

Composición del aceite esencial de *Origanum majorana* L. extraído por diferentes técnicas y su actividad biológica

Chemical composition of essential oil from *Origanum majorana* L. extracted by different techniques and its biological activity

M. Meza¹, N. González de C² y A. Usbillaga³

¹Universidad Nacional Experimental del Táchira, Decanato de Investigación.

²Laboratorio de Fitoquímica, UNET.

³Universidad de los Andes, Facultad de Farmacia y Bioanálisis.

Resumen

Origanum majorana es una Labiada muy utilizada en gastronomía y medicina natural. Es una herbácea de hojas pequeñas y flores de color blanco o rosado. Las plantas de Mejorana fueron colectadas de los estados Táchira y Mérida. Para la obtención del aceite esencial se empleó el método de hidrodestilación y el de arrastre con vapor. El análisis de los aceites esenciales se realizó por cromatografía de gases con detector de masas. La identificación de los componentes se hizo mediante la comparación de los espectros de masas con los de la base de datos Wiley. Se determinó que la fracción oxigenada del aceite esencial de Mejorana está constituida principalmente por alcoholes, independientemente del origen. La hidrodestilación permite obtener aceites con mayor proporción de compuestos oxigenados (60,82 y 43,77%) que el arrastre con vapor (27%); además, es un procedimiento sencillo, reproducible, económico y rápido. Aceites con gran proporción de ésteres como el proveniente del estado Táchira son de potencial uso en perfumería. La inhibición del crecimiento que produce el aceite esencial sobre los microorganismos *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas sp.* le confiere acción bactericida.

Palabras clave: Aceite esencial, *Origanum majorana*, actividad biológica.

Recibido el 5-3-2007 • Aceptado el 18-6-2007

Autor de correspondencia e-mail: mariameza74@hotmail.com; nelida@reaccium.ve; usbillaga@intercable.net.ve

Abstract

Origanum Majorana (Labiataeae) is used in gastronomy and natural medicine. It is a herb with small leaves and white or pink flowers. Mejorana plants were collected from Tachira and Merida states. Hydro distillation and steam distillation methods were used to obtain the essential oil. The analysis was done by CG-MS and oil components were identified by computer comparison of their mass spectra with those of Wiley data base. The oxygenated fraction of Mejorana's essential oil contains alcohols no matter its geographical origin. To obtain oils with a greater proportion of oxygenated compounds (60.82% and 43.77%) it is better to use the hydro distillation method than steam distillation method (27%), because it is cheaper, simpler and faster. Oils containing lots of esters like those obtained from Tachira's Mejorana plants have a potential use in cosmetics. Besides, this type of oil has bactericidal activity; it inhibits the growth of micro organisms such as *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, and *Pseudomonas sp.*

Key words: *Origanum majorana*, essential oil, biological activity.

Introducción

Origanum majorana L. (Labiada) comúnmente conocida en Venezuela como Mejorana, es una herbácea de 15 a 50 cm de alto con olor característico, con hojas pequeñas, redondas y blanquecinas las flores son pequeñas de color blanco o rosado, las semillas son pequeñas oblongas y de color pardo oscuro (1). Los tallos y hojas contienen taninos, pentosas y minerales, pero el producto más importante y fragante es la esencia de color amarillento o verdoso cuyo rendimiento oscila entre 0,30 y 0.40% de la planta fresca. Esta esencia no es tóxica (2), contiene cantidades variables de terpenos principalmente terpineno, origanol (d-terpineol), sabineno y pequeñas cantidades de sesquiterpenos (1). Se utiliza en aromaterapia; como antiviral, bactericida, para combatir enfermedades de la piel, rubefaciente (3); en

Introduction

Origanum majorana L. (Labiada), commonly known in Venezuela as Mejorana, is a herb 15-50 cm tall, with characteristic smell, with small rounded and whitish leaves. Its small flowers are white or pink, seeds are tiny, oblong and brown (1). Stems and leaves contain tannin, pentose, and mineral; but the most important and fragrant product is its yellow or green colored essential oil which is obtained in 0.30% to 0.40% yield. This oil is not toxic (2). It has variable quantities of terpenes, specially terpinene, origanol, sabinene, and lesser quantities of sesquiterpenes (1). It is used in therapy of aroma, as antiviral, bactericide, to treat skin diseases, and as rubefacient (3). Is used as a base to elaborate fragrances, soaps, and detergents. It also has a gourmet use in the food industry and in the elaboration of Vermouth (4).

perfumería es base para la elaboración de fragancias, jabones y detergentes; para uso gourmet en la industria alimenticia y como base en la elaboración de Vermut (4).

