

Efecto antimicrobiano de los extractos polifenólicos presentes en *ananas comosus*

Antimicrobial effect of polyphenolic extracts present in *ananas comosus*

Nelson Alfonso Vega¹ Dora Clemencia Villada Castillo¹ Dorance Becerra Moreno¹

¹Universidad Francisco de Paula Santander, Facultad Ciencias Agrarias y del Ambiente, Cúcuta, Norte de Santander, Colombia.

Resumen

Introducción: La utilización de antimicrobianos es un desafío permanente ya que se enfrenta en todo momento a la capacidad de las bacterias para desarrollar mecanismos de resistencia. **Objetivo:** el objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto antimicrobiano de los extractos polifenólicos presentes en la corona Ananas comosus. **Materiales y Métodos:** se recolectaron 3,5 kg de hojas de coronas de piña Ananas comosus para ello se llevaron a un secador de charolas, para reducir humedad, posteriormente, se realizó la molienda hasta obtener una harina fina, para el proceso de extracción del extracto oleaginoso se utilizó un equipo Soxhlet utilizando etanol al 70 % como solvente, la identificación de compuestos fenólicos se realizó por cromatografía líquida de ultra-alta resolución con detector de masas Orbitrap, el análisis microbiológico se evaluó mediante el método estandarizado de difusión con discos utilizando agar Mueller-Hinton, para lo cual se utilizó la cepa Staphylococcus aureus (ATCC 25923), utilizando como control positivo oxacilina y como control negativo (DMSO). **Resultados:** del secado obtenido se disminuyó la humedad en 50 %, con el cual la materia seca obtenida fue molida y utilizada para realizar el proceso de extracción del extracto oleaginoso obteniendo 63ml del cual se identificaron de 27 compuestos fenólicos. En cuanto al análisis microbiológico realizado, se observaron halos de inhibición variables entre 4,5 mm y 6,0 mm. **Conclusión:** finalmente se concluyó que los polifenoles presentes en el extracto de Ananas comosus presentaron actividad antibacteriana en Staphylococcus aureus observándose mayor efecto de inhibición al aplicar de mayor concentración del extracto.

Abstract

Introduction: The use of antimicrobials is a permanent challenge as it is constantly confronted with the ability of bacteria to develop resistance mechanisms. **Objective:** The objective of this research was to evaluate the antimicrobial effect of polyphenolic extracts present in Ananas comosus crown. **Materials and Methods:** 3.5 kg of Ananas comosus pineapple crown leaves were collected and taken to a tray dryer to reduce humidity, then, they were milled until a fine flour was obtained, for the extraction process of the oleaginous extract a Soxhlet equipment was used, using 70% ethanol as solvent, The identification of phenolic compounds was carried out by ultra-high resolution liquid chromatography with an Orbitrap mass detector. The microbiological analysis was evaluated by the standardized method of diffusion with discs using Mueller-Hinton agar, for which the Staphylococcus aureus strain (ATCC 25923) was used, using oxacillin as a positive control and DMSO as a negative control. **Results:** from the drying obtained, the humidity was reduced by 50%, with which the dry matter obtained was ground and used to carry out the extraction process of the oleaginous extract, obtaining 63 ml of which 27 phenolic compounds were identified. As for the microbiological analysis carried out, inhibition halos varying between 4.5 mm and 6.0 mm were observed. **Conclusion:** Finally, it was concluded that the polyphenols present in the extract of Ananas comosus showed antibacterial activity on Staphylococcus aureus, with a greater inhibition effect observed when a higher concentration of the extract was applied.

Keywords: antioxidant, bacteria, inhibition, pathogen, polyphenol, polyphenol.

Palabras clave: antioxidante, bacteria, inhibición, patógeno, polifenol.

¿Cómo citar?

Vega, N.A., Villada, D.C., Becerra, D. Efecto antimicrobiano de los extractos polifenólicos presentes ananas comosus. Ingeniería y Competitividad, 2024, 26(2)e-20914003

<https://doi.org/10.25100/iyc.v26i2.14003>

Recibido: 29-04-24

Aceptado: 20-06-24

Correspondencia:

nelsonalfonsovc@ufps.edu.co

Este trabajo está bajo una licencia internacional Creative Commons Atribución-No Comercial-CompartirIgual4.0.



Conflicto de intereses: ninguno declarado



¿Por qué se llevó a cabo?

Esta investigación se realizó con el fin de conocer el posible efecto antimicrobiano de los compuestos polifenólicos presentes en el extracto oleaginoso de Ananas comosus (piña), teniendo en cuenta que este tipo de fruta es rica en compuestos polifenólicos, por lo que se evaluó en el aplicabilidad de este en Staphylococcus aureus (ATCC 25923), microorganismo causante de muchas enfermedades e infecciones respiratorias, pero actualmente algunos microorganismos han adquirido resistencia a los antibióticos comunes, por lo que la investigación busca ser una alternativa antimicrobiana para este tipo de microorganismos.

¿Cuáles fueron los resultados más relevantes?

