

# EFECTO ANTIMICROBIANO DE EXTRACTOS OBTENIDOS DESDE CILANTRO, AJO Y PEREJIL SOBRE BACTERIAS *ESCHERICHIA COLI* Y *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

ANTIMICROBIAL EFFECT OF EXTRACTS OBTAINED FROM CORIANDER, GARLIC AND PARSLEY ON *ESCHERICHIA COLI* AND *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* BACTERIAS

Anahí Ulloa • Margarita Miranda • Franchesca Ramírez  
Maximiliano Campos • Valentina Morales • Nicole Rodríguez  
Profesora Guía: Victoria Jaramillo  
Colegio Salesiano Domingo Savio, San Ramón  
Asesor Científico: Nelson Caro  
Evaluador: Alberto González

## Resumen

El uso de productos naturales con fines medicinales, como el ajo, el cilantro y el perejil es cada vez más común. En este contexto, surgió la pregunta de investigación, ¿Cuál es el efecto del cilantro, ajo y perejil sobre las bacterias *E. coli* y *S. aureus*?, la cual tuvo la intención de conocer microorganismos presentes en el cuerpo humano que pueden provocar grandes enfermedades. El objetivo era determinar la capacidad antimicrobiana de las plantas frente a estas bacterias, teniendo como hipótesis que los extractos de las hortalizas afectaban el crecimiento normal de los microorganismos ya mencionados. Para ello, se escogió una metodología cuantitativa experimental, de la cual se desplegaron objetivos que apuntaban en un primer momento a obtener extractos acuosos de cada una de las hortalizas, para luego determinar a través de ensayos, la concentración inhibitoria mínima de cada planta y su zona de inhibición del crecimiento; a su vez fueron comparadas con productos tradicionales como lo es Clorinda® y Lysoform®. Los resultados obtenidos de la parte experimental del estudio arrojaron que las hortalizas cilantro y perejil no tenían un efecto inhibitorio significativo en ambas bacterias; pero quién si obtuvo un efecto en el crecimiento de la bacteria *S. aureus* fue el ajo.

**Palabras claves:** Medicina natural; Hortalizas; Microorganismos; *E. coli*; *S. aureus*

## Abstract

The use of natural products for medicinal purposes, such as garlic, coriander and parsley is increasingly common. In this context, the following research question arose: What is the effect of coriander, garlic and parsley on *E. coli* and *S. aureus* bacteria? This question aims to know the microorganisms present in the human body that can cause major diseases. For this, the antimicrobial capacity of the plants against these bacteria was determined, having as hypothesis that the extracts of these vegetables can affect the normal growth of the microorganisms mentioned. An experimental quantitative methodology was chosen starting with the obtaining of aqueous extracts from each of the vegetables, and then determining through tests the minimum inhibitory concentration of each plant to inhibit the growth of microorganisms. These results were compared with those produced by Clorinda® and Lysoform®. The results indicate that coriander and parsley extracts did not have a significant inhibitory effect on both bacteria; however, garlic extract did inhibit the growth of *S. aureus*.

**Keywords:** Natural medicine; Vegetables; Microorganisms; *E. coli*; *S. aureus*.

El Proyecto participó en:

- \* XIII Congreso Regional Escolar de la Ciencia y la Tecnología Explora de CONICYT Región Metropolitana zona Sur Oriente 2018.
- \* XIX Congreso Nacional Escolar de Ciencia y Tecnología Biobío Explora de CONICYT 2018.
- \* ALAM 2018 XXIV Congreso Latinoamericano de Microbiología, Santiago – Chile. SomiCh.
- \* 1° lugar en categoría educación básica XIII Congreso Regional Escolar de la Ciencia y la Tecnología Explora de CONICYT Región Metropolitana zona Sur Oriente 2018



# Introducción

En la actualidad, es cada vez más común encontrar personas que tienen interés por la utilización de elementos naturales para combatir enfermedades como alternativa a los tratamientos tradicionales.

