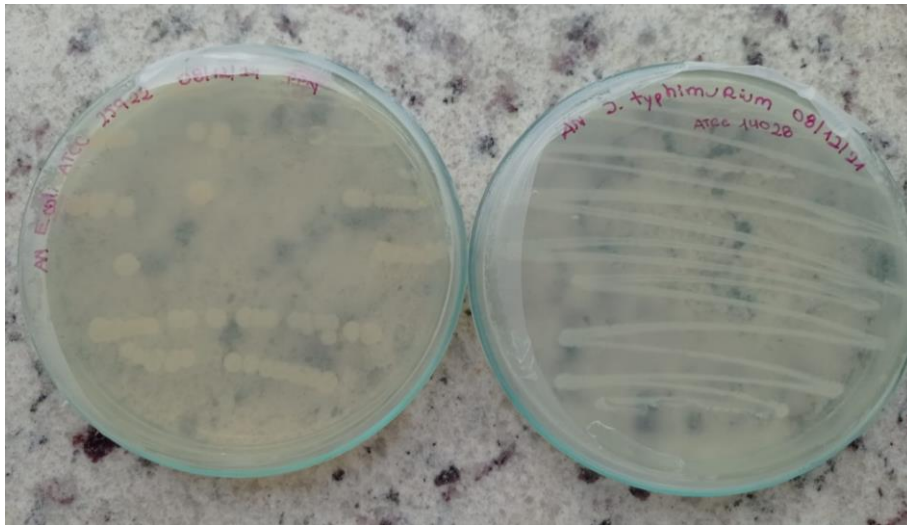


Figura 4. Cepas de *E. coli* ATCC 25922 y *S. typhimurium* ATCC 14028
Elaborado por: (Las autoras, 2021)

1.4.2.1. Bacterias gramnegativas

Son aquellas bacterias formadas por células de pared delgada compuesta de lipopolisacárido y que se identifican mediante tinción gram luego de decolorarse y teñirse de rojo por acción de la safranina (Rodríguez & Arenas, 2018). Están mayormente constituidas por el género *Entorebacter*, género causante de la gran mayoría de intoxicaciones alimentarias (Silva & Martínez, 2018; Zuñiga & Caro, 2017). Dentro de este género se ubican las especies bacterianas con mayor importancia médica debido a su facilidad de proliferación como: *Escherichia*, *Shigella*, *Salmonella*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Yersinia*, etc. (Ryan & Ray, 2017).

- **Salmonella**

Es un bacilo no esporulado y móvil perteneciente al grupo de los gram negativos, se encuentra principalmente en carne de pollo, cerdo, huevos, o jamón (Soto et al., 2016). Se aloja en el intestino de humanos o animales y se puede transmitir por contacto con heces infectadas (SIVE, 2021a). Se caracteriza principalmente por su forma basal, un filamento formado por flagelina, un fragmento de unión (hook) y un antígeno capsular (Vi) (Kiflu et al., 2017; Meza & Morales,

2020). Uno de los 2,500 serotipos de amplio espectro del género *Salmonella* es el serovar *Typhimurium*, considerado como el serovar hospedador más típico en animales debido a su alto grado de patogenicidad a tal punto de ser catalogado como un patógeno alimentario, ligeramente agresivo, responsable de la mayoría de las infecciones gastrointestinales (Branchu et al., 2018) y entéricas transmitidas por alimentos (Roth, 2001).

Durante el periodo de 2015 y 2017 la subespecie entérica serovar *Typhimurium* se ubicó en cuarto lugar de vigilancia epidemiológica en Europa y Estados Unidos debido a su repentino crecimiento a nivel mundial por transmisión directa en humanos, al ingerir productos cárnicos crudos o procesados (comida callejera) (Cuenca et al., 2020).

- **Escherichia**

Es una bacteria gram negativa, anaerobia facultativa y usualmente móvil que está formada por flagelos peritricos. Se encuentra principalmente en la parte intestinal de humanos y animales por lo que se le considera como indicador de contaminación fecal en agua y alimentos (Soto et al., 2016). Estudios afirman que el principal medio de transmisión de este microorganismo es a través de las manos (Fariñas & Martínez, 2013).

El género *Escherichia* ha sido causante de brotes epidémicos, infecciones intestinales por el consumo de carne, leche no pasteurizada, agua o productos agrícolas contaminados (Seni, 2017) y aunque la mayoría de serotipos son inofensivos; hay algunas consideradas oportunistas como la *E. coli* ATCC 25922 que causan diarrea y han sido responsables de 700,000 muertes al año en países en vías de desarrollo (Kwon et al., 2017), sobre todo por el consumo de carne que gracias a su alto contenido de proteínas representa el principal reservorio de este tipo de bacterias patógenas (Bergeron et al., 2012). Por otra parte, es importante mencionar que el uso progresivo de agentes químicos para prevenir las ETA's causadas por *E. coli* han hecho que

cientos de serotipos desarrollen resistencia a los antibióticos y por ende el aumento gradual de nuevas enfermedades causadas por la inocuidad alimentaria (Lukman et al., 2020).

1.5. Sensibilidad antimicrobiana

También conocida como sensibilidad antibiótica, se trata de una serie de técnicas que facilitan la interpretación de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana con el fin de evaluar y vigilar los mecanismos de resistencia bacteriana, detectar diseminaciones epidémicas de alguna cepa a tiempo, controlar el uso de antimicrobianos y desarrollar nuevas alternativas de control bacteriano a nivel industrial (Ortez & Rankin, 2005). Usualmente, estos métodos necesitan modificaciones para asegurar que los resultados sean confiables, sobre todo por el continuo desarrollo de agentes antimicrobianos cada vez más fuertes que aseguren el control de cientos de enfermedades infecciosas causadas por patógenos (De la Osa et al., 2017; Sacsquispe & Velásquez, 2002).

1.5.1. Pruebas de sensibilidad antimicrobiana

Se pueden clasificar en pruebas cuantitativas y cualitativas (Taroco et al., 2008) :

- **Pruebas cuantitativas:** Consienten en la determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima bactericida (CMB).
- **Pruebas cualitativas:** Se tratan de aquellas pruebas que permiten categorizar a los microorganismos como resistentes o sensibles mediante métodos como el de difusión en disco.

1.5.2. Métodos de dilución

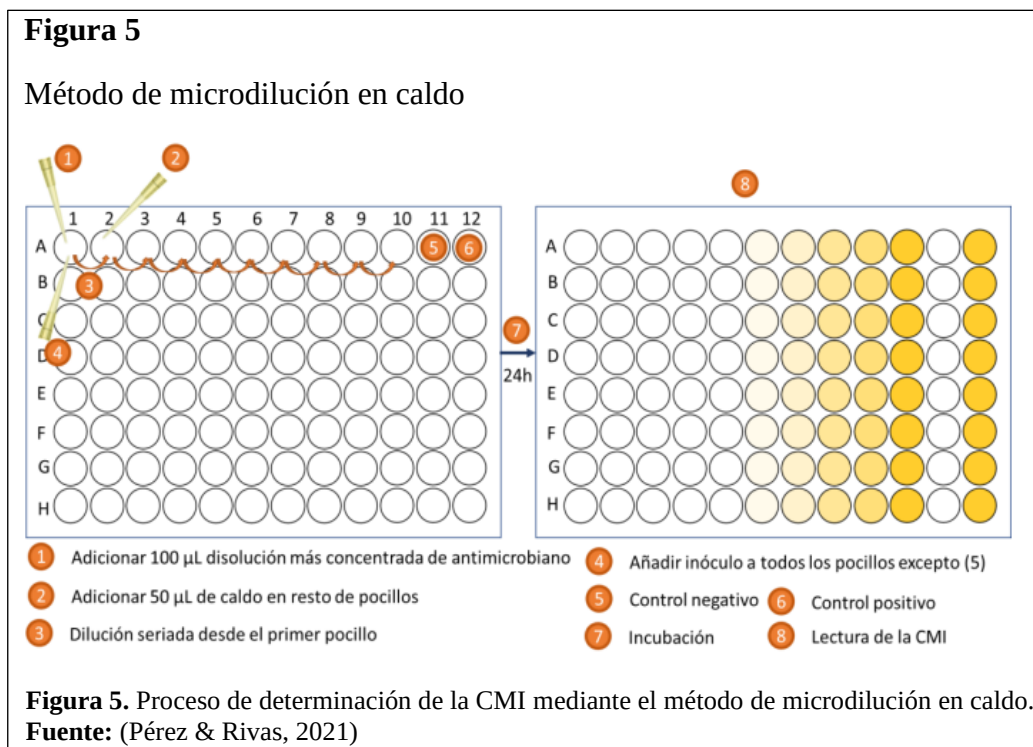
Los métodos de disolución en caldo o agar se emplean para medir cuantitativamente la acción “in vitro” de un antimicrobiano (antibióticos, extractos de plantas, etc.) frente a una siembra bacteriana (Malbrán, 2012). Consiste en la inoculación de cepas bacterianas de interés en

diferentes concentraciones de antimicrobiano para determinar su crecimiento en función del método empleado (Taroco et al., 2008).

1.5.2.1. Método de microdilución en caldo

Consiste en la determinación visual de la presencia o ausencia de un agente microbiano en un medio de cultivo en presencia de una de antimicrobiano. Se denomina “microdilución” porque utiliza placas multipocillo (véase Figura 5) para la determinación de turbidez (Pérez & Rivas, 2021).

En cada uno de los 96 pocillos de la placa se determinará el nivel de turbidez del microorganismo; es decir cuando la concentración del antimicrobiano inhibe completamente el crecimiento de la bacteria, el pocillo no presentará turbidez (Malbrán, 2012). Se recomienda que la concentración final en cada pocillo sea entre 1 y 5×10^4 ufc/mL y que los pocillos finales se retengan para evaluar el control negativo (sin inóculo) y el control positivo (sin antimicrobiano) (Pérez & Rivas, 2021).



1.6. Desinfectantes

Es un agente de naturaleza química que se emplea para limpiar la superficie de los alimentos y eliminar la mayoría de los microorganismos que pueden causar problemas de salud (SNGRE, 2020). Cabe destacar que este agente limpiador no elimina microorganismos esporulados como *Bacillus* (SSA, 2020) ya que siempre existirá materia orgánica imperceptible que interferirá con la acción del desinfectante (SUBREDES, 2018).

1.6.1. Desinfectantes alimentarios

Es una formulación que tiene por objetivo remover la suciedad y desinfectar productos de origen agropecuario como frutas, hortalizas y vegetales de riesgos biológicos (virus, parásitos, bacterias) (OIRSA, 2020). Este tipo de alimento puede contaminarse en cualquier momento durante su cadena productiva por la mala manipulación, almacenamiento o transporte (Paz, 2018).

Actualmente el mercado mundial oferta productos de origen químico y biológico para la correcta desinfección de alimentos de primera necesidad; sobre todo considerando el riesgo epidemiológico que atraviesan todos los países (OIRSA, 2020).

2. Materiales y métodos

2.1. Recolección del material vegetal

Se recolectó 1 kg de material vegetal (hojas) de uvilla en la provincia de Cotopaxi, cantón Saquisilí, barrio Piedra Colorada, en las coordenadas 0°49'36.6" S 78°40'01.2" W. En función a lo mencionado por (Cueva et al., 2017), donde explica que los monoterpenos y compuestos fenólicos como 1-hexanol, eucaliptol y 4-terpeno presentes en hojas y tallos de uvilla son los encargados de actuar como inhibidores de microorganismos, además la presencia de witanólicos y alcaloides como physoperuviana le otorgan la actividad antimicrobiana, antioxidante e insecticida a las hojas de uvilla (Mendoza et al., 2021).

De la misma forma se recolectó 1kg de material vegetal (hojas) de diente de león en la provincia de Pichincha, cantón Quito, parroquia de Guamaní, barrio Sierra Hermosa, en las coordenadas 0°19'27.497" S 78°33'31.615" W. Ya que (Chen et al., 2021), manifiesta que los extractos acuosos de las hojas de diente de león son eficaces contra microorganismos patógenos gracias a los terpenoides, glucósidos, taninos y metabolitos bioactivos que aceleran su tiempo de muerte (Lateef & Issah, 2012)

La colección del material vegetal se realizó durante el mes de septiembre de 2021 tomando en cuenta el tiempo de madurez de ambas plantas; con la finalidad de que las hojas tengan un tamaño considerable (véase Anexo 1).

2.2. Identificación y selección del material vegetal

Para la selección del material vegetal (hojas) se consideró hojas en buen estado; evitando plantas con síntomas de enfermedad o con alteración visible. Durante la recolección se utilizaron sacos de polipropileno limpios y secos para conservar la naturalidad del material seleccionado.

2.3. Secado y desinfección

Inicialmente se procedió a separar los restos biológicos ajenos a las hojas como tallos, palos, pelos, etc. Posteriormente se retira las muestras de tierra o polvo de las hojas y colocar el material vegetal en una tina con 5L agua potable y 240 mL de hipoclorito de sodio al 1 % por un tiempo aproximado 10 minutos, Posteriormente se lava las muestras de material vegetal hasta comprobar visualmente la ausencia de algún material extraño sobre las hojas.

Se colocó las hojas sobre lonas plásticas (gangocha) procurando que no se aglomeren una sobre la otra para conseguir un secado al sol uniforme (

Anexo 2). El tiempo aproximado de secado fue de dos semanas a una temperatura ambiente de 24,9 °C aproximadamente. Finalmente se colectó el material seco en fundas plásticas para su posterior tamizado.

2.4. Molienda y tamizaje

El proceso de molienda es el paso previo a la obtención de los extractos vegetales con el objetivo de disminuir el tamaño de las partículas de la muestra vegetal y permitir el paso del solvente en el tejido vegetal (Franklin, 2019).

Una molienda excesiva produce malas extracciones por la dificultad que presenta el solvente para ejecutar la acción de extracción. Una molienda muy fina puede ocasionar que pasen partículas durante la filtración o caso contrario que la filtración sea lenta y la pérdida del extracto muy alta (Codelco Chile, 2019).

Por tal razón, tanto las hojas de uvilla como de diente de león fueron trituradas en una licuadora Oster Xpert Series, procurando obtener partículas de 1cm aproximadamente (Salcedo et al., 2018; Vicharra & Castro, 2017) , que se reservaron sobre láminas de aluminio para no alterar las características biológicas de las hojas (véase Figura 6).

Figura 6

Proceso de molienda y tamizado

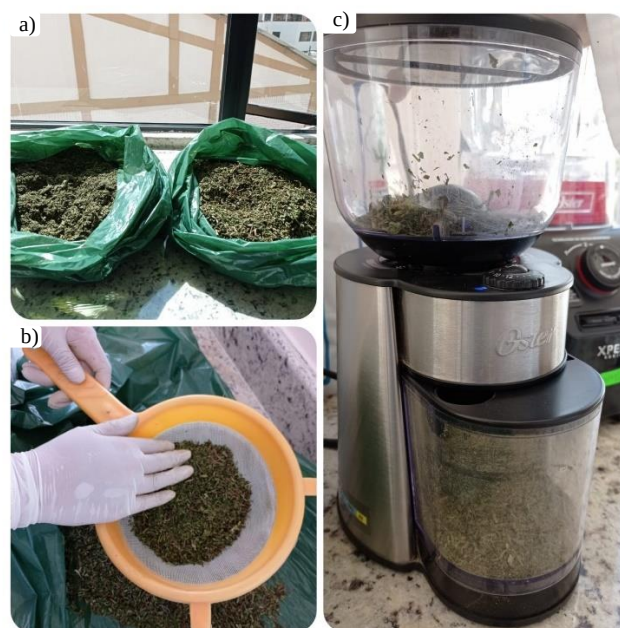


Figura 6. a) material vegetal seco, b) tamizaje de la droga, c) molienda

Elaborado por: (Las autoras, 2022)

2.5. Obtención de extractos fluidos

La selección del menstruo o disolvente es importante porque de este dependerá que el extracto contenga la mayor cantidad de constituyentes químicos de la planta. El proceso sucede cuando el solvente penetra las células vegetales de las hojas y elimina el aire contenido en el citoplasma, provocando que las moléculas extraíbles de la planta se adhieran a las moléculas del solvente (Carpintero & Salazar, 2014).