Entre los resultados más importantes estuvo la presencia de 27 compuestos polifenólicos en el extracto oleaginoso de Ananas comosus, siendo la cafeína, el ácido vainílico y el ácido p-cumárico los de mayor proporción, por otro lado, también se encontró que el efecto de inhibición con halos que van desde entre 4.5 y 6.0 mm resultados que se presentaron al aumentar la concentración del extracto.

¿Qué aportan estos resultados?

Estos resultados son importantes porque presentan los compuestos polifenólicos como una posible alternativa antimicrobiana debido a la resistencia a los antibióticos que podrían presentar microorganismos como Staphylococcus aureus.

Graphical Abstract

Introducción

La utilización de diversas sustancias antimicrobianas que retardan el crecimiento microbiano (1), y que además combaten diversas infecciones se ha convertido en todo un desafío (2), es por ello que las sustancias antioxidantes juegan un papel fundamental en la salud de las personas, ya que éstas actúan en la protección contra agentes patógenos, reacciones de oxidación e incluso retrasan el crecimiento de los microorganismos (3), se ha comprobado que los antioxidantes son sustancias que se encuentran presentes en las frutas y en las verduras (4), es por ello que para disminuir el impacto generado por los radicales libres, las industrias como las de productos cosméticos han incluido dentro de sus componentes la utilización de estas sustancias así como lo menciona (5) en su investigación. En el caso de las frutas son potenciales productores de una gran cantidad de antioxidantes que retrasan los procesos oxidativos (6);(7), la presencia de vitaminas y otras sustancias bioactivas son también principales antioxidantes (8), autores como (9);(10), mencionan en sus investigaciones que los grupos hidroxilo de los compuestos fenólicos son los responsables del deterioro de los radicales libres durante el proceso oxidativo, *Ananas comosus* (piña) es una de las frutas de gran importancia por su alto contenido de de compuestos bioactivos (vitamina C, β -caroteno y compuestos fenólicos), además, los residuos generados de la piña como la cascara y la corona son fuente importante de fibra dietética y fenoles (11). La prevención de enfermedades respiratorias son derivados del atrapamiento de los radicales libres y las especies reactivas de oxígeno (ROS), como es el caso de los polifenoles (12);(13), por lo cual son importantes en la prevención de enfermedades *en el caso de S. aureus* es uno de los microorganismos que frecuentemente aísla en hospitales además es uno de los patógenos nosocomiales de mayor importancia, responsable de infecciones y enfermedades (14), sin embargo, este tipo de microorganismos han adquirido importancia por haber desarrollado resistencia a antibióticos (15), los cuales en la década de los 60 indujeron la resistencia a la metilina (MRSA) como lo afirman.(16), el objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto antimicrobiano de los extractos polifenólicos presentes *Ananas comosus*.

Materiales y métodos

Recolección y adecuación

Se recolectaron las coronas de piña (*Ananas comosus*) a partir de los desechos encontrados en la central de abastos de la ciudad, se tomaron 3,5 kg de hojas de corona de la piña de la cual se realizó un proceso de limpieza de estas, utilizando una solución salina al 0.9 %, posteriormente se pesaron.

Secado y molienda

Para el proceso de secado se utilizó un secador de charolas, modelo PS-ECE-001/PE y serie GEN-0412-237 durante 72 horas a 55 °C. para reducir la mayor cantidad de humedad posible, posteriormente se llevó a la molienda hasta obtener una harina fina para lo cual se utilizó un molino de granos.

Extracción e identificación de compuestos fenólicos

En el proceso de obtención del extracto oleaginoso se utilizó un equipo Soxhlet en una extracción sólido-líquido, por siete horas empleando etanol al 96 % como solvente, seguidamente se realizó una destilación simple por un tiempo de 60 minutos para la obtención del extracto más puro y evaporar el solvente, posteriormente, se calculó el rendimiento obtenido del extracto utilizando la ecuación 1:

(Ecuación 1)