Estudios previos realizados con el aceite esencial de *O. majorana* de Turquía (5) permitieron determinar el sabineno como principal componente, mientras que el originario de Irán (6) presentó carvacrol como el constituyente más abundante.

Los aceites esenciales extraídos de las plantas aromáticas son una fuente de ingresos importantes para el desarrollo de los pueblos alejados de las grandes ciudades. Venezuela cuenta con abundancia de plantas aromáticas y medicinales nativas, que representan el 90%, de las plantas aromáticas, en tanto que un 10% son plantas introducidas por los españoles en la época de la conquista; razón por la cual a nivel mundial Venezuela se considera como el cuarto país más rico en especies aromáticas, después de Brasil, Colombia y Perú; menos del 5% de la totalidad de éstas han sido estudiadas. La gran extensión territorial y las bondades del clima permiten el cultivo de plantas exóticas, un ejemplo lo tenemos en la Mejorana oriunda del Oriente Medio y Arabia. Extendida por países mediterráneos y cultivada en Europa, norte de África y en América, la Mejorana crece en los climas fríos de los Estados Andinos: Táchira, Mérida y Trujillo (7).

En San Vicente de La Revancha del estado Táchira y en Bailadores del estado Mérida, se encuentran cultivos importantes de esta planta que son vendidas en mercados populares para

Previuos studies performed on the essential oil of *O. majorana* from Turkey found that sabinene was the main component, where as in the oil from Iran, carvacrol was the main constituent.

Essential oils from aromatic plants are an important source of income for people that inhabit away from big cities. Venezuela is very rich in native aromatic and medicinal plants; 90% of plants in folk use are native while only about 10% are plants introduced by the Spaniards. For this reason Venezuela is considered the fourth richest country in aromatic plants after Brazil, Colombia, and Peru. Less than 5% of these plants have been studied. The large territorial extension and mild climatic conditions of the country allow culture of exotic plants like Mejorana, which is original from the Middle East and Arabia, but it is now cultivated in the Mediterranean countries, Europe, North Africa and America. Mejorana grows well in the cold areas of Táchira, Mérida, and Trujillo States (7).

At San Vicente de La Revancha, Táchira State, and at Bailadores, Mérida State, important cultures of this plant are found. It is sold in markets for culinary and medicinal purposes. It is used as anti-spasmodic and it is also used to treat high blood pressure, headaches, insomnia, rheumatism, cough, vomit and nervousness.

The composition of the essential oil of this plant varies according to location and collection time since slight changes in genetics and habitat modify it qualitative and quantitatively.

uso culinario y medicinal como: antiespasmódico, hipotensor, para los dolores de cabeza, insomnio, reumatismo, tos, vómito y nerviosismo entre otros.

La composición de los aceites esenciales de una especie varía según el lugar y tiempo de recolección, ya que pequeños cambios genéticos y de habitat modifican cualitativa y cuantitativamente su composición (8).

Estudios realizados con otras especies tales como *Cymbopogon citratus* (9); *Tagetes minuta* (10) *Melaleuca leucadendron* (11), *Citrus lemon* (12) e *Hyptis umbrosa* (13) confirman que la composición de los aceites esenciales de una misma especie cambian según su hábitat, manejo agronómico y los procedimientos empleados para la extracción y análisis.

Los aceites esenciales de *O. majorana* mostraron composición diferente cuando se extrajeron por distintos métodos de extracción y cuando las especies se colectaron en diferentes localidades (14, 15,16)

Este objetivo de este trabajo fue comparar la composición del aceite esencial del *Origanum majorana* (Majorana) de los estados Mérida y Táchira, y determinar la actividad biológica que ejercen los aceites esenciales sobre algunas bacterias como: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas sp.*

Materiales y métodos

Muestreo

Se emplearon plantas completas de *O. majorana* colectadas en el Jardín de Plantas Medicinales de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de

Studies performed on other species as *Cymbopogon citratus* (9), *Tagetes minuta* (10), *Melaleuca leucadendron* (11), *Citrus lemon* (12), and *Hyptis umbrosa* (13) showed that the composition of the essential oil of a species varies according to habitat, agronomical management, and extraction method.

The essential oil of *O. majorana* showed different composition according to the extraction method used and collection site (14, 15, 16).

The object of this work was to compare the composition of the essential oil of *Origanum majorana* of Merida and Táchira States and to determine its biological activity on some bacteria like: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, and *Pseudomonas sp.*

Materials and methods

Sample

Entire plants of *O. majorana* collected at the Medicinal Plants Garden of the Faculty of Pharmacy and Bioanalysis of the University of Los Andes, Mérida, and at San Vicente de La Revancha, town located in Southern Táchira State. control samples IJM-1 and IJM-2 were deposited at the Herbarium of the Experimental National University of Táchira.

