

Composición química y actividad antibacteriana de aceites esenciales de *Thymus vulgaris* L. sobre *Salmonella* spp.

Chemical Composition and Antibacterial Activity of Essential Oils of *Thymus Vulgaris* L. on *Salmonella* spp.

Karen Piedad Martínez Marciales¹ <https://orcid.org/0000-0001-9528-4066>

Javier Andrés Soto¹ <https://orcid.org/0000-0002-4786-3431>

Elysa Josefina Salas-Osorio^{2*} <https://orcid.org/0000-0002-9315-7351>

¹Universidad de Santander. Facultad de Ciencias Médicas y de la Salud, Instituto de Investigación Masira. Cúcuta, Colombia.

²Universidad de Los Andes, Facultad de Odontología, Grupo de Investigaciones en Biopatología. Mérida, Venezuela.

*Autor para la correspondencia: elaysalas72@gmail.com

RESUMEN

Introducción: Los aceites esenciales son una mezcla compleja de compuestos con numerosos usos industriales. Dentro de las plantas aromáticas con valor medicinal, *Thymus vulgaris* L. es un subarbusto perenne de la familia *Lamiaceae*, se utiliza como saborizante y conservante con actividad antiséptica y antimicrobiana. *Salmonella* spp. es un enteropatógeno gramnegativo que produce salmonelosis, una enfermedad transmitida por alimentos con un notorio incremento en los últimos años.

Objetivo: Estudiar la composición química y la actividad antibacteriana de aceites esenciales de *Thymus vulgaris* L sobre *Salmonella enteritidis* ATCC 17036 y *Salmonella paratyphi A* ATCC 9150.

Métodos: Se utilizaron dos aceites esenciales de *Thymus vulgaris* L: uno importado, producto de las flores de *Thymus vulgaris* y *Thymus zygis* y otro aceite experimental que se obtuvo de las hojas, flores y tallos de *Thymus vulgaris*. La identificación

presuntiva de los compuestos se realizó mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas. Para la actividad antimicrobiana preliminar se utilizó el método de difusión en agar y el método de macrodilución en caldo para obtener la concentración inhibitoria mínima y la concentración bactericida mínima.

Resultados: En el aceite comercial se identificaron plenamente 19 componentes, los mayoritarios fueron timol (45,3 %) y p-cimeno (30,3 %); mientras que en el experimental se encontraron 33 componentes e identificaron plenamente 32 (97 %) siendo p-cimeno (43,8 %) el más predominante. La muestra comercial exhibió inhibición de *Salmonella paratyphi A* a 4,625 mg/mL respecto a eEO que requirió 5,5 mg/mL para inhibir a *Salmonella enteritidis*.

Conclusiones: Químicamente se observaron diferencias en los compuestos presentes en los aceites estudiados, lo que puede estar relacionado con la parte de la planta utilizada para su obtención. Ambas especies de *Salmonella* mostraron susceptibilidad a concentraciones relativamente bajas respecto a la dosis tóxica reportada, lo que cataloga al aceite esencial de *Thymus vulgaris* como un potencial bioterapéutico.

Palabras clave: *lamiaceae*; tomillo; *Thymus vulgaris*; timol; p-cimeno; actividad antibacteriana; *Salmonella*.

ABSTRACT

Introduction: Essential oils are a complex mixture of compounds with numerous industrial uses. Among the aromatic plants with medicinal value, *Thymus vulgaris* L. is a perennial subshrub of the family Lamiaceae, used as a flavoring and preservative with antiseptic and antimicrobial activity. *Salmonella* spp. is a gram-negative enteropathogen that causes salmonellosis, a foodborne disease with a notorious increase in recent years.

Objective: To study the chemical composition and antibacterial activity of essential oils of *Thymus vulgaris* L on *Salmonella enteritidis* ATCC 17036 and *Salmonella paratyphi A* ATCC 9150.

Methods: Two essential oils of *Thymus vulgaris* L were used: one imported, product of the flowers of *Thymus vulgaris* and *Thymus zygis* and another experimental oil obtained from the leaves, flowers and stems of *Thymus vulgaris*. Presumptive

identification of the compounds was performed by gas chromatography coupled to mass spectrometry. For preliminary antimicrobial activity, the agar diffusion method and the broth macrodilution method were used to obtain the minimum inhibitory concentration and the minimum bactericidal concentration.

Results: In the commercial oil, 19 components were fully identified, the major ones were thymol (45.3 %) and p-cymene (30.3 %); while in the experimental one, 33 components were found and 32 (97 %) were fully identified, being p-cymene (43.8 %) the most predominant. The commercial sample exhibited inhibition of *Salmonella paratyphi A* at 4.625 mg/mL with respect to eEO which required 5.5 mg/mL to inhibit *Salmonella enteritidis*.