$$\frac{PI-PF}{PI} * 100 \%R=$$

La identificación de compuestos fenólicos se llevó a cabo mediante cromatografía líquida de ultra-alta resolución con detector de masas Orbitrap (UHPLC-ESI+-Orbitrap-HRMS), las muestras analizadas disolvieron en una mezcla de metanol: agua (1:1 v/v) con ácido fórmico 0.2 % v/v, vórtex (5 min) y sonicación (5 min) y posterior inyección al equipo cromatográfico. Como estándares de referencia se utilizaron las xantinas: cafeína (Part N° C8960-250G, Sigma-Aldrich), teobromina (Part N° T4500-25G, Sigma-Aldrich) y teofilina (Part N° T1633-25G, Sigma-Aldrich); las catequinas: (±)-catequina (C) (Part N° C1788-500MG, Sigma-Aldrich), (-)-epigallocatequina galato (EGCG) (Part N° E4143-50MG, Sigma-Aldrich), (-)-epicatequina (EC) (Part N° E1753-1G, Sigma-Aldrich), (-)-epicatequina galato (ECG) (Part N° E3893-10MG, SigmaAldrich), (-)-epigallocatequina (EGC) (Part N° E3768-5MG, Sigma-Aldrich); los flavonoides: ácido caféico (Part N° C0625, Sigma-Aldrich), ácido p-cumárico (Part N° C9008, Sigma-Aldrich), ácido rosmarínico (Part N° 536954-5G, Sigma-Aldrich), quercetina (Part N° Q4951-10G, Sigma-Aldrich), naringenina (Part N° N5893-1G, Sigma-Aldrich), luteolina (Part N° L9283-10MG, Sigma-Aldrich), kaempferol (Part N° K0133-50MG, Sigma-Aldrich), pinocembrina (Part N° P5239, Sigma-Aldrich), apigenina (Part N° A3145-25MG, Sigma-Aldrich); las antocianinas: cianidina 3-rutinosido (Part N° G36428, Sigma-Aldrich), pelargonidina 3-glucósido (Part N° 53489, Sigma-Aldrich). Cromatógrafo líquido de ultra-alta eficiencia (UHPLC), Dionex Ultimate 3000 (Thermo Scientific, Sunnyvale, CA, EE.UU.), equipado con una bomba binaria de gradiente (HP G3400RS), un inyector automático de muestras (WPS 300TRS) y una unidad termostada para la columna (TCC 3000). La interfaz del LC-MS fue la electronebulización (ESI) y el espectrómetro de masas fue de alta resolución con un sistema de detección de corrientes de iones Orbitrap. Operado en modo positivo con un voltaje de capilar de 3,5 kV. Se utilizó una Columna Hypersil GOLD Aq (Thermo Scientific, Sunnyvale, CA, EE.UU.; 100 x 2.1 mm, 1.9 μm de tamaño de partícula) a 30 °C. La fase móvil fue A: una solución de ácido fórmico 0,2 % v/v en agua, y B: ácido fórmico 0,2 % v/v en acetonitrilo. La condición inicial de gradiente fue de 100 % A, cambiando linealmente hasta 100 % B (8 min); se mantuvo durante 4 min; el retornó a las condiciones iniciales en 1 min; el tiempo total de corrida fue de 13 min, con tres min para post-corrida. La identificación de los compuestos se realizó usando el modo de adquisición full scan y la extracción de corrientes iónicas (EIC) correspondientes a los [M+H]⁺ de compuestos de interés, medición de masas con exactitud y precisión de Δppm < 1 y usando una solución-mix estándar de los compuestos (material de referencia certificado), para la cuantificación de los analitos de interés se usó el método de estandarización externa.

Análisis microbiológicos

Para el análisis microbiológico se siguió la metodología planteada por (17), con algunas modificaciones, en la cual la susceptibilidad antimicrobiana se evaluó mediante el método estandarizado de difusión con discos (Método Bauer-Kirby), utilizando agar Mueller-Hinton de acuerdo a las normas establecidas por el Instituto de normas clínicas y de laboratorio Clinical and Laboratory Standards Institute. CLSI (2017). Para ello se utilizó la cepa *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), usando como control positivo oxacilina (10 μL), y como control negativo (DMSO), en la elaboración de los tratamientos de *Ananas comosus* se implementó la metodología utilizada por (18) y (19), en donde se diluyó el extracto de en dimetilsulfóxido (DMSO), con tres replicas por cada tratamiento aplicado, con el inóculo aplicado, las placas se prepararon a concentraciones de 25, 50, 75 y 100 mg/ml respectivamente ver (tabla 1).

Tabla 1. Preparación de tratamientos

Tratamiento	Concentración mg/ml	Extracto (μl)	DMSO (μl)
1	25	250	750
2	50	500	500
3	75	750	250
4	100	1000	0

Así mismo, la turbidez del medio se fijó en 0,5 unidades ($1,5 \times 10^8$ UFC/ml) de acuerdo con el patrón de escala Mc Farland, el cual se correlaciona con el número de bacterias presentes (20), del mismo modo, se verificó su absorbancia a una longitud de onda 625nm, seguidamente se procedió a la siembra en agar, vertiendo 25 μL del extracto y los controles en discos de papel filtro (Whatman No. 42), estos se colocaron en la placa de agar con una pinza estéril a 15 mm del borde de la placa, presionando sobre el agar para su adherencia con tres repeticiones por cada tratamiento aplicado, las placas se incubaron a 37 °C durante 24 h de manera invertida, posteriormente se midieron los halos de inhibición incluyendo el diámetro de los discos.

Análisis estadístico

Se realizó un análisis estadístico Anova 1 factor de los datos obtenidos en cada tratamiento, determinando las diferencias significativas entre ellos, se utilizó como parámetro los halos de inhibición presentes en cada tratamiento donde se tuvo como base de confianza el 95 % y un porcentaje de error del 5 %, mostrando el tratamiento de mejores resultados en el proceso.

Resultados y discusiones

Tras finalizar el proceso de secado de las coronas de piñas se obtuvo de 1766 g de corona de piña.

$$\% R = \frac{3500 - 1766}{3500} * 100 = 49.5\%$$

Con el cual se obtuvo un rendimiento cercano al 50 %, posteriormente, se realizó la molienda del material obtenido del cual se obtuvo 900 g de harina fina, observándose una disminución de la humedad presente en la corona de piña, que de acuerdo con (21), la humedad depende del riego antes de la cosecha y por el estado de conservación de la fruta.

