

Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial del *Origanum vulgare* (orégano).

ALBADO PLAUS Emilia*, SAEZ FLORES Gloria **, GRABIEL ATAUCUSI Sandra ***

SUMMARY

Objective: To investigate the antimicrobial activity of essential oil (Carvacrol) from *Origanum vulgare*. **Materials and methods:** The essential oil was obtained by steam water destilation dried leaves and floral; The specific gravity was obtained by a pycnometer. The refractometer Abbc was employed for the refraction Index. The chemical composition was evaluated by gas chromatography with mass detector (GC-MS). Antimicrobial activity of *O. vulgare* oil was tested by semicuantittive pour plate and the agar overlay methods. **Results:** The specific gravity a 20°C was 0,9234 and the refraction index was 1,4774. The GC-MS showed Carvacrol (9%), P-cymene (6,86%), Terpeneol (12,19) and others relationated metabolic compounds. The Gram-negative bacteria: *Escherichia coli*, *Pseudomona aeruginosa*, *Salmonella tiphymurium*, *Salmonella cholerae suis*, *Vibrio cholerae* and the Gram-positive *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* showed sensibility. Only *Pseudomona aeruginosa* showed resistance. **Conclusion:** The essencial oil examined had an antimicrobial activity against all bacterias evaluated, with the exception of *P. aeruginosa*. (*Rev Med Hered* 2001; 12: 16-19).

KEY WORDS: *Origanum vulgare*, oil essential, antibacterial activity, antimicrobial activity.

RESUMEN

Objetivo: Determinar la actividad antimicrobiano en el aceite esencial (Carvacrol) del *Origanum vulgare*. **Material y métodos:** El aceite esencial se obtuvo por destilación por arrastre con vapor de agua, a partir de las hojas y flores desecadas de *O. vulgare*; se determinó la gravedad específica con un pinnómetro y el índice de refracción con refractómetro de Abbc; la composición química se evaluó mediante cromatografía de gas con detector de masa (GL-SM). La actividad antimicrobiana del aceite de *O. vulgare* se realizó por el método semicuantitativo de incorporación y de disco difusión en agar. **Resultados:** La densidad específica del producto resultó 0.9234 a 20°C y el índice de refracción 1.4774; el cromatograma mostró un contenido de 9% de Carvacrol, 12.19% de Terpeneol, 6.86% de P-cimeno y la presencia de otros compuesto relacionados metabólicamente con los tres antes citados. Las bacterias gram-negativas: *Escherichia coli*, *Pseudomona aeruginosa*, *Salmonella tiphymurium*, *Salmonella cholerae suis* y *Vibrio cholerae* y las bacterias gram-positivas: *Staphylococcus aureus* y *Bacillus cereus*, mostraron diferentes grados de sensibilidad. De los microorganismos evaluados solo *pseudomonas aeruginosa* mostró resistencia. **Conclusión:** El aceite esencial posee actividad microbiana contra todas las bacterias evaluadas, excepto antes para *P. aeruginosa*. (*Rev Med Hered* 2001; 12: 16-19).

PALABRAS CLAVE: *Origanum vulgare*, aceite esencial, actividad antibacteriana, actividad antimicrobiana.

-
- * Jefe de Laboratorio de Química Analítica. Profesor Principal de la Escuela de Química de la Facultad de Ciencias Naturales y Mat. de la Universidad Nacional Federico Villarreal.
** Jefe de Laboratorio de Servicios en Microbiología, Parasitología y Ambientales. Profesor Auxiliar de la Escuela de Biología de la Facultad de Ciencias Naturales y Mat. de la Universidad Nacional Federico Villarreal.
*** Alumna de la Escuela de Biología de la Facultad de Ciencias Naturales y Mat. de la Universidad Nacional Federico Villarreal.

INTRODUCCION

Origanum vulgare (Labiata) “orégano” es cultivado en Tacna (Tarata) (1) en gran escala, cosechado, desecado y distribuido a los mercados nacionales y al exterior. Se utiliza en la preparación de alimentos. Las hojas y sumidades floridas se aplican en el campo farmacéutico debido a las propiedades tónicas, amargo-excitantes, antisépticas, diuréticas y antiespasmódicas (2).

Sobre el poder antiséptico de los aceites esenciales de plantas pertenecientes especialmente a las familias Labiadas hay amplia información. (3,4,5,6). Todas contienen un compuesto o principio activo propio pero varios compuestos son comunes a numerosas especies. Las plantas de uso tradicional ofrecen posibilidades para la búsqueda de principios bioactivos o Etnomedicina siendo una alternativa de uso de antisépticos estándar.

Mediante el presente trabajo se intenta fundamentar el uso artesanal del aceite esencial del orégano en la conservación de alimentos; para ello se determina la composición química del mismo y su efecto antibacteriano sobre algunas bacterias infecto-contagiosas relacionadas con la contaminación de los alimentos y de esta manera contribuir a validar su uso vulnerable.