La extracción cuenta con tres etapas: penetración del solvente en la célula, dilución de las células extraíbles y fusión de la solución al exterior de la célula vegetal. Por otra parte, las variables que interfieren en el proceso de extracción son: el tamaño de la partícula, temperatura, naturaleza del solvente, tiempo de extracción y agitación (Ramírez et al., 2016).

La preparación de los extractos fluidos se realizó siguiendo el siguiente proceso (USP 30 - NF 25, 2007) :

- En una balanza semianalítica OHAUS (Scout Pro SP2001) se pesó 1kg del material vegetal previamente triturado, posteriormente se humectó por un periodo de 1 hora con 3000 mL de alcohol 96° Anexo 3).
- Una vez transcurrido este tiempo, se preparó el percolador comprobando que la llave de la parte descendente se abre correctamente y el flujo de salida no tenga ningún impedimento.

2.5.1. Percolación

El proceso de percolación permite la separación de extractos fluidos con solventes de alcohol o alcohol-agua. A partir de bibliografía se determinó que una concentración de alcohol potable del 96 % permite la correcta extracción de los principios activos de uvilla logrando obtener un extracto fluido que es igual de efectivo que las alternativas químicas utilizadas para actuar frente a las bacterias (Cueva et al., 2017), ya que el solvente conserva la actividad antibacteriana de las sustancias bioactivas presentes en las hojas de uvilla (Ivanova et al., 2019; Wu et al., 2006).

De la misma forma la concentración del 96 % de alcohol conserva la actividad antibacteriana de los principios activos contenidos en las hojas de diente de león, además de permitir la obtención de un extracto fluido que inhibe bacterias comunes transmitidas por la manipulación (Jassim et al., 2012; Tettey et al., 2014).

El procedimiento inicia colocando el material vegetal en el percolador junto con el solvente sobre una capa de algodón en el fondo a modo de tapón, siendo éste un elemento esencial para la filtración. Posteriormente se deja reposar de 24 hasta 48 horas y se obtiene el extracto hidroalcohólico que se concentrará en un rotavapor (Naviglio et al., 2019).

En la presente investigación se utilizó la técnica descrita en la Farmacopea de Estados Unidos (USP 30 - NF 25, 2007) para obtener un extracto hidroalcohólico a partir de una muestra seca (véase Figura 7) :

- Se coloca un 1kg de material vegetal humectado en un percolador de acero inoxidable de 500 L sobre una capa de algodón que se encuentra en la llave del percolador para sostener la muestra húmeda. Se añade 2000 mL del disolvente etanol 96 % hasta cubrir todo el material vegetal y se deja reposar por 24 horas
- Trascurrido el tiempo se recolectó el líquido en un vaso de precipitación de 500 mL y se trasvasó en frascos ámbar de 1L, que se refrigeraron por 24h.
- Posteriormente se concentró el extracto en un rotavapor BUCHI R-100 de 1000 mL a 40 °C y 40 rpm, hasta obtener un volumen de 250 mL.
- Se unieron las fracciones obtenidas de 250 mL cuatro veces, hasta obtener un total del extracto correspondiente a 1000 mL de cada especie, formando una concentración 1:1 del extracto fluido.
- Se midió el grado alcohólico de los extractos obtenidos hasta llegar al 70 %, un grado alcohólico antibacteriano (véase Anexo 2).
- Finalmente se colocaron los extractos en frascos ámbar de 1L y se conservaron en refrigeración hasta su respectivo análisis.

Figura 7
Proceso de obtención de los extractos fluidos



Figura 7. a) trasvasado del material humectado, b) material vegetal en reposo, c) extracto fluido de *T. officinale*
Elaborado por: (Las autoras, 2022)

2.6. Preparación de las formulaciones de *P. peruviana* y *T. officinale*

El extracto fluido de *P. peruviana* y *T. officinale* se diluyó con agua destilada hasta obtener tres concentraciones iniciales de 25 %, 50 % y 75 % en frascos ámbar con tapa de 25 mL; es decir tres formulaciones iniciales con tres diferentes concentraciones (véase Figura 8).

Tabla 3

Concentraciones iniciales

Concentración del extracto (%)	Extracto (mL)	Agua estéril (mL)	Volumen total (mL)
75	23,33	1,67	25
50	16,66	8,34	
25	8,33	16,67	

Nota. Cantidades necesarias de ambas soluciones para preparar las formulaciones iniciales

Elaborado por: (Las autoras, 2022)

Una vez realizadas las concentraciones iniciales se procedió a preparar las cinco formulaciones que serán evaluadas frente a *E. coli* y *Salmonella*; F1 y F2 se componen únicamente de la concentración de 50 % de cada planta, mientras que F3, F4 y F5 se prepararon con la mezcla de las concentraciones de 25 % y 75 % de *P. peruviana* y *T. officinale*. Es importante destacar

que las plantas de uvilla y diente de león tienen propiedades antibacterianas frente a las bacterias indicadas (Borrego & Alba, 2019; Montes, 2020) .

Tabla 4

Formulaciones finales para evaluación

Formulación	Especie	Concentración (%)	Volumen total (mL)
F1	uvilla	50	25
F2	diente de león	50	
F3	uvilla	25	
	diente de león	75	
F4	uvilla	75	
	diente de león	25	
F5	uvilla	50	
	diente de león	50	

Nota. Concentración y volumen final de las cinco formulaciones que se evaluarán por CMI

Elaborado por: (Las autoras, 2022)

Finalmente se conservan las formulaciones en refrigeración hasta el momento de su evaluación.



2.7. Determinación de la Concentración mínima inhibitoria (CMI)

Para determinar la actividad antimicrobiana se utilizó el método de dilución o microdilución en caldo en concentraciones de ug/mL de extractos de uvilla (*Physalis peruviana*) y diente de león (*Taraxacum officinale*) para comprobar la capacidad inhibitoria de sus principios activos sobre dos enterobacterias: *Escherichia coli*, y *Salmonella typhimurium* (Nonato et al., 2020; WHO, 2008).

2.7.1. Activación del hisopo KWIK-STICK™:

Para la activación de los hisopos de bacterias *Escherichia coli* ATCC® 25922™ y *Salmonella typhimurium* ATCC® 14028™ se siguió el procedimiento indicado por el fabricante (MicroBiologics, 2021):

Abrir con cuidado el sobre y sacar el hisopo, retirar la etiqueta removible y presionar la ampolla de la parte superior que contiene la bacteria ATCC para que moje el hisopo. Sacar el hisopo y sembrar inmediatamente en cajas Petri con medio Agar nutriente Difco™, finalmente colocar el hisopo en un tubo de ensayo con caldo TSB. Incubar por 24h a 37 °C en una incubadora MEMMERT, UV-VIS. Es importante mencionar que todo el procedimiento se realizó en cámara de flujo laminar para evitar cualquier tipo de contaminación.

2.7.2. Resiembra de las cepas ATCC (American Type Culture Collection)

Transcurrido el tiempo de activación del hisopo, se sembraron las bacterias de *E. coli* ATCC® 25922™ y *S. typhimurium* ATCC® 14028™ utilizando la técnica de estriado simple en cajas petri de plástico con medio Agar nutriente Difco™, posteriormente se incubó las cajas petri por 24 h a 37 °C (Rodríguez & Zhurbenko, 2018) .

2.7.3. Preparación del inóculo bacteriano

Luego de preparar la cámara de flujo laminar, se inicia realizando una suspensión directa de tres a cuatro colonias bacterianas aisladas de la placa con agar de *E. coli* ATCC® 25922™ y *S. typhimurium* ATCC® 14028™ de manera independiente, posteriormente con un asa bacteriológica se toma el microorganismo, se resuspende el inóculo en un tubo de ensayo de vidrio con 10 mL de medio líquido TSB (Tryptic Soy Broth) y se incuba el inóculo por 24 h a 37 °C (CLSI, 2018).

Trascurrido el tiempo necesario. Se diluye el inóculo con medio TSB estéril en un tubo de ensayo con tapa, se homogeniza el cultivo con ayuda de un Vortex Mixer K-gemmy por 3 minutos hasta conseguir una turbidez de 0,1 McFarland (Bermúdez et al., 2019; Matheus et al., 2016).

La concentración se confirmó y ajustó en un espectrofotómetro UV-VIS Shimadzu UV mini 1240 a una longitud de onda de 625 nm y una absorbancia entre 0,08 y 0,12.

2.7.4. Preparación del colorante cloruro de trifeniltetrazolio al 0,8% (TTC)

Se diluyó 80 mg del colorante TTC con 10 mL de agua estéril (fría) en un frasco ámbar de 125 mL recubierto con papel aluminio debido a que se trata de un reactivo fotosensible. Se homogeniza y refrigera durante 24h.

Figura 9
Preparación de la CMI

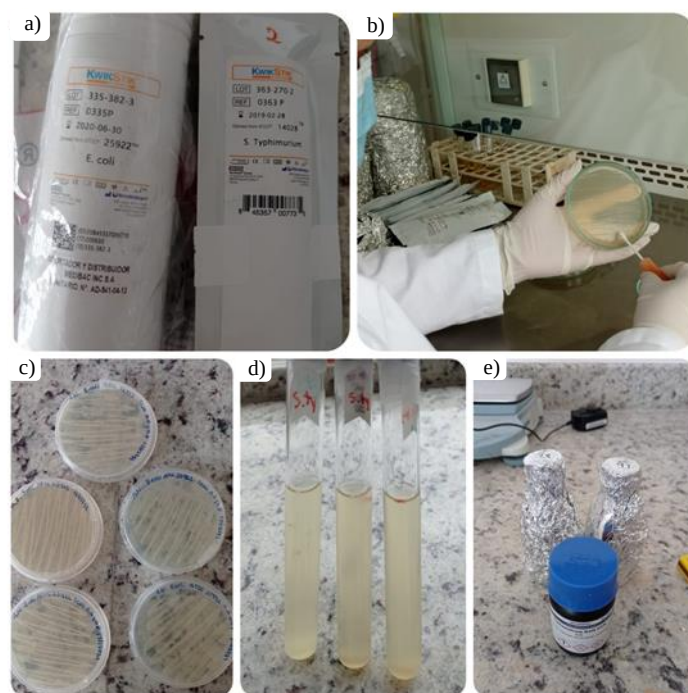


Figura 9. a), b) activación del hisopo, c) resiembras, d) preparación del inóculo, e) preparación del TTC
Elaborado por: (Las autoras, 2022)

2.7.5. Preparación de las microplacas de 96 pocillos

Para la técnica se utilizaron tres microplacas Falcon® de 96 pocillos estéril con tapa, donde se colocó un volumen final de 180 μ L en cada pocillo utilizando una micropipeta monocanal ThermoScientific® (10 a 100 μ L). Posteriormente se llenó la microplaca siguiendo el esquema de la Figura 10. Cada formulación se evaluó por duplicado, un control positivo y un control negativo.

Figura 10

Distribución de la microplaca

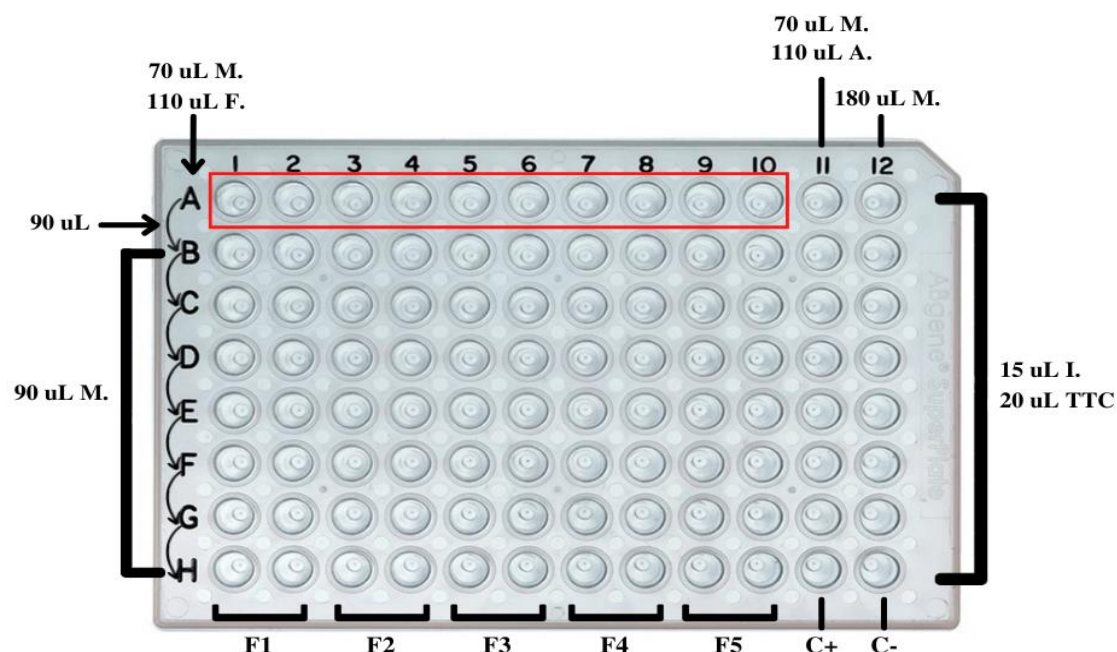


Figura 10. Distribución de la microplaca para evaluar las formulaciones

Nota. M (Medio TSB), F (Formulaciones), A (Alcohol), I (Inóculo), TTC (colorante), C+ (Control positivo), C- (Control negativo), F1 a F5 (cinco diferentes formulaciones)

Elaborado por: (Las autoras, 2022)

Se inicia llenando la fila (A) de la microplaca de la siguiente manera:

- En la fila A se coloca 70 μ L de medio Mueller Hinton y 110 μ L de extracto; es decir se llena con 180 μ L desde A1 a A10. Hay que tomar en cuenta que la evaluación de los extractos se hace por duplicado.
- A partir de la segunda fila en adelante (B-H) se colocó 90 μ L de medio Mueller Hinton y se traspasó 90 μ L de la fila A hacia la fila B siguiendo el mismo procedimiento hasta la fila H donde se desechó 90 μ L de la mezcla.

Para los controles se utilizaron la columna 11 (Control positivo) y columna 12 (Control negativo) donde se diluye el antibiótico y las cepas de interés como se detalla a continuación:

- En la columna 11 se coloca 70 μ L de medio Mueller Hinton y 110 μ L de alcohol potable de 70° como antibiótico.

- En la columna 12 se colocó 180 μL de medio Mueller Hinton

Posteriormente, se coloca 15 μL del inóculo en cada uno de los pocillos de la microplaca, obteniéndose un volumen final de 195 μL . Se cubre las placas con papel aluminio y se incuban a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ en una incubadora de agitación Tecnical TE-420 por 24 horas a 40 rpm.

Trascurrido el tiempo de incubación se coloca 20 μL de colorante TTC 0,8 % en cada pocillo y se incuba inmediatamente a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ por 1 hora a 40 rpm. Cabe mencionar que todo el proceso se realizó dentro de una cámara de flujo laminar estéril para evitar cualquier tipo de contaminación.