Al realizar una revisión bibliográfica del tema, se encontró que son variadas las plantas que popularmente son utilizadas buscando algún efecto medicinal, específicamente contra microorganismos como las bacterias. En Chile, son variados los remedios caseros utilizados para combatir enfermedades, entre ellos se encuentran: romero, perejil, tomillo, lavanda, ajo, menta, eucalipto y cilantro (Remedios Caseros.net, 2018). De ellas, se escogieron 3 plantas para realizar el estudio: cilantro (*Ceoriandrum crispum*), ajo (*Allium sativum*) y perejil (*Petroselinum sativums*), escogidas por ser alimentos muy utilizados en la cocina chilena, pero de las cuales se tiene muy poco conocimiento a nivel colectivo sobre sus propiedades antimicrobianas. De ellas, quién posee una mayor “fama” en relación a aspectos culinarios y terapéuticos es el ajo, ya que no solo se destaca por su valor nutricional sino que también por su funcionamiento como antibiótico natural (Frances, 2012). Es por ello que la hipótesis propuesta es que extractos acuosos obtenidos desde el perejil, cilantro y ajo, afecta el crecimiento normal de las bacterias.

Por otra parte, se eligieron dos bacterias en específico para realizar la investigación debido a que son microorganismos muy importantes para el ser humano; se trata de la *E. coli*, bacteria conocida por colonizar el intestino de los seres humanos y ser considerada como parte de la flora normal, pero que puede ser causante de casos aislados o brotes de diarrea, síndrome uré-

mico, infecciones urinarias y colitis principalmente en niños/as (Rodríguez-Ángeles, 1999). La otra bacteria que se utilizó fue la *S. aureus*, que habita en los seres humanos en zonas como la piel, pelo y fosas nasales y que puede causar lesiones inflamatorias con contenido purulento, el cual puede progresar a estructuras más profundas y llegar al torrente sanguíneo (Echevarría e Iglesias, 2003).

Para tener un lineamiento de referencia, se compararán los resultados con desinfectantes de uso común: Clo-rinda® y Lysoform®. Para ello, el objetivo de este estudio será determinar la capacidad antimicrobiana de los extractos obtenidos desde el ajo, cilantro y perejil frente a *E. coli* y *S. aureus*.

A partir de toda la información recopilada y el interés personal de los/as investigadores, es que se plantea la siguiente pregunta de investigación ¿Cuál es el efecto del cilantro, ajo y perejil sobre las bacterias *E. coli* y *S. aureus*?

## Hipótesis

Los extractos acuosos obtenidos desde el perejil, cilantro y ajo, afectan el crecimiento normal de las bacterias *E. coli* y *S. aureus*.

## Objetivo general

Determinar la capacidad antimicrobiana de los extractos obtenidos desde el ajo, cilantro y perejil frente a *E. coli* y *S. aureus*.



## Objetivos específicos

- Extraer los principios activos desde las muestras de perejil, cilantro y ajo para utilizar con las bacterias.
- Determinar la concentración inhibitoria mínima de cada uno de los extractos frente a cepas de *E. coli* y *S. aureus*.
- Determinar la zona de inhibición del crecimiento de los extractos del ajo, perejil y cilantro y comparar con desinfectantes comerciales como Clorinda® y Lysoform®.
- Evaluar la capacidad antimicrobiana de los extractos mediante la determinación de la zona de inhibición del crecimiento frente a *E. coli* y *S. aureus*.
- Comparar la capacidad antimicrobiana de los extractos naturales previamente obtenidos contra antimicrobianos comerciales tales como Clorinda® y Lysoform®.

## Metodología

Para dar respuesta a los objetivos de investigación, se utilizó una técnica cuantitativa experimental, debido a que esta investigación busca determinar la capacidad antimicrobiana de los extractos obtenidos desde el ajo, cilantro y perejil frente a *E. coli* y *S. aureus*.