MATERIALES Y METODOS

Las muestras desecadas de hojas y tallos del “orégano” fueron molidas y trasladadas al tubo de extracción de un equipo para destilación por arrastre de vapor de agua. El aceite se separó de la capa acuosa se secó con sulfato de sodio y se filtró. Con este producto se determinó densidad específica, y el índice de refracción. Una alícuota se envió para determinar su composición química .

La composición se determinó mediante un Cromatógrafo de gases con detector de Masas Shimatzu.*;SPB-608,30m x 0,25mm x 0,25 mm Film. Temperatura del inyector 80(C (0,2'), 80-300(C (50(C/min). 1(L.Temperatura del horno: 80(C (8,5'), 80-150(C (45(C/min)150-280(C (8(C/min,6') Carrier gas: Helio, 20,8 psi (0,56') 20,8-24psi(0,1 psi min.) Detector :MS, EI, 20-500uma.3

La actividad antibacteriana del aceite esencial se determinó por el método semicuantitativo de incorporación en placa de cultivo (7) y por el método de difusión en agar.

El medio de cultivo empleado fue Tripticasa Soya Agar

(TSA) y Tripticasa Soya Broth (TSB), esterilizados en autoclave a 121°C x 15 min. Se realizaron las pruebas bioquímicas y confirmativas de los microorganismos antes de cada utilización. Se reactivaron los microorganismos en TSB. Los microorganismos se inocularon en medio agarizado TSA, previamente fundido y enfriado a 45°C. Y para el método de disco difusión el inculo se repartió de manera uniforme en la superficie del agar. La turbidez del inculo utilizado fue semejante al tubo No 0.5 (1 x 108 m.o/ml) de la escala MacFarland.

En ambos casos 4(L del aceite esencial fue embebido en discos de papel de filtro Watman N°4. Se realizaron 4 repeticiones para cada microorganismo. Luego, las placas se incubaron a 37°C durante 24 horas.

Transcurrido el periodo de incubación se observó la formación de zonas de inhibición procediendo a registrar los diámetros en mm. La lectura se efectuó mediante la medición de halos. Se evaluó a cepas patógenas referenciales tales como *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538P), *Bacillus cereus*, *Vibrio cholerae* (ATCC 14033), *E.coli* (ATCC 25923), *Salmonella cholerae suis* (ATCC 14028) *Salmonella tiphymurium* (aislado INS) y *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853).

RESULTADOS

En la tabla N°1 se muestra las condiciones, rendimiento y propiedades y constantes físicas del aceite esencial obtenido por destilación con arrastre de vapor de agua. Los valores que se informan son valores promedio de las repeticiones.

Tabla N°1. Características del aceite esencial obtenido.

MUESTRA	<i>Origanum vulgare</i>
- Tiempo de destilación	30 minutos
- Volumen de destilación	60 ml
- Rendimiento	
% de aceite esencial	1.3 ml
- Densidad específica 20°C	0.92324
- Índice de refracción	1.4774

Tabla N°2. Composición del aceite esencial de *Oreganum vulgare* de acuerdo a cromatograma de gas con detector de masa.

COMPUESTO	%
PhellandreneOS	1.75
<i>p-cymenecoccus aureus</i>	6.86
<i>trans-sabinene hydrate</i>	3.53
<i>Linalool</i>	1.47
Cis sabinene hydrate	18.66
<i>4-terpineol</i>	9.43
<i>Terpineol</i>	2.76
<i>Linalyl acetate</i>	7.40
<i>Thymyl-metyl-eter</i>	1.52
<i>Thymyl-metyl-eter</i>	2.07
<i>Carvacrol</i>	7.72
<i>Carvacrol</i>	1.18
Trans-caryophyllene	2.76
Spathulenol	2.26
caryophyllene oxide	2.21
palmitic acid	8.39
9,12-octadecadienoic acid	8.29
9,12,15.octadecatrienal	5.08
2-methyl-hexanal	1.74
2-dodecanona	2.52
1,3,3-trimethyl-2-(3-methyl-2-methylene	2.40
3-buthylene-3-butenylidene) ciclohexanol	

La tabla N°2 muestra la composición química del aceite esencial de orégano. En la tabla N°3 se puede apreciar una respuesta inhibitoria frente a los microorganismos evaluados. El microorganismo que presentó resistencia fue *Pseudomonas aeruginosa*. No existe diferencia significativa en la utilización de los métodos a excepción de *Salmonella cholerae suis*.

Las placas con los halos de inhibición se pueden observar en la Figura N°1.