Oil extraction

Plant material collected in Mérida State was subjected for 2 hours and 30 minutes to hydrodistillation, and the oil collected in a Clevenger trap. Plant material from Táchira State was extracted by two methods: steam distillation and

la Universidad de los Andes, Mérida y en San Vicente de La Revancha, pueblo ubicado al sur del estado Táchira.

Muestras testigo 1JM-1 y 1JM-2 de las especies fueron almacenadas en el herbario de la Universidad Nacional Experimental del Táchira.

Extracción de aceite

El aceite esencial obtenido de las plantas con flores y colectados en el estado Mérida se extrajo por hidrodestilación durante 2 horas y 30 minutos utilizando una trampa de Clevenger. La extracción del aceite esencial de las plantas provenientes del estado Táchira se realizó mediante 2 métodos: por arrastre con vapor de agua durante 2 horas y 45 min y por hidrodestilación durante el mismo tiempo.

Separación cromatográfica

Para la separación cromatográfica del aceite esencial se mezclaron 20 μ L del aceite esencial de *O. majorana* con 1 mL de n-heptano y luego se inyectó 1 μ L de la solución en un cromatógrafo de gases con detector selectivo de masas GC-MS 5973, marca Hewlett PACKARD 6890 GC System versión A.03.02, equipado con una columna HP-5 (30 m x 0.25 cm x 0.25 μ m de espesor de película de 5% fenil metil silicona), y se utilizó helio ultra puro como gas portador. Se utilizó un reparto de 100:1.

El programa de temperatura se inició a 60°C, se incrementó a 200°C a razón de 4°C/min, manteniéndose por 1 min a esta temperatura, luego se aumentó la temperatura hasta 280°C a razón de 10°C/min y se dejó por 20.

Los componentes del aceite esen-

hydrodistillation, both during 2 hours and 45 minutes.

Chromatographic separation

For analysis an HP 5973 GC-MS system was used; 20 mL of Mejorana's oil was diluted to 1.0 mL with n-heptane. A 1.0 mL sample of this solution was injected into the gas chromatograph (Hewlett Packard 6890 version A.03.02) fitted with a HP-5MS capillary column (30m long, 0.25 mm outside diameter, 0.25 mm film). Helium at 0.9 mL/min was used as carrier gas. The sample was split 100:1 and the injector temperature was 200°C. The initial temperature of the oven was 60°C, followed by a temperature program of 4°C/min up to a temperature of 200°C, finally the temperature of the oven was increased at 10°C/min. to a temperature of 280°C which was maintained for 20 additional minutes. The MS analysis was performed at 70 eV, using a source temperature of 230°C and a quadrupole temperature of 150°C. The mass was scanned from 40 to 350 amu.

Oil components were identified by computer comparison of the mass spectra of each compound with the spectra of a Wiley Library (6th. Edition). Identification was confirmed by comparison of retention indices with those published in the literature.

Biological activity

It was determined by using diffusion and dilution techniques in agar of Kirby-Bauer (17) and was evaluated through measurement of the halos of total inhibition and inhibition of the bacterial growing, against gram-positives bacteria like

cial fueron identificados por comparación computarizada de los espectros de masas de cada uno de los compuestos con los de la librería Wiley MS Data y también determinadas según sus índices de retención (IR).

Actividad biológica

La actividad biológica se determinó usando las técnicas de difusión y dilución en agar de Kirby-Bauer (17) y fue evaluada mediante la medición de los halos de inhibición e inhibición total del crecimiento bacterial, contra bacterias gram-positivas como *Staphylococcus aureus* y gram-negativas como *Escherichia coli* y *Pseudomonas sp.* (18)

Se utilizaron concentraciones del aceite esencial de 100, 50 y 25% (v/v), sobre cultivos de bacterias durante 24 horas en agar de soya Triptona (TSA) (17) para todas las pruebas. Los medios utilizados fueron agar Mueller-Hinton y Mueller Hinton Medium y se usó solución isotónica de NaCl al 0,85 % para lavar las bacterias.

La siembra de las bacterias se hizo con un hisopo esterilizado para colocarlas en las cápsulas de Petri en una concentración de 10^7 ufc/ml.