2.7.6. Análisis de Concentración mínima inhibitoria (CMI)

El análisis de inhibición se realiza de forma visual observando el cambio de color en cada pocillo considerando que el color rojo intenso indica la presencia de bacterias y que la inexistencia de color indica la inhibición de la bacteria (Mahmoud et al., 2019). En la presente investigación, la evaluación de la microplaca se realizó en función de la capacidad inhibitoria de las formulaciones frente a cada una de las bacterias de interés con ayuda del equipo de lectura Microplate Reader MRC (ELISA) a una longitud de onda de 450nm.

2.7.1. Análisis estadístico

El análisis estadístico se enfoca en la aplicación de un análisis estadístico de varianza (ANOVA) con un diseño experimental (DBCA) de bloques completamente al azar y un análisis multivariado de conglomerados de encadenamiento simple, para evaluar la actividad inhibitoria de las formulaciones de diente de león (*Taraxacum officinale*) y uvilla (*Physalis peruviana*) frente a *E. coli* ATCC® 25922™ y *S. typhimurium* ATCC® 14028™. Se utilizó el programa estadístico Infostat versión libre 2020 y se desarrolló pruebas Post Hoc de Duncan 5 %.

Figura 11

Preparación de la microplaca

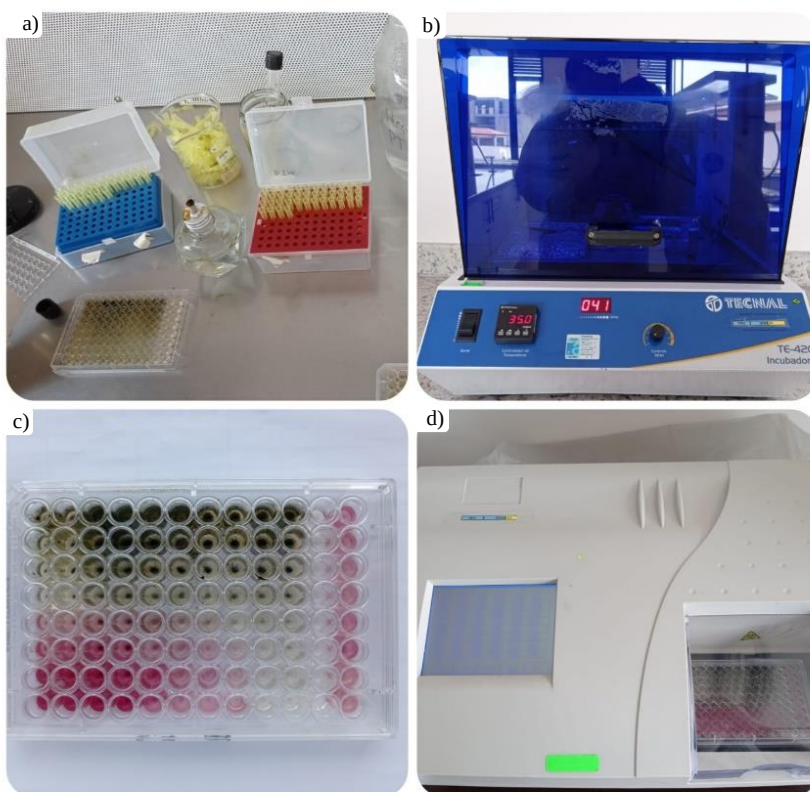


Figura 11. a) llenado de la microplaca, b) incubación, c) análisis de la microplaca, d) lectura de absorbancias

Elaborado por: (Las autoras, 2022)

3. Resultados y discusión

3.1. Obtención de extractos vegetales acuosos

Se obtuvo los extractos de diente de león (*T. officinale*) y uvilla (*P. peruviana*) mediante percolación usando las hojas limpias, secas y en buen estado (Rodríguez & Alvarez, 2021). Usando un percolador de 500 mL, se mantuvo en reposo las hojas tamizadas y humectadas con etanol al 96 % durante 48 horas para poder extraer el solvente en una relación 1:1. Finalmente se colocó en un rotavapor por aproximadamente dos horas hasta obtener una concentración del 100 % de la que se prepararon las diferentes formulaciones.

3.1.1. Preparación de las formulaciones

Se realizaron cinco formulaciones a partir de tres concentraciones iniciales de 25 %, 50 % y 75 %, para evaluar la capacidad inhibitoria de las formulaciones puras (solo con un extracto) y las formulaciones obtenidas de la combinación del extracto de diente de león y uvilla. Teóricamente las mezclas de extractos no presentan antagonismo puesto que sus hojas contienen flavonoides como apigenina en el diente de león (Tello et al., 2020) y catequina en la uvilla (Medina et al., 2020) que al estar en contacto mejoran su actividad antioxidante (Pineda et al., 2019) y antimicrobiana sin presentar efectos secundarios en su aplicación (Ramírez et al., 2016).

3.2. Determinación de la CMI de los extractos acuosos por el método de microdilución en caldo.

Para determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de las cinco formulaciones frente a *E. coli* ATCC® 25922TM y *S. typhimurium* ATCC® 14028 TM, se realizaron tres microplacas de cada una de las bacterias con el fin de obtener la mayor cantidad de datos y corroborar la efectividad de las diferentes formulaciones (véase Figura 12 y 13).

3.2.1. Evaluación de la CMI para *S. typhimurium* ATCC® 14028™

Se realizó una evaluación cualitativa donde se analizó la presencia o ausencia de crecimiento de *S. typhimurium* usando el revelador TTC en una concentración de 8 %, donde se evidencia el cese de crecimiento bacteriano desde la Fila A hasta la Fila E y que a partir de la Fila F hasta la Fila H se empieza a degradar el color verde intenso propio de la clorofila de los extractos, hasta tornarse en un violenta intenso debido a la inexistencia de actividad antibacteriana; es decir que el reactivo TTC (cloruro de trifeniltetrazolio) cumple una actividad deshidrogenasa, transformándose en 2,3,5 trifeniltetrazolio y provocando la revelación del color rojo o violeta en el citoplasma de las células bacterianas vivas (Myszograj et al., 2018). Por otro lado, el control positivo no presenta ninguna coloración, reafirmando el poder inhibitorio de las formulaciones a diferencia del control negativo donde todos los pocillos de la columna 12 están coloreados por el reactivo TTC (véase Anexo 7).

Figura 12

Resultados de Microdilución en Caldo para *S. typhimurium*

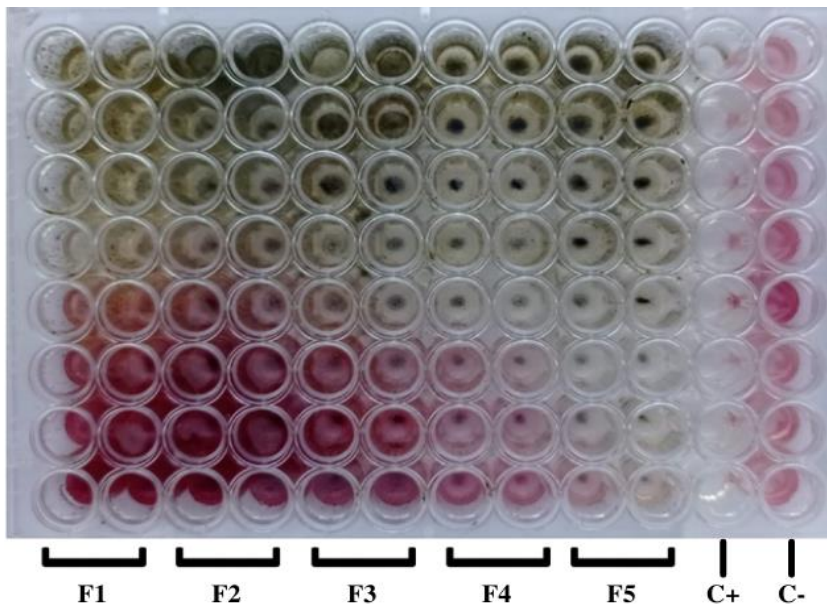


Figura 12. Resultado del grado de inhibición de los extractos de *T. officinale* y *P. peruviana* frente a *S. typhimurium*

Elaborado por: (Las autoras, 2022)

3.2.2. Evaluación de la CMI para *E. coli* ATCC® 25922™

La evaluación cualitativa de la microplaca de *E. coli* determinó que las formulaciones aplicadas desde F1 a F5 reportaron inhibición debido a la presencia de un notable color verde desde la Fila A hasta la Fila D (véase Figura 13) procedente del alto contenido de clorofila de los extractos de uvilla y diente de león. Por otro lado, a partir de la Fila E hasta la Fila H empieza a resaltar el color violeta debido a que la concentración de las formulaciones va disminuyendo progresivamente hasta llegar a la última fila. Estos resultados se reflejan porque, a mayor cantidad de extracto mayor será el nivel de inhibición bacteriana, ya que el cese de crecimiento depende de la concentración de principios activos (Kathare et al., 2021). Cabe destacar que en el control positivo no se evidencia presencia de crecimiento microbiano mientras que el control negativo la coloración violeta está presente en toda la columna (véase Anexo 8).

Figura 13

Resultados de Microdilución en Caldo para *E. coli*

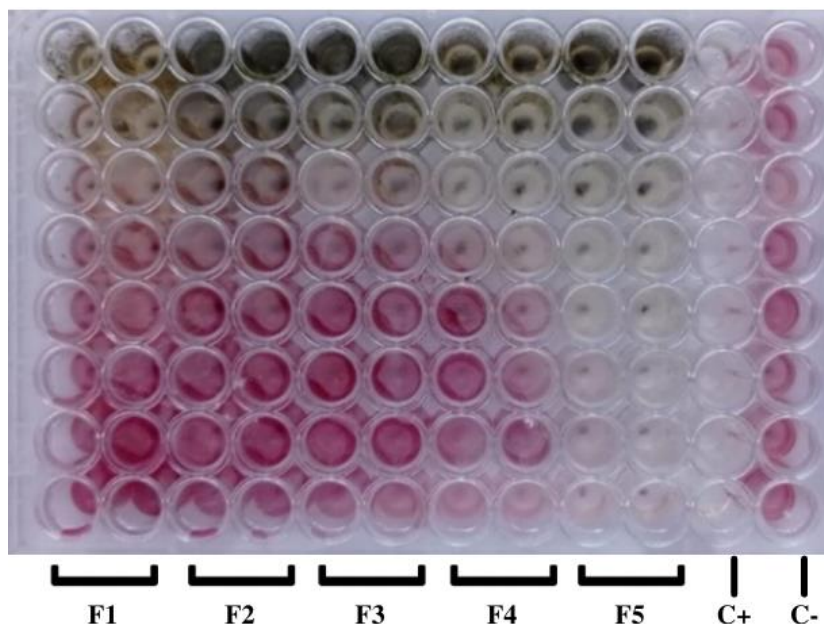


Figura 13. Resultado del grado de inhibición de los extractos de *T. officinale* y *P. peruviana* frente a *E. coli*

Elaborado por: (Las autoras, 2022)

Los resultados interpretativos de las microplacas afirman que los extractos de ambas especies poseen un alto grado de inhibición bacteriana puesto que el diente de león contiene una alta concentración de bioactivos antibacterianos contra bacterias gram negativas como: saponinas, taninos, flavonoides y alcaloides (Nazir, 2021) y la uvilla posee principios activos como flavonoides que fortalecen la actividad antimicrobiana de las formulaciones evaluadas en la presente investigación (Akhzari et al., 2021) .

3.3. Análisis cuantitativo del MIC

El análisis cuantitativo se realizó midiendo las absorbancias de cada una de las celdillas de la microplaca con ayuda del equipo Auto Microplate Reader MRC, donde se conoce que la absorbancia es directamente proporcional a la concentración bacteria, es decir; que un valor pequeño de absorbancia representa un porcentaje bajo de crecimiento microbiano o viceversa.

Como se ha mencionado previamente para el presente estudio se realizaron tres microplacas para cada bacteria, de las cuales se calculó el promedio de las absorbancias de cada formulación para facilitar el análisis de los datos (véase Tabla 5 y 6).

Posteriormente, se obtuvo el porcentaje de inhibición para *E. coli* ATCC® 25922™ y *S. typhimurium* ATCC® 14028™. Según (Doroteo et al., 2013) el porcentaje de inhibición se calcula con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ inhibición: } \frac{(A_o - A_m)}{A_o} \times 100$$

Donde:

A_o = Absorbancia del control negativo

A_m= Absorbancia de cada formulación

Como se observa en la Tabla 5 y 6 los porcentajes de inhibición más altos corresponden a las formulaciones F2 y F3, llegando hasta un 98 % de inhibición. Estos resultados fueron más altos en comparación con las tres formulaciones restantes que fluctúan entre 50 % y 90 %. Esto pudo ser ocasionado por el hecho de que F2 y F3 son formulaciones compuestas en gran parte por el extracto fluido de diente de León (véase Tabla 4), lo que corrobora el hecho de que el diente de león es eficaz contra microorganismos patógenos gracias a la variedad de sustancias bioactivas que componen la estructura química de sus hojas, logrando acelerar el tiempo de muerte de patógenos como *E. coli* y *Salmonella* (Chen et al., 2021).

Por otro lado, el porcentaje de inhibición para la F2 Y F3 para *E. coli* ATCC® 25922™ y *S. typhimurium* ATCC® 14028™ en las tres microplacas se mantienen, a diferencia de las demás formulaciones donde los porcentajes varían considerablemente, pero sin estar por debajo del 40 %. En general para los dos microorganismos, la dosis de formulación aplicada se considera como la concentración necesaria de extracto fluido para inhibir el crecimiento de al menos el 50 % de la población de microorganismos. Lo que comprueba que cualquier formulación puede ser efectiva a 25 %, 50 % y 75 % de concentración inicial.

Tabla 5

Lectura de absorbancias de la MIC obtenidas mediante el equipo Auto Microplate Reader para *E. coli* ATCC® 25922™

		MICROPLACA					
Especie	Formula	I		II		II	
		Abs	% Inhibición	Abs	% Inhibición	Abs	% Inhibición
EC	F1	0,77	54	0,51	42	0,45	45
EC	F2	0,023	98	0,016	98	0,017	98
EC	F3	0,033	97	0,031	96	0,054	93
EC	F4	0,55	67	0,48	45	0,29	65
EC	F5	0,2	78	0,38	57	0,4	51
EO	F0	0,96	0	0,88	0	0,82	0

Nota: EC (*E. coli*), EO (Testigo), F1 a F5 (Formulaciones) F0 (Testigo), Abs (absorbancias promedio)

Elaborado por: (Las autoras, 2022)

Tabla 6

Lectura de absorbancias de la MIC obtenidas mediante el equipo Auto Microplate Reader para *S. typhimurium* ATCC® 14028 TM

		MICROPLACA					
Especie	Formula	I		II		II	
		Abs	% Inhibición	Abs	% Inhibición	Abs	% Inhibición
ST	F1	0,067	93	0,3	68	0,22	75
ST	F2	0,016	98	0,016	98	0,017	98
ST	F3	0,018	98	0,019	98	0,024	97
ST	F4	0,078	92	0,81	91	0,093	89
ST	F5	0,096	90	0,094	90	0,092	90
S0	F0	0,92	0	0,95	0	0,88	0

Nota: ST (*S. typhimurium*), SO (Testigo), F1 a F5 (Formulaciones) F0 (Testigo), Abs (absorbancias promedio)

Elaborado por: (Las autoras, 2022)

3.4. Resultados del análisis estadístico

Para la evaluación estadística de los resultados se tomó como variable los resultados de absorbancias obtenidas con el equipo de lectura Auto Microplate Reader MRC (ELISA) tomando en cuenta las siguientes hipótesis.