Conclusions: Chemically, differences were observed in the compounds present in the oils studied, which may be related to the part of the plant used to obtain them. Both *Salmonella* species showed susceptibility at relatively low concentrations with respect to the reported toxic dose, which catalogs the essential oil of *Thymus vulgaris* as a potential biotherapeutic.

Keywords: lamiaceae; thyme; *Thymus vulgaris*; thymol; p-cymene; antibacterial activity; *Salmonella*.

Recibido: 21/05/2022

Aceptado: 23/06/2022

Introducción

Los aceites volátiles, aceites esenciales o simplemente esencias son las sustancias aromáticas naturales responsables de las fragancias de las flores y otros órganos vegetales que son sintetizadas y segregadas por determinadas estructuras histológicas especializadas, localizadas con frecuencia en la proximidad de la superficie de la planta.⁽¹⁾ En la actualidad, solo se emplea esta definición si se obtienen mediante arrastre en corriente de vapor de agua o por expresión del pericarpio en el caso de los cítricos.⁽²⁾ En el mundo vegetal están muy extendidas en numerosas

especies botánicas, siendo especialmente abundantes en las coníferas, *Lamiáceas*, *Apiáceas*, *Mirtáceas*, *Rutáceas* y *Asteráceas*. A ellas se les atribuyen variadas funciones en las plantas como protección frente a insectos y herbívoros, adaptación frente al estrés hídrico y son de gran importancia en la polinización, debido a que constituyen elementos de comunicación química por su volatilidad y marcado olor.^(1,2)

Dentro de las plantas aromáticas con valor medicinal, el género *Thymus* contiene aproximadamente 220 especies de hierbas aromáticas y subarbustos de 40 cm de alto. Su nombre proviene del griego *thymus* que significa fuerza o coraje. La especie más conocida es el *Thymus vulgaris* (tomillo), un arbusto perenne perteneciente a la familia de las labiadas.⁽³⁾

El tomillo es una planta aromática de 10 a 30 cm de altura, con tallos leñosos, hojas de color verde grisáceo, opuestas, pequeñas enteras, lineales o elípticas, pecioladas o sésiles, flores rosadas o blancas pequeñas e inflorescencias terminales densas o laxas, caracterizadas por poseer hojas ligeramente mayores que la de los tallos no floríferos.⁽⁴⁾ Su origen es mediterráneo, pero es posible encontrarlo en diferentes lugares del planeta, aunque prefiere los terrenos secos, soleados y calcáreos.⁽⁵⁾ Dentro de la composición química del tomillo se encuentran compuestos tales como timol, carvacrol, cimol, alcoholes como el borneol y linalol; terpenos como terpineno y cimeno; flavonoides, fenoles y ácidos como el ácido cafeico, ácido rosmarinico, vitamina B1, vitamina C, manganeso, taninos, saponinas, triterpenoides, presenta aminoácidos como la cistina, valina, glicina e isoleucina; además de minerales como el aluminio, calcio, cobalto y magnesio en las hojas y el hierro en la planta.^(1,5)

Se conoce desde la antigüedad que el hombre ha usado el tomillo con fines terapéuticos y culinarios, de hecho, se sabe que se cultivan con fines ornamentales, además tienen gran importancia en la industria de la perfumería pues de ellos se obtienen esencias.⁽⁶⁾ Los egipcios lo empleaban en los procesos de momificación y como infusión energizante y antiséptico en las heridas de los guerreros. El aceite esencial de tomillo presenta una gran variedad de propiedades y beneficios como antiséptico en infecciones bucales, genitourinarias y de tracto respiratorio; se

ha encontrado acción anticongestiva, antiparasitaria como un buen vermífugo y también a nivel estético.⁽⁷⁾

Los aceites esenciales han sido estudiados por sus propiedades antimicrobianas. En las bacterias pasan a través de la pared celular y la membrana citoplásmica, rompen la estructura de las diferentes capas de polisacáridos, ácidos grasos y fosfolípidos y los permeabilizan, también pueden coagular el citoplasma y dañar los lípidos y las proteínas generando un daño a la pared celular y así la membrana puede provocar la fuga de macromoléculas y como producto final la lisis.⁽⁸⁾

Se reconoce que las bacterias Gram negativas son generalmente menos susceptibles a los aceites esenciales que las bacterias Gram positivas, hecho que se ha relacionado a las diferencias estructurales en la membrana externa de las bacterias Gram negativas que contienen lipopolisacáridos hidrófilos, que sirven de barrera a macromoléculas y compuestos hidrófobos, proporcionándoles una mayor tolerancia hacia compuestos antimicrobianos hidrófobos como los que se encuentran en los aceites esenciales.⁽⁹⁾