DISCUSION

Los “*origanum Oliz*”, “*Oil of Thime*” y “*Marjorans*” son aceites esenciales obtenidos de diferentes especies del género *Oreganum* y de otros géneros esparcidas en diferentes regiones de todos los continentes (3). Son productos de interés por su aplicación en la Industria Farmacéutica Alimentaria y en agricultura. Se informa sobre el contenido en fenoles y específicamente el *carvacrol* (9,10).

Otras publicaciones sobre la composición química del aceite esencial de *Oreganum vulgare*, informan diferentes rendimientos según el tiempo y modo de proceso desde su recolección hasta su extracción (2). En el presente trabajo se obtuvo *terpineoles*, fenoles y

Tabla N°3. Actividad antibacteriana del aceite esencial de *Oreganum vulgare*.

CEPA	Diámetro halo (mm)	
	D.D.*	I
GRAM POSITIVOS		
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538P	28 29
ATCC 6538		
<i>Bacillus cereus</i>	(Salvaje)	14 16
GRAM NEGATIVAS		
<i>E. coli</i>	ATCC 25922	16 16
<i>Salmonella tiphymurium</i>	Aislado	15 16
<i>Vibrio cholerae</i>	ATCC 14033	15 15
<i>Salmonella cholerae suis</i>	ATCC 14028	14 18
ATCC 14028		
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	ATCC 24853	R R
ATCC 15442		

* D.D.=Disco difusión; I=Incorporación; R=Resistente

compuestos relacionados metabólicamente con el *carvacrol*.

En cuanto a su actividad antimicrobiana, el resultado de la investigación confirma que el aceite esencial del orégano, posee efecto antimicrobiano frente a bacterias gram positivas como *Staphylococcus aureus* y *Bacillus cereus* y sobre bacterias gram negativas. La bacteria *Pseudomona auriginosa* no mostró sensibilidad frente al aceite esencial.

Investigaciones similares (11,12), demuestran la acción antibacteriana de la familia de las labiadas, sin embargo, existe una diferencia en cuanto al diámetro de inhibición de *Salmonella cholerae suis*. Hay resultados contradictorios de los métodos utilizados en las evaluaciones de la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales pudiéndose deber a las variaciones metodológicas y de los materiales empleados, señalando que puede deberse a diversos factores como la técnica de valoración, medio de crecimiento, microorganismos empleados y la composición química de los aceites esenciales.

En conclusión, el aceite esencial obtenido a partir del orégano de los mercados contiene los compuestos citados para el *Oreganum vulgare*. Las diferencias cuantitativas pueden atribuirse a los métodos de obtención, fecha y tiempo transcurrido entre la recolección y el proceso de obtención del aceite esencial.

La naturaleza de las bacterias sensibles al aceite de orégano justifica su uso popular en la preparación y conservación de los alimentos.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Secado Solar. Proyecto de la Cooperación Peruano-Alemana. Centro de Energía Renovable. Universidad Nacional de Ingeniería. Lima. Perú. 1983
2. Guerrero L. y Núñez MJ. Obtención de Aceites Esenciales de Eucalipto y Orégano. Industria Farmacéutica 1991; Julio/Agosto :73-79.
3. Guenter, E. The Essential Oils of the Plant Family Labiatae. Canada. Van Nostrand. 1949; III: 541.
4. Montes MA. El boldo, planta tradicional chilena de permanente actualidad. Farmacia Sudamericana 1996; 6: 18-21.
5. Dominguez X. .Métodos de Investigación Fitoquímica. Edit. Limusa S.A. 3ra edic. Méjico. 1985.
6. Lock de Ugaz O. Investigación Fitoquímica. Edit. Pontificia Universidad Católica del Perú. Lima. 1994.
7. Manual de Diagnóstico Clínico de Salmonella, Shigella, Proteus, Campilobacter y Sensibilidad antimicrobiana. 1997. INS. Lima, Perú.
8. Morales L. Estudio in vitro de la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales de tres plantas del Perú. Tesis. UNMSM. Fac. Biología. 1995.
9. Yang R and Shetty K. Stimulation of Rosmarinis acid in shoot culture of orégano (*Origanum vulgare*) clonal line in response to proline, proine analog and ptoline precursors. J.Agric Food Chem 1998; In Press
- 10.Ueno, K,Cheplic, S and Shetty, K reduced hyperhydricity and enhanced growth of tissue culture-generated (*Rubus* sp) clonal lines by *Pseudomonas* sp. Isolated from oregano. Process biochemistry 1998; 33: 229-238.
- 11.Vataru C, Ueda T. "Memorias del Instituto Oswaldo Cruz on Line" Rev. Oswaldo Cruz on Line. 1994; 94 : 875-878.
- 12.Montes M, Wilcomirski T, Valenzuela L, Bello H, Osses F. Rev An Real Acad Farm 1991; 57: 425 - 38.