

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA

Comunidad Educativa al Servicio del Pueblo

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA

UNIDAD ACADEMICA DE SALUD Y BIENESTAR

CARRERA DE BIOQUIMICA Y FARMACIA

ESTUDIO COMPARATIVO DEL EFECTO ANTIBACTERIANO Y SINÉRGICO DE LA INFUSIÓN Y DECOCCIÓN DE *PETROSELINUM CRISPUM* SOBRE *ENTEROCOCCUS FAECALIS*

PROYECTO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE BIOQUIMICO FARMACEUTICO

AUTORES: JOSE DARIO TAPIA PACHECO

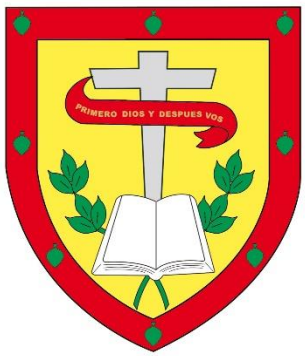
DAYANA SALOME VASQUEZ OJEDA

DIRECTOR: DR. JUAN MARCELO CARPIO ARÉVALO, PHD

CUENCA - ECUADOR

2026

DIOS, PATRIA, CULTURA Y DESARROLLO



UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA

Comunidad Educativa al Servicio del Pueblo

UNIDAD ACADEMICA DE SALUD Y BIENESTAR

CARRERA DE BIOQUIMICA Y FARMACIA

ESTUDIO COMPARATIVO DEL EFECTO ANTIBACTERIANO Y SINÉRGICO DE LA INFUSIÓN Y DECOCCIÓN DE *PETROSELINUM CRISPUM* SOBRE *ENTEROCOCCUS FAECALIS*

PROYECTO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE BIOQUIMICO FARMACEUTICO

AUTORES: JOSE DARIO TAPIA PACHECO

DAYANA SALOME VASQUEZ OJEDA

DIRECTOR: DR. JUAN MARCELO CARPIO ARÉVALO, PHD

CUENCA - ECUADOR

2026

DIOS, PATRIA, CULTURA Y DESARROLLO

Estudio comparativo del efecto antibacteriano y sinérgico de la infusión y decocción de *Petroselinum crispum* sobre *Enterococcus faecalis*

Comparative Study of the Antibacterial and Synergistic Effect of an Infusion and Decoction of Petroselinum crispum Against Enterococcus faecalis

José Darío Tapia Pacheco, Dayana Salome Vasquez Ojeda

[1]	José Darío Tapia Pacheco		https://orcid.org/ 0009-0004-4639-6757
	Jose.tapia.13@est.ucacue.edu.ec		
[2]	Dayana Salome Vasquez Ojeda		https://orcid.org/0009-0006-9642-6082
	Dayana.vasquez.38@est.ucacue.edu.ec		

Palabras claves: ***Petroselinum crispum, infusión, decocción, extractos, efecto antibacteriano ,Inhibicion,concentracion.***

Resumen

Objetivo: El objetivo de este estudio fue analizar el efecto antibacteriano y el posible efecto sinérgico de extractos de *Petroselinum crispum*, obtenidos mediante infusión y decocción a diferentes temperaturas (25 °C, 60 °C y 80 °C), frente a la bacteria *Enterococcus faecalis*.

Materiales y métodos: Se utilizaron 10 g de perejil deshidratado por cada 100 mL de alcohol etílico al 96% para obtener los extractos, los cuales fueron procesados en un rotavapor hasta obtener un residuo seco. La determinación del efecto antibacteriano se realizó mediante el método de difusión en agar, empleando discos impregnados con tres volúmenes de extracto (30, 60 y 90 µL) y utilizando la cepa *Enterococcus faecalis* ATCC19433.

Resultados: En las condiciones estudiadas, los extractos no generaron halos de inhibición apreciables sobre *E. faecalis* en ninguna de las temperaturas o volúmenes de 30 µL y 60 µL. Únicamente en el extracto preparado a 60 °C con una carga de 90

µL se observó una zona de inhibición mínima y tenue. Además, no se observó potenciación del efecto antibiótico ni sinergia con la gentamicina.
Conclusiones: Los extractos de *P. crispum* preparados en alcohol al 96% no mostraron actividad antibacteriana efectiva frente a *E. faecalis* bajo las condiciones de este ensayo. La ausencia de efecto podría deberse a la baja concentración de fitoquímicos en la materia prima comercial, la degradación de metabolitos por calor o la resistencia propia de la bacteria, lo que subraya la necesidad de evaluar estas variables para optimización en futuras investigaciones.