Extracción e identificación de los compuestos fenólicos

De acuerdo con (22-23) la extracción con solventes es el método más común para la extracción de compuestos fenólicos, se utilizó como disolvente etanol, usando el método de extracción por Soxhlet, el cual de acuerdo con lo señalado por (24), se le puede atribuir varios factores que influyen en el rendimiento de la extracción, entre los que se destacan la temperatura de extracción, el tiempo de extracción y el tipo de solvente utilizado, en este proceso se logró obtener un volumen de 63 ml de extracto de hojas secas de corona de piña, en este caso se utilizó como solvente etanol al 96 %. Se realizó un análisis cromatográfico de tipo HPLC/DAD utilizando una muestra de 25 ml del extracto obtenido, donde se hizo un análisis de tipo cualitativo para identificar la presencia de los compuestos fenólicos presentes en el extracto, el cual se reportan a continuación en la (tabla 2).

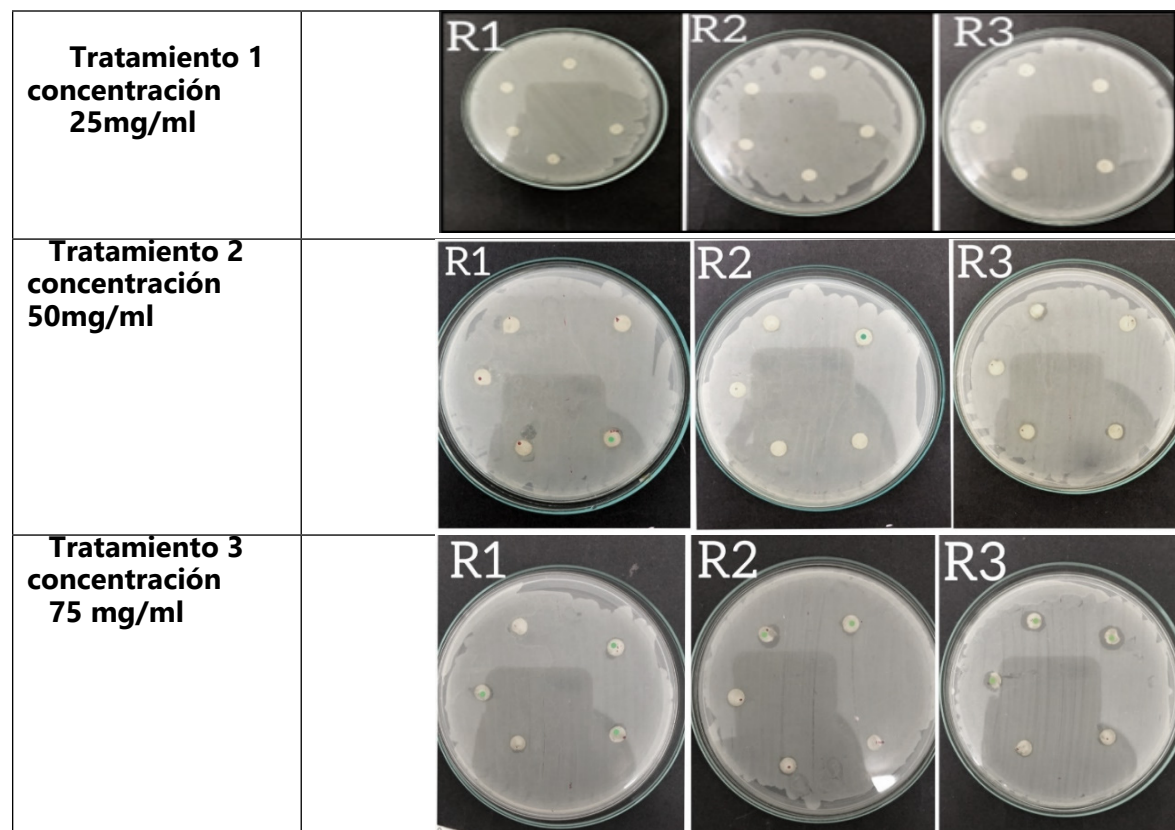
Tabla 2. Compuestos fenólicos identificados en la muestra de Ananás comosus

Compuesto	t _R , min	NMC*, mg Kg ⁻¹	Concentración en las muestras, mg kg ⁻¹
			993315-01-EB Muestra de extracto de corona de piña <i>Ananas comosus</i>
Teobromina	2,3	0,1	28
Teofilina	2,5	0,1	51
Epigallocatequina (EGC)	2,6	0,1	0,5
Catequina (C)	2,7	0,1	<0,1
Epicatequina (EC)	2,9	0,1	1,7
Ácido p-hidroxibenzoico	2,9	0,1	< 0,1
Cafeína	2,8	0,1	4899
Ácido cafeico	3,7	0,1	< 0,1
Ácido vanílico	2,9	0,1	108
Epigallocatequina galato (EGCG)	3,0	0,1	<0,1
Ácido p-cumárico	3,3	0,1	193
Epicatequina galato (ECG)	3,4	0,1	<0,1
Ácido ferúlico	3,4	0,1	9,5
Quercetina	3,2	0,1	52
Ácido rosmarínico	3,7	2,0	< 2,0
Cianidina	3,5	0,1	1,0
Luteolina	4,2	0,1	0,4
Kaempferol	4,6	0,1	0,1
Ácido trans-cinámico	4,4	0,4	19
Naringenina	4,6	0,1	0,3
Apigenina	4,5	0,1	0,6
Pinocembrina	5,5	0,1	0,1
Ácido ursólico	8,4	0,1	6,9
Cianidina 3-rutinosido	2,7	0,1	< 0,1
Pelargonidinagg 3-glucósido	2,8	0,1	< 0,1
Kaempferol 3-glucósido	3,5	0,1	0,8
Rutina	3,2	0,1	21
Ácido gálico	1,9	0,1	< 0,1

