



**Universidad  
Norbert Wiener**

**FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**

**ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**

**“Actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Origanum vulgare* L.  
“Orégano peruano” frente a *Staphylococcus aureus*”**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL**

**DE QUÍMICO FARMACÉUTICO**

**Presentado por:**

**Br. ROGER SALINAS SEGURA**

**Asesor:**

**Dr. CARHUAPOMA YANCE, MARIO**

**Lima – Perú**

**2018**

## DEDICATORIA

A Dios Por haberme permitido llegar hasta este punto y haberme dado salud para lograr mis objetivos, además de su infinita bondad y amor.

A mi madre Santos por haberme apoyado en todo momento por sus consejos, sus valores, por la motivación constante que me ha permitido ser una persona de bien, pero más que nada por su amor.

A la memoria de mi Papa Eladio Salinas, que me inculco el amor por la Farmacia y siempre me alentó y me da su ayuda desde el cielo.

A mis amigos que nos apoyamos mutuamente en nuestra formación profesional y que hasta ahora, seguimos siendo amigos: Leónidas García, Livia Solís, Diego Aguirre, Mario Huamán y Lía Gonzales.

A mis queridos hermanos: Isaías Salinas, Maritza Salinas, Rosmer Salinas, Adela Salinas, Denis Salinas, Por los momentos que nos tocó compartir donde pese a las dificultades siempre se supo mantener lo que nos inculcaron desde pequeños: Amor y Unión Familiar.

A los Docentes. Q.F. Máximo Navarro, Dr. Mario Carhuapoma, Mg. Miguel Félix, Q.F. Freddy Guevara, Mg. Ernesto Torres, Dra. Rosa Zarate, por sus consejos oportunos y enseñanzas un reconocimiento especial.

Br. Salinas Roger

## AGRADECIMIENTOS

Le agradezco a dios por haberme acompañado y guiado a lo largo de mi carrera, por ser mi fortaleza en los momentos de debilidad y por brindarme una vida llena de aprendizaje experiencias y sobre todo felicidad.

Le doy gracias a mis padres Eladio y Santos por apoyarme en todo momento, por los valores que me han inculcado y por haberme dado la oportunidad de tener una excelente educación en el transcurso de mi vida.

A mis hermanos por ser parte importante de mi vida y representar la unidad familiar A Isaías por ser un ejemplo de desarrollo profesional a seguir, Denis y Adela por llenar mi vida de alegrías y amor cuando más lo he necesitado.

Al **Dr. Mario Carhuapoma Yance** por su apoyo y orientación permanente en el presente trabajo, guiándome con mucha sabiduría y por la amistad brindada.

A la Universidad Norbert Wiener, quien me dio la oportunidad de profesionalizarme y mis maestros.

A mis amigos que compartieron sus hermosas experiencias de vida estudiantil, siempre los recuerdo con afecto.

A través de estas líneas expreso mi agradecimiento a todos lo que hicieron posible la culminación de esta tesis.

Br. Salinas Roger

A los miembros del jurado Examinador y Calificador por sus consejos y sugerencias durante la evaluación del presente trabajo:

Dr: Chávez Flores Juana Elvira

Mg: Félix Veliz Luis Miguel

Mg: Jaramillo Briceño Marilú Ricardina

Muy agradecido

Br. Salinas Roger.

## LISTA DE SIGLAS Y ABREVIATURAS

<b>Término</b>	<b>Sigla/abreviatura</b>
Infecciones asociadas a la atención en salud	<b>IAAS</b>
Infecciones intrahospitalarias	<b>IIH</b>
Aceites esenciales	<b>AE</b>
Grados Celsius	<b>°C</b>
Centímetro	<b>cm</b>
Milímetro	<b>mm</b>
Milígramo	<b>mg</b>
Litro	<b>L</b>
Mililitro	<b>mL</b>
Microlitro	<b>µL</b>
Unidad Formadora de Colonia	<b>UFC</b>
Concentración Mínima Inhibitoria	<b>CMI</b>
Metros sobre el nivel del mar	<b>m.s.n.m</b>
American Type Culture Collection	<b>ATCC</b>
Cromatografía de gases con detector de ionización de llama	<b>GC-FID</b>
Concentración Mínima Bactericida	<b>CMB</b>
Cromatografía de gases /Espectrometría de masas	<b>GC-SM</b>
Aceite esencial <i>Origanum vulgare</i>	<b>AEOV</b>
Porcentaje rendimiento del aceite esencial	<b>%RAE</b>
Enzima fenilalanina amonio liasa	<b>PAL</b>

## ÍNDICE GENERAL

RESUMEN

SUMMARY

Pág.

### I. INTRODUCCIÓN

1.1 Planteamiento del problema	1
1.2 Formulación del problema	2
1.3 Justificación	2
1.4 Objetivos	3
1.4.1 General	3
1.4.2 Específicos	3
1.5 Variables	3
1.5.1 Variable independiente	3
1.5.2 Variable dependiente	3
1.6 Hipótesis	3

### II. MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes	4
2.1.1 Antecedentes internacionales	4
2.1.2 Antecedentes nacionales	7
2.2 Bases teóricas	9
2.2.1 Aceites esenciales	9
2.2.2 Química de los aceites esenciales	9
2.2.3 Taxonomía de <i>Origanum vulgare</i> L.	12
2.2.3.1 Descripción botánica	12
2.2.3.2 Distribución geográfica	13
2.2.3.3 Biodiversidad del género <i>Origanum</i>	13
2.2.4 Antecedentes etnobotánicos, etnofarmacológicos y farmacológicos.	13
2.2.5 Composición química del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> L.	15
2.2.6 Actividad antimicrobiana de los aceites esenciales	17
2.2.7 Mecanismo de acción de los aceites esenciales	17
2.2.8 Metabolitos secundarios y rutas metabólicas	18

2.2.9 Microorganismo en estudio	23
2.2.9.1 <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	23
2.2.9.2. Gentamicina	25
<b>III. PARTE EXPERIMENTAL</b>	
3.1 Diseño de investigación	28
3.1.1 Tipo de estudio	28
3.2 Población	29
3.2.1 Población vegetal	29
3.2.2 Muestra vegetal	29
3.2.3 Criterios de inclusión	29
3.2.4 Criterios de exclusión	29
3.2.5 Población bacteriana	29
3.3 Método	29
3.3.1. Colecta de materia vegetal	30
3.3.2. Procesamiento de la muestra	30
3.3.3. Extracción del aceite esencial	30
3.3.4. Rendimiento del aceite esencial (%RAE)	30
3.3.5 Caracterización de parámetros fisicoquímicos del aceite esencial	31
3.3.6 Evaluación de la actividad antimicrobiana del aceite esencial	31
3.4 Técnicas, instrumentos, recolección y procesamiento de datos	34
<b>IV. RESULTADOS</b>	35
<b>V. DISCUSIÓN</b>	44
<b>VI. CONCLUSIONES</b>	48
<b>VII. RECOMENDACIONES</b>	49
<b>VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	50
<b>IX. ANEXOS</b>	55

## ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
<b>Tabla 1.</b> Grupos funcionales en la química de los aceites esenciales	11
<b>Tabla 2.</b> Composición química del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> L. "Orégano peruano".	16
<b>Tabla 3.</b> Características fisicoquímicas del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> L."Orégano peruano".	35
<b>Tabla 4.</b> Características organolépticas del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> L."Orégano peruano".	36
<b>Tabla 5.</b> Composición química del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> L. "Orégano peruano" por cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas (GC-SM) realizado en la universidad nacional agraria la molina.	37
<b>Tabla 6.</b> Componentes principales analizados del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> L."Orégano peruano".	39
<b>Tabla 7.</b> Halos de Inhibición del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> L."Orégano peruano" a cuatro concentraciones frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538.	40
<b>Tabla 8.</b> Media de los halos de Inhibición del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> L."Orégano peruano" y discos de gentamicina (marca OXOID) frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538.	41

## ÍNDICE DE FIGURAS

	<b>Pág.</b>
<b>Figura 1.</b> Principales estructuras moleculares de aceites esenciales.	10
<b>Figura 2.</b> Ruta metabólica de los terpenos y aceites esenciales.	20
<b>Figura 3.</b> Rutas metabólicas de los metabolitos secundarios.	22
<b>Figura 4.</b> Microfotografía de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538.	24
<b>Figura 5.</b> Estructura molecular del aminoglucósido gentamicina.	25
<b>Figura 6.</b> Mecanismo de acción de los antibióticos y antimicrobianos.	26
<b>Figura 7.</b> Mecanismo de resistencia a los antibióticos.	27
<b>Figura 8.</b> Cromatograma del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> L. "Orégano peruano".	38
<b>Figura 9.</b> Comparación de los halos de inhibición a cuatro concentraciones del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> L. "Orégano peruano", discos de gentamicina (marca OXOID) y el blanco frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538.	42
<b>Figura 10.</b> Halos de inhibición del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> L. "Orégano peruano", comparados con discos de gentamicina (marca OXOID) y el blanco frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538.	43
<b>Figura 11.</b> Muestra <i>Origanum vulgare</i> L.	56
<b>Figura 12.</b> Muestra recolectada de <i>Origanum vulgare</i> L.	57
<b>Figura 13.</b> Ensayos de actividad antimicrobiana del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> L.	60
<b>Figura 14.</b> Halos de inhibición del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> L. comparados con discos de gentamicina (marca OXOID) y el blanco frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538.	61

## ANEXOS

	Pag.
<b>Anexo 1.</b> Ubicación sistemática de la especie de <i>Origanum vulgare</i> L."Orégano Peruano".	55
<b>Anexo 2.</b> Procesamiento de la muestra <i>Origanum vulgare</i> L."Orégano peruano".	56
<b>Anexo 3.</b> La muestra <i>Origanum vulgare</i> L."Orégano peruano" se recolectará en bolsas de papel.	57
<b>Anexo 4.</b> Muestra de <i>Origanum vulgare</i> L."Orégano peruano" deshidratado para su posterior extracción del aceite esencial.	58
<b>Anexo 5.</b> Esquema del equipo extractor del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> L."Orégano peruano".	59
<b>Anexo 6.</b> Microbiología. Actividad antibacteriana frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> L."Orégano peruano". (Método Disco Difusión, Kirby -Bauer).	60
<b>Anexo 7.</b> Halos de inhibición del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> L."Orégano peruano" comparados con discos de gentamicina (marca OXOID) frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538.	61

## RESUMEN

El objetivo del presente trabajo de investigación fue comprobar la actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Origanum vulgare* L. "Orégano peruano" frente a *Staphylococcus aureus*". El aceite esencial se obtuvo por el método de destilación de arrastre con vapor de agua, purificándose con sulfato de sodio anhidro. El análisis de los principales componentes fitoquímicos del aceite se realizó por métodos organolépticos e instrumentales. La actividad antimicrobiana se ensayó en cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 por el método de difusión en disco (Kirby-Bauer) en Placas de Petri, el control positivo fue con discos de Gentamicina 10 µg (marca OXOID) y el control negativo con dimetilsulfóxido. Los resultados obtenidos fueron los siguientes: el aceite esencial tiene un buen rendimiento siendo 2,02 %, destilado en un tiempo de 60 minutos, densidad de 0,9132 g/mL, índice de refracción de 1,475, y siendo los principales componentes el carvacrol y timol, el aceite esencial de *Origanum vulgare* L. "Orégano peruano" tiene actividad antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 , los halos de inhibición fueron 11,47, 13,40, 16,60 y 19,65 mm , a las concentraciones de 25, 50, 75 y 100 µg/mL respectivamente. Para la gentamicina resultó un halo de inhibición de 30,14 mm. Se concluyó a 100 µg/mL la mayor actividad antimicrobiana el aceite esencial de *Origanum vulgare* L. "Orégano peruano" frente a *Staphylococcus aureus*.

**Palabras clave:** Aceite esencial, *Origanum vulgare* L. "Orégano peruano", actividad antimicrobiana.

## SUMMARY

The objective of this research was to verify the antimicrobial activity of the essential oil of *Origanum vulgare* L. "Peruvian Oregano" against *Staphylococcus aureus* ". The essential oil was obtained by the steam distillation method, purifying with anhydrous sodium sulfate. The analysis of the main phytochemical components of the oil was carried out by organoleptic and instrumental methods. Antimicrobial activity was tested on strains of *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 by the method Disk diffusion (Kirby-Bauer) in Petri dishes, the positive control was discs Gentamycin 10 ug (brand OXOID) and negative control with dimethylsulfoxide. The results obtained were the following: the essential oil has a good yield being 2,02%, distilled in a time of 60 minutes, density of 0,9132 g / mL, refractive index of 1,475, and the main components being the carvacrol and thymol, the essential oil of *Origanum vulgare* L. "Peruvian Oregano" has antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, the inhibition halos were 11,47, 13,40, 16,60 and 19,65 mm, at the concentrations of 25, 50, 75 and 100 µg / mL respectively. For gentamicin, a 30,14 mm inhibition halo was obtained.

The essential oil of *Origanum vulgare* L. "Peruvian Oregano" versus *Staphylococcus aureus* was the highest antimicrobial activity at 100 µg / mL.

**Key words:** Essential oil, *Origanum vulgare* L. "Peruvian Oregano", antimicrobial activity

# I. INTRODUCCIÓN

## 1.1 Planteamiento del problema

Los seres humanos y los animales estamos expuestos a un sin número de agentes infecciosos de tipo bacteriano, como es el caso de *Staphylococcus aureus*.

Los patógenos involucrados en las infecciones por *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*, que son patógenos oportunistas, catalogados según el microbioma humano como patobiontes en personas inmunocomprometidas y presentan un gran potencial de formar biopelículas, ya que se encuentra en la piel y en superficies mucosas, los cuales pueden ser introducidos en los tejidos durante la implantación de dispositivos médicos<sup>(1)</sup>.

*Staphylococcus aureus* es uno de los microorganismos aislados con mayor frecuencia en patología humana y es agente causal de infecciones de la piel y estructuras asociadas, infecciones endovasculares, neumonías, artritis sépticas, osteomielitis, infecciones asociadas a cuerpos extraños y sepsis<sup>(2)</sup>.

*Staphylococcus aureus* presenta resistencia a todas las penicilinas y a los antibióticos betalactámicos disponibles, excepto ceftarolina. Durante mucho tiempo, *Staphylococcus aureus* estuvo vinculado con las infecciones de pacientes hospitalizados o asociadas al cuidado de la salud. Estas cepas se caracterizan por presentar, además de la resistencia a la penicilina, resistencia cruzada a otros antibióticos, como clindamicina, eritromicina, rifampicina, fluoroquinolonas y trimetoprima/sulfametoxazol<sup>(3)</sup>.

En el año 2016 la Dirección General de Epidemiología del Ministerio de Salud, reportó tasas de prevalencia de infecciones asociadas a la atención en salud (IAAS) antes llamadas infecciones nosocomiales o intrahospitalarias (IIH) responsables de morbilidad en un 4,8 % para el año 2014 y 3,9 % para el año 2015, y la tasa de prevalencia de pacientes con IAAS fue 4,4 y 3,6 % para los mismos años<sup>(4)</sup>.

Los metabolitos activos de las plantas medicinales aromáticas presentan diferentes actividades: antimicrobiana, antiparasitaria, antiviral, sobre el sistema nervioso central, anticancerígeno, etc. El principal componente de una planta aromática es su aceite esencial<sup>(5-9)</sup>.

## 1.2 Formulación del problema

¿Tendrá actividad antimicrobiana el aceite esencial de *Origanum vulgare* L. “Orégano peruano” frente a *Staphylococcus aureus*?

## 1.2 Justificación

Buscar nuevas alternativas antimicrobianas en la biodiversidad peruana, principalmente de plantas medicinales aromáticas, por ejemplo, el *Origanum vulgare* L. “Orégano peruano”.

Las bacterias son agentes infecciosos que en su gran mayoría generan perjuicios en la salud pública. Ello ha revolucionado la síntesis química de antimicrobianos, sin embargo, la gran mayoría de este grupo de medicamentos está generando resistencia microbiana.

Es por eso que en el presente trabajo de investigación se demostró la actividad antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus* del aceite esencial de *Origanum vulgare* L. “Orégano peruano”, porque esta especie vegetal tiene un amplio uso medicinal para problemas respiratorios y digestivos .

