

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR
ESCUELA DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y AMBIENTALES

TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE
INGENIERO EN ZOOTECNIA

TEMA: Evaluación de la actividad antibacteriana del extracto de *Piper aduncum* L. frente a
Salmonella infantis.

NOMBRE: Cinthya Yadira Colcha Quimbia

TUTOR: Dra. Cintya Gordon Falconí

IBARRA – ECUADOR

Julio, 2026

Ibarra, 16 de julio de 2026

CERTIFICACIÓN TUTOR

En mi calidad de Tutor del Trabajo de Integración Curricular titulado: **Evaluación de la actividad antibacteriana del extracto de *Piper aduncum* L. frente a *Salmonella infantis***, presentado por el estudiante ***Cinthya Yadira Colcha Quimbia*** con cédula de ciudadanía **N° 1050455631**, para obtener el Título de **Ingeniera Zootecnista**.

Certifico que el trabajo cumple con todos los parámetros establecidos, mediante el cual el estudiante demuestra el desarrollo de competencias en el campo de conocimiento de su profesión con un nivel de argumentación coherente, para ser sometido a la evaluación por parte de los lectores.

Adicionalmente, se adjunta el certificado de porcentaje de originalidad de TURNITIN.



Dra. Cintya Gordon Falconí

TUTOR DE TRABAJO

C.C.: 1721991246

PÁGINA DE APROBACIÓN DEL TRIBUNAL

El tribunal examinador, aprueba el presente trabajo en nombre de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador Ibarra:



(f):

Dra. Cintya Gordon Falconí

C.C.: 1721991246



(f):.....

Dra. Yadira Ordóñez Vivanco

C.C.: 1103764864



(f):.....

MSc. Gregorio Armando Escobar Meza

C.C.:1002964227

ACTA DE CESIÓN DE DERECHOS

Yo, *Cinthy Yadira Colcha Quimbia*, declaro conocer y aceptar la disposición del Art. 165 del Código Orgánico de Economía Social de los Conocimientos, Creatividad e Innovación, que manifiesta textualmente: “Se reconoce facultad de los autores y demás titulares de derechos de disponer de sus derechos o autorizar las utilidades de sus obras o prestaciones a título gratuito y oneroso, según las condiciones que determinen. Esta facultad podrá ejercerse mediante licencias libres, abiertas y otros modelos alternativos de licenciamiento o la renuncia”.

Ibarra, 16 de julio de 2026



(f): _____

Cinthy Yadira Colcha Quimbia

C.C.: 1050455631

AUTORIA

Yo, *Cinthy Yadira Colcha Quimbia*, portadora de la cedula de ciudadanía N° 1050455631 declaro que el presente trabajo de investigación es de total responsabilidad de la autora, y eximo expresamente a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador Ibarra de posibles reclamos o acciones legales.



(f):.....

Cinthy Yadira Colcha Quimbia

C.C.: 1050455631

DEDICATORIA

A Dios, por la vida, la salud y la oportunidad de haber podido cumplir esta meta. A mis padres, cuyo esfuerzo diario y motivación constante me han impulsado a cumplir cada uno de mis sueños, y que, sin importar las circunstancias, siempre han sido el pilar que me sostiene.

A mis sobrinos, con la esperanza de que este pequeño logro sea un ejemplo que los motive a seguir siempre adelante y a no dejar nunca de perseguir sus propios sueños.

Cinthya Yadira Colcha Quimbia

AGRADECIMIENTO

Este logro es el resultado del esfuerzo y la constancia sostenidos a lo largo de toda la carrera universitaria. Me agradezco a mí misma, por haber tenido la confianza necesaria para creer en mis capacidades y por no rendirme ante los obstáculos que se presentaron en el camino.

Agradezco a Dios, por ser guía y fortaleza en cada etapa de este proceso, y por permitirme alcanzar esta meta con salud y bienestar.

A la Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sede Ibarra, por abrirme sus puertas y brindarme la formación académica que hoy me permite culminar esta etapa de mi vida profesional.

A cada uno de los docentes de la Escuela de Ciencias Agropecuarias y Ambientales, por compartir sus conocimientos y experiencia a lo largo de mi formación académica. De manera especial, agradezco a mi tutora, Dra. Cinthya Gordón, quien fue mucho más que una guía académica: sus consejos y palabras de ánimo me acompañaron en los momentos que más lo necesité, y su apoyo constante fue fundamental para culminar con éxito este trabajo de investigación.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

CERTIFICACIÓN TUTOR	ii
PÁGINA DE APROBACIÓN DEL TRIBUNAL.....	iii
ACTA DE CESIÓN DE DERECHOS	iv
AUTORIA.....	v
DEDICATORIA.....	vi
AGRADECIMIENTO	vii
ÍNDICE DE CONTENIDOS.....	viii
ÍNDICE DE TABLAS.....	xii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xiv
ÍNDICE DE ANEXOS	xv
RESUMEN.....	xvi
ABSTRACT.....	xvii
CAPÍTULO I.....	1
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO II	3
OBJETIVOS.....	3
2.1. Objetivo general.....	3
2.2. Objetivos específicos	3
2.3. Hipótesis	3
2.4 Variables	4
CAPÍTULO III.....	5
ESTADO DEL ARTE.....	5

3.1 Plantas medicinales y actividad antibacteriana	5
3.1.1 Metabolitos secundarios con acción antibacteriana.....	6
3.1.2 Estudios recientes sobre extractos vegetales antibacterianos	6
3.2 El <i>Piper aduncum</i> L. (Matico)	7
3.2.1 Actividad antibacteriana de extractos vegetales	8
3.2.2 Composición química y compuestos activos	8
3.2.3 Usos tradicionales y propiedades medicinales	10
3.2.4 Estudios sobre su actividad antibacteriana	11
3.3 Extractos vegetales.....	11
3.3.1 Tipos de extractos.....	12
3.3.2 Métodos de extracción.....	13
3.3.3 Importancia de los extractos vegetales como alternativa a antibióticos	15
3.4 Mecanismos de acción	16
3.4.1 Métodos de evaluación.....	17
3.5 <i>Salmonella</i> spp. y su importancia	19
3.5.1 Características generales.....	19
3.5.2 <i>Salmonella infantis</i> como serotipo	20
3.5.3 Enfermedades e impacto en salud pública	22
3.5.4 Resistencia bacteriana	23
3.6 Relación entre el <i>Piper aduncum</i> y <i>Salmonella</i> spp.	23
CAPÍTULO IV	25
MATERIALES Y MÉTODOS	25
4.1. Materiales.....	25

4.1.1 Equipos	25
4.1.2 Insumos y material de laboratorio	26
4.1.3 Reactivos y medios de cultivo.....	26
4.1.4 Microorganismos	27
4.2. Métodos.....	27
4.2.1 Recolección y procesamiento del material vegetal	27
4.2.2 Preparación de extractos y caracterización	28
4.2.2.1 Maceración hidroalcohólica (ME).....	28
4.2.2.2 Extracción asistida por ultrasonido (UE).....	29
4.2.3. Caracterización del extracto	29
4.2.3.1 Determinación de la concentración.....	29
4.2.3.2 Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR).....	30
4.2.3.3 Cuantificación de polifenoles totales	30
4.2.4 Evaluación de la actividad antibacteriana	32
4.2.4.1 Preparación y estandarización del inóculo bacteriano	32
4.2.4.2 Análisis de inhibición en placa	33
4.2.4.3 Cuantificación de actividad inhibitoria	34
4.2.5 Diseño experimental y análisis estadístico	37
CAPÍTULO V.....	41
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	41
5.1 Obtención y caracterización del extracto de <i>Piper aduncum</i> L. (matico).....	41
5.1.1 Recolección, procesamiento y preparación de extractos	41
5.1.2 Determinación de la concentración	42

5.1.3 Cuantificación de polifenoles totales	44
5.1.4. Espectroscopía FTIR.....	46
5.2 Evaluación de actividad antibacteriana.....	47
5.3 Cuantificación de inhibición	49
CAPÍTULO VI.....	55
CONCLUSIONES.....	55
CAPÍTULO VII	56
RECOMENDACIONES.....	56
CAPÍTULO VIII.....	57
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	57
ANEXOS.....	71

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. <i>Tipos de extractos vegetales según solvente de obtención</i>	12
Tabla 2. <i>Principales métodos de extracción de compuestos bioactivos vegetales</i>	13
Tabla 3. <i>Principales métodos de extracción de compuestos bioactivos vegetales</i>	18
Tabla 4. <i>Reactivos utilizados para la cuantificación de polifenoles totales</i>	31
Tabla 5. <i>Distribución de volúmenes por tubo para la curva de calibración</i>	32
Tabla 6. <i>Tratamientos y controles evaluados para la cuantificación de la actividad inhibitoria por microdilución en caldo</i>	34
Tabla 7. <i>Blancos de extracto para corrección de absorbancia (sin inóculo bacteriano)</i>	35
Tabla 8. <i>Tratamientos evaluados para el análisis de inhibición en placa</i>	38
Tabla 9. <i>Descripción de tratamientos experimentales para el estudio de cuantificación de la actividad antibacteriana</i>	39
Tabla 10. <i>Esquema de ADEVA para el análisis de inhibición en placa</i>	40
Tabla 11. <i>Esquema de ADEVA para la cuantificación de la actividad inhibitoria</i>	40
Tabla 12. <i>Determinación gravimétrica de la concentración del extracto de Piper aduncum L. obtenida por maceración</i>	43
Tabla 13. <i>Determinación gravimétrica de la concentración del extracto de Piper aduncum L. obtenida por ultrasonido</i>	43
Tabla 14. <i>Contenido de fenoles totales en los extractos de Piper aduncum L. obtenidos por maceración hidroalcohólica de 3 días</i>	46
Tabla 15. <i>Recuento inicial y final de Salmonella infantis expuesta a diferentes concentraciones del extracto de Piper aduncum y tratamientos control</i>	50

Tabla 16. <i>Estudios previos sobre la actividad antibacteriana de extractos vegetales frente a <i>Salmonella</i> spp. y otras bacterias patógenas.....</i>	53
--	----

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. <i>Esquema de la distribución de extracto y controles para evaluación de actividad antimicrobiana.....</i>	33
Figura 2. <i>Distribución de tratamientos y controles en la placa de 96 pocillos para la cuantificación de la actividad inhibitoria.</i>	36
Figura 3. <i>A) Ubicación del sitio de recolección de Piper aduncum L. (matico), comunidad de Añaspamba, cantón Ibarra, provincia de Imbabura, Ecuador^a. B) Proceso de recolección de material vegetal</i>	41
Figura 4. <i>Determinación de polifenoles A) Tubos de reacción para la construcción de la curva de calibración mediante el método Folin-Ciocalteu. B) Curva de calibración para la cuantificación de fenoles totales aplicando el método Folin-Ciocalteu.</i>	45
Figura 5. <i>Espectro FTIR del extracto hidroalcohólico de Piper aduncum L.</i>	46
Figura 6. <i>Fotografías de los ensayos cualitativos realizados para evaluar el efecto antibacteriano: A) y C) placa sembrada con una concentración bacteriana de 10⁵ UFC/mL, B) placa sembrada con una concentración bacteriana de 10⁴ UFC/mL.</i>	49
Figura 7. <i>Curva de crecimiento bacteriano por concentración del extracto.....</i>	51

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. <i>Registro fotográfico del proceso (secado, maceración/ultrasonido, filtración)</i>	71
Anexo 2. <i>Proceso de eliminación del solvente por rotaevaporación y obtención de extracto</i>	71
Anexo 3. <i>Materiales y equipos utilizados para la preparación de los ensayos de actividad antibacteriana</i>	71
Anexo 4. <i>Placas de microdilución en 96 pocillos y espectrofotómetro utilizados para el ensayo de microdilución.</i>	72
Anexo 5. <i>Material contaminado empacado para su esterilización en autoclave</i>	72

RESUMEN

Piper aduncum L. (matico) es una planta con reconocido uso tradicional y potencial actividad antibacteriana, cuya evaluación resulta relevante frente al incremento de la resistencia antimicrobiana y la necesidad de alternativas naturales de control bacteriano. El objetivo de esta investigación fue evaluar la actividad antibacteriana del extracto de *Piper aduncum* L., obtenido por maceración hidroalcohólica y extracción asistida por ultrasonido, a diferentes concentraciones, frente a *Salmonella infantis*. En ambas técnicas se usó etanol al 70 % como solvente. El extracto de maceración alcanzó una concentración de $79,7 \pm 1,6$ mg/mL, determinada por el método gravimétrico, y un contenido de fenoles totales de 15 857 mg/L. Además, el espectro FTIR mostró bandas propias de compuestos fenólicos. Al comparar los dos métodos de extracción, se encontró que el tipo de técnica sí tuvo un efecto significativo sobre la actividad antibacteriana ($p < 0,001$). El extracto obtenido por maceración logró inhibir el crecimiento de *Salmonella infantis*, mientras que el de ultrasonido no presentó ningún efecto, razón por la cual no se incluyó en la fase cuantitativa del estudio. En dicho análisis, la concentración del extracto de maceración influyó significativamente sobre la actividad inhibitoria ($p < 0,001$), determinándose que a partir de 14,35 mg/mL no se registró crecimiento bacteriano, mientras que la concentración más baja evaluada (7,17 mg/mL) redujo el crecimiento en aproximadamente un 30 % respecto al control. Estos resultados evidencian que el método de extracción y la concentración del extracto de *Piper aduncum* L. son factores determinantes de su actividad antibacteriana, aportando evidencia inicial sobre su potencial como alternativa natural frente a *Salmonella infantis*.

Palabras clave: *Piper aduncum* L, *Salmonella infantis*, actividad antibacteriana, maceración, ultrasonido.

ABSTRACT

Piper aduncum L. (matico) is a plant with recognized traditional use and potential antibacterial activity, whose evaluation is relevant given the rise of antimicrobial resistance and the need for natural alternatives for bacterial control. The objective of this research was to evaluate the antibacterial activity of *Piper aduncum* L. extract, obtained by hydroalcoholic maceration and ultrasound-assisted extraction, at different concentrations, against *Salmonella infantis*. Both techniques used 70% ethanol as the solvent. The maceration extract reached a concentration of 79.7 ± 1.6 mg/mL, determined gravimetrically, along with a total phenolic content of 15,857 mg/L. The FTIR spectrum also showed bands typical of phenolic compounds. When comparing both extraction methods, the technique used had a significant effect on antibacterial activity ($p < 0.001$). The extract obtained by maceration inhibited the growth of *Salmonella infantis*, while the ultrasound extract showed no effect at all, which is why it was not included in the quantitative phase of the study. In that analysis, the concentration of the maceration extract significantly influenced inhibitory activity ($p < 0.001$), with no bacterial growth recorded from 14.35 mg/mL onward, while the lowest concentration evaluated (7.17 mg/mL) reduced growth by approximately 30% relative to the control. These results show that the extraction method and the concentration of *Piper aduncum* L. extract are determining factors of its antibacterial activity, providing initial evidence of its potential as a natural alternative against *Salmonella infantis*.

Keywords: *Piper aduncum* L., *Salmonella infantis*, antibacterial activity, maceration, ultraso

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

Ecuador concentra el 5% y el 10% de la biodiversidad global en apenas el 0,2% de la superficie terrestre mundial, posicionándose como uno de los 17 países megadiversos reconocidos a nivel global (Primicias, 2025). Esta extraordinaria riqueza ha sustentado históricamente el desarrollo de prácticas etnobotánicas en comunidades rurales andinas, donde especies como *Piper aduncum* L. (familia *Piperaceae*), conocida localmente como matico, ha sido empleada para el manejo de infecciones gastrointestinales en humanos y animales domésticos, debido a su contenido de metabolitos secundarios con reconocida actividad biológica (Vargas et al., 2023; Hidalgo-Sánchez et al., 2025). Sin embargo, a pesar del acervo etnobotánico documentado, la validación científica de su actividad antibacteriana frente a patógenos entéricos de relevancia veterinaria representa aún una brecha significativa en la literatura especializada.

En el ámbito de la producción avícola, *Salmonella infantis* ha emergido como uno de los serotipos de mayor prevalencia a nivel mundial, siendo responsable del 50 % de todos los aislamientos de *Salmonella spp.* en pollos de engorde registrados en la Unión Europea y del 96 % de los aislamientos procedentes de animales destinados a consumo humano (EFSA, 2022). Este serotipo coloniza el tracto intestinal de pollos de engorde de forma asintomática, pero con alta capacidad de contaminar la canal durante el faenamiento y transmitirse al consumidor a través de productos avícolas contaminados (Minaya et al., 2023). Su relevancia epidemiológica se ha intensificado de forma alarmante debido al incremento progresivo de resistencia antimicrobiana: estudios recientes reportan que el 90,7 % de los aislados de *S. infantis* presentan perfiles de multirresistencia, con resistencia documentada a cefalosporinas de tercera generación, fluoroquinolonas, tetraciclinas y sulfonamidas (Ali et al., 2026). Proyecciones de la Organización

Mundial de la Salud estiman que, de mantenerse las tendencias actuales, los patógenos resistentes a antibióticos podrían causar 10 millones de muertes anuales a nivel mundial para el año 2050, constituyendo una de las mayores amenazas para la salud pública global (OMS, 2021).

