

## Actividad bactericida *in vitro* de *Chenopodium quinoa* Willd. y *Artemisia dracunculus* L. sobre bacterias patógenas

In vitro bactericidal activity of *Chenopodium quinoa* Willd. and *Artemisia dracunculus* L. against pathogenic bacteria

Bibiana Marcela Marín Sánchez<sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0003-0446-7487>

Carlos Augusto Hincapié Llanos<sup>1\*</sup> <https://orcid.org/0000-0002-2652-334X>

Mónica Liliana Cardona Aristizábal<sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0002-5829-3438>

<sup>1</sup>Universidad Pontificia Bolivariana. Medellín, Colombia.

\*Autor para la correspondencia: [carlos.hincapie@upb.edu.co](mailto:carlos.hincapie@upb.edu.co)

### RESUMEN

**Introducción:** El uso indiscriminado de antibióticos en el tratamiento de infecciones causadas por bacterias ha generado cepas bacterianas resistentes, lo que ha motivado la búsqueda de alternativas para su control. Algunas de estas son los extractos vegetales de *Chenopodium quinoa* Willd. y *Artemisia dracunculus* L, los cuales han demostrado tener potencial como bactericidas y son cultivadas comercialmente en Colombia y países vecinos.

**Objetivos:** Definir la actividad antibacterial de extractos de semilla de *C. quinoa* (quinua) y de hojas de *A. dracunculus* (estragón ruso).

**Métodos:** Se realizó la extracción a partir de semillas de *C. quinoa* y hojas de *A. dracunculus* a través del método de maceración a temperatura ambiente. Los solventes usados fueron metanol, hexano y acetato de etilo. Los tres tipos de extractos obtenidos se evaluaron sobre *Staphylococcus aureus* ATCC® 6538™ y *Escherichia coli* ATCC® 25922™, a través de los métodos de difusión en pozo, Concentración Mínima Inhibitoria y Concentración Mínima Bactericida.

**Resultados:** El extracto metanólico de *A. dracunculus*, con una concentración de 0,02 g/mL, generó diámetros promedio de inhibición de 30,67 mm para *E. coli* y de 32 mm para *S. aureus*. Con la misma concentración, el extracto metanólico de *C. quinoa* generó diámetros promedio de inhibición de 28,33 mm para *S. aureus* y de 30 mm para *E. coli*. Las cepas de ambas bacterias registraron sensibilidad alta (0,01 g/mL) frente

al extracto de *A. dracunculus*. Para el extracto de *C. quinoa* las cepas de *S. aureus* (0,05 g/mL) y *E. coli* (0,1 g/mL) presentaron sensibilidad baja.

Conclusiones: La Concentración Mínima Inhibitoria y la Concentración Mínima Bactericida de los extractos metanólicos de ambas plantas fueron iguales, lo cual clasifica su actividad como bactericida contra las cepas de los microorganismos evaluados. El extracto de *A. dracunculus* muestra mayor potencial dado que los microorganismos presentaron alta sensibilidad frente al mismo.

Palabras clave: antibacteriano; pruebas de sensibilidad microbiana; extractos vegetales; *Chenopodium quinoa* Willd.; *Artemisia dracunculus* L.

## ABSTRACT

Introduction: Indiscriminate use of antibiotics for the treatment of bacterial infections has led to the emergence of resistant bacterial strains, which has motivated the search for alternatives for their control, such as the use of plant extracts that have shown potential as bactericides, e.g. *Chenopodium quinoa* Willd. and *Artemisia dracunculus* L, which are commercially cultivated in Colombia and neighboring countries.

Objectives: To define the antibacterial activity of extracts from *C. quinoa* (quinoa) seeds and *A. dracunculus* (Russian tarragon) leaves.

Methods: Extraction from *C. quinoa* seeds and *A. dracunculus* leaves was carried out by maceration at room temperature. The solvents used were methanol, hexane, and ethyl acetate. The three extracts obtained were tested against *Staphylococcus aureus* ATCC® 6538™ and *Escherichia coli* ATCC® 25922™ by well diffusion, minimum inhibitory concentration and minimum bactericidal concentration methods.

Results: The methanolic extract of *A. dracunculus* at a concentration of 0.02 g/ml, generated average inhibition haloes of 30.67 mm for *E. coli* and 32 mm for *S. aureus*. At the same concentration, the methanolic extract of *C. quinoa* generated average inhibition haloes of 28.33 mm for *S. aureus* and 30 mm for *E. coli*. The strains of both bacteria showed high sensitivity (0.01 g / ml) to the *A. dracunculus* extract. For the *C. quinoa* extract, the strains of *S. aureus* (0.05 g / ml) and *E. coli* (0.1 g / ml) showed low sensitivity.

Conclusions: The minimum inhibitory concentration and the minimum bactericidal concentration methods of the methanolic extracts of both plants were the same, which classifies their activity as bactericidal against the strains of the microorganisms evaluated. The extract of *A. dracunculus* shows greater potential since the microorganisms displayed high sensitivity to it.

Key words: antibacterial; microbial sensitivity tests; plant extracts; *Chenopodium quinoa* Willd; *Artemisia dracunculus* L.

Recibido: 28/1/2020

Aprobado: 18/12/2020

## Introducción

Es bien conocido que diferentes culturas han incorporado el uso de plantas medicinales para el tratamiento de diferentes enfermedades y sus síntomas.<sup>(1)</sup> En la actualidad aún se usan, principalmente por el difícil acceso a la medicina convencional ya sea por las distancias que deben recorrer las personas para acceder a esta o por sus altos costos.<sup>(2)</sup> Además, el creciente aumento de la resistencia de las bacterias frente a los antibióticos hace que los recursos para combatirlos, en muchas ocasiones, sean insuficientes, lo que causa preocupación mundial. La aparición de cepas resistentes también afecta la economía al aumentar el costo de la atención médica,<sup>(3)</sup> por lo que se hace cada vez más importante la búsqueda de nuevos bactericidas, que puedan ser usados en tratamientos en humanos.