Los resultados permitirán disponer de alternativas en cuanto al uso de productos naturales para el desarrollo de nuevos productos terminados que puedan prevenir, aliviar y/o curar infecciones de tipo bacteriano.

## **1.4 Objetivos**

### **1.4.1 General**

Comprobar la actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Origanum vulgare* L. "Orégano peruano" frente a *Staphylococcus aureus*.

### **1.4.2 Específicos:**

1. Identificar por análisis cualitativo los principales componentes fitoquímicos del aceite esencial de *Origanum vulgare* L. "Orégano peruano".
2. Determinar la actividad antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus* del aceite esencial de *Origanum vulgare* L. "Orégano peruano".
3. Determinar a qué concentración el aceite esencial *Origanum vulgare* L. "Orégano peruano" presenta mayor actividad antimicrobiana.

## **1.5 Variables**

### **1.5.1 Independiente**

- El aceite esencial de *Origanum vulgare* L. "Orégano peruano".

### **1.5.2 Dependiente**

- Actividad antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

## **1.6. Hipótesis**

- El aceite esencial de *Origanum vulgare* L. "Orégano peruano" tiene actividad antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1 Antecedentes:

#### 2.1.1 Antecedentes internacionales

Alarcón L, (2016) <sup>(10)</sup>, realizó la investigación titulada “Composición química y evaluación de la actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Espeletia schultzii* wedd (asteraceae) recolectada en el estado Trujillo–Venezuela”, con el objetivo de determinar la composición química y evaluación de la actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Espeletia schultzii* wedd (asteraceae) recolectada en el estado Trujillo–Venezuela, se utilizó el método de un cromatógrafo de gases, espectrometría de masas (CG-EM) y los métodos Difusión en agar con discos (Kirby-Bauer) y Microdilución, los resultados del aceite esencial de las hojas frescas de *Espeletia schultzii* Wedd (Asteraceae), permitió la identificación de 13 componentes, que constituyeron el 100% del aceite esencial de los cuales los mayoritarios fueron  $\alpha$ -pineno (50,11%),  $\beta$ -pineno (16,28%) y  $\beta$ -mirceno (14,71%). Este aceite mostró actividad antibacteriana contra bacterias Gram positivas (*Staphylococcus aureus* y *Enterococcus faecalis*) con halos de inhibición entre 16 y 21 mm de diámetro. El autor Alarcón L, concluye que la composición química y evaluación de la actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Espeletia schultzii* wedd (asteraceae) recolectada en el estado Trujillo–Venezuela, que las hojas de esta especie reportan actividad antibacteriana contra bacterias Gram positivas *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus faecalis*.

Bernal S, (2015) <sup>(11)</sup>, realizó la investigación titulada “Evaluación de la actividad inhibitoria del aceite esencial de naranja (*Citrus sinensis*) contra *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*”, realizado en México, con el objetivo de evaluar la actividad inhibitoria del aceite esencial de naranja contra *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*. Se utilizó el método de Hidrodestilación y el método de

difusión en disco (Kirby-Bauer), los resultados de las pruebas de inhibición del crecimiento microbiológico a las que fue sometido el aceite esencial de naranja valencia (*Citrus sinensis*) cultivados en Caborca, Sonora, México, y en Redlands, California, EE.UU. Fueron comparados el aceite esencial de naranja mexicana, lo cual presentó un rendimiento casi dos veces mayor en volumen con respecto al aceite esencial de naranja estadounidense. El autor Bernal S, concluyo que la actividad inhibitoria del aceite esencial de naranja (*Citrus sinensis*) contra *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*. El aceite esencial de naranja mexicana presentó actividad apreciable contra las tres cepas, mientras que el aceite esencial de naranja valencia estadounidense no fue capaz de inhibir el crecimiento de la cepa *Escherichia coli*.

Martinez T, et al. (2015)<sup>(12)</sup>, realizaron la investigación titulada “Efecto del aceite de *Citrus reticulata* “mandarina” en *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*”, realizado en Colombia, Con el objetivo determinar el efecto del aceite de *Citrus reticulata* “mandarina” en *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*, se utilizaron los métodos destilación por arrastre con vapor de agua (se usaron las cascaras ), Microdiluciones del caldo Muller-Hinton, difusión en disco (Kirby-Bauer), se utilizó la concentración 100 µg/mL, los resultados del aceite esencial de *Citrus reticulata* sobre *Staphylococcus aureus* presento halos de inhibición de 22,10 mm y *Pseudomonas aeruginosa* 18,20 mm de diámetro respectivamente, Los autores Martinez T, et al, concluyeron que el efecto del aceite de *Citrus reticulata* “mandarina” en *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* si presenta actividad antimicrobiana frente a las dos cepas estudiadas.

Valles M, et al. (2014)<sup>(13)</sup>, realizaron la investigación titulada “Efecto del aceite esencial de *Origanum vulgare* en la supervivencia de *Staphylococcus aureus*, *Salmonella thypi*, *Salmonella parathypi* y *Salmonella enteritidis* en carne de cerdo pasteurizada y refrigerada”, realizado en España, con el objetivo determinar el efecto del aceite esencial de *Origanum vulgare* en la supervivencia de *Staphylococcus aureus*, *Salmonella thypi*, *Salmonella parathypi* y *Salmonella enteritidis* en

carne de cerdo pasteurizada y refrigerada, se utilizó el método destilación directa por arrastre con vapor de agua y método de difusión de disco (Kirby-Bauer) a concentraciones de 50 y 100 µg/mL, los resultados presentaron un halo de inhibición para *Staphylococcus aureus* 14,18 mm y 18,20 mm *Salmonella thypi* 11,31mm y 15,40 mm, *Salmonella paratyphi* 9,12 mm y 14,21 mm y *Salmonella enteritidis* 16,50 mm y 16,14 mm de diámetro. Los autores Valles M, et al, concluyeron que, si afecta la supervivencia en carne de cerdo pasteurizada y refrigerada frente a las cuatro cepas bacterianas *Salmonella typhi*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella paratyphi* y *Staphylococcus aureus* esto debido a la composición química de sus metabolitos secundarios como son los monoterpenos, sesquiterpenos y compuestos fenólicos.

### **2.1.2 Antecedentes nacionales**

Naranjo M, et al. (2017) <sup>(14)</sup>, realizaron la investigación titulada “Eficacia antimicrobiana in vitro del extracto de mastuerzo (*Tropaeolum majus*) y tomillo (*Thymus vulgaris*) sobre cepa certificada de *Staphylococcus aureus*”, realizado en la región Trujillo, con el objetivo de evaluar *in vitro* la eficacia antimicrobiana del extracto de mastuerzo (*Tropaeolum majus*) y tomillo (*Thymus vulgaris*) sobre *Staphylococcus aureus*, Se utilizó el método difusión en disco (Kirby-Bauer), se evaluaron concentraciones al 50%, 75% y 100% en dilución en etanol al 96,8%, los resultados indican que el extracto de tomillo fue altamente eficaz inhibiendo el crecimiento bacteriano con halos de inhibición de 15,10 mm, 19,20 mm y 23,40 mm , mientras que el mastuerzo no dio ningún resultado favorable. Los autores Naranjo M, concluyeron la determinación de la eficacia antimicrobiana in vitro del extracto de mastuerzo (*Tropaeolum majus*) y tomillo (*Thymus vulgaris*) sobre la cepa de *Staphylococcus aureus*, demostrando que el extracto de tomillo fue altamente eficaz inhibiendo el crecimiento bacteriano sobre dicha cepa, mientras que el mastuerzo no dio ningún resultado favorable.

Mendez A, et al. (2017)<sup>(15)</sup>, realizaron la investigación titulada “Actividad antimicrobiana y las actividades antioxidantes del aceite de palo santo (*Bursera graveolens*)”, realizado en la región Arequipa, con el objetivo determinar la actividad antimicrobiana y las actividades antioxidantes del aceite de palo santo (*Bursera graveolens*), el aceite de palo santo es un componente importante de la medicina tradicional peruana y se sabe que tiene propiedades antibacterianas este aceite esencial se extrae de las ramas caídas del árbol *Bursera graveolens* para validar algunas de sus propiedades, se utilizó los métodos difusión en disco (Kirby-Bauer), método Folin – Ciocalteu, Hidrodestilación y análisis por Cromatografía de gases acoplada con un detector de ionización de llama (FID), los resultados se confirma que el aceite esencial de *Bursera graveolens* demuestra propiedades antimicrobianas significativas, la actividad antioxidante se determinó mediante el uso de 2,2-difenil-1-picrilhidrazán (DPPH), IC<sub>50</sub> = 545,25 µg / mL, los resultados mostró una débil actividad antioxidante, se identificó 38 metabolitos secundarios el compuesto más importante es  $\alpha$ -terpineno (31,57%), el crecimiento microbiológico presento un halo de inhibición de 28,70 mm de diámetro. Los atutores Mendez A, et al, concluyeron que si tiene actividad antimicrobiano y débil actividad antioxidante esto debido a sus componentes químicos como son los terpenos.

Ahmed L, et al. (2017)<sup>(16)</sup>, realizaron la investigación titulada “Evaluación de la capacidad antimicrobiana del aceite esencial de Orégano (*Origanum vulgare*) microencapsuladas en  $\beta$ -ciclodextrina aplicados en cultivos microbianos, realizado en la región de Tacna, con el objetivo de evaluar la actividad antimicrobiana del aceite esencial del Orégano (*Origanum vulgare* L.) en  $\beta$ -ciclodextrina aplicados en cultivos microbianos, Se utilizó el método Hidrodestilación, difusión en disco (Kirby-Bauer) se usaron concentraciones de 100%, los resultados presenta un crecimiento microbiológico con halo de inhibición de 12,7 mm de diámetro. Los autores Ahmed L, et al, concluyeron que se logró determinar la actividad antimicrobiana del aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare* L.) en  $\beta$ -

ciclodextrina aplicados en cultivos microbianos, si presenta actividad antimicrobiana esto debido a sus compuestos fenólicos (timol, carvacrol) son los que le dan riqueza bacteriana.

Flores L,(2016)<sup>(17)</sup>, realizo la investigación titulada “Evaluación del efecto antimicrobiano del aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*) aplicado en el pan molde en microencapsulado y pulverizado”, realizado en Lima, con el objetivo determinar la evaluación del efecto antimicrobiano del aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*) aplicado en el pan molde en microencapsulado y pulverizado, se utilizó el método destilación directa por arrastre con vapor de agua y difusión en disco (Kirby-Bauer), se realizaron análisis de calidad como índice de refracción, densidad y residuo de evaporación, se microencapsuló el aceite esencial de orégano mediante secado por atomización a 185°C, la emulsión fue elaborada a partir de los materiales de pared: maltodextrina, goma arábica y almidón modificado, los resultados es el rendimiento obtenido del aceite esencial de Orégano de 0,5%, el índice de refracción 1,478, la densidad 0,9127g/mL y el residuo de evaporación 0,24g, el crecimiento microbiológico presenta halos de inhibición 14.30 mm de diámetro. El autor Flores L, concluyo que se logró determinar la evaluación del efecto antimicrobiano del aceite esencial de Orégano (*Origanum vulgare*) aplicado en el pan molde en microencapsulado y pulverizado se manifiesta mayor efecto antimicrobiano esto debido que el Orégano es una planta con compuestos químicos muy volátiles como son: compuestos oxigenados, terpenos, monoterpenos, sesquiterpenos y grupos aromáticos esto le da mayor actividad antimicrobiana.

## 2.2 Bases teóricas

### 2.2.1 Aceites esenciales

Los aceites esenciales o aceite volátil, que le da una peculiaridad aromática a la planta. Son constituyentes fitoquímicos con predominio volátil y odorífero, de composición química compleja, que se originan a partir de los tejidos secretores, almacenándose en pelos glandulares, cavidades esquizógenas o lisigénas. Generalmente son líquidos fluidos, más livianos que el agua, de olor fuerte y penetrante que recuerda a la planta de origen, incoloras o amarillentas translúcidas, solubles en alcoholes y disolventes orgánicos como: Eter, cloroformo, dejan manchas sobre el papel que desaparecen con el tiempo.

Son liposolubles y poco solubles en agua, pero son arrastrables por el vapor de agua generalmente para la extracción de aceites esenciales. Químicamente son sustancias terpénicas (monoterpenos y sesquiterpenos) y derivados aromáticos fenilpropánicos<sup>(18,19)</sup>.

“Se debe tener en cuenta que algunos aceites esenciales, sobre todo a dosis elevadas, son tóxicos, principalmente a nivel del sistema nervioso central. Otros, como el de ruda o enebro, se considera que poseen propiedades abortivas. Algunos también pueden ocasionar problemas tópicos, irritación o alergias. Además de sus propiedades terapéuticas, los aceites esenciales tienen un gran interés en la industria farmacéutica, en alimentación y sobre todo en perfumería”<sup>(20,21)</sup>.

### 2.2.2 Química de los aceites esenciales

El valor medicinal de las plantas curativas, se debe a la presencia de una sustancia química (principio activo) que produce un efecto fisiológico. Muchos de los principios activos son sumamente complejos, desconociéndose su naturaleza química. Por lo general pertenecen a una de estas categorías: **Aceites esenciales**, alcaloides, glúcidos, taninos, sapogeninas, fenoles, quinonas, terpenos, carotenoides, cumarinas, flavonoides, resinas<sup>(22, 23)</sup>.

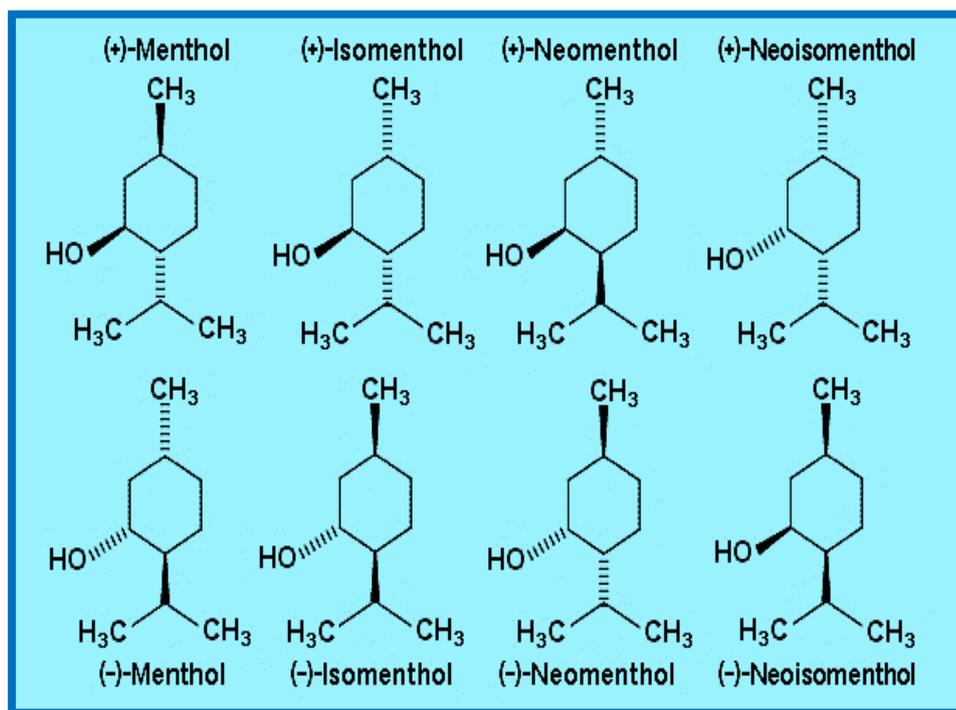
La mayoría de los aceites esenciales están constituidos por muchas clases de compuestos químicos, algunos por un solo componente en un

alto porcentaje y otros por mezclas complejas de compuestos cíclicos aromáticos, acíclicos, heterocíclicos y derivados oxigenados<sup>(22, 23)</sup>.

Los constituyentes principales de los aceites esenciales son<sup>(21,28)</sup>.

1. **Hidrocarburos:** Mirceno, cinemo, pineno, canfeno, felandreno, bineno, limoneno, cariofileno, geranioleno, santaleno.
2. **Alcoholes:** Isoamílico, geraniol, linalol, citronelol, nerodinol, farsenol, terpinol, mentol, borneol, bencílico, fenil-etílico.
3. **Fenoles:** Timol, carbacrol, eugenol, vainillina.
4. **Aldehídos:** Citral, citronelal, anisaldehído, benzaldehído, cinamadehído.
5. **Cetonas:** Alcanfor, carvona, mentona, piperitona, acetato fenona
6. **Éteres:** Anetol, metilchavicol, eucaliptol, ascarodol.
7. **Ésteres:** Salicilato de amilo, benzoato de metilo, acetato de terpinilo, acetato de geranilo.