Este escenario ha impulsado la investigación científica de alternativas fitoterapéuticas con actividad antibacteriana comprobada. *Piper aduncum* L. destaca en este contexto por su perfil fitoquímico rico en flavonoides, taninos, ácidos fenólicos y compuestos terpénicos como el dillapiol, cuyo mecanismo de acción multifactorial sobre la membrana celular bacteriana dificulta el desarrollo de resistencia específica (El-Saadony et al., 2025). No obstante, la eficacia de un extracto vegetal depende también del método de extracción empleado. La maceración hidroalcohólica constituye una técnica convencional estándar en farmacognosia, mientras que la extracción asistida por ultrasonido representa una alternativa moderna que, mediante cavitación acústica, incrementa el rendimiento extractivo y reduce tiempos de procesamiento en el marco de la química verde (Liu et al., 2021; Castro-Puyana et al., 2022). En este contexto, la presente investigación tiene como propósito evaluar la actividad antibacteriana del extracto de *Piper aduncum* L. obtenido mediante ambas técnicas, a diferentes concentraciones, frente a *Salmonella infantis*, con el fin de aportar evidencia científica que respalde el potencial de esta especie vegetal nativa como alternativa natural para el control de patógenos entéricos de relevancia en la producción avícola y la salud pública.

CAPÍTULO II

OBJETIVOS

2.1. Objetivo general

Evaluar la actividad antibacteriana del extracto de *Piper aduncum* L. obtenido por maceración hidroalcohólica y extracción asistida por ultrasonido, a diferentes concentraciones, frente a *Salmonella infantis*.

2.2. Objetivos específicos

- Obtener el extracto de *Piper aduncum* L. a través de dos técnicas: maceración hidroalcohólica y extracción asistida por ultrasonido, para su posterior evaluación como agente antimicrobiano contra *Salmonella infantis*.
- Comparar el efecto antimicrobiano de los extractos de *Piper aduncum* L. mediante la evaluación de inhibición de crecimiento y el análisis cuantitativo de dicha inhibición.

2.3. Hipótesis

H₀: El método de extracción y la concentración del extracto de *Piper aduncum* no tienen efecto antibacteriano significativo contra *Salmonella infantis*.

H₁: Al menos uno de los factores evaluados, el método de extracción o la concentración del extracto de *Piper aduncum*, tiene efecto significativo sobre la actividad antibacteriana frente a *Salmonella infantis*.

2.4 Variables

Variables independientes

Para el análisis de inhibición en placa: método de extracción (Factor A: maceración hidroalcohólica y extracción asistida por ultrasonido). Para la cuantificación de la actividad inhibitoria: concentración del extracto (Factor B: cc1, cc2, cc3, cc4).

Variables dependientes

- Presencia o ausencia de inhibición: variable cualitativa nominal determinada por observación visual del crecimiento bacteriano en placa de agar nutritivo después de 24 horas de incubación a 30 °C. Los resultados fueron documentados mediante análisis fotográfico.
- Actividad inhibitoria cuantitativa: determinada a través de la medición de absorbancia a 600 nm y confirmación del resultado a través de la concentración bacteriana expresado como unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/mL), evaluadas a las 0 y 18 horas de incubación a 30 °C.

CAPÍTULO III

ESTADO DEL ARTE

3.1 Plantas medicinales y actividad antibacteriana

Las plantas medicinales han constituido históricamente una de las principales fuentes de tratamiento para diversas enfermedades, siendo utilizadas tanto en sistemas de medicina tradicional como en el desarrollo de la farmacología moderna (Organización Mundial de la Salud, 2019). Son parte fundamental del conocimiento tradicional de numerosas culturas y han sido empleadas desde la antigüedad para prevenir, aliviar o tratar afecciones de diversa índole (Verdezoto, 2023). Estas especies se caracterizan por la presencia de compuestos bioactivos que interactúan con sistemas biológicos, produciendo efectos terapéuticos en humanos y animales, lo que ha impulsado su inclusión en procesos de investigación farmacológica y desarrollo de nuevos fármacos (Vargas et al., 2023; Newman y Cragg, 2020).

En el ámbito latinoamericano, se estima que entre el 60 % y el 83 % de la población de países como Bolivia, Ecuador, Perú y Jamaica recurre periódicamente a plantas medicinales para tratar enfermedades de baja complejidad e incluso algunos problemas crónicos (Salgado, 2025). Esto indica que las plantas medicinales no constituyen un recurso marginal, sino una práctica sanitaria ampliamente difundida con un papel relevante en la atención primaria de salud, especialmente en zonas rurales de acceso limitado a servicios formales. En países con alta biodiversidad como Ecuador, esta práctica se apoya además en normativas que reconocen oficialmente especies medicinales e impulsan su uso seguro y controlado (Organización Mundial de la Salud, 2019).

La industria farmacéutica ha incrementado el uso de compuestos de origen vegetal en la formulación de medicamentos y productos terapéuticos debido a su diversidad química y potencial

biológico. Salehi et al. (2019) indican que las especies del género *Piper* contienen metabolitos secundarios con propiedades farmacológicas relevantes, aunque advierten que la variabilidad en su composición química puede influir en su eficacia. En consecuencia, el estudio sistemático de las plantas medicinales no solo permite rescatar el conocimiento tradicional, sino también generar evidencia científica que respalde su uso (Newman y Cragg, 2020).

3.1.1 Metabolitos secundarios con acción antibacteriana

Los metabolitos secundarios son compuestos orgánicos producidos por las plantas que, aunque no participan directamente en procesos como el crecimiento o la reproducción, cumplen funciones en la defensa frente a patógenos, herbívoros y condiciones ambientales adversas. Entre los principales grupos con actividad biológica comprobada se encuentran los alcaloides, flavonoides, terpenoides y compuestos fenólicos (Uttam et al., 2025; González García et al., 2025), los cuales han demostrado poseer propiedades antibacterianas frente a diversos microorganismos patógenos.

La presencia simultánea de varios de estos grupos en un mismo extracto permite actuar sobre múltiples blancos celulares bacterianos de manera simultánea, lo que los diferencia de los antibióticos convencionales que generalmente actúan sobre un único sitio molecular. Esta diversidad estructural reduce la probabilidad de que las bacterias desarrollen resistencia específica frente a los extractos vegetales. Los mecanismos específicos de acción de estos compuestos se describen en detalle en la sección 3.4 (Zouine et al., 2024; El-Saadony et al., 2025).

3.1.2 Estudios recientes sobre extractos vegetales antibacterianos

Los extractos vegetales presentan actividad antibacteriana frente a una amplia variedad de bacterias, incluyendo tanto gram positivas como gram negativas. Bouarab-Chibane et al. (2019) reportan que los compuestos fenólicos presentes en extractos vegetales ejercen efectos

antimicrobianos mediante la alteración de la membrana celular y la inhibición de funciones enzimáticas esenciales. De manera complementaria, Cushnie et al. (2014) señalan que los flavonoides y otros metabolitos secundarios pueden interferir en procesos metabólicos clave y en la síntesis de macromoléculas bacterianas, lo que contribuye a la inhibición del crecimiento microbiano.

Desde un enfoque metodológico, los estudios han utilizado diversas técnicas para evaluar la actividad antibacteriana, siendo las más comunes el método de difusión en disco y la determinación de la concentración mínima inhibitoria (Huerta-Saquero y Meza-Villezcás, 2026). Estas metodologías permiten cuantificar la eficacia de los extractos y comparar su acción frente a distintos microorganismos, lo que resalta la importancia de estandarizar los procedimientos experimentales para garantizar la reproducibilidad de los resultados.

Algunos autores han enfatizado la capacidad de los extractos vegetales para actuar sobre bacterias gram negativas, las cuales presentan mayor resistencia debido a la estructura compleja de su pared celular. Según El-Saadony et al. (2025), la eficacia de los metabolitos secundarios frente a este tipo de bacterias sugiere un alto potencial para su aplicación en el tratamiento de infecciones difíciles de controlar mediante antibióticos convencionales.

3.2 El *Piper aduncum* L. (Matico)

Piper aduncum L., comúnmente conocido como matico, es una especie perteneciente a la familia *Piperaceae*, ampliamente distribuida en bosques húmedos tropicales y subtropicales de América Latina, incluyendo regiones andinas del Ecuador. Su presencia en zonas de alta diversidad florística, combinada con su accesibilidad en comunidades rurales, ha favorecido su integración en sistemas de medicina tradicional como recurso terapéutico de bajo costo para el tratamiento de afecciones gastrointestinales, infecciones cutáneas y procesos inflamatorios (Gallegos Zurita y

Gallegos, 2017). El interés científico por esta especie ha crecido de manera sostenida en las últimas décadas, impulsado por la evidencia de que su composición fitoquímica incluye metabolitos secundarios con actividad antimicrobiana relevante frente a bacterias de importancia en salud pública. En este contexto, *Piper aduncum* representa una alternativa natural que integra el conocimiento etnobotánico acumulado en comunidades andinas con la validación experimental contemporánea, lo que justifica su estudio como agente antibacteriano frente a patógenos de relevancia veterinaria como *Salmonella infantis* (Farhadi et al., 2019).

3.2.1 Actividad antibacteriana de extractos vegetales

Los estudios sobre extractos vegetales han adquirido relevancia debido al incremento de la resistencia bacteriana, lo que ha impulsado la exploración de compuestos bioactivos de origen natural como alternativas terapéuticas. Farhadi et al. (2019) señalan que los flavonoides y otros metabolitos secundarios presentan actividad antibacteriana frente a diversos microorganismos, debido a su capacidad de alterar la permeabilidad de la membrana celular y afectar procesos metabólicos esenciales.

La eficacia de los extractos vegetales ha sido abordada tanto desde el estudio de compuestos individuales como desde el análisis de extractos complejos. Cushnie y Lamb (2011) indican que los compuestos fenólicos pueden actuar sobre múltiples blancos celulares bacterianos, mientras que Bouarab-Chibane et al. (2019) destacan que la interacción entre metabolitos puede potenciar la actividad antimicrobiana. Esta acción multifactorial representa una ventaja frente a las bacterias resistentes, ya que dificulta el desarrollo de mecanismos de resistencia específicos.

3.2.2 Composición química y compuestos activos

La composición química de *Piper aduncum* L. ha sido ampliamente estudiada debido a su relación directa con sus propiedades biológicas, especialmente su actividad antimicrobiana. Se ha

identificado que esta especie contiene una alta concentración de metabolitos secundarios, entre los que destacan compuestos fenólicos, flavonoides, alcaloides y aceites esenciales, los cuales desempeñan un papel clave en su actividad farmacológica (Carvajal, 2023).

Los aceites esenciales de *Piper aduncum* presentan una composición dominada por el dillapiol, compuesto fenilpropanoide considerado el principal responsable de su actividad biológica. Análisis cromatográficos reportan que este compuesto puede representar entre el 40 % y el 70 % del perfil volátil de la especie, aunque su proporción varía en función del origen geográfico y las condiciones de cultivo de la planta (Ingaroca et al., 2019). El dillapiol actúa mediante la alteración de la integridad de la membrana celular bacteriana, afectando procesos fisiológicos esenciales y reduciendo la viabilidad del microorganismo, lo que sustenta tanto su uso tradicional como los resultados observados en estudios de actividad antimicrobiana frente a bacterias gram positivas y gram negativas (Da Silva et al., 2021).

Mientras algunos estudios se centran en la caracterización individual de compuestos específicos, otros destacan la importancia del efecto sinérgico entre los metabolitos presentes en el extracto completo. En este contexto, la interacción entre compuestos fenólicos y terpenoides puede potenciar la actividad antimicrobiana (Zhao et al., 2024).

La composición química de *Piper aduncum* puede variar en función de factores como la ubicación geográfica, las condiciones ambientales y el método de extracción utilizado (Hidalgo-Sánchez et al., 2025). Esta variabilidad representa una limitación importante, ya que puede influir directamente en la reproducibilidad de los resultados experimentales y en la eficacia de los extractos obtenidos.

3.2.3 Usos tradicionales y propiedades medicinales

Piper aduncum L., conocido comúnmente como matico, ha sido usado en la medicina tradicional en muchas regiones de América Latina, especialmente en comunidades indígenas y rurales, donde constituye un recurso terapéutico accesible y de bajo costo. Sus usos tradicionales se han transmitido de generación en generación, principalmente mediante la preparación de infusiones, decocciones y aplicaciones tópicas de sus hojas (Gallegos Zurita y Gallegos, 2017).

Se ha documentado que el matico es empleado para el tratamiento de afecciones como heridas, infecciones cutáneas, problemas gastrointestinales y procesos inflamatorios (Taher et al., 2020). Según Bussmann y Glenn (2010), las especies del género *Piper* son utilizadas en la medicina tradicional por sus propiedades cicatrizantes y antimicrobianas, lo que respalda su uso en el manejo de infecciones superficiales.

Las propiedades medicinales del *Piper aduncum* L. están asociadas a la presencia de metabolitos secundarios como flavonoides, alcaloides y aceites esenciales, los cuales han demostrado actividad biológica (Arroyo et al., 2022). Los compuestos presentes en el aceite esencial de esta planta, cuya composición se describe en detalle en la sección 3.2.2, presentan efectos antimicrobianos y antiinflamatorios que sustentan su uso tradicional (Da Silva et al., 2021)

Piper aduncum L. posee una amplia variedad de actividades biológicas, incluyendo propiedades antioxidantes, antifúngicas y antibacterianas. De acuerdo con Salehi et al. (2019), las especies del género *Piper* contienen compuestos bioactivos con potencial terapéutico, lo que ha motivado su estudio en el ámbito científico como posibles fuentes de nuevos fármacos. Sin embargo, muchas de sus aplicaciones aún carecen de validación clínica suficiente, por lo que autores como Barbosa y Rojas (2024) coinciden en la importancia de complementar el

conocimiento tradicional con estudios científicos que permitan evaluar su eficacia, seguridad y mecanismos de acción.

3.2.4 Estudios sobre su actividad antibacteriana

Piper aduncum L. tiene potencial actividad antibacteriana, atribuida principalmente a la presencia de metabolitos secundarios como aceites esenciales, flavonoides y compuestos fenólicos. Estos compuestos pueden inhibir el crecimiento de diferentes microorganismos, lo que respalda su uso tradicional en el tratamiento de infecciones. Los extractos y aceites esenciales de *Piper aduncum* L. presentan actividad frente a bacterias tanto gram positivas como gram negativas. De acuerdo con Da Silva et al. (2021), el aceite esencial de esta especie, cuya composición química se describe en la sección 3.2.2, mostró actividad antimicrobiana significativa contra diversas cepas bacterianas.

La eficacia antibacteriana del *Piper aduncum* depende del tipo de extracto utilizado (acuoso, etanólico o aceite esencial) y de la concentración aplicada. Las especies del género *Piper* presentan variabilidad en su actividad biológica debido a diferencias en su composición química, lo que influye directamente en su capacidad antimicrobiana (Salehi et al., 2019). Los mecanismos de acción mediante los cuales estos compuestos ejercen su actividad se describen en la sección 3.4.

3.3 Extractos vegetales

Los extractos vegetales son preparaciones obtenidas a partir de plantas mediante el uso de solventes que permiten extraer compuestos bioactivos con propiedades biológicas (Martínez et al., 2025). Estos extractos contienen metabolitos secundarios como flavonoides, alcaloides, terpenos y compuestos fenólicos, los cuales han sido estudiados por sus efectos antimicrobianos, antioxidantes y antiinflamatorios. El interés por los extractos vegetales ha aumentado en los

últimos años como una alternativa natural frente a los problemas asociados al uso de compuestos sintéticos, especialmente en el contexto de la resistencia bacteriana (Cowan, 1999).

3.3.1 Tipos de extractos

Los extractos vegetales pueden clasificarse según el tipo de solvente utilizado en su obtención, lo cual influye directamente en la naturaleza y cantidad de compuestos bioactivos extraídos. Entre los más comunes se encuentran los extractos acuosos, etanólicos, metanólicos y los aceites esenciales, cada uno con características particulares en cuanto a su composición química y actividad biológica, como se indica en la Tabla 1.

Tabla 1.

Tipos de extractos vegetales según solvente de obtención

Tipo	Solvente	Compuestos	Ventajas	Desventajas	Aplicaciones
Acuoso	Agua	Polares (taninos, flavonoides, glucósidos)	Seguro, económico, fácil de preparar	Baja eficiencia para compuestos no polares	Medicina tradicional, infusiones
Etanólico	Etanol	Polares y semipolares (flavonoides, alcaloides, fenoles)	Alta eficiencia, versátil	Requiere evaporación del solvente	Estudios farmacológicos, antimicrobianos
Metanólico	Metanol	Amplia gama de compuestos polares	Muy eficiente en laboratorio	Tóxico, no apto para consumo	Investigación científica
Aceites esenciales	Destilación	Compuestos volátiles (terpenos, fenilpropanoides)	Alta actividad biológica antimicrobiana	Volátiles, sensibles a temperatura	Farmacéutica, cosmética
Hexánico	Hexano	No polares (lípidos, ceras)	Alta selectividad lipofílica	Tóxico, limitado uso alimentario	Industria química

Nota. La tabla presenta una comparación de los principales tipos de extractos vegetales utilizados en investigaciones fitoquímicas. Adaptado de: Azwanida (2015) y Bakkali et al. (2008).

