

**Estudio de la eficacia de barreras  
naturales frente al crecimiento  
bacteriano de *E.coli***

**Monografía de Biología**

**Víctor Sánchez de Medina Hernández – fdj902 (001787-0001)**

**Colegio San Francisco de Paula**

**2012-2014**

**Recuento de palabras: 3585**

## Resumen

La presente monografía es el resultado de la investigación sobre el posible efecto de alimentos como barreras naturales frente al crecimiento bacteriano de *Escherichia coli*, intentando responder a la pregunta de investigación, **¿qué alimento muestra una mayor eficacia como barrera natural para el control del crecimiento bacteriano de *E.coli*?** El objetivo de esta investigación ha sido encontrar un posible método natural para controlar o inhibir la proliferación de bacterias usando alimentos naturales o especias, con vistas a evitar una posible contaminación bacteriana en las verduras como la acontecida en 2011, que afectó a la economía española, conocida como la “crisis del pepino español”.

Para llevar a cabo nuestra investigación, se realizó un procedimiento experimental, utilizando una técnica de recuento indirecto como es la absorbancia, de manera que se midió, a una densidad óptica de 550nm, la densidad bacteriana en muestras que contenían *E.coli*. Los alimentos utilizados, previamente disueltos al 5% m/v, se añadían a las muestras junto con la bacteria, para posteriormente comprobar cuál realizaba mayor inhibición, comparando los resultados con una muestra control con bacterias *E.coli*, a la cual añadimos agua. En total, se recogieron 5 datos para cada alimento. En el presente trabajo se muestran los resultados obtenidos mediante la experimentación, realizada en el laboratorio del propio centro educativo.

Los datos obtenidos muestran a la menta como un posible estimulante para el crecimiento de esta bacteria, mientras que la cebolla ha destacado como alimento con mayor efecto inhibitor sobre el crecimiento de *E.coli*. El resto de alimentos utilizados en la investigación no han mostrado un efecto inhibitor tan satisfactorio como el de la cebolla. Algunos, como el ajo, cuyos componentes son muy similares a los de la cebolla, no ha alcanzado las cotas de inhibición de la cebolla.

(290 palabras)

## **Agradecimientos**

Me gustaría agradecer a mi supervisor Don Germán Tenorio, así como a todos los profesores y personas que han contribuido a este ensayo. Quisiera también agradecer especialmente a Carmen Garnacho por la ayuda prestada para encontrar fuentes bibliográficas.

Gracias también a familiares, amigos y compañeros que me han apoyado en estos años.

## Índice

<b>Introducción.....</b>	<b>4</b>
<b>Experimento.....</b>	<b>6</b>
Objetivo.....	6
Hipótesis y variables.....	6
Método.....	7
Resultados.....	8
Discusión.....	11
<b>Conclusión.....</b>	<b>13</b>
<b>Bibliografía.....</b>	<b>14</b>
<b>Apéndice.....</b>	<b>15</b>
1: <i>Escherichia coli</i> .....	15
2: <i>Alicina</i> .....	15
3: <i>Piperina</i> .....	15
4: <i>Eugenol</i> .....	16
5: <i>Carvacrol</i> .....	16
6: <i>Timol</i> .....	16

## Introducción

El objetivo de esta investigación es analizar el efecto inhibitorio de determinados alimentos sobre el crecimiento bacteriano de *E.coli*, con vistas a poder aplicarlos como posibles barreras naturales frente a esta bacteria. *Escherichia coli* forma parte de la familia Enterobacteriaceae (*Escherichia coli*). Los miembros de la familia Enterobacteriaceae son bacilos gramnegativos de tamaño intermedio, pueden ser inmóviles o móviles con flagelos peritricos, y no forman esporas. Todos los miembros pueden crecer rápidamente de forma aerobia o anaerobia en varios medios no selectivos (agar, sangre) y selectivos. (Murray, Rosenthal, & Pfaller, 2006, pág. 323)

El género *Escherichia* se compone de cinco especies, de las que *E.coli* es la más frecuente y la más relevante desde el punto de vista clínico. En 1885, Theodore Escherich, un pediatra alemán, describió por primera vez una bacteria encontrada en las heces de neonatos y niños sanos la cual denominó *Bacterium coli commune*. Posteriormente, en 1919 Castellani y Chalmers la denominaron *Escherichia coli* en su homenaje (Faleiro Navas, 2009). [ANEXO 1] La diversidad antigénica de esta especie refleja la multitud de cepas capaces de producir enfermedad. *E.coli* posee una amplia variedad de factores de virulencia. Una de las categorías, las exotoxinas, incluye las toxinas Shiga, que pueden ser producidas por esta bacteria (Murray, Rosenthal, & Pfaller, 2006, pág. 326). Esta toxina está ligada a la “crisis del pepino español”, acontecida en 2011, donde una cepa de *E.coli* causó algunas muertes en Alemania por ingestión de alimentos infectados.