Los metabolitos secundarios volátiles que componen los aceites esenciales se pueden clasificar en base a los grupos funcionales que contienen sus moléculas, como se muestra en la figura 1 y tabla 1.



**Figura 1.** Principales estructuras moleculares de aceites esenciales<sup>(24)</sup>.

**Tabla 1.** Grupos funcionales en la química de los aceites esenciales <sup>(25)</sup>.

COMPUESTO	GRUPO FUNCIONAL	EJEMPLO	PROPIEDADES
<b>Alcohol</b>	$\begin{array}{c}   \\ -C-OH \\   \end{array}$	Mentol, geraniol	Antimicrobiano, antiséptico, tonificante, espasmolítico.
<b>Aldehído</b>	$\begin{array}{c} O \\    \\ R-C-H \end{array}$	Citral, citronelal	Espasmolítico, sedante, antiviral.
<b>Cetona</b>	$\begin{array}{c} O \\    \\ R^1-C-R^2 \end{array}$	Alcanfor, tuyona	Mucolítico, regenerador celular, neurotóxico.
<b>Ester</b>	$\begin{array}{c} O \\    \\ R^1-C-O-R^2 \end{array}$	Metil salicilato	Espasmolítico, sedativo, antifúngico.
<b>Éteres</b>	$-C-O-C-$	Cineol, asacaridol	Expectorante, estimulante.
<b>Éter fenólico</b>	Anillo - O - C	Safrol, anetol, miristicina	Diurético, carminativo, estomacal, expectorante.
<b>Fenol</b>		Timol, eugenol, carvacrol	Antimicrobiano irritante, estimulante inmunológico.
<b>Hidrocarburo</b>	Sólo contiene C y H	Pineno, limoneno	Estimulante descongestionante antivírico, antitumoral.

### 2.2.3 Taxonomía de *Origanum vulgare* L.

Dicha especie ha sido clasificada en la siguiente categoría taxonómica, **(Anexo 1)**.

<b>División</b>	: Magnoliophyta
<b>Clase</b>	: Magnoliopsida
<b>Sub clase</b>	: Asteridae
<b>Orden</b>	: Lamiales
<b>Familia</b>	: Lamiaceae
<b>Género</b>	: <i>Origanum</i>
<b>Especie</b>	: <i>Origanum vulgare</i> L.
<b>Nombre vulgar</b>	: “Orégano Peruano”.

#### 2.2.3.1 Descripción botánica

Planta herbácea muy empleada en la medicina popular y como saborizante, debido a su aroma. Crece en los campos de cultivo. En el Perú se cultiva en Tacna, Arequipa y Moquegua. Planta de especie para exportación, tiene actividad frente a plagas y protozoos, frente a bacterias depende de sus componentes químicos, principalmente los aceites esenciales<sup>(26)</sup>.

Hierba estolonífera, perenne, de 20-22 cm de alto, de hojas opuestas, pecioladas, limbo oblongo aovado, obtuso en el ápice, crenado, de 4 -6 cm de largo y 2-3 cm de ancho, haz sub-glabro verde oscuro, rugoso, envés blanquecino marcadamente reticulado con pelos estrellados. Inflorescencia en glomérulos foliosos en grupos de 3 a 6 flores, blancas hermafroditas, de 10 mm de altura; corola bilabiada de 7 mm de alto, labio superior casi plano trilobulado; labio inferior entero de mayor tamaño; aromática, crece todo el año<sup>(27)</sup>.

### **2.2.3.2 Distribución geográfica**

El género *Origanum vulgare* L. "Orégano peruano" es una planta cultivada en suelos fértiles, arcillosos y pedregosos en Moquegua, Tacna y Arequipa, es una planta cosmopolita crece por todo el mundo bajo cultivo a escala industrial<sup>(28,29)</sup>.

### **2.2.3.3 Biodiversidad del género *Origanum***

Existen diferentes especies del género *Origanum*, de más de 144 biotipos. Es usado contra los cólicos menstruales, digestivo, carminativo, infecciones de la vía respiratoria. Además, contra la fiebre tifoidea, reumatismo, afecciones hepáticas y malaria.

### **2.2.4 Antecedentes etnobotánicos, etnofarmacológicos y farmacológicos**

Con fines medicinales se utilizan principalmente las hojas del orégano, que son ovaladas, pecioladas y están recubiertas por pelillos. Podemos utilizar el orégano de forma interna preparándolo en infusión y tintura y de forma externa aplicando localmente la infusión, el aceite esencial de orégano diluido en un aceite base para masajes.

Según informaciones etnobotánicas y etnofarmacológicas las hojas presentan propiedades medicinales, son usadas como tónicas, coleréticas, antisudorales, antiespasmódicos hipoglucemiantes, emenagogas, astringentes, antioxidantes. En uso interno, en forma de infusión, extracto fluido y tintura para combatir los sudores nocturnos, asma, catarro, etc. El aceite esencial en preparados farmacéuticos utilizados en perfumería, jabonería y cosmética también tiene propiedades derivadas de la tujona, como germicida y cicatrizante<sup>(30-32)</sup>.

Para aliviar los síntomas de la gripe, preparar una infusión con hojas de orégano, agrega agua caliente a una taza luego agregamos una cucharada de hojas secas de orégano, tapa y deja reposar 3 minutos después colamos y bebemos poco a poco cuando se temple.

En general, el orégano es una planta medicinal muy beneficiosa para afecciones del aparato respiratorio debido a su efecto antiinflamatorio, analgésico y antiséptico.

Preparar el aceite esencial de orégano luego se combina con el aceite esencial de romero en aceite base (de almendras dulces, argán, coco, oliva) y masajea las zonas que tengan enfermedades como artritis, reuma, dolores musculares, lumbago, ciática, traumatismos (sin heridas abiertas), luxaciones, etc.

El orégano es una planta que estimula la circulación de la sangre tanto utilizado de forma externa como interna. Si tienes problemas de gases y flatulencias, además de que el orégano contribuirá a prevenirlo, te ayuda a eliminarlos y aliviar sus molestias. Tomar en infusión después de las comidas. Podemos utilizar la infusión de orégano de forma externa para limpiar heridas, llagas, picaduras de insectos, etc.

Alivia los casos de tos realizando gárgaras con la infusión tibia de orégano. También puedes combinar el orégano con tomillo.

El orégano también ayuda en patologías de retención de líquidos tomando como infusión. El orégano podría estimular la producción de estrógenos, hormonas femeninas que se reducen durante la menopausia.

Para los casos de fiebre, podemos reducirla con la ayuda de una infusión de orégano. Se debe tomar a temperatura ambiente. También se puede agregar a un paño limpio, agregar vinagre de manzana y aplicar el paño sobre la cabeza.

Si presenta dolores menstruales o el síndrome premenstrual, el orégano tiene una acción farmacológica muy eficaz. Puedes masajear la zona abdominal con el aceite de orégano y/o tomar infusión de orégano.

Debido a su acción antioxidante, el orégano es una forma natural de mejorar nuestras defensas y el funcionamiento de nuestro sistema inmunológico. El orégano puede contribuir a reducir los niveles de glucosa o azúcar en sangre en personas con diabetes <sup>(28-29)</sup>.

Realizando buches o enjuagues con la infusión de orégano podemos cuidar de la salud de nuestra boca de forma natural.

#### **2.2.5 Composición química del aceite esencial de *Origanum vulgare* L.**

Los estudios de la composición química del aceite esencial son los reportados por cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas <sup>(28)</sup>.

**Tabla 2.** Composición química del aceite esencial de *Origanum vulgare* L. “Oregano peruano “<sup>(28)</sup>.

NOMBRE DEL COMPUESTO	T <sub>R</sub> (min)	Porcentaje en la muestra (%)
$\gamma$ -terpineno	8,31	9,67
3,7-dimethyl-, 2-aminobenzoate	9,41	2,37
$\beta$ -mirceno	10,97	1,42
$\beta$ -pineno	10,07	1,08
$\alpha$ -felandreno	11,21	0,59
2-careno	11,08	5,53
m-Cimeno	12,17	3,57
D-limoneno	12,26	2,85
Cis- $\beta$ -ocimeno	13,31	0,55
$\alpha$ -terpinoleno	13,37	3,29
$\beta$ -linalool	14,62	4,25
Cis- $\beta$ -terpineol	15,17	1,72
L-4-terpineol	17,25	18,22
$\alpha$ -terpineol	18,37	5,18
Timol-metil éter	18,33	2,99
Timol	21,08	17,56
Carvacrol	21,51	10,12
Elixeno	23,27	0,36
Acetato de nerol	25,55	0,42
Acetano de geraniol	25,62	0,71
$\beta$ -cariofileno	26,66	2,25
$\alpha$ -cariofileno	26,58	1,22
(-)-spatuleno	28,71	0,17

### **2.2.6 Actividad antimicrobiana de los aceites esenciales**

Desde hace más de tres décadas se ha descrito a los antimicrobianos de origen natural, como agentes de gran capacidad biodegradable, con efectos secundarios mínimos, en comparación a los antimicrobianos comúnmente comercializados, así, por ejemplo, se ha comprobado la aplicación aceite esencial de árbol de té constituye una alternativa eficaz para el control en postcosecha de *Penicillium italicum* en naranjas. También, el aceite esencial de jengibre puede ejercer una acción antimicrobiana sobre el *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus faecalis*.

Y el aceite esencial de la “hierba de limón” (*Cymbopogon citratus*) mostró una notable actividad antifúngica frente a *Trichophyton rubrum*. Para la evaluación de las propiedades antimicrobianas de los aceites esenciales se aplican los métodos convencionales de ensayo para antibióticos. Existen dos técnicas básicas usadas, el método de difusión en agar y el método de diluciones.

Actualmente se sabe que los aceites esenciales derivados de las plantas y especias tienen efectos antimicrobianos. Se ha identificado que estos efectos están relacionados con los componentes químicos presentes, la mayoría de los estudios han encontrado que los AE son efectivos contra numerosas bacterias patógenas Gram (+) y Gram (-), mohos, levaduras, siendo los monoterpenos, sesquiterpenos y diterpenos los posibles responsables de las propiedades aromáticas, antioxidantes y antimicrobianas de los AE<sup>(29)</sup>.

### **2.2.7 Mecanismo de acción de los aceites esenciales**

El modo de acción de los AE también dependerá del tipo de microorganismos y está principalmente relacionado con la estructura de la pared celular y la membrana externa de los mismos.

La acción de los AE sobre los dermatofitos es destruir la pared celular y la membrana citoplasmática; lo cual resulta ser un rompimiento del citoplasma y su coagulación<sup>(34)</sup>.

Respecto a los estudios farmacológicos de la especie *Origanum* se reportó actividad antibacteriana contra microorganismos gram positivos (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus faecalis* y *Streptococcus beta-hemoliticus*) y gram negativos (*Shigella flexneri*, *Salmonella enteritidis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*) y actividad antifúngica contra *Candida albicans* y *Trichophyton mentagrophytes*<sup>(34)</sup>.

### **2.2.8 Metabolitos secundarios y rutas metabólicas**

A las rutas metabólicas se les consideran como un conjunto de reacciones bioquímicas, producto del metabolismo o las biotransformaciones enzimáticas de gran importancia para biosintetizar a los metabolitos secundarios.

El ácido shikimico es precursor de diversos intermediarios aromáticos. La formación de ácido shikimico ocurre a partir de 3 y 4 átomos de carbono como son el ácido fosfoenolpiruvico (PEP) y la eritrosa-4-fosfato (E4P) por una condensación del tipo aldólica, así produciendo un compuesto C7 a través de una serie de etapas. Es responsable de la biosíntesis de la mayoría de los compuestos fenólicos de plantas y utiliza como sustratos a la eritrosa-4-fosfato y el ácido fosfoenolpiruvico. Uno de los productos de esta vía es la fenilalanina. La enzima fenilalanina amonio liasa (PAL) cataliza la formación de ácido cinámico por eliminación de una molécula de amonio de la fenilalanina. Esta enzima está situada en un punto de ramificación entre el metabolismo primario y secundario por lo que la reacción que cataliza es una importante etapa reguladora en la formación de muchos compuestos fenólicos<sup>(24)</sup>.

La biosíntesis de metabolitos secundarios suele estar restringida a estados específicos del desarrollo y a períodos de estrés de cada especie vegetal. Algunas células vegetales producen metabolitos secundarios importantes en las interacciones de la planta con el medio ambiente (protección frente a depredadores, patógenos o estrés ambiental) o que están relacionadas con la maquinaria reproductiva de la planta.

Muchos de estos productos secundarios tienen uso en la industria farmacéutica y en la producción de tests de diagnóstico, de fragancias, de aditivos alimentarios y de biocidas en general. Lo anteriormente mencionado explica el interés de la industria en la producción de compuestos naturales cuya calidad y costos no sea afectada por condiciones climáticas, sanitarias o políticas de la región de producción. Es en este contexto que los cultivos de células y tejidos vegetales constituyen una alternativa para producir sustancias cuya producción comercial por los métodos convencionales resulta difícil, escasa o económicamente poco viable.

#### **2.2.8.1 Tipos de Metabolitos Secundarios**

##### **Los más abundantes son:**

Terpenos: Los terpenos o terpenoides, constituyen el grupo más numeroso de metabolitos secundarios (más de 40 mil moléculas diferentes). La ruta biosintética de estos compuestos da lugar tanto a metabolitos primarios como secundarios de gran importancia para el crecimiento y supervivencia de las plantas. Entre los metabolitos primarios se encuentran aceites esenciales (monoterpenos y sesquiterpenos), hormonas (giberelinas, ácido abscísico y citoquininas), carotenoides, clorofilas y plastoquinonas (fotosíntesis), ubiquinonas (respiración) y esteroides (de gran importancia en la estructura de membranas). Suelen ser insolubles en agua y derivan todos ellos de la unión de unidades de isopreno (5 átomos de C). De esta forma, Los terpenos se clasifican por el número de unidades de isopreno (C5) que contienen: los terpenos de 10 C contienen dos unidades C5 y se llaman monoterpenos; los de 15 C tienen tres unidades de isopreno y se denominan sesquiterpenos, y los de 20 C tienen cuatro unidades C5 y son los diterpenos. Los triterpenos tienen 30 C, los tetraterpenos tienen 40 C y se habla de politerpenos cuando contienen más de 8 unidades de isopreno.