Keywords:

Petroselinum crispum,
infusion,
decoction,
extracts,
antibacterial effect,
inhibition,
concentration

Abstract

Objective: The aim of this study was to analyze the antibacterial effect and the potential synergistic effect of *Petroselinum crispum* extracts—obtained through infusion and decoction at different temperatures (25°C, 60°C, and 80°C)—against the bacterium *Enterococcus faecalis*.
Materials and Methods: Extracts were obtained using 10 g of dehydrated parsley per 100 mL of 96% ethyl alcohol, which were then processed in a rotary evaporator until a dry residue was achieved. The antibacterial effect was determined using the agar disk diffusion method, employing disks impregnated with three volumes (30, 60, and 90 µL) and using the *Enterococcus faecalis* ATCC19433 strain. Solvent-impregnated disks and gentamicin were used as negative and positive controls, respectively.
Results: Under the studied conditions, the extracts did not produce appreciable inhibition zones against *E. faecalis* at any temperature or at volumes of 30 µL and 60 µL. Only the extract prepared at 60°C with a 90 µL load showed a minimal and reduced inhibition zone. No enhancement of the antibiotic effect or synergy with gentamicin was observed.
Conclusions: *P. crispum* extracts prepared in 96% alcohol did not show effective antibacterial activity against *E. faecalis* under the conditions of this assay. The lack of effect could be due to the low concentration of phytochemicals in the commercial raw material, the degradation of metabolites by heat, or the inherent resistance of the bacteria, which highlights the need to evaluate these variables for optimization in future research.

1 Introducción

Petroselinum crispum, conocido comúnmente como perejil, es una planta ampliamente utilizada en la gastronomía y en medicina tradicional debido a la presencia de diversos

compuestos bioactivos como flavonoides y diversos fitoquímicos en su aceite esencial. Varios estudios han demostrado su potencial frente a bacterias como *Staphylococcus aureus, Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* (1,2). Sin embargo, la actividad del perejil frente a *Enterococcus faecalis* aún requiere mayor evidencia experimental.

Enterococcus faecalis es un microorganismo Gram positivo, anaerobio facultativo y oportunista, responsable de infecciones nosocomiales como bacteriemias, infecciones urinarias y de heridas quirúrgicas. Además, debido a su resistencia intrínseca y adquirida frente a varios antibióticos lo convierte en un patógeno prioritario. Los fitoquímicos han mostrado desde hace mucho tiempo importantes propiedades medicinales incluyendo potentes efectos contra varios tipos de bacterias, incluyendo algunas que son resistentes a antibióticos convencionales (3,4). Sin embargo, la estabilidad de estos compuestos en diferentes condiciones de temperatura en que son elaboradas algunas de estas preparaciones medicinales pueden tener importante influencia en su estabilidad y estructura química, aspecto que ha sido aun poco estudiados. En este contexto, el presente trabajo estudió el efecto antibacteriano y sinérgico de extractos de *P. crispum* sobre *E. faecalis* y la influencia de la temperatura de preparación en su potencial actividad.

2 Metodología

El presente estudio corresponde a una investigación experimental de laboratorio, con enfoque cuantitativo, ya que evalúa la actividad antibacteriana de extractos de *Petroselinum crispum* mediante la medición de halos de inhibición generados por discos impregnados. El diseño es experimental analizando el efecto de diferentes temperaturas y concentraciones de extractos sobre el crecimiento de *Enterococcus faecalis* en condiciones controladas de laboratorio. La evaluación se realizó mediante el método de difusión en agar (método de Kirby–Bauer), utilizando controles positivos y negativos para validar los resultados.