En 2011 Alemania experimentó el mayor número de casos de *E.coli* productoras de toxina Shiga: un total de 3.842 casos fueron detectados, incluyendo 18 muertes y 855 casos de síndrome urémico hemolítico (Muniesa, Hammerl, & Brüßow, 2012). Los técnicos aseguraron haber encontrado una muestra de la bacteria culpable en varios pepinos. Se trataba de *Escherichia coli* O104:H4, la misma cepa que había sido documentada en Corea, donde se registró un caso de síndrome urémico hemolítico en el año 2004. Esta cepa de la bacteria es una mutación de la conocida e inofensiva *E.coli*, que se encuentra por millones en nuestros intestinos. La mutación más conocida de *E.coli* es la O157:H7, que se hizo famosa tras un caso de contaminación de hamburguesas en EE.UU y ha causado decenas de muertes en distintas apariciones (Martínez Ron, 2011). Al parecer, *E.coli* O104:H4 evolucionó de un tipo de *E.coli* inofensiva del tipo enteroagregativa y ha adquirido los genes para producir la toxina Shiga de la cepa virulenta *E.coli* enterohemorrágica (Andrews, 2013). Cuando se dieron los primeros casos, desde Alemania se culpó a los pepinos exportados desde España como causantes de la infección. Esto generó una importante bajada de la exportación de productos agrícolas españoles, al igual que una imagen y publicidad negativas de nuestros productos.

El objetivo de esta investigación está orientado a la posibilidad de haber evitado esta ‘crisis’, utilizando barreras naturales como inhibidores del crecimiento bacteriano, si se hubiera encontrado *E.coli* presente en los pepinos. Con ello, la calidad de los pepinos se mantendría intacta, pues no se usarían detergentes o desinfectantes químicos como cloro y agentes de cloración, compuestos cuaternarios de amonio (Quats) o ácidos y álcalis fuertes (Usabiaga Arroyo & Trujillo Arriaga, 2003), tan solo naturales procedentes de distintos alimentos. El posible uso de barreras naturales podría haber solucionado esta ‘crisis’, que afectó económicamente a España, pues hubiera sido fácil corroborar la ausencia de la bacteria en los pepinos gracias a la acción de las barreras naturales.

Los alimentos seleccionados para llevar a cabo la investigación fueron elegidos de manera selectiva, estos son: el ajo, la cebolla, la pimienta, el clavo, el orégano y la menta. Los componentes activos de cada uno de estos alimentos les aportan propiedades bactericidas, razón por la que hemos elegido éstos para llevar a cabo nuestra investigación. El fin de esta investigación es, al mismo tiempo que probar la eficacia de estas barreras naturales, determinar cuál de ellos inhibe más satisfactoriamente el crecimiento de *E.coli*. **¿Qué alimento muestra una mayor eficacia como barrera natural para el control del crecimiento bacteriano de *E.coli*?** Esta es la pregunta que se pretende responder con esta investigación.

Evidencias de diversas investigaciones sugieren que las funciones biológicas y médicas del ajo y de la cebolla se deben al alto número de componentes organosulfurados en su contenido. Los principales componentes sulfurosos en ambas especies de vegetales son los trans-(+)-S-(1-propenil)-L-cisteína sulfóxidos como la *alicina*. [ANEXO 2] Estos compuestos le dan al ajo y la cebolla su particular olor y sabor, al igual que muchas de sus propiedades biológicas. Los flavonoides, abundantes en la cebolla pero prácticamente ausentes en el ajo también son responsables de una gran parte de los beneficios saludables de ambos vegetales. Sin embargo, se piensa que la *alicina* es un compuesto transicional que es rápidamente descompuesto en otros compuestos sulfurosos, lo que significa que no es un compuesto verdaderamente activo del ajo (Corzo-Martínez, Corzo, & Villamiel, 2007, pág. 609).

La pimienta y el clavo son especias picantes. El sabor picante de la pimienta se debe a su contenido en compuestos no volátiles como la *piperina* [ANEXO 3] (su componente mayoritario), *piperanina* y *piperilina* (Mataix Verdú, 2009, pág. 585). El clavo tiene un intenso sabor astringente, y su componente mayoritario es el *eugenol* [ANEXO 4], que constituye el 60-90% del aceite esencial, cuyo contenido es de un 15-20% (Mataix Verdú, 2009, pág. 588). La menta, por su parte, está constituida en un 45% por *mentol*, aunque también se compone de diversos ácidos y aceites esenciales, de los que destacan el *carvacrol* [ANEXO 5] y el *eugenol* (Botanical-online.com). Por último, los principales componentes activos del aceite de orégano son terpenoides fenólicos como el *carvacrol*, *timol* [ANEXO 6] y *p-cimeno* (Ropapharm.com).

El hecho de que cada uno de los alimentos escogidos tenga distintos componentes activos, los cuales les otorgan propiedades bactericidas aunque sean de distinta naturaleza, permitirá que se visualicen distintos efectos según cuál sea utilizado. Los componentes activos que constituyen cada uno de los alimentos han sido señalados como los responsables del efecto inhibitor sobre el crecimiento bacteriano por los investigadores. La elección de estos alimentos se debe a los estudios que sobre ellos ya se han realizado, pues se tiene consciencia de cuáles son los componentes de los mismos que son capaces de inhibir el crecimiento bacteriano.