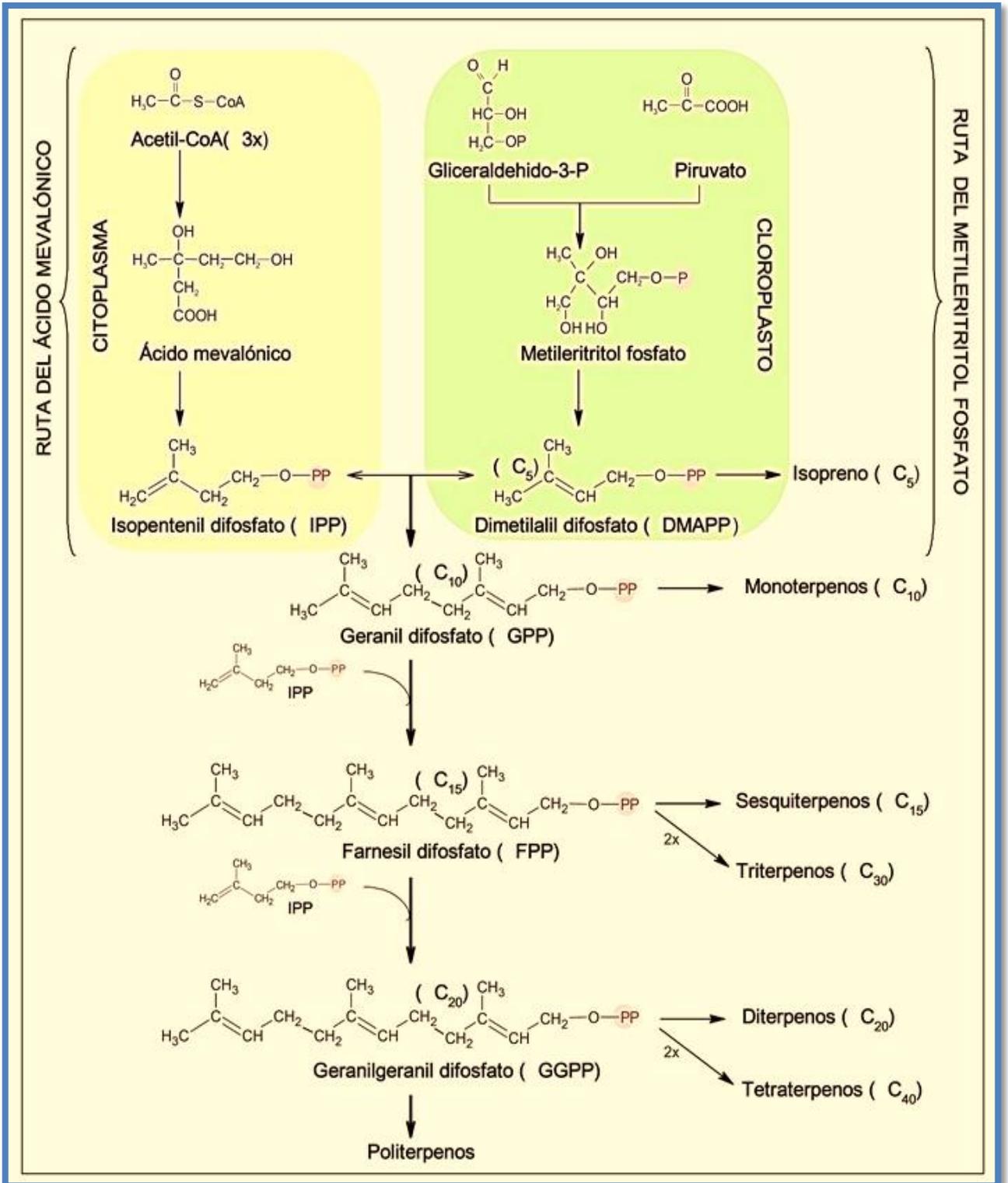


Figura 2. Ruta metabólica de los terpenos y aceites esenciales<sup>(30)</sup>.

**Compuestos fenólicos:** En el contexto del metabolismo, los aminoácidos aromáticos se pueden dirigir tanto al metabolismo primario como al metabolismo secundario. Las plantas sintetizan una gran variedad de productos secundarios que contienen un grupo fenol. Estas sustancias reciben el nombre de compuestos fenólicos, polifenoles o fenilpropanoides y derivan todas ellas del fenol, un anillo aromático con un grupo hidroxilo<sup>(26)</sup>.

Desde el punto de vista de la estructura química, son un grupo muy diverso que comprende desde moléculas sencillas como los ácidos fenólicos hasta polímeros complejos como los taninos y la lignina. En el grupo también se encuentran pigmentos flavonoides muchos de estos productos están implicados en las interacciones planta-herbívoro.

La ruta del ácido malónico es una fuente importante de fenoles en hongos y bacterias, pero es poco empleada en plantas superiores.

La ruta del ácido shikímico es responsable de la biosíntesis de la mayoría de los compuestos fenólicos de plantas. A partir de eritrosa-4-P y de ácido fosfoenolpirúvico se inicia una secuencia de reacciones que conduce a la síntesis de ácido shikímico y, derivados de éste, aminoácidos aromáticos (fenilalanina, triptófano y tirosina). La mayoría de los compuestos fenólicos derivan de la fenilalanina. Esta ruta está presente en plantas, hongos y bacterias, pero no en animales. La fenilalanina y el triptófano se encuentran entre los aminoácidos esenciales para los animales que se incorporan en la dieta. La tirosina no es esencial en el sentido de que los animales pueden sintetizarla por hidroxilación.

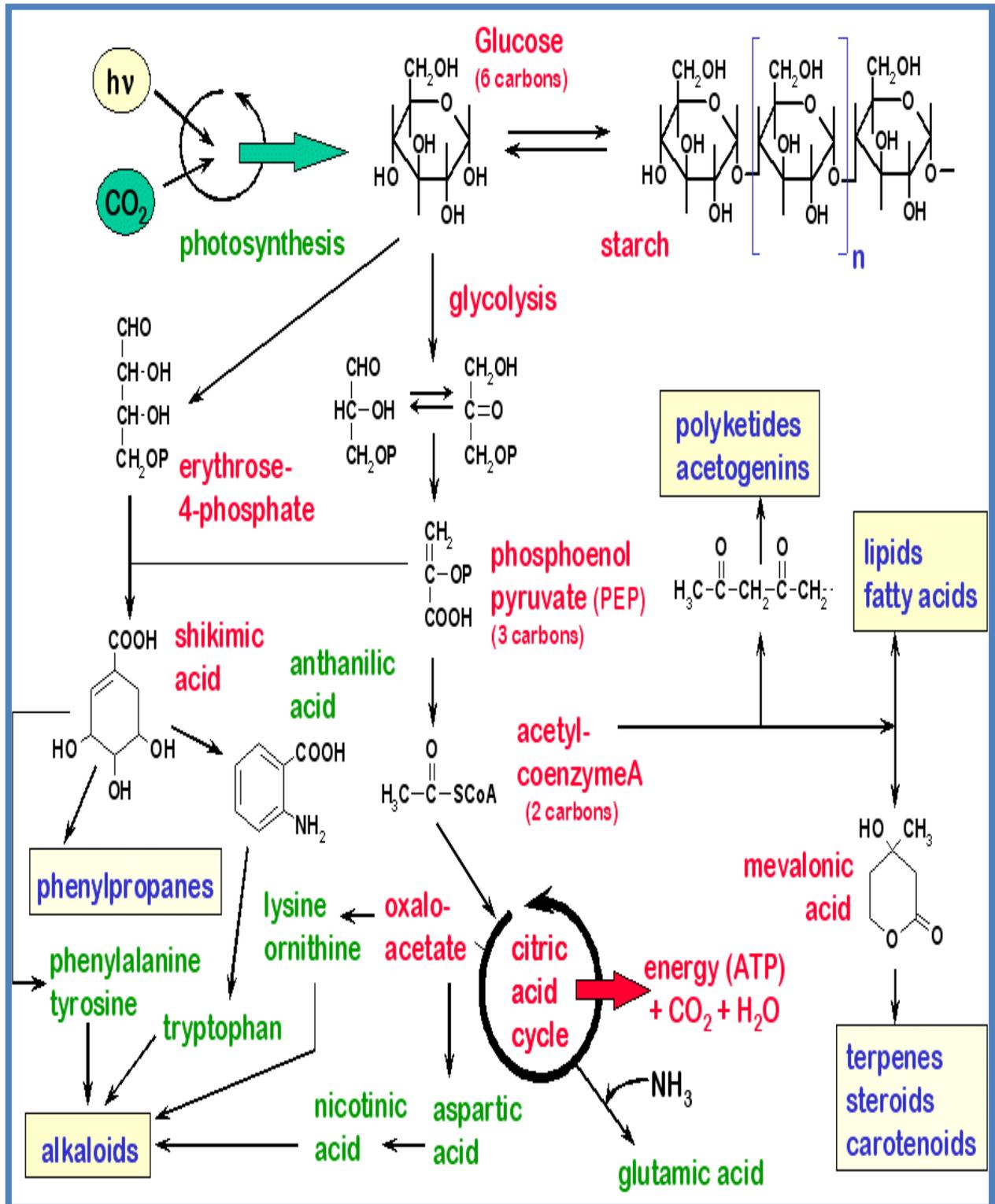


Figura 3. Rutas metabólicas de los metabolitos secundarios <sup>(30)</sup>.

## 2.2.9. Microorganismo en estudio

### 2.2.9.1 *Staphylococcus aureus* ATCC 6538

Es un coco Gram positivo, aerobio o anaerobio, inmóvil, no esporulante con actividad catalasa y coagulasa, que generalmente se dispone en racimos irregulares semejantes a los de uvas, crecen con rapidez sobre muchos tipos de medios, metabólicamente activos, fermentan carbohidratos y producen pigmentos que varían desde el color blanco hasta el amarillo intenso. Son células esféricas de casi 1µm de diámetro en grupos irregulares, están desprovistos de motilidad y no forman esporas<sup>(31)</sup>.

El género *Staphylococcus* contiene al menos quince especies, las tres de importancia clínica son *Staphylococcus aureus*, las especies *Staphylococcus epidermidis* y *Staphylococcus saprophyticus* también se asocian con enfermedades humanas. Algunos son miembros de la flora normal de la piel y mucosas en los seres humanos, infecciones piógenas e incluso septicemia mortal. Casi toda persona presenta algún tipo de infección de *Staphylococcus aureus* durante su vida, que varía en gravedad desde intoxicación alimentaria o infecciones cutáneas menores hasta infecciones graves potencialmente mortales. Los *Staphylococcus* coagulasa negativos son normales en la flora humana y a veces causan infección en el aparato digestivo ya que los alimentos contienen toxinas produciendo intoxicación alimentaria en pocas horas. Estos patógenos casi siempre causan hemólisis coagulación del plasma y producen varias enzimas y toxinas extracelulares<sup>(31)</sup>.

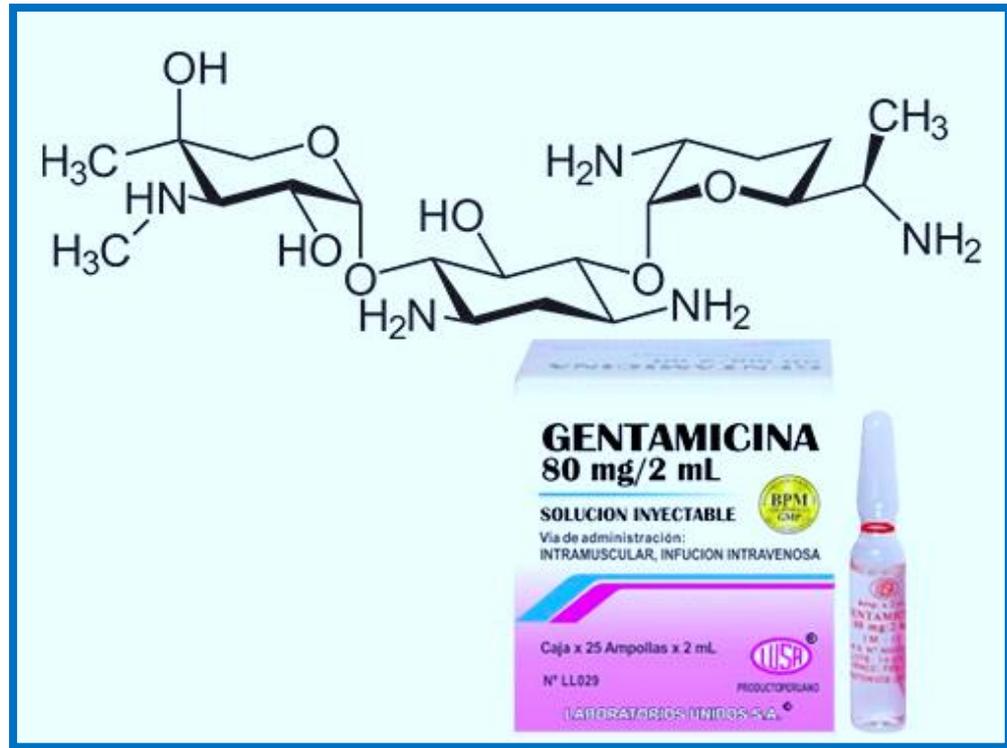
Los hospitales invierten esfuerzos considerables en la prevención Incluso con buenas prácticas de control de la infección, la transmisión continúa. Los trabajadores sanitarios colonizados han sido implicados como fuentes de transmisión en los brotes, pero el uso de los servicios de salud el cribado de los trabajadores y la erradicación de *Staphylococcus aureus* como medidas de control de rutina es controvertido<sup>(31)</sup>.



**Figura 4.** Microfotografía morfológica del *Staphylococcus aureus* ATCC 6538<sup>(31)</sup>.

### 2.2.9.2. Gentamicina

Este antibiótico es frecuentemente empleado por los profesionales de la salud en el tratamiento de infecciones, por ser económico y de amplio espectro, motivo por el cual tiene mucha aceptación por parte de la población <sup>(33)</sup>.



**Figura 5.** Estructura molecular del aminoglucósido **gentamicina**<sup>(33)</sup>.

El mecanismo de acción del aminoglucósido es inhibir la síntesis de la pared celular. El peptidoglucano es el mucopéptido esencial en la composición de la pared celular, cuya síntesis es impedida por el antibiótico por inhibición de los sistemas enzimáticos correspondientes, la droga se fija en la pared celular y cuando se produce la división de la bacteria, aparecen defectos en dicha pared, el microorganismo se hace osmóticamente sensibles, penetra líquido en su interior, estalla y se lisa <sup>(33)</sup>.

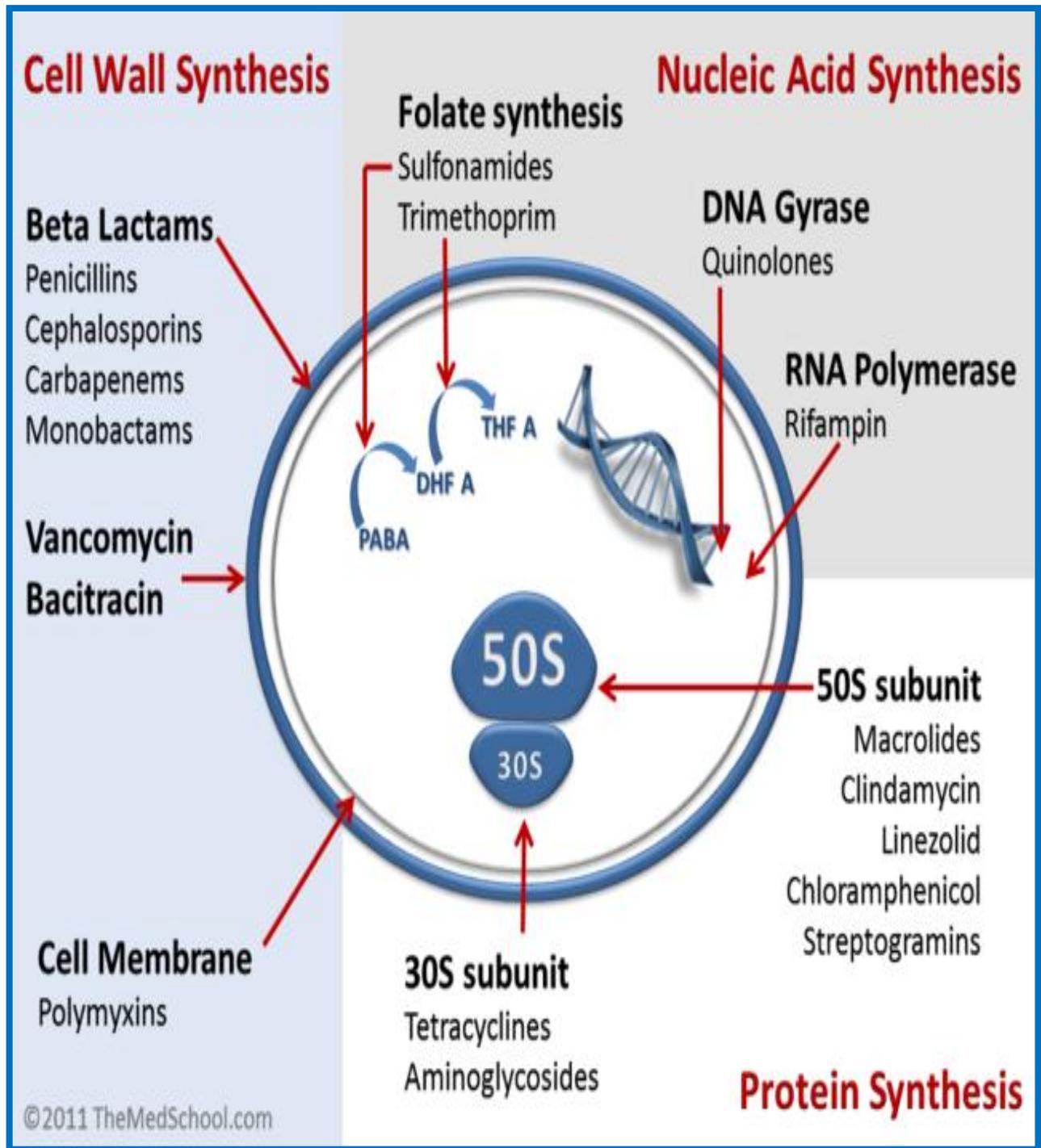


Figura 6. Mecanismo de acción de los antibióticos y antimicrobianos<sup>(34)</sup>.

