

SOLUCION DE *CORIANDRUM SATIVUM* EN EL CONTROL DE LA SALMONELLA

ARANCIBIA, Amanda;
TORREALBA, Andrea.

Unidad Educativa Colegio
Nuestra Señora del Pilar.
Barinas, Junio 2005.

RESUMEN

El *Coriandrum sativum* (cilantro) es una planta herbácea, entre sus 13 elementos químicos se encuentra el dodecanol; este es un alcohol de 12 carbonos, se presenta en estado líquido, es transparente, incoloro y soluble en Éter, posee principios activos capaces de combatir la Salmonella, ésta es una bacteria poco resistente a las condiciones ambientales. El objetivo del proyecto de investigación científica consiste en evaluar los efectos antibacterianos que podrá tener una sustancia elaborada a partir del *Coriandrum sativum* sobre la Salmonella. Para esto se realizaron tres prácticas experimentales. En la primera práctica se evaluó el desarrollo de la Salmonella al exponerla a discos de papel filtro con una sustancia de cilantro macerado a distintas concentraciones; el resultado fue negativo, el cilantro sirvió de nutriente para la bacteria. En la segunda práctica se estudió el desarrollo de la bacteria al estar expuesta a discos de papel filtro sumergidos previamente en una solución de cilantro obtenida a través de un proceso de destilación por arrastre; el resultado fue satisfactorio debido a que se creó un halo de inhibición entre la bacteria y los discos. Y en la tercera práctica se analizó el desarrollo de la bacteria al exponerse a discos de papel filtro que contenían una solución con una mayor concentración de dodecanol que en las prácticas anteriores, ya que se trabajó con éter para lograr eliminar el agua resultante en la solución al destilar el cilantro y el efecto que este generó en la bacteria fue completamente satisfactorio, debido a que la eliminó en su totalidad. Este es un avance muy importante, tanto para la ciencia como para la humanidad, porque podría traer como consecuencia la base para la elaboración de un producto, económico, asequible y efectivo, evitando así el desarrollo de una bacteria tan riesgosa como lo es la Salmonella.

Palabras Clave: Solución, Cilantro, prácticas, Salmonella.

Introducción

La Salmonella es una bacteria poco resistente a las condiciones ambientales, tales como luz solar, desecación, concentraciones elevadas de sal o calor. Sin embargo, es la responsable de la mayoría de los casos de infecciones de origen alimentario que se diagnostican y puede producir un cuadro grave, con meningitis (infección de las membranas que cubren el cerebro), aborto y hasta la muerte. Con el fin de encontrar una

solución a la Salmonelosis, la Universidad Autónoma de Guadalajara (México) y la Universidad de California (Berkeley) realizaron estudios con el *Coriandrum sativum* (comúnmente conocido como cilantro), los cuales publicaron en la revista Journal of Agricultural and Food Chemistry después de ser aceptada la investigación el 4 de abril de 2004. El cilantro es una planta herbácea anual que pertenece a la familia de las