- Hipótesis alternativa (**Ha**): Establece que el desinfectante natural obtenido de los extractos de uvilla y diente de león disminuyen la carga microbiana presente en frutas y vegetales.
- Hipótesis nula (**Ho**): Sostiene que los extractos obtenidos no cumplen con los análisis microbiológicos para formular un desinfectante con ingredientes naturales.

3.5. Análisis estadístico de varianza (ANOVA)

3.5.1. ANOVA del porcentaje de inhibición (Abs) de *E. coli* frente a las diferentes formulaciones.

Tabla 7

Análisis de varianza de las formulaciones frente a *E. coli* ATCC® 25922™

Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F. V	SC	Gl	CM	F	p-valor
Especie	0,19	1	0,19	11,19	0,0074
Formula	0,27	4	0,07	3,85	0,0380
Bloque	1,66	2	0,83	47,77	< 0,0001
Error	0,17	10	0,02		
Total	2,29	17			

Elaborado por: (Las autoras, 2022)

En el análisis de varianza de las formulaciones frente a *E. coli* ATCC® 25922™ (véase Tabla 5), se determina que existe inhibición de la bacteria debido a que el resultado obtenido en especie de 0,0074 y en fórmula es de 0,0380 son menores al valor de significancia de 0,05 de la prueba Duncan. Por lo tanto, se acepta la hipótesis alternativa.

Para determinar cuál es la fórmula que actúa de mejor manera frente a *E. coli* se realizó una comparación entre las fórmulas y la especie bacteriana mediante la prueba Duncan; los resultados obtenidos se muestran en las siguientes tablas.

Tabla 8

Resultados de comparación de la prueba Duncan, para evaluar la capacidad inhibitoria del testigo frente a *E. coli*

Test: Duncan Alfa = 0,05		
Especie	Medias	
EO	0,44	A
ET	0,72	B

Nota: ET (especie con tratamiento), EO (especie sin tratamiento).

Elaborado por: (Autoras, 2022)

Los resultados obtenidos entre en los grupos especie con tratamiento (ET) y especie sin tratamiento (EO) no comparten la misma letra, es decir que son significativamente diferentes. Estadísticamente se toma en cuenta el valor mayor de las medias para determinar el mejor grupo por lo tanto, se confirma que las formulaciones generan un efecto inhibitorio en el microorganismo dado a que el valor de su media es de 0,72.

Tabla 9

Resultados de comparación de la prueba Duncan, para determinar la mejor formulación frente a *E. coli*

Test: Duncan Alfa = 0,05		
Formula	Medias	
FO	0,44	A
F5	0,50	A
F1	0,63	A B
F4	0,78	B
F3	0,84	B
F2	0,84	B

Elaborado por: (Las autoras, 2022)

Al realizar la comparación de las cinco formulaciones frente al valor testigo (Control +) se confirma que la mejor formulación frente a *E. coli* ATCC® 25922™ es la F2 con un valor de 0,84, seguida de la F3 con un valor de 0,84 y F4 con 0,78 debido a que poseen las medias con mayor valor y son significativamente diferentes al no compartir una letra. La F2 se obtuvo a partir del extracto puro de diente de león a una concentración del 50 % (véase tabla 4).

3.5.1. ANOVA del porcentaje de inhibición (Abs) de *S. typhimurium* a las diferentes formulaciones.

Tabla 10

Análisis de varianza de las formulaciones frente a *S. typhimurium* ATCC® 14028™

Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F. V	SC	gl	CM	F	p-valor
Especie	0,43	1	0,43	38,38	0,0001
Formula	0,30	4	0,07	6,66	0,0070
Bloque	0,17	2	0,09	7,71	0,0094
Error	0,11	10	0,01		
Total	1,01	17			

Elaborado por: (Las autoras, 2022)

Los resultados del análisis de varianza de los tratamientos (formulaciones) frente a *S. typhimurium* (véase Tabla 8) se establece que existe actividad inhibitoria ya que el resultado obtenido en especie de 0,0001y en fórmula es de 0,070 son menores al valor de significancia de 0,05 de la prueba Duncan. Por lo tanto, se acepta la hipótesis alternativa afirmando que al menos una formulación inhibe el crecimiento de *S. typhimurium*.

Para conocer la fórmula que inhibe de mejor manera a *S. typhimurium* se ejecutó una comparación entre las fórmulas y la especie bacteriana mediante la prueba Duncan; los resultados obtenidos se muestran en las siguientes tablas.

Tabla 11

Resultados de comparación de la prueba Duncan, para evaluar la capacidad inhibitoria del testigo frente a *S. typhimurium*

Test: Duncan Alfa = 0,05		
Especie	Medias	
SO	0,10	A
ST	0,52	B

Nota: ST (especie con tratamiento), SO (especie sin tratamiento).

Elaborado por: (Las autoras, 2022)

La prueba Duncan revela que el valor de las medias de los grupos, entre especie con tratamiento (ST) y especie sin tratamiento (SO) no comparten la misma letra; por lo tanto, son significativamente diferentes. Estadísticamente el valor de la media mayor es de 0,52 que corresponde al grupo especie con tratamiento, lo que afirma que alguna de las formulaciones inhibe el crecimiento de *S. typhimurium*.

Tabla 12

Resultados de comparación de la prueba Duncan, para determinar la mejor formulación frente a *S. typhimurium*

Test: Duncan Alfa = 0,05			
Formula	Medias		
FO	0,10	A	
F5	0,33	B	
F4	0,42	B	C
F1	0,52	B	C
F3	0,57	C	
F2	0,74	D	

Elaborado por: (Las autoras, 2022)

Los resultados obtenidos al comparar las formulaciones con el testigo (Control +) se observa que no comparten una letra en común y los valores estadísticos de las medias mayores son: F2 con 0,74 y F3 con 0,57; lo que determina que todos los tratamientos son significativamente diferentes, pero que estadísticamente la mejor fórmula para inhibir el crecimiento de *S. typhimurium* es la F2, que contiene extracto puro de diente de león a una concentración del 50 % (véase tabla 4).

Cabe mencionar que en ambas especies se utilizó alcohol al 70 % como antibiótico de control y al compararlo con los valores de absorbancia obtenidos después de la aplicación de las formulaciones sobre las bacterias. Se puede afirmar que los principios activos presentes en los extractos de *T. officinale* y *P. peruviana* inhiben de manera satisfactoria a los microorganismos evaluados, ya que estadísticamente el valor del testigo no interfiere en el estudio porque presenta un valor en su media muy bajo.

3.6. Análisis multivariado de conglomerados de encadenamiento simple

Se realizó un análisis de conglomerados para corroborar los datos obtenidos por ANOVA y determinar si existe algún grado de semejanza entre las cinco formulaciones aplicadas sobre *E. coli* ATCC® 25922™ y *S. typhimurium* ATCC® 14028™.

3.6.1. Análisis de conglomerados frente a *E. coli* ATCC® 25922™

Tabla 13

Matriz de distancia euclídea para *E. coli*

Euclídea						
	EC: F1	EC: F2	EC: F3	EC: F4	EC: F5	EO: FO
EC: F1	0,00					
EC: F2	1,21	0,00				
EC: F3	1,18	0,02	0,00			
EC: F4	0,81	0,40	0,38	0,00		
EC: F5	0,76	1,97	1,94	1,57	0,00	
EC: FO	1,10	2,31	2,28	1,91	0,34	0,00

Nota: EC (*E. coli*), F1 a F5 (Formulaciones), FO (Testigo)

Elaborado por: (Las autoras, 2022)

Al realizar el análisis de la matriz de distancias, se observa que el menor valor corresponde a 0,02 con respecto a la F2 y F3. Lo que determina que la actividad antimicrobiana entre estas dos formulaciones es similar. Además, al observar la unión de grupos en el dendograma (véase Anexo 5), se confirma estadísticamente que éstas dos formulaciones actúan de forma similar frente a *E. coli*.

Tabla 14

Análisis de varianza de los conglomerados de *E. coli*

Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F. V	SC	gl	CM	F	p-valor
Conglomerado	0,45	2	0,22	1,82	0,1968
Error	1,84	15	0,12		
Total	2,29	17			

Elaborado por: (Las autoras, 2022)

El análisis de varianza de los conglomerados confirma el hecho de que no existe diferencia significativa entre las formulaciones aplicadas en *E. coli* debido a que el p-valor de 0,1968 es mayor al valor de significancia de 0,05 de la prueba Duncan. Es decir que, aunque inicialmente se haya comprobado que la mejor fórmula es F2, estadísticamente cualquiera de las formulaciones puede inhibir a *E. coli*.

Tabla 15

Resultado de comparación mediante la prueba Duncan para los conglomerados en *E. coli*

Test: Duncan Alfa = 0,05		
Conglomerado	Medias	
3	047	A
1	0,63	A
2	0,82	A

Nota: conglomerado 1(F1), conglomerado 2 (F2, F3, F4), conglomerado 3(F5y F0), F1 a F5 (cinco diferentes formulaciones), F0(testigo).

Elaborado por: (Las autoras, 2022)

En los resultados de la prueba de comparación Duncan al 95 %, se observa que los conglomerados comparten la misma letra, es decir que no existe diferencia significativa entre las formulaciones (véase Anexo 5) Análisis de conglomerados frente a *S. typhimurium* ATCC® 14028 TM

Tabla 16

Matriz de distancias euclídeas para *S. typhimurium*

Euclidea						
	SO:FO	ST: F1	ST: F2	ST: F3	ST: F4	ST: F5
SO: FO	0,00					
ST: F1	1,91	0,00				
ST: F2	2,91	1,00	0,00			
ST: F3	2,13	0,22	0,78	0,00		
ST: F4	1,44	0,47	1,47	0,69	0,00	
ST: F5	1,02	0,89	1,88	1,11	0,41	0,00

Nota: SC (*S. typhimurium*), F1 a F5 (Formulaciones), FO (Testigo)

Elaborado por: (Las autoras, 2022)

El análisis de la matriz de distancias para *S. typhimurium*, demuestra que el menor valor corresponde a 0,22 con respecto a la F1 y F3. Lo que determina que la actividad antimicrobiana entre estas dos formulaciones es similar. Además, al observar la unión de grupos en el dendograma (véase Anexo 6), se confirma estadísticamente que éstas dos formulaciones actúan de forma similar frente a *S. typhimurium*. Pero la F2 es la única formulación con una marcada distancia y sin unión de grupos. Lo que afirma los resultados del análisis ANOVA, donde se mencionaba que la mejor formulación frente a *S. typhimurium* era la F2 (véase Tabla 4).

Tabla 17

Análisis de varianza de los conglomerados de *S. typhimurium*

Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F. V	SC	Gl	CM	F	p-valor
Conglomerado	0,62	2	0,11	11,91	0,0008
Error	0,39	15	0,03		
Total	1,01	17			

Elaborado por: (Las autoras, 2022)

El análisis de varianza de los conglomerados de *S. typhimurium*, determina que existe diferencia significativa entre las formulaciones aplicadas sobre esta bacteria, ya que el p-valor de 0,0008 es menor al valor de significancia de 0,05 de la prueba Duncan. Se confirma estadísticamente que al menos una formulación actúa de mejor manera frente a *S. typhimurium*.

Tabla 18

Resultado de comparación mediante la prueba Duncan para los conglomerados de *S. typhimurium*.

Test: Duncan Alfa = 0,05		
Conglomerado	Medias	
1	0,10	A
2	0,46	B
3	0,74	C

Nota: conglomerado 1(F0), conglomerado2(F1, F3, F4, F5), conglomerado 3(F2), F1 a F5 (cinco diferentes formulaciones), F0(testigo).

Elaborado por: (Autoras, 2022)

En los resultados de la prueba de comparación Duncan al 95 %, se observa que los conglomerados no comparten letra, afirmando que existe diferencia significativa en las formulaciones evaluadas sobre *S. typhimurium*.; lo que se sustenta en los resultados del dendograma (véase Anexo 6) donde se observa que todas las formulaciones a excepción de la F2 forman conglomerados. Además, al observar el valor de las medias, el conglomerado tres con un valor de 0,74 confirma el hecho de que F2 es la fórmula con mejor grado de inhibición sobre *S. typhimurium*.

Algunas investigaciones realizadas sobre compuestos bioactivos que reportan actividad antimicrobiana principalmente sobre bacterias gram positivas, destacan el uso de plantas que contiene flavonas, flavonoides y flavonoles en procesos de latencia y muerte bacteriana (Moreno, 2014). El diente de león por su parte al estar compuesto por cumarinas, flavonoides, terpenos, etc. produce un efecto inhibitorio de amplio espectro frente a bacterias conocidas como *E. coli*, provocando la inhibición de la concentración de ATP intracelular y la disminución de la expresión de genes virulentos que ocasionan el crecimiento de bacterias (Jiang, 2021). Un estudio realizado sobre la actividad antibacteriana del extracto acuoso y etanólico de las hojas de *T. officinale* revela que en concentraciones superiores al 50 % de extracto puro, el efecto inhibitorio en bacterias como *E. coli*, *K. pneumoniae* y *S. aureus* se sitúa entre el 96 % y 97 % (Kenny et al., 2014; Lateef & Issah, 2012), como en el caso del presente estudio donde la formula F2 y F3 presentaron valores de inhibición bacteriana entre el 96 % y 98 % confirmando la premisa de que los extractos de las hojas de diente de león son un potencial inhibitorio que podría utilizarse para desinfección de alimentos (Mashi et al., 2019).

En el caso de *S. typhimurium* la F2 presentó valores de inhibición de 98 %; resultados similares a un estudio donde se compara el etanol de 70 % con extractos de diente de león, donde el porcentaje de inhibición para *S. aureus* y *S. typhimurium* fue de un 89 % en una concentración igual al etanol (Díaz et al., 2018), convirtiendo a esta planta en la alternativa más eficaz en el tratamiento de desinfección alimentaria; principalmente en vegetales y frutas (González et al., 2012; Valenzuela et al., 2019).

Por su parte, la uvilla (*Physalis peruviana*) posee actividad antioxidante y antibacteriana gracias a la presencia de flavonoides captadores de radicales libres que actúan potencialmente en las bacterias gram positivas y de manera selectiva en las gram negativas como: *E. coli* (Yehia et al., 2022) y aunque la gran mayoría de los componentes volátiles y fenólicos de la uvilla son detectados en partes de la planta como: la raíz y el fruto (Ertürk et al., 2017), se ha demostrado

que los extractos de las partes aéreas de la uvilla son más eficientes (Bamigboye et al., 2021); en la presente investigación la fórmula F3 conformada por el 25 % de uvilla logró un porcentaje de inhibición del 98 % tanto en *E. coli* como en *S. typhimurium*, porcentaje similar al obtenido en un estudio de inhibición de bacterias presentes en comedores escolares, donde se determinó que en concentraciones de 65 % el extracto de esta especie ejerce su actividad antibacteriana y sugiriendo su uso como alternativa potencial en el manejo de ETA's (Muñoz et al., 2021; Singh et al., 2019), cabe considerar que la F4 conformada por el 75 % de extracto de uvilla presentó un porcentaje de inhibición de 90 % en *S. typhimurium*; mientras que para *E. coli* fue del 60 %, resultado similar al de una investigación realizada sobre diferentes enterobacterias donde el menor porcentaje de inhibición fue en *E. coli* y *K. pneumoniae* debido a las características de su membrana celular (Favian Bayas et al., 2020); en este caso la adición de compuestos bioactivos como lactonas, ácidos fenólicos, cumarinas y triterpenos permitirían que el un efecto antibacteriano sea más eficaz y de acción rápida como en el caso de la F2 (Göztok & Zengin, 2015) .