El método de dilución se aplicó para el aceite esencial en concentraciones del 50 y 100%, Para la concentración del 50% se utilizó 0,50 mL Tween 80 y 0,50 mL de aceite esencial de Mejorana, por último se le agregaron 16 mL de agar, con esta solución se prepararon las cápsulas de Petri y se colocaron durante 5 minutos en la nevera a 7°C y finalmente se llevaron a la incubadora por 24 horas a una temperatura de 37,5°C para observar su crecimiento y evaluar los

Staphylococcus aureus and gram-negatives like *Escherichia coli* and *Pseudomonas sp.* (18)

Concentrations of the essential oil of 100, 50 and 25% (v/v), on bacteria cultures during 24 hours in agar of soybean Triptona (TSA) (17) for every test. Media used were agar Mueller-Hinton and Mueller Hinton Medium and it was used isotonic solution of NaCl al 0.85% for washing bacteria.

Bacterial growth were made with an sterilized swab to seed it on the Petri dish at a concentration of 10^7 ufc/mL.

The dilution method was applied for the essential oil in concentrations of 50 and 100%. For the concentration of 50%, 0.50 mL Tween 80 and 0.50 mL of essential oil of Mejorana was used; after, 16 mL of agar were added, with this solution the Petri dishes were prepared and placed during 5 min in the refrigerator at 7°C. Finally, they were taken to the incubator during 24 hours at a temperature of 37.5 °C, to observe its growth and valuate the inhibition halos. This procedure was made on triplicate for each bacteria used. Three more plates were prepared without the essential oil and with each of bacteria involved that permitted to verify effectiveness of medium used, in this case, the Medium and Agar Mueller Hinton.

The diffusion method was used for the essential oil in a concentration of 25% (v/v) with agar Mueller Hinton, inoculated with fresh cultures of bacteria of 10^7 ufc/mL.

Nine Petri dishes were prepared with solidified agar and to 3 mm wide perforations were made on each plate

halos de inhibición. Este procedimiento se hizo por triplicado para cada una de las bacterias utilizadas. Se prepararon 3 placas más, sin el aceite esencial y con cada una de las bacterias involucradas que permitió verificar la efectividad del medio utilizado en este caso el Caldo y el Agar Mueller Hinton.

El método por difusión fue usado para el aceite esencial en concentración 25% (v/v) con agar Mueller Hinton, inoculado con cultivos jóvenes de bacterias de 10^7 ufc/ml.

Se prepararon nueve cápsulas de Petri con agar solidificado y a cada una de ellas se le hicieron perforaciones de 3 mm de diámetro por placa, y se le añadieron 0,05 mL de aceite esencial diluido al 25% (0,75 mL de tween 80 y 0,25 mL de aceite esencial de Mejorana), luego las placas se incubaron a 37,5°C por 24 horas para medir con un vernier el halo de inhibición del crecimiento bacterial.

El Tween 80 es un medio inerte y fue usado para diluir el aceite esencial en concentraciones de 50 y 25% (v/v).

Resultados y discusión

La cromatografía de gases acoplada a la espectrometría de masas (CG/MS), permitió la separación, identificación y comparación de la calidad de los aceites estudiados según su origen y método de extracción (cuadro 1). Los constituyentes están ordenados según su índice de retención (IR), indicando además su porcentaje de área (%A).

En el cuadro 1 se muestra que el mayor número de compuestos iden-

and 0.05 ml of essential oil diluted to 25% (0.75 mL of tween 80 and 0.25 mL of essential oil of Mejorana) were added, after plates were incubated to 37.5°C during 24 hours for measuring with a vernier the inhibition halo of the bacterial growing.

The Tween 80 is a inert medium and it was used for diluting the essential oil in concentrations of 50 and 25% (v/v).

Results and discussion

The GC-MS analysis permitted, separation, identification, and comparison of oils obtained from different sites and using different extraction methods. Table 1 presents the percentage composition of each the oil with the compounds ordered according to its retention indices (RI).

Table 1 shows that hydrodistillation yielded 26 compounds for samples from Mérida (AEPHEM) and 25 for those of Tachira (AEPHET) while only 14 were obtained by steam

Distillation (AEPACET). 3-cyclo-hexen-1-ol was the most abundant component of the oil obtained by hydrodistillation (42% for Merida's oil, and 29% for Tachira's) but it was absent on the oil obtained by steam distillation. On the other hand g-terpinene concentration was 11.1%, 13.6%, and 3.3% respectively.

The sesquiterpene *t*-sabinene-hydrate (50.3%) and terpineol.4 (29.5%) were the most abundant components of the oil obtained by steam distillation. These results agree with previous reports (6, 7, 19, 20) obtained in studies concerning

Cuadro 1. Comparación de los aceites esenciales de *O. majorana* de los estados Mérida y Táchira.