La quinua o quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd. Amaranthaceae), es un pseudocereal que ha adquirido recientemente gran importancia por su valor nutricional,<sup>(4)</sup> potencial antioxidante,<sup>(5,6,7)</sup> y anticancerígeno.<sup>(8)</sup> Se seleccionó esta planta para este trabajo dado que se ha incorporado rápidamente en la dieta de muchos países en Latinoamérica, lo que ha hecho que hayan aumentado las áreas de cultivo y porque se han realizado un número importante de investigaciones relacionadas con su actividad antimicrobiana. *Miranda* y otros,<sup>(9)</sup> encontraron actividad bactericida de extractos etanólicos de semillas de diferentes ecotipos chilenos de esta planta sobre *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) y *Escherichia coli* (ATCC 25922). *Dong* y otros,<sup>(10)</sup> aislaron 6 saponinas de las cascarillas de las semillas y registraron que todas presentaban actividad antimicrobiana sobre *S. aureus*, *Staphylococcus epidermidis* y *Bacillus cereus*. *Sun* y otros,<sup>(11)</sup> encontraron que saponinas extraídas de la cascarilla presentaron actividad bactericida contra la bacteria *Fusobacterium nucleatum*. En un estudio realizado por *Vega-Gálvez* y otros,<sup>(12)</sup> se encontró actividad antimicrobiana del sobrenadante del extracto acuoso de semillas frente a *Saccharomyces cerevisiae* y *Listeria innocua*.

El estragón ruso (*Artemisia dracunculoides* L. Asteraceae), fue seleccionado para este trabajo dada su alta disponibilidad en la región por los aumentos de cultivos comerciales. De la misma forma, se tuvieron en cuenta los reportes que se han realizado acerca de sus diferentes tipos de actividad biológica, tales como antioxidante,<sup>(13)</sup> antitumoral,<sup>(14)</sup> hipoglucemiante,<sup>(15)</sup> antiinflamatoria<sup>(16)</sup> y antimicrobiana.<sup>(17,18,19)</sup> *Samra* y *Babak*,<sup>(17)</sup> evaluaron extractos metanólicos de esta planta, preparados mediante maceración y soxhlet, y encontraron actividad bactericida sobre las bacterias gram-positivas *S. aureus* (PTCC 1113) y *Bacillus subtilis* (PTCC 1156). *Behbahani* y otros,<sup>(18)</sup>

evaluaron un extracto hidro-etanólico de la planta y encontraron actividad antimicrobial contra cepas de *Candida albicans* (ATCC 5027), *Streptococcus pyogenes* (ATCC 19615) y *S. aureus* (ATCC 25923). Liu y otros,<sup>(19)</sup> evaluaron el aceite esencial de *A. dracunculus* var. *Qinghaiensis* Y encontraron actividad inhibitoria contra cepas de *S. aureus*, *Micrococcus luteus*, *B. subtilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella paratyphi*, y *S. cerevisiae*.

Por lo expuesto anteriormente, el objetivo de este trabajo es definir la actividad bactericida *in vitro* de extractos de semillas de *C. quinoa* y de hojas y tallos de *A. dracunculus* sobre los microorganismos patógenos *S. aureus* y *E. coli*.

## Métodos

### Obtención del material vegetal

Las semillas de *C. quinoa* se colectaron en el corregimiento de Santa Elena, Medellín, Antioquia Colombia, (latitud 6°15'06.46"N y longitud: 75°29'53.04"W, 2439 msnm). Posteriormente, se realizó una reducción de tamaño con un molino de cuchillas. El material se guardó en un lugar seco y fresco en un recipiente de vidrio hermético hasta su uso.

Las hojas y los tallos de *A. drancunculus* se colectaron en Rionegro, Antioquia, Colombia (latitud: 6°09'12.12"N, longitud: 75°22'26.95"O, 2080 msnm). Luego se eliminaron partes enfermas y deterioradas, se lavó el material en una solución de hipoclorito de sodio al 0,5 % y se deshidrató a una temperatura máxima de 40 °C hasta alcanzar una humedad de 8 % en el campus de la UPB "Laureles", Medellín, Colombia. El material deshidratado fue sometido a reducción de tamaño por medio de un molino de cuchillas y almacenado en bolsas herméticas en un lugar fresco hasta su uso.

Especímenes de las plantas fueron depositados en el herbario de la Universidad Pontificia Bolivariana, donde se identificaron taxonómicamente y se registraron con los números de Voucher GRAIN0017 (*C. quinoa*) y GRAIN0018 (*A. drancunculus*).

### Obtención de los extractos vegetales y preparación de las soluciones

El material vegetal de las dos plantas se sometió a maceración sin agitación a temperatura ambiente. Los solventes usados fueron metanol (polar), hexano (apolar) y acetato de etilo (medianamente polar). Para esto se depositaron 50 g de muestra molida en un recipiente de vidrio con el respectivo solvente grado analítico durante 72 h. Cumplido este tiempo, se filtró la muestra y el extracto fue recuperado por destilación a presión reducida a 40 °C en rotoevaporador. Dicho proceso se repitió tres

veces y se realizó en el laboratorio de Ingeniería Agroindustrial en el Campus UPB “Laureles,” Medellín, Colombia. Los extractos fueron diluidos en agua destilada. Se prepararon soluciones de 0,2 g/mL para la solución de *C. quinoa* y 0,02 g/mL para la solución de *A. dracunculus*. Se utilizó Tween 80 al 0,2 % como emulsionante en todos los tratamientos. Las concentraciones se definieron con base a resultados obtenidos en pruebas preliminares.