Es importante destacar que el grado de inhibición de las diferentes formulaciones depende del proceso de obtención de los extractos vegetales, pero en el caso de *T. officinale* y *P. peruviana* los extractos fluidos siempre muestran una actividad antibacteriana considerable frente a otras técnicas, este supuesto se comprobó en un estudio enfocado en la resistencia de bacterias a múltiples antibacterianos donde el extracto fluido de uvilla mostro actividad antibacteriana contra la mayoría de cepas estudiadas debido a que la composición del extracto retiene de mejor manera los componente bioactivos de la planta (Bayas et al., 2020); de la misma forma los extractos fluidos de diente de león presentan mayor cantidad de principios activos a medida de que su concentración aumenta, provocando que el grado de inhibición de bacterias también lo haga (Chen et al., 2021; Díaz et al., 2018).

La búsqueda constante de alternativas naturales que permitan disminuir el impacto ambiental y sobre todo que sean compatibles con productos alimenticios seguirá siendo una necesidad inherente en el mercado del mundo. En este sentido la formulación de un desinfectante natural a partir de los extractos fluidos de *T. officinale* y *P. peruviana* representa una alternativa económicamente viable frente a productos de origen químico que pueden llegar ser nocivos para el ser humano, no solo por su efecto antioxidante, sino también porque son biodegradables, no dejan residuos sobre los alimentos ni les conferirá un olor, color o sabor particular (Sánchez et al., 2015).

Finalmente, a partir de esta investigación se comprueba el potencial que pueden llegar a tener algunas especies vegetales que son consideradas como rastreras o mala hierba y que han pasado desapercibidas en el tiempo, por otra parte; la riqueza vegetal que posee nuestro país en biodiversidad y como en el caso de *T. officinale* y *P. peruviana* sigue siendo un tema amplio de investigación que promete cambios a nivel académico, profesional y productivo.

Conclusiones

El presente estudio demuestra que *T. officinale* y *P. peruviana* tienen un gran potencial como ingredientes de origen natural en sustitución de los aditivos sintéticos utilizados en la formulación de productos de limpieza alimentaria, con la posibilidad de utilizarlos como agentes antimicrobianos.

Se comprobó que el efecto inhibitorio de las formulaciones obtenidas a partir de diente de león y uvilla fue efectivo frente a *E. coli* ATCC® 25922™ y *S. typhimurium* ATCC® 14028™ debido a que el porcentaje de inhibición para las dos bacterias se sitúan entre un 98 %.

El análisis simple de conglomerados determinó que no existen diferencias entre las formulaciones; es el análisis estadístico ANOVA el que permitió comprobar que la mejor formulación frente a *E. coli* ATCC® 25922™ fue la F2; ya que con un valor de 0,82 en su media se afirma que esta formulación es significativamente diferente a las demás.

Las cinco formulaciones preparadas con 100µL de extracto fluido de *T. officinale* y *P. peruviana* tiene un elevado potencial antibacteriano contra las dos enterobacterias evaluadas en este estudio, pues el valor de las absorbancias permitió evidenciar que el porcentaje de inhibición estuvo situado entre 40 % y 98 %. Porcentajes que afirman que los desinfectantes naturales pueden suplir a los desinfectantes artificiales que se ofertan hoy en día en el mercado ecuatoriano.

Se determinó que la mejor formulación para *S. typhimurium* es F2 con un 98 % de inhibición, mientras que para *E. coli* la formula F2 y F3 logra alcanzar un porcentaje de inhibición del 97 %; es decir que tanto la F2 como la F3 corresponden a las fórmulas con potencial más promisorio para inhibir el crecimiento bacteriano.

Recomendaciones

Evaluar el comportamiento de las formulaciones F3, F4 y F5 y determinar la existencia de antagonismo o sinergismo de la mezcla de compuestos de *T. officinale* y *P. peruviana* para validar el uso seguro de las mezclas con fines terapéuticos.

Replicar este estudio *in vivo* para fortalecer los resultados obtenidos a nivel de laboratorio, considerando variables como el tiempo de aplicación del desinfectante.

Evaluar la diferencia entre los extractos obtenidos de las hojas de uvilla que crecen al aire libre y de aquellas que se mantienen en invernadero, con el fin de conocer la concentración de principios activos según sus condiciones de crecimiento.

Realizar un estudio fitoquímico de los compuestos bioactivos presentes en las hojas de diente de león para corroborar diversas premisas ligadas a su actividad antimicrobiana.

Bibliografía

- Aguirre, Z., Jaramillo, N., & Quizhpe, W. (2019). Arvenses asociadas a cultivos y pastizales del Ecuador. *UNL*, 1, 216. https://unl.edu.ec/sites/default/files/archivo/2019-12/ARVENSES ASOCIADOS A CULTIVOS Y PASTIZALES DEL ECUADOR_compressed.pdf
- Akhzari, A., Nasrollai, Z., Yazdanpanah, M., Abolhasani, A., & Abolhasani, H. (2021). Antifungal Evaluation of Aqueous and Ethanolic Extract of Iranian Dandelion Root, Compared With Fluconazole and Nystatin. *Qom Univ Med Sci J*, 15(1), 20–27. <https://doi.org/10.52547/qums.15.1.20>
- ANMAT. (2003). Farmacopea Argentina 7° Ed. *ANMAT - INAME*, I(7), 447–450. http://www.anmat.gov.ar/webanmat/fna/flip_pages/Farmacopea_Vol_I/files/assets/downloads/publication.pdf
- ANMAT. (2019). Enfermedades transmitidas por alimentos. *INAL -ANMAT*, 2(1), 1–3. <http://www.anmat.gov.ar/alimentos/eta.pdf>
- Araujo, L., Vimos, K., Cruz, R., Falconí, F., Rojas, L., & González, A. C. (2020). Componentes químicos y actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Lasiocephalus ovatus* (Asteraceae) que crece en Ecuador. *Acta Biológica Colombiana*, 25(1), 22–28. <https://doi.org/10.15446/abc.v25n1.75728>
- Argote, F., Suarez Montenegro, Z., Tobar Delgado, M., Pérez Alvarez, J., Hurtado, A., & Delgado Ospina, J. (2017). Evaluación de la capacidad inhibitoria de aceites esenciales en *staphylococcus aureus* y *escherichia coli*. *Biotechnología En El Sector Agropecuario y Agroindustrial: BSAA*, 15(2), 52–60. [https://doi.org/10.18684/bsaa\(v15\)edicionespecialn2.578](https://doi.org/10.18684/bsaa(v15)edicionespecialn2.578)
- Bamigboye, C. O., Fatoki, I. O., Yakubu, O. F., & Biodun, R. (2021). Antimicrobial activity and phytochemical analysis of some selected plants against clinical pathogens. *Tropical Journal of Natural Product Research*, 5(4), 732–738. <https://doi.org/10.26538/tjnpr/v5i4.22>
- Bayas, F, Tigre, A., Ruilova, M., & Rivelino, R. (2018). Actividad antibacteriana de extractos de *Physalis peruviana* L. contra cepas de *Salmonella* Spp. aisladas de carnes. *Edit. Universitat Rovira i Virgili*, 1(Especial), 172–173.
- Bayas, Favian, Tigre, A., Tapia, M., & Flores, F. (2020). Antibacterial Activity of Golden Berry (*Physalis Peruviana*) Extract Against *Escherichia Colispp*. Isolates From Meats in Ecuador. *International Journal of Current Pharmaceutical Research*, 12(2), 115–118. <https://doi.org/10.22159/ijcpr.2020v12i2.37506>
- Bergeron, C. R., Prussing, C., Boerlin, P., Daignault, D., Dutil, L., Reid-Smith, R. J., Zhanel, G. G., & Manges, A. R. (2012). Chicken as reservoir for extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* in humans, Canada. *Emerging Infectious Diseases*, 18(3), 415–421. <https://doi.org/10.3201/eid1803.111099>
- Bermúdez, M. J., Granados, F., & Molina, A. (2019). Composición química y actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Psidium guajava* y *Cymbopogon citratus*. *Agronomía Mesoamericana*, 1(6), 147–163. <https://doi.org/10.15517/am.v30i1.33758>
- Bilia, A. R., Piazzini, V., Asprea, M., Risaliti, L., Vanti, G., & Bergonzi, M. C. (2018). Plants

- Extracts Loaded in Nanocarriers: An Emergent Formulating Approach. *Natural Product Communications*, 13(9), 1934578X1801300.
<https://doi.org/10.1177/1934578X1801300914>
- Bonilla, H., Carbajal, Y., Siles, M., & López, A. (2019). Diversidad genética de tres poblaciones de *Physalis peruviana* a partir del fraccionamiento y patrón electroforético de proteínas de reserva seminal. *Revista Peruana de Biología*, 26(2), 243–250.
<https://doi.org/10.15381/rpb.v26i2.16370>
- Borrego, J., & Alba, J. (2019). Evaluación del efecto bactericida del extracto etanólico *Taraxacum officinale* en microorganismos formadores de biopelícula por el método de alamar-azul. *Revista Mexicana de Industria y Salud*, 1(10), 8–12.
- Branchu, P., Bawn, M., & Kingsley, R. A. (2018). Genome variation and molecular epidemiology of salmonella enterica serovar Typhimurium Pathovariants. *Infection and Immunity*, 86(8). <https://doi.org/10.1128/IAI.00079-18>
- Bueso, M., Valvidia, G., & Diddey, B. (2018). Importancia de la Inocuidad de Alimentos. *Texas Tech*, 5, 1–2.
- Cacak, G., Dziki, D., Gawlik-Dziki, U., Sulek, A., Kalisz, S., & Sujka, K. (2021). Effect of the Addition of Dried Dandelion Roots (*Taraxacum officinale* F. H. Wigg.) on Wheat Dough and Bread Properties. *Molecules*, 26(24), 7564.
<https://doi.org/10.3390/molecules26247564>
- Calvo, I. (2009). El cultivo de la uchuva. *INIA*, I(noviembre), 105–117.
<http://hdl.handle.net/20.500.12324/30474>
- Canales, C., Vio, T., Espinoza, E., & Carvallo, N. (2021). La inocuidad alimentaria como parte de una vida. *ACHIPIA*, 1, 8–14.
- Cano, C., & Sánchez, V. (2017). Análisis de la tendencia de infecciones debidas a Salmonella en los últimos dos años en la Zona 3, Cotopaxi y Tungurahua. *UEM*, 1, 10–18.
[http://repositorio.unemi.edu.ec/bitstream/123456789/3624/1/ANÁLISIS DE LA TENDENCIA DE INFECCIONES DEBIDAS A SALMONELLA EN LOS ÚLTIMOS DOS AÑOS EN LA ZONA 3 CANO Y SANCHEZ.pdf](http://repositorio.unemi.edu.ec/bitstream/123456789/3624/1/ANÁLISIS%20DE%20LA%20TENDENCIA%20DE%20INFECCIONES%20DEBIDAS%20A%20SALMONELLA%20EN%20LOS%20ÚLTIMOS%20AÑOS%20EN%20LA%20ZONA%203%20CANO%20Y%20SANCHEZ.pdf)
- Carpintero, N., & Salazar, M. E. (2014). Evaluación del efecto anticelulítico de una formulación cosmética a base de extracto alcohólico foliar de Guayusa , *Ilex guayusa* Loes (AQUIFOLIACEAE). *UPS*, 1(2), 1–131.
<http://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/7358>
- Casares, G., & Unfried, E. (2020). Boletín terapéutico. *CCSS*, 27, 40–67.
<https://www.binasss.sa.cr/27.pdf>
- Cáseres, M. F. (2020). Extracción. *UNLP*, 1, 3–11. [www.ing.unlp.edu.ar > catedras > descargar](http://www.ing.unlp.edu.ar/catedras/)
- Chacha, G. (2018). Evaluacion de la actividad antimicrobiana “ in vitro”del extracto etanolico de las hojas de *Taraxacum officinale*. *Universidad Regional Antonoma de Los Andes*, 1, 38–98. <https://dspace.uniandes.edu.ec/bitstream/123456789/8751/1/PIUAMFCH011-2018.pdf>
- Chen, K., Wu, W., Hou, X., Yang, Q., & Li, Z. (2021). A review: antimicrobial properties of several medicinal plants widely used in Traditional Chinese Medicine. *Food Quality and Safety*, 5(1), 22. <https://doi.org/10.1093/fqsafe/fyab020>

- CLSI. (2018). Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. *CLSI Standard M07*, 11, 91.
https://clsi.org/media/1928/m07ed11_sample.pdf
- Codelco Chile. (2019). MOLIENDA. *Codelcoeduca*, II(1), 1–5.
https://www.codelcoeduca.cl/codelcoeduca/site/artic/20190109/asocfile/20190109005343/molienda_media_t_cnico_060119.pdf
- Crosley, L., Henríquez, J. M., Parra, F., Pacheco, P., Escobar, H., & Parra, C. (2019). Rescate del cultivo de Goldenberry (*Physalis peruviana*) en los Andes del norte de Chile. *Idesia (Arica)*, 37(4), 115–118. <https://doi.org/10.4067/S0718-34292019000400115>
- Cuenca, P., Montaña, L. A., Villarreal, J. M., & Wiesner, M. (2020). Caracterización molecular y fenotípica de aislamientos clínicos de *Salmonella Typhimurium* variante monofásica (1,4,[5],12:i:-) recuperados en Colombia. *Biomédica*, 40(4), 722–733.
<https://doi.org/10.7705/biomedica.5417>
- Cueva, M. B., León, R. A., López, M. M., Yanchaliquín, A., Bayas, I. F., & Sanaguano, H. (2017). Antibacterial Effects of Uvilla (*Physalis peruviana* L.) extracts against *Listeria* spp. Isolated from Meat in Ecuador. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(4), 1146–1153. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.604.141>
- De la Osa, M., Reyes, K., Reyes, U., Perea, A., Luévanos, A., Hernández, I., Sandoval, M., Zempoalteca, E., Saavedra, S., & Avila, A. (2017). Sensibilidad antimicrobiana de cepas de *Streptococcus pneumoniae*. Período 2012-2015, en niños menores de 6 años que cursaron con neumonía. *Revista Médico-Científica de La Secretaría de Salud Jalisco*, 3(4), 161–167. <http://www.medigraphic.com/pdfs/saljalisco/sj-2017/sj173c.pdf>
- Díaz, K., Espinoza, L., Madrid, A., Pizarro, L., & Chamy, R. (2018). Isolation and Identification of Compounds from Bioactive Extracts of *Taraxacum officinale* Weber ex F. H. Wigg. (Dandelion) as a Potential Source of Antibacterial Agents. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2018, 1–8.
<https://doi.org/10.1155/2018/2706417>
- Doroteo, V. H., Terry, C., Díaz, C., Vaisberg, A., & Rojas, R. (2013). Compuestos fenólicos y actividad antioxidante in vitro de 6 plantas peruanas. *Rev Soc Quím Perú*, 78(4), 254–263.
- Dostert, N., Roque, J., Cano, A., La Torre, M. I., & Weigend, M. (2012). Hoja botánica : Aguaymanto. *Botconsult GmbH*, I(junio), 16.
http://www.botconsult.com/downloads/Hoja_Botanica_Aguaymanto_2012.pdf
- Ertürk, Ö., Çol Ayvaz, M., Can, Z., Karaman, Ü., & Korkmaz, K. (2017). Antioxidant, antimicrobial activities and phenolic and chemical contents of *Physalis peruviana* L. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*, 51(3), S213–S216.
<https://doi.org/10.5530/ijper.51.3s.15>
- Fariñas, M. C., & Martínez, L. (2013). Infecciones causadas por bacterias gramnegativas multirresistentes: enterobacterias, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* y otros bacilos gramnegativos no fermentadores. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 31(6), 402–409. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2013.03.016>
- Fernández, M., Silva, P., Costa, M., Galli, L., & Bruno, E. (2019). Evaluación del poder inhibitorio de extractos obtenidos de plantas medicinales sobre enterobacterias patógenas de importancia en Salud Pública. *Analecta Veterinaria*, 39(2), 36–40.