## **Experimento**

### Objetivo

El objetivo del experimento es comprobar cuál de los distintos alimentos realiza una inhibición más eficaz del crecimiento bacteriano de *E.coli*. Para ello, se comparará la absorbancia a 550nm de muestras de *E.coli*, procedentes de una misma colonia, a las cuales se les añadirán disoluciones de los distintos alimentos, mientras que para la muestra control se añadirá agua. Las medidas se hacen a una longitud de onda adecuada, normalmente en el entorno de 550nm (Unavarra.es), es por ello que se ha elegido esta longitud para medir la absorbancia. Una suspensión celular aparece turbia porque las células dispersan la luz que atraviesa la suspensión. Cuantas más células haya más luz se dispersa y más turbia aparece la suspensión. Adicionalmente, las medidas de turbidez pueden tomarse sin distorsionar mucho las muestras, por ello las medidas de turbidez se emplean ampliamente para seguir el crecimiento de los cultivos microbianos (Madigan, Martinko, Parker, & Brock, 1997, pág. 158).

### Hipótesis y variables

Esta investigación parte de la hipótesis de que todos estos alimentos son inhibidores del crecimiento bacteriano de *E.coli*, con el objetivo de investigar cuál de ellos es más eficaz sobre el crecimiento de esta bacteria. La variable independiente son las distintas disoluciones de los alimentos: ajo, cebolla, pimienta, clavo, orégano y menta. Todas ellas fueron preparadas a mano, para tener disoluciones con una misma concentración al 5% en masa/volumen. Estas disoluciones fueron obtenidas tras machacar cada uno de los alimentos, con la ayuda de nitrógeno líquido, disolverlos en agua y filtrarlas para obtener disoluciones homogéneas, que se conservaron en el frigorífico a temperatura constante, hasta el momento de utilizarlas. Al cabo de un tiempo, fue necesario volver a agitar las disoluciones, pues se depositaban en el fondo algunas partículas anteriormente disueltas. En el caso del orégano, la menta y el clavo fue necesario preparar una segunda disolución, al no disponer de suficiente para todas las muestras realizadas.

La variable dependiente es el efecto que estos alimentos tienen sobre el crecimiento de *E.coli*. Esta variable será medida, utilizando un espectrofotómetro y el programa Vernier Logger Pro, con los que mediremos la absorbancia a 550nm. La absorbancia se mide con un espectrofotómetro, que permite medir la cantidad de luz dispersada o transmitida a través de un cultivo bacteriano (Ugr.es). Las muestras que se analizaron contenían 1mL de bacterias y 2mL de cada disolución en 50mL de medio LB esterilizado. Las bacterias procedían de un cultivo inicial de *E.coli* de la cepa DH5 $\alpha$ , gentilmente cedida por el Dpto. de Genética de la Universidad de Sevilla. Ésta fue la fuente inicial de bacterias utilizada en las muestras, que fue almacenada en el frigorífico hasta su uso. Las disoluciones preparadas anteriormente y las bacterias fueron pipeteadas con una misma micropipeta. El medio LB fue preparado mezclando las cantidades estipuladas para 1L de medio: 10 gramos de triptona, 5 gramos de extracto de levadura y 10 gramos de cloruro de sodio (Untergasser). En total, se recogieron 5 datos para cada uno de los alimentos, de modo que tuviésemos datos suficientes para poder establecer relaciones entre ellos.

Hay ciertas variables controladas que deben tenerse en cuenta en el experimento. Algunas de ellas ya han sido comentadas, como son las concentraciones de las disoluciones de cada alimento, preparadas al 5%; la procedencia de las bacterias *E.coli* utilizadas, de una misma colonia, o el volumen de bacterias y disolución de cada alimento que se mezclan en 50mL de medio LB. Además de éstas, hay que tener en cuenta que los experimentos se llevaron a cabo en un ambiente esterilizado, con materiales que eran esterilizados tras preparar cada muestra. Era necesario agitar las muestras para un mejor crecimiento de las bacterias en el medio LB, por lo que se usaron mosquetones, de idéntica forma y tamaño, y agitadores magnéticos, los cuales fueron programados para tener la misma velocidad de agitación para todas las muestras (300 rpm). El tiempo transcurrido desde que las muestras fueron preparadas hasta la posterior medición de la absorbancia era de un día completo (24h). La temperatura ambiente del laboratorio, unos 26°C, también fue un aspecto que se mantuvo controlado. Por último, todo el proceso experimental se llevó a cabo durante dos semanas consecutivas (desde el 23 de Junio hasta el 4 de Julio de 2013).

## Método

### Lista de materiales:

- Alimentos: ajo, cebolla, clavo, pimienta, orégano y menta.
- Probeta (100mL  $\pm$  1mL) y Matraces Erlenmeyer (100mL)
- Balanza ( $\pm$  0.01 gramos)
- Micropipeta ( $\pm$  0.25% de precisión) y puntas de pipeta
- Ordenador con software Vernier Logger Pro
- Espectrofotómetro ( $\pm$  0.001 abs) y cubetas
- Medio LB (triptona, cloruro de sodio, extracto de levadura)
- Agitadores magnéticos y mosquetones



#### Procedimiento (para preparar las disoluciones de alimento)

1. Se pesaron en la balanza 1 gramo de cada alimento. En el caso del orégano, el clavo y la menta, usamos 0.5 gramos al no tener suficiente alimento.
2. Se machacaron los alimentos, y los diluimos en 10mL de agua, 5mL en el caso del orégano, el clavo y la menta.
3. Se filtraron cada disolución, con ayuda de papel de filtro, para eliminar alimentos sólidos, y obtener una disolución lo más homogénea posible. Se dejaron en el frigorífico hasta su uso.