Umbelíferas, de raíz suave y poco ramificada, el tronco es erecto de una altura de 30-50 cm, la parte superior es, en cambio ramificada, sus hojas inferiores son apenas formadas y provistas de tallo, las superiores son irregulares y sin tallo, las flores pueden ser blancas o rosadas, reunidas en umbelas, el fruto es en forma de globo, de un color amarillo pálido. El grupo de científicos, entre ellos Isao Kubo analizaron las propiedades antibacterianas de la planta y llegaron a la conclusión de que uno de sus 13 elementos, el dodecanol ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}\text{OH}$) tiene principios activos que pueden combatir la Salmonella, este elemento es un alcohol de 12 carbonos, se presenta en estado líquido, es transparente, incoloro y es soluble en Éter, su punto de ebullición es 260 – 262 °C y su punto de fusión es 24 – 27 °C. Basándose en los estudios anteriores, surgió la siguiente interrogante; ¿qué efecto tendrá la solución elaborada a partir de *Coriandrum sativum* sobre la Salmonella? Debido a que este presenta elementos o compuestos con propiedades antibacterianas que pueden emplearse como principio activo para la elaboración de soluciones que controlan la bacteria. El proyecto de investigación científica se basa en evaluar los efectos antibacterianos que podrá tener una solución elaborada a partir del *Coriandrum sativum* sobre la salmonella. Este objetivo nos lleva a analizar el desarrollo de la bacteria al estar expuesta a soluciones de *Coriandrum sativum* (cilantro); a evaluar el crecimiento y desarrollo de la bacteria al estar expuesta a discos de papel filtro con una solución de cilantro macerado con agua destilada a distintas concentraciones; a observar el desarrollo de la bacteria al someterse a discos de papel filtro mojados en una solución de cilantro obtenida a través de un proceso de destilación por arrastre y a analizar el desarrollo de la bacteria al exponerse a discos de papel filtro que presenten una solución con una mayor

concentración de dodecanol que en las prácticas anteriores. Debido a que la Salmonella es una bacteria que causa graves problemas al organismo en caso de infectarse con ella, la posibilidad de encontrar una sustancia que tenga un principio activo capaz de controlar o impedir su desarrollo traería innumerables ventajas en el campo de la medicina para el combate de las mismas, mejorando así la calidad de vida de la población. El aporte de esta investigación contribuirá en el desarrollo de la ciencia en general así como en el aporte de alternativas para el combate de las infecciones producidas por Salmonella.

METODOLOGÍA

Se realizaron tres prácticas experimentales basadas en antibiogramas. En la primera práctica se preparó el medio de cultivo que es el sitio de donde se alimenta y donde se reproduce la bacteria. Para elaborarlo se disolvieron 4gr del caldo nutritivo en 100 ml de agua destilada. Este líquido gelatinoso se colocó dentro de un matraz Erlenmeyer en una plancha calentadora (CORNING hot plate stirrer PC- 351), que al disolverse se colocó en otro matraz Erlenmeyer. Este fue colocado en una autoclave a 121 °C y 15 P.S.I para esterilizarlo. Luego se colocó el agar nutritivo en las cápsulas o placas de petri. Las placas se esterilizaron previamente lavándolas con agua, jabón y cloro y luego se colocaron en la estufa a 200° C, después de esto se empaquetaron para evitar posibles infecciones antes de su utilización. Se cortaron unos discos en papel de filtro, aproximadamente de 1,5 cm de diámetro. Luego se prepararon las cuatro concentraciones distintas de cilantro, la primera a un 5 %, la segunda a un 10%, la tercera a un 20 % y la cuarta a un 40%. La concentración #1 se obtuvo colocando 0,5 gr de cilantro en 10 ml de agua destilada.

$$C\% = \frac{0,5 \text{ gr}}{10 \text{ ml}} \times 100 \quad C = 5 \%$$

Para la concentración #2 se colocó 1 gr. de cilantro en 10 ml de agua destilada, para la concentración # 3 se colocaron 2 gr. de cilantro en 10 ml de agua destilada y para la concentración #4, 4 gr. de cilantro en 10 ml de agua destilada. Una vez encontradas las concentraciones se procedió a la elaboración de las mismas; se pesaron los gramos de cilantro y se colocaron en vasos precipitados enumerados según la concentración en 1, 2, 3 y 4, luego se les colocó agua destilada hervida, en los vasos precipitados para lavar el cilantro y matar las posibles bacterias que este pueda tener. Se lavaron los morteros y se les colocó agua destilada hervida para esterilizarlos, después se midieron 10 ml de agua destilada en el cilindro graduado y se colocaron en los morteros (10 ml para cada mortero), se colocó el cilantro que contiene cada vaso precipitado en los morteros para ser macerado. Se trituró el cilantro en el mortero hasta que se consiguió una sustancia verdosa, que es la solución en la que se mojaron los discos de papel filtro.