Se utilizaron 10 g de *Petroselinum crispum* deshidratado (Condimensa - 256AN06) por cada 100 mL de alcohol etílico al 96%. Se realizaron las extracciones en diferentes condiciones de temperatura: 25 °C, 60 °C y 80 °C. El extracto a temperatura ambiente se mantuvo en reposo protegido de la luz durante 7 días, mientras que los extractos de 60 °C y 80 °C fueron preparados a baño maría durante 30 minutos. Posteriormente, todas las preparaciones fueron filtradas y los extractos se sometieron a evaporación con un rotavapor DLAB RE 100 Pro a una temperatura de 32 grados centígrados a 50 rpm hasta obtener los extractos secos.

Para la preparación de los discos embebidos con los extractos, se tomaron 0,20 mg del extracto seco y se disolvieron en una mezcla de alcohol etílico al 96% y dimetilsulfóxido (50:50 v/v) hasta conseguir la disolución completa. Los discos estériles de papel filtro fueron impregnados gradualmente con 10 µl de cada solución, permitiendo la evaporación del solvente entre cada carga. Se evaluaron tres volúmenes finales aproximados de

extracto por disco: 30, 60 y 90 µL. Además, se incluyeron discos impregnados únicamente con la mezcla de solventes como control.

Para la determinación del efecto antibacteriano se aplicó el método de difusión en agar (Kirby–Bauer), siguiendo lineamientos CLSI. La cepa de *Enterococcus faecalis* ATCC19433 se ajustó a densidad equivalente a 0,5 en la escala de McFarland y se sembró con un hisopo estéril en agar Müller Hinton. En cada placa se colocaron discos impregnados con los extractos, discos con solvente como control negativo y discos de amikacina (10 µg) como control positivo. Las placas se incubaron a 37 °C durante 24 horas y se midieron los halos de inhibición. Para evaluar un potencial efecto sinérgico se realizó el ensayo en forma semejante a la mencionada, pero incluyendo un disco de amikacina a 2,5 cm de distancia de los discos con los extractos.

3 Resultados

Se evaluó la actividad antibacteriana de los extractos de *Petroselinum crispum* preparados a 30 °C, 60 °C y 80 °C, utilizando tres volúmenes finales de impregnación por disco (30, 60 y 90 µL). En todos los ensayos se observó un crecimiento bacteriano homogéneo de *E. faecalis* y la inhibición esperada alrededor del disco de amikacina, confirmando la validez del experimento.

Extractos con 30 µL

Los discos impregnados con 30 µL de extracto no produjeron halos de inhibición en ninguna de las tres temperaturas en que fueron preparados los extractos. El crecimiento bacteriano fue continuo alrededor de los discos, sin evidencias de reducción en la densidad bacteriana.

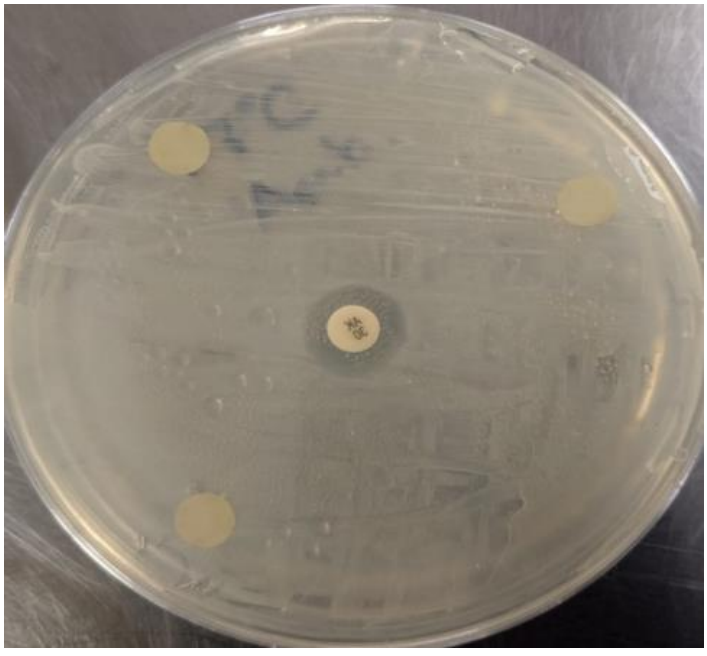


Figura 1: *Agar con discos impregnados con 30 µL de extracto de perejil (Petroselinum crispum) obtenido a 30 °C y disco de amikacina en el centro.*

Extractos con 60 µL

La figura 2 muestra que al incrementar la carga a 60 µL, los resultados permanecieron sin variación. No se detectaron zonas claras de inhibición ni alteraciones discernibles en el crecimiento de *E. faecalis*. En esta concentración se evidenció un comportamiento similar tanto en extractos preparados a temperatura ambiente como en los de 60 °C y 80 °C.