<https://doi.org/10.24215/15142590e040>

- Fischer, G., Almanza-Merchán, P. J., & Miranda, D. (2014). Importancia y cultivo de la uchuva (*Physalis peruviana* L.). *Revista Brasileira de Fruticultura*, 36(1), 01–15. <https://doi.org/10.1590/0100-2945-441/13>
- Franklin, L. (2019). Evaluación del efecto hipoglicemiante del extracto de hojas de Chapuca o Uvilla Silvestre (*Physalis peruviana*) en ratas (*Rattus norvegicus*) con hiperglicemia inducida". *ESPOCH*, 1, 101. [http://dspace.esepoch.edu.ec/bitstream/123456789/3810/1/56T00493 UDCTFC.pdf](http://dspace.esepoch.edu.ec/bitstream/123456789/3810/1/56T00493%20UDCTFC.pdf)
- Gallón, M., Eraso, S. K., & Cortés, M. (2021). Avances tecnológicos en el proceso de transformación de la uchuva: una revisión. *Revista Facultad de Ciencias Básicas*, 16(1), 7–18. <https://doi.org/10.18359/rfcb.5019>
- García, R., & Rodríguez, J. (2021). Plantas medicinales antivirales: una revisión enfocada en el COVID-19 - Dialnet. *Medicina Naturista*, 15(1), 38–45. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=7747849>
- Gengaihi, S. E., Hassan, E. E., Hamed, M. A., Zahran, H. G., & Mohammed, M. A. (2013). Chemical Composition and Biological Evaluation of *Physalis peruviana* Root as Hepato-renal Protective Agent. *Journal of Dietary Supplements*, 10(1), 39–53. <https://doi.org/10.3109/19390211.2012.760509>
- Gimenez, L. A. S., Rivas, M. A., Vignale, N. D., & Gurni, A. A. (2021). Caracterización micrográfica de tres frutas tropicales, *Musa paradisii* L., *Physalis peruviana* L. y *Persea americana* Mill. Importancia en el control de calidad botánico de alimentos derivados. *Polibotánica*, 51(enero), 155–170. <https://doi.org/10.18387/polibotanica.51.10>
- Gonzales, A. (2004). Obtencion de aceites esenciales y extractos etanolico de plantas del Amazonas. *UNAL*, 1(4), 5–7. <https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/2800/angelaandreagonzalezvilla.2004.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- González, S., González, R., & Hilario, A. (2018). Comparación de tres métodos de extracción de compuestos volátiles de mango (*Mangifera indica* L.). *Universo de La Tecnológica*, 10(2), 8–10.
- González, M., Visioli, F., & Rodriguez, A. (2012). Diverse biological activities of dandelion. *Nutrition Reviews*, 70(9), 534–547. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.2012.00509.x>
- Göztok, F., & Zengin, F. (2015). The antimicrobial activity of *Physalis peruviana* L. *Bitlis Eren University Journal of Science and Technology*, 3(1), 15–15. <https://doi.org/10.17678/beuscitech.47134>
- Guerra, E. A. (2015). Obtención, caracterización y evaluación de las propiedades físicoquímicas de los extractos fluidos, blandos y secos así como de las tinturas del rizoma y de la fronda de calahuala (*phlebodium pseudoaureum*) a nivel de laboratorio. *UDG*, 1(1), 55–60. http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/08/08_0951_Q.pdf
- Hernández, A., Mendoza, H., Hernández, M. Á., Chaloupková, P., & Fernández-Cusimamani, E. (2021). Estudio etnobotánico del uso de las plantas medicinales en la comunidad indígena Pijao en Natagaima, Colombia. *Boletín Latinoamericano y Del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 20(5), 482–495. <http://www.blacpma.ms-editions.cl/index.php/blacpma/article/view/198>

- Hurtado, J., Castañeda, R., & Albán, J. (2021). Medicinal Asteraceas in two Andean communities in southern Peru: Quinoa (Ayacucho) and Lircay (Huancavelica). *Boletín Latinoamericano y Del Caribe de Plantas Medicinales y Aromaticas*, 20(4), 351–366. <https://doi.org/10.37360/blacpma.21.20.4.26>
- Ivanova, T., Popova, V., Mazova, N., Stoyanova, A., & Damyanova, S. (2019). Extracts from physalis leaves (*Physalis peruviana* L.) for prospective application in medicine and cosmetics. *Ukrainian Food Journal*, 8(1), 34–44. <https://doi.org/10.24263/2304-974X-2019-8-1-5>
- Jassim, A. K. N., Farhan, S. A., & Noori, O. M. (2012). Identification of Dandelion *Taraxacum officinale* Leaves Components and Study Its Extracts Effect on Different Microorganisms. *Journal of Al-Nahrain University Science*, 15(3), 7–14. <https://doi.org/10.22401/jnus.15.3.02>
- Jiang, W. (2021). *Antibacterial Activity of Taraxacum officinale against Foodborne Pathogens*. 1–8.
- Jiménez, E. M., Moreno-Vera, A. N., Villacís-Calderón, A. C., Rosado-Sabando, J. K., Moreira, D. M. M., & Bravo, A. D. B. (2019). Ethnobotanical study and commercialization of medicinal plants in the Murocomba protected forest and its influence area in the Valencia Canton, Ecuador. *Ciencia Tecnologia Agropecuaria*, 20(3), 491–506. https://doi.org/10.21930/rcta.vol20_num3_art1597
- Kathare, J. M., Mbaria, J. M., Nguta, J. M., Moriasi, G. A., & Mainga, A. O. (2021). Antimicrobial Efficacy, Cytotoxicity, Acute Oral Toxicity, and Phytochemical Investigation of the Aqueous and Methanolic Stem Bark Extracts of *Bridellia micrantha* (Hochst.) Baill. *Pharmacognosy Journal*, 13(5), 1248–1256. <https://doi.org/10.5530/pj.2021.13.158>
- Kenny, O., Smyth, T. J., Walsh, D., Kelleher, C. T., Hewage, C. M., & Brunton, N. P. (2014). Investigating the potential of under-utilised plants from the Asteraceae family as a source of natural antimicrobial and antioxidant extracts. *Food Chemistry*, 161, 79–86. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.03.126>
- Khan, A., Arif, K., Munir, B., Kiran, S., Jalal, F., Qureshi, N., Hassan, S., Soomro, G., Nazir, A., Ghaffar, A., Tahir, M., & Iqbal, M. (2018). Estimating Total Phenolics in *Taraxacum officinale* (L.) Extracts. *Polish Journal of Environmental Studies*, 28(1), 497–501. <https://doi.org/10.15244/pjoes/78435>
- Kiflu, B., Alemayehu, H., Abdurahaman, M., Negash, Y., & Eguale, T. (2017). Salmonella serotypes and their antimicrobial susceptibility in apparently healthy dogs in Addis Ababa, Ethiopia. *BMC Veterinary Research*, 13(1), 134. <https://doi.org/10.1186/s12917-017-1055-y>
- Kuklinski, C. (2003). Estudios de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. *OMEGA*, 1, 20–24.
- Kwon, T., Chung, S., Jung, Y.-H., Jung, S.-J., Roh, S.-G., Park, J.-S., Kim, C.-H., Kim, W., Bak, Y.-S., & Cho, S.-H. (2017). Comparative genomic analysis and characteristics of NCCP15740, the major type of enterotoxigenic *Escherichia coli* in Korea. *Gut Pathogens*, 9(1), 55. <https://doi.org/10.1186/s13099-017-0204-y>
- Lateef, O., & Issah, Y. (2012). Screening ethanolic and aqueous leaf extracts of *Taraxacum officinale* for in vitro bacteria growth inhibition. *Journal of Pharmaceutical and*

- Linares, N. (2013). Plantas Medicinales. *UPA MADRID*, 1(6), 60–67.
http://www.fademur.es/_documentos/ponencias/Ponencia_Fademur_farmacia_OK.pdf
- Lis, B., & Olas, B. (2019). Pro-health activity of dandelion (*Taraxacum officinale* L.) and its food products – history and present. *Journal of Functional Foods*, 59, 40–48.
<https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.05.012>
- Lock, Oiga, & Rojas, R. (2015). Química y Farmacología de *Physalis peruviana* L. ('Aguaymanto'). *Revista de Química*, 19(2), 65–70.
- Lock, Olga, Perez, E., Villar, M., Flores, D., & Rojas, R. (2016). Bioactive compounds from plants used in peruvian traditional medicine. *Natural Product Communications*, 11(3), 315–337.
- López, S. (2021). Conociendo de cerca los ingredientes fitogénicos. *ANDERSEN*, 1, 2–3.
<https://andersensa.com/wp-content/uploads/2021/05/Conociendo-de-cerca-los-ingredientes-fitogenicos.pdf>
- Lukman, C., Yonathan, C., Magdalena, S., & Waturangi, D. E. (2020). Isolation and characterization of pathogenic *Escherichia coli* bacteriophages from chicken and beef offal. *BMC Research Notes*, 13(1), 8. <https://doi.org/10.1186/s13104-019-4859-y>
- Mahmoud, B. S., ElMasry, S. A., Fahim, N. A. E. M. M., Abd ElSattar, M. A., & Shaker, O. A. (2019). Detection of antibiotic susceptibility by colorimetric minimum inhibitory concentration in staphylococcal isolates. *Journal of Applied Microbiology*, 127(3), 693–700. <https://doi.org/10.1111/jam.14347>
- Malbrán, C. (2012). Métodos de determinación de sensibilidad antimicrobiana por dilución. *Clinical and Laboratory Standards Institute*, 32(2), 3.
<http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2012/11/04-DETERMINACION-DE-LA-SENSIBILIDAD-METODO-DE-DILUCION-2012.pdf>
- Martínez, E., Valenzuela, M., Díaz Peralta, K., Jorquera, L., & Chamy Maggi, R. (2019). *Taraxacum* Genus: Potential Antibacterial and Antifungal Activity. In *Herbal Medicine* (Vol. 32, Issue July, pp. 137–144). IntechOpen.
<https://doi.org/10.5772/intechopen.71619>
- Mashi, J. A., Abubakar, S. M., & Gadanya, A. M. (2019). Nutritional and Pharmacological Potential of Ethanol Leaves Extract of *Taraxacum officinale*. *Asian Biol*, February, 1–9.
- Matheus, P., Araque, J., Belandria, O., & Durán, J. (2016). Espectrofotometría de Absorción Molecular Ultravioleta como una herramienta para estudiar el crecimiento de Las Cepas ATCC 25922 Y ATCC 35218 de *Escherichia Coli*. *Acta Bioclínica*, 6(11), 44–59.
- Medina, I., Colmenero, A., Naranjo, N., Ávila, J. A., & Almaraz, N. (2020). Salinity increases the contents of flavonoids, anthocyanins and the hypoglycemic potential of tomatillo (*Physalis ixocarpa*). *CUCBA*, 2(1), 21–29. <http://e-cucba.cucba.udg.mx/index.php/e-Cucba/article/download/144/140/405>
- Mendoza, L. A., Villamarín, W. P., Cotrino, A. S., Ramírez, J. G., Chávez, C. C., Restrepo, H., & Gómez, S. (2021). Physiological Response of Cape Gooseberry Plants to *Fusarium oxysporum* f. sp. *physali*, Fusaric Acid, and Water Deficit in a Hydroponic System. *Frontiers in Plant Science*, 12. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.702842>

- Mensoza, J., Biler, S., & Reyes, L. (2020). Inocuidad alimentaria de los alimentos preparados, que se consumen en la ciudad de Manta. *Polo de Cononimiento*, 5(9), 11–15.
<https://doi.org/10.23857/pc.v5i9.1683>
- Meza, D., & Morales, S. (2020). Identificación, serotipificación y determinación del perfil de sensibilidad de Salmonella enterica aisladas de cloacas de tortugas de orejas rojas (Trachemys sp) en cautiverio, Perú. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Perú*, 31(4), 122. <https://doi.org/10.15381/rivep.v31i4.19022>
- MicroBiologics. (2021). Instrucciones de uso. *KWIK-STICK™*, 4, 3–7.
https://www.microbiologics.com/core/media/media.nl?id=530&c=915960&h=fe0261b9ecb4cb8f6a9c&_xt=.pdf
- Montes, M. M. (2020). Efecto antimicrobiano de extractor y aceites esenciales de Uvilla (Physalis peruviana L.) sobre bacterias aisladas (Arcobacter, Salmonella y E. Coli) pertenecientes al banco de microorganismos de la Universidad Estatal de Bolivar. *UEB*, 1, 2020. <http://www.dspace.ueb.edu.ec/bitstream/123456789/3450/1/PROYECTO DE INVESTIGACION.pdf>
- Moreno, C., Moreno, R., Pilamala, A. A., Molina, J. I., & Cerda, L. (2019). Sector hortofrutícola de Ecuador: Principales características socio-productivas de la red agroalimentaria de la uvilla (Physalis peruviana). *Ciencia y Agricultura*, 16(1), 31–51.
<https://doi.org/10.19053/01228420.v16.n1.2019.8809>
- Moreno, N. (2014). Compración teórica de tres desinfectantes de origen químico, con desinfectantes y extractos de origen natural. *Javeriana*, 39(1), 1–15.
<https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/58036/tesis Nathalia Moreno.pdf?sequence=1>
- Muñoz, L. E. (2018). Diente de León. *ESCENA*, 2, 178–188.
<https://doi.org/10.15517/es.v0i0.35615>
- Muñoz, P., Parra, F., Simirgiotis, M. J., Sepúlveda Chavera, G. F., & Parra, C. (2021). Chemical Characterization, Nutritional and Bioactive Properties of Physalis peruviana Fruit from High Areas of the Atacama Desert. *Foods*, 10(11), 2699.
<https://doi.org/10.3390/foods10112699>
- Myszograj, S., Bydalek, F., & Pluciennik-Koropczuk, E. (2018). Evaluation of seasonal activity of various bacteria in a constructed wetland using AT4 and TTC tests. *DESALINATION AND WATER TREATMENT*, 134, 188–198.
<https://doi.org/10.5004/dwt.2018.22840>
- Naviglio, D., Scarano, P., Ciaravolo, M., & Gallo, M. (2019). Rapid solid-liquid dynamic extraction (RSLDE): A powerful and greener alternative to the latest solid-liquid extraction techniques. *Foods*, 8(7), 245. <https://doi.org/10.3390/foods8070245>
- Nazir, I. (2021). Antibacterial activity of medicinal flowers against multi drug resistant E. coli. *The Pakistan Veterinary Journal*, 41(01), 166–168.
<https://doi.org/10.29261/pakvetj/2021.019>
- Nonato, C., Leite, D., de Carvalho, N., de Lima, S., Rodrigues, F., & da Costa, J. (2020). Chemical characterization and evaluation of antioxidant and antimicrobial properties of the pulp oil of fruits of Mauritia flexuosa L. f. *Boletín Latinoamericano y Del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 19(4), 408–419.
<https://doi.org/10.37360/blacpma.20.19.4.28>