### 2.2.9.3. Mecanismo de resistencia a los antibióticos

Los antibióticos son medicamentos que combaten las infecciones bacterianas usados correctamente, pueden salvar vidas pero hay un creciente problema de resistencia a antibióticos. Esto ocurre cuando las bacterias mutan (se transforman) y se vuelven capaces de resistir los efectos de un antibiótico. El uso de antibióticos puede llevar a la resistencia cada vez que toma antibióticos, las bacterias sensibles mueren, pero gérmenes resistentes pueden crecer y multiplicarse, se pueden propagar a otras personas también pueden causar infecciones que ciertos antibióticos no pueden curar. Un ejemplo es el *Staphylococcus aureus* resistente a las penicilinas y betalactámicos excepto Ceftarolina<sup>(35)</sup>.

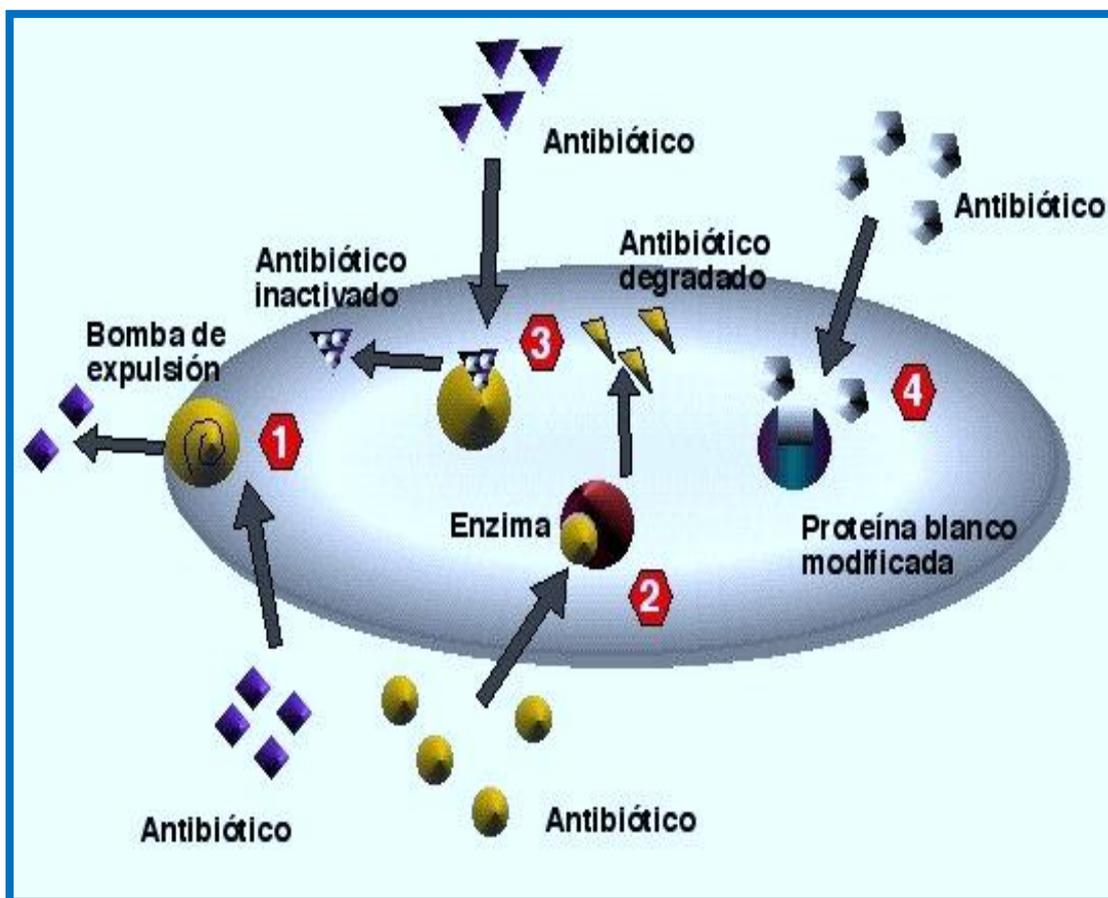


Figura 7. Mecanismo de resistencia a los antibióticos<sup>(35)</sup>.

### III. PARTE EXPERIMENTAL

#### 3.1 Diseño de investigación

El presente trabajo de investigación se realizó con el objetivo de Comprobar la actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Origanum vulgare* L. “Orégano peruano” frente a *Staphylococcus aureus* , utilizando el método de difusión en disco (Kirby-Bauer), representada por halos de inhibición que tuvo el aceite esencial, a las diferentes concentraciones de la especie en estudio.

##### 3.1.1 Tipo de estudio

El presente trabajo de investigación pertenece a un tipo de estudio experimental, analítico, observacional y transversal.

1. **Experimental:** Es experimental ya que se manipula diferentes variables en estudio para delimitar relaciones entre ellas (aceite esencial de los órganos aéreos y microorganismos) los mismos que serán medidos en determinados momentos.
2. **Analítico:** Se estableció relaciones entre la variable dependiente e independiente con la finalidad de obtener diversas conclusiones.
3. **Observacional:** Ya que es observable, medible, generalmente con la muestra a investigar analizando o experimentando la variable de estudio.
4. **Transversal:** Pertenece a un estudio que se realizaron los análisis de las pruebas t de los halos observados en diferentes concentraciones de la especie vegetal aceite esencial *Origanum vulgare* L. “Oregano peruano”.

## **3.2 Población**

### **3.2.1 Población vegetal**

Estuvo integrado por la especie vegetal de *Origanum vulgare* L. “Orégano peruano” se recolectará en el distrito de Quinua, Huamanga - Ayacucho.

### **3.2.2 Muestra vegetal**

10 kilos de hojas frescas de *Origanum vulgare* L. “Orégano peruano” se recolecto en el distrito de Quinua.

### **3.2.3 Criterios de inclusión**

Plantas sanas, en buen estado de conservación y libre de contaminantes.

### **3.2.4 Criterios de exclusión**

Plantas infestadas por microorganismos, secas o en mal estado de conservación, con restos de excremento o cualquier agente que pueda alterar su naturaleza orgánica.

### **3.2.5 Población bacteriana**

Cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

## **3.3 Método**

### **3.3.1 Colecta de materia vegetal**

Las hojas de *Origanum vulgare* L. “Orégano peruano” se recolecto en el distrito de Quinua, a una altitud de 3200 m.s.n.m provincia de Huamanga, región Ayacucho, cuyo clima es relativamente templado que fluctúa entre los 16 y 23 °C.

### 3.3.2 Procesamiento de la muestra

Las hojas fueron sometidas a un proceso de secado bajo sombra a 21 °C y 0,72 atm. Por un periodo aproximado de siete días, para luego obtener una muestra que presente las condiciones necesarias para su triturado al frotar con las manos, luego se guardó en bolsas de papel, hasta su utilización <sup>(23)</sup>.

### 3.3.3 Extracción del aceite esencial

A partir de 6 kg de hojas secas se sometieron a un proceso de extracción, que se realizó mediante el método de arrastre con vapor de agua. Una vez destilado se separó por diferencia de densidades entre el agua y el aceite esencial, se trató con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (sulfato de sodio anhidro) para separar las impurezas que pudieran estar presentes en el medio, luego se filtró y por último se guardó en un frasco de vidrio de color ámbar bajo refrigeración (4 °C) <sup>(23)</sup>.

### 3.3.4 Rendimiento del aceite esencial (%RAE)

La determinación del porcentaje de rendimiento de aceite esencial (%RAE), se realizó por el método de arrastre por vapor de agua en un equipo de destilación de vidrio. A partir de 100 g de hojas de *Origanum vulgare* L. se obtuvo un determinado volumen que fue medido con una probeta florentino. Por el método gravimetría-volumétrico se determinó el % RAE, aplicando la siguiente fórmula <sup>(23)</sup>.

$$\% \text{ RAE} = \text{Vol. AE (mL)} / \text{Pmuestra (g)} \times 100$$

**Dónde:**

Vol. AE : Volumen del aceite esencial obtenido en mililitros.

Pmuestra : Peso de la muestra a destilar en gramos.

### **3.3.5 Caracterización de parámetros fisicoquímicos del aceite esencial**

Se caracterizó los parámetros fisicoquímicos y organolépticos del aceite esencial de *Origanum vulgare* L. “Orégano peruano”, se usó la técnica de cromatografía de gases –Espectrometría de masas (GC-SM).

#### **3.3.5.1 Cromatografía de gases –espectrometría de masas (GC-SM).**

Esta técnica está indicada para la separación de compuestos orgánicos volátiles y semivolátiles esta combinación permite analizar y cuantificar compuestos de mezclas complejas con un alto grado de efectividad, para determinar los metabolitos secundarios del *Origanum vulgare* L. “Orégano peruano” se realizó en la universidad nacional Agraria la Molina en el laboratorio química y biología molecular.

Modelo: Clarus 680

Marca: Perkin Elmer.

Agilent: 6890N

Network GC System

Detector de Masas (cuadrupolo)

Agilent 5973 MSD Columna disponible DB5-MS (30mx0.25mmx0.25µm)

Inyector: split/splitless Purga y Trampa (Teledyne Tekmar)

### **3.3.6 Evaluación de la actividad antimicrobiana del aceite esencial**

#### **Metodo Kirby-Bauer.**

La técnica de eficacia antimicrobiana se realizó mediante el método de difusión en disco (Kirby-Bauer) el cual define la actividad *in vitro* de un antibiótico frente a un microorganismo determinado y refleja su capacidad para inhibir el crecimiento de una bacteria o población bacteriana. Este método ha sido adaptado para evaluar la eficacia de una muestra con propiedades antimicrobianas frente a determinados microorganismos<sup>(44,46)</sup>.

### 3.3.6.1 Preparación del Agar Mueller Hinton

El agar Mueller - Hinton se preparó de acuerdo a las instrucciones del fabricante con agua destilada. Se autoclavó el agar a 121°C y 15 Lb/pg<sup>2</sup> durante 15 minutos. Inmediatamente después de autoclavar se dejó enfriar en baño María a 45 - 50°C. Una vez temperado se vertió el preparado fresco y tibio a placas Petri de vidrio estéril, para dar un fondo uniforme de aproximadamente 4 mm, ello corresponde a 25- 30 mL para placas de 100 mm de diámetro. El medio de agar se dejó que enfríe a temperatura ambiente. El pH de cada lote de agar Mueller - Hinton tuvo un pH entre 7,2 y 7,4 <sup>(44,46)</sup>.

### 3.3.6.2 Preparación de los inóculos bacterianos

*Staphylococcus aureus* ATCC 6538. Se tomó una cierta cantidad de colonias y se diluyó en un tubo de ensayo conteniendo 10 mL de suero fisiológico de tal manera que la solución resultante tenga una turbidez similar al tubo de ensayo N° 1 de la escala de MacFarland el cual corresponde a una concentración de  $3 \times 10^8$  UFC/mL.

A partir de esta última solución se realizó una dilución de 1 en 3, para ello de esta solución preparada se tomó 3 mL y se diluyó a un volumen total de 9 mL con suero fisiológico en un tubo con tapa rosca, todos los materiales usados fueron estériles, así como también el área de trabajo. La solución resultante tuvo una concentración de  $1 \times 10^8$  UFC/mL.

Bajo las mismas condiciones se realizó una dilución de 1 en 100 añadiendo 0,1 mL de la solución anterior a un tubo con 9,9 mL de suero fisiológico, la solución resultante tuvo una concentración de  $1 \times 10^6$  UFC/mL <sup>(44,46)</sup>.

### **3.3.6.3 Inoculación de las placas**

Se introdujo el hisopo estéril en el inóculo bacteriano preparado ( $1 \times 10^6$  UFC/mL) y embebió completamente. Antes de retirarlo se escurrió sobre las paredes del tubo para retirar el exceso de líquido del mismo. Se sembró la placa de agar Mueller-Hinton con el hisopo de tal manera que se obtuvo un crecimiento aceptable, para lo cual se estruyó con el hisopo en forma paralela y bien compacta abarcando toda la superficie de la misma. Luego se repitió el procedimiento rotando la placa  $60^\circ\text{C}$  en dos oportunidades más. Los cuidados se extremaron en sembrar las placas de borde a borde, porque de lo contrario se pudo generar problemas en la realización de las lecturas. Se dejó secar de 3 a 5 minutos antes de colocar los discos <sup>(44,46)</sup>.

### **3.3.6.4 Preparación de los discos de antibióticos**

Los discos de antibióticos fueron discos comerciales de la marca OXOID, Gentamicina  $10\mu\text{g}$ .

### **3.3.6.5 Aplicación de los discos a las placas inoculadas**

Estos se colocaron con pinza estéril. Luego de estar sobre el agar se presionó los discos levemente para que queden adheridos al mismo. Estuvieron a más de 15 mm del borde de la placa y se distribuyeron de tal manera que no hubo superposición de los halos de inhibición. Los discos de antibióticos gentamicina (marca OXOID) fueron colocados de la siguiente manera:

1. Dos discos del mismo antibiótico en cada placa inoculada con el microorganismo de tal manera que se obtuvieron resultados por duplicado, por lo tanto, las placas con discos de antibióticos fueron 4 placas con dos discos en cada uno.
2. Luego de colocar los discos las placas se incubaron de forma invertida a  $35\text{-}37^\circ\text{C}$  durante 18-24 hs.

3. Los discos con la muestra del aceite esencial de *Origanum vulgare* L. "Orégano peruano" a cuatro concentraciones (25, 50, 75 y 100  $\mu\text{L}/\text{mL}$ ) fueron colocados de manera similar solo que en este caso se hizo por triplicado, tres discos por cada placa, estos también se incubaron a 35-37°C durante 18-24 hs.

### **3.4 Técnicas, instrumentos, recolección y procesamiento de datos**

**3.4.1 Técnicas:** Lectura de los halos de inhibición y medición con Vernier (marca DONGRUN).

**3.4.2 Instrumentos:** Con vernier (marca DONGRUN).

**3.4.3 Recolección:** En tablas y figuras.

**3.4.4 Procesamiento de datos:**

Después de 18 a 24 horas de incubación, cada placa se examinó. Las zonas de inhibición resultantes fueron uniformemente circulares en una capa homogénea de crecimiento. Los diámetros de la zona de inhibición completa fueron medidos en milímetros pasando por el centro del disco. Los valores de las mediciones por triplicado se promediaron y compararon con las medidas de los halos de inhibición producidos de acuerdo a los resultados

## VI. RESULTADOS

**Tabla 3.** Características fisicoquímicas del aceite esencial de *Origanum vulgare* L. “Orégano peruano”.

Características	Parámetros
Tiempo de destilación	60 minutos
Rendimiento de aceite	2,04% v/p
Densidad específica a 20°C	0,9134 g/mL
Índice de refracción	1,475
Solubilidad en alcohol	Parcialmente soluble

En la tabla 3 se puede observar las características fisicoquímicas del aceite esencial del “Orégano peruano”, que son parámetros de calidad y controles futuros que garanticen los requerimientos de la demanda como producto medicinal y de consumo como especias aromáticas.