Se identificaron 27 compuestos fenólicos entre ellos la cafeína, ácido vanílico y ácido p-cumárico siendo estos los de mayor concentración. Además, se detectaron otras estructuras relacionadas con polifenoles, como el ácido gálico y la quercetina, estos compuestos poseen un alto potencial para ser utilizados como antioxidantes y antibacterianos, según lo han señalado estudios previos realizados por (25), que al ser comparados estos resultados con el proceso de extracción llevado a cabo por (26) en los que se identificó un total de 27 compuestos polifenólicos predominaron el ácido gálico, ácido vanílico, ácido protocatecuico, ácido 2,5-dihidroxibenzoico y ácido 4-hidroxibenzoico. En particular, el ácido rosmarínico fue reportado como el compuesto de mayor concentración presente en el extracto, el cual es un polifenol conocido por sus propiedades antioxidantes y se ha asociado con diversos beneficios para la salud, que de acuerdo con Ramírez et al. (27), la concentración de ácido rosmarínico (AR) aumenta con el incremento del K, lo que pueden tener un impacto significativo en la composición fenólica, contribuyendo a la capacidad antioxidante (28), así mismo, se puede mencionar que uno de los posibles mecanismos propuestos para el efecto antimicrobiano de los compuestos fenólicos es que pueden romper la integridad de dicha membrana y causar pérdida de la integridad de la célula y una eventual muerte en esta (29), (30).

Análisis microbiológico

Se realizó la medida de la absorbancia del cultivo de *S. aureus* obteniendo un valor promedio de 0.142 en la escala de McFarland, el cual se encuentra dentro del rango establecido por (31), en su investigación de validación de la técnica por filtración por membrana. Así mismo, se observó los tratamientos aplicados y los halos de inhibición generados por el extracto de *Ananas comosus* en sus diferentes concentraciones y las réplicas de cada tratamiento frente a la cepa de *S aureus* incluyendo los controles positivos y negativos correspondientes a cada ensayo (fig. 1).



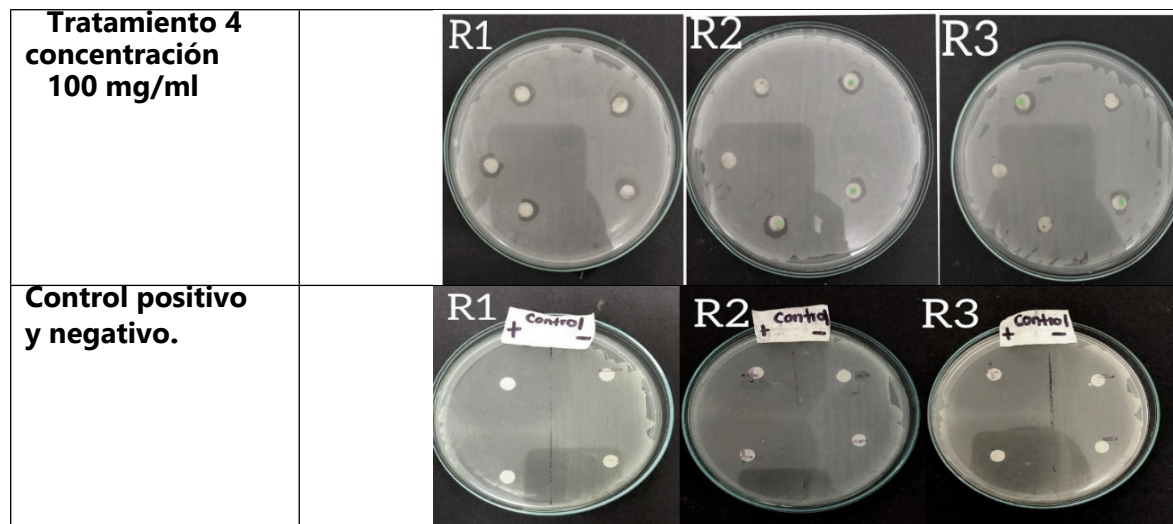


Figura 1. Halos de inhibición presentes en cada tratamiento aplicado por replica. De igual manera se midieron y se registraron los diámetros de cada halo generado (tabla 3).