Table 1. Comparison of essential oils of *O. majorana* from Merida and Tachira states.

Compuesto	IR	AEPHEM (%A)	AEPHET (% A)	AEPACET (% A)
α - Tujeno	931	0,18	0,24	
α - Pineno	939	0,23	0,24	
β - Pineno	973	0,12	1,36	
Sabineno	976	3,09	3,34	1,79
β - Mirceno	991	0,79	0,16	0,55
α - Felandreno	1003	0,89		
α - Terpineno	1018	6,98	8,85	1,63
p- Cimeno	1025	2,52		
β - Felandreno	1030		2,91	1,34
1 - Terpeneol	1134	0,69		
Trans-b- Ocimeno	1050	0,15	0,19	
γ - Terpineno	1062	11,11	13,60	3,29
Cis-Sabineno hidrato	1068	14,76	5,50	
α - Terpinoleno	1088	2,91	3,29	0,73
Linalool	1093	4,61	3,81	
Trans - sabineno hidrato	1097		3,13	50,29
P-Ment - 2- sabineno en - ol	1146			1,42
2-Ciclo-hexen -1-ol		0,89	2,04	
Endo-Borneol	1165		0,18	
3- Ciclo-hexen-1-ol		41,69	28,91	
Terpeneol - 4	1177			20,49
α -Terpeneol	1189	8,53		
Trans -Piperitol	1196	1,25	0,53	
Cis-Dihidrocarvona	1201	0,51		
1 - Felandreno	1203		0,21	
Cis - Piperitol	1208		0,32	
Linalil propionato			4,51	5,09
Trans- Geraniol	1255	0,29		
Linalil acetato	1257		2,83	
Neril acetato	1365	0,29	0,32	
Geranil acetato	1383	0,55		
β - Cariofileno	1419	0,87		
Trans - Cariofileno	1428		0,89	1,00
Viridiflorol	1590	0,27		
Biciclogermacreno	1498	1,00	1,50	2,20
Porcentaje de área total		91,66	98,44	96,46
Número de compuestos		26	25	14

IR: Índice de Retención, AEPH EM: Aceite esencial del Estado Mérida extraído por hidrodestilación.

AEPH ET: Aceite esencial del Estado Táchira extraído por hidrodestilación. AEPACV ET: Aceite esencial del Estado Táchira extraído por arrastre con vapor.

CG-MS: Cromatografía de gases – masas

tificados (26) se logró por hidrodestilación AEPHEM, seguido por AEPHET (25) y AEPACV ET (14); los componentes en mayor proporción en los aceites esenciales obtenidos por AEPHEM, AEPHET y AEPACVET fueron: 3 ciclo hexen-1-ol (42%, 29% y 0% respectivamente); g-terpineno: 11; 14 y 3% respectivamente.

El sesquiterpeno trans sabineno hidrato (50%) y el alcohol terpineol-4 (20%) solo se detectaron en AEPACVET. Estos resultados concuerdan con investigaciones previas (6, 7, 19,20) sobre la aplicación y resultados de técnicas de extracción de aceites esenciales de especies de orégano de diferente origen.

Con el procedimiento de AEPHET se obtuvo el mayor porcentaje de área identificada (98,44%) seguida de AEPACVET (96,46%) y AEPHEM (91,99%). Así mismo, la técnica en AEPACVET permitió detectar selectivamente el terpeno α - felandreno (1,34%) y el alcohol terpineol -4 (20,49%).

A diferencia de los aceites esenciales de *O. majorana* estudiados en Turquía (5) estos aceites no contienen carvacrol compuesto no deseado en los aceites esenciales.

En el cuadro 2 se reseñan los compuestos de la familia de hidrocarburos terpénicos presentes en los aceites esenciales investigados.

A pesar de que la hidrodestilación permite extraer el mayor número de compuestos AEPHET (15) y AEPHEM (14), se obtuvo el mayor porcentaje de área con AEPACVET (69,66%) por arrastre con vapor. Mediante este procedimiento se detectan pocos terpenos de

extraction techniques on organ essential oil of different origins.

It was possible to identify 98.4% of the oil from Merida and 96.55 of the oil from Táchira obtained by hydrodistillation while it was only possible to identify 92.0% of the oil from Táchira obtained by steam distillation. It was possible to detect 1.3% of a-phellandrene in the oil obtained by steam distillation.

The Venezuelan oil from *O. majorana* do not contain carvacrol, which is an undesirable component present in the oil from Turkey (5).