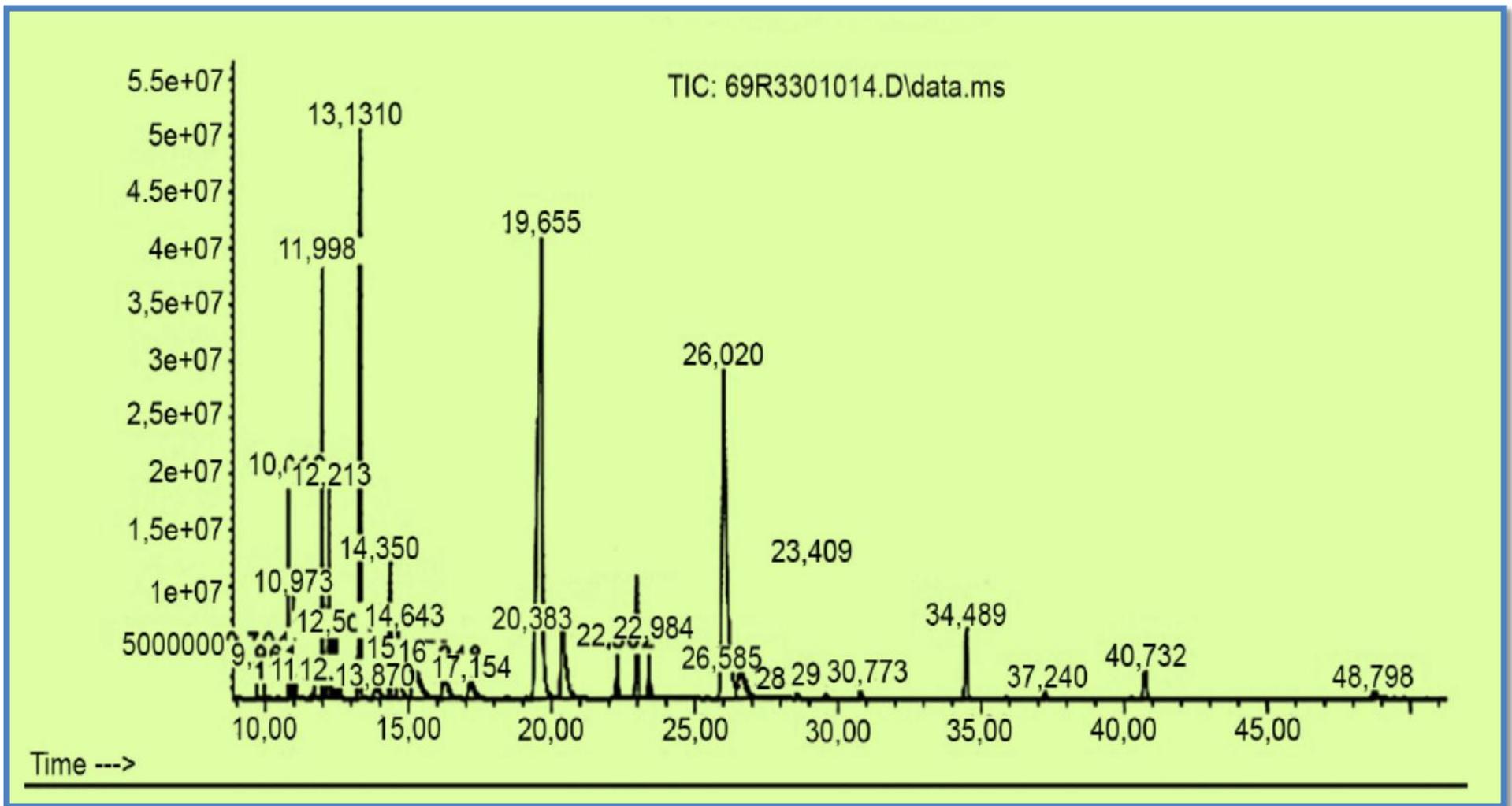
**Tabla 4.** Características organolépticas del aceite esencial de *Origanum vulgare* L. “Orégano peruano”.

Características	Parámetros
<b>Color</b>	Amarillento translúcido
<b>Olor</b>	Fuerte penetrante, a la planta, olor sui generis
<b>Sabor</b>	Picante, astringente, que recuerda a la planta de origen
<b>Estado</b>	Líquido
<b>Volatilidad</b>	Muy volátil

En la tabla 4 observamos características organolépticas del aceite esencial del “Orégano peruano”, siendo la que más destaca su olor muy fuerte penetrante, que recuerda a la planta, tiene olor propio sui generis (olor a orégano).

**Tabla 5.** Composición química del aceite esencial de *Origanum vulgare* L. “Orégano peruano” por cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas (GC-SM) realizado en la universidad nacional agraria la molina.

Número	Nombre del compuesto	T <sub>R</sub> (min)	Porcentaje en la muestra (áreas relativas)
1.	$\alpha$ -tujeno	9,70	0,51
2.	$\alpha$ -pineno	9,96	0,36
3.	Sabineno	10,32	2,81
4.	$\beta$ -mirceno	10,97	1,25
5.	$\beta$ -pineno	11,07	0,18
6.	$\alpha$ -felandreno	11,69	0,23
7.	carvacrol	12,00	11,99
8.	P-Cimeno	12,21	3,27
9.	D-limoneno	10,37	0,85
10.	$\beta$ -felandreno	12,39	0,91
11.	Cis- $\beta$ -ocimeno	12,40	0,19
12.	$\gamma$ -terpineno	12,41	12,21
13.	(1 $\alpha$ ,2 $\beta$ ,5 $\alpha$ ) – 2-metil-5-(1-metiletil) – biciclo (3.1.0)	13,87	0,58
14.	$\alpha$ -terpinoleno	14,35	2,26
15.	$\beta$ -linalool	14,64	2,25
16.	Cis- $\beta$ -terpineol	15,18	2,92
17.	Trans-1-metil-4-(1-metiletil) 2- ciclohexen-1-ol	16,25	1,54
18.	cis-1-metil-4-(1-metiletil) 2-ciclohexen- 1-ol	17,15	1,05
19.	L-4-terpineol	20,38	19,66
20.	$\alpha$ -terpineol	20,39	4,08
21.	Timol-metil éter	22,30	0,99
22.	(1-metiletil)-benceno) 1,6-octadien-3-ol	22,99	2,73
23.	3,7-dimethyl-, 2-aminobenzoate	23,41	1,17
24.	Timol	26,02	26,02
25.	2-careno	26,58	2,24
26.	Elixeno	28,57	0,10
27.	Acetato de nerol	29,58	0,16
28.	Acetano de geraniol	30,77	0,30
29.	$\beta$ -cariofileno	34,49	1,87
30.	$\alpha$ -cariofileno	37,24	0,19
31.	$\delta$ -elemeno	40,73	0,95
32.	(-)-spatuleno	48,71	0,20
33.	Óxido de cariofileno	48,80	0,19



**Figura 8.** Cromatograma del aceite esencial de *Origanum vulgare* L. "Orégano peruano".

En la figura 8 se observa el cromatograma del "Orégano peruano", destacando en mayor % el timol y carvacrol que son compuestos fenólicos altamente bactericidas.

**Tabla 6.** Componentes principales analizados del aceite esencial de *Origanum vulgare* L. “Orégano peruano”.

Componente	Porcentaje(%)
<b>Timol</b>	26,02
<b>L-4-Terpineol</b>	19.66
<b><math>\gamma</math>-terpineno</b>	12,21
<b>Carvacrol</b>	11,99
<b>P-cimeno</b>	3,27
<b>Óxido de cariofileno</b>	0,19

En la tabla 6 se puede observar que el timol es el componente mayoritario, seguido del L-4-Terpineol,  $\alpha$ -terpineno , carvacrol, P-cimeno y Óxido de cariofileno. Esto le da una mayor riqueza bactericida al “Orégano peruano”.

**Tabla 7.** Halos de Inhibición del aceite esencial de *Origanum vulgare* L. “Orégano peruano” a cuatro concentraciones frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

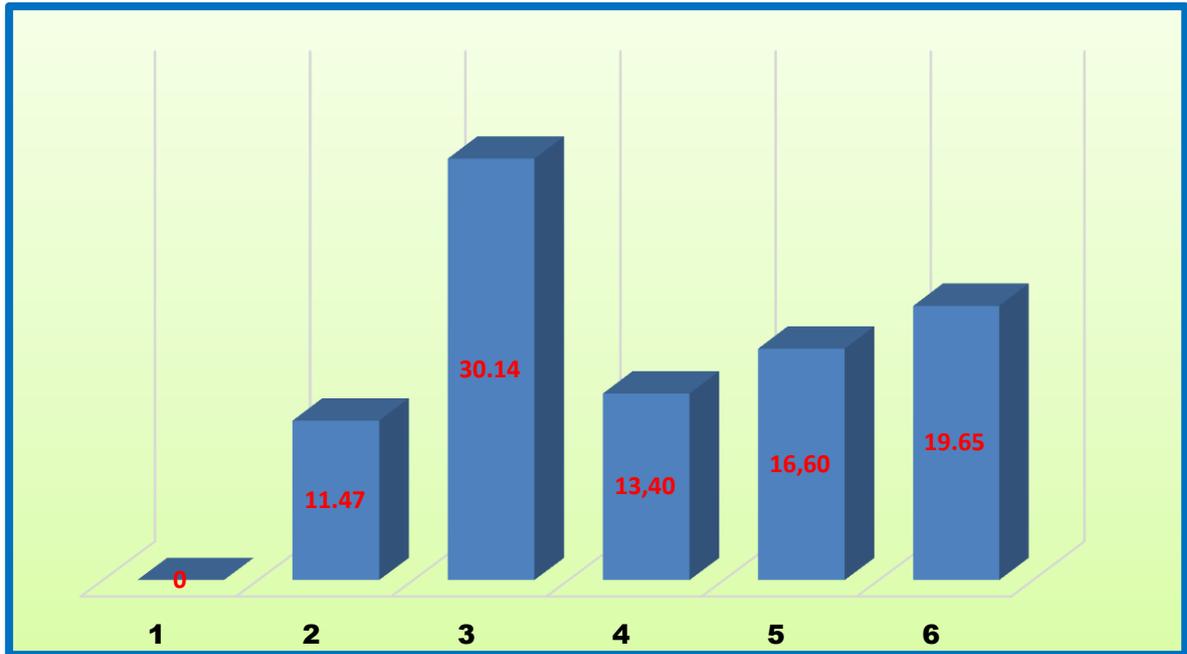
HALOS DE INHIBICIÓN (mm)				
FRECUENCIA	Concentraciones de aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> L. (µL/mL)			
	25	50	75	100
<b>F1</b>	11,79	13,41	15,30	18,02
<b>F2</b>	11,10	13,02	16,80	19,13
<b>F3</b>	11,53	13,78	17,70	21,81
<b>Media (X)</b>	<b>11,47 mm</b>	<b>13,40 mm</b>	<b>16,60 mm</b>	<b>19,65 mm</b>

En la tabla 7 se puede observar los halos de Inhibición del aceite esencial de *Origanum vulgare* L. “Orégano peruano” a cuatro concentraciones frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. La de 100 µL/mL tiene mayor actividad antimicrobiana.

**Tabla 8.** La Media de los halos de Inhibición del aceite esencial de *Origanum vulgare* L. “Orégano peruano” y discos de gentamicina (marca OXOID), frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

HALOS DE INHIBICIÓN (mm)				
SUSTANCIAS	Concentraciones de aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> L. (µL/mL)			
	25	50	75	100
	<b>Aceite esencial (Media)</b>	11,47 mm	13,40 mm	16,60 mm
<b>Gentamicina 10 µL/mL Marca (OXOID)</b>	<b>30,14 mm</b>			

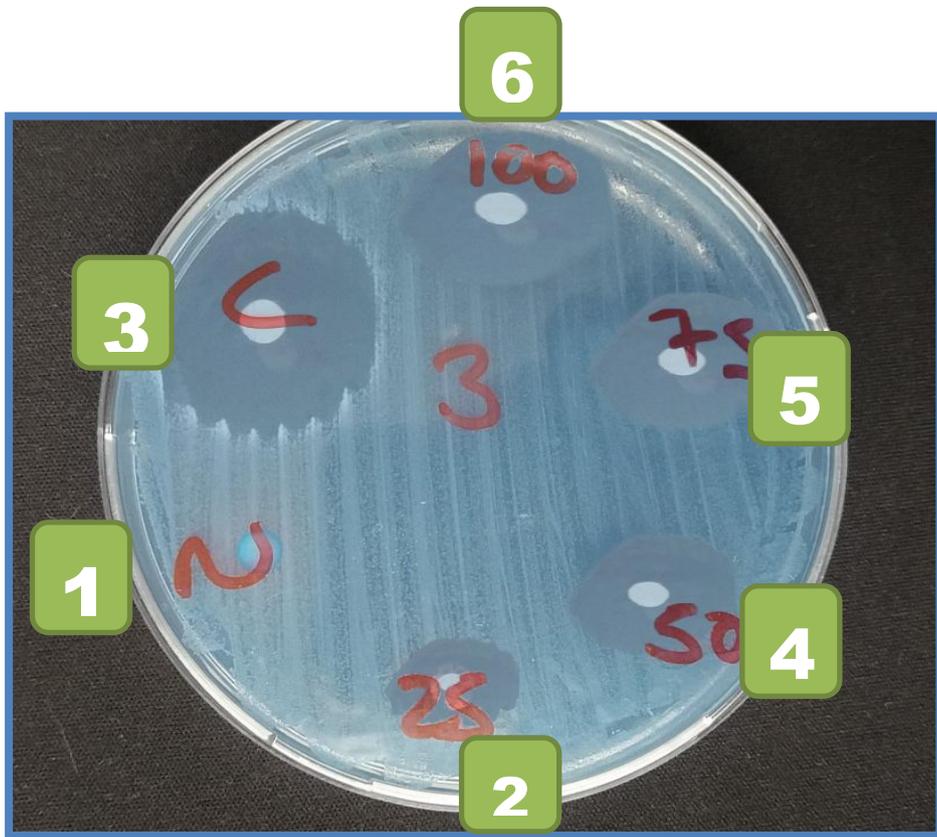
En la tabla 8 se observa la media de los halos de Inhibición del aceite esencial de *Origanum vulgare* L. “Orégano peruano” y discos de gentamicina (marca OXOID) , frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, se observa que la gentamicina supera en capacidad antimicrobiana.



**Figura 9.** Comparación de los halos de inhibición a cuatro concentraciones del aceite esencial de *Origanum vulgare* L. “Orégano peruano”, y discos de gentamicina (marca OXOID) y el blanco frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

En la figura 9 se observa las diferencias de los halos de inhibición de las cuatro concentraciones del aceite esencial de *Origanum vulgare* L. “Orégano peruano”, Y discos de gentamicina (marca OXOID) y el blanco frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. El control positivo supera en capacidad antimicrobiana.

LEYENDA	Concentración de las muestras	Crecimiento del halo de inhibición
1	Blanco (dimetilsufoxido) control negativo	0 mm
2	AE 25 µg/mL	11,47 mm
3	Gentamicina (10 µg/mL) control positivo	30,14 mm
4	AE 50 µg/mL	13,40 mm
5	AE 75 µg/mL	16,60 mm
6	AE 100 µg/mL	19,65 mm



**Figura 10.** Halos de inhibición del aceite esencial de *Origanum vulgare* L. “Orégano peruano” comparados con discos de gentamicina (marca OXOID) y el blanco frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

En la figura 10 se observa la placa muestra que a las diferentes concentraciones los halos de inhibición del aceite esencial de *Origanum vulgare* L. “Orégano peruano” comparados con discos de gentamicina (marca OXOID) y el blanco frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. La gentamicina (marca OXOID) es la que tienen mayor actividad.

LEYENDA	Concentración de las muestras	Crecimiento del halo de inhibición
1	Blanco (dimetilsufoxido) control negativo	0 mm
2	AE 25 µg/mL	11,47 mm
3	Gentamicina (10 µg/mL) control positivo	30,14 mm
4	AE 50 µg/mL	13,40 mm
5	AE 75 µg/mL	16,60 mm
6	AE 100 µg/mL	19,65 mm

## V. DISCUSIÓN

Muñoz C, Linares N.<sup>(28)</sup> estudiaron la composición química del aceite esencial de *Origanum vulgare* L.(*Lamiaceae*)(Orégano) usaron el método de cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas (GC-SM), se identificaron 23 compuestos químicos en las hojas de Orégano (*Origanum vulgare* spp.). El tiempo de retención en minutos y el porcentaje de los componentes mayoritarios fueron: timol 17,56%, carvacrol 10,12%, Y-terpineno 9,67%, p-cimene 3,57%. En la tabla 5 y 6 se muestra los resultados de la investigación obtenidos por el método de cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas (GC-SM), se identificaron 33 compuestos químicos de las hojas de *Origanum vulgare* L. (Orégano peruano), los principales fueron: timol 26,02%, Y-terpineno 12,21%, carvacrol 11,99%, p-cimene 3,27%, según estudios estos componentes serían los responsables en dar la actividad antimicrobiana, los cuales son: compuestos oxigenados, terpenos, monoterpenos, sesquiterpenos y grupos aromaticos (carvacrol, timol, L-4-terpineno).