### Determinación de la actividad antibacterial

Los extractos de *C. quinoa* y *A. dracunculus* se evaluaron para determinar la actividad antibacteriana sobre las cepas de *S. aureus* ATCC® 6538™ (Gram-positiva) y *E. coli* ATCC® 25922™ (Gram-negativa) a través del método de difusión en pozo, con pozuelos de 2 mm aproximadamente.<sup>(20)</sup>

Las cepas se recuperaron del banco de cepas del laboratorio del Grupo de Investigaciones Agroindustriales de la Universidad Pontificia Bolivariana, Campus “Laureles,” Medellín, Colombia. Las cepas estaban criopreservadas a -70 °C, y a 4 °C (método comercial criobank). La activación y recuperación de las cepas se llevó a cabo a través de la remoción de la perla del criobank y su inoculación 10 mL de caldo nutritivo. Se incubó a 37 °C por 24 h, para luego ser sembrado en superficie sobre la placa del cultivo apropiado. Finalmente, se verificó la pureza de la cepa cultivada.<sup>(20)</sup>

### Preparación del inóculo

Se tomaron, por cada microorganismo, de cuatro a cinco colonias y se adicionaron a cinco mL de solución salina al 0,85 %. Las concentraciones se ajustaron con el tubo N° 0,5 Mc Farland ( $1,5 \times 10^6$  UFC mL).<sup>(20)</sup>

### Prueba de sensibilidad

Se realizó esta prueba para determinar si los extractos exhiben una actividad inhibitoria frente a los microorganismos patógenos ya mencionados. Se preparó el Agar Mueller-Hinton (MH), de acuerdo con las instrucciones del fabricante y se conservó una temperatura entre 45 °C y 50 °C para mantener el estado líquido con el fin de incorporar las cepas a evaluar. En las cajas de Petri, se agregaron 20 mL de medio y se adicionaron 50 µL de la suspensión bacteriana (turbidez equivalente al patrón 0.5 McFarland). Posteriormente, se homogenizó y se dejó reposar por 15 minutos. Se perforaron tres pozos de tres mm de diámetro hasta el fondo de la caja en el medio de cultivo con un sacabocados estéril. En cada pozo se adicionaron 50 µL de extracto. Se usó ampicilina (1 g/mL) como control positivo y agua estéril como control negativo. Las cajas fueron incubadas a 37 °C durante 24 horas. Cumplido ese tiempo, se realizó la medición del halo de inhibición alrededor de cada pozo.<sup>(20)</sup>

### Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)

Este método se usa para determinar la menor concentración de cada uno de los extractos que inhibe el crecimiento bacteriano. En cada uno de 10 tubos de ensayo con 1 mL de caldo nutritivo se adicionó 1 mL de extracto en diluciones seriadas. Luego, se inoculó 1 mL de solución bacteriana a una escala de turbidez de Mc. Farland N° 0,5, para cada tubo. Se preparan un control positivo (caldo nutritivo y suspensión bacteriana) y uno negativo (caldo nutritivo sin suspensión bacteriana). Posteriormente, se incubaron por 24 horas a 37 °C. Este proceso se realizó para cada microorganismo con su respectiva solución del extracto. Para el extracto *C. quinoa* se prepararon soluciones seriadas desde la concentración 0,1 g/mL hasta  $1,95 \times 10^{-4}$  g/mL y para *A. dracunculoides* desde la concentración 0,01 g/mL hasta  $1,95 \times 10^{-5}$  g/mL.<sup>(20)</sup>

### Concentración Mínima Bactericida (CMB)

Este método determina la concentración mínima de antimicrobiano que elimina a más del 99,9 % de los microorganismos viables después de 24 horas de incubación. Los tubos que no mostraron crecimiento se subcultivaron en cajas con agar para verificar crecimiento. De cada tubo donde se presentó inhibición del crecimiento, el cual se manifiesta por no haber crecimiento visible, se extrajeron 100 µL, se inocularon en placas de Petri debidamente marcadas donde se adicionó agar MH a 45 °C. Se prepararon como controles positivo agar MH con 100 µL de inóculo sin antimicrobiano, y negativo, agar MH sin antimicrobiano y sin inóculo. Las cajas se dejaron en incubación durante 24 horas a 35 °C. Se considera que hay sensibilidad al extracto si no se observó crecimiento pasada la incubación.<sup>(20)</sup>

### Análisis estadísticos

Se aplicó un diseño completamente al azar con 3 repeticiones. Los datos se sometieron a la verificación de los supuestos del análisis de varianza (ANOVA) y luego se realizó un ANOVA unifactorial con un nivel de confianza del 95 % en el programa Statgraphics Centurion XVII. Para establecer los tratamientos que presentaron diferencias estadísticamente significativas (DES) se aplicó la prueba de Tukey con un nivel de significancia del 95 %.

## Resultados

### Prueba de sensibilidad

Para cada experimento realizado con cada microorganismo, se verificó que se cumplieron los supuestos de la ANOVA mediante las pruebas de Shapiro-Wilk y de Levene. Por tanto, no se presentó la necesidad de realizar transformaciones de los datos. El ANOVA para ambos microorganismos, arrojó un valor P de 0.0000 ( $P \leq 0,05$ ),

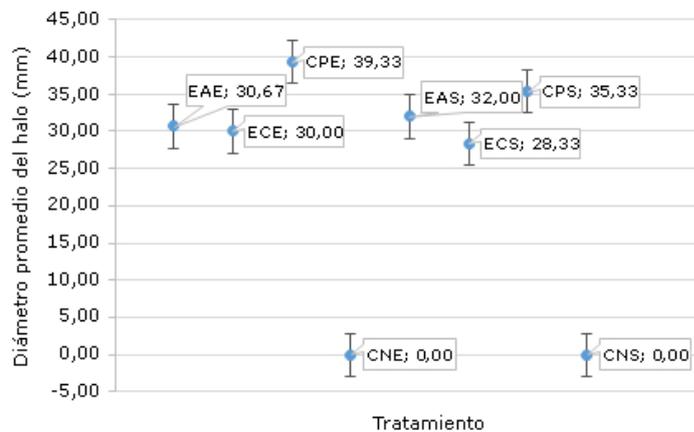
por lo que se concluyó que existen Diferencias Estadísticamente Significativas (DES), entre al menos dos de los tratamientos. A través de la prueba de Tukey se determinó entre que tratamientos se presentaron dichas diferencias. Se encontró que no existen DES entre los dos extractos metanólicos de ambas plantas para *E. coli*, pero si con respecto al control positivo (ampicilina), que fue significativamente superior a ambos extractos (Tabla y Fig.). Para el caso de *S. aureus*, los resultados mostraron que no existen DES entre los dos extractos metanólicos de ambas plantas.