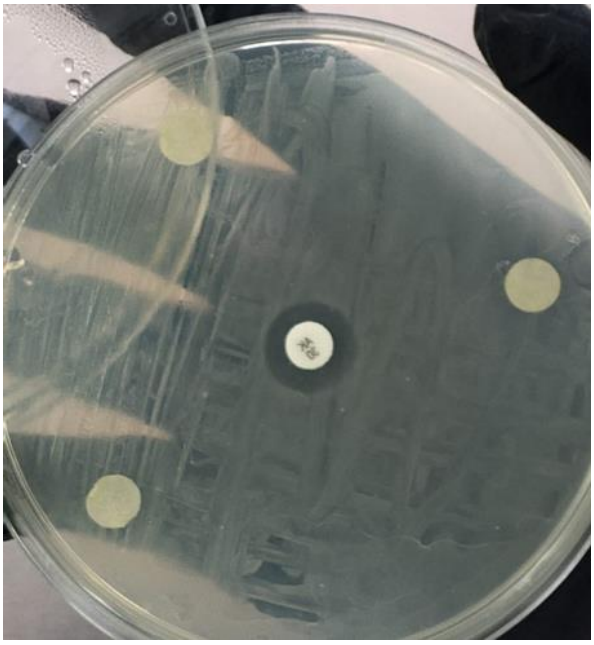


Figura 2: *Agar con disco de amikacina y discos con 60 µL de extracto de perejil preparado a 60 °C.*

Extractos con 90 µL

La mayor carga evaluada (90 µL) tampoco generó halos de inhibición para los extractos preparados a temperatura ambiente ni a 80 °C (Figura 3). No obstante, en el extracto preparado a 60 °C se observó una zona de inhibición reducida y tenue alrededor de uno de los discos, lo que sugiere una inhibición mínima, aunque insuficiente para considerarse actividad antibacteriana significativa.

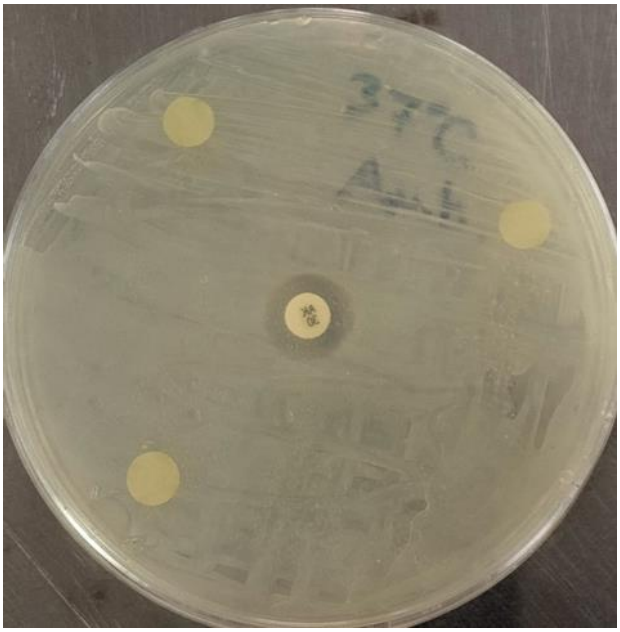


Figura 3: *Agar con un disco de amikacina y con discos impregnados con 90 µL de extracto de perejil obtenido a 80 °C.*

Comparación general

Los tres ensayos demostraron que, bajo las condiciones experimentales empleadas, los extractos de *P. crispum* no ejercieron un efecto inhibitorio sobre *E. faecalis*. Los controles negativos (discos impregnados solo con el solvente) mostraron patrones idénticos, mientras que el control positivo (amikacina) presentó halos definidos en todas las repeticiones, asegurando la integridad técnica del procedimiento. Sin embargo, uno de los extractos impregnados a mayor volumen en los discos y preparado a 60 °C reveló indicios de actividad antibacteriana