Para la reproducción de la bacteria se trabajó en una cámara de flujo laminar, que es la indicada para el manejo de cepas estériles, ya que absorbía aire hacia la cámara y este salía luego por un filtro, impidiendo que el ambiente y la persona que trabaja se contaminen con la bacteria. Se esterilizó el ambiente de la cámara con las placas de petri adentro, esto se hizo encendiendo la luz ultravioleta, ya que esta al ser tan fuerte desnaturaliza o daña el núcleo de las posibles bacterias que existan. Esto se hizo por 5 minutos. Luego se encendió la luz de la cámara de flujo. Se colocó el agar nutritivo en cada placa de petri y estas en la cámara de flujo para luego proceder a sembrar la bacteria con un asa de inoculación de tungsteno, (material que se pone al rojo vivo y luego se enfría) pasando la bacteria del tubo de ensayo a la cápsula, pero para esto se desinfectó el asa colocándola al rojo vivo en un mechero, se introdujo el asa en la sepa y

luego se sembró, colocando la bacteria en forma de zig-zag sobre el agar nutritivo, todo esto se realizó dentro de la cámara de flujo laminar para evitar contaminarse con la Salmonella.

Cada vez que se sembró en una cápsula distinta se esterilizó el asa. Se sembró la bacteria aparte en un tubo de ensayo con agar nutritivo para crear la próxima generación que fue utilizada en la siguiente práctica, esta se refrigeró durante un máximo de 7 a 15 días. Se colocaron los discos de papel de filtro junto con las pinzas, en la cámara de flujo para esterilizarlos, luego se mojaron los filtros en las concentraciones y se colocaron en el cultivo. Cada cápsula fue identificada con un número dependiendo de la concentración que tuvieran. Se colocaron las cápsulas a la incubadora a 38° C para comenzar su desarrollo.

Cada placa se colocó con el cultivo en la parte superior de esta, para que con el calor, el agua que contenga el agar no formara gotas en la capsula al evaporarse. Se dejó en incubación durante 48 horas que era el tiempo estimado para que se reprodujera la bacteria de acuerdo a la cantidad de agar que contenían. En la segunda práctica se utilizó el equipo de extracción por corriente de vapor con la finalidad de obtener la esencia del cilantro. Este equipo está conformado por 2 matraces o bastones de destilación, un mechero, un serpentín o refrigerante y un matraz Erlenmeyer de 250 ml. Para esta extracción se procedió a picar el cilantro en mínimas partes y se colocó dentro del matraz o bastón de destilación.

Se llena el primer matraz con 500 ml. de agua destilada y unas perlititas que evitan los saltos de agua que se provocan como consecuencia de la ebullición del agua, ya que absorben gran parte de la energía, y en el segundo matraz se ubicó el cilantro hasta alcanzar los 500 ml. Posteriormente se prendió el mechero para hervir el agua, una parte del vapor que se originó, salió al exterior a través de un tubo, y la otra parte paso al

segundo matraz por medio de un tubo de escape, arrastrando partículas de cilantro, y las transportó al refrigerante en donde el vapor se condensó debido al agua fría que éste contenía. El líquido resultante de esta condensación se depositó en el Erlenmeyer. Posteriormente se calentó el agar durante 30 min. hasta lograr su estado líquido, luego se prepararon las cápsulas de petri con el agar, colocando 10 ml. en cada capsula; al solidificarse y tomar una consistencia gelatinosa se procedió a realizar la siembra del cultivo en cada cápsula, luego se depositaron los discos de papel filtro debidamente humedecidos con la sustancia resultante de la destilación, y posteriormente se colocaron en la incubadora a una temperatura de 38 °C.