Valles M, et al. (2014)<sup>(13)</sup>, realizaron la investigación titulada Efecto del aceite esencial de *Origanum vulgare* en la supervivencia de *Staphylococcus aureus*, *Salmonella thypi*, *Salmonella parathypi* y *Salmonella enteritidis* en carne de cerdo pasteurizada y refrigerada, utilizaron el método de difusión en disco (Kirby-Bauer) a concentraciones de 50 y 100 µg/mL, obtuvieron como resultados halos de inhibición para *Staphylococcus aureus* 14,18 mm y 18,20 mm, *Salmonella thypi* 11,31mm y 15,40 mm, *Salmonella parathypi* 9,12 mm y 14,21 mm y *Salmonella enteritidis* 16,50 mm y 16,14 mm. En la tabla 8 de mi trabajo de investigación a concentraciones de 75 y 100 µg/mL sobre *Staphylococcus aureus* presentaron halos de inhibición de 16,60 mm y 19,66 mm de diámetro respectivamente, esto indica que ambos tienen resultados muy cercanos a lo informado por Valles M, et al. Por lo tanto, tiene actividad antimicrobiana frente a bacterias Gram positivas y Gram negativas debido a sus componentes químicos fenólicos, los cuales rompen las paredes y membranas celulares, producen lisis y se precipitan las proteínas e inactivan las enzimas, por lo tanto, son bactericidas y fungicidas.

Albado E, Saez G, Ataucusi G <sup>(40)</sup>. estudiaron la composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial del *Origanum vulgare* (Orégano), se usó el método de difusión en disco (Kirby-Bauer) a concentraciones de 50, 75, 100 µg/mL con cepas *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*, para determinar la composición química usaron el método de cromatografía de gases / espectrometría de masas (GC-SM) teniendo resultados con halos de inhibición para cepas *Staphylococcus aureus* 15,30, 16,60 y 21,10 mm de diámetro y para *Staphylococcus epidermidis* 9,12 , 12,20 y 15,40 mm, se identificaron 29 compuestos químicos en las hojas de *Origanum vulgare* (Orégano) los de mayor porcentaje fueron: timol 15,18%, carvacrol 11,51%, D-limoneno 9,82%,L-4-terpineol 7,52%, 2-careno 6,31%, acetato de geraniol 2,51%, respectivamente. En la tabla 8 se reporta los resultados obtenidos en la presente investigación muy parecidos al estudio de Albado E, Saez G, Ataucusi G, con halos de inhibición 13,40, 16,60 y 19,65 mm a concentraciones de 50, 75 y 100 µg/mL. En la tabla 5 de nuestro trabajo de investigación se identificaron 33 compuestos químicos los cuales son: timol 26,02%, carvacrol 11,99%, D-limoneno 0,85%,L-4-terpineol 19,66 %, 2-careno 2,24%, acetato de geraniol 0,30%, los que presentan mayor porcentaje son: Timol y carvacrol componentes fenólicos que le otorga al orégano múltiples propiedades antioxidantes, antimicrobianas y conservantes de alimentos, además de potenciales aplicaciones en perfumería y cosmética.

En las tablas 3 y 4, presentan los parámetros fisicoquímicos del aceite esencial de *Origanum vulgare* L. como parte de su control de calidad y en la tabla 5 se muestra la composición química como los fenólicos ( carvacrol, timol). De Barros J, Da Conceição M, Neto N, Da Costa A, Júnior J, Junior I, De Souza E<sup>(43)</sup>. Indican que el aceite esencial de Orégano contiene componentes principales que determinan sus propiedades biológicas incluyendo dos grupos de distinto origen biosintético, el grupo principal incluye terpenos y terpenoides y el otro está formado por componentes aromáticos y alifáticos, todos caracterizados por su bajo peso molecular. Estos dos grupos se pueden clasificar en terpenoides e hidrocarburos no terpenoides estos compuestos fitoquímicos del aceite esencial

de *Origanum vulgare* L. serían los responsables del efecto antimicrobiano frente a bacterias gram positivas como *Staphylococcus aureus* y *Bacillus cereus* y sobre bacterias Gram negativas.

Castro V, Jiménez M. (2018)<sup>(42)</sup>, realizaron la evaluación del efecto antimicrobiano de los aceites esenciales de jengibre (*Zingiber officinale*) y cúrcuma (*Curcuma longa*) frente a la bacteria *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. También evaluaron las características físico-químicas de los AE cumpliéndose con todos los estándares de calidad se usó el método de difusión en disco (Kirby-Bauer), para la evaluación de la actividad antimicrobiana mediante la prueba en discos, se empleó concentraciones del 50% y 100% de los aceites esenciales, teniendo halos de inhibición A100% (7,56mm) y B50% (7,11mm), los resultados de la investigación se presentan en la figura 9 a las concentraciones 50 y 100 µL/mL se puede observar los halos de inhibición de 13,40 y 19,65 mm de diámetro los cuales son mayores al estudio de Castro V, Jiménez M. esto se debe a los factores edáficos de la especie estudiada.

Alarcón L, (2016)<sup>(10)</sup>, evaluó la composición química y la actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Espeletia schultzei* Wedd (asteraceae) recolectada en el estado Trujillo–Venezuela, utilizó el método de difusión en agar con discos(Kirby-Bauer), los resultados mostraron actividad antibacteriana contra bacterias Gram positivas (*Staphylococcus aureus* y *Enterococcus faecalis*) presentaron halos de inhibición de 16 y 21 mm de diámetro esto se compara con los resultados obtenidos en la tabla 8, se sumó los resultados de los halos de inhibición de las cuatro concentraciones y se obtuvo el promedio de 15,28 mm de diámetro contra *Staphylococcus aureus* esto nos confirma que el aceite esencial de *origanum vulgare* L. Tiene actividad antimicrobiana, este género es bien conocido como fuente de compuestos biológicamente activos como monoterpenos, sesquiterpenos y fenilpropanos.

Quispe C, Lizet D, Pacheco M<sup>(45)</sup>. Evaluaron el efecto antimicrobiano in vitro del extracto del aceite esencial de las hojas de *Chenopodium Ambrosioides* L. “paico” en cepas de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Cándida albicans*. Utilizo el método difusión en disco (Kirby-Bauer), presentaron halos de inhibición de 19,12 mm para *Staphylococcus aureus* y 16,45 mm *Staphylococcus epidermidis* y de 21,40 mm para *Cándida albicans*, no observándose efecto alguno sobre *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*. Los valores para el aceite esencial fueron de 25 µL/mL para *Staphylococcus aureus*, 20 µL/mL para *Staphylococcus epidermidis*, 35 µL/mL para *Escherichia coli* y 30 µL/mL para *Cándida albicans*. En mi trabajo de investigación en la tabla 8 a la concentración de 25 µL/mL, tuvo un halo de inhibición de 11,47 mm de diámetro algo cercano con el estudio de *Chenopodium Ambrosioides* L. “paico” en cepas de *Staphylococcus aureus*, esto comprueba que pretendemos afirmar a la hipótesis y se correlaciona entre los resultados de esta investigación y los obtenidos por otros autores.

## VI. CONCLUSIONES

Se identificó cualitativamente los principales componentes del aceite esencial de *Origanum vulgare* L. "Orégano peruano", destacando carvacrol y timol.

Se evaluó la actividad antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, del aceite esencial de *Origanum vulgare* L. "Orégano peruano", se obtuvieron los siguientes halos de inhibición 11,47, 13,40, 16,60 y 19,65 mm para las concentraciones de 25, 50, 75 y 100 µg/mL, respectivamente.

Se determinó que la mayor actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Origanum vulgare* L. "Orégano peruano", se obtuvo a la concentración de 100 µg/mL en la que se observó un halo de inhibición de 19,65 mm.

## VII. RECOMENDACIONES

1. Continuar con los estudios de nuestros recursos naturales, como el “Orégano peruano”, ampliando y validando su actividad biológica.
2. Debe haber mayores facilidades de parte de la universidad para realizar nuestras investigaciones para la tesis.
3. Debemos valorar nuestra biodiversidad para futuras generaciones y para preservarlas en el tiempo.
4. Debe constituirse un gran equipo para estudiar todos nuestros recursos naturales en el Perú.
5. Con los estudios presentados podría probarse en un producto terminado la actividad y aplicación del aceite esencial del “Orégano peruano”.

## VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **Pinilla R.** Determination of adhesion factors associated with biofilm formation in clinical isolates of *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*. *Nova15.27* (2017): 67-75.
2. **Ana M.** Estudio de las infecciones por *Staphylococcus aureus* en un hospital general de agudos (2002-2013). *Revista argentina de microbiología* 49.1 (2017): 24-31.
3. **Sunci3n S, Daniel L, Garc3a DG.** Evaluaci3n fitoqu3mica y actividad antibacteriana in vitro de *Clidemia hirta* L Don "mullaca morada" por el m3todo de disco difusi3n, frente a microorganismos pat3genos [Tesis para optar el t3tulo de Qu3mico Farmac3utico]. Iquitos: Universidad Nacional de la Amazon3a Peruana. Facultad de Farmacia y Bioqu3mica; 2016.
4. **D3az C, Neciosup E, Fern3ndez JL, Tresierra MA, Apolaya M.** Mortalidad atribuible a infecciones nosocomiales en un hospital de la Seguridad Social en Chiclayo, Per3. *Acta Med Per3.* 2016; 33(3):250-2.
5. **Cruz R.** Evaluaci3n in vitro de la actividad antimicrobiana de un gel para manos con nanom3culas de cobre. *Revista argentina de dermatolog3a*, 2017, vol. 98, no 1, p. 46-54.
6. **L3pez 3K, Rosado KR, Caballero CL, Arias LJJ, Zavala CJE.** Mecanismos de resistencia antif3ngica de los azoles en *Candida albicans*. *Rev. Biomed*, 2016; 27, 127-136.
7. **Calvo JCB, Castillo AM, Serrano RM, Cuan AG.** *Escherichia coli* 0157: h7 en los canales de bovinos en plantas de beneficio: un peligro biol3gico con gran impacto para la salud p3blica. *Rev. Biociencias*, 2016. 6(2):53-61.
8. **Abanto S, Terrones S, Bardales J.** Determinaci3n del efecto inhibitorio del lixiviado de *Allium sativum* "ajo" sobre *Pseudomonas aeruginosa* y su comparaci3n con sulfadiazina de plata in vitro. *Rev. Perspectiva*, 2017, 17(4):453-465.
9. **Hamdan A, Garc3a SG, Bustos J.** Identificaci3n de *Staphylococcus aureus* utilizando como marcadores los genes *nucA* y *femB*. *Ciencias Cl3nicas*.2016.1-5.

10. **Alarcón L.** Composición química y evaluación de la actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Espeletia schultzii* wedd (asteraceae) recolectada en el estado Trujillo–Venezuela. Academia. 2016;(15): 69-79.
11. **Bernal S.** Evaluación de la actividad inhibitoria del aceite esencial de naranja contra *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*. researchgate.net. 2015. Disponible en:  
<https://www.researchgate.net/publication/282329372>
12. **Martínez P, Mercado L, Llenque S, Vidal E.** Efecto del aceite de *Citrus reticulata* “mandarina” en *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*. Rev.conocimiento para el desarrollo 6.2 (2015).
13. **Valles M, Salinas P, Haro I, Sevilla W, Lázaro W, Huamán A.** Efecto del aceite esencial de *Origanum vulgare* en la supervivencia de *Staphylococcus aureus*, *Salmonella thypi*, *Salmonella parathypi* y *Salmonella enteritidis* en carne de cerdo pasteurizada y refrigerada. Revista Rebiol 2014, 34(1), 57-68.
14. **Naranjo M, Carlos J.** Eficacia antimicrobiana in vitro del extracto de mastuerzo (*Tropaeolum majus*) y tomillo (*Thymus vulgaris*) sobre cepa certificada de *Staphylococcus aureus* (Bachelor's thesis). 2017.
15. **Mendez A, Cornejo C, Coral M, Arnedo M.** Chemical Composition, Antimicrobial and Antioxidant Activities of the Essential Oil of *Bursera graveolens* (*Burseraceae*) From Perú. La Molina Calidad Total Laboratorios- Universidad Nacional Agraria La Molina, Av. La Universidad, 2017; 51(3): S429-S436.
16. **Ahmed R, Aisha M, Iman M and Khalid A.** Evaluación de la capacidad antimicrobiana del aceite esencial de Orégano (*Origanum vulgare*) microencapsuladas en  $\beta$ -ciclodextrina aplicados en cultivos microbianos. International Journal of Botany 13.1 (2017): 43-51.
17. **Flores YL.** Evaluación del efecto antimicrobiano del aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*) aplicado en el pan molde en microencapsulado y pulverizado. [Tesis]. Lima: Universidad Peruana Unión. Facultad de Ingeniería y Arquitectura; 2016.
18. **Carhuapoma YM.** Plantas aromáticas nativas del Perú Biocomercio de fragancias, sabores y fitocosméticos. (1ra ed.). Lima: CONCYTEC; 2011.

19. **Lock U.** Investigación Fitoquímica: Métodos en el estudio de productos Naturales, 3 ra ed, Lima- Perú: Editorial de la Pontificia Universidad Católica del Perú; 2016.
20. **Ruiz C, Díaz C, Rojas R.** Composición química de aceites esenciales de 10 plantas aromáticas peruanas. Revista de la Sociedad Química del Perú. 2015; 03 20;1(2):81-94.
21. **Carhuapoma MC, López S, Inostrosa L, Yuli R, Carlos N.** Composición química, actividad antioxidante y toxicidad aguda del aceite esencial de *Satureja pulchella* "Panizara". Theorēma (Lima, Segunda época, En línea) 2014, (1), 57-63 Disponible en :  
<http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/Theo/article/view/11938>
22. **Carhuapoma YM.** Elucidación estructural, actividad anti-*Trypanosoma cruzi* y toxicidad aguda del aceite esencial de *Tagetes elliptica smith* "chinchu". Tesis de Maestría en Toxicología. UNMSM. 2017.
23. **Bruneton J.** Farmacognosia. Fitoquímica. Plantas medicinales. 2da. Edición. Zaragoza – España: Acribia S.A. 2001.
24. **García A, Carril E.** Metabolismo secundario de plantas aromaticas. Reduca (biología), (2011).2(3).
25. **Linares P, Barberán J, Montejo M, Salavert M, Rocha L, Maseda E.** Grupos funcionales en la química de los aceites esenciales y tratamiento antimicrobiano de la infección por *Staphylococcus aureus*. Rev Esp Quimioter. 2013; 26(1): 1-84.
26. **Lozano A, Loarca G, Lecona S, González E.** El orégano: propiedades, composición y actividad biológica de sus componentes. Archivos Latinoamericanos de nutrición, 2015, 54(1), 100-111
27. **Mostacero L, Mejía C, Gamarra T.** Taxonomía de las fanerógamos útiles del Perú. (1ra ed.). Trujillo. CONCYTEC. 2002.
28. **Muñoz C, Linares N.** Composición química del aceite esencial de *Origanum vulgare L.*(*Lamiaceae*)(orégano). 2002. RIUMA.uma.es. España.
29. **Carhuapoma YM.** Estudio de la composición química y actividad antioxidante del aceite esencial de *Luma chequen* (Molina) A. Gray "arrayán". [Tesis Maestría]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; Facultad de Farmacia y Bioquímica, 2006.