Tabla 3. Diámetro de década halo obtenido por cada replica

Tratamiento	Diámetro obtenido en mm por cada replica			Promedio de medidas
	R1	R2	R3	
T1 25 μl	0	0	0	0
T2 50 μl	5	4	4,5	4,5
T3 75 μl	5	6	6	5,6
T4 100 μl	6,2	6	6	6,0
Control positivo	43,5	45	41	43,1

Cabe resaltar que en el proceso evaluativo solo se enfocó a observar el posible efecto de inhibición por lo que no se realizó el análisis de dosis respuesta, seguidamente se calculó el promedio de los halos de inhibición generados por el extracto de corona de piña en *S aureus*, obteniendo diámetros que oscilan entre 4,5 mm y 6,0 mm, donde el análisis de varianza mostró que con respecto al control positivo y los tratamientos aplicados determinó la diferencia, teniendo en cuenta el valor- p , que de acuerdo con (32), este valor indica la probabilidad de obtener por azar, una diferencia mayor a la observada en el proceso, es así como el valor obtenido de $p = 5.80E-13$, el cual fue inferior a 0.05, por lo que existe una diferencia significativa en el análisis de varianza de halos de inhibición (tabla 4).

Tabla 4. Análisis de varianza de los halos de inhibición

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	3740,56	4	935,14	999,08	5,80E-13	3,47
Dentro de los grupos	9,36	10	0,93			
Total	3749,92	14				

Por otra parte, el análisis microbiológico realizado mostró una variabilidad en los halos de inhibición la cual es significativa por lo que de acuerdo con (33) se han reportado resultados previos de halos de inhibición de 28 y 18 mm como lo reporta (34), y (35) así mismo, en la investigación realizada por (36), establece que las bacterias tienden a producir mecanismos de resistencia frente a los antimicrobianos que para el caso de *Staphylococcus aureus* están relacionados con la activación de una síntesis de la pared celular, con producción de proteínas, las cuales una vez son activados estos mecanismos de resistencia, crea una mayor firmeza frente al agente aplicado. Se observó además que el tratamiento tres, corresponde a la mayor concentración del extracto de corona de piña, siendo el más representativo en términos de capacidad inhibidora, esto indica una capacidad de inhibición gradual, observándose a menor concentración del extracto un halo de inhibición más pequeño. Estos resultados son consistentes con los hallazgos reportados por (37), quienes indicaron que los tratamientos con mayores concentraciones suelen generar halos de inhibición más grandes, demostrando una acción directa y efectiva en la supresión de microorganismos patógenos, por lo que en esta investigación se establece que la actividad antimicrobiana del extracto es proporcional a su concentración.

Conclusiones

Los polifenoles presentes en el extracto de coronas de piña *Ananas comosus* presentaron una actividad antibacteriana en *Staphylococcus aureus* observándose mayor efecto de inhibición al aplicar de mayor concentración del extracto de corona de piña *Ananas comosus* sobre el sensidisco en *Staphylococcus aureus*, lo que sugiere que la actividad antimicrobiana del extracto es proporcional a su concentración.

Agradecimientos

Agradecimientos a la Universidad Francisco de Paula Santander por su valiosa colaboración.

Referencias

1. Castillo Mompié A, Pascual Sanchez YM, CunhaNune LC, De la Paz Lorente C, Cañete Aguila F. Evaluación de la actividad antimicrobiana de extractos de hojas y semillas de *Morinda citrifolia* L.(noni). *Cubana de Plantas Medicina*. 2014; 19(4): p. 374-382. <https://www.medigraphic.com/pdfs/revcubplamed/cpm-2014/cpm144i.pdf>