On Table 2 are shown the terpene hydrocarbons present in the Venezuelan oils studied. In spite that hydrodistillation permitted to obtain the highest number of terpene hydrocarbons (14, 31.2% AEPHEM, and 15, 54.7% AEPHET) while only 11 compounds of this type were detected in the oil obtained by steam distillation, the total concentration of hydrocarbons was higher (69.7%) by this last method of extraction. Previous studies (13) have reported different proportions of monoterpenes and sesquiterpenes in oils obtained by steam distillation.

Table 3 shows the oxygen containing compounds fraction which accounted for 60.8% (EOHD MS), 43.8% (EOHD TS), and 27.0% (EOSD TS). Steam distillation does not favor extraction of a large number of compounds but allows the selective extraction of terpinen-4-ol (20.5%). On the other hand, linalyl acetate, a very fragrant component used in perfumery, was only detected in the oil from Táchira extracted by hydrodistillation (2.8%). The total amount of esters was

Cuadro 2. Hidrocarburos terpénicos del aceite esencial de *O. majorana* de los Estados Mérida y Táchira.

Table 2. Terpene hydrocarbons of the essential oil of *O. majorana* located in the Merida and Tachira states.

Compuesto	IR	AEPHEM (%A)	AEPHET (% A)	AEPACET (% A)
α - Tujeno	931	0,18	0,24	
α -Pino	939	0,23	0,24	
β -Pino	973	0,12	1,36	
Sabineno	976	3,09	3,34	1,79
β - Mirreno	991	0,79	0,16	0,55
α -Felandreno	1003	0,89		
p - Cimeno	1025	2,52		
β - Felandreno	1030		2,91	1,34
Trans-b- Ocimeno	1050	0,15	0,19	
α -Terpineno	1062	6,98	8,85	1,63
γ - Terpineno	1062	11,11	13,60	3,29
1 - Felandreno			0,21	
Cis-Sabineno hidrato	1068		14,76	5,50
α - Terpinoleno	1088	2,91	3,29	0,73
Trans -sabineno hidrato	1097		3,13	50,29
β - Cariofileno	1419	0,87		
Trans - Cariofileno	1428		0,89	1,00
Biclogermacreno	1498	1,00	1,50	2,20
Porcentaje de área total		31,17	54,67	69,66
Número de compuestos		14	15	11

IR: índice de retención, AEPHEM: Aceite esencial del Estado Mérida extraído por hidrodestilación,

AEPH ET: Aceite esencial del Estado Táchira extraído por hidrodestilación. AEPACV ET: Aceite esencial del Estado Táchira extraído por arrastre con vapor

CG-MS: Cromatografía de gases – masas

bajo peso molecular, frente a una abundancia de sesquiterpenos en AEPACVET (66,69%). En estudios previos (13) se ha reportado diferente proporción de terpenos livianos con respecto a la fracción pesada de sesquiterpenos en aceites esenciales extraídos por arrastre con vapor.

En el cuadro 3 se presentan los

higher in the oil from Táchira (3.1%) than in the oil from Merida (0.8%). The ester content is used as criteria for essential oil quality (21) independently from origin and extraction method. The oxygen containing fraction is rich in alcohol (60.8%, AEPHEM; 43.8%, AEPHET; and 27.0%, AEPACET). It is important to emphasize that steam

Cuadro 3. Componentes oxigenados del aceite esencial de *O. majorana*.**Table 3. Oxygenate compounds of the essential oil of *O. majorana*.**

Compuesto	IR	AEPHEM (%A)	AEPHET (% A)	AEPACET (% A)
Linalool	1093	4,61	3,81	
Terpineol – 4	1117			20,49
1 - Terpineol	1134	0,69		
p-ment – 2 en - ol	1146			1,42
2-Ciclo-hexen -1-ol		0,89	2,04	
Endo - Borneol	1165		0,18	
3- Ciclo-hexen-1-ol		41,69	28,91	
α -Terpineol	1189	8,53		
Cis - Piperitol	1193		0,32	
Piperitol		1,25		
Cis-Dihidrocarvona	1201	0,51		
Linalil propionato			4,51	5,09
Trans –Piperitol	1205	1,25	0,53	
Trans- Geraniol	1255	0,29		
Lavandulil acetato	1289		0,32	
Neril acetato	1365	0,29	0,32	
Geranil acetato	1383	0,55		
Linalil acetato			2,83	
Viridiflorol	1590	0,27		
Porcentaje de área total		60,82	43,77	27,00
Número de compuestos		12	11	3

IR: Índice de retención, AEPH EM: Aceite esencial del Estado Mérida extraído por hidrodestilación,

AEPH ET: Aceite esencial del Estado Táchira extraído por hidrodestilación. AEPACV ET: Aceite esencial del Estado Táchira extraído por arrastre con vapor.