30. **García A, Carril P.** Ruta metabólica de los terpenos y aceites esenciales. *Información tecnológica* 2011, 15(3), 51-54.
31. **Silveira R, Yanis Q, Martínez M.** Características morfológicas y citoquímicas de las células de la sangre periférica de *Staphylococcus aureus* 2017, 12(8), 110-122.
32. **Carhuapoma YM.** Composición química, actividad *anti-Helicobacter pylori* antioxidante del aceite esencial de *Satureja brevicalyx Epling "Urqu muña"* [tesis doctoral]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; Facultad de Farmacia y Bioquímica, 2007.
33. **Pualomino J, Pachón J.** Aminoglucósidos. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica*, (2003). 21(2), 105-115.
34. **Calvo J, Martínez L.** Mecanismos de acción de los antimicrobianos. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica*, 2009. vol 27, no 1, p 44-52.
35. **Tafur D, Torres A, Villegas V.** Mecanismos de resistencia a los antibióticos en bacterias Gram negativas. *Infectio*, 2011, vol. 12, no 3.
36. **Tellez M, Nolazco C.** Estudio de la composición química del aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare spp.*) de Tacna. Recibido: 10 de enero del 2017 / aprobado: 23 de agosto del 2017. *Revistas.ULIMA.edu.pe* disponible en: [https://revistas.ulima.edu.pe/index.php/Ingenieria\\_industrial/article/view/1801](https://revistas.ulima.edu.pe/index.php/Ingenieria_industrial/article/view/1801)
37. **Ramos-García MDL, Bautista-Baños S, Barrera-Necha LL, Bosquez-Molina E, Alia-Tejacal I, & Estrada-Carrillo M.** Compuestos antimicrobianos adicionados en recubrimientos comestibles para uso en productos hortofrutícolas. *Revista mexicana de fitopatología* 2010, 28(1), 44-57.
38. **Price JR, Cole K, Bexley A, Kostiou V, Eyre D, Golubchik T, & Llewelyn M.** Transmission of *Staphylococcus aureus* between health-care workers, the environment, and patients in an intensive care unit: a longitudinal cohort study based on whole-genome sequencing. *The Lancet Infectious Diseases* 2017, 17(2), 207-214.
39. **Acevedo D, Navarro M, Monroy L.** Composición Química del aceite esencial de hojas de Orégano (*Origanum vulgare*). *Información tecnológica* 2013, 24(4), 43-48.
40. **Albado E, Saez G, Ataucusi G.** Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial del *Origanum vulgare* (orégano). *Revista Médica Herediana* 2001; 12(1), 16-19.

41. **Tomatis C, Baroni M, Mendosa M, Nagel A, Mollerach A, Alvarez C, Méndez E.** Tipos de cepas no reportados en nuestro país en *Staphylococcus aureus* de pacientes adultos de un hospital escuela, Santa Fe, Argentina. *Revista Argentina de Microbiología* 2018; 2 (3):45-51.
42. **Castro V, Jiménez M.** Evaluación del efecto antimicrobiano de los aceites esenciales de jengibre (*Zingiber officinale*) y cúrcuma (*Curcuma longa*) frente a la bacteria *Staphylococcus aureus* ATCC: 12600 (Bachelor's thesis). 2018.
43. **De Barros J, Da Conceição M, Neto N, Da Costa A, Júnior J, Junior I, De Souza E.** Interference of *Origanum vulgare* L. essential oil on the growth and some physiological characteristics of *Staphylococcus aureus* strains isolated from foods. *LWT-Food Science and Technology* 2009; 42(6): 1139-1143.
44. **De Souza E, Barros J, De Oliveira V, Da Conceição M.** Applied clinical microbiology. *International Journal of Food Microbiology* 2010; 137(2-3): 308-311.
45. **Quispe C, Lizet D, Pacheco M.** Evaluación del efecto antimicrobiano in vitro del extracto y el aceite esencial de las hojas de *Chenopodium Ambrosioides* L. "paico" en cepas de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Pseudomona aeruginosa* y *Cándida albicans*. [tesis licenciatura]. Arequipa: Universidad Católica de Santa María; Facultad de Farmacia y Bioquímica, 2017.
46. **Ramos L.** Métodos de laboratorio en microbiología, 1 ra ed, Lima- Perú: Editorial de la Pontificia Universidad Católica del Perú; 2015.

## IX. ANEXO

**Anexo 1.** Ubicación sistemática de la especie de *origanum vulgare* L."Oregano peruano".



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS  
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA  
VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO  
**MUSEO DE HISTORIA NATURAL**



"Año del Diálogo y la Reconciliación Nacional"

### CONSTANCIA N° 97-USM-2018

EL JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (rama con hojas), recibida por ROGER SALINAS SEGURA; de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Privada NORBERT WIENER; ha sido estudiada y clasificada como: *Origanum vulgare* L.; y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988):

**DIVISION: MAGNOLIOPHYTA**

**CLASE: MAGNOLIOPSIDA**

**SUB CLASE: ASTERIDAE**

**ORDEN: LAMIALES**

**FAMILIA: LAMIACEAE**

**GENERO: *Origanum***

**ESPECIE: *Origanum vulgare* L.**

Nombre vulgar: "orégano peruano"  
Determinado por: Mg. Asunción Cano Echevarría

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para los fines que estime conveniente.

Lima, 20 de marzo de 2018



Mag. ASUNCIÓN A. CANO ECHEVARRIA  
JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

ACE/ddb

Av. Arenales 1256, Jesús María  
Apdo. 14-0434, Lima 14, Perú

Teléfono:  
619-7000 anexo 5701, 5703, 5704

E-mail: [museohn@unmsm.edu.pe](mailto:museohn@unmsm.edu.pe)  
<http://museohn.unmsm.edu.pe>

**Anexo 2.** Procesamiento de la muestra *Origanum vulgare* L. “Orégano peruano”.



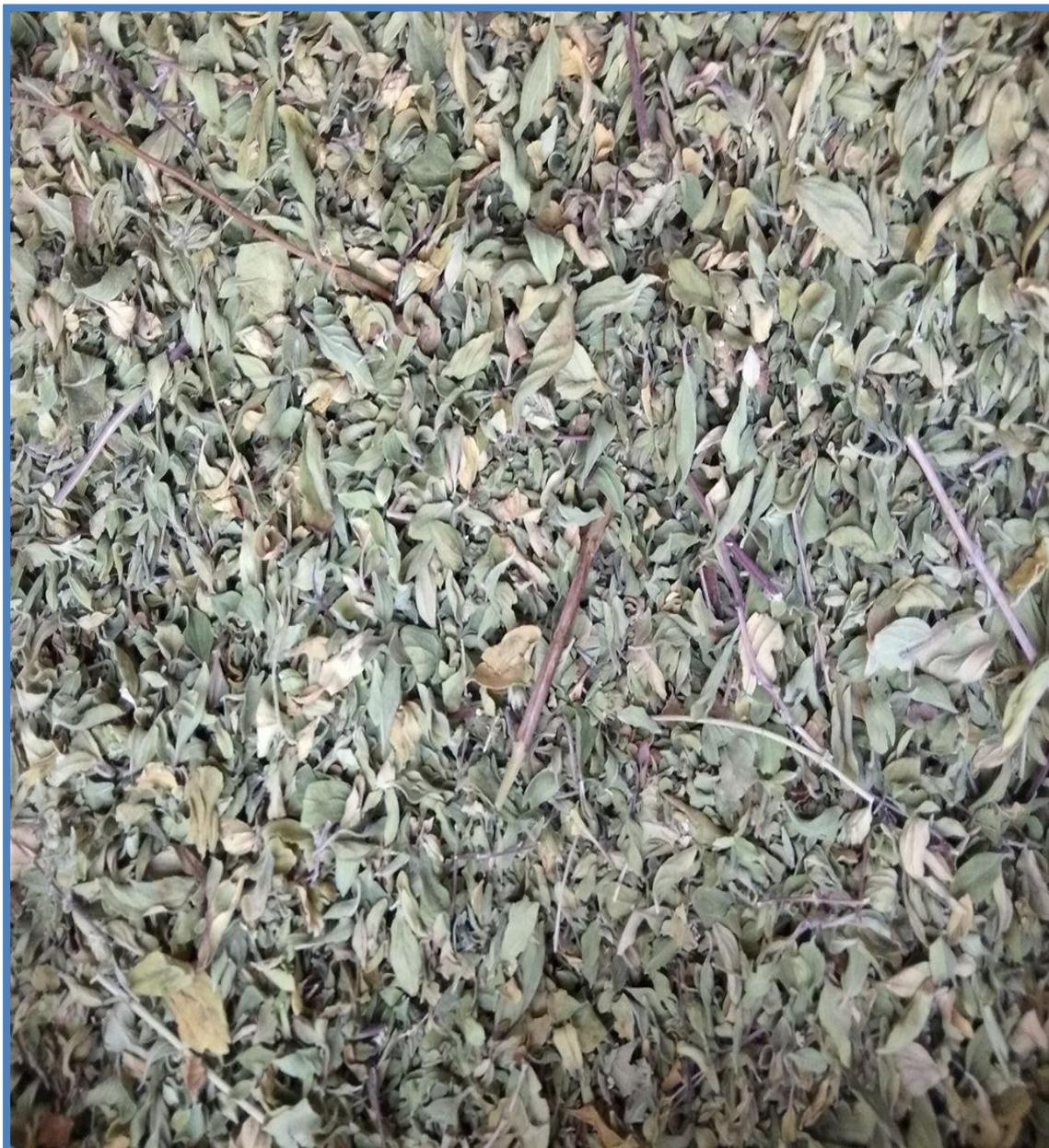
**Figura 11.** Muestra *Origanum vulgare* L.”Oregano Peruano”.

**Anexo 3.** La muestra *Origanum vulgare* L. “Orégano peruano” se recolectará en bolsas de papel.

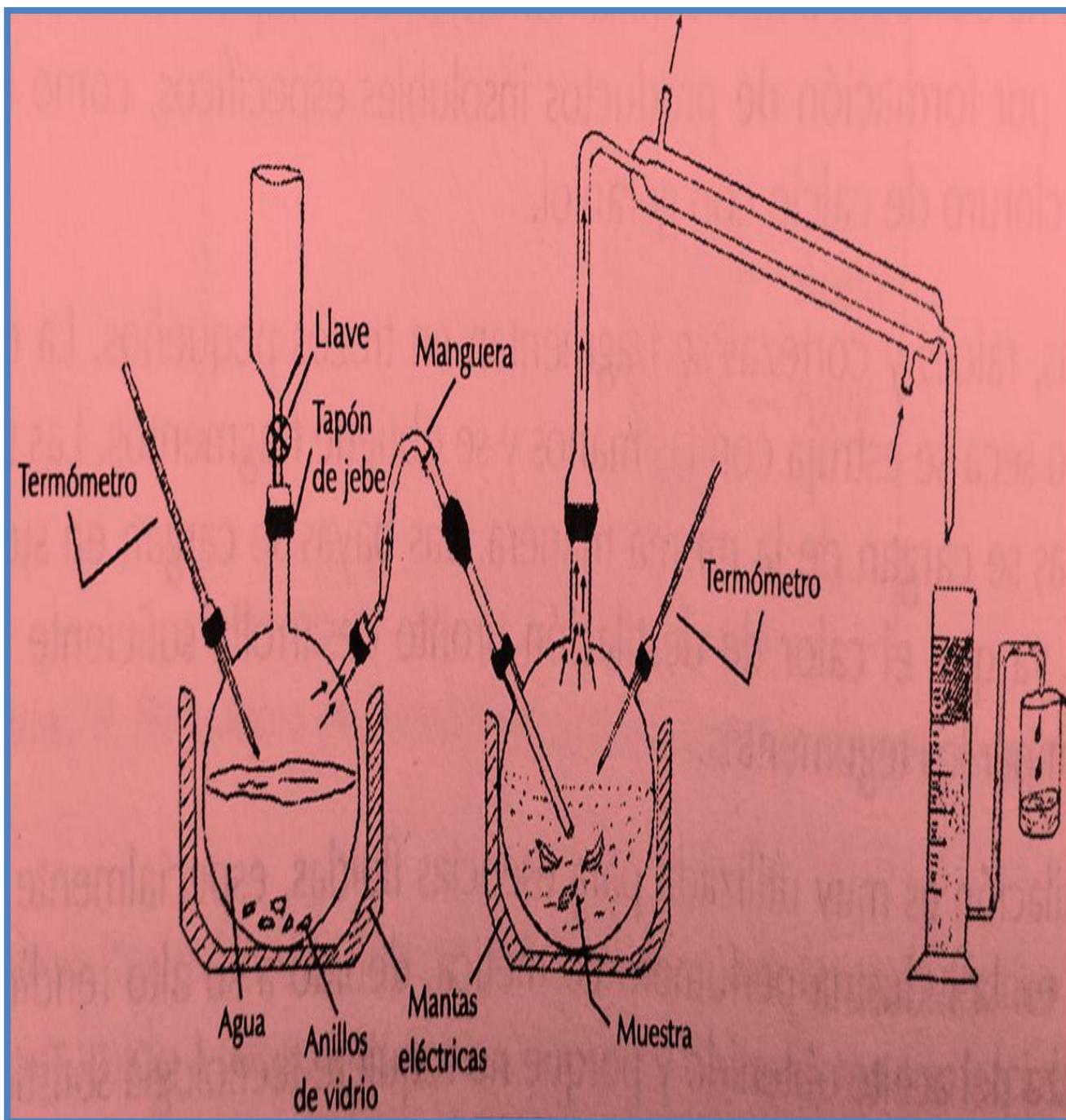


**Figura 12.** Muestra recolectada de *Origanum vulgare* L.

**Anexo 4.** Muestra de *Origanum vulgare* L. “Orégano peruano” deshidratado para su posterior extracción del aceite esencial.



**Anexo 5.** Esquema del equipo extractor del aceite esencial de *Origanum vulgare* L. "Orégano peruano".

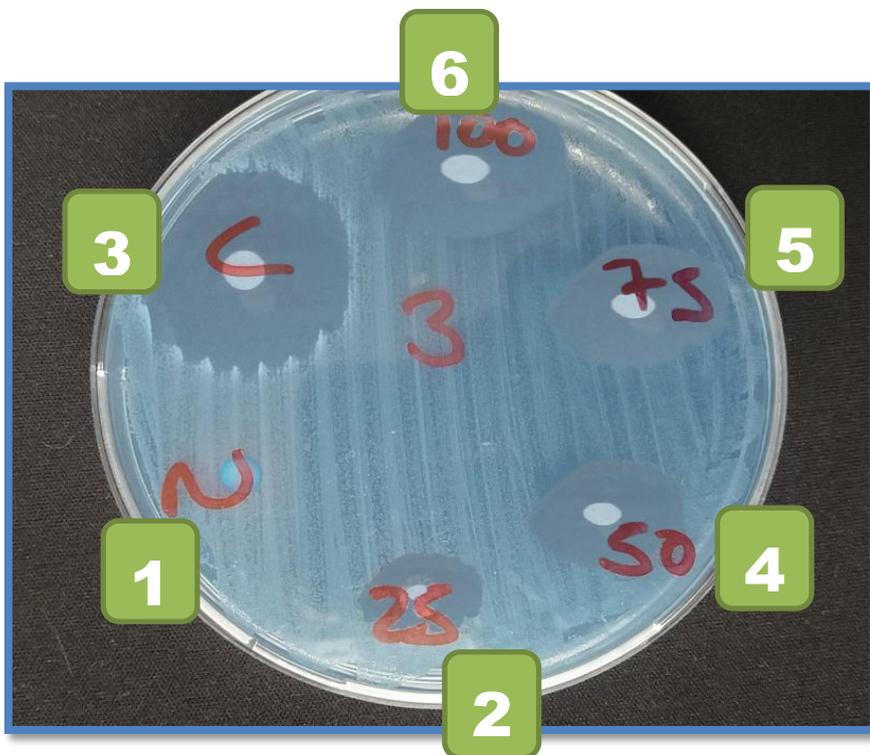


**Anexo 6.** Microbiología. Actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, del aceite esencial de *Origanum vulgare* L. “Orégano peruano” (Método Disco Difusión, Kirby -Bauer).



**Figura 13.** Ensayos de actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Origanum vulgare* L.

**Anexo 7.** Halos de inhibición del aceite esencial de *Origanum vulgare* L. “Orégano peruano” comparados con discos de gentamicina (marca OXOID) y el blanco frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.



**Figura 14.** Halos de inhibición del aceite esencial de *Origanum vulgare* L. comparados con discos de gentamicina (marca OXOID) y el blanco frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

LEYENDA	Concentración de las muestras	Crecimiento del halo de inhibición
1	Blanco (dimetilsufoxido) control negativo	0 mm
2	AE 25 µg/mL	11,47 mm
3	Gentamicina (10 µg/mL) control positivo	30,14 mm
4	AE 50 µg/mL	13,40 mm
5	AE 75 µg/mL	16,60 mm
6	AE 100 µg/mL	19,65 mm