Es de resaltar que el halo de inhibición generado por la ampicilina (control positivo) contra *S. aureus* no presentó DES con el halo causado por el extracto metanólico de *A. dracuncululus*, pero si fue significativamente superior al halo generado por el extracto metanólico de *C. quinoa*. Los extractos metanólicos de ambas plantas, mostraron capacidad bactericida contra ambos microorganismos dado que los halos de inhibición producidos por estos presentaron DES con respecto a los halos de los controles negativos respectivos. De acuerdo a los resultados obtenidos en esta etapa, se procedió a evaluar para los extractos metanólicos la CMI y la CMB. (Tabla y Fig.). Los extractos obtenidos con hexano y acetato de etilo no presentaron actividad (ausencia de halo de inhibición) sobre los microorganismos (datos no mostrados) y por tanto no se continuó con la evaluación de la actividad bactericida de estos en las siguientes etapas de la investigación.

Tabla. Medias de los tratamientos en las pruebas de sensibilidad. Las medias con la misma letra no presentan diferencias estadísticamente significativas según la Prueba de Tukey ( $P < 0,05$ )

Tratamiento	Diámetro medio halo sobre <i>E. coli</i> ± DE (mm)	Diámetro medio halo sobre <i>S. aureus</i> ± DE (mm)
EA	30,67 ± 5,70 b	32,00 ± 0,00 bc
EC	30,00 ± 0,00 b	28,33 ± 0,65 b
CP	39,33 ± 1,30 c	35,33 ± 1,30 c
CN	0,00 ± 0,00 a	0,00 ± 0,00 a

EA: Extracto metanólico de *A. dracuncululus*, EC: Extracto metanólico de *C. quinoa*, CP: Control positivo; CN: Control negativo, DE: Desviación estándar.



( $P < 0.05$ ). CPE: Control Positivo sobre *E. coli*, CPS: Control positivo sobre *S. aureus*, EAS: Extracto metanólico de *A. dracunculus* sobre *S. aureus*, EAE: Extracto metanólico de *A. dracunculus* sobre *E. coli*, EQE: Extracto metanólico de *C. quinoa* sobre *E. coli*, EQS: Extracto metanólico de *C. quinoa* sobre *S. aquinoareus*, CNS: Control negativo sobre *S. aureus*, CNE: Control negativo sobre *E. coli*.

Fig. Intervalos de confianza del diámetro promedio por tratamiento según Prueba de Tukey

### Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)

Dados los resultados obtenidos en la etapa anterior, a partir de esta solo se trabajaron con los extractos metanólicos de ambas plantas. A través de la técnica de macrodilución, se determinó la menor concentración de cada uno de los extractos a la cual se inhibe el crecimiento de las cepas. Con el extracto *C. quinoa* a 0,1 g/mL para *E. coli* y 0,05 g/mL para *S. aureus* y con el extracto *A. dracunculus* L a 0,01 g/mL para ambos microorganismos no se observó crecimiento. Para los extractos de ambas plantas a concentraciones cada vez más bajas se visualizó turbidez, lo que evidencia crecimiento bacteriano, lo cual significa que a esas diluciones no se alcanzó a presentar efecto inhibitorio por parte de estos.

Se considera que la sensibilidad de un microorganismo es alta al presentar una CMI inferior a 0,0125 g/mL, mediana entre 0,0125 y 0,050 g/mL y baja entre 0,050 a 0,100 g/mL.<sup>(20)</sup> De acuerdo con esta escala, para este estudio, las cepas de *E. coli* y *S. aureus* registraron sensibilidad alta (0,01 g/mL) frente al extracto de *A. dracunculus*, mientras que para el extracto de *C. quinoa* las cepas de *S. aureus* (0,05 g/mL) y *E. coli* (0,1 g/mL) presentaron sensibilidad baja.

### Concentración Mínima Bactericida (CMB)

Con la técnica de macrodilución y siembra en medio sólido, se encontró que la CMB para el extracto *A. dracunculus* fue de 0,01 g/mL para las cepas evaluadas, después de 24 horas de incubación. La CMB para el extracto *C. quinoa* fue de 0,1 g/mL frente a la cepa de *E. coli* y de 0,05 g/mL frente a la cepa de *S. aureus* después de 24 horas de

incubación. Esto indica que a dichas concentraciones los dos extractos evaluados eliminan más del 99,9 % de las bacterias.

Al comparar los resultados de la CMI con la CMB de este trabajo, se concluye que ambos extractos, frente a las cepas *E. coli* ATCC 25922 y *S. aureus* ATCC 6538, poseen efecto bactericida *in vitro*, debido a que eliminaron más del 99,9 % de las cepas evaluadas a las mismas concentraciones de la prueba CMI determinadas anteriormente.<sup>(20)</sup>

## Discusión

Se ha reportado que las bacterias Gram negativas como *E. coli*, presentan mayor resistencia a los extractos de origen vegetal y aceites esenciales que las bacterias Gram-positivas como *S. aureus*.<sup>(21)</sup> Este fenómeno es debido a la presencia de una membrana externa en los Gram-negativos,<sup>(22)</sup> constituida por lipopolisacáridos y lipoproteínas ancladas al peptidoglicano junto a porinas (grandes proteínas integrales de membrana), que conforman una barrera selectiva que permiten el paso de los solutos hidrofílicos.<sup>(23)</sup> Los lipopolisacáridos las hacen impermeables a los solutos lipofílicos,<sup>(24)</sup> lo que bloquea la penetración y acumulación de aceites esenciales en la membrana de la célula.<sup>(21)</sup>

Varios estudios han mostrado actividad antibacterial contra los microorganismos estudiados, principalmente extractos etanólicos o hidroalcohólicos, tal como los metanólicos, los cuales son polares y mostraron la mayor actividad en el presente estudio. Los extractos etanólicos a partir de semillas de *C. quinua* obtenidas de cultivos de Corea, E.E.U.U y Perú, desarrollaron halos de inhibición sobre *S. aureus* ATCC 13565 entre  $6,31 \pm 0,27$  y  $7,05 \pm 0,31$  mm de diámetro y para *E. coli* EHEC: NCCP 13721 entre  $7,04 \pm 0,11$  y  $7,49 \pm 0,49$  mm de diámetro.<sup>(25)</sup> En dicho estudio no se hizo comparación con ningún antibiótico comercial.