- OIRSA. (2020). Guía para uso de cloro en desinfección de frutas y hortalizas de consumo fresco , equipos y superficies en establecimientos Dirección Regional de Inocuidad de los Alimentos. *Dirección Regional de Inocuidad de Los Alimentos*, 1(2), 15. <https://www.oirsa.org/contenido/2020/Guia para uso de cloro como desinfectante en establecimientos 23.06.2020.pdf>
- OMS. (2020). Inocuidad de los alimentos. *Organización Mundial de La Salud*, 6, 5. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/food-safety>
- Ortez, J. H., & Rankin, I. D. (2005). Manual de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana. In *Manual de Pruebas de Susceptibilidad Antimicrobiana*. <https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2005/susceptibilidad-antimicrobiana-manual-pruebas-2005.pdf>
- Palacios, M. (2013). Texto digital de Farmacognosia y Fitoquímica. In *Escuela de Farmacia y Bioquímica: Vol. I*. https://issuu.com/leono/docs/farmacognosia_y_fitoqu__mica_tf/36
- Paz, M. (2018). Higiene y seguridad alimentaria. *CITA*, 2, 575–583. <http://ctic-cita.es/fileadmin/redactores/cticcita/FORMACION/MANUAL DE MANIPULADOR ALIMENTOS-SECTOR HOSTELERIA Y RESTAURACION.pdf>
- Perea, M., Rodríguez, N., Fishcer, G., Velásquez, M., & Micán, Y. (2010). Uchuva *Physalis peruviana* L. (Solanaceae). In *Biotechnología aplicada al mejoramiento de los cultivos de frutales tropicales* (Issue January, pp. 466–490). https://www.researchgate.net/publication/257765328_Uchuva_Physalis_peruviana_L_Solanaceae
- Pérez, E., & Rivas, A. (2021). Determinación de la sensibilidad de los microorganismos frente a antimicrobianos de origen natural y la concentración mínima inhibitoria por métodos fenotípicos. *Universitat Politècnica de València*, 1(2), 8–10. <http://hdl.handle.net/10251/16761>
- Pfingstgraf, I. O., Taulescu, M., Pop, R. M., Orăsan, R., Vlase, L., Uifalean, A., Todea, D., Alexescu, T., Toma, C., & Pârnu, A. E. (2021). Protective Effects of *Taraxacum officinale* L. (Dandelion) Root Extract in Experimental Acute on Chronic Liver Failure. *Antioxidants*, 10(4), 504. <https://doi.org/10.3390/antiox10040504>
- Pineda, D., Salucci, M., Lázaro, R., Maiani, G., & Ferro-Luzzi, A. (2019). Antioxidant capacity and synergistic potential among the main antioxidant components of some food. *Revista Cubana Alimentación y Nutrición*, 13(2), 104–111. <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/lil-271072?lang=es>
- Prakash, B., Kedia, A., Mishra, P. K., & Dubey, N. K. (2015). Plant essential oils as food preservatives to control moulds, mycotoxin contamination and oxidative deterioration of agri-food commodities - Potentials and challenges. *Food Control*, 47, 381–391. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.07.023>
- Public Health England. (2020). Principles and practice recommendations for the public health management of gastrointestinal pathogens 2019. *Chartered Institute of Environmental Health*, 1, 85. https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/861382/management_of_gastrointestinal_infections.pdf
- Ramírez, D., Moreno, M., Curbelo, C., & Crespo, L. (2016). Influencia del tamaño de partícula y la velocidad de agitación sobre el rendimiento de pectina Influence of the

- particle size and the stirring speed over the pectin yield. *Revista Cubana de Farmacia*, 50(1), 98–105. <http://scielo.sld.cu>
- Ramírez, M. I., Vargas, R., Torres, B., Torrecano, G., & Sánchez, A. (2016). Extractos de hojas de plantas para conservar la carne y los productos cárnicos frescos. *Revista de Ciencias Biológicas y de La Salud*, 2, 155–164.
<https://biotecnia.unison.mx/index.php/biotecnia/search/search?csrfToken=3e14518089f0c6b259b929bfd69361a5&query=EXTRACTOS+DE+HOJAS+DE+PLANTAS+PARA+CONSERVAR+LA+CALIDAD+DE+LA+CARNE+Y+LOS+PRODUCTOS+CÁRNICOS+FRESCOS.+REVISIÓN>
- Renobales, J., & Sallés, G. (2001). Plantas de interés farmacéutico. *Universidad Del País Vasco/Euskal Herriko Unibertsitatea*, 1.
<http://www.ehu.eus/documents/1686888/3913390/60.+Taraxacum+officinale.pdf>
- Rodríguez, C., & Zhurbenko, R. (2018). Manual de medios de cultivo. *BioCen*, 4, 15–20.
<https://www.biocen.cu/wp-content/uploads/2021/05/Manual-MC-2018.pdf>
- Rodríguez, P., & Arenas, R. (2018). Hans Christian Gram y su tinción. *Dermatología Cosmética, Medica y Quirúrgica*, 16(2), 166–167.
<https://www.medigraphic.com/pdfs/cosmetica/dcm-2018/dcm182n.pdf>
- Rodríguez, R., & Alvarez, N. Y. (2021). Actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de *Calendula officinalis* L. *Revista ION*, 34(1).
<https://doi.org/10.18273/revion.v34n1-2021008>
- Román, M., Rivera, C., Cardona, L., Muñoz, L., Gomez, D., Passaro, C., & Quiceno, J. M. (2016). Guía de extracción por fluidos super críticos: Fundamentos y aplicaciones. *SENNOVA*, 1, 48.
https://repositorio.sena.edu.co/bitstream/handle/11404/4698/guia_extraccion_fluidos_supercriticos.pdf?sequence=1
- Roth, J. R. (2001). Salmonella. In *Encyclopedia of Genetics* (pp. 1766–1768). Elsevier.
<https://doi.org/10.1006/rwgn.2001.1148>
- Ruiz, L., Castellanos, D., & Jair, I. (2018). El cultivo de la uchuva (*Physalis peruviana* L.). *Revista Científica Agroecosistemas*, 6(1), 46–53.
<https://aes.ucf.edu.cu/index.php/aes/article/view/163>
- Ruiz, M. (2020). Métodos físicos de separación, obtención de extractos e hidrodestilación. *Chemical Engineering Science*, 1(9), 3–5.
[https://bonga.unisimon.edu.co/bitstream/handle/20.500.12442/7991/Guía de Métodos Físicos de Separación_Obtención de Extractos e Hidrodestilación.pdf?sequence=1&isAllowed=y#:~:text=Existen diferentes métodos como son,extractos y%20Fo aceites esenciales.](https://bonga.unisimon.edu.co/bitstream/handle/20.500.12442/7991/Guía%20de%20Métodos%20Físicos%20de%20Separación_Obtención%20de%20Extractos%20e%20Hidrodestilación.pdf?sequence=1&isAllowed=y#:~:text=Existen%20diferentes%20métodos%20como%20son,extractos%20y%20aceites%20esenciales.)
- Ryan, K., & Ray, G. (2017). Microbiología médica. *MC Graw Hill*, 6.
<https://accessmedicina.mhmedical.com/book.aspx?bookid=3057>
- Sacsaquispe, R. E., & Velásquez, J. (2002). *Manual de procedimientos anual para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión*.
http://www.ins.gob.pe/insvirtual/images/otrpubs/pdf/manual_sensibilidad_2.pdf
- Sáiz, M. J., & López, N. (2011). Obtención y aplicación de extractos naturales. *Centro Nacional de Tecnología y Seguridad Alimentaria*, 1(6), 1–44.

- Salcedo, E., Arvizu, M. D. L., Vargas, J. D. J., Vargas, O., Bernabe, A., & Barrientos, L. (2018). Contenido mineral y tamizaje fitoquímico en *Physalis chenopodifolia* Lam. en condiciones de desarrollo. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, 6(28), 58–73. <https://doi.org/10.29298/rmcf.v6i28.269>
- Sánchez, R., Silva, M., Jiménez, R., & Zea, O. (2015). Efecto de Desinfectantes químicos y extractos de plantas sobre la carga bacteriana en Carcasas de Cuyes (*Cavia porcellus*). *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Perú*, 26(2), 235. <https://doi.org/10.15381/rivep.v26i2.11013>
- Santamaría, C., Martín González, A., & Astorga, F. (2015). Extractos vegetales, aplicacion para la reducción del estrés. *NutriNews*, 1, 75–80.
- Seni, O. (2017). Detection of Shiga Toxigenic *Escherichia coli* (STEC) and Enteropathogenic (EPEC) strains based on multiplex PCR. *La Técnica: Revista de Las Agrociencias*, 2(1), 78–79. https://revistas.utm.edu.ec/index.php/latecnica/15_pag_78-89
- Sierra y Selva Exportadora. (2021). Análisis de mercado, aguaymanto 2015 - 2020. *Unidad de Inteligencia Comercial*, I, 52. <https://cdn.www.gob.pe/uploads/document/file/1720425/Análisis de Mercado del Aguaymanto.pdf>
- Silva, F., & Martínez, P. (2018). Complejo enterobacter cloacae. *Revista Chilena de Infectologia*, 35(3), 297–298. <https://doi.org/10.4067/s0716-10182018000300297>
- Singh, N., Singh, S., Maurya, P., Arya, M., Khan, F., Dwivedi, D. H., & Saraf, S. A. (2019). An updated review on physalis peruviana fruit: Cultivational, nutraceutical and pharmaceutical aspects. *Indian Journal of Natural Products and Resources*, 10(2), 97–110.
- SIVE. (2020a). Enfermedades transmitidas por agua y alimentos ECUADOR, SE 23, 2020. *MSP*, II(2), 6.
- SIVE. (2020b). Enfermedades transmitidas por agua y alimentos en Ecuador. *MSP*, 43(2), 1–3. https://www.salud.gob.ec/wp-content/uploads/2018/11/gaceta_etasSE30.pdf
- SIVE. (2021a). Enfermeades transmitidas por agua y alimentos en Ecuador SE 03,2021. *MSP*, I(2), 6.
- SIVE. (2021b). Enfermedades transmitidas por agua y elimentos ECUADOR,SE,01,2021. *MSP*, I(2), 5.
- SNGRE. (2020). Protocolo para el procedimiento de limpieza y desinfeccion de espacio público y vías. *ARCSA*, 1(4), 1–7. https://www.gestionderiesgos.gob.ec/wp-content/uploads/2020/04/2._protocolo_para_el_procedimiento_de_limpieza_y_desinfeccion_de_espacio_público_y_vías.pdf
- Soto, Z., Pérez, L., & Estrada, D. (2016). Bacterias causantes de enfermedades transmitidas por alimentos: Una mirada en Colombia. *Salud Uninorte*, 32(1), 105–122. <http://www.scielo.org.co/pdf/sun/v32n1/v32n1a10.pdf>
- SSA. (2020). Reducción de riesgos asociados al uso de productos plaguicidas y desinfectantes. *Minsalud Perú*, 1(5), 19. <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/VS/PP/abece-plaguicidas-desinfectantes.pdf>

- Stein, M., Olocco, P., Macaya, H., & Haske, A. (2017). Productos naturales, nutrición y productos cosméticos. *Farmacobotánica*, 33 (1), 86.
<http://www.dominguezia.org/volumen/articulos/33108.pdf>
- SUBREDES. (2018). Recomendaciones sobre aseo y desinfección de superficies ambientales para la prevención de IAAS. In *Gobierno de Chile* (pp. 1–9). <https://www.minsal.cl/wp-content/uploads/2019/03/Circular-N-10-2019-Recomendaciones-sobre-Aseo-y-Desinfección-de-Superficies-Ambientales-para-la-Prevención-de-IAAS.pdf>
- Taroco, R., Seija, V., & Vignoli, R. (2008). Métodos de estudio de la sensibilidad antibiótica. *Bacterología y Virología Médica*, 3(4), 663–671.
- Tello, J. M. T., Hernández, O. D. L., Betancourt, Y. P., Bonilla, V. E. R., & Carpio, C. M. (2020). Anti-inflammatory and cytotoxic potential of an aqueous extract from taraxacum officinale (Dandelion). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 25(2).
- Tenorio, M. L. O. (2017). *Exploring the potential of nn Andean fruit: An interdisciplinary study on the Cape Gooseberry (Physalis peruviana L.) value chain*.
<http://library.wur.nl/WebQuery/wurpubs/512023>
- Tetty, C. O., Ocloo, A., Nagajyothi, P. C., & Lee, K. D. (2014). Antioxidant Activity of Solvent Fractions of Taraxacum officinale (Dandelion) Leaves. *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*, 20(4), 329–340. <https://doi.org/10.1080/10496475.2013.871382>
- USP 30 - NF 25. (2007). Farmacopea de los Estados Unidos. *USP*, I, 1202–1207.
- Valenzuela, E., Martínez, M., Díaz, K., Jorquera, L., & Chamy, R. (2019). Taraxacum Genus: Potential Antibacterial and Antifungal Activity. In *Herbal Medicine* (Vol. 11, Issue tourism, p. 13). IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.71619>
- Vicharra, A., & Castro, A. (2017). Polifenoles y actividad antioxidante del extracto alcohólico de Taraxacum officinale. *Científica*, 14(1), 25–35.
- Viteri, C., Iza, P., & Moreno, C. (2020). Inseguridad alimentaria en hogares ecuatorianos durante el confinamiento por COVID-19. *Investigación & Desarrollo*, 12, 1–9.
<https://revistas.uta.edu.ec/erevista/index.php/dide/article/download/985/917/>
- Whalley, S. (2020). Farmacognosia general. *UCC*, I, 7–12.
https://campusvirtual.ucc.edu.ar/pluginfile.php/565476/course/summary/FARMACOGNOSIA_GENERAL_2020.pdf
- WHO. (2008). Foodborne disease outbreaks : guidelines for investigation and control. *World Health Organization*, 1, 162. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/43771>
- Wu, S.-J., Ng, L.-T., Lin, D.-L., Huang, S.-N., Wang, S.-S., & Lin, C.-C. (2004). Physalis peruviana extract induces apoptosis in human Hep G2 cells through CD95/CD95L system and the mitochondrial signaling transduction pathway. *Cancer Letters*, 215(2), 199–208. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2004.05.001>
- Wu, S. J., Tsai, J. Y., Chang, S. P., Lin, D. L., Wang, S. S., Huang, S. N., & Ng, L. T. (2006). Supercritical carbon dioxide extract exhibits enhanced antioxidant and anti-inflammatory activities of Physalis peruviana. *Journal of Ethnopharmacology*, 108(3), 407–413.
<https://doi.org/10.1016/j.jep.2006.05.027>
- Xicay, E., & Roca, A. (2018). Manual de plantas medicinales: Descripción y aplicación. *ASECSA*, I, 45. <https://asecsaguatemala.org/2018/wp-content/uploads/2019/07/Libro->

- Yehia, M., Elkhadragy, F., Shebl, R., Al-masoud, H., & El-din, F. (2022). Control some foodborne pathogens, contaminated bacteria and fungi by fabrication calyx cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.) nanoparticles. *Food Science and Technology*, 42, 1–6. <https://doi.org/10.1590/fst.116021>
- Yilmaztekin, M. (2014). Analysis of Volatile Components of Cape Gooseberry (*Physalis peruviana* L.) Grown in Turkey by HS-SPME and GC-MS. *The Scientific World Journal*, 2014, 1–8. <https://doi.org/10.1155/2014/796097>
- Zavala, D., Quispe, A., Posso, M., Rojas, J., & Vaisberg, A. (2006). Efecto citotóxico de *Physalis peruviana* (capulí). *An Fac Med Lima*, 67(4), 283–289.
- Zuñiga, I., & Caro, J. (2017). Enfermedades transmitidas por los alimentos: Una mirada puntual para el personal de salud. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología*, 37(3), 1–10.