#### Procedimiento (para preparar una serie de muestras)

1. Todo el material fue esterilizado en una olla a máxima presión y temperatura.
2. Se usó alcohol y mecheros Bunsen para esterilizar el ambiente de trabajo.
3. Medimos 50mL de medio LB, con la probeta, y los vertimos en distintos matraces Erlenmeyer.
4. Con la micropipeta, cogimos 1mL de nuestra colonia de *E.coli* y la vertimos en cada matraz. Se usó una misma punta de pipeta, previamente esterilizada.
5. Usando una punta de pipeta distinta para cada disolución, cogimos 2mL y los vertimos en su correspondiente matraz.
6. Introducimos un mosquetón en cada matraz, y los cubrimos con papel de plata. A continuación, los pusimos en los agitadores magnéticos, a 300 rpm.
7. Transcurrido un día, paramos los agitadores magnéticos y conectamos el espectrofotómetro al ordenador, usando el programa Vernier Logger Pro. Antes de realizar las mediciones, calibramos con una muestra de LB puro.
8. Medimos la absorbancia a 550nm de las distintas muestras, incluyendo el control. El procedimiento se repitió hasta obtener, al menos, 5 valores para cada muestra.

#### Resultados

A lo largo de la investigación, se han recolectado algunos datos cualitativos que pueden afectar a los resultados obtenidos. Como se comentó, se formaron posos en los matraces con las disoluciones, por lo que debieron ser removidas para volver a diluir las partículas sólidas depositadas al fondo. Además, nuevas disoluciones de orégano, clavo y menta fueron necesarias, pues no se preparó suficiente volumen para todas las muestras necesarias.

De forma general, se observó que las muestras a las cuales se le añadía menta formaban una fina película en su superficie, que también pudo verse en algunas muestras de orégano. Todas las muestras presentaban un aspecto turbio y un olor fuerte, que indicaban claramente que la colonia se había proliferado en el medio de cultivo. Sin embargo, la muestra con menta presentaba por lo general un color más oscuro que la de otros alimentos, hecho que podría atribuirse a alguno de los componentes de la misma.

Las muestras a las que se añadían ajo y cebolla presentaban un color más claro que el de las demás muestras, sin embargo, esto no afectó a nuestros resultados ya que, como podrá observarse en las siguientes tablas, la absorbancia de las muestras con ajo y cebolla fueron, a veces, igual o mayor que aquella de alguno de los alimentos restantes.

Tabla 1: Absorbancia a 550nm de los cultivos de *E.coli* con diferentes alimentos al 5% m/v.

Muestras	Absorbancia a 550nm/ $\pm 0.001$ abs				
Control	0,822	0,847	0,853	0,715	0,593
Orégano	0,820	0,784	0,760	0,767	0,813
Menta	0,736	0,803	1,182	1,173	1,130
Clavo	0,687	0,685	0,861	0,671	0,870
Pimienta	0,718	0,793	0,797	0,800	0,782
Ajo	0,805	0,592	0,864	0,582	0,856
Cebolla	0,773	0,596	0,742	0,721	0,418

En el caso de la menta, observamos una tendencia creciente, es decir, parece ser un factor estimulante del crecimiento bacteriano: a mayor valor de absorbancia, mayor cantidad de bacterias se encuentran en el medio de cultivo.

Tabla 2: Absorbancia media a 550nm y desviación estándar de cultivos de *E.coli* con diferentes alimentos al 5% m/v.

Muestras	Media/ $\pm 0.001$	SD/ $\pm 0.001$	% SD
Control	0,766	0,112	14,621
Orégano	0,789	0,027	3,422
Menta	1,005	0,217	20,597
Clavo	0,755	0,101	13,377
Pimienta	0,778	0,034	4,370
Ajo	0,740	0,141	19,054
Cebolla	0,650	0,146	22,461

Aquí se hace aún más patente lo comentado anteriormente, pues la menta muestra un promedio mayor que la muestra control. También vemos que el orégano y la pimienta se sitúan por encima, aunque ligeramente, mientras que la cebolla se muestra como inhibidor más eficaz.

Gráfica 1: Absorbancia media de cultivos de *E.coli* a partir de diferentes alimentos al 5% m/v. Las barras de error indican el valor de la SD.