Para la tercera práctica se utilizó la sustancia resultante de la destilación del cilantro de la segunda práctica, este líquido se colocó en un embudo de decantación, junto a una proporción de 1:1 de Éter. Se agitaron suavemente las dos sustancias contenidas en el embudo para lograr la disolución del dodecanol en el Éter, luego se aisló la sustancia acuosa del Éter a través de la decantación. Seguidamente, se colocó el Éter que contiene el dodecanol en el rotovapor con la función de evaporar el Éter, y dejar aislado el dodecanol. Esto se obtuvo colocando agua alrededor del matraz donde estaba contenida ésta sustancia ya que proporcionaba una temperatura constante. Luego se preparó el cultivo con el agar de la misma manera como se hizo en las 2 primeras prácticas.

RESULTADOS

Práctica número 1

Cápsulas	Observaciones
Patrón	Presentó escaso desarrollo de la bacteria.
#1. (Concentración al 5% m/v)	El cultivo estaba expuesto a una solución de cilantro con una concentración del 5%, se observó que hubo un desarrollo de la bacteria en los alrededores del disco de papel filtro con la solución.
#2 (Concentración al 10% m/v)	Se observó que alrededor del disco de papel filtro hubo un desarrollo de la bacteria en un grado mayor al de la cápsula con la concentración al 5%. Este grado mayor se manifiesta en el tamaño del diámetro de las colonias alrededor del disco.
#3 (Concentración al 20% m/v)	Esta cápsula al igual que las dos anteriores presentó un desarrollo en la bacteria, y esta vez en una cantidad similar a la cantidad que se desarrolló en la cápsula con la concertación al 10%.
#4 (Concentración al 40% m/v)	Esta cápsula presentó un desarrollo de la bacteria en un grado mayor al de las otras muestras.

Práctica número 2

Cápsulas	Observaciones
Patrón	Presentó desarrollo en la bacteria, específicamente en las zonas donde se sembró la sepa
Modelos 1 y 2	Ambas presentaron un desarrollo de la bacteria en las zonas en que fue sembrada la sepa, excepto en los alrededores del disco de papel de filtro con la solución de cilantro. Es decir formó un halo de inhibición.

Práctica número 3

Cápsulas	Observaciones
Patrón	Presentó desarrollo de la bacteria
Modelos 1 y 2	No presentó desarrollo de la bacteria.

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En la primera práctica se pudo observar que a medida que las concentraciones de cilantro se aumentaban, también iban aumentando el número de individuos que se desarrollaron. En la cápsula #1 debido a que era la que presentaba la menor concentración de cilantro (5%) fue en la que se manifestó un menor número de colonias de Salmonella y en la cápsula #4 que contenía la mayor concentración de cilantro entre las demás muestras, desarrolló un elevado número de colonias, presentándose más específicamente alrededor del disco que contenía la solución de *Coriandrum sativum*, lo que nos lleva a la conclusión de que el cilantro en este caso sirvió como nutriente a la bacteria contribuyendo a su reproducción y no como controlador de la misma, ya que debido al procedimiento empleado para la obtención de

la solución, el principio activo presente en el cilantro se encontraba en muy pocas cantidades y presentaba una gran cantidad de agua.

Luego en la práctica número 2 se observó que en las dos cápsulas a las que se les colocó el disco de papel filtro con la solución de cilantro producto de una destilación por arrastre de vapor hubo un desarrollo de Salmonella, pero en esta práctica se presentó el desarrollo no encima del disco de papel filtro con la solución de cilantro como en la practica anterior sino justo en las zonas en que se sembró la bacteria y dejando una pequeña separación alrededor del disco, es decir un halo de inhibición, la bacteria no se acercó a los discos de papel, lo que nos hace concluir que esta vez al estar el principio activo mas concentrado en la solución tuvo un mayor

efecto antibacteriano sobre la Salmonella, pero aún así esa concentración era tan pequeña debido a la gran cantidad de agua que contenía la solución que no era suficiente como para impedir el desarrollo de la bacteria en toda la cápsula.