En otro trabajo,<sup>(9)</sup> el extracto etanólico de varias muestras de semillas provenientes de Chile causó halos de inhibición para *S. aureus* ATCC 25923 entre 8,5 y 15 mm de diámetro. Para *E. coli* ATCC 25922 (igual a la usada en el estudio realizado), entre 8,3 y 14,8 mm de diámetro. En este mismo ensayo, la operación se hizo con relación a la amoxicilina, la cual generó halos de  $20,61 \pm 0,13$  mm para *E. coli* y de  $28,03 \pm 1,19$  mm para *S. aureus*. Ambos significativamente superiores a todos los extractos con los que fueron comparados. En otra oportunidad, el extracto hidroalcohólico de semillas de *C. quinua* obtenidas en Perú, sobre la misma cepa de *E. coli* del estudio realizado, obtuvo un halo de inhibición de 11,86 mm, el cual fue significativamente inferior al halo que se obtuvo con el ciprofloxacino, antibiótico usado como control positivo en dicho trabajo.<sup>(26)</sup>

Todos los halos obtenidos en estas tres investigaciones fueron inferiores a los que se registraron en los experimentos de nuestra investigación. Los antibióticos comerciales usados como testigos positivos en estos dos últimos trabajos, coinciden con los hallazgos de la presente investigación. El halo obtenido con el extracto metanólico de *C. quinoa* fue también significativamente inferior al obtenido con el testigo positivo, la ampicilina. Es importante tener en cuenta que la diferencia de resultados puede deberse principalmente al tipo de solvente usado, al origen de la semilla, las diferencias metodológicas y, cuando aplica, a diferencias entre las cepas empleadas.

Los extractos metanólicos de otras especies de *Chenopodium* (*C. multifidum*, *C. ambrosoides*, *C. album*) no presentaron actividad frente a la cepa de *S. aureus* ATCC 25923.<sup>(27)</sup> Sin embargo, el extracto metanólico de *Amaranthus caudatus*, un pseudocereal similar a la quinua, presentó actividad bactericida contra *S. aureus* ATCC 25923 pero no contra *E. coli* ATCC 25922.<sup>(28)</sup>

A través del método de difusión en pozo, *Samra* y *Babak*<sup>(17)</sup> encontraron actividad significativa (halos de  $12 \pm 0.5$  mm) de extractos metanólicos de *A. dracunculus*, obtenidos por los mismos métodos usados en el presente estudio, contra *S. aureus* PTCC 1113. Estos resultados coinciden con la actividad encontrada en esta ocasión, aunque con un diámetro de halo significativamente menor. Sin embargo, dichos investigadores no encontraron actividad contra *E. coli* PTCC 1399, caso contrario a los resultados obtenidos en la investigación realizada. *Behbahani* y otros,<sup>(18)</sup> evaluaron varias concentraciones de un extracto hidroalcohólico, obtenido por maceración a temperatura ambiente, a través del método de difusión en pozo. Se registraron halos de  $16,7 \pm 0,28$  mm para *S. aureus* ATC 25923 y de  $11,0 \pm 0,28$  mm para *E. coli* ATC 25922 (la misma cepa del estudio realizado) cuando se aplicó la concentración de 20 mg/mL, una concentración 5 veces mayor a la usada en el presente estudio.

En estos dos últimos ensayos no se pudo establecer una comparación con un antibiótico comercial dado que no reportaron el uso de control positivo en las pruebas. A través del método de difusión de disco con extractos metanólicos de *A. dracunculus* (0,4 g/mL) cultivada en Turquía, sobre la cepa *E. coli* ATCC 25922, se encontró un halo de inhibición de 13 mm. En contraste, en el mismo estudio, no se encontró actividad sobre *S. aureus* ATCC 29213.<sup>(29)</sup> Es de resaltar que en este estudio no se registraron halos de inhibición causados por la ampicilina sobre estas cepas, lo que puede sugerir que son resistentes a dicho antibiótico, lo que contrasta con los resultados obtenidos con las cepas trabajadas en la presente investigación que mostraron una alta sensibilidad a este antibiótico. Tal como sucedió con las comparaciones hechas con estudios alrededor de *C. quinoa*, los halos obtenidos en nuestra investigación fueron superiores que los registrados en otros estudios similares.

Con otra especie de *Artemisia*, *A. nilagirica*, los extractos etanólico y metánolico a una concentración de 0,05 g/mL, presentaron la mayor actividad contra *E. coli* ATCC 25922 (la misma cepa usada en este estudio), lo cual coincide con los resultados encontrados en este ensayo. En el mismo trabajo no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los extractos mencionado con respecto al control positivo. Los investigadores usaron ampicilina, estreptomycinina o gentamicina pero no hacen claridad específicamente sobre cuál usaron para las bacterias en cuestión. En nuestra investigación el control positivo presentó actividad significativamente mayor a la registrada por los extractos sobre dicha cepa de *E. coli*. Estos extractos no presentaron actividad sobre *S. aureus* MTCC 29212,<sup>(30)</sup> lo que contrasta con los resultados obtenidos en este trabajo dado que el extracto metánolico de *A. dracunculus* causó alta sensibilidad a dicha bacteria, sin diferencias estadísticamente significativas con la ampicilina.

*Samra y Babak*<sup>(17)</sup> registraron, para un extracto obtenido en condiciones similares a las de nuestra investigación, a partir de *A. dracunculus* sobre *S. aureus* una CMI y una CMB de 0,00625 y 0,0125 g/mL, respectivamente. Estos resultados indican que dichos extractos muestran mayor actividad inhibitoria pero menor actividad que la encontrada en el presente estudio. Los autores mencionados no encontraron actividad con respecto a *E. coli* en las mencionadas pruebas. *Behbahani* y otros,<sup>(18)</sup> para un extracto hidroalcohólico de *A. dracunculus* establecieron una CMI de 0,002 g/mL para *S. aureus* y de 0,008 g/mL para *E. coli* y una CMB de 0,002 g/mL para *S. aureus* y de 0,016 g/mL para *E. coli*. Estos resultados, muestran mayor capacidad inhibitoria y bactericida que la encontrada en esta ocasión para ambas bacterias.