Salmonella spp. es un enteropatógeno gramnegativo que se transmite a los humanos a través de alimentos o agua contaminada produciendo salmonelosis, una enfermedad transmitida por alimentos, con un notorio incremento en los últimos años.^(9,10)

Dentro del género *Salmonella* se han descrito más de 2600 serovares en 2 especies: *S. bongori* y *S. enterica*. Esta última se subdivide en 7 subespecies y los serovares patógenos para el humano pertenecen a la subespecie entérica. Los serovares *typhimurium* y *enteritidis* se recuperan a nivel mundial de cuadros de gastroenteritis y tienen un amplio rango de hospederos, mientras que los serovares *typhi* (restringido al humano como único hospedero), *sendai* y *paratyphi* A, B, C causan fiebre tifoidea.⁽¹¹⁾ La frecuencia con la que se presentan determinados serotipos de *Salmonella* spp., así como su perfil de resistencia a antibióticos en distintas especies animales, suele variar espacial y temporalmente.⁽¹²⁾ De ahí la importancia de estudiar la composición química y la actividad antibacteriana de aceites esenciales de *Thymus vulgaris* L sobre *Salmonella enteritidis* ATCC 17036 y *Salmonella paratyphi* A ATCC 9150.

Métodos

Para el estudio se utilizaron dos aceites esenciales de tomillo que se obtuvieron mediante el método de destilación por arrastre de vapor, un aceite comercial (cEO) 100 % puro, producto de las flores de dos variedades de tomillo blanco (el tomillo vulgar o común *Thymus vulgaris* y el tomillo salsero *Thymus zygis*) y un aceite esencial experimental (eEO) que se obtuvo a partir de hojas, flores y tallos de tomillo vulgar *Thymus vulgaris*, proveniente de la población de Chinácota, al Norte de Santander, que se adquirió en un local comercial mayorista ubicado en el sector Atalaya de la ciudad de Cúcuta. Se empleó una planta piloto con capacidad de 25 kg de la Universidad de Pamplona, extensión Villa del Rosario, al Norte de Santander, Colombia.

La determinación de la composición volátil, cantidad relativa, porcentaje e identificación presuntiva de la muestra se llevó a cabo mediante cromatografía de gases con detector selectivo de masas (GC-MS), operado en el modo de barrido completo de radiofrecuencias (*full scan*). Se preparó una dilución de la muestra e inyectó al equipo AT 6890 Series Plus (Agilent Technologies, Palo Alto, California, EE. UU.), acoplado a un detector selectivo de masas (Agilent Technologies, Palo Alto, California, EE. UU.) MSD 5975 en modo Split (30:1), Viny = 2 µL, según el procedimiento CM-PTSE-04, versión 01, 2014-04-04; basado en la norma ISO 7609:1985.⁽¹³⁾

La columna empleada en el análisis fue DB-5MS (J & W Scientific, Folsom, CA, EE. UU.) (5 %- fenil_poli(dimetilsiloxano), 60 m x 0,25 mm x 0,25 µm). La identificación presuntiva de cada compuesto se realizó mediante la comparación de los espectros de masas obtenidos con los depositados en las bases de datos espectrales Wiley⁽¹⁴⁾; CHEMDATA.NIST.GO⁽¹⁵⁾ y Adams⁽¹⁶⁾. Así mismo, se compararon los tiempos de retención para cada pico con los tiempos de retención hallados en la bibliografía para aceite esencial de tomillo obtenido mediante GC-MS acoplados con columnas tipo DB-5 o similares.

La actividad antibacteriana se determinó por el método de difusión en disco con algunas modificaciones. Se emplearon las cepas de referencia *Salmonella enterica* subsp., *enterica* serovar *enteritidis* ATCC 17036 y *Salmonella enterica* subsp.,

enterica serovar *Paratyphi A* ATCC 9150, pertenecientes al cepario de la Universidad de Pamplona, Colombia. Cada cepa fue reactivada en caldo tripticasa de soya (BBL) e incubada a 37 °C por 24 h y su pureza fue comprobada macroscópica y microscópicamente.

A partir de los cultivos obtenidos se preparó una suspensión bacteriana de cada cepa, equivalente a la turbidez 0,5 del nefelómetro de Mac Farland. Paralelamente se prepararon por triplicado, placas de Petri con agar Mueller-Hinton (BBL), las cuales fueron inoculadas por hisopado con la suspensión estandarizada de las cepas de *Salmonella* de prueba y se dejaron reposar durante 5 min. Por otra parte, se prepararon diluciones del aceite esencial de tomillo al 10 %, 20 %, 30 %, 40 % y 50 % en etanol, con las que fueron impregnados discos de papel filtro estériles de 6 mm de diámetro a razón de 30 µL por cada concentración, y se dejaron reposar por 15 min. Con posterioridad se ubicaron los discos de papel filtro impregnados, sobre la superficie de agar Mueller Hinton inoculada y se incubaron por 15 min a 4°C para así permitir la predifusión de los aceites esenciales.