La experimentación se llevó a cabo en el Laboratorio del Centro de Investigación Austral Biotech de la Universidad Santo Tomás, donde contamos con el apoyo del asesor científico Nelson Caro, quien nos ayudó a formular el diseño experimental de la investigación y nos ayudó a cumplir las normas de bioseguridad en el laboratorio.

### 1 Obtención de los extractos acuosos.

La primera visita se llevó a cabo el día viernes 10 de agosto. Para comenzar, se determinó la cantidad de muestra que se utilizaría de cilantro, ajo y perejil.

Con ayuda de una balanza analítica se midió la masa de los productos, registrando lo siguiente:

Tabla 1. Cantidad y tipo de muestras utilizadas en este estudio

Muestra	Masa (g)
Hojas de Perejil	35,95
Dientes de Ajo pelado	36,03
Cilantro	35,13

Fuente de elaboración propia

Con el mortero de cerámica se trituraron las muestras (cilantro, ajo y perejil) para extraer los componentes activos desde la matriz. El solvente utilizado para la formar la suspensión de los extractos fue 40 mL de una mezcla etanol:agua destilada (20:80 v/v).

Se rotuló con cinta adhesiva señalando el nombre de la muestra (cilantro, ajo o perejil) y la fecha de realización (10/08/2018). Posterior a la suspensión de los extractos, estos fueron centrifugados durante 0,5 h a 8000 RPM a 20 °C, e incubados a 37 °C por 48 hrs.

### 2 Determinación de la concentración inhibitoria mínima.

La segunda visita, llevada a cabo el día martes 14/08, se inició con un proceso de higienización de lavado de manos con agua, jabón y etanol. Se desinfectó la superficie de trabajo con etanol y se prendió el mechero para dejar el área estéril.

En placas multipocillos de 96 de 400 µL (se utilizó un volumen final de 200 µL) donde se destinó distintas concentraciones de medio de cultivo estéril: 100, 50, 25 y 10 µL; allí se introdujo a cada pocillo 50 µL de bacterias (*E. coli* y *S. aureus*). Se marcaron las placas con plumón permanente determinando que la Primera línea correspondía a 100 µL, Segunda línea 50° µL, Tercera línea 25 µL, Cuarta línea 10 µL, Quinta línea se destinó a control negativo (que no tiene ninguna bacteria, solo medio de cultivo estéril) y Sexta línea se destinó a control positivo (que tiene bacteria pero no antimicrobiano). A su vez, cada fila se dividió en dos, dejando cuatro pocillos para *E. coli* y cuatro pocillos para *S. aureus*.

Con ayuda de una micropipeta, se tomaron 100 µL del extracto de cilantro y se llenaron los pocillos de la primera fila. Luego se repitió el mismo procedimiento con 50, 25 y 10 µL en el resto de las filas. Los controles



positivos y negativos se llenaron con 200  $\mu\text{L}$  de medio de cultivo estéril. Para finalizar este procedimiento, se rellenaron los pocillos de cada fila con medio de cultivo estéril, agregando lo que faltara en cada caso para llegar a los 200 (50 – 100 – 125 -140  $\mu\text{L}$  en cada caso). Se replicó el mismo procedimiento detallado con los extractos de perejil y ajo.

Esta etapa se realizó por cuadruplicado para así poder confirmar el resultado. Se hicieron crecer las bacterias por agitación a 37 °C.

La tercera visita se llevó a cabo el día jueves 16/08 donde se tomaron las placas multipocillos trabajadas y se llevaron al espectrofotómetro. Se midieron los pocillos a 600 nanómetros, donde se determinó la absorbancia de las muestras. Así se obtuvieron los datos necesarios para hacer el análisis del experimento.

Se prepararon 7 placas de Petri con agar y bacterias para medir la zona de inhibición al día siguiente. Se impregnó el concentrado de cilantro, ajo y perejil en discos de papel filtro junto con cloro y lysoform para tener una referencia. Se rotularon las placas señalando que concentrado se ubicaba en cada zona dejando un espacio entre ellas para medir sin problema el halo.