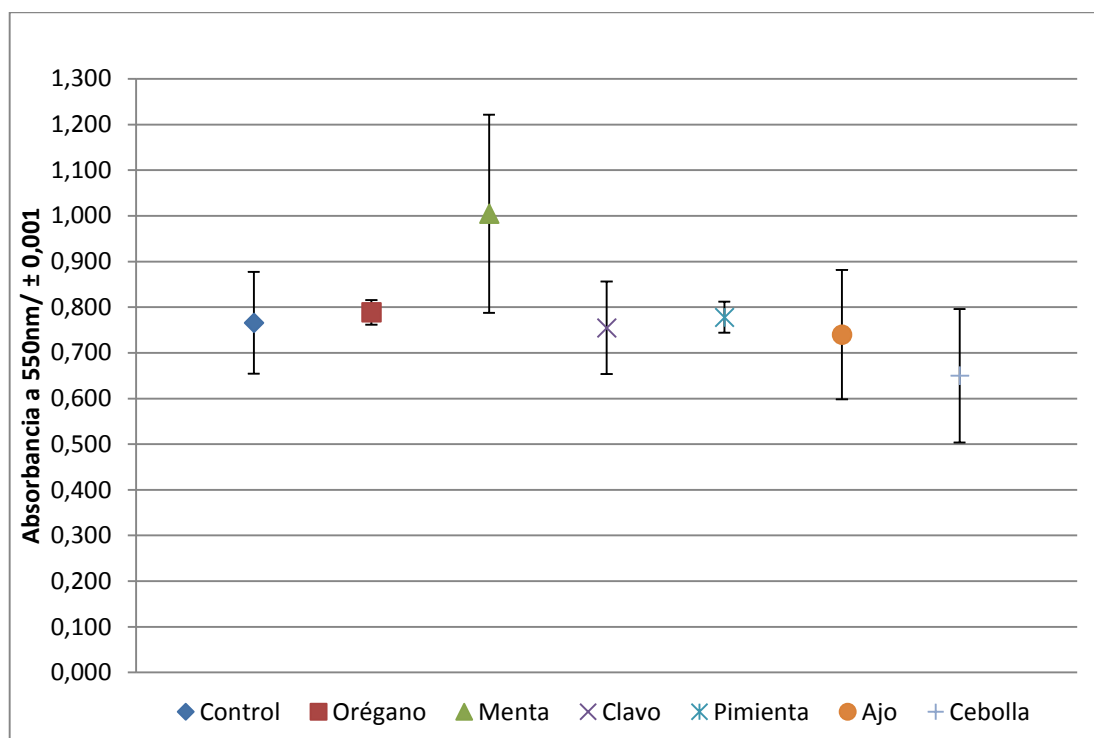
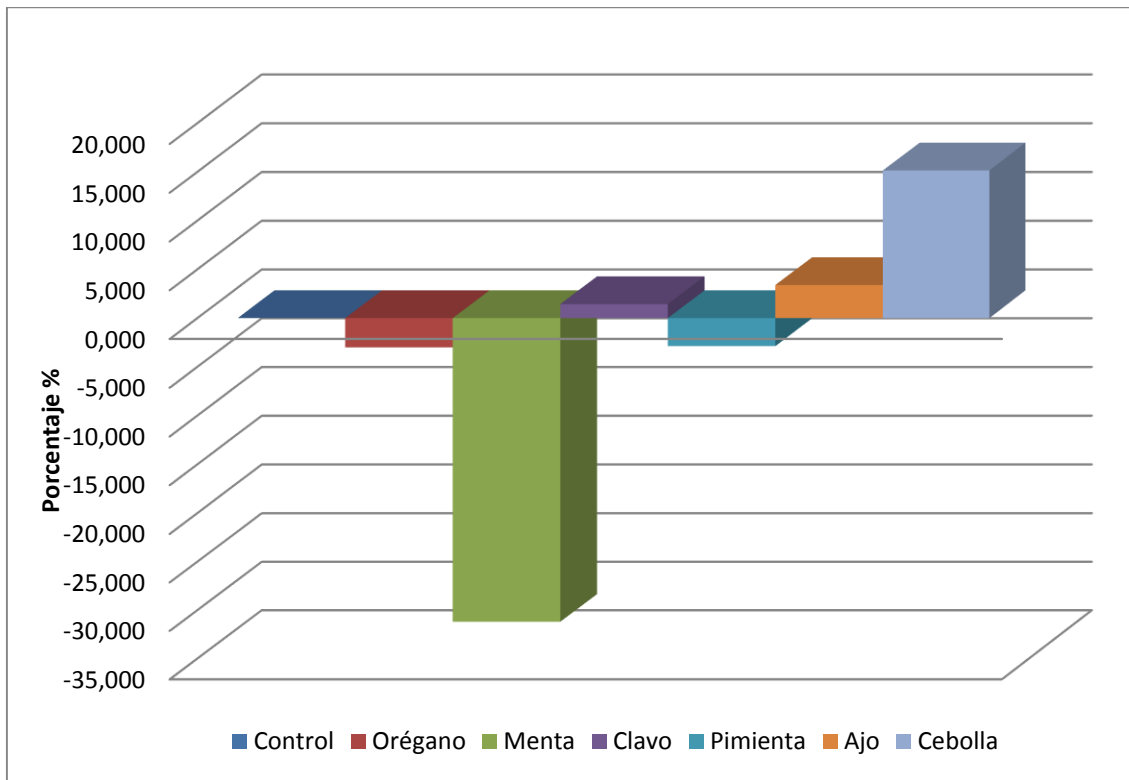


Tabla 3: Inhibición porcentual en muestras de *E.coli* con diferentes alimentos al 5% m/v con respecto a las muestras control.