Por último, las placas fueron incubadas a 37 °C durante 18 h. Concluido el tiempo se realizó la lectura de los resultados midiendo el diámetro de los halos de inhibición con un vernier. Los resultados fueron interpretados de acuerdo con la clasificación propuesta por *Celikel y Kavas*⁽¹⁷⁾ en 2008 a saber, menor de 8 mm = no sensibles; entre 9 y 14 mm = sensibles + entre 15 y 19 mm = muy sensibles ++; mayor a 20 mm = extremadamente sensibles +++.

Se utilizó amoxicilina como control positivo, agua destilada estéril negativo y se validó la ausencia de efecto bactericida del etanol sobre las cepas. Una vez verificada la actividad antibacteriana se procedió a la determinación de la concentración inhibitoria mínima (CIM), a través del método de macrodilución en caldo.⁽¹⁸⁾ Para este ensayo fueron suplementados tubos de caldo nutritivo (BBL) estéril con volúmenes del aceite esencial necesario para obtener la concentración deseada, 0,1 mL de la suspensión bacteriana y 0,5 McFarland de los monitores biológicos en prueba, respectivamente. Los tubos se incubaron a 37°C durante 18 h. Además, se prepararon tubos con amoxicilina y sin inocular como controles. Se consideró como CIM la menor concentración en la que no se observó presencia crecimiento de las bacterias

(turbidez) en cualquiera de los triplicados.

Para el tratamiento estadístico de los datos, la evaluación estadística se realizó mediante análisis de varianza ANOVA/MANOVA, y se empleó la prueba de múltiples rangos de Tukey-HSD para la comparación de medias y encontrar diferencias estadísticamente significativas a un valor $p < 0,05$, empleando el software Statgraphics Centurion XV.II para Windows.

Resultados

Análisis de composición química

La tabla 1 exhibe la composición química de los aceites esenciales evaluados y obtenidos mediante cromatografía de gases con detector selectivo de masas (GC-MS). Se muestra el tiempo de retención expresado en minutos, el componente identificado tentativamente y la cantidad relativa (% de abundancia).

Para el aceite esencial comercial importado (cEO) se encontraron 19 compuestos, los cuales fueron identificados plenamente y cuya abundancia relativa del 80 % quedó representada por dos componentes mayoritarios: timol (45,3 %) y *p*-Cimeno (30,3 %) y una menor proporción de γ -Terpineno (8,4 %). Mientras que para el aceite esencial obtenido en laboratorio se encontraron 33 componentes, de los cuales se identificaron plenamente 32 (97 %), con una composición relativa que varió sustancialmente, siendo representada mayoritariamente por el *p*-Cimeno (43,8 %) y en menor proporción por el *trans*- β -cariofileno (6,2 %), timol (5,7 %), α -pineno y limoneno (4,2 % cada uno).

Tabla 1 - Identificación presuntiva y cantidad relativa (% abundancia) de los componentes presentes en el aceite esencial de flores de tomillo comercial y experimental

Pico	Aceite esencial comercial (cEO)			Pico	Aceite esencial experimental (eEO)		
	tR (min)	Compuesto	Abundancia relativa (%)		tR (min)	Compuesto	Abundancia relativa (%)
1	16,88	α -tujeno	0,1	1	16,88	α -tujeno	1,1
2	17,25	α -pineno	1,2	2	17,25	α -pineno	4,2
				3	18,02	canfeno	1,3
---	---	---	---	4	18,99	sabineno	0,2
3	19,25	β -pineno	0,3	5	19,25	β -pineno	0,7