4 Discusión

En este estudio se evaluó el efecto antibacteriano de extractos de *Petroselinum crispum* preparados a diferentes temperaturas y aplicados en discos a tres concentraciones distintas. A diferencia de lo reportado en algunos trabajos previos, donde el perejil ha demostrado actividad frente a especies como *Staphylococcus aureus, Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* (5). En este caso no se observó inhibición significativa sobre *Enterococcus faecalis.*

Estos resultados además contrastan con estudios que señalan que la decocción del perejil puede liberar mayor cantidad de compuestos bioactivos, como apiol y miristicina, que estarían asociados a su posible actividad antimicrobiana (3,6). Sin embargo, aun cuando se evaluó el extracto preparado a 80 °C, no se observó inhibición. Esto sugiere que, bajo las condiciones de esta investigación, los compuestos activos no fueron extraídos o no quedaron disponibles en forma adecuada para difundir en el agar o pudieron degradarse durante el proceso.

Un factor que pudo influir es el tipo de solvente usado. En este caso se trabajó exclusivamente con alcohol al 96%, que, si bien es un solvente eficaz para ciertos compuestos vegetales, también puede limitar la extracción de otros o provocar precipitación al momento de evaporarse durante la preparación de los discos (7).

Otro aspecto importante es la concentración final que alcanza el extracto dentro del agar. Aunque se aumentó la carga de 30 µL a 90 µL, la difusión en placa puede no haber sido suficiente para llegar a la concentración mínima inhibitoria (CMI) necesaria para detener el crecimiento de *E. faecalis*. Algunos compuestos extraídos con el alcohol pueden experimentar dificultades para solubilizarse en el medio acuoso del agar. Además, reportes que indican que *E. faecalis* presenta una resistencia elevada a varios compuestos naturales debido a la estructura de su pared celular y a sus mecanismos de adaptabilidad por lo que no es raro que se puedan requerir concentraciones relativamente altas de los compuestos para evidenciar inhibición (8,9).

Respecto a la evaluación del posible efecto sinérgico con amikacina, no se observó ningún incremento o distorsión de la zona de inhibición entre los discos de extractos y los del antibiótico. Interesantemente, algunas cepas de *E. faecalis* pueden presentar resistencia elevada a aminoglucósidos incluso en presencia de sustancias que sinergizan antibióticos en otras bacterias (10,11).

Con relación a la materia prima usada en este trabajo, es importante señalar que es un producto orientado a la alimentación, que, si bien cumple con criterios para su comercialización, es posible que durante su manipulación y envasado no se hayan precautelado la conservación de algunos de sus fitoquímicos. De hecho, es posible que los aceites esenciales hayan estado en menor concentración, lo cual podría explicar la ausencia de efecto observado (12,13).

En conjunto, los resultados indican que, bajo las condiciones estudiadas, los extractos de *P. crispum* no demostraron actividad antibacteriana contra *E. faecalis*. Esto no descarta el potencial de la planta, pero sí subraya la necesidad de optimizar el método de extracción, evaluar otros solventes, y aplicar pruebas cuantitativas más sensibles para la determinación futura del efecto de esta plantas sobre este tipo de bacterias. (12,14,15).

5 Conclusiones

Los extractos de *P. crispum* preparados a diferentes temperaturas no mostraron actividad antibacteriana frente a *E. faecalis*. Este estudio presenta condiciones de evaluación de esta planta para futuras investigaciones en las que se deben considerar aspectos relacionados a los métodos de extracción, el origen y las características de la materia prima y revela la necesidad de evaluar con otros métodos la capacidad antibacteriana y sinérgica de esta planta sobre este *E. faecalis*

6 Referencias Bibliográficas

1. Frontiers | Enterococcus faecalis from Food, Clinical Specimens, and Oral Sites: Prevalence of Virulence Factors in Association with Biofilm Formation [Internet]. [citado 17 de julio de 2024]. Disponible en: https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2015.01534/full

2. Benmekhbi L, Mosbah S, Laamraoui H, Hamlaoui I, Bencheriet S, Ibrahim D. Evaluation of Phytochemical Properties and Biological Activities of Leaf Extracts and Oil of *Petroselinum sativum* Collected from Algeria. Indones J Chem. 2 de noviembre de 2022;22(6):1566.