Muestra	% de inhibición
Control	0,000
Orégano	-3,003
Menta	-31,201
Clavo	1,436
Pimienta	-2,872
Ajo	3,394
Cebolla	15,144

En esta tabla, los porcentajes de inhibición están representados tanto con valores positivos como valores negativos. Esto significa que los valores negativos, respecto a las muestras control, han estimulado el crecimiento de *E.coli*, mientras que los valores positivos muestran la inhibición. El número de decimales es el mismo utilizado en las tablas anteriores, por tanto, no se han redondeado.

Gráfica 2: Inhibición porcentual del crecimiento de *E.coli* con diferentes alimentos al 5% m/v con respecto a las muestras control.



En este gráfico, las barras con valores positivos representan la inhibición, mientras las que tienen valores negativos representan la no inhibición. Se resalta lo que indicaban las Tablas 1 y 2 así como la Gráfica 1, pues la menta, lejos de inhibir el crecimiento bacteriano de *E.coli*, realiza una estimulación del mismo en torno a un 31%, mientras que la cebolla se erige como el alimento más inhibitorio, en torno a un 15% con respecto a nuestras muestras control. La pregunta que surge ahora es si esta inhibición resulta suficiente como para utilizar la cebolla como barrera natural frente al crecimiento de la bacteria, lo cual discutiremos más adelante.

## Discusión

Tal y como se observa en ambos gráficos, la cebolla sobresale como alimento con mayor efecto inhibitorio, que con respecto a nuestras muestras control, se sitúa en torno a un 15%. Por otro lado, encontramos que la menta ha resultado ser un posible estimulante del crecimiento bacteriano de *E.coli*, puesto que, con respecto a las muestras control, su inhibición ha sido de un -35%, lo que supone que en las muestras con menta la concentración de bacterias es un 35% mayor que en las muestras control.

Sin embargo, no puede pasarse por alto el detalle de las barras de error que nos muestra la Gráfica 1, las cuales vienen dadas por la SD de la Tabla 2. Se observa que las barras de error de las muestras de cada alimento solapan en torno a una absorbancia de 0,800, lo que significa que existe una alta dispersión entre los datos recogidos para cada alimento. No obstante, la probabilidad es bastante pequeña, y las Gráficas 1 y 2 nos muestran que la cebolla inhibe mucho más que todos los alimentos restantes.

Si se analiza la Tabla 2 en profundidad, a excepción del orégano y la pimienta, los demás alimentos muestran un %SD entre un 13-23%, que se hace visible en las barras de error de la Gráfica 1. Aunque se encuentran dentro de los límites aceptados (inferior al 33%), la dispersión resulta evidente, y hace que nuestros resultados pierdan fiabilidad. Es probable que una mayor recolección de muestras disminuyese esta dispersión. Posiblemente, esto se deba a la homogeneidad de las disoluciones preparadas para cada alimento. El hecho de prepararlas a mano, utilizando nitrógeno líquido para machacarlos y filtrarlos con ayuda de papel de filtro puede haber afectado a la cantidad de componentes presentes en la disolución preparada. Para obtener disoluciones más homogéneas, lo conveniente hubiera sido extraer el aceite esencial de cada uno de los alimentos, que podría haberse realizado en el laboratorio. Con ello, se hubiera asegurado reducir una posible fuente de error, ya que en el aceite esencial se encuentran los componentes de cada uno de ellos, que hubieran sido extraídos al completo, manteniendo así mayor homogeneidad en la disolución para preparar nuestras muestras.

Como se señaló al comienzo de la investigación, los alimentos fueron seleccionados porque había sido probado que todos eran eficaces inhibiendo el crecimiento bacteriano, debido a los componentes presentes en ellos. Sin embargo, no podemos determinar qué componentes de cada alimento realizan este efecto inhibitorio. En ese sentido, podrían usarse disoluciones del componente activo de cada alimento, para determinar que exactamente son ellos los que realizan la inhibición. Así descartaríamos la posibilidad de que no se deba a los componentes activos, sino a otros secundarios, la inhibición del crecimiento de *E.coli*. Sin embargo, nuestra pregunta de investigación se centra en determinar cuál realizaba mayor inhibición, y en respuesta a la misma, este es la cebolla.

Aunque hemos comparado el efecto de la cebolla sobre el crecimiento de *E.coli* con las muestras control, hubiera sido conveniente compararlo también con pesticidas, antibióticos u otros productos que se usan para controlar el crecimiento de la bacteria. De este modo, no sólo hubiéramos determinado que la cebolla realiza el mayor efecto inhibitorio de los alimentos seleccionados, sino que se habrían comparado estos resultados con los que algunos de estos productos llevan a cabo, para ver si resulta posible utilizar la cebolla en su lugar.

Además de la homogeneidad de las disoluciones, en el experimento ha habido otros factores que han podido influir en los resultados. Uno de ellos es la concentración inicial de bacterias. El efecto que la cebolla o cualquier otro alimento pudiera ejercer sobre el crecimiento de *E.coli* depende del número de bacterias presente inicialmente. En nuestro caso, cuando se añadió 1mL de bacterias a las muestras, éste se encontraba saturado, pues días antes se dejó que *E.coli* colonizase el medio LB hasta que se saturase el mismo. Probablemente, si se hubiese colocado menor cantidad de bacterias inicialmente, el efecto de los alimentos sobre el crecimiento de la misma hubiera sido mayor.