La elección del tipo de extracto depende del objetivo del estudio y de los compuestos que se desean obtener, ya que cada solvente permite extraer diferentes metabolitos con diversas propiedades biológicas. Por ello, en investigaciones sobre actividad antibacteriana es importante considerar el tipo de extracto utilizado, dado que este influye directamente en los resultados obtenidos.

3.3.2 Métodos de extracción

Los métodos de extracción son procedimientos utilizados para obtener compuestos bioactivos presentes en las plantas, mediante el uso de solventes y técnicas específicas que permiten separar estos componentes de la materia vegetal. La elección del método influye directamente en la cantidad, tipo y actividad biológica de los metabolitos obtenidos, por lo que constituye un aspecto clave en estudios fitoquímicos y de actividad antibacteriana. Factores como el tipo de solvente, la temperatura, el tiempo de extracción y el método aplicado determinan la eficiencia del proceso (Azwanida, 2015). En la Tabla 2 se muestran los principales métodos de extracción con sus características más relevantes.

Tabla 2.

Principales métodos de extracción de compuestos bioactivos vegetales

Método	Descripción	Ventajas	Desventajas	Aplicaciones
Maceración	Remojo del material vegetal en solvente a temperatura ambiente	Fácil, económico, sin equipos complejos	Proceso lento, menor eficiencia	Uso tradicional, laboratorio básico

Infusión	Extracción con agua caliente sin ebullición	Rápido, seguro, simple	Limitado a compuestos polares	Medicina tradicional
Decocción	Hervido del material vegetal en agua	Mayor extracción que infusión	Puede degradar compuestos sensibles	Extractos medicinales
Soxhlet	Extracción continua mediante recirculación de solvente caliente	Alta eficiencia, extracción completa	Calor prolongado, mayor costo	Investigación química
Destilación vapor	Extracción de compuestos volátiles mediante vapor	Ideal para aceites esenciales	Limitado a compuestos volátiles	Industria farmacéutica y cosmética
UE (ultrasonido)	Uso de ondas ultrasónicas para mejorar la extracción	Rápido, mayor rendimiento	Requiere equipos especializados	Investigación moderna
Extracción orgánica	Uso de etanol, metanol u otros solventes	Alta eficiencia y selectividad	Puede ser tóxico según solvente	Estudios fitoquímicos

Nota. La tabla presenta una comparación de los principales métodos de extracción. Adaptado de: Azwanida (2015) y Bakkali et al. (2008).

Los métodos de extracción no solo determinan la cantidad de compuestos obtenidos, sino también su calidad y actividad biológica, lo que los convierte en un factor clave en estudios fitoquímicos y microbiológicos. La variabilidad entre técnicas puede generar grandes diferencias en los resultados, especialmente en investigaciones sobre actividad antibacteriana (Azwanida, 2015).

3.3.3 Importancia de los extractos vegetales como alternativa a antibióticos

La resistencia bacteriana a los antibióticos es uno de los principales problemas de la salud pública a nivel global, debido a la disminución progresiva de la eficacia de los tratamientos convencionales. La búsqueda de nuevas alternativas terapéuticas ha orientado la investigación hacia los extractos vegetales, los cuales contienen metabolitos secundarios con actividad antimicrobiana y potencial aplicación frente a bacterias resistentes. Newman y Cragg (2020) mencionan que un alto porcentaje de los fármacos utilizados en la actualidad tienen origen natural o están inspirados en compuestos derivados de plantas, lo que resalta su importancia en la innovación farmacológica. Esta perspectiva coincide con lo expuesto por Atanasov et al. (2021), quienes destacan que los metabolitos vegetales continúan siendo una fuente clave para el descubrimiento de nuevas moléculas con actividad biológica.

Los extractos vegetales presentan ventajas frente a los antibióticos sintéticos debido a su diversidad química y acción multifactorial, la cual se describe en detalle en la sección 3.4. Mientras que los antibióticos convencionales suelen actuar sobre un único blanco molecular, los compuestos vegetales pueden afectar múltiples estructuras y procesos celulares. Silva et al. (2016) indican que los productos naturales pueden interferir en factores de virulencia bacteriana, reduciendo la capacidad de infección sin necesariamente eliminar completamente al microorganismo, lo que disminuye la presión selectiva y la aparición de resistencia.

Varios estudios indican que los extractos vegetales pueden presentar actividad antibacteriana tanto frente a bacterias gram positivas como gram negativas (Velázquez-Vázquez et al., 2023; González et al., 2025), aunque su eficacia puede variar dependiendo de la composición química del extracto y del tipo de microorganismo. Kalemba y Kunicka (2003) señalan que los

compuestos fenólicos y los aceites esenciales muestran una fuerte actividad contra diversas bacterias patógenas, destacando su potencial como agentes antimicrobianos naturales.

A pesar del potencial demostrado, el uso de extractos vegetales como alternativa a los antibióticos enfrenta limitaciones que deben considerarse. La variabilidad en la composición química de las plantas, las diferencias en los métodos de extracción y las concentraciones evaluadas dificultan la comparabilidad entre estudios y la reproducibilidad de los resultados experimentales (Bouarab-Chibane et al., 2019). A esto se suma la escasez de estudios clínicos que validen la eficacia y seguridad de estos extractos en condiciones reales de uso, tanto en medicina humana como veterinaria. Atanasov et al. (2021) señalan que, aunque los productos naturales presentan un elevado potencial terapéutico, su aplicación práctica requiere avanzar en la caracterización química, la estandarización de los procesos de obtención y la validación de sus efectos biológicos. Superar estas limitaciones resulta fundamental para que los extractos vegetales puedan integrarse de forma segura y efectiva en estrategias de control microbiano (El-Saadony et al., 2025).

3.4 Mecanismos de acción

La actividad antibacteriana de los extractos vegetales no se reduce a un único efecto sobre el microorganismo, sino que abarca un conjunto de acciones capaces de alterar su estructura, metabolismo y capacidad de supervivencia. Los mecanismos de acción pueden agruparse en tres categorías principales: daño estructural de la membrana y pared celular, interferencia en procesos metabólicos esenciales y reducción de factores de virulencia bacteriana (Zouine et al., 2024; Newman y Cragg, 2020).

En cuanto al daño estructural, los flavonoides alteran la permeabilidad de la membrana celular bacteriana, generando pérdida de componentes intracelulares y desestabilización de

gradientes osmóticos. Los terpenoides y aceites esenciales actúan de forma similar, disolviendo la bicapa lipídica de la membrana y provocando la muerte celular (Mares et al., 2024). En relación con la interferencia metabólica, los alcaloides pueden bloquear la síntesis de ADN y proteínas, limitando directamente la capacidad de replicación bacteriana (El-Saadony et al., 2025). Li et al. (2024) evidenciaron que estos metabolitos son capaces de afectar la integridad de la membrana de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina, provocando alteraciones en funciones fisiológicas esenciales.

Adicionalmente, la presencia simultánea de diferentes grupos de metabolitos en un mismo extracto genera efectos sinérgicos que potencian la actividad antibacteriana y amplían el espectro de acción frente a microorganismos resistentes (Cushnie y Lamb, 2011). Esta característica multifactorial reduce la probabilidad de que las bacterias desarrollen resistencia específica, lo que representa una ventaja significativa frente a los antibióticos sintéticos que actúan sobre un único blanco molecular.

3.4.1 Métodos de evaluación

La evaluación de la actividad antibacteriana de los extractos vegetales requiere el uso de métodos microbiológicos que permitan determinar su capacidad para inhibir o reducir el crecimiento bacteriano. Entre los métodos más utilizados destacan la difusión en disco y la determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI), debido a su confiabilidad y facilidad de aplicación en estudios microbiológicos (Balouiri et al., 2016).

El método de difusión en disco consiste en colocar discos impregnados con el extracto vegetal sobre un medio de cultivo inoculado con la bacteria de interés. Posteriormente, durante el periodo de incubación, los compuestos activos difunden en el medio y generan zonas de inhibición alrededor del disco si existe actividad antibacteriana. Según Balouiri et al. (2016), este método es

muy utilizado por su simplicidad, bajo costo y capacidad para realizar evaluaciones preliminares de sensibilidad bacteriana.

La concentración mínima inhibitoria (CMI) corresponde a la menor concentración de un extracto o compuesto capaz de inhibir visiblemente el crecimiento de un microorganismo. Este método proporciona información cuantitativa sobre la potencia antibacteriana del extracto, permitiendo comparar la eficacia entre diferentes tratamientos. Kowalska-Krochmal y Dudek-Wicher (2021), señalan que la determinación de la CMI es fundamental en estudios antimicrobianos para establecer la concentración efectiva mínima necesaria. En la Tabla 3 se comparan los principales métodos de evaluación con sus características más relevantes.

Tabla 3.

Principales métodos de evaluación de la actividad antibacteriana

Método	Principio	Ventajas	Desventajas	Aplicación principal
Difusión en disco	Difusión del extracto en agar inoculado con bacterias	Fácil, económico y rápido	Resultados y cualitativos; depende de la difusión	Evaluación preliminar de sensibilidad
CMI	Determina la menor concentración que inhibe el crecimiento bacteriano	Resultados cuantitativos y precisos	Requiere mayor control experimental	Determinación de potencia antibacteriana
CMB	Determina la menor concentración capaz de eliminar bacterias	Evalúa efecto bactericida	Procedimiento más complejo	Confirmación de actividad letal
Curvas de crecimiento	Analiza el crecimiento bacteriano en presencia del extracto	Permite evaluar dinámica de inhibición	Requiere monitoreo constante	Estudios cinéticos

Biopelículas	Evalúa capacidad de inhibir formación de biopelículas	Analiza factores de virulencia	Técnicamente más complejo	Estudios avanzados de resistencia
--------------	---	--------------------------------	---------------------------	-----------------------------------

Nota. La tabla presenta una comparación de los principales métodos de evaluación. Adaptado de: Balouiri et al. (2016) y Kowalska-Krochmal y Dudek-Wicher (2021)

Los métodos de evaluación antibacteriana permiten determinar de manera cualitativa y cuantitativa la eficacia de los extractos vegetales frente a diferentes microorganismos. La selección del método depende de los objetivos de la investigación, el tipo de extracto y el nivel de precisión requerido. En el caso del *Piper aduncum* L., la combinación de difusión en disco y concentración mínima inhibitoria proporciona información complementaria sobre el potencial antibacteriano de los compuestos presentes en los extractos (Balouiri et al., 2016; Kowalska-Krochmal y Dudek-Wicher, 2021).

3.5 *Salmonella* spp. y su importancia

Salmonella spp. es un género de bacterias gram negativas reconocido por su importancia en salud pública y seguridad alimentaria, debido a su capacidad para causar enfermedades transmitidas por alimentos en humanos y animales. Estas bacterias se encuentran frecuentemente asociadas a productos de origen avícola, como carne y huevos, representando una de las principales causas de infecciones gastrointestinales a nivel mundial. El incremento de cepas resistentes a antibióticos ha generado un creciente interés en la búsqueda de alternativas antimicrobianas de origen natural, especialmente aquellas derivadas de plantas medicinales con potencial actividad antibacteriana (Eng et al., 2015).

3.5.1 Características generales

Salmonella spp. es un género de bacterias gram negativas perteneciente a la familia Enterobacteriaceae, caracterizado por presentar forma bacilar, movilidad mediante flagelos y

capacidad de desarrollarse tanto en presencia como en ausencia de oxígeno. Estas bacterias son consideradas enteropatógenas debido a su capacidad para colonizar el tracto intestinal de humanos y animales, provocando infecciones gastrointestinales y, en algunos casos, enfermedades sistémicas.

El género *Salmonella* se divide principalmente en dos especies: *Salmonella enterica* y *Salmonella bongori*. A su vez, *S. enterica* comprende numerosos serotipos asociados a infecciones en humanos y animales, siendo *S. Typhimurium* y *S. Enteritidis* los más frecuentemente relacionados con brotes alimentarios (Eng et al., 2015).

Estas bacterias poseen la capacidad de sobrevivir en varios ambientes, incluyendo agua, suelo, alimentos y superficies contaminadas, lo que favorece su transmisión. Además, presentan mecanismos de virulencia que les permiten adherirse e invadir células intestinales, facilitando el desarrollo de la infección. Fàbrega y Vila (2013) señalan que *Salmonella spp.* cuenta con factores de virulencia asociados a sistemas de secreción y resistencia al estrés ambiental, lo que incrementa su capacidad de adaptación y supervivencia.

Salmonella spp. puede crecer en un rango amplio de temperaturas y condiciones ambientales, aunque su desarrollo óptimo ocurre entre 35 y 37 °C. Esta característica representa un riesgo importante en la industria alimentaria, especialmente en productos de origen animal, donde condiciones inadecuadas de manipulación o almacenamiento pueden favorecer su proliferación (Eng et al., 2015).

3.5.2 *Salmonella infantis* como serotipo

Dentro del género *Salmonella*, el serotipo *Salmonella enterica subsp. enterica serovar Infantis* (*S. Infantis*) ha emergido en las últimas décadas como uno de los más frecuentemente aislados en la producción avícola a nivel mundial, desplazando en prevalencia a serotipos clásicos

como *S. Enteritidis* en varios países europeos y latinoamericanos (EFSA, 2019). Su amplia distribución en granjas de pollos de engorde, tanto en tracto intestinal como en ambientes de producción, lo posiciona como un patógeno de especial relevancia en el contexto de la inocuidad alimentaria y la salud pública.

Desde el punto de vista microbiológico, *S. Infantis* comparte las características generales del género: es un bacilo gram negativo, móvil, anaerobio facultativo, perteneciente a la familia Enterobacteriaceae. Sin embargo, se distingue por su notable capacidad de persistencia ambiental y por su habilidad para formar biopelículas en superficies de equipos e instalaciones avícolas, lo que dificulta su eliminación mediante protocolos de limpieza y desinfección convencionales (Salehi et al., 2019). Esta capacidad, regulada por sistemas de secreción y señales de autoinducción, le permite adherirse a superficies de procesamiento y resistir los agentes antimicrobianos convencionales, incrementando su persistencia a lo largo de toda la cadena productiva y favoreciendo la contaminación cruzada (Fàbrega y Vila, 2013; EFSA, 2019).

Una característica que ha generado particular preocupación es el incremento sostenido de cepas de *S. Infantis* con resistencia múltiple a antibióticos. Se han reportado con frecuencia resistencias a tetraciclinas, ampicilina, ácido nalidíxico y, más recientemente, a fluoroquinolonas, antimicrobianos de importancia crítica en el tratamiento clínico humano (EFSA, 2019; Antunes et al., 2016). Este perfil de resistencia se asocia a la presencia de plásmidos de gran tamaño que codifican simultáneamente genes de resistencia y factores de virulencia, lo que incrementa tanto la capacidad patogénica como la dificultad terapéutica frente a este serotipo.

En el contexto de la presente investigación, el uso de *S. Infantis* como cepa de trabajo responde a su relevancia epidemiológica en sistemas avícolas y a la necesidad de evaluar alternativas antimicrobianas naturales frente a serotipos con perfiles de resistencia emergentes. La

evaluación de la actividad antibacteriana del extracto de *Piper aduncum* frente a este serotipo específico aporta mayor precisión y aplicabilidad práctica a los resultados obtenidos, en comparación con estudios que emplean únicamente cepas de referencia de carácter general.

3.5.3 Enfermedades e impacto en salud pública

Las bacterias del género *Salmonella spp.* son responsables de varias enfermedades infecciosas que afectan tanto a humanos como a animales, siendo una de las principales causas de enfermedades transmitidas por alimentos a nivel mundial. La infección más común es la salmonelosis no tifoidea, caracterizada por síntomas gastrointestinales como diarrea, fiebre, dolor abdominal, náuseas y vómito. En casos más graves, especialmente en niños, adultos mayores y personas inmunocomprometidas, la infección puede extenderse al torrente sanguíneo y generar complicaciones sistémicas.

La transmisión de *Salmonella spp.* ocurre principalmente mediante el consumo de alimentos contaminados, especialmente productos de origen avícola como carne, huevos y derivados (Astorga Márquez, 2020). El contacto con agua contaminada o superficies infectadas también puede favorecer la propagación de la bacteria. Según la Organización Mundial de la Salud (2018), la salmonelosis representa una importante carga sanitaria debido a la alta incidencia de brotes alimentarios y al impacto económico asociado a hospitalizaciones, tratamientos y pérdidas en la industria alimentaria.

La persistencia ambiental de *Salmonella spp.* en cadenas de producción alimentaria, relacionada con su capacidad de formación de biopelículas descrita en la sección 3.5.2, dificulta su erradicación mediante medidas convencionales de bioseguridad. Adicionalmente, el incremento de cepas resistentes a antibióticos, aspecto desarrollado en la sección 3.5.4, ha impulsado la

búsqueda de nuevas estrategias de control microbiológico, incluyendo el uso de compuestos naturales con actividad antibacteriana (Antunes et al., 2016).