4	19,62	β -mirceno	0,1	---	---	---	---
				6	20,45	α -felandreno	0,3
5	20,56	s-3-careno	0,1	---	---	---	---
6	20,91	α -terpineno	0,3	7	20,91	α -terpineno	1,7
7	21,32	p-cimeno	30,3	8	21,26	p-cimeno	43,8
8	21,46	limoneno	0,6	9	21,54	limoneno	4,2
9	21,56	β -felandreno	0,2	10	21,61	α -felandreno	1,3
10	21,62	1,8-cineol	0,4	11	21,66	1,8-cineol	2,1
11	22,69	γ -terpineno	8,4	12	22,65	γ -terpineno	1,9
---	---	---	---	13	23,79	terpinoleno	0,6
---	---	---	---	14	23,98	p-cimeno	0,2
12	24,35	linalol	4,1	15	24,32	linalol	2,7
13	27,40	borneol	0,4	16	27,39	borneol	0,1
14	27,65	terpinen-4-ol	0,5	17	27,65	terpinen-4-ol	1,4
15	28,20	α -terpineol	1,6	18	28,18	α -terpineol	0,5
16	31,75	timol	45,3	19	31,63	timol	5,7
17	32,00	carvacrol	2,1	---	---	---	---
18	36,76	Trans- β -cariofileno	3,3	20	39,76	Trans- β -cariofileno	6,2
---	---	---	---	21	37,05	β -copaeno	1,2
19	37,97	α -humuleno	0,4	22	37,97	α -humuleno	0,5
---	---	---	---	23	38,49	γ -muuroleno	2,3
---	---	---	---	24	38,57	ar-curcumeno	1,6
---	---	---	---	25	39,07	NI, compuesto M+ 204	0,7
---	---	---	---	26	39,74	γ -cadineno	1,2
---	---	---	---	27	39,83	s- cadineno	3,3
---	---	---	---	28	39,97	calameneno	1,6
---	---	---	---	29	40,61	α -calacoreno	0,3
---	---	---	---	30	41,745	espatulenol	1
---	---	---	---	31	41,94	óxido de cariofileno	0,9
---	---	---	---	32	45,97	xantorrizol	0,5
---	---	---	---	33	62,36	diisooctil ftalato	4,5

tR = tiempo de retención.

Salmonella paratyphi mostró ser más susceptible, exhibiendo zonas de inhibición a partir de la tercera concentración evaluada para el aceite esencial comercial (cEO) y de la cuarta concentración para el aceite esencial experimental, mientras que *Salmonella enteritidis* solo exhibió halos mayores a 9 mm, representando la concentración del 50 % del aceite esencial comercial (tabla 2).

Tabla 2 - Medidas de los halos de inhibición producidos por los aceites de tomillo sobre *Salmonella* spp

Sustancias	Concentración del aceite esencial (%)	Diámetro halo de inhibición					
		<i>Salmonella paratyphi</i>			<i>Salmonella enteritidis</i>		
		Media	Desviación estándar	Susceptibilidad	Media	Desviación estándar	Susceptibilidad
Aceite esencial comercial	10	4,33 ^b	0,577	(-)	3,00 ^{bc}	1,000	(-)
	20	6,33 ^c	0,577	(-)	5,00 ^d	0,000	(-)
	30	10,00 ^e	0,000	(+)	8,00 ^f	0,000	(-)
	40	12,00 ^f	0,000	(+)	8,67 ^f	0,577	(-)
	50	12,00 ^f	0,000	(+)	9,67 ^g	0,577	(+)
Aceite esencial experimental	10	2,33 ^a	0,577	(-)	1,00 ^a	0,000	(-)
	20	4,00 ^b	1,000	(-)	2,00 ^b	0,000	(-)
	30	7,67 ^d	0,577	(-)	2,33 ^b	0,577	(-)
	40	9,33 ^e	1,155	(+)	3,33 ^c	0,577	(-)
	50	10,33 ^e	0,577	(+)	6,33 ^e	0,577	(-)

*Columnas sin letras en común indican diferencias significativas para un valor $p < 0,05$.

En la tabla 3 se presentan los resultados de la determinación. La concentración mínima inhibitoria (CMI) de los aceites esenciales es expresada en mg/ml, teniendo en cuenta la densidad calculada para cada tipo de aceite, los cuales ratifican los resultados preliminares al obtener valores de CIM menores para el caso de *Salmonella paratyphi*: 4,63 mg/ml para cEO y 5,55 mg/ml para eEO. En el caso de *Salmonella enteritidis* se requirieron concentraciones más altas para lograr el efecto inhibitor estableciéndose una CIM de 5,55 mg/ml para cEO y 7,41 mg/ml para eEO.

Tabla 3 - Patrón de susceptibilidad de *Salmonella* spp. en función de las concentraciones de los aceites esenciales de tomillo evaluados

Aceites esenciales		Concentración mg/ml								
		0,93	1,85	2,76	3,70	4,63	5,55	6,50	7,40	8,30
Aceite esencial comercial	<i>Salmonella paratyphi</i>	+	+	+	+	-	-	-	-	-
	<i>Salmonella enteritidis</i>	+	+	+	+	+	-	-	-	-

Aceite esencial experimental	<i>Salmonella paratyphi</i>	+	+	+	+	+	-	-	-	-
	<i>Salmonella enteritidis</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	-

(+) presencia de turbidez (-) ausencia de turbidez.