Otro factor que ha podido influir en los resultados es la concentración de las disoluciones de cada alimento, que fueron preparadas al 5% en masa/volumen. Ésta puede ser insuficiente para observar un importante efecto inhibitorio, pues los componentes de cada alimento que lo llevan a cabo pueden estar presentes a bajas y diferentes concentraciones, por lo que no es posible observar su efecto. Para ello, debería haberse hecho una prueba previa a la investigación para determinar la concentración a la cual deberían prepararse las disoluciones para llevar a cabo la investigación.

## **Conclusión**

Los datos revelan que la cebolla, de los alimentos con los cuáles se ha trabajado, es el que realiza una inhibición más eficaz sobre el crecimiento de *E.coli*, dando así respuesta a nuestra pregunta de investigación. La menta, por el contrario, se ha revelado como un posible estimulante del crecimiento de *E.coli*. En datos numéricos, la cebolla ha realizado una inhibición del crecimiento de *E.coli* en torno al 15%, mientras que la de la menta ha sido en torno al -35%, con respecto a las muestras control. Sin embargo, estos resultados contradicen lo que una de nuestras fuentes indica sobre la cebolla, pues se comenta que, al contrario que el ajo, la cebolla no es efectiva ante bacterias gramnegativas (Corzo-Martínez, Corzo, & Villamiel, 2007, pág. 614).

En relación con la “crisis del pepino”, si la cebolla pudiera ser utilizada como una barrera natural para controlar el crecimiento de *E.coli* es una cuestión que no puede responderse según los resultados obtenidos en la investigación. El porcentaje de inhibición que muestra la cebolla es escaso, especialmente si lo comparásemos con el que detergentes o desinfectantes químicos llevan a cabo. Serían necesarias futuras investigaciones para determinar cómo podría explotarse de manera más eficaz la cebolla, para así poder aplicarla a este tipo de problemas, sin alterar la calidad de las verduras. Del mismo modo, futuras investigaciones permitirían detallar cómo actúa la cebolla sobre *E.coli*, acotando el estudio al método de acción de la cebolla sobre la bacteria, en función de sus componentes activos.

## Bibliografía

Andrews, J. (2013). *Emerging pathogens: is e. coli o104:h4 the next strain to watch?* | food safety news. [online] Recuperado de: <http://www.foodsafetynews.com/2013/09/e-coli-o104h4-the-next-strain-to-watch/#.Ukam-lb7rVQ> [Accedido: 12 Feb 2014].

Botanical-online.com. (n.d.). *Menta piperita*. [online] Recuperado de: <http://www.botanical-online.com/medicinamentapiperita.htm> [Accedido: 12 Feb 2014].

Computationalbioenergy.org. (2014). *E.coli dh5a*. [online] Recuperado de: <http://www.computationalbioenergy.org/QSpec/Ecoli.htm> [Accedido: 22 Feb 2014].

Corzo-Martínez, M., Corzo, N. & Villamiel, M. (2007). *Trends in food science & technology*. [pdf] Madrid, España: <http://www.sciencedirect.com/science/journal/09242244/18> [Accedido: 10 Feb 2014].

Escherichia coli. (n.d.). [pdf] Uruguay: Biblioteca Virtual en Salud - OPS/OMS. <http://www.bvsops.org.uy/pdf/coli.pdf> [Accedido: 12 Feb 2014].

Faleiro Naves, P. L. (2009). *Formación de biopelículas por "escherichia coli" y su correlación con factores de virulencia: prevención y actividad de antimicrobianos frente a organismos planctónicos y asociados a biopelículas*. [pdf] Madrid: Universidad Complutense de Madrid. <http://eprints.ucm.es/9780/1/T31422.pdf> [Accedido: 12 Feb 2014].

Madigan, M. T., Martinko, J. M., Parker, J. & Brock, T. D. (1997). *Brock, biology of microorganisms*. London: Prentice Hall International.

Martínez Ron, A. (2011). *Así mata e. coli o104:h4, la bacteria de la "crisis de los pepinos" – ciencias (general) – noticias, última hora, vídeos y fotos de ciencias (general) en lainformacion.com*. [online] Recuperado de: [http://noticias.lainformacion.com/ciencia-y-tecnologia/ciencias-general/asi-mata-e-coli-o104-h4-la-bacteria-de-la-crisis-de-los-pepinos\\_brY4EoBKtFNvNFlbXdZFd5/](http://noticias.lainformacion.com/ciencia-y-tecnologia/ciencias-general/asi-mata-e-coli-o104-h4-la-bacteria-de-la-crisis-de-los-pepinos_brY4EoBKtFNvNFlbXdZFd5/) [Accedido: 12 Feb 2014].

Mataix Verdú, F. J. (2009). *Nutrición y alimentación humana*. Majadahonda, Madrid: Ergon

Mataix Verdú, F. J. & Carazo Marín, E. (2005). *Nutrición para educadores*. Madrid: Díaz De Santos.

Muniesa, M., Hammerl, J. A. & Brüssow, H. (2012). Shiga toxin-producing escherichia coli o104:h4: a new challenge for microbiology. 78 (12), pp. 4065-4073. doi:10.1128/AEM.00217-12 [Accedido: 12 Feb 2014].