CG-MS: Cromatografía de gases – masas

compuestos que forman la fracción oxigenada de los aceites extraídos por AEPHEM, AEPHET y AEPACVET: (60,82%; 43,77% y 27% respectivamente).

El procedimiento de extracción por arrastre con vapor no favorece el número de compuestos identificados (3) ni el porcentaje de área (27%); sin embargo, extrae selectivamente al

distillation oil did not contain any acetate ester compound.

The diffusion method used indicated that biological activity of the oil is moderate as shown on table 4. *Escherichia coli* showed the larger inhibition halo (23 mm), followed by *staphylococcus aureus* (16 mm), and *Pseudomonas sp* (14 mm). The biological activity of *Mejorana's* oil could

alcohol terpineol-4 (20,49%). El éster linalil acetato compuesto muy fragante usado en perfumería solo se detectó en AEPHET (2,83%).

La sumatoria de ésteres resultó mayor en el aceite proveniente del estado Táchira (3,15%) que en el del estado Mérida (0,84%). Esa diferencia de contenido de ésteres es empleada como criterio para clasificar la calidad de los aceites esenciales (21) independiente del origen del aceite y del proceso de extracción. La fracción oxigenada es abundante en alcoholes AEPHEM (60,82%), AEPHET (43,77%) y AEPACVET (27,00%). Es importante destacar que por AEPACVET no se detectaron ésteres.

Como se observa en el cuadro 4 la actividad del aceite esencial estudiado es moderada cuando se usó el método de difusión. *Escherichia coli* presentó el mayor diámetro de inhibición (23mm) seguido por *Staphylococcus aureus* (16mm) y *Pseudomonas sp.* (14 mm).

La actividad biológica del aceite esencial de mejorana frente a *E. coli*, *S. aureus* y *Pseudomonas sp.* podría atribuirse a la presencia de hidrocarburos terpénicos (22)

En los resultados se observó la

be attributed to the presence of terpenyl hydrocarbons (22).

When dilution in agar was used, absence of bacteria growth was observed, since this method favors penetration of oil components into the micro organisms producing total inhibition of growth (23).

Conclusions

Chemical composition of the oil of *Origanum majorana* depends on the origin of the plants. This difference is observed even if the same method of extraction is used. Composition differences were larger when steam distillation was used. Hydrodistillation permitted to obtain oils rich in oxygen containing terpenes (60.8% and 43.8%). It is a simple, reproducible, economical, and fast procedure. Oils containing a high proportion of esters, like those coming from Táchira State, have a potential use in the perfumery industry (21, 24).

Oil of *O. majorana* has bactericidal activity on gram positive (*S. aureus*) and gram negative (*E. coli* and *Pseudomonas sp.*) micro organisms.

End of english version

Cuadro 4. Actividad biológica del aceite esencial de *O. majorana* por el método de difusión.

Table 4. Biological activity of the essential oil of *O. majorana* by the diffusion method.

Bacteria	Diámetro de inhibición promedio (mm)
<i>Escherichia coli</i> (Gram -)	23
<i>Staphylococcus aureus</i> (Gram +)	16
<i>Pseudomonas sp.</i> (Gram -)	14

ausencia de crecimiento bacteriano al aplicar la dilución en agar, ya que el método de dilución del aceite esencial favorece la entrada del aceite al interior de los microorganismos inhibiendo completamente su crecimiento (23).

Conclusiones

La composición química de los aceites esenciales de *O. majorana* de diferente origen y extraídos por hidrodestilación y arrastre con vapor difieren en algunos compuestos. La hidrodestilación permite obtener aceites con gran proporción de compuestos oxigenados (60,82 y 43,77%); además, es un procedimiento sencillo, reproducible, económico y rápido. Aceites con gran proporción de ésteres como el proveniente del estado Táchira son de potencial uso en perfumería (21,24).

La actividad biológica demuestra que el aceite de *O. majorana* tiene acción bactericida sobre microorganismos gram positivos (*S. aureus*) y gram negativos (*E. coli* y *Pseudomonas* sp.)

Literatura citada

1. Font Quer, P. 1973. Plantas medicinales, El Dioscorides Renovado. Barcelona. Editorial Labor. España. p.167
2. Buchbauer, G. (1993). Biological Effects of Fragrances and Essential Oils. *Perfum & Flav.* 21 (3):31-36.
3. Bandoni, A. 2000. Los recursos aromáticos en Latinoamérica. Edit. de la Universidad Nacional de la Plata. (U.N.L.P.) Argentina. p. 156, 285-290.
4. Lawless, J. 1992. The Encyclopedia of

essential oils. Published in USA, by Elements books. Inc. Great Britain. 126-27 p.