Discusión

En la actualidad, la investigación en ciencias de la salud se mantiene en la búsqueda de nuevas opciones para el manejo y control de microorganismos patógenos, donde el uso de productos de origen natural es una de las de mayor auge.⁽¹⁹⁾ Los hallazgos reportados en este estudio demostraron que la composición tanto de cEO y eEO es similar a otros aceites esenciales obtenidos por otros autores, con variación en sus porcentajes, donde la abundancia media de los compuestos puede oscilar para el timol entre el 10 % y 64 %; el *p*-cimeno entre un 10 % y un 56 %; el *Y*-Terpineno en valores de 2 % a 31 %, y puede aparecer el Carvacrol entre un 2 % a un 11 %.

En este sentido, *Boskovic* y otros⁽²⁰⁾ ensayaron un aceite esencial de tomillo y otro de orégano, posicionándose el timol en primer lugar con un 50,48 % de abundancia, seguido del *p*-cimeno con un 24,79 %, linalol con 4,69 %, y *Y*-terpineno con 4,14 %, las cuales son, en su orden, muy similares al presente estudio.

Por otra parte, *Cáceres* y otros (2021)⁽²¹⁾ identificaron 28 compuestos químicos, entre ellos Carvacrol (40,63 %), *o*-cimeno (21,21 %) y sabineno (16,06 %) en tomillo cosechado en invierno y primavera cultivados en Severino (El Carmen, Provincia de Jujuy, República Argentina), concluyeron que por su alto contenido de Carvacrol (40,63 %) este aceite podría ser considerado como aditivo alimentario; ratificando que el cimeno y Carvacrol están biológica y funcionalmente relacionados y soportan la teoría que el timol es formado por vía *p*-cimeno a partir del *Y*-terpineno en *T. vulgaris*, tal como ha sido sugerido por *Costa* (2013)⁽⁵⁾. Por otra parte, el timol (2-isopropil-5-metilfenol) en la muestra comercial de aceite fue el componente mayoritario con un 45,3 %, mientras que en eEO apenas alcanzó un 5,7 %.

Se ha encontrado una relación entre la producción de timol y la presencia o ausencia

de carvacrol. Tal observación pudiera estar relacionada con la ausencia de Carvacrol y el bajo porcentaje de timol observado en eEO.⁽⁷⁾ La menor variabilidad de compuestos identificados en el aceite comercial puede indicar que existe una mayor pureza. Así mismo, debe considerarse que se trata de un aceite esencial obtenido de dos variedades de tomillo en estado floral: el tomillo vulgar o común (*Thymus vulgaris*) y el tomillo salsero (*Thymus zygis*), mediante un método de destilación con vapor en condiciones estandarizadas a escala industrial. A diferencia del aceite esencial experimental que se obtuvo a partir de hojas y tallos secos y frescos de tomillo vulgar, adquirido en el comercio local, desconociendo numerosas condiciones que pueden aportar una menor pureza, menor abundancia de componentes activos y mayor variedad de otros componentes tal y como se ve reflejado en la tabla 1.

En ese orden de ideas, es importante destacar que, aunque la biosíntesis y acumulación del aceite esencial del tomillo está controlada genéticamente,⁽²²⁾ la composición química de estos se ve afectada también por un sinnúmero de factores geográficos, geobotánicos y ambientales, tales como la temperatura, luz, clima, altitud, tipo de suelo y pluviosidad.^(6,23)

También se ha demostrado que condiciones agronómicas como fertilización, densidad de siembra y método de cultivo, influyen en la cantidad y calidad del aceite esencial de tomillo.^(2,5,19) Otro factor que influye en la producción de los metabolitos secundarios es la etapa fenológica, siendo la floración la época de mayor acumulación.^(2,24) Así mismo, la época y modo de recolección de la planta, así como sus partes, manejo del material y proceso de obtención del aceite pueden afectar su composición, de allí que es casi imposible lograr dos aceites esenciales idénticos como resultado del grado de sensibilidad analítica con que se trabaje, siempre se podrá encontrar alguna diferencia entre dos partidas de un mismo aceite esencial, por la época de cosecha, el año, el método de extracción, las condiciones de almacenamiento, etc.⁽²⁴⁾

En general, la composición del aceite esencial de esta especie incluye compuestos como el Timol y Carvacrol, además de *p*-Cimeno, γ -terpineno, linalol, borneol, geraniol y cariofileno.⁽²⁵⁾ Estos compuestos confieren olores, sabores y propiedades químicas

que sitúan al tomillo como una planta muy cotizada en la industria alimenticia, farmacéutica, perfumería y cosmética.