En una investigación donde se evaluó el aceite esencial de *A. dracunculus* sobre la cepa de *S. aureus* PTCC 1189 se encontró una CMI de 0,0624 g/mL, la cual corresponde a una sensibilidad baja, La CMB registrada en dicho estudio fue de 0,25 g/mL,<sup>(31)</sup> ambas sensibilidades más bajas que las registradas en el presente trabajo. Estos resultados pueden sugerir que el extracto metanólico de esta planta sea más efectivo contra *S. aureus* que su aceite esencial o que la cepa PTCC 1189 es más sensible que la ATC6358. También, puede tener una influencia el origen del material vegetal. Otro estudio realizado con el extracto metanólico de planta del género *Artemisia*, *A. nilagirica*, encontró sensibilidad alta (0,000032 g/mL) de la misma cepa de *E. coli* (ATCC 25922) analizada en este estudio. Dicha sensibilidad es varios órdenes de magnitud más alta a la encontrada en el presente ensayo.<sup>(30)</sup>

No se encontraron muchos estudios con los cuales comparar los resultados de CMI obtenidos con *C. quinoa* en este trabajo. Con el aceite esencial de otra especie de

*Chenopodium*, *C. ambrosioides* frente al microorganismo *E. coli* ATCC 25922, se encontró alta sensibilidad (0,00031 g/mL) contra la baja sensibilidad obtenida en la presente investigación.<sup>(32)</sup> Sin embargo, los resultados no son muy comparables dado que son especies diferentes de planta y los extractos son obtenidos de formas diferentes.

La actividad antimicrobiana de los extractos de las especies vegetales depende de la cantidad de metabolitos secundarios obtenidos de acuerdo con el mecanismo de extracción, a la concentración utilizada y a las cepas bacterianas usadas.<sup>(33)</sup> Otros aspectos que influyen en la actividad son el tipo de solvente usado, la parte de la planta del que se obtiene el extracto, la localización geográfica del cultivo y la época del año, entre otros.

Con respecto a los posibles compuestos responsables de la actividad encontrada, se ha reportado que las semillas de *C. quinoa* poseen altas concentraciones de flavonoides, con el predominio de quercetina y kaempferol seguido de miricetina, isorhamnetina y ácidos fenólicos solubles dentro de los cuales se encuentran los ácidos caféico, ferúlico, vanílico, p-cumárico y benzoico.<sup>(34)</sup> En esta semilla, también se han identificado saponinas ligadas a actividad antimicrobial.<sup>(9,10,35)</sup>

En *A. dracunculus* también se han encontrado concentraciones significativas de flavonoides tales como: luteolina, rutina, kaempferol, quercitina y annangenina, fenilpropanoides como: ácidos chicorésico, hidroxibenzoico, clorogénico y cafeico, cumarinas como: herniarina, dracumerina, artemidina, artemisina, artemisinina, esculina y capilarina, y alcanidas como: pelitorina y neopellitorina A y B.<sup>(30,36)</sup> Se ha determinado que algunos polifenoles, tales como los ácidos fenólicos, taninos y flavonoides, presentes en las especies estudiadas,<sup>(9,34)</sup> se sintetizan debido a infecciones microbianas y estrés ambiental,<sup>(37)</sup> y se sabe que tienen, entre otras, propiedades antimicrobianas.<sup>(38)</sup> El efecto inhibitorio de los extractos sobre los microorganismos usualmente no es atribuido a un mecanismo único, debido a los diferentes componentes que poseen los mismos.<sup>(39)</sup>

Se puede concluir que los dos extractos metanólicos de las plantas evaluadas tienen actividad antimicrobiana contra las cepas de los microorganismos evaluados. El extracto metanólico de *A. dracunculus* registró un halo de inhibición sin diferencias estadísticamente significativas con el halo generado por la ampicilina, usado como testigo positivo, lo cual muestra un mayor potencial para su uso como antibiótico. La actividad ejercida por ambos extractos se considera bactericida dado que obtuvieron los mismos valores de CMI y CMB.

De acuerdo con las comparaciones realizadas con otros estudios, se concluye que el origen de la planta y otras condiciones agronómicas del cultivo puede ser un factor diferenciador en cuanto a la actividad bactericida que la planta puede presentar. Las mencionadas comparaciones con otros estudios también parecen sugerir que puede las cepas de los microorganismos pueden presentar diferentes susceptibilidades a los compuestos activos de los extractos. Se sugiere, en investigaciones futuras, realizar estudios para identificar los compuestos responsables de las actividades encontradas y sus mecanismos de acción, para evaluar la potencialidad de obtener nuevos antibióticos de origen natural.

## Referencias bibliográficas

1. Fonnegra Gómez R, Jiménez Ramírez SL. Plantas medicinales aprobadas en Colombia. 2a ed. Colombia, Editorial Universidad de Antioquia; 2006.
2. Buitrago H, Palacios G, Moreno LP, Hincapié CA. Estudio etnobotánico de plantas medicinales en tres municipios de Antioquia, Colombia. Rev Cuba Plantas Med. 2018[acceso:26/06/2019];23(4). Disponible en: <http://www.revplantasmedicinales.sld.cu/index.php/pla/article/view/665>
3. Schwarz S, Loeffler A, Kadlec K. Bacterial resistance to antimicrobial agents and its impact on veterinary and human medicine. Advances in Veterinary Dermatology. 2017:95-110. DOI: <http://doi.wiley.com/10.1002/9781119278368.ch5.1>
4. Pereira E, Encina-Zelada C, Barros L, Gonzales-Barron U, Cadavez V, Ferreira I. Chemical and nutritional characterization of *Chenopodium quinoa* Willd (quinoa) grains: A good alternative to nutritious food. Food Chem. 2019[acceso:26/02/2019];280:110-4. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814618321721>
5. Pellegrini M, Lucas-Gonzales R, Ricci A, Fontecha J, Fernández-López J, Pérez-Álvarez JA, *et al.* Chemical, fatty acid, polyphenolic profile, techno-functional and antioxidant properties of flours obtained from quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) seeds. Ind Crops Prod. 2018[acceso:26/02/2019];111:38-46. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0926669017306829>
6. Díaz-Valencia YK, Alca JJ, Calori-Domínguez MA, Zanabria-Galvez SJ, Cruz SH. Nutritional composition, total phenolic compounds and antioxidant activity of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) of different colours. Nov Biotechnol Chim. 2018[acceso:26/02/2019];17(1):74-85. Disponible en:

---

<http://content.sciendo.com/view/journals/nbec/17/1/article-p74.xml>

7. Han Y, Chi J, Zhang M, Zhang R, Fan S, Dong L, *et al.* Changes in saponins, phenolics and antioxidant activity of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) during milling process. LWT. 2019[acceso:26/06/2019];114:108381. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0023643819307236>
8. Hu Y, Zhang J, Zou L, Fu C, Li P, Zhao G. Chemical characterization, antioxidant, immune-regulating and anticancer activities of a novel bioactive polysaccharide from *Chenopodium quinoa* seeds. Int J Biol Macromol. 2017[acceso:29/07/2019];99:622-9. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0141813016322954>
9. Miranda M, Delatorre-Herrera J, Vega-Gálvez A, Jorquera E, Quispe-Fuentes I, Martínez EA. Antimicrobial Potential and Phytochemical Content of Six Diverse Sources of Quinoa Seeds (*Chenopodium quinoa* Willd.). Agric Sci. 2014[acceso:29/07/2019];05(11):1015-24. Disponible en: <http://www.scirp.org/journal/doi.aspx?DOI=10.4236/as.2014.511110>
10. Dong S, Yang X, Zhao L, Zhang F, Hou Z, Xue P. Antibacterial activity and mechanism of action saponins from *Chenopodium quinoa* Willd. husks against foodborne pathogenic bacteria. Ind Crops Prod. 2020[acceso:08/07/2020];149:112350. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0926669020302661>
11. Sun X, Yang X, Xue P, Zhang Z, Ren G. Improved antibacterial effects of alkali-transformed saponin from quinoa husks against halitosis-related bacteria. BMC Complement Altern Med. 2019[acceso:08/07/2020];19(1):46. Disponible en: <https://bmccomplementalmed.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12906-019-2455-2>
12. Vega-Gálvez A, Zura L, Lutz M, Jagus R, Victoria Agüero M, Pastén A, *et al.* Assessment of dietary fiber, isoflavones and phenolic compounds with antioxidant and antimicrobial properties of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). Chil J Agric Anim Sci. 2018[acceso:26/06/2019];34(1):57-67. Disponible en: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/chjaasc/v34n1/0719-3890-chjaasc-00101.pdf>
13. Monsalve JMR, Rodríguez MC, Llanos CAH. Optimization of the process of freeze-drying and comparison with convective drying of Russian tarragon (*Artemisia Dracunculus* L.). Acta Agronómica. 2019[acceso:26/08/2019];68(3). Disponible en: [https://revistas.unal.edu.co/index.php/acta\\_agronomica/article/view/75296](https://revistas.unal.edu.co/index.php/acta_agronomica/article/view/75296)
14. Taleghani A, Emami SA, Tayarani-Najaran Z. Artemisia: a promising plant for the treatment of cancer. Bioorganic Med Chem. 2020[acceso:26/06/2019];28(1).

Disponible en:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0968089619308053>

15. Méndez-del Villar M, Puebla-Pérez AM, Sánchez-Peña MJ, González-Ortiz LJ, Martínez-Abundis E, González-Ortiz M. Effect of *Artemisia dracunculus* Administration on Glycemic Control, Insulin Sensitivity, and Insulin Secretion in Patients with Impaired Glucose Tolerance. J Med Food. 2016[acceso:29/07/2019];19(5):481-5. Disponible en: <http://www.liebertpub.com/doi/10.1089/jmf.2016.0005>

16. Eidi A, Oryan S, Zaringhalam J, Rad M. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of the aerial parts of *Artemisia dracunculus* in mice. Pharm Biol. 2016[acceso:29/07/2019];54(3):549-54. Disponible en: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/13880209.2015.1056312>

17. Samra MA, Babak B. Examining the antibacterial activity of *Artemisia dracunculus* L. extracts using different methods of extraction. Int J Mol Clin Microbiol. 2016[acceso:26/07/2019];6(1):629-34. Disponible en: <https://www.sid.ir/En/Journal/ViewPaper.aspx?ID=516856>

18. Behbahani BA, Shahidi F, Yazdi FT, Mortazavi SA, Mohebbi M. Antioxidant activity and antimicrobial effect of tarragon (*Artemisia dracunculus*) extract and chemical composition of its essential oil. J Food Meas Charact. 2017[acceso:28/06/2019];11(2):847-63. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s11694-016-9456-3>

19. Liu T, Lin P, Bao T, Ding Y, Lha Q, Nan P, *et al.* Essential oil composition and antimicrobial activity of *Artemisia dracunculus* L. var. qinghaiensis Y. R. Ling (Asteraceae) from Qinghai-Tibet Plateau. Ind Crops Prod. 2018[acceso:28/06/2019];125:1-4. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0926669018307842>

20. López Pino BE, Arroyave Sosa CP, Londoño Pérez DM, López Naranjo DF, Cardona Aristizábal ML, Hincapié Llanos CA. Actividad antimicrobiana in vitro de los extractos de *Tithonia diversifolia* (Hemsl) A. Gray (botón de oro) y *Ageratum conyzoides* L. (marrubio). Rev Cuba Plantas Med. 2018[acceso:08/10/2019];23(3). Disponible en: <http://www.revplantasmedicinales.sld.cu/index.php/pla/article/view/57>

21. Amensour M, Bouhdid S, Fernández-López J, Idaomar M, Senhaji NS, Abrini J. Antibacterial Activity of Extracts of *Myrtus communis* Against Food-Borne Pathogenic and Spoilage Bacteria. Int J Food Prop. 2010[acceso:29/07/2019];13(6):1215-24. Disponible en: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10942910903013399>

- 
22. Raeisi M, Tajik H, Razavi RS, Maham M, Moradi M, Hajimohammadi B, *et al.* Essential oil of tarragon (*Artemisia dracunculus*) antibacterial activity on *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* in culture media and Iranian white cheese. Iran J Microbiol. 2012[acceso:13/07/2018];4(1):30-4. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22783458>
23. Cabrera CE, Gómez RF, Zúñiga AE. La resistencia de bacterias a antibióticos, antisépticos y desinfectantes una manifestación de los mecanismos de supervivencia y adaptación. Colomb Med. 2007[acceso:26/08/2019];38:149-58. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/cm/v38n2/v38n2a07.pdf>
24. Bernal Sepúlveda R, Rodríguez Haro I, Salazar Castillo M. Efecto del extracto hidroalcohólico de *Punica granatum* sobre la viabilidad de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* *in vitro*. REBIOLEST. 2014[acceso:26/06/2019];2(1). Disponible en: <https://revistas.unitru.edu.pe/index.php/ECCBB/article/view/639>
25. Park JH, Lee YJ, Kim YH, Yoon KS. Antioxidant and Antimicrobial Activities of Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) Seeds Cultivated in Korea. Prev Nutr food Sci. 2017[acceso:26/02/2019];22(3):195-202. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29043217>
26. Rodríguez S. Eficacia antibacteriana del extracto de *Chenopodium quinoa* Willd “Quinoa” sobre la cepa de *Escherichia coli*, estudio *in vitro*. Universidad César Vallejo. 2016[acceso:26/06/2019]. Disponible en: [http://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/UCV/589/rodriguez\\_ms.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/UCV/589/rodriguez_ms.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
27. Toribio MS, Oriani S, Toso RE, Tortone C, Fernández J. *Staphylococcus aureus* sensible a extractos metanólicos obtenidos de plantas nativas de la provincia de la Pampa, Argentina. Cienc Vet. 2009[acceso:06/03/2019];11(1):14-8. Disponible en: <https://cerac.unlpam.edu.ar/index.php/veterinaria/article/view/1877>
28. Maiyo ZC, Ngure RM, Matasyoh JC, Chepkorir R. Phytochemical constituents and antimicrobial activity of leaf extracts of three *Amaranthus* plant species. African J Biotechnol. 2010[acceso:26/06/2019];9(21):3178-82. Disponible en: <https://www.ajol.info/index.php/ajb/article/view/80592>
29. Benli M, Kaya I, Yigit N. Screening antimicrobial activity of various extracts of *Artemisia dracunculus* L. Cell Biochem Funct. 2007[acceso:28/06/2019];25(6):681-6. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11694-016-9456-3>
30. Ahameethunisa AR, Hopper W. Antibacterial activity of *Artemisia nilagirica* leaf
-

extracts against clinical and phytopathogenic bacteria. BMC Complement Altern Med. 2010[acceso:13/07/2018];10(1):6. Disponible en:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20109237>

31. Sharafati Chaleshtori R, Rokni N, Razavilar V, Rafieian Kopaei M. The Evaluation of the Antibacterial and Antioxidant Activity of Tarragon (*Artemisia dracunculus* L.) Essential Oil and Its Chemical Composition. Jundishapur J Microbiol. 2013[acceso:26/06/2019];6(9):2-5. Disponible en:  
<https://sites.kowsarpub.com/jjm/articles/18591.html>

32. Ait Sidi Brahim M, Fadli M, Hassani L, Boulay B, Markouk M, Bekkouche K, *et al.* *Chenopodium ambrosioides* var. *ambrosioides* used in Moroccan traditional medicine can enhance the antimicrobial activity of conventional antibiotics. Ind Crops Prod. 2015[acceso:26/06/2019];71:37-43. Disponible en:  
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0926669015002575>

33. Hossain MA, Al-Abri THA, Al-Musalami AHS, Akhtar MS, Said S. Evaluation of different extraction methods on antimicrobial potency of *Adenium obesum* stem against food borne pathogenic bacterial strains in Oman. Asian Pacific J Trop Dis. 2014[acceso:12/06/2019];4(S2):S985-9. Disponible en:  
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2222180814607702>

34. Repo-Carrasco-Valencia R, Hellström JK, Pihlava J-M, Mattila PH. Flavonoids and other phenolic compounds in Andean indigenous grains: Quinoa (*Chenopodium quinoa*), kañiwa (*Chenopodium pallidicaule*) and kiwicha (*Amaranthus caudatus*). Food Chem. 2010[acceso:20/05/2019];120(1):128-33. Disponible en:  
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814609011662>

35. Farajzadeh Z, Shakerian A, Rahimi E, Bagheri M. Chemical, Antioxidant, Total Phenolic and Flavonoid Components and Antimicrobial Effects of Different Species of Quinoa Seeds. Egypt J Vet Sci. 2020[acceso:10/09/2020];51(1):43-54. Disponible en:  
[https://ejvs.journals.ekb.eg/article\\_53914.html](https://ejvs.journals.ekb.eg/article_53914.html)

36. Obolskiy D, Pischel I, Feistel B, Glotov N, Heinrich M. *Artemisia dracunculus* L. (tarragon): A critical review of its traditional use, chemical composition, pharmacology, and safety. J Agric Food Chem. 2011[acceso:29/07/2019];59(21):11367-84. Disponible en:  
<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jf202277w>

37. Juneja VK, Dwivedi HP, Yan X. Novel Natural Food Antimicrobials. Annu Rev Food Sci Technol. 2012[acceso:29/07/2019];3(1):381-403. Disponible en:  
<http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev-food-022811-101241>

38. Kalogeropoulos N, Konteles SJ, Troullidou E, Mourtzinou I, Karathanos VT. Chemical composition, antioxidant activity and antimicrobial properties of propolis extracts from Greece and Cyprus. Food Chem. 2009[acceso:26/06/2019];116(2):452-61. Disponible en <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814609002490>
39. Burt S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-a review. Int J Food Microbiol. 2004[acceso:12/07/2019];94(3):223-53. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15246235>

#### Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflictos de intereses.

#### Contribución de los autores

*Bibiana Marcela Marín Sánchez:* Obtención de extractos, ejecución de pruebas y escritura del artículo.

*Carlos Augusto Hincapié Llanos:* Planeación de los experimentos, análisis estadístico, revisión y correcciones al artículo.

*Mónica Liliana Cardona Aristizábal:* Diseño y coordinación de los experimentos microbiológicos.