Tenían la siguiente distribución: placa 1, 2, 3 y 4 *E. coli* - 5, 6 y 7 *S. aureus*.

En la cuarta y última visita del día viernes 17/08, se realizó la medición de los halos de inhibición (ZIC) con ayuda de reglas de 10 centímetros. Se registraron los datos en tablas para el análisis del asesor científico.

Finalmente, el análisis y conclusiones se llevaron a cabo en las dependencias del Colegio Salesiano Domingo Savio con ayuda del asesor Nelson Caro.

## Resultados y discusión

Luego de haber realizado la parte experimental de nuestra investigación, la concentración mínima inhibitoria de los extractos de ajo, cilantro y perejil contra *E. coli* y *S. aureus* (Tabla N° 2) fueron realizadas por medición de la absorbancia o densidad óptica (OD) como se describe en la metodología (Figura N° 1). En rojo se muestra la concentración mínima capaz de inhibir el crecimiento de cada extracto y la que se usó como referencia para realizar el siguiente experimento, que corresponde a 50  $\mu\text{l}$  del extracto sobre los sensibilizadores.

Tabla N° 2. Valores promedio de densidad óptica después de 48 horas de incubación con diferentes concentraciones de los extractos.

Concentración de extracto de ajo (g/mL)	Valor OD 600 nm para <i>S. aureus</i>	Valor OD 600 nm para <i>E. coli</i>
0.045	0.511 $\pm$ 0.132	0.563 $\pm$ 0.194
0.113	0.120 $\pm$ 0.007	0.263 $\pm$ 0.184
0.225	0.152 $\pm$ 0.026	0.244 $\pm$ 0.143
0.450	0.178 $\pm$ 0.142	0.464 $\pm$ 0.171
0	0.525 $\pm$ 0.162	0.998 $\pm$ 0.135
Concentración de extracto de cilantro (g/mL)	Valor OD 600 nm para <i>S. aureus</i>	Valor OD 600 nm para <i>E. coli</i>
0.044	Sin medición	Sin medición
0.110	0.591 $\pm$ 0.075	0.455 $\pm$ 0.134
0.220	0.483 $\pm$ 0.038	0.470 $\pm$ 0.065
0.439	0.617 $\pm$ 0.071	0.397 $\pm$ 0.198
0	0.927 $\pm$ 0.058	1.094 $\pm$ 0.047
Concentración de extracto de perejil (g/mL)	Valor OD 600 nm para <i>S. aureus</i>	Valor OD 600 nm para <i>E. coli</i>
0.045	0.494 $\pm$ 0.105	0.682 $\pm$ 0.136
0.112	0.541 $\pm$ 0.048	0.463 $\pm$ 0.105
0.225	0.378 $\pm$ 0.116	0.475 $\pm$ 0.254
0.450	0.320 $\pm$ 0.090	0.351 $\pm$ 0.151
0	0.502 $\pm$ 0.077	1.119 $\pm$ 0.117





Otra de las técnicas utilizadas, para observar actividad antimicrobiana de los extractos naturales fue la técnica con discos de difusión (Figura N° 2). Los datos se representaron en forma de gráfico (Figura N° 3), donde se muestra el área de inhibición del cloro versus el ajo, que fue el único extracto que mostró actividad antimicrobiana con esta técnica, a diferencia del medio líquido, en el que todos mostraron capacidad de inhibir el crecimiento respecto al control de crecimiento sin ex-

tractos (Tabla N° 2). Lysoform, el otro producto comercial utilizado de referencia, tampoco mostró actividad inhibitoria por el método en placas agar con discos de difusión. Se observa en la Figura N° 3 mayor efecto sobre la inhibición del crecimiento en el cloro versus el ajo. El efecto del cloro es similar sobre ambas bacterias y el extracto de ajo generó mayor inhibición del crecimiento sobre *S. aureus* que en *E. coli*.