5. Baser, K.H.C. y J. Kirimer. 1993. Composition of the Essential Oil of *Origanum majorana* L. from Turkey. *J. Essential Oil. Res.* 5:577-579.
6. Barazandeh, M. M. 2001. Essential Oil Composition of *Origanum majorana* L. from Iran. *J. Essent Oil Res.*, 13:76-77.
7. Albornoz, A.R. 1995. Medicina tradicional herbaria. Guía de fitoterapia. Editorial Instituto Fármaco Terápico - Latino S.A. Caracas. 45 p.
8. Dominguez, X. 1973. Métodos de Investigación Fitoquímica. Editorial Limusa, México p. 229-239.
9. Dhar, R.S. y Dhar, H.K. 1997. Ontogenetic Variation in leaf length, oil and herbage yield in five genotypes of *Cymbopogon citrates* (Jones). *Indian Perfumer* 41:85-90.
10. Chalchat, J., R. Garry y J. Muhayimana. 1995. Essential oil of *Tagetes minuta* from Ruanda and France: chemical composition according harvesting, location, growth stage and part extracted. *J. Essent. Oil. Res.* 7:375-386.
11. González de C.N., R.G. de Ojeda, A. Prieto y O. Crescente. 1998. Phytoconstituents and antimicrobial activity of *Melaleuca leucadendron* leaf essential oil from Venezuela. *Ciencia.* 6 (2):123-128.
12. Ojeda de R. y C.N. de González. 1998. Composition of Venezuelan Lemon essential oil *Citrus lemon* Rev. de la Fac. Agron. (LUZ).15:343-349.
13. Quintero, A., C.N. de González y E. Stachenko. 2004. Aceite esencial de las hojas de *Hyptis umbrosa* Salzm. extraído por diferentes técnicas, *Acta Científica Venezolana*, 55:81-187
14. Muñoz, F. 1996. Plantas Medicinales y aromáticas. Edit. Mundi Prensa Madrid. 224-227 p.

15. Novak, J., F. Pank, W. Bluthner, C. Vender, L. Van Niekerk, W. Junghan y F. Chlodwig. 2004. Determination of growing location of *marjoram* (*Origanum majorana* L.) samples by comparison of essential oil profiles. *Flav. and Fragr.* 19:263-267.
16. Baranauskienė, R., P.R. Venskutonis y J.C.R. Demyttenaere. 2005. Sensory and instrumental evaluation of sweet marjoram (*O. majorana* L.) aroma. *Flav. and Fragr.* 20:492-500
17. Sánchez, M.P. 1986. Manual de Procedimientos en Bacteriología Clínica. 1ra. Edición. Editorial Presencia. Ltda. Bogotá. 143 p.
18. Rondón, M., J. Velasco, A. Morales, J. Rojas, J. Carmona, M. Gualteri y V. Hernández. 2005. Composition and antibacterial activity of the essential oil of *Salvia leucantha* Cav. cultivated in Venezuela Andes. *Revista Latinoamericana de Química*, 33 (1):40-44.
19. Novak, J., J. Langebehn, F. Pank y C. Franz. 2002. Essential oil compounds in historical sample of majorana (*Origanum majorana* L. Lamiaceae). *J. Flav. and Fragr.* 17:175-180.
20. Ravid, U., N. Dudai y E. Lewinsohn. 2001. Thujane monoterpenes in *Oreganum* species. Abstracts of World Conference on Medicinal and Aromatic Plant, Hungary. P. 45
21. Gaydau, E., R. Randriamiharizoa, J. Bianchi y J. Llinas. 1998. Multidimensional data analysis of Essential Oil./ Application to Ylang – Ylang (*Cananga odorata* Hook fil. Et Thomsom, form genuina) grades classification. *J. Agric. Food Chem.* 36:574-579
22. Balchin M.L., S.G. Deans y E. Eaglesham. 1998. Relationship between Bioactivity and Chemical Composition of Commercial Essential Oil. *J. Flav. Fragr.* 13:98-104
23. Chao, S.C. y D.G. Young. 2000. Screening for Inhibitory Activity of Essential Oils on Selected Bacteria, Fungi and Viruses *J. Essent. Oil Res.*, 12:639-649
24. Staschenko, E.N. Quiroz y J. Martinez. 1996. HRGC/FID/NPD and HRGC/MSD Study of Colombian Ylang-Ylang (*Cananga odorata*) oils obtained by different extraction techniques. *J. High Resol. Chromatogr.* 19:353-358.