Una de las características y propiedades principales del timol como compuesto fenólico es su potencial bactericida, plaguicida y fungicida, una vez extraído, no tiene un color o sabor desagradable, por lo que actualmente forma parte de los colutorios, enjuagues bucales y pasta de diente. El timol pertenece al grupo de los terpenos, estructuralmente es muy similar a un isómero denominado carvacrol, teniendo el grupo hidroxilo en una diferente localización del anillo fenólico, por lo que a menudo pueden confundirse.^(26,27) El *p*-Cimeno (1-metil-4-(1-metiletil) benceno) en el cEO representó el segundo constituyente con un 30,3 %, mientras que en la muestra experimental fue el componente mayoritario con un 43,8 %. Este compuesto orgánico aromático de origen natural se clasifica como un alquilbenceno relacionado con un monoterpeno. Su capacidad de desengrase es inferior a la de los hidrocarburos clorados, pero presenta la ventaja de ser biodegradable.⁽²⁷⁾

Existen estudios que demuestran que el carvacrol y el timol son capaces de desintegrar la membrana externa de las bacterias gramnegativas, liberando lipopolisacáridos (LPS) y aumentando la permeabilidad de la membrana citoplasmática al ATP.^(4,22) Tal afirmación se corresponde con los resultados de este estudio donde se observó un efecto inhibitorio susceptible (sensible) en cEO que contenía altos porcentajes de timol y carvacrol, con halos de inhibición entre 9 y 12 mm respecto a eEO, quien mostró porcentajes de bajos a nulos. De *Abreu* y otros⁽²⁸⁾ examinaron el funcionamiento del timol contra la *Salmonella enterica serovares enteritidis* y *typhimurium* e hipotetizaron que el timol se une a las proteínas de membrana hidrófobamente por medio de enlaces de hidrógeno, cambiando de este modo las características de permeabilidad de la membrana. También encontraron que el timol era más inhibitorio a pH 5,5 que 6,5, ya que a pH bajo, la molécula de timol no estaría disociada, por lo tanto, sería más hidrófoba, pudiendo así unirse mejor a las áreas hidrofóbicas de las proteínas y disolverse mejor en la fase lipídica. Cabe destacar que el precursor biológico del Carvacrol, el *p*-Cimeno compuesto predominante en eEO, es hidrofóbico que al ser incorporado en la bicapa lipídica muy probablemente facilita el transporte de carvacrol a través de la membrana citoplasmática y provocando un

hinchamiento de la membrana citoplasmática.⁽²⁹⁾ No es un antibacteriano eficaz cuando se usa solo,^(25,26) pero cuando se combina con carvacrol, se ha observado sinergismo contra bacterias.^(28,31,32)

Desde el punto de vista microbiológico, *Salmonella enteritidis* es más resistente a la acción de los aceites esenciales de tomillo que respecto a *Salmonella paratyphi*, guardando estrecha concordancia con los valores de CIM obtenidos. Resultados similares reportaron Boskovic y otros en 2015,⁽²⁰⁾ quienes encontraron que *S. enteritidis* fue más resistente que *S. typhimurium* a la acción del timol y carvacrol obtenidos de aceites esenciales de orégano. Rota y otros (2008)⁽²⁸⁾ también encontraron un resultado similar en su trabajo, y concluyen que *S. typhimurium* fue más susceptible que *S. enteritidis* frente a los aceites esenciales de diversos quimiotipos de tomillo.

De manera concluyente es importante recordar que los microorganismos, al igual que todo ser vivo, tienen capacidad adaptativa en aras de garantizar la sobrevivencia de su especie; razón por la cual han logrado desarrollar resistencia frente a algunos antimicrobianos, de allí que no cese la búsqueda de nuevas alternativas de control. Como resultado, las investigaciones actuales han enfocado sus estudios en la búsqueda de compuestos que posean usos como agentes terapéuticos, con la finalidad de controlar las diferentes enfermedades que derivan de los microorganismos. Por ello, el uso de los aceites esenciales ha tomado un papel importante ya que, generalmente, la mezcla de componentes terpénicos presentan algún tipo de actividad frente a bacterias comunes.⁽⁷⁾ En este trabajo se demostró que ambas especies de *Salmonella* manifestaron susceptibilidad a concentraciones relativamente bajas respecto a la dosis tóxica reportada, lo que cataloga al aceite esencial de tomillo como un potencial bioterapéutico.