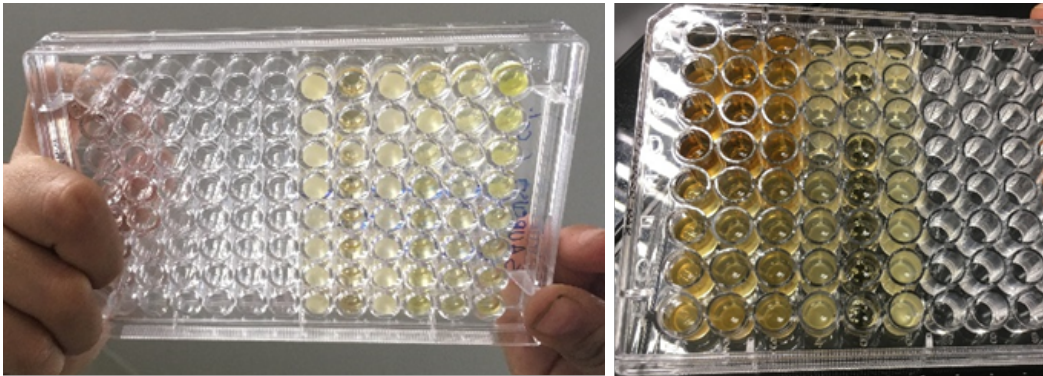


Figura N° 1. Placas multipocillos después de 48 horas de incubación con los extractos. De esta forma se realizó el ensayo para determinar la concentración mínima inhibitoria.

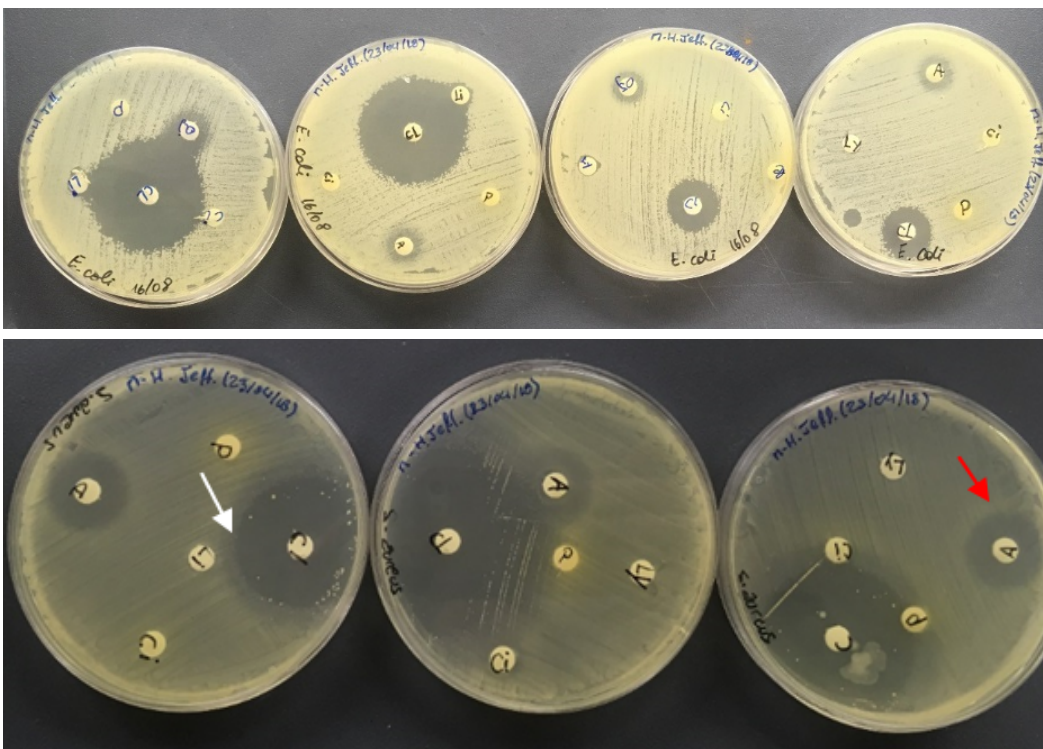


Figura N° 2. Ensayo de determinación de la zona de crecimiento (ZIC). Imágenes representativas de las placas agar sembradas con bacteria, en la imagen inferior se observa los discos de cloro (C, flecha blanca) y ajo (A, flecha roja) formando los halos que se midieron.