Murray, P. R., Rosenthal, K. S. & Pfaller, M. A. (2006). *Microbiología médica*. Madrid: Elsevier Mosby.

Ropapharm.com. n.d. *Composición del Aceite de Orégano | Ropapharm - Gives you the benefit of nature*. [online] Disponible en: <http://www.ropapharm.com/es/acerca-de-oregano/composicion-del-aceite-de-oregano> [Accedido: 19 Feb 2014].

Ugr.es. n.d. *Ciclo celular y crecimiento*. [online] Disponible en: [http://www.ugr.es/~eianez/Microbiologia/12crecimiento.htm#\\_Toc58934317](http://www.ugr.es/~eianez/Microbiologia/12crecimiento.htm#_Toc58934317) [Accedido: 19 Feb 2014].

Unavarra.es. (n.d.). *Microbiología industrial*. [online] Recuperado de: <http://www.unavarra.es/genmic/micind-2-3.htm> [Accedido: 13 Feb 2014].

Untergasser, A. (n.d.). *Media - lb (luria-bertani)*. [online] Recuperado de: [http://www.molbi.de/media/media\\_lb\\_v1\\_0.htm](http://www.molbi.de/media/media_lb_v1_0.htm) [Accedido: 13 Feb 2014].

Usabiaga Arroyo, J. & Trujillo Arriaga, J. (2003). *Manual de almacenamiento y transporte de frutas y hortalizas frescas en materia de inocuidad*. [pdf] México D.F.: Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria. <http://www.oirsa.org/aplicaciones/subidoarchivos/bibliotecavirtual/almacenamientotransportefrutashortalizas.pdf> [Accedido: 1 Mar 2014].

### Apéndice 1: *Escherichia coli*

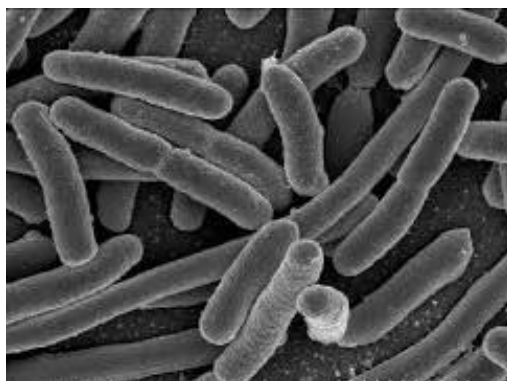
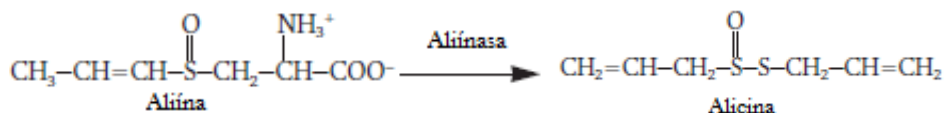


Fig 1: Imagen al microscopio electrónico de *E.coli* (Computationalbioenergy.org. )

### Apéndice 2: *Alicina*

Cuando el ajo es cortado, la aliína es la mayor cisteína sulfóxido liberada. La enzima aliínasa actúa sobre ella para producir alicina por la siguiente reacción.



La alicina es el compuesto principal en el ajo, que se obtiene gracias a la acción de la enzima aliínasa. La alicina a su vez se descompone de forma espontánea dando lugar a numerosos compuestos que contienen azufre en su molécula (Mataix Verdú & Carazo Martín, 2005).

### Apéndice 3: *Piperina*

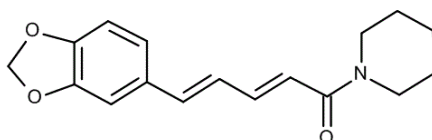


Fig 2: *Piperina* (Mataix Verdú, Nutrición y alimentación humana, 2009, pág. 586)



#### Apéndice 4: *Eugenol*

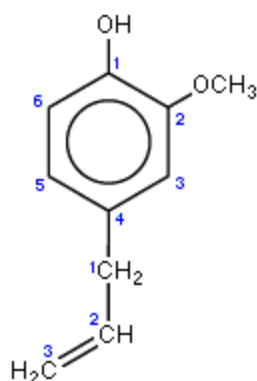


Fig 3: *Eugenol* (Mataix Verdú, Nutrición y alimentación humana, 2009, pág. 589)

#### Apéndice 5: *Carvacrol*

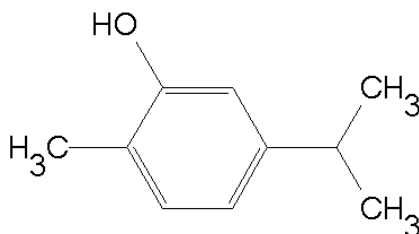


Fig 4: *Carvacrol* (Mataix Verdú, Nutrición y alimentación humana, 2009, pág. 592)

#### Apéndice 6: *Timol*

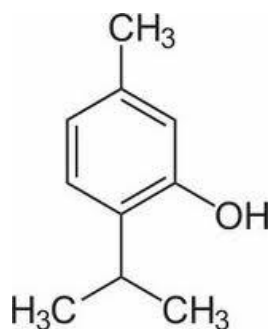


Fig 5: *Timol* (Mataix Verdú, Nutrición y alimentación humana, 2009, pág. 592)