3.5.4 Resistencia bacteriana

La resistencia bacteriana es un fenómeno biológico mediante el cual las bacterias desarrollan mecanismos que les permiten sobrevivir a la acción de los antibióticos, reduciendo la eficacia de los tratamientos convencionales (Camacho, 2023). Este problema se ha convertido en una de las principales amenazas para la salud pública a nivel mundial, debido al incremento de infecciones difíciles de tratar y al aumento de la mortalidad asociada a microorganismos resistentes.

En el caso de *Salmonella spp.*, la resistencia antimicrobiana ha aumentado progresivamente como consecuencia del uso inadecuado y excesivo de antibióticos tanto en medicina humana como en producción animal. Investigaciones como la de Eng et al. (2015) han reportado la presencia de cepas resistentes a antibióticos de uso común, como ampicilina, tetraciclinas y fluoroquinolonas, lo que limita las opciones terapéuticas disponibles.

Las bacterias pueden adquirir resistencia mediante diferentes mecanismos, entre ellos la modificación del sitio de acción del antibiótico, la producción de enzimas inactivadoras y la disminución de la permeabilidad celular. Asimismo, la transferencia horizontal de genes de resistencia entre bacterias favorece la rápida propagación de este fenómeno en diferentes ambientes (Saleem et al., 2024).

3.6 Relación entre el *Piper aduncum* y *Salmonella spp.*

El interés científico por el *Piper aduncum* ha aumentado debido a la presencia de metabolitos secundarios con potencial actividad antibacteriana frente a diversos microorganismos patógenos (Morais et al., 2023). Entre estos compuestos destacan flavonoides, terpenos y aceites

esenciales, los cuales han demostrado capacidad para alterar estructuras celulares bacterianas e inhibir procesos metabólicos. Los extractos obtenidos de plantas medicinales representan una alternativa prometedora frente a bacterias resistentes, incluyendo especies del género *Salmonella*. Por ello, el estudio de la relación entre *Piper aduncum* y *Salmonella spp.* resulta relevante para evaluar el potencial antibacteriano de esta planta como posible alternativa natural en el control de este patógeno de importancia en salud pública (Salehi et al., 2019).

CAPÍTULO IV

MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Materiales

4.1.1 Equipos

- Molino de alimentos (Retsch, GRINDOMIX GM200)
- Incubadora con agitación - shaking incubator (N-Biotek, NB-205L)
- Baño ultrasónico (WiseClean, Wisdo)
- Bomba de vacío para filtración (Biobase)
- Bomba de vacío para evaporación (KNF, N 810 Laboport)
- Centrífuga (Thermo Fisher Scientific, Sorvall ST 8R)
- Baño de calentamiento del evaporador rotatorio (BUCHI, Heating Bath B-491)
- Baño de agua circulante (Julabo, 200F)
- Lector de microplacas (BioTek, Epoch)
- Balanza analítica (Adam Equipment, PW 254)
- Micropipetas Biopette (Labnet International): P10 (0,5–20 μL), P100 (10–100 μL), P200 (20–200 μL) y P1000 (100–1000 μL)
- Cámara de flujo laminar (N-BIOTEK, serie 1311N602WS101)
- Estufa de incubación (Mettler, modelo UN30)
- Espectrómetro infrarrojo de rango dual, medio y lejano (Perkin Elmer, Spectrum Two FT-IR/DTGS/APV)
- Desecador

4.1.2 Insumos y material de laboratorio

- Fundas estériles
- Frascos ámbar
- Filtros de papel de 125 mm (Macherey-Nagel, MN 640 W)
- Filtro de jeringa hidrofóbico de PVDF, 13 mm × 0,45 µm (Welch)
- Cajas Petri de vidrio
- Placas de 96 pocillos
- Frasco Kitasato (Boeco)
- Asa de Drigalski
- Tubos Falcon 15 mL
- Tubos estériles Eppendorf 1,5 mL
- Puntas de micropipeta de 10, 100 y 1 000 µL
- Guantes de nitrilo

4.1.3 Reactivos y medios de cultivo

- Etanol al 96 % (grado analítico)
- Agua destilada
- Metanol grado HPLC (Fisher Chemical, A452-4)
- Carbonato de sodio anhidro - Na₂CO₃ (Mallinckrodt, grado AR)
- Reactivo Folin & Ciocalteu (Sigma-Aldrich, F9252-100ML)
- Ácido gálico (Loba Chemie, Cat. 0391000500)
- Sulfato de Kanamicina (REF K003-10GM)
- Caldo nutritivo (TM Media, REF TM 350)
- Agar agar en polvo grado bacteriológico (TM Media, REF 1201)

4.1.4 Microorganismos

- *Salmonella enterica subsp. enterica serovar infantis* (proveniente del cepario del instituto de microbiología de la Universidad San Francisco de Quito).

4.2. Métodos

4.2.1 Recolección y procesamiento del material vegetal

La recolección del material vegetal se llevó a cabo en la comunidad de Añaspamba, cantón Ibarra, provincia de Imbabura, Ecuador. Esta comunidad rural se encuentra a una altitud aproximada de 3000 m.s.n.m. (0,328° N, 78,072° O). Las condiciones climáticas corresponden con un piso ecuatorial de alta montaña, caracterizado por temperaturas frescas, alta humedad relativa y una marcada variación térmica entre el día y la noche. Estos factores favorecen el desarrollo de vegetación andina secundaria en los bordes de caminos, potreros y zonas de uso agrícola, donde *Piper aduncum* crece de forma silvestre. Las hojas fueron recolectadas de forma manual siguiendo la metodología de López (2022). Se seleccionaron exclusivamente hojas “sanas” (sin evidencia de plagas, enfermedades ni daños físicos) entre las 08:00 y las 10:00 de la mañana y se colocaron de inmediato en fundas estériles debidamente identificadas para su traslado al laboratorio y posterior procesamiento.

En el laboratorio, las hojas fueron sometidas a un proceso de limpieza mediante lavado con agua destilada para eliminar partículas de polvo y tierra adheridas a la superficie foliar. Posteriormente, el material se dispuso en bandejas limpias y se dejó secar a temperatura ambiente durante aproximadamente dos semanas. La pérdida de humedad se realizó pesando el material cada cuatro días utilizando una balanza analítica (Krakowska-Sieprawska et al., 2022). Cuando el peso se mantuvo constante entre dos mediciones consecutivas, se determinó que el proceso de secado había concluido. Este criterio gravimétrico garantiza la eliminación del agua libre sin

recurrir a temperaturas que pudieran comprometer los metabolitos fenólicos termolábiles (Sut et al., 2020).

Una vez seco, el material vegetal fue procesado en un molino de alimentos GM200 (Retsch, Alemania) para reducir el tamaño de partícula, obtener un polvo homogéneo y favorecer la transferencia de masa durante la extracción (Liu et al., 2021). El material molido fue almacenado en bolsas herméticas a temperatura ambiente y protegidas de la luz, hasta el inicio del proceso extractivo.

4.2.2 Preparación de extractos y caracterización

Se seleccionaron dos métodos de extracción con el propósito de comparar su efecto sobre el perfil de compuestos obtenidos y la actividad biológica del extracto resultante. La maceración hidroalcohólica corresponde a una técnica convencional de amplio uso en farmacognosia, que permite la extracción gradual de compuestos de polaridad mixta mediante el contacto prolongado entre el material vegetal y el solvente (Azwanida, 2015). Por su parte, la extracción asistida por ultrasonido se incorporó como alternativa de procesamiento moderno, dado que la cavitación acústica generada incrementa la liberación de compuestos desde el tejido vegetal en tiempos considerablemente menores, reduciendo el consumo de solvente y energía en comparación con los métodos convencionales (Liu et al., 2021; Castro-Puyana et al., 2022).

4.2.2.1 Maceración hidroalcohólica (ME)

La preparación del extracto por maceración se realizó siguiendo la metodología de Wong et al. (2018). Se pesaron 25 g de material vegetal molido y se colocaron en un frasco ámbar con 150 mL de etanol al 70 % (v/v), lo que estableció una relación planta:solvente de 1:6 (p/v). La solución hidroalcohólica al 70 % fue preparada mediante dilución con agua destilada, a partir de etanol al 96 %. La mezcla se mantuvo bajo agitación constante en un agitador orbital, durante 3

días. Posteriormente, el extracto fue sometido a filtración mediante dos filtros de papel de 125 mm acoplados a una bomba de vacío, con el fin de eliminar el material particulado grueso. El filtrado resultante fue centrifugado a 5000 rpm para separar los sólidos finos en suspensión y se realizó una segunda filtración utilizando filtros de jeringa de 0,45 μm . El solvente fue recuperado utilizando un rotavapor (temperatura del baño calefactor 30°C, temperatura del condensador -2°C). Al finalizar, el extracto se almacenó en un tubo cónico a -20°C hasta su uso en los ensayos microbiológicos.

4.2.2.2 Extracción asistida por ultrasonido (UE)

La extracción asistida por ultrasonido se realizó según la metodología de Yusof et al. (2019), con ligeras modificaciones. Se empleó etanol al 70 % como solvente, manteniendo la relación planta:solvente de 1:6 (p/v) (25 g de material vegetal molido en 150 mL de etanol al 70 %). La muestra fue sometida a un baño ultrasónico (frecuencia de 40 kHz y temperatura 25 °C), durante tres ciclos consecutivos de 15 minutos cada uno. Una vez concluido el proceso, el extracto fue procesado y almacenado de la misma manera que el extracto obtenido por maceración.

4.2.3. Caracterización del extracto

4.2.3.1 Determinación de la concentración

La concentración de sólidos no volátiles del extracto se determinó por el método gravimétrico de residuo seco, siguiendo la metodología de González et al. (2016). Se utilizaron crisoles de porcelana, previamente secados en estufa a 100 - 105 °C, enfriados en desecador durante 30 minutos y pesados en balanza analítica. La masa del crisol vacío se registró como (P1). El extracto se homogeneizó y se transfirió un volumen exacto de 1 mL a cada crisol y se colocaron en la estufa a 100 - 105 °C durante 24 h. La masa final del crisol con el residuo seco se registró como (P2).

La concentración del extracto se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$\text{Concentración (mg/mL)} = (P2 - P1) / V$$

Donde P1 corresponde al peso del crisol vacío, P2 al peso del crisol con el residuo seco tras la desecación, y V al volumen de extracto añadido (1 mL).

4.2.3.2 Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR)

El extracto se analizó mediante espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR), utilizando un espectrómetro infrarrojo rango dual (medio y lejano) (Perkin Elmer, Spectrum Two). Una pequeña cantidad de muestra se colocó directamente sobre el cristal de diamante, verificando previamente la eliminación del solvente residual. Los espectros se registraron entre 4000 y 650 cm^{-1} , con una resolución de 4 cm^{-1} . Las bandas de absorción se interpretaron según su número de onda para identificar los principales grupos funcionales presentes en el extracto.

4.2.3.3 Cuantificación de polifenoles totales

La cuantificación de polifenoles totales se realizó mediante el método colorimétrico de Folin-Ciocalteu, cuyo fundamento químico ha sido descrito por Pérez et al. (2023), y siguiendo como referencia metodológica el protocolo aplicado en plantas medicinales por Ruiz-Vasquez et al. (2026), con modificaciones en los volúmenes y tiempos de reacción de acuerdo con las condiciones del presente estudio. Los reactivos utilizados para esta determinación se detallan en la Tabla 4.

Tabla 4.*Reactivos utilizados para la cuantificación de polifenoles totales*

Reactivo	Cantidad	Volumen final	Concentración
Ácido gálico	50 mg	50 mL en metanol:agua (50:50)	1 000 ppm
Carbonato de sodio (Na ₂ CO ₃)	10,6 g	100 mL en agua destilada	1 M
Reactivo Folin- Ciocalteu	5 mL comercial	50 mL con agua destilada	1:10
Solvente	25 mL metanol + 25 mL agua	50 mL	50:50

Para la construcción de la curva de calibración se preparó una solución stock de ácido gálico de 1000 mg/L, disolviendo 50 mg de ácido gálico anhidro en 50 mL de una mezcla metanol:agua (50:50 v/v). A partir de esta solución madre se prepararon seis soluciones estándar (Std) de 0, 50, 100, 150, 200 y 250 mg/L La distribución de volúmenes por tubo se presenta en la Tabla 5

La reacción colorimétrica se llevó a cabo en tubos de ensayo de 15 mL con un volumen final de 9,5 mL por tubo. A 500 µL de cada estándar y de cada extracto se adicionaron 5 mL del reactivo Folin-Ciocalteu diluido 1:10 con agua destilada. Los tubos se mantuvieron en oscuridad durante 5 minutos a 25 °C. Transcurrido este tiempo, se adicionaron 4 mL de solución de carbonato de sodio 1 M, preparada disolviendo 10,6 g de Na₂CO₃ anhidro en 100 mL de agua destilada. Las mezclas se incubaron en baño maría a 45 °C durante 15 minutos, se dejaron enfriar a temperatura

ambiente y se midió la absorbancia a 765 nm. Los resultados se expresaron en miligramos por litro (mg/L) de equivalentes de ácido gálico en el extracto.

Tabla 5.

Distribución de volúmenes por tubo para la curva de calibración

Tubo	Concentración (ppm)	Solvente (μL)	Stock AG¹ (μL)	Folin-Ciocalteu 1:10 (mL)	Na₂CO₃ 1 M (mL)
B0 (Blanco)	0	500	0	5	4
Std 1	50	475	25	5	4
Std 2	100	450	50	5	4
Std 3	150	425	75	5	4
Std 4	200	400	100	5	4
Std 5	250	375	125	5	4
E3 (Muestra)	--	--	500 μL de extracto	5	4

Nota. ¹. Ácido gálico

4.2.4 Evaluación de la actividad antibacteriana

4.2.4.1 Preparación y estandarización del inóculo bacteriano

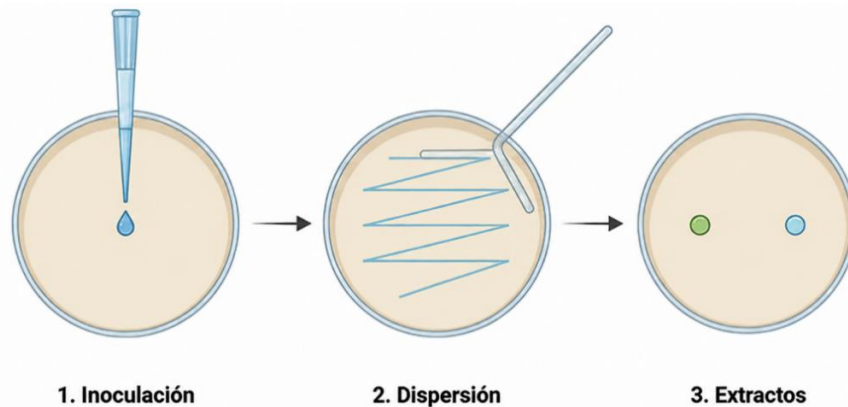
La actividad antibacteriana se evaluó contra *Salmonella enterica subsp. enterica serovar infantis* proveniente del cepario del instituto de microbiología de la Universidad San Francisco de Quito. El inóculo bacteriano fue preparado a partir de un cultivo fresco en caldo nutritivo (equivalente a $\sim 1 \times 10^8$ UFC/mL). Para los ensayos de inhibición, se prepararon suspensiones bacterianas de $\sim 10^5$ y $\sim 10^4$ UFC/mL (CLSI, 2021).

4.2.4.2 Análisis de inhibición en placa

Para el análisis de inhibición en placa se sembraron 100 μL de la suspensión bacteriana ($\sim 10^5$ y $\sim 10^4$ UFC/mL) y se dispersaron de forma homogénea sobre la superficie del agar utilizando un asa de Drigalski. En la placa se aplicaron gotas de 10 μL de cada uno de los extractos evaluados (maceración hidroalcohólica de 3 días y extracción asistida por ultrasonido), con el propósito de analizar el efecto de cada extracto y su comparación en la misma unidad experimental. Como control positivo se utilizó el antibiótico sulfato de kanamicina (64 $\mu\text{g/mL}$) y como control negativo (etanol al 70 %). Las placas fueron incubadas a 30 $^{\circ}\text{C}$ durante 24 horas. Los resultados obtenidos en cada repetición fueron registrados mediante fotografía y clasificados de forma binaria como presencia o ausencia de inhibición del crecimiento bacteriano (Gonzalez-Pastor et al., 2023)

Figura 1.

Esquema de la distribución de extracto y controles para evaluación de actividad antimicrobiana



Nota. El procedimiento comprendió tres etapas: (1) inoculación de 100 μL de la suspensión bacteriana de *Salmonella infantis*; (2) dispersión homogénea de la suspensión sobre la superficie del agar mediante asa de Drigalski; y (3) aplicación de gotas de 10 μL de cada extracto evaluado, equivalentes a 0,797 mg de extracto para la maceración (79,7 mg/mL) y 0,268 mg de extracto para la extracción asistida por ultrasonido (26,8 mg/mL).