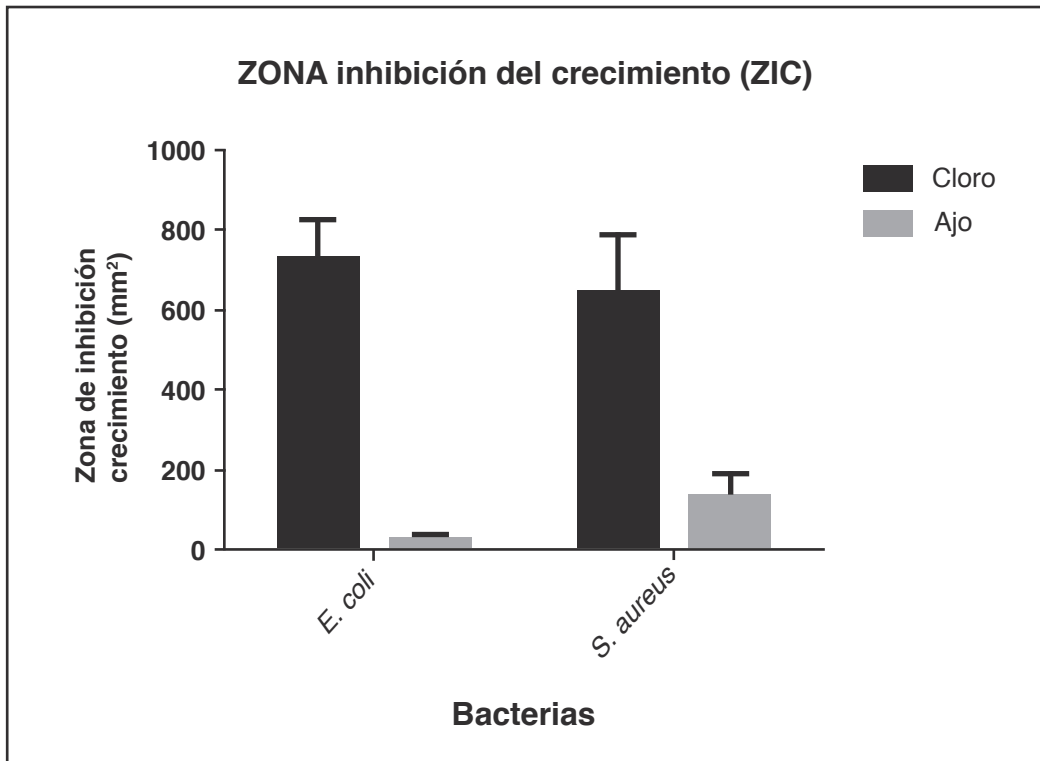


Figura N° 3. Zona de inhibición del crecimiento del extracto de ajo, en comparación con el cloro. Se cargaron 50 µL de cloro y ajo en sensidiscos blancos de manera independiente.



Figura N° 4. Preparación de placas Petri y sensidiscos.



La concentración mínima inhibitoria se determinó con la medición de absorbancia o densidad óptica, estos valores nos indican el crecimiento de la bacteria por cambio en el color del medio de cultivo líquido, donde se vuelven más turbios con mayor cantidad de bacterias. Así podemos diferenciar que concentración del extracto es la mínima para eliminar a la bacteria.

La otra forma para medir capacidad antimicrobiana que se evaluó fue la de difusión con sensidiscos en medio agar sólido, que se basa en la medición de halos circulares o zonas de inhibición del crecimiento generadas por el antimicrobiano y su capacidad de difundir por la placa de medio sólido, afectando el crecimiento de las bacterias.

El Lysoform®, al igual que los extractos de cilantro y perejil no presentaron inhibición del crecimiento por el

método de la difusión con sensidiscos, lo que puede ser por la falta de capacidad de estos compuestos de moverse por el medio sólido y la forma de aplicación del producto comercial.