Anexos

Anexo 1

Recolección del material vegetal



Anexo 1: a) Recolección de *T. officinale* b) Recolección de *P. peruviana*, c) Hacienda Chambapongo - Cotopaxi

Elaborado por: (Las autoras, 2022)

Anexo 2

Proceso de secado de las hojas



Anexo 2: Secado de las hojas de uvilla

Elaborado por: (Las autoras, 2022)

Anexo 3

Humectación de la muestra vegetal



Anexo 3. a) Humectación con alcohol, b) reposo del material humectado
Elaborado por: (Las autoras, 2022)

Anexo 4

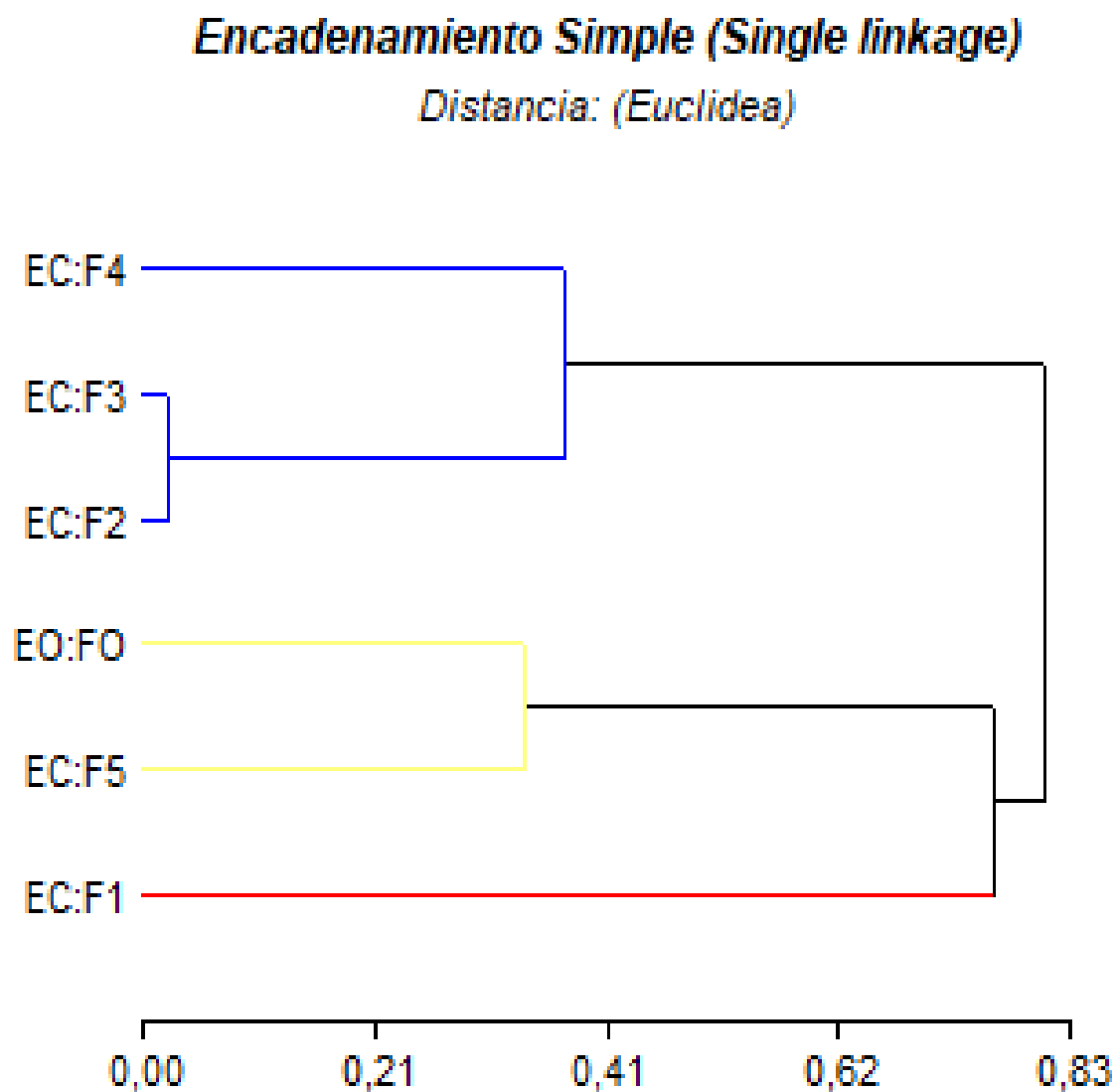
Grado alcohólico de cada extracto



Anexo 4. a) grado alcohólico del extracto de uvilla, b) grado alcohólico del extracto de diente de león
Elaborado por: (Las autoras, 2022)

Anexo 5

Dendograma euclidiano para *E. coli* ATCC® 25922™



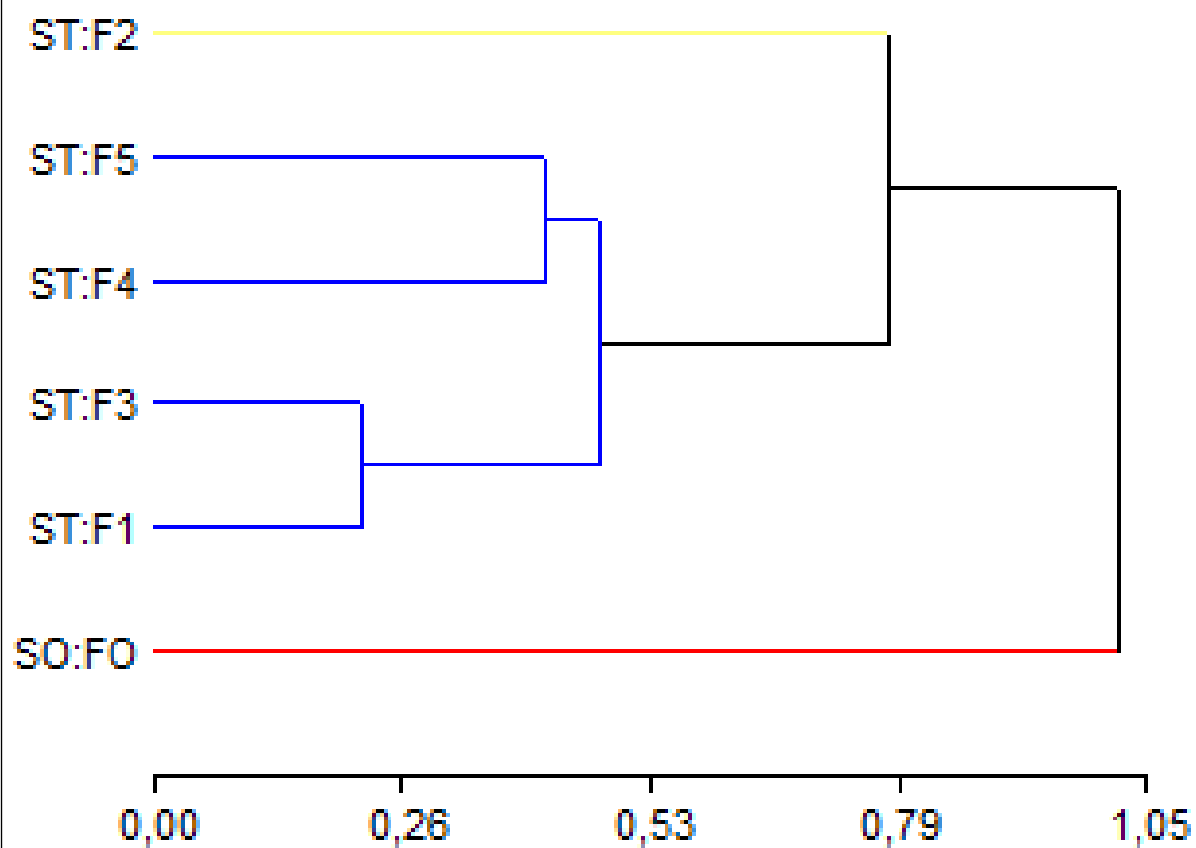
Elaborado por: (Las autoras, 2022)

Anexo 6

Dendograma euclidiano para *S. typhimurium* ATCC® 14028™

Encadenamiento Simple (Single linkage)

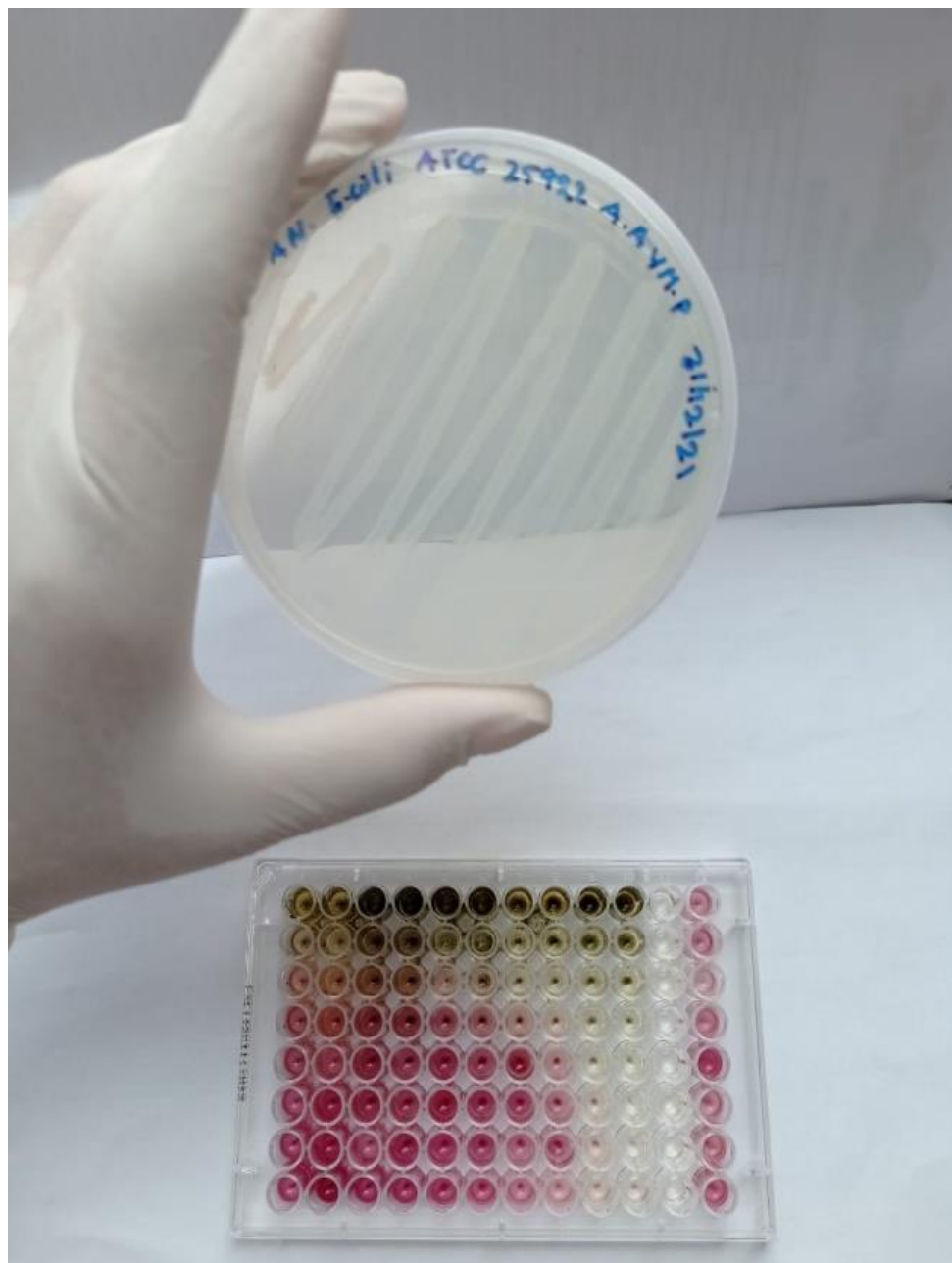
Distancia: (Euclidea)



Elaborado por: (Las autoras, 2022)

Anexo 7

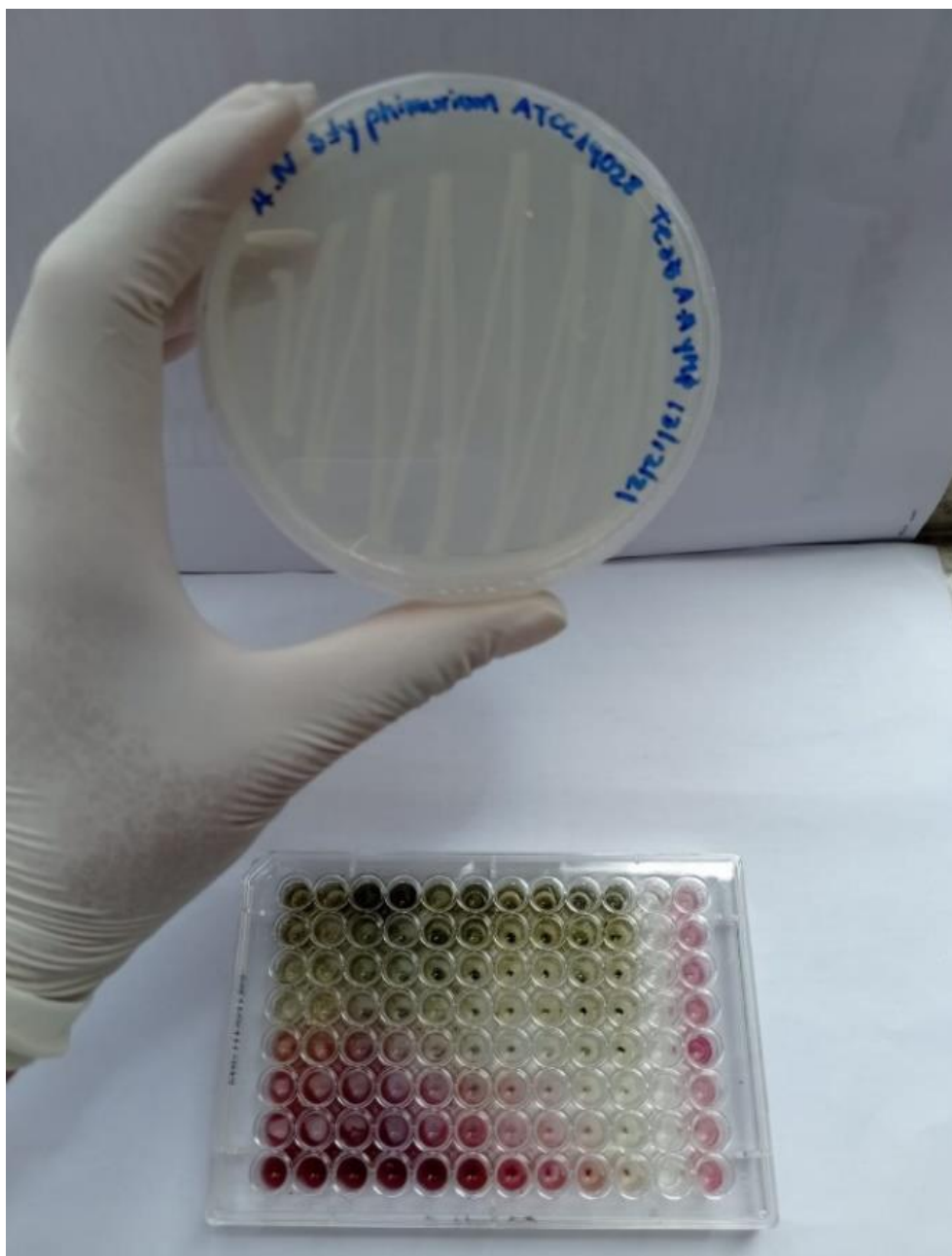
Microdilución en caldo para *E. coli* ATCC® 25922™



Elaborado por: (Las autoras, 2022)

Anexo 8

Microdilución en caldo para de *S. typhimurium* ATCC® 14028™



Elaborado por: (Las autoras, 2022)