Al realizar la última práctica, en la que a través de una destilación se consiguió la esencia del cilantro luego de esta se extrajo el dodecanol, se observó que la bacteria no presentó ningún desarrollo dentro de la cápsula de petri, lo cual lleva a concluir que el dodecanol presente en el *Coriandrum sativum* tiene propiedades antibacterianas que contrarrestan o inhiben el desarrollo de la bacteria.

CONCLUSIÓN

El proceso de maceración del cilantro sirve de nutriente para la Salmonella, pero al sacar su esencia, es decir, el extracto de sus propiedades químicas, se obtuvieron distintos resultados; el cilantro logró disminuir la propagación de la Salmonella alrededor del disco, y en la tercera práctica, todavía se logró adquirir resultados más efectivos, al extraer el dodecanol de la esencia de cilantro se pudo observar la eliminación total de la bacteria, debido a que esta planta tenía propiedades químicas que podían combatir la bacteria. Realmente este es un avance muy importante para la ciencia y se debe a que la Salmonella aunque es una bacteria poco resistente a las condiciones ambientales, es la responsable de la mayoría de los casos de infección intestinal.

Con esta investigación se abre la posibilidad para realizar futuras pruebas empleando el cilantro en la elaboración de productos fármaco-médicos capaces de controlar la Salmonella. Las cápsulas o placas donde se realizaron los estudios tuvieron que ser desechadas bajo medidas de seguridad del laboratorio para evitar posibles contaminaciones ya que los peligros que presenta la Salmonella son de alto riesgo.

RECOMENDACIONES

1. Esterilizar todos los instrumentos con que se vaya a trabajar en la investigación, preferiblemente en la cámara de flujo laminar, con luz ultravioleta durante un tiempo aproximado de 10 minutos.
2. No tocar los instrumentos después de esterilizados si no se van a utilizar.
3. Se recomienda a las personas encargadas de realizar la investigación estar bien protegidos con guantes quirúrgicos, tapabocas, mascarar protectoras y batas de laboratorio.
4. No encender la luz ultravioleta si el cultivo está dentro de la cámara de flujo laminar.
5. No introducir partes del cuerpo en la cámara de flujo laminar mientras ésta mantenga prendida la luz ultravioleta.
6. No se deberá introducir el asa de inoculación caliente en la bacteria para evitar matarla.
7. Al manipular solventes orgánicos como el éter debe trabajarse en una cámara de flujo laminar.
8. Realizar un repique cada 7 días aproximadamente para garantizar el mantenimiento de las colonias.
9. Realizar las observaciones de la experimentación entre 24 a 48 horas una vez sembrado el cultivo.
10. Realizar las prácticas en un laboratorio con equipamiento y asesoría técnica adecuada.

BIBLIOGRAFÍA.

- <http://pubs.acs.org/cgi-bin/abstract.cgi/jafcau/2004/52/i11/abs/jf0354186.html>
- <http://translate.google.com/translate?hl=es&sl=en&u=http://www.jtbaker.com/msds/englishhtml/>

d8784.htm&prev=search%3Fq%3Ddodecanol%26hl%3Des%26lr%3D

<http://www.abacovital.com/fichastecnicas/grasas/emolientes/octildodecanol.htm>

<http://www.aibarra.org/Guias/7-25.htm>

<http://www.aidsmeds.com/espanol/IO/salmonelosis.htm>

<http://www.consumaseguridad.com/web/es/investigacion/2004/06/02/12648.php>

http://www.podernatural.com/Plantas_%20Medicinales/Plantas_C/p_cilantro.htm

<http://www.qb.fcen.uba.ar/microinmuno/SeminarioAntibioticos.htm>

<http://www.solomujeres.com/Articles/Salmonella.html>

TODD, y SANDFORD y DAVIDSOH, (1988). *Diagnóstico y tratamiento clínicos por el laboratorio*. España. Salvat.