Los extractos naturales si funcionaron en medio líquido, disminuyendo la cantidad de bacteria por OD, por lo que se considera que la cantidad de los extractos (concentración) en el experimento de la zona de inhibición debería ser cambiada para que posiblemente se vea un efecto. Otra opción que se visualiza es mejorar la forma de extracción de los compuestos activos presentes en estas dos plantas; y a su vez, se podría utilizar más masa para preparar el extracto y así probar si habría resultados diferentes.

## Conclusión

A partir de lo realizado, se reafirma la idea de la importancia que poseen los productos naturales para combatir enfermedades. En general, hay poco conocimiento colectivo sobre sus beneficios, por lo que este estudio ayuda a informar a las personas sobre el efecto que tienen ciertas hortalizas sobre bacterias específicas. Para obtener los resultados, se realizó un trabajo riguroso llevado a cabo durante cuatro visitas al Centro de Investigación Austral Biotech de la Universidad Santo Tomás con ayuda del asesor científico Nelson Caro.

Para determinar la concentración inhibitoria mínima del perejil, ajo y cilantro, primero se extrajeron las muestras de las hortalizas, se masaron y se trituraron para luego ser centrifugados. Una vez obtenidas nuestras concentraciones, se procedió a realizar ensayos donde pudieramos determinar la concentración inhibitoria mínima y la zona de inhibición del crecimiento. Dichos datos nos permitieron comparar la capacidad antimicrobiana de los extractos naturales y antimicrobianos de uso comercial, que en este caso fueron Clorinda® y Lysoform®. Así, se pudo obtener como resultado que la hortaliza que tiene mayor efecto antimicrobiano es el ajo, y específicamente sobre la bacteria *S. aureus*. El cilantro y el perejil no tienen un efecto inhibitorio significativo sobre las bacterias *E. coli* y *S. aureus*.

De acuerdo a los resultados obtenidos se corrobora la hipótesis “los extractos acuosos obtenidos desde el perejil, cilantro y ajo, afecta el crecimiento normal de las bacterias *E. coli* y *S. aureus*”, pese que aunque no se cumplió totalmente, se demostró a través del trabajo experimental que los extractos del ajo poseen un efecto al crecimiento normal de la bacteria *S. aureus*.

Se considera que, a futuro, esta investigación servirá como base para realizar nuevos estudios sobre el efecto de hortalizas en bacterias, ya que utilizando la misma metodología se podría probar con otras plantas de uso medicinal populares en Chile y así observar si afecta al crecimiento de una determinada bacteria. Por otra parte, se considera factible elaborar un producto que incluya por ejemplo componentes del ajo para evitar el crecimiento de la bacteria *E. aureus*, tal como un spray, toallitas húmedas, bálsamo, jabón o crema que se pueda trasladar o utilizar en el hogar, colegio, trabajo o inclusive en una excursión por la naturaleza.



## Bibliografía

Remedios Caseros.net. 2018.

<https://www.remedioscaseros.net/antibioticos-naturales-10-hierbas-con-propiedades-antibacterianas/>

Francés MD. 2012. Aspectos culinarios y farmacéuticos del ajo. *Botánica Complutensis* 36: 131-137.

Echevarría J, Iglesias D. 2003. Estafilococo Meticilino resistente, un problema actual en la emergencia de resistencia entre los Gram positivos. *Revista Médica Herediana* 14: 195-203.

García C, Martínez A, Ortega JL, Castro F. 2010. Componentes químicos y su relación con las actividades biológicas de algunos extractos vegetales. *Química Viva* 9: 86-96.

Molares S, Ladio A. 2015. Complejos vegetales comestibles y medicinales en la Patagonia Argentina: sus componentes y posibles procesos asociados. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas* 14: 237-250.

Rodríguez-Ángeles G. 1999. Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de *Escherichia coli*. *Salud Pública de México* 44: 464-475.