4.2.4.3 Cuantificación de actividad inhibitoria

La actividad inhibitoria se evaluó mediante un ensayo de microdilución en caldo en placas estériles de 96 pocillos, adaptado de Eloff (2019), utilizando un volumen final de reacción de 250 µL por pocillo. El inóculo bacteriano se ajustó a una concentración de $5,5 \times 10^6$ UFC/mL. Se evaluaron cuatro concentraciones finales del extracto obtenido por maceración 7,17; 14,35; 21,52 y 28,69 mg/mL. Para cada concentración se incluyó un control de solvente con el mismo volumen de etanol empleado en el tratamiento correspondiente. Se utilizó sulfato de kanamicina a una concentración final de 64 µg/mL como control de inhibición, además de un control de crecimiento bacteriano sin extracto ni antibiótico y un control de esterilidad sin inóculo. Asimismo, se incluyeron blancos constituidos por cada concentración del extracto en medio de cultivo, sin inóculo bacteriano, para corregir la absorbancia propia del extracto.

Cada condición se analizó por triplicado. La composición de las unidades experimentales se presenta en las Tablas 6 y 7, mientras que la distribución de tratamientos y controles en la placa se muestra en la Figura 2.

Tabla 6.

Tratamientos y controles evaluados para la cuantificación de la actividad inhibitoria por microdilución en caldo

Trat	Descripción	Extracto/ Antibiótico (µL)	Inóculo bacteriano (µL)	Agua destilada (µL)	Vol. final (µL)
T1	Crecimiento control	--	10	150	250
T2	CC1 (7,17 mg/mL)	22,5	10	127,5	250
T3	CC2 (14,35 mg/mL)	45	10	105	250

T4	CC3 (21,52 mg/mL)	67,5	10	82,5	250
T5	CC4 (28,69 mg/mL)	90	10	60	250
T6	Control (-) Solvente, etanol 70 %	90	10	60	250
T7	Control (+) Sulfato de Kanamicina (64 µg/mL)	3,2	10	146,8	250

Nota. Todos los pocillos incluyeron 90 µL de medio de cultivo (Caldo nutritivo). Con 7 tratamientos y n = 3, el ensayo comprendió 21 unidades experimentales con inóculo bacteriano.

Tabla 7.

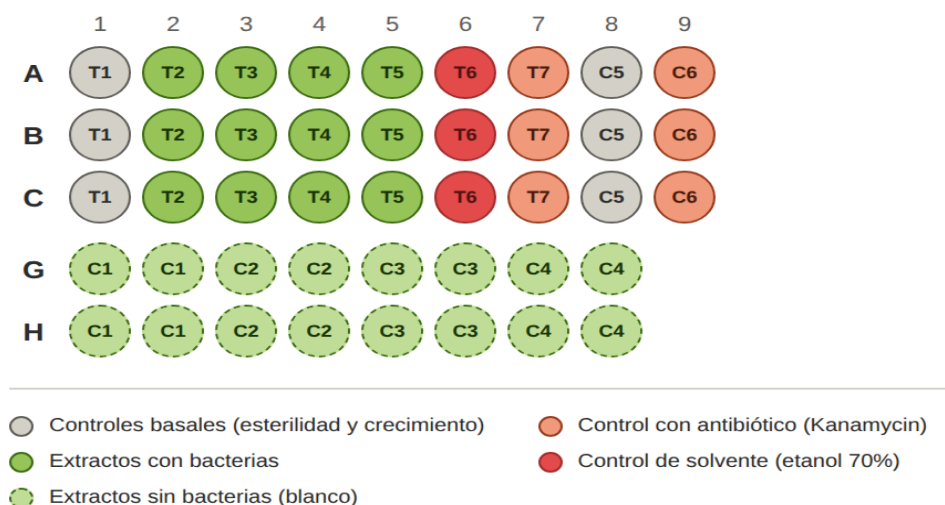
Blancos de extracto para corrección de absorbancia (sin inóculo bacteriano)

Control	Descripción	Extracto/Antibiótico (µL)	Agua destilada (µL)	Vol. final (µL)
C1	Blanco de extracto, CC1	22,5	137,5	250
C2	Blanco de extracto, CC2	45	115	250
C3	Blanco de extracto, CC3	67,5	92,5	250
C4	Blanco de extracto, CC4	90	70	250
C5	Blanco de esterilidad <i>(medio sin inóculo ni extracto)</i>		160	250
C6	Blanco de Sulfato de Kanamicina	3,2	156,8	250

Nota. Cada blanco incluyó 90 μ L de medio de cultivo, sin inóculo bacteriano. Estos pocillos no forman parte de la variable de respuesta (crecimiento/inhibición); su único propósito es corregir la absorbancia de fondo propia del extracto o del antibiótico en la lectura espectrofotométrica.

Figura 2.

Distribución de tratamientos y controles en la placa de 96 pocillos para la cuantificación de la actividad inhibitoria.



Nota. Las filas A-C corresponden a las tres repeticiones de los tratamientos T1-T7 (Tabla 6); las columnas 8 y 9 de las filas A-C corresponden a los blancos C5 y C6 (Tabla 7). Las filas G-H corresponden a las cuatro repeticiones de los blancos del extracto C1-C4 (Tabla 7).

El crecimiento microbiano se evaluó mediante recuento en placa y medición de la absorbancia a 600 nm. Después de 18 h de incubación a 30 °C, se tomaron alícuotas de cada tratamiento, se realizaron diluciones seriadas y se sembraron en agar nutritivo. Tras la incubación, se cuantificaron las colonias y los resultados se expresaron como unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/mL) (Rahman & Butzin, 2024; Valgas et al., 2007).

Adicionalmente, se registró la absorbancia al inicio del ensayo y después de 18 h de incubación con un espectrofotómetro, como una estimación indirecta de la biomasa microbiana (Mira et al., 2022). Los valores se corrigieron utilizando los blancos correspondientes a cada concentración del extracto. La comparación entre la absorbancia y el recuento en placa permitió relacionar la turbidez del cultivo con la concentración de microorganismos viables

4.2.5 Diseño experimental y análisis estadístico

El estudio se desarrolló bajo un diseño completamente al azar (DCA). Dado que las dos variables de respuesta presentan naturalezas distintas, se definieron esquemas experimentales y análisis independientes para cada una (Montgomery, 2019).

Análisis de inhibición

El análisis de inhibición se estructuró como un DCA simple con dos tratamientos: los extractos evaluados de maceración hidroalcohólica de 3 días y extracción asistida por ultrasonido. Cada tratamiento contó con tres repeticiones independientes ($n = 3$), para un total de 6 unidades experimentales. Los controles positivo (Sulfato de kanamicina) y negativo (etanol al 70 %) se incluyeron en cada placa como referencia de validez del ensayo. La variable de respuesta fue de naturaleza cualitativa nominal, registrándose la presencia o ausencia de inhibición del crecimiento bacteriano en cada repetición. El efecto cualitativo del tipo de extracto sobre la inhibición fue evaluado mediante un modelo lineal generalizado con distribución binomial y función de enlace logit (Material suplementario Anexo 1). La significancia del factor extracto se determinó mediante análisis de devianza con prueba Chi-cuadrado.

Tabla 8.*Tratamientos evaluados para el análisis de inhibición en placa*

Tratamiento	Descripción	Variable evaluada
T1	Maceración	Inhibición de crecimiento bacteriano Presencia / ausencia
T2	Ultrasonido (UAE-Etanol 70%)	Inhibición de crecimiento bacteriano Presencia / ausencia
(C+)	Control (+) Sulfato de Kanamicina (64 µg/mL)	Inhibición de crecimiento bacteriano Presencia / ausencia
(C-)	Control (-) solvente - etanol al 70 %	Inhibición de crecimiento bacteriano Presencia / ausencia

Nota. Con 2 tratamientos y n = 3 repeticiones independientes, el ensayo comprendió 6 unidades experimentales. Los controles positivo (Sulfato de kanamicina, 64 µg/mL) y negativo (etanol al 70 %) como referencia de validez del ensayo, sin constituir unidades experimentales independientes.

Cuantificación de la actividad antibacteriana

La cuantificación de la actividad antibacteriana se estructuró como un DCA simple con un control de crecimiento, cuatro concentraciones del extracto de maceración de 3 días (7,17; 14,35; 21,52 y 28,69 mg/mL), un control positivo y un control de solvente. Con tres repeticiones por tratamiento (n=3), en total se comprendió 18 unidades experimentales. Los tratamientos evaluados se detallan en la Tabla 9.

Tabla 9.

Descripción de tratamientos experimentales para el estudio de cuantificación de la actividad antibacteriana

Tratamiento	Descripción	Extracto/Antibiótico	Variable evaluada
T1	Control de crecimiento	--	Absorbancia y UFC/mL
T2	7,17 mg/mL	22,5 µL	Absorbancia y UFC/mL
T3	14,35 mg/mL	45 µL	Absorbancia y UFC/mL
T4	21,52 mg/mL	67,5 µL	Absorbancia y UFC/mL
T5	28,69 mg/mL	90 µL	Absorbancia y UFC/mL
T6 (C-)	Etanol al 70 %	90 µL	Absorbancia y UFC/mL
T7 (C+)	Sulfato de Kanamicina (64 µg/mL)	3,2 µL	Absorbancia y UFC/mL

Nota. T1 (control de crecimiento) se incluyó como referencia para el cálculo de la inhibición, sin constituir un tratamiento independiente dentro del diseño estadístico.

Los esquemas de análisis de varianza para cada variable se presentan en las Tablas 10 y 11.

Tabla 10.*Esquema de ADEVA para el análisis de inhibición en placa*

Fuente de variación	GL
Tratamientos Maceración vs. Ultrasonido	1
Error experimental	4
Total	5

Nota. GL = grados de libertad. Total de unidades experimentales = $2 \times 3 = 6$. GL tratamientos = $t - 1 = 1$; GL error = $N - t = 4$; GL total = $N - 1 = 5$. Dado que la variable de respuesta fue cualitativa nominal, esta tabla representa la estructura del diseño experimental y los resultados se analizaron mediante un modelo lineal generalizado con distribución binomial.

Tabla 11.*Esquema de ADEVA para la cuantificación de la actividad inhibitoria*

Fuente de variación	GL
Tratamientos (6)	5
Entre concentraciones (CC1-CC4)	3
Concentraciones vs. controles	1
Entre controles	1
Error experimental	12
Total	17

Nota. GL= grados de libertad. Total de unidades experimentales = $6 \times 3 = 18$. GL tratamientos = $t - 1 = 5$; GL error = $N - t = 12$; GL total = $N - 1 = 17$. El desglose incluye: entre concentraciones (respuesta dosis-dependiente, 3 GL), concentraciones vs. controles (1 GL) y entre controles (1 GL).

CAPÍTULO V

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 Obtención y caracterización del extracto de *Piper aduncum* L. (matico)

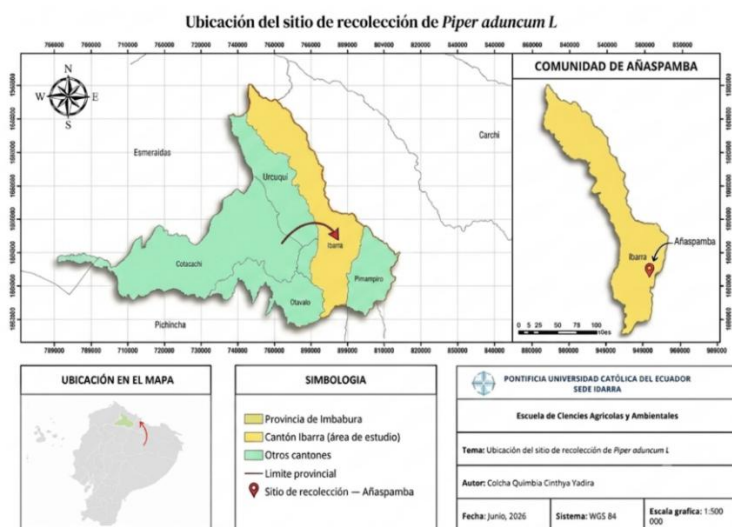
5.1.1 Recolección, procesamiento y preparación de extractos

Las muestras vegetales fueron recolectadas en la comunidad Añaspamba en el cantón Ibarra, en las horas de la mañana. El horario de recolección del material vegetal fue determinado tomando en cuenta que las condiciones climáticas son más frescas, por lo tanto, el contenido de metabolitos fenólicos se mantiene más estable, evitando la degradación por estrés térmico o radiación solar intensa (Hernández et al., 2019).

Figura 3.

A) Ubicación del sitio de recolección de *Piper aduncum* L. (matico), comunidad de Añaspamba, cantón Ibarra, provincia de Imbabura, Ecuador^a. B) Proceso de recolección de material vegetal

A)



B)



Nota. ^a Elaboración propia a partir de datos del Instituto Geográfico Militar (IGM, 2024).

En esta investigación se consideraron dos técnicas de preparación del extracto 1) maceración hidroalcohólica y 2) extracción por ultranido. El proceso de extracción por maceración permite la difusión pasiva del solvente hacia el interior de la matriz vegetal, solubilizando taninos condensados, flavonoides y ácidos fenólicos presentes en las vacuolas del tejido foliar (Valgas et al., 2007). Por otro lado, las ondas ultrasónicas generan microburbujas en el solvente que, al colapsar de forma violenta, producen microjets de alta energía capaces de romper físicamente las paredes celulares y liberar de manera eficiente los metabolitos hidrofílicos presentes en el tejido foliar (Liu et al., 2021). El uso de ultrasonido con la mezcla agua:etanol (30:70) como solvente reduce el tiempo de extracción y el consumo de energía, lo que lo enmarca dentro de los principios de la química verde (Castro-Puyana et al., 2022).

5.1.2 Determinación de la concentración

En las Tablas 12 y 13 se presentan los valores de la concentración de sólidos no volátiles en los extractos obtenidos por maceración y ultrasonido, respectivamente. Esta concentración fue determinada a partir de la diferencia entre el peso del crisol con el residuo seco (P2) y el peso del crisol vacío tras el secado a peso constante (P1), como se detalla en el apartado 4.2.3.1. La concentración de sólidos no volátiles fue igual a $79,7 \pm 1,6$ mg/mL. Este valor evidencia una adecuada reproducibilidad entre las réplicas y es un resultado esperable cuando se controla de manera rigurosa el tiempo y la temperatura de secado hasta alcanzar peso constante, condición que garantiza la eliminación completa del solvente y la fiabilidad del residuo seco cuantificado (Rodríguez Cepeda & Álvarez Suárez, 2021).

Tabla 12.

Determinación gravimétrica de la concentración del extracto de Piper aduncum L. obtenida por maceración

N°	P1 - Peso crisol vacio (g)	P2 - Peso crisol + residuo seco (g)	P2 – P1 (g)	Concentración (mg/mL)
1	19,8022	19,8833	0,0811	81,1
2	21,4285	21,5085	0,0800	80,0
3	23,9804	24,0584	0,0780	78,0

Por otra parte, la concentración del extracto obtenido por ultrasonido fue $26,8 \pm 0,25$ mg/mL, calculada a partir de tres repeticiones independientes (Tabla 13). La baja dispersión entre réplicas (menos del 1% del valor promedio) confirma la precisión del método gravimétrico empleado.

Al comparar ambos métodos de extracción, se observa que el extracto obtenido por ultrasonido presentó una concentración considerablemente menor que el obtenido por maceración ($79,7 \pm 1,6$ mg/mL), lo que representa una reducción de aproximadamente el 66% en el rendimiento de sólidos no volátiles. Esta diferencia puede explicarse por la naturaleza distinta de ambos mecanismos de extracción, mientras que, la maceración permite un contacto prolongado (3 días) entre el solvente y el material vegetal, favoreciendo la difusión progresiva de los compuestos solubles hacia el solvente, la extracción asistida por ultrasonido actúa en un tiempo considerablemente más corto, dependiendo principalmente de la ruptura física de las paredes celulares mediante cavitación acústica.

Es posible que, bajo las condiciones empleadas en este estudio (tiempo, amplitud y temperatura del baño ultrasónico), este mecanismo no haya sido suficiente para liberar la misma

cantidad de sólidos no volátiles obtenidos mediante un contacto prolongado con el solvente. Esta menor concentración podría estar relacionada con la ausencia de actividad antibacteriana observada.

Tabla 13.

Determinación gravimétrica de la concentración del extracto de Piper aduncum L. obtenida por extracción asistida por ultrasonido.

N°	P1 - Peso crisol vacío (g)	P2 - Peso crisol + residuo seco (g)	P2 – P1 (g)	Concentración (mg/mL)
1	23,6736	23,7001	0,0265	26,5
2	23,9811	24,0079	0,0268	26,8
3	19,8031	19,8301	0,0270	27,0

5.1.3 Cuantificación de polifenoles totales

La concentración de polifenoles totales se determinó mediante el método colorimétrico de Folin-Ciocalteu utilizando una curva de calibración con ácido gálico como estándar. La curva de calibración ($y = 0,0007x$) presentó una relación lineal y un coeficiente de correlación de $R^2 = 0,9934$ (Figura 4A-B), lo que confirma la confiabilidad del modelo para estimar la concentración de polifenoles totales. Dado que las muestras presentaron una coloración intensa que excedía el rango lineal de la curva (Figura 4A), se realizó una dilución previa 1:100 con el solvente metanol:agua (50:50 v/v) antes de aplicar la reacción colorimétrica, con el fin de obtener lecturas dentro del rango de linealidad establecido.