2. Azuero A, Jaramillo Jaramillo C, San Martín D, D'Armas Regnault H. Análisis del efecto antimicrobiano de doce plantas medicinales de uso ancestral en Ecuador / Analysis of antimicrobial effect of twelve medicinal plants of ancient use in Ecuador. *Cienc Unemi* [Internet]. 2016; 9(20): p. 11-8. <https://doi.org/10.29076/issn.2528-7737vol9iss20.2016pp11-18p>
3. Leyva JM, Pérez Carlón JJ, González Aguilar GA, Esqueda M, Ayala Zavala JF. Funcionalidad antibacteriana y antioxidante de extractos hidroalcohólicos de *Phellinus merrillii*. *Mexicana de Micología*. 2013; 37: p. 11-17. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-31802013000100003
4. Vega Contreras NA, Torres Salazar ML. Evaluación de compuestos fenólicos de (*Citrus sinensis*) y su capacidad antioxidante. *Ciencia en Desarrollo*. 2021; 12(2): p. 109-117. <https://doi.org/10.19053/01217488.v12.n2.2021.11635>
5. Mendes Silva T, Da Silva Andrade R, Ootani MA, Mendes P, Da Silva M, Souza K, et al. Potencial biotecnológico de los carotenoides producidos por microorganismos extremófilos y perspectivas de aplicación para la industria cosmética. *Avances en Microbiología*. 2020; 10(8): p. 397-410. DOI: 10.4236/aim.2020.108029
6. Cheok CY, Mohd Adzahan N, Abdul Rahman R, Zainal Abedin NH, Hussain N, Sulaiman R, et al. Current trends of tropical fruit waste utilization. *Critical reviews in food science and nutrition*. 2018; 58(3): p. 335-361. <https://doi.org/10.1080/10408398.2016.1176009>
7. Ben Othman S, Jõudu I, Bhat R. Bioactivos a partir de desechos agroalimentarios: conocimientos actuales y desafíos futuros. *Moléculas*. 2020; 25(3): p. 510. <https://doi.org/10.3390/molecules25030510>
8. Grande Tovar C, Araujo Pabón L, Flórez López E, AC. Determinación de la actividad antioxidante y antimicrobiana de residuos de mora (*Rubus glaucus* Benth). *Informador Técnico*. 2021; 85(1): p. 64-82. <https://doi.org/10.23850/22565035.2932>
9. Mosquera OM, González LM, Cortés YJ, Camargo JC. Caracterización fitoquímica, determinación del contenido de lignina y la actividad antioxidante de los culmos de *Guadua angustifolia* Kunth. *Facultad de Ciencias Básicas*. 2015 julio; 11(2): p. 124-135. <https://doi.org/10.18359/rfcb.1301>
10. Zeb A. Concept, mechanism, and applications of phenolic antioxidants in foods. *Journal of Food Biochemistry*. 2020; 44(9). <https://doi.org/10.1111/jfbc.13394>
11. Larrauri JA, Rupérez P, Calixto FS. Cáscara de piña como fuente de fibra dietética con polifenoles asociados. *Química Agrícola y Alimentaria*. 1997; 45(10): p. 4028-4031. <https://doi.org/10.1021/jf970450j>
12. Mosquera, O. M., González, L. M., Cortés, Y. J., & Camargo, J. C. (2016). Caracterización Fitoquímica, Determinación del Contenido de Lignina y la Actividad Antioxidante de los Culmos de *Guadua Angustifolia* Kunth. *Revista Facultad de Ciencias Básicas*, 11(2), 124. <https://doi.org/10.18359/rfcb.1301>.
13. Samaniego I, Brito B, Viera W, Cabrera A, Llerena W, Kannangara T, et al. Influence of the maturity stage on the phytochemical composition and the antioxidant activity of four Andean blackberry cultivars (*Rubus glaucus* Benth) from Ecuador. *Plants* [Internet]. 2020;9(8):1027. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3390/plants9081027>
14. Hiramatsu K, Cui L, Kuroda M, Ito T. The emergence and evolution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Trends in microbiology*. 2001; 9(10): p. 486-493. [https://doi.org/10.1016/S0966-842X\(01\)02175-8](https://doi.org/10.1016/S0966-842X(01)02175-8)



15. Cervantes García E, García González R, Salazar Schettino P. Características generales del *Staphylococcus aureus*. *Mexicana de Patología Clínica y Medicina de Laboratorio*. 2014; 61(1): p. 28-40. <https://www.medigraphic.com/pdfs/patol/pt-2014/pt141e.pdf>
16. Velasco V, Mallea A, Bonilla A, Campos J, Rojas-García PPDRALA, De Cepas De *Staphylococcus Aureus* ELCDSDLCD. *Revista chilena de ciencias agrícolas y animales*. 2022;38:234-40. <http://dx.doi.org/10.29393/chjaa38-23arvp50023>
17. Pineda Higueta SE, Posada López GA, Giraldo Quintero L, Pulgarín Bedoya L. Resistencia a antibióticos del *Staphylococcus aureus* en estudiantes de una facultad de odontología. *Habanera de Ciencias Médicas*. 2020 septiembre; 19(6). <http://www.revhabanera.sld.cu/index.php/rhab/article/view/2931>
18. Allyn OQ, Kusumawati E, Nugroho RA. Antimicrobial activity of *Terminalia catappa* brown leaf extracts against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. *F1000Research*, 7. *F1000Research*. 2018; 7. <https://doi.org/10.12688/F1000RESEARCH.15998.1>
19. Pastrana Puche YI, Durango Villadiego AM, Acevedo Correa D. Efecto antimicrobiano del clavo y la canela sobre patógenos. *Biotechnología en el sector agropecuario y agroindustrial*. 2017; 15(1): p. 56-65. [https://doi.org/10.18684/BSAA\(15\)56-65](https://doi.org/10.18684/BSAA(15)56-65)
20. Fiallos Núñez JE. Determinación de la correlación entre métodos visuales ópticos y difusión en placa en el crecimiento de *Escherichia coli* (Bachelor's thesis. Trabajo grado Ingeniería Bioquímica. Ambato, Ecuador: Universidad Técnica de Ambato; 2017. <https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/26334/1/BQ%20135.pdf>
21. Montoya E, Mayta Huiza DA, Llamoca Domínguez E, Choquecagua Mamani D, Otero Nole K. Comparación del proceso de secado de los residuos de cáscara de tuna y corona de piña. *Ciencia y Tecnología para el Desarrollo-UJCM*. 2019; 5(9): p. 4-9. <http://dx.doi.org/10.37260/rctd.v5i9>
22. Rocchetti G, Blasi F, Montesano D, Ghisoni S, Marcotullio MC, Sabatini S, et al. Impact of conventional/non-conventional extraction methods on the untargeted phenolic profile of *Moringa oleifera* leaves. *Food Res Int* [Internet]. 2019;115:319-27. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2018.11.046>
23. Dzah CS, Duan Y, Zhang H, Wen C, Zhang J, Chen G, et al. The effects of ultrasound assisted extraction on yield, antioxidant, anticancer and antimicrobial activity of polyphenol extracts: A review. *Food Biosci* [Internet]. 2020;35(100547):100547. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100547>
24. Zurita Morales KF. Extracción hidroalcohólica de los compuestos bioactivos del mortiño (*Vaccinium meridionale*) en función de polifenoles y capacidad antioxidante. Maestría En Agroindustria Mención Tecnología De Alimentos. Latacunga, Ecuador: Universidad Técnica de Cotopaxi (UTC); 2021. <http://repositorio.utc.edu.ec/handle/27000/8132>
25. Ferrer M. Uso de nuevos materiales antimicrobianos sostenibles para envasado alimentario. Trabajo de grado Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Valencia; 2022 <http://hdl.handle.net/10251/185512>
26. Marrero Delange D, Morales Rico CL. Identificación de ácidos polifenólicos en el extracto metanólico de las hojas de *Terminalia catappa* Linn. *Cubana de Plantas Medicinales*. 2016; 21(2): p. 223-233. http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1028-47962016000200010&script=sci_arttext