Referencias bibliográficas

1. Preedy V. Essential oils in food preservation, flavor and safety. Academic Press; 2016. USA. DOI: [10.1016/C2012-0-06581-7](https://doi.org/10.1016/C2012-0-06581-7)

2. Stratakos A. Ch, Koidis A. Methods for Extracting Essential Oils. En Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety. Academic Press; 2016:31-8. DOI: [10.1016/B978-0-12-416641-7.00004-3](https://doi.org/10.1016/B978-0-12-416641-7.00004-3)
3. Regmurcia.com. Tomillo. Características. Región de Murcia Digital; 2016 [acceso 22/02/2019]. Disponible en: <http://www.regmurcia.com/servlet/s.SI?sit=c,543,m,2719,&r=ReP-19734>
4. Falleh H, Ben M, Saada M, Ksouri R. Essential oils: a promising eco-friendly food preservative. Food Chem. 2020;330. DOI:10.1016/j.foodchem. 2020.127268.
5. Costa C, Sendra E, Fernández J, Pérez J, Viuda M. Chemical composition and *in vitro* antibacterial properties of essential oils of four Thymus species from organic growth. Industrial Ind Crops Prod. 2013;50:304-11. DOI: [10.1016/j.indcrop.2013.07.052](https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.07.052)
6. Nagoor MF, Javed H, Al Tae H, Azimullah S, Ojha SK. Pharmacological properties and molecular mechanisms of thymol: Prospects for its therapeutic potential and pharmaceutical development. Front Pharmacol. 2017;8:380. DOI: [10.3389/fphar.2017.00380](https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00380)
7. Coy C, Acosta E. Actividad antibacteriana y determinación de la composición química de los aceites esenciales de romero (*Rosmarinus officinalis*), tomillo (*Thymus vulgaris*) y cúrcuma (*Curcuma longa*) de Colombia. Rev Cubana Plant Med. 2013 [acceso 14/02/2020];18(2):237-46. Disponible en: <http://www.revplantasmedicinales.sld.cu/index.php/pla/article/view/45>
8. Valdivieso M, Gomez C, Plaza J, Gil Á. Antimicrobial, Antioxidant, and Immunomodulatory Properties of Essential Oils: A Systematic Review. Nutrients. 2019;11(11):2786. DOI: [10.3390/nu11112786](https://doi.org/10.3390/nu11112786)
9. Jessenia M. Gamboa Anticona, María N. Vásquez Valles Efecto del aceite esencial de *Syzygium aromaticum* sobre la supervivencia de *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphi* A y *Bacillus cereus*. REBIOLEST. 2015 [acceso 30/03/2019];1(3):e42. Disponible en: <https://revistas.unitru.edu.pe/index.php/ECCBB/article/view/894>
10. OMS. Estimaciones de la OMS sobre la carga mundial de enfermedades de transmisión alimentaria. España: World Health Organization; 2015 [acceso

08/09/2020];14. Disponible en:

https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/200047/WHO_FOS_15.02_spa.pdf

11. Rodríguez E. Laboratory surveillance of *Salmonella enterica* from human clinical cases in Colombia 2005-2011. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2017;35(7):417-25.

DOI: [10.1016/j.eimc.2016.02.023](https://doi.org/10.1016/j.eimc.2016.02.023)

12. Tacconelli E, Carrara E, Savoldi A, Harbarth S, Mendelson M, Monnet DL, et al. Discovery, research, and development of new antibiotics: the WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis. *Lancet Infect Dis*. 2017;18(3):318-27.

DOI: [10.1016/S1473-3099\(17\)30753-3](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(17)30753-3)

13. ISO 7609:1985. Essential oils – Analysis by gas chromatography on capillary columns – General method. Malaysia. Jabatan Standard. 2009 [acceso 14/02/2020]. Disponible en: <https://www.iso.org/standard/14397.html>

14. Wiley Science Solutions. Spectral Database. Disponible en:

<https://sciencesolutions.wiley.com/spectral-databases/https://sciencesolutions.wiley.com/solutions/technique/gc-ms/>

15. Chemdata.nist.gov. Mass Spectrometry Data Center. Disponible en:

<https://chemdata.nist.gov/dokuwiki/doku.php?id=chemdata:start>

16. Adams, R. Identification of essential oil components by gas chromatography / mass spectroscopy. Allured Publishing Corporation. USA; 2007 [acceso 30/03/2019]. Disponible en:

[https://www.scirp.org/\(S\(351jmbntvnsjt1aadkposzje\)\)/reference/ReferencesPapers.aspx?ReferencelD=1995590](https://www.scirp.org/(S(351jmbntvnsjt1aadkposzje))/reference/ReferencesPapers.aspx?ReferencelD=1995590)

17. Celikel N, Kavas G. Antimicrobial properties of some essential oils against some pathogenic microorganisms. *Czech J Food Sci*. 2008;26(3):174-81. DOI:

[10.17221/1603-CJFS](https://doi.org/10.17221/1603-CJFS)

18. Clinical and Laboratory Standards Institute Methods for dilution antimicrobial susceptibility test for bacteria that grow aerobically