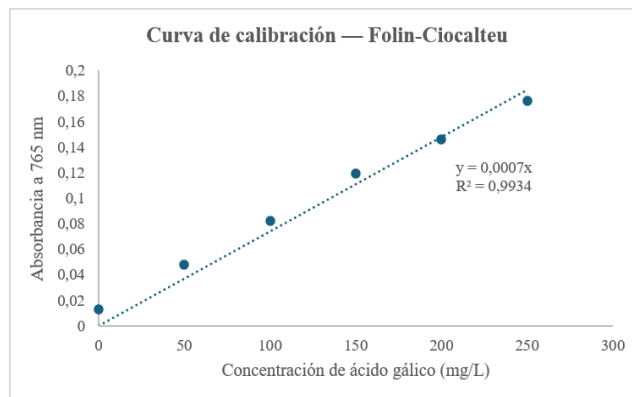
Figura 4.

Determinación de polifenoles A) Tubos de reacción para la construcción de la curva de calibración mediante el método Folin-Ciocalteu. B) Curva de calibración para la cuantificación de fenoles totales aplicando el método Folin-Ciocalteu.

A)



B)



Nota. Elaboración propia.

Los valores de absorbancia obtenidos para el extracto y el contenido de polifenoles totales calculado se presentan en la Tabla 14. El extracto de maceración hidroalcohólica de 3 días presentó un contenido de polifenoles totales de 15 857 mg/L en el extracto concentrado, valor que se encuentra dentro del rango reportado en la literatura para extractos hidroalcohólicos de especies del género *Piper*. Salehi et al. (2019) señalan que los extractos hidroalcohólicos de especies del género *Piper* presentan contenidos de fenoles totales variables según la especie y el proceso de extracción empleado, siendo la difusión de los metabolitos desde la matriz vegetal hacia el solvente un factor determinante en su concentración final.

El contenido de fenoles totales obtenido sugiere que estos compuestos podrían contribuir a la actividad antibacteriana observada frente a *Salmonella infantis*, en concordancia con estudios que asocian la concentración de fenoles totales con la capacidad inhibitoria frente a bacterias gram negativas (Zouine et al., 2024; El-Saadony et al., 2025).

Tabla 14.

Contenido de fenoles totales en los extractos de Piper aduncum L. obtenidos por maceración hidroalcohólica de 3 días

Muestra	Absorbancia promedio	Concentración en muestra diluida (mg/L)	Factor de dilución	Fenoles totales en extracto (mg/L)
E3	0,111	158,6	1/100	15 857

Nota. La concentración en la muestra diluida se calculó mediante la ecuación de la curva de calibración $y = 0,0007x$. Los fenoles totales en el extracto concentrado se obtuvieron multiplicando por el factor de dilución aplicado (1:100). ABS = absorbancia a 765 nm.

5.1.4. Espectroscopía FTIR

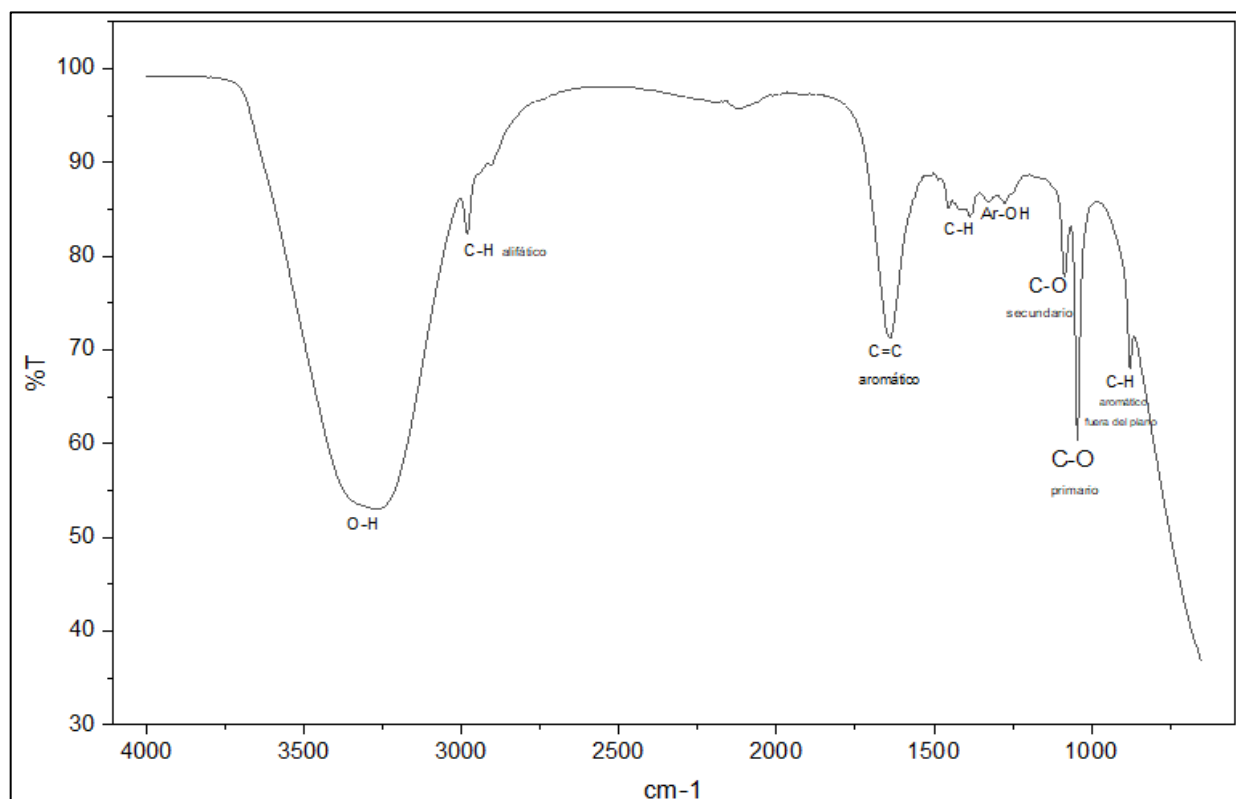
El espectro FTIR del extracto de *Piper aduncum L* (Figura 5) muestra bandas características de la presencia de fenoles. La banda ancha de O-H se observa a 3323 cm^{-1} . Este valor está considerablemente desplazado respecto a la posición típica de un O-H libre ($\sim 3600\text{-}3650\text{ cm}^{-1}$), lo cual es característico de grupos O-H fuertemente asociados por puentes de hidrógeno. Se descarta que la banda de estiramiento O-H corresponda a un ácido carboxílico debido a la ausencia de la banda de estiramiento a 1700 cm^{-1} C=O (Johnson et al., 2023). Además, se observa una banda de estiramiento con intensidad media 2984 cm^{-1} correspondiente a la vibración de los enlaces C-H característica de compuestos alifáticos. Esto está en concordancia con la literatura dado que es conocido que los extractos naturales también presentan compuestos lipídicos que pudieron haber migrado en una pequeña fracción del extracto

La presencia de compuestos aromáticos se confirma con la presencia de la banda de estiramiento de C=C a 1642 cm^{-1} . Además, se observa un patrón de bandas de baja intensidad en

el rango de $1460\text{-}1250\text{ cm}^{-1}$ que corresponde a las flexiones fuera del plano de C-H y O-H comunes en compuestos fenólicos (Hossain et al., 2022). También se evidencia la presencia de alcoholes debido a las bandas de estiramiento de C-O que aparece a 1087 cm^{-1} consistente con compuestos con carácter polar y la banda a 1045 cm^{-1} . Finalmente, se idéntica la banda a 875 cm^{-1} característica de los compuestos aromáticos correspondiente a las vibraciones de flexión C-H fuera del plano (Hossain et al., 2022).

Figura 5.

Espectro FTIR del extracto hidroalcohólico de Piper aduncum L.



5.2 Evaluación de actividad antibacteriana

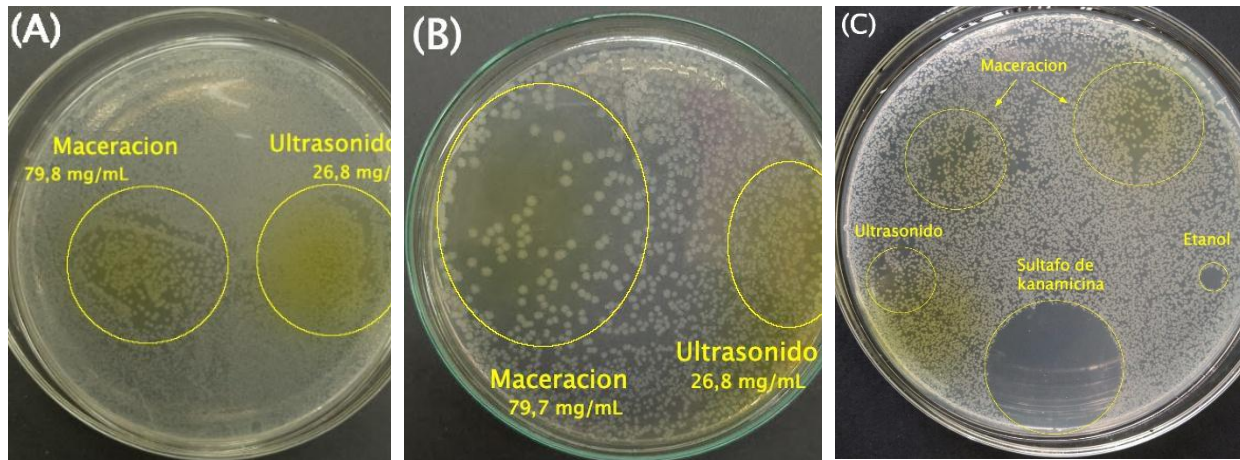
En los últimos años, el uso de compuestos naturales para el control de *Salmonella spp.* ha cobrado interés debido al incremento de cepas resistentes a antibióticos y a la necesidad de desarrollar alternativas antimicrobianas más seguras y sostenibles. Al respecto, Hyldgaard et al.

(2012) señalan que diversos compuestos naturales poseen capacidad para inhibir el crecimiento de bacterias patógenas y reducir la formación de biopelículas, fenómeno asociado a resistencia bacteriana y persistencia en ambientes alimentarios. Por otro lado, el uso de *Piper aduncum* L. contra bacterias patógenas, incluyendo especies del género *Salmonella*, ha sido evaluado en estudios recientes debido al interés creciente en el uso de plantas medicinales como alternativa frente a la resistencia antimicrobiana (Pabón et al., 2023; Pérez et al., 2024). En esta investigación el análisis cualitativo evidenció que el tipo de extracción influye significativamente en la probabilidad de identificar inhibición del crecimiento bacteriano ($p < 0,001$) (Figura 6). Esto significa que los extractos obtenidos por maceración y por ultrasonido no presentaron la misma capacidad de inhibición (Figura 6 A-B).

Sin embargo, como el ensayo fue cualitativo, los resultados solo permiten estimar de manera general el efecto antibacteriano. En la Figura 6 se observa inhibición visible en la zona de aplicación del extracto obtenido por maceración, mientras que, el extracto obtenido por ultrasonido no presentó ninguna zona de inhibición visible. Con base en estos resultados, el extracto obtenido por sonicación fue excluido de los análisis cuantitativos posteriores, debido a que se observó un leve indicio de efecto inhibitorio sobre el crecimiento bacteriano.

Figura 6.

Fotografías de los ensayos cualitativos realizados para evaluar el efecto antibacteriano: A) y C) placa sembrada con una concentración bacteriana de 10^5 UFC/mL, B) placa sembrada con una concentración bacteriana de 10^4 UFC/mL.



5.3 Cuantificación de inhibición

La Tabla 14 presenta el recuento inicial y final de *Salmonella infantis* después de la exposición a cuatro concentraciones del extracto de *Piper aduncum*. En todos los tratamientos, la concentración bacteriana inicial fue de $5,5 \times 10^6$ UFC/mL. En el control de crecimiento, la población bacteriana aumentó hasta $4,3 \times 10^8$ UFC/mL, lo que representa un incremento de aproximadamente 1,89 unidades logarítmicas, equivalente a un aumento de 78,2 veces respecto al recuento inicial.

El extracto a una concentración de 7,17 mg/mL presentó crecimiento bacteriano al finalizar el ensayo. En contraste, no se registró crecimiento en las concentraciones de 14,35; 21,52 y 28,69 mg/mL, lo que sugiere una inhibición completa del crecimiento bacteriano bajo las condiciones evaluadas. De manera similar, el sulfato de kanamicina utilizado como control de inhibición impidió el crecimiento de *S. Infantis*. El resultado del control de solvente con etanol al 70% tampoco registró crecimiento bacteriano. Estos resultados son consistentes con lo reportado por

Da Silva et al. (2021), quienes señalan que el aceite esencial de *Piper aduncum* L. presenta actividad antimicrobiana frente a diversas bacterias patógenas gram positivas y gram negativas, atribuida principalmente al dillapiol, mediante alteración de la permeabilidad de la membrana celular bacteriana e inhibición de procesos metabólicos esenciales. Asimismo, los autores reportaron que extractos etanólicos de especies del género *Piper* presentan actividad inhibitoria frente a bacterias gram negativas, con eficacia dependiente de la concentración utilizada, lo que concuerda con el comportamiento observado en el extracto, donde 3 de las 4 concentraciones evaluadas inhibieron el crecimiento bacteriano.

Tabla 15.

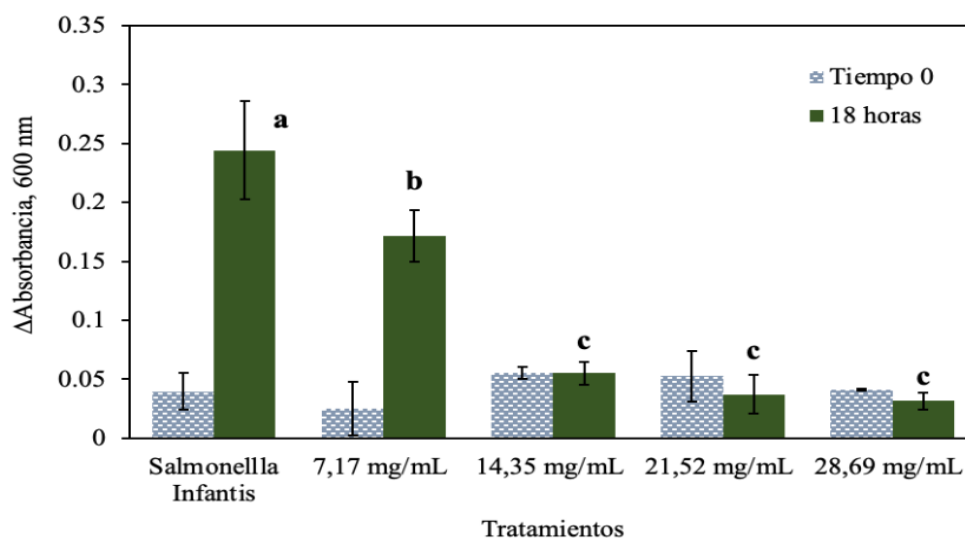
Recuento inicial y final de Salmonella infantis expuesta a diferentes concentraciones del extracto de Piper aduncum y tratamientos control.

Tratamiento		Concentración inicial UFC/mL	Concentración final UFC/mL
Control de crecimiento	<i>Salmonella infantis</i>	10^5	10^8
Extracto <i>Piper aduncum</i>	7,17 mg/mL	10^5	10^7
	14,35 mg/mL	10^5	No se registró crecimiento
	21,52 mg/mL	10^5	No se registró crecimiento
	28,69 mg/mL	10^5	No se registró crecimiento
Control (+)	Sulfato de kanamicina 64 μ g/mL	10^5	No se registró crecimiento
Control (-)	Etanol al 70%	10^5	No se registró crecimiento

Por otra parte, como se observa en la Figura 7, el control de crecimiento de *Salmonella infantis* presentó un incremento en la absorbancia promedio, de $0,0395 \pm 0,0006$ al inicio a $0,2443 \pm 0,0074$ después de 18 h de incubación. De manera similar, en el tratamiento con 7,17 mg/mL de extracto, la absorbancia aumentó de $0,0248 \pm 0,0155$ a $0,1713 \pm 0,0419$. En contraste, a una concentración de 14,35 mg/mL, la absorbancia promedio se mantuvo prácticamente constante, con valores inicial y final de $0,0553 \pm 0,0227$ y $0,0550 \pm 0,0220$, respectivamente. La absorbancia después de 18 horas difirió significativamente entre los tratamientos (ANOVA de una vía: valor del estadístico F del análisis de varianza; $p < 0,001$). En comparación con el tratamiento de 14,35 mg/mL, la absorbancia al final de la incubación fue significativamente mayor en el control de crecimiento y en el tratamiento con 7,17 mg/mL, mientras que no se observaron diferencias significativas con las concentraciones de 21,52 y 28,69 mg/mL. Asimismo, no se evidenció crecimiento bacteriano en los controles con etanol y con el antibiótico.

Figura 7.

Curva de crecimiento bacteriano por concentración del extracto



Nota. Los valores de absorbancia corresponden al promedio de tres repeticiones independientes. El crecimiento bacteriano fue determinado por incremento de absorbancia a 600 nm entre el tiempo cero y las 18 horas de incubación.

La extracción hidroalcohólica favorece la recuperación de metabolitos polares y semipolares, entre ellos compuestos fenólicos y flavonoides. La presencia de estos metabolitos podría explicar parcialmente la inhibición de *S. Infantis*. De acuerdo con los estudios resumidos en la Tabla 15, los compuestos fenólicos y flavonoides pueden alterar la permeabilidad de la membrana bacteriana, interactuar con proteínas celulares, inhibir enzimas e interferir con procesos metabólicos esenciales. En consecuencia, la ausencia de crecimiento registrada a partir de 14,35 mg/mL podría estar relacionada con la acción conjunta de varios componentes del extracto y no necesariamente con un único metabolito. Sin embargo, estos mecanismos deben considerarse como explicaciones plausibles sustentadas en la literatura, puesto que en esta investigación no se evaluó directamente la integridad de la membrana ni se identificaron individualmente los compuestos responsables del efecto antibacteriano.

Los resultados obtenidos son relevantes para la producción avícola porque *Salmonella Infantis* es uno de los serotipos más frecuentes en pollos de engorde y representa un riesgo real de contaminación a lo largo de la cadena alimentaria (EFSA, 2022). Que el extracto de *Piper aduncum* L. haya mostrado actividad inhibitoria frente a este patógeno, siendo una planta de fácil acceso en la región andina del Ecuador, abre una línea de investigación concreta hacia su uso en estrategias de bioseguridad en sistemas de producción animal. Esto toma aún más importancia considerando que el uso de antibióticos en animales de producción está siendo cada vez más restringido por el problema de resistencia antimicrobiana, lo que obliga a buscar alternativas con sustento científico (Ali et al., 2026).

Tabla 16.

Estudios previos sobre la actividad antibacteriana de extractos vegetales frente a Salmonella spp. y otras bacterias patógenas

Autores	Especie vegetal / Tipo de extracto	Bacteria evaluada	Resultados
Salehi et al. (2019)	Especies del género <i>Piper</i> (<i>P. nigrum</i> , <i>P. longum</i> , <i>P. aduncum</i> , entre otras) - extractos acuosos, etanólicos y aceites esenciales, con perfiles ricos en alcaloides, flavonoides y compuestos fenólicos	Múltiples bacterias gram positivas y gram negativas	La actividad antimicrobiana varió ampliamente según la especie, el solvente empleado y la concentración del extracto
Morales-Ubaldo et al. (2020)	<i>Croton draco</i> - maceración hidroalcohólica (agua:metanol, 70:30) durante 48 h, a temperatura ambiente y en ausencia de luz; concentración posterior en rotavapor	Bacterias gram positivas y gram negativas	Se determinó la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y la Concentración Mínima Bactericida (CMB) del extracto frente a los patógenos evaluados
Carrillo-Tomalá et al. (2020)	<i>Mangifera indica</i> L., variedades Tommy Atkins (extractos hidroalcohólicos 90 % y 50 %) y Edward (50 %) - maceración, digestión y ultrasonido	<i>Salmonella Typhimurium</i> , <i>E. coli</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>S. aureus</i> , <i>E. faecalis</i>	Halos de inhibición de 10 a 15 mm; la mayor actividad se observó frente a <i>P. aeruginosa</i> y <i>S. aureus</i> , siendo la variedad Tommy Atkins más efectiva que Edward
Panphut et al. (2020)	<i>Piper retrofractum</i> - maceración con metanol de frutos secos	<i>Salmonella typhi</i> , <i>E. coli</i> y otros patógenos humanos y animales	Halos de inhibición de 0,5 a 8,0 mm según el patógeno; el extracto metanólico fue el más efectivo entre los solventes probados; se determinó CMI y CMB

Da Silva et al. (2021)	<i>Piper aduncum</i> , <i>P. arboreum</i> y <i>P. gaudichaudianum</i> - aceites esenciales obtenidos por hidrodestilación, caracterizados por GC-MS	Bacterias gram positivas y gram negativas	Los tres aceites esenciales presentaron actividad antibacteriana, con perfiles químicos distintos entre especies
Nanje Gowda et al. (2022)	<i>Lantana camara</i> (flores liofilizadas) - comparación entre extracción asistida por ultrasonido (UAE), microondas (MAE) y extracción convencional con solvente (CSE), usando agua destilada	<i>E. coli</i> , <i>Salmonella spp.</i> y <i>S. aureus</i>	Los tres métodos produjeron halos de inhibición similares (0,3–2,6 cm) frente a <i>E. coli</i> y <i>S. aureus</i> ($p < 0,001$); ningún método, incluido el ultrasonido, generó inhibición significativa frente a <i>Salmonella</i>
Din et al. (2022)	<i>Piper nigrum</i> - extracto de frutos	<i>Salmonella typhi</i> y <i>S. aureus</i> multirresistentes	El extracto incrementó los halos de inhibición de clindamicina (9 mm), gentamicina (7 mm), levofloxacina (9 mm) y amikacina (9 mm) al combinarse con antibióticos convencionales
Hidalgo-Sánchez et al. (2025)	<i>Piper aduncum</i> - extracción asistida por ultrasonido vs. extracción convencional	Estudio fitoquímico comparativo	La extracción por ultrasonido incrementó significativamente el rendimiento de flavonoides y ácidos fenólicos frente al método convencional
Silva Ordoñez et al. (2025)	Revisión comparativa de métodos de extracción: maceración, Soxhlet, ultrasonido (UAE), microondas (MAE), fluidos supercríticos (SFE) y solventes eutécticos profundos (DES)	Revisión de moléculas con potencial antimicrobiano	Los métodos verdes e híbridos (UAE, SFE, DES) alcanzaron mayor eficiencia ($IER \geq 150$) y menores valores de CMI (0,25–0,5 mg/mL) que la maceración convencional

Nota. La tabla resume estudios previos relevantes para la presente investigación considerando tanto estudios con *Piper aduncum* L. como investigaciones con otras especies vegetales frente a *Salmonella spp.*

CAPÍTULO VI

CONCLUSIONES

- El extracto de *Piper aduncum L.* se obtuvo mediante maceración hidroalcohólica (etanol al 70%, 3 días) y mediante extracción asistida por ultrasonido, empleando el mismo solvente en ambas técnicas. La concentración del extracto de maceración, determinada gravimétricamente, fue de $79,7 \pm 1,6$ mg/mL, con un contenido de fenoles totales de 15 857 mg/L, y su composición química se caracterizó mediante espectroscopía FTIR, confirmando la presencia de grupos funcionales asociados a compuestos fenólicos en el extracto.
- El tipo de extracción influyó significativamente en la actividad antibacteriana frente a *Salmonella infantis* ($p < 0,001$). El extracto obtenido por maceración hidroalcohólica presentó inhibición visible del crecimiento bacteriano, mientras que el extracto obtenido por ultrasonido no mostró ningún efecto inhibitorio, por lo que fue excluido del análisis cuantitativo posterior.
- La concentración del extracto de maceración influyó significativamente sobre la actividad inhibitoria ($p < 0,001$). A partir de una concentración de 14,35 mg/mL no se registró crecimiento bacteriano. La concentración más baja evaluada (7,17 mg/mL) no logró una inhibición completa, aunque sí redujo el crecimiento bacteriano en aproximadamente un 30% respecto al control, lo que indica que el efecto inhibitorio del extracto se incrementa con la concentración hasta alcanzar la inhibición total a partir de 14,35 mg/mL.
- En conjunto, estos resultados permiten aceptar la hipótesis alternativa (H_1): al menos uno de los factores evaluados, el método de extracción y la concentración del extracto, tuvo un efecto significativo sobre la actividad antibacteriana del extracto de *Piper aduncum L.* frente a *Salmonella infantis*.

CAPÍTULO VII

RECOMENDACIONES

- Para estudios posteriores, conviene evaluar concentraciones intermedias entre 7,17 y 14,35 mg/mL, ya que el rango evaluado en este trabajo no permite ubicar con exactitud el punto donde comienza la inhibición completa del crecimiento bacteriano.
- La identificación y cuantificación individual de los compuestos fenólicos del extracto, mediante técnicas como HPLC, permitiría establecer cuáles metabolitos específicos son responsables de la actividad antibacteriana observada, ya que en este estudio el efecto se atribuyó al conjunto de compuestos presentes y no a uno en particular.
- Ampliar la evaluación del extracto a otros serotipos de *Salmonella spp.* y a otras bacterias patógenas de interés en salud pública y producción pecuaria permitiría determinar si su efecto antibacteriano se mantiene fuera de las condiciones específicas evaluadas en este trabajo.

CAPÍTULO VIII

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ali, S., Kang, H.-S., Moon, B.-Y., Kim, J.-I., Hwang, Y.-J., Choi, J.-H., Lee, Y.-H., Kim, H.-Y., Kim, J.-M., & Lim, S.-K. (2026). *Temporal trends in Salmonella serovar distribution and antimicrobial resistance profiles, including plasmid-mediated colistin resistance, among livestock-derived isolates in South Korea, 2019–2024*. *Frontiers in Microbiology*, 17, 1821233. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2026.1821233>
- Antunes, P., Mourão, J., Campos, J., & Peixe, L. (2016). *Salmonellosis: The role of poultry meat*. *Clinical Microbiology and Infection: The Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 22(2), 110-121. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2015.12.004>
- Arroyo, J., Bonilla, P., Marín, M., Tomás, G., Huamán, J., Ronceros, G., Raez, E., Moreno, L., Hamilton, W. (2022). *Estudio anatómico e histoquímico de los órganos vegetativos de Piper aduncum L. (Piperaceae)*. *Polibotánica*, (54), 185-202. <https://doi.org/10.18387/polibotanica.54.12>
- Astorga Márquez, R. J. (2020). *Sanidad animal y salud pública: El paradigma de Salmonella*. Editorial Amazing Books. <https://amazingbooks.es/producto/sanidadanimalysaludp%C3%BAblica.elparadigmadesalmonella/>
- Atanasov, A. G., Zotchev, S. B., Dirsch, V. M., & Supuran, C. T. (2021). *Natural products in drug discovery: Advances and opportunities*. *Nature Reviews Drug Discovery*, 20(3), 200-216. <https://doi.org/10.1038/s41573-020-00114-z>

- Azwanida, N. N. (2015). *A Review on the Extraction Methods Use in Medicinal Plants, Principle, Strength and Limitation*. Medicinal & Aromatic Plants, 04(03).
<https://doi.org/10.4172/2167-0412.1000196>
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. (2008). *Biological effects of essential oils - A review*. Food and Chemical Toxicology, 46(2), 446-475.
<https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106>
- Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibnsouda, S. K. (2016). *Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review*. Journal of Pharmaceutical Analysis, 6(2), 71-79.
<https://doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005>
- Barbosa, R. H., & Rojas, Q. A. S. (2024). *Etnociencias: Integrando el conocimiento tradicional y el científico para una comprensión de la diversidad cultural*. Revista Internacional del Instituto de Pensamiento Liberal, 1(1), 87-109.
<https://doi.org/10.51660/ripl.v1i1.11>
- Bouarab-Chibane, L., Forquet, V., Lantéri, P., Clément, Y., Léonard-Akkari, L., Oulahal, N., Degraeve, P., & Bordes, C. (2019). *Antibacterial Properties of Polyphenols: Characterization and QSAR (Quantitative Structure-Activity Relationship) Models*. Frontiers in Microbiology, 10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00829>
- Bussmann, R. W., & Glenn, A. (2010). *Medicinal plants used in Northern Peru for reproductive problems and female health*. Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine, 6(1), 30. <https://doi.org/10.1186/1746-4269-6-30>
- Camacho Silvas, L. A. (2023). *Resistencia bacteriana, una crisis actual*. Revista Española de Salud Pública, 97, e202302013.
<https://ojs.sanidad.gob.es/index.php/resp/article/view/93>

- Carrillo-Tomalá, C., Díaz-Torres, R., Guerra-Guamán, K., & Román-Salmerón, A. (2020). *Actividad antimicrobiana de extractos hidroalcohólicos de hojas de dos variedades de Mangifera indica L.* Ciencia Unemi, 13(32), 69–77.
<https://doi.org/10.29076/issn.2528-7737vol13iss32.2020pp69-77p>
- Carvajal Quiceno, A. D. (2023). *Detección de metabolitos secundarios presentes en las hojas de (trichanthera gigantea) acanthaceae y su actividad antimicrobiana y antimicótica.* Acta Biológica Colombiana, 28(1), 118-127.
<https://doi.org/10.15446/abc.v28n1.89656>
- Castro-Puyana, M., Marina, M. L., & Herrero, M. (2022). *Green extraction techniques for bioactive compounds.* Journal of Chromatography A, 1651, 462314.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2021.462314>
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). (2021). *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing (31st ed.).* CLSI supplement M100.
<https://clsi.org/about/press-releases/clsi-publishes-m100-performance-standards-for-antimicrobial-susceptibility-testing-31st-edition/>
- Cowan, M. M. (1999). *Plant Products as Antimicrobial Agents.* Clinical Microbiology Reviews, 12(4), 564-582. <https://doi.org/10.1128/cmr.12.4.564>
- Cushnie, T. P. T., & Lamb, A. J. (2011). *Recent advances in understanding the antibacterial properties of flavonoids.* International Journal of Antimicrobial Agents, 38(2), 99-107.
<https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2011.02.014>
- Cushnie, T. P. T., Cushnie, B., & Lamb, A. J. (2014). *Alkaloids: An overview of their antibacterial, antibiotic-enhancing and antivirulence activities.* International Journal

of Antimicrobial Agents, 44(5), 377-386.

<https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2014.06.001>

Da Silva, A. D., Matias, E. F. F., Rocha, J. E., Justino, A. C., de Freitas, T. S., Campina, F. F., Costa, M. S., Silva, L. E., Amaral, W., & Maia, B. H. L. (2021). *GC-MS characterization and evaluation of antibacterial bioactivities of the essential oils from Piper arboreum Aubl., Piper aduncum L. e Piper gaudichaudianum Kunth*. Zeitschrift für Naturforschung C, 76(1–2), 35–42. <https://doi.org/10.1515/znc-2020-0045>

Din, M. S. U., Gohar, U. F., Hameed, U., Mukhtar, H., Morar, A., Herman, V., & Imre, K. (2022). *Piper nigrum fruit extract as an antibiotic resistance reversal agent in MDR bacteria*. Applied Sciences, 12(24), 12542. <https://doi.org/10.3390/app122412542>

EFSA. (2022). *The European Union summary report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food*. EFSA Journal, 20(3), e07209. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2022.7209>

Eloff, J. N. (2019). *Avoiding pitfalls in determining antimicrobial activity of plant extracts and publishing the results*. BMC Complementary and Alternative Medicine, 19, 106. <https://doi.org/10.1186/s12906-019-2519-3>

El-Saadony, M. T., Saad, A. M., Mohammed, D. M., Korma, S. A., Alshahrani, M. Y., Ahmed, A. E., Ibrahim, E. H., Salem, H. M., Alkafaas, S. S., Saif, A. M., Elkafas, S. S., Fahmy, M. A., Abd El-Mageed, T. A., Abady, M. M., Assal, H. Y., El-Tarabily, M. K., Mathew, B. T., AbuQamar, S. F., El-Tarabily, K. A., & Ibrahim, S. A. (2025). *Medicinal plants: Bioactive compounds, biological activities, combating multidrug-resistant microorganisms, and human health benefits - a comprehensive review*. Frontiers in Immunology, 16, 1491777. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2025.1491777>

- Eng, S.-K., Pusparajah, P., Ab Mutalib, N.-S., Ser, H.-L., Chan, K.-G., & Lee, L.-H. (2015). *Salmonella: A review on pathogenesis, epidemiology and antibiotic resistance*. *Frontiers in Life Science*, 8(3), 284-293. <https://doi.org/10.1080/21553769.2015.1051243>
- European Food Safety Authority (EFSA). (2019). *The European Union summary report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2017*. *EFSA Journal*, 17(2), e05598. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2019.5598>
- Fàbrega, A., & Vila, J. (2013). *Salmonella enterica Serovar Typhimurium Skills To Succeed in the Host: Virulence and Regulation*. *Clinical Microbiology Reviews*, 26(2), 308-341. <https://doi.org/10.1128/cmr.00066-12>
- Farhadi, F., Khameneh, B., Iranshahi, M., & Iranshahy, M. (2019). *Antibacterial activity of flavonoids and their structure–activity relationship: An update review*. *Phytotherapy Research*, 33(1), 13-40. <https://doi.org/10.1002/ptr.6208>
- Gallegos Zurita, M., & Gallegos, D. (2017). *Plantas medicinales utilizadas en el tratamiento de enfermedades de la piel en comunidades rurales de la provincia de Los Ríos-Ecuador*. *Anales de la Facultad de Medicina*, 78(3), 315-321. <https://doi.org/10.15381/anales.v78i3.13767>
- González García, M. G., Segura Cenicerros, E. P., & Vargas Segura, A. I. (2025). *Evaluación cualitativa de compuestos bioactivos presentes en extractos acuosos de romero, orégano, manzanilla y hojásén*. *Cienciacierta*, 21(84, especial), 169-179. <https://revistas.uadec.mx/CienciaCierta/article/view/742>
- González, G. M., Alanuza, A. C., González, F. S., Villegas, J. A. A., Cuenca, S. S. M. de O., Hernández, A. G. C., & Olvera, L. D. J. (2025). *Evaluación de la actividad*

antimicrobiana del extracto alcohólico de Tagetes erecta contra bacterias y hongos de importancia clínica. Ars Pharmaceutica (Internet), 66(4), 426-435.
<https://doi.org/10.30827/ars.v66i4.33109>

González, K. L., Gutiérrez, R., Hernández, Y., Valdés-Iglesias, O., & Rodriguez, M. (2016). *Determination of the antioxidant capacity of two seagrass species according to the extraction method. Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research, 4(5), 199-205.*
doi:10.56499/jppres16.114_4.5.199

Gonzalez-Pastor, R., Carrera-Pacheco, S. E., Zúñiga-Miranda, J., Rodríguez-Pólit, C., Mayorga-Ramos, A., Guamán, L. P., & Barba-Ostria, C. (2023). *Current landscape of methods to evaluate antimicrobial activity of natural extracts. Molecules, 28(3), 1068.*
<https://doi.org/10.3390/molecules28031068>

Hernández, M., Torres, E., & Ramírez, F. (2019). *Influence of collection time on secondary metabolite content in medicinal plants. Journal of Ethnopharmacology, 231, 408-416.*
<https://doi.org/10.1016/j.jep.2018.11.035>

Hidalgo-Sánchez, M. A., Pérez-Cuesta, A. M., Montesdeoca-Erazo, R. V., & Casigña-Guamán, N. S. (2025). *Influencia del ultrasonido en la extracción de compuestos bioactivos de Piper aduncum L. Código Científico Revista de Investigación, 6(E1), 2273-2288.* <https://doi.org/10.55813/gaea/ccri/v6/nE1/815>

Hossain, M. M., Fatema-Tuj-Zohra, & Ahmed, S. (2022). *Study of FTIR spectroscopy combined with chemometrics in the characterization of vegetable tannin from Ceriops decandra. ChemRxiv.* <https://doi.org/10.26434/chemrxiv-2022-z139w>

Huerta-Saquero, A., & Meza-Villezcás, A. (2026). *Evaluación completa de la actividad antibacteriana de nanomateriales. Mundo nano. Revista interdisciplinaria en*

<https://doi.org/10.22201/ceiich.24485691e.2026.37.6988>

Hyldgaard, M., Mygind, T., & Meyer, R. L. (2012). *Essential Oils in Food Preservation: Mode of Action, Synergies, and Interactions with Food Matrix Components*. *Frontiers in Microbiology*, 3. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00012>

Ingaroca, S., Castro, A., & Ramos, N. (2019). *Composición química y ensayos de actividad antioxidante y del efecto fungistático sobre Candida albicans del aceite esencial de Piper aduncum L. "Matico"*. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 85(2), 268-279. <https://doi.org/10.37761/rsqp.v85i2.83>

Instituto Geográfico Militar. (2024). *Cartografía base continua, escala 1:1'000.000*. Geoportal Ecuador. <https://www.geoportaligm.gob.ec/portal/>

Johnson, J. B., Walsh, K. B., Naiker, M., & Ameer, K. (2023). *The use of infrared spectroscopy for the quantification of bioactive compounds in food: A review*. *Molecules*, 28(7), 3215. <https://doi.org/10.3390/molecules28073215>

Kalemba, D., & Kunicka, A. (2003). *Antibacterial and antifungal properties of essential oils*. *Current Medicinal Chemistry*, 10(10), 813-829. <https://doi.org/10.2174/0929867033457719>

Kowalska-Krochmal, B., & Dudek-Wicher, R. (2021). *The minimum inhibitory concentration of antibiotics: Methods, interpretation, clinical relevance*. *Pathogens*, 10(2), 165. <https://doi.org/10.3390/pathogens10020165>

- Krakowska-Sieprawska, A., Kielbasa, A., Rafińska, K., Ligor, M., & Buszewski, B. (2022). *Modern methods of pre-treatment of plant material for the extraction of bioactive compounds*. *Molecules*, 27(3), 730. <https://doi.org/10.3390/molecules27030730>
- Li, Z., He, Q., Xu, F., Yin, X., Guan, Z., Song, J., He, Z., Yang, X., & Situ, C. (2024). *Exploring the Antibacterial Potential and Underlying Mechanisms of Prunella vulgaris L. on Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus*. *Foods*, 13(5), 660. <https://doi.org/10.3390/foods13050660>
- Liu, Z., Zhang, M., & Bhandari, B. (2021). *Ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds: Mechanisms and applications*. *Trends in Food Science & Technology*, 109, 374–386. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.01.033>
- López Dellamary Tello, Zazil. (2022). *Guía de colecta y herborización de plantas*. https://www.researchgate.net/publication/362509727_Guia_de_colecta_y_herborizacion_de_plantas
- Mares Jiménez, A. C., Prado Rebolledo, O. F., Hernandez Rivera, J. A., Mendoza Muñoz, N., & García Casillas, A. (2024). *Aceites esenciales y sus constituyentes para hacer frente a las bacterias patógenas*. *Abanico veterinario*, 15(1), 14. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=9721416>
- Martínez Bautista, A., Osorio Hernández, E., Segura Martínez, M. T. de J., Sánchez Castillo, L. R. M., & Rocandio Rodríguez, M. (2025). *Extractos vegetales para el control de plagas: aplicaciones y métodos de preparación*. *Temas de Ciencia y Tecnología*, 29(87), 41-48. https://www.utm.mx/edi_anteriores/temas87/T87_E05_vegetales_control_plagas.pdf

- Minaya, J., Paredes, C., & Flores, R. (2023). *Antibacterial activity of Andean medicinal plants against enteric pathogens*. Journal of Ethnopharmacology, 312, 116446. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2023.116446>
- Mira, P., Yeh, P., & Hall, B. G. (2022). *Estimating microbial population data from optical density*. PLOS ONE, 17(10), e0276040. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0276040>
- Montgomery, D. C. (2019). *Design and analysis of experiments (9th ed.)*. John Wiley & Sons. [https://www.wiley.com/en-
ie/Design+and+Analysis+of+Experiments,+9th+Edition,+EMEA+Edition-p-
9781119638421](https://www.wiley.com/en-
ie/Design+and+Analysis+of+Experiments,+9th+Edition,+EMEA+Edition-p-
9781119638421)
- Morais, V. P., Cabral, F. V., Fernandes, C. C., & Miranda, M. L. D. (2023). *Brief review on Piper aduncum L., its bioactive metabolites and its potential to develop bioproducts*. Brazilian Archives of Biology and Technology, 66, e23220314. <https://doi.org/10.1590/1678-4324-2023220314>
- Morales-Ubaldo, A., Hernández-Alvarado, J., Valladares-Carranza, B., Velázquez-Ordoñez, V., Delgadillo-Ruiz, L., Rosenfeld-Miranda, C., Rivero-Pérez, N., & Zaragoza-Bastida, A. (2020). *Actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico Croton draco sobre bacterias de importancia sanitaria*. Abanico Veterinario, 10, e1. <https://doi.org/10.21929/abavet2020.2>
- Nanje Gowda, N. A., Gurikar, C., Anusha, M. B., & Gupta, S. (2022). *Ultrasound-assisted and microwave-assisted extraction, GC-MS characterization and antimicrobial potential of freeze-dried L. camara flower*. Journal of Pure and Applied Microbiology, 16(1), 526–539. <https://doi.org/10.22207/JPAM.16.1.50>

Newman, D. J., & Cragg, G. M. (2020). *Natural Products as Sources of New Drugs over the Nearly Four Decades from 01/1981 to 09/2019*. Journal of Natural Products, 83(3), 770-803. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.9b01285>

Organización Mundial de la Salud (OMS). (2018, febrero 20). *Salmonella* (non-typhoidal). [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-\(non-typhoidal\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-(non-typhoidal))

Organización Mundial de la Salud (OMS). (2021). *Resistencia a los antimicrobianos*. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>

Organización Mundial de la Salud. (2019, junio 4). *WHO global report on traditional and complementary medicine 2019*. <https://www.who.int/publications/i/item/978924151536>

Pabón B, L. C., Granados Flórez, J., Rodríguez Álvarez, M. F., Hernández-Rodríguez, P., Velasco, W. J., Pabón B, L. C., Granados Flórez, J., Rodríguez Álvarez, M. F., Hernández-Rodríguez, P., & Velasco, W. J. (2023). *Actividad antimicrobiana de extractos de plantas frente a Staphylococcus aislados de pacientes con conjuntivitis bacteriana*. *Revista Ciencias de la Salud*, 21(1). <https://doi.org/10.12804/revistas.urosario.edu.co/revsalud/a.10242>

Panphut, W., Budsabun, T., & Sangsuriya, P. (2020). *In vitro antimicrobial activity of Piper retrofractum fruit extracts against microbial pathogens causing infections in human and animals*. *International Journal of Microbiology*, 2020, 5638961. <https://doi.org/10.1155/2020/5638961>

Pérez Aguedo, D., Fornaris Pérez, Y. A., & Pérez Aguedo, D. (2024). *La medicina natural y tradicional como complemento de la terapia antimicrobiana*. *Revista Cubana de Medicina Militar*, 53(2).

http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0138-65572024000200039&lng=es&nrm=iso&tlng=pt

Pérez, M., Domínguez-López, I., & Lamuela-Raventós, R. M. (2023). *The chemistry behind the Folin-Ciocalteu method for the estimation of (poly)phenol content in food: Total phenolic intake in a Mediterranean dietary pattern*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 71(46), 17543–17553. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.3c04022>

Primicias. (2025, 28 de agosto). *Ecuador alberga más especies de flora y fauna que continentes enteros, según el Instituto Nacional de Biodiversidad*. <https://www.primicias.ec/ciencia-tecnologia/ecuador-especies-flora-fauna-continentes-enteros-instituto-nacional-biodiversidad-103753/>

Rahman, K. M. T., & Butzin, N. C. (2024). *Counter-on-chip for bacterial cell quantification, growth, and live-dead estimations*. Scientific Reports, 14, 782. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-51014-2>

Rodríguez Cepeda, R., & Alvarez Suárez, N. Y. (2021). *Actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de Calendula officinalis L.* Revista ION, 34(1), 97–110. <https://doi.org/10.18273/revion.v34n1-2021008>

Ruiz-Vasquez, L., Ruiz Mesia, L., Maco, M. M., Zapata, J. A., Ricopa Cotrina, H., Cobos, M., Pinedo-Cancino, V., Tello, F., & Castro, J. C. (2026). *Optimized Folin–Ciocalteu method for determination of total polyphenols in medicinal plants of the Peruvian Amazon: Validation and application to twelve species*. AppliedChem, 6(1), 17. <https://doi.org/10.3390/appliedchem6010017>

Saleem, Z., Hayat, K., Iqbal, M. S., Atif, N., Khan, F. U., Yousaf, M., Hasan, S. S., Saleem, F., Akhtar, M. F., & Kalsoom, S. (2024). *Mechanism of antibacterial resistance*,

strategies and next-generation antimicrobials to contain antimicrobial resistance.

Frontiers in Pharmacology, 15, 1444781. <https://doi.org/10.3389/fphar.2024.1444781>

Salehi, B., Zakaria, Z. A., Gyawali, R., Ibrahim, S. A., Rajkovic, J., Shinwari, Z. K., Khan, T., Sharifi-Rad, J., Ozleyen, A., Turkdonmez, E., Valussi, M., Tumer, T. B., Monzote Fidalgo, L., Martorell, M., & Setzer, W. N. (2019). *Piper species: A comprehensive review on their phytochemistry, biological activities and applications.* Molecules, 24(7), 1364. <https://doi.org/10.3390/molecules24071364>

Salehi, B., Zakaria, Z. A., Gyawali, R., Ibrahim, S. A., Rajkovic, J., Shinwari, Z. K., Khan, T., Sharifi-Rad, J., Ozleyen, A., Turkdonmez, E., Valussi, M., Tumer, T. B., Monzote Fidalgo, L., Martorell, M., & Setzer, W. N. (2019). *Piper Species: A Comprehensive Review on Their Phytochemistry, Biological Activities and Applications.* Molecules, 24(7), 1364. <https://doi.org/10.3390/molecules24071364>

Salgado Arauz, G. J. (2025). *Uso de plantas medicinales en la población de 35 a 45 años de la Comunidad Miraflor de Estelí, 2024.* Revista de Estudios Socioambientales Gaia, 1(1), 5. <https://doi.org/10.62407/dzv5f378>

Silva Ordoñez, A. S., et al. (2025). *Efectividad de los métodos de extracción de compuestos bioactivos en la obtención de moléculas con potencial antimicrobiano: revisión de enfoques.* Polo del Conocimiento. <https://polodelconocimiento.com/ojs/index.php/es/article/view/10887>

Silva, L. N., Zimmer, K. R., Macedo, A. J., & Trentin, D. S. (2016). *Plant Natural Products Targeting Bacterial Virulence Factors.* Chemical Reviews, 116(16), 9162-9236. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.6b00184>

- Sut, S., Baldan, V., & Dall'Acqua, S. (2020). *Phenolic compounds and antibacterial activity in medicinal plants*. *Phytochemistry Reviews*, 19, 1203–1224. <https://doi.org/10.1007/s11101-020-09688-3>
- Taher, M., Amri, M. S., Susanti, D., Abdul Kudos, M. B., Md Nor, N. F. A., & Syukri, Y. (2020). *Medicinal uses, phytochemistry, and pharmacological properties of Piper aduncum L.* *Sains Malaysiana*, 49(8), 1829-1851. <http://dx.doi.org/10.17576/jsm-2020-4908-07>
- Uttam, Kumar, R., Singh, A., & Biswas, D. (2025). *Unraveling the intricate roles of plant secondary metabolites in mitigating bacterial multidrug resistance: Challenges and prospects*. *Journal of Natural Products*, 88(9), 2247-2258. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.5c00349>
- Valgas, C., Souza, S. M. de, Smânia, E. F. A., & Smânia, A. Jr. (2007). *Screening methods to determine antibacterial activity of natural products*. *Brazilian Journal of Microbiology*, 38(2), 369–380. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822007000200034>
- Vargas Radillo, J. J., Ruíz López, M. A., Vera Fuentes, B. C., Briano Elías, M. A., & Barrientos Ramírez, L. (2023). *Obtención de compuestos bioactivos de plantas medicinales*. *Revista CENIC Ciencias Químicas*, 54, 122-134. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2221-24422023000100122
- Velázquez-Vázquez, G., Ortega Morente, E., Cobo Molinos, A., & Pérez-Armendáriz, B. (2023). *Actividad antimicrobiana y antibiopelícula del extracto vegetal Sambucus canadensis en bacterias patógenas transmitidas por alimentos*. *Biotecnia*, 25(3), 176-183. <https://doi.org/10.18633/biotecnia.v25i3.2115>

- Verdezoto, C. S. (2023). *Plantas medicinales de la Amazonía ecuatoriana con actividad antibacteriana: Una revisión sistemática*. *Revista Bases de la Ciencia*. ISSN 2588-0764, 8(3), 15-39. <https://doi.org/10.33936/revbasdelaciencia.v8i3.6708>
- Wong Paz, J. E., Rubio Contreras, C., Reyes Munguía, A., Aguilar, C. N., & Carrillo Inungaray, M. L. (2018). *Phenolic content and antibacterial activity of extracts of Hamelia patens obtained by different extraction methods*. *Brazilian Journal of Microbiology*, 49(3), 656–661. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2017.03.018>
- Yusof, A. H. M., Abd Gani, S. S., Zaidan, U. H., Halmi, M. I. E., & Zainudin, B. H. (2019). *Optimization of an ultrasound-assisted extraction condition for flavonoid compounds from cocoa shells (Theobroma cacao) using response surface methodology*. *Molecules*, 24(4), 711. <https://doi.org/10.3390/molecules24040711>
- Zhao, K., Jiang, Y., Dev, K., He, X., Sharma, V., & Pang, X. (2024). *Terpenoids as principal bioactive compound of Cissampelos oppositifolia essential oils: enhancing synergistic efficacy with conventional antibiotics*. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2024.1481656>
- Zouine, N., Ghachtouli, N. E., Abed, S. E., & Koraichi, S. I. (2024). *A comprehensive review on medicinal plant extracts as antibacterial agents: Factors, mechanism insights and future prospects*. *Scientific African*, 26, e02395. <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2024.e02395>

ANEXOS

Anexo 1. *Registro fotográfico del proceso (secado, maceración/ultrasonido, filtración)*



Anexo 2. *Proceso de eliminación del solvente por rotaevaporación y obtención de extracto*



Anexo 3. *Materiales y equipos utilizados para la preparación de los ensayos de actividad antibacteriana*



Anexo 4. *Placas de microdilución en 96 pocillos y espectrofotómetro utilizados para el ensayo de microdilución.*



Anexo 5. *Material contaminado empacado para su esterilización en autoclave*