27. Ramírez Aragón MG, Borroel García VJ, Salas Pérez L, López Martínez JD, Gallegos Robles MA, Trejo Escareño HL. Ácido rosmarínico, fenólicos totales y capacidad antioxidante en tres variedades de *Ocimum basilicum* L. Con diferentes dosis de potasio. *Polibotánica* [online]. 2019;(47): p. 89-98. <https://doi.org/10.18387/polibotanica.47.7>
28. Kwee EM, Niemeyer ED. Variaciones en la composición fenólica y propiedades antioxidantes entre 15 cultivares de albahaca (*Ocimum basilicum* L.). *Química de los Alimentos*. 2011; 128(4): p. 1044-1050. . <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.04.011>
29. Bouarab L, Pascal, Hicham, Jalloul, Oulahal N. Plant antimicrobial polyphenols as potential natural food preservatives. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2019;99(4):1457–74. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9357>
30. Lima MC, Paiva de Sousa C, Fernandez-Prada C, Harel J, Dubreuil JD, de Souza EL. A review of the current evidence of fruit phenolic compounds as potential antimicrobials against pathogenic bacteria. *Microb Pathog* [Internet]. 2019;130:259–70. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.micpath.2019.03.025>
31. Navarro EE, Salcedo M, Muñoz M, Mendoza R. Validación de la técnica de recuento de Coliformes Totales y *E. coli* por el método filtración de membrana en el laboratorio de control de calidad de Aguas de Cartagena SA ESP. *Ciencia y Salud Virtual*. 2010; 2(1): p. 21-30. <https://doi.org/10.22519/21455333.61>
32. Arias MM. ¿Qué significa realmente el valor de p? [Internet]. *Isciii.es*. [citado el 30 de abril de 2024]. Disponible en: <https://scielo.isciii.es/pdf/pap/v19n76/1139-7632-pap-21-76-00377.pdf>
33. Velasco Garcia WJ, Pabón Baquero LC, Hernández Rodríguez P. Potencial antimicrobiano de extractos de plantas medicinales y sus mezclas frente a bacterias asociadas con conjuntivitis. *Nova*. 2021; 19(36): p. 95-108. <https://doi.org/10.22490/24629448.5294>.
34. Efstratiou E, Hussain AI, Nigam PS, Moore JE, Ayub MA, Rao JR. Actividad antimicrobiana de los extractos de pétalos de *Calendula officinalis* contra hongos, así como patógenos clínicos Gram negativos y Gram positivos. *Terapias complementarias en la práctica clínica*. 2012; 18(3): p. 173-176. <https://doi.org/10.1016/j.ctcp.2012.02.003> .
35. Farjana A, Zerin N, Kabir MS. Actividad antimicrobiana de extractos de hojas de plantas medicinales contra bacterias patógenas. *Asia Pacífico de Enfermedades Tropicales*. 2014; 4: p. S920-S923. [https://doi:10.1016/S2222-1808\(14\)60758-1](https://doi:10.1016/S2222-1808(14)60758-1)
36. Díaz Plazas LM, Garzón Truque DI. Capacidad antimicrobiana del extracto de la parte aérea de *Tropaeolum tuberosum* (mashua) frente a *Staphylococcus aureus* y *Bacillus cereus*. *Trabajo Ingeniería de Alimentos*. Bogotá D.C.: Universidad de La Salle; 2017. https://ciencia.lasalle.edu.co/ing_alimentos/70
37. Evangelista Martínez Z, Reyes Vázquez N, Rodríguez Buenfil I. Evaluación antimicrobiana de aceites esenciales de plantas contra microorganismos patógenos: Estudio in vitro del aceite de orégano combinado con conservadores alimenticios conve. *Acta universitaria*. 2018; 28(4): p. 10-18. <https://doi.org/10.15174/au.2018.1817>