3. (PDF) Phytochemical screening, antibacterial and cytotoxic activities of petroselinum crispum leaves grown in Oman [Internet]. [citado 13 de octubre de 2025]. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/267032634_Phytochemical_screening_antibacterial_and_cytotoxic_activities_of_petroselinum_crispum_leaves_grown_in_Oman

4. Al Bshabshe A, Algarni A, Shabi Y, Alwahhabi A, Asiri M, Alasmari A, et al. Characterization and Antimicrobial Susceptibility Patterns of Enterococcus Species Isolated from Nosocomial Infections in a Saudi Tertiary Care Hospital over a Ten-Year Period (2012–2021). Diagnostics. 5 de junio de 2024;14(11):1190.

5. Angarita Díaz MDP, Forero Escobar D, Gutiérrez NF, Yañez FT, Romero CA, Angarita Díaz MDP, et al. ANÁLISIS DE ENTEROCOCCUS FAECALIS, STAPHYLOCOCCUS AUREUS Y CANDIDA ALBICANS EN NÚCLEOS COLADOS EN METAL BASE. Revista Facultad de Odontología Universidad de Antioquia. junio de 2017;28(2):292-310.

6. A Review on the Extraction Methods Use in Medicinal Plants, Principle, Strength and Limitation. Med Aromat Plants [Internet]. 2015 [citado 19 de enero de 2026];04(03). Disponible en: http://www.omicsgroup.org/journals/a-review-on-the-extraction-methods-use-in-medicinal-plants-principle-strength-and-limitation-2167-0412-1000196.php?aid=58448

7. Chemical Composition, Antioxidant and Antimicrobial Activity of Essential Oils from Organic Fennel, Parsley, and Lavender from Spain [Internet]. [citado 13 de octubre de 2025]. Disponible en: https://www.mdpi.com/2304-8158/5/1/18

8. Řebíčková K, Bajer T, Šilha D, Houdková M, Ventura K, Bajerová P. Chemical Composition and Determination of the Antibacterial Activity of Essential Oils in Liquid and Vapor Phases Extracted from Two Different Southeast Asian Herbs—Houttuynia cordata (Saururaceae) and Persicaria odorata (Polygonaceae). Molecules. enero de 2020;25(10):2432.

9. Farman M, Yasir M, Al-Hindi RR, Farraj SA, Jiman-Fatani AA, Alawi M, et al. Genomic analysis of multidrug-resistant clinical Enterococcus faecalis isolates for antimicrobial resistance genes and virulence factors from the western region of Saudi Arabia. Antimicrob Resist Infect Control. 2019;8:55.

10. Farman M, Yasir M, Al-Hindi RR, Farraj SA, Jiman-Fatani AA, Alawi M, et al. Genomic analysis of multidrug-resistant clinical Enterococcus faecalis isolates for antimicrobial resistance genes and virulence factors from the western region of Saudi Arabia. Antimicrobial Resistance & Infection Control. 25 de marzo de 2019;8(1):55.

11. Al Bshabshe A, Algarni A, Shabi Y, Alwahhabi A, Asiri M, Alasmari A, et al. Characterization and Antimicrobial Susceptibility Patterns of Enterococcus Species Isolated from Nosocomial Infections in a Saudi Tertiary Care Hospital over a Ten-Year Period (2012–2021). Diagnostics. enero de 2024;14(11):1190.

12. Silva DM, Costa PAD, Ribon AOB, Purgato GA, Gaspar DM, Diaz MAN. Plant Extracts Display Synergism with Different Classes of Antibiotics. An Acad Bras Cienc. 13 de mayo de 2019;91(2):e20180117.

13. Balouiri M, Sadiki M, Ibnsouda SK. Methods for *in vitro* evaluating antimicrobial activity: A review. Journal of Pharmaceutical Analysis. 1 de abril de 2016;6(2):71-9.

14. Plant Extracts Display Synergism with Different Classes of Antibiotics - PubMed [Internet]. [citado 17 de julio de 2024]. Disponible en: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31090789/

15. Ortega Hernández-Agero T, Carretero Accame ME. Cilantro. Panorama actual del medicamento. 2019;43(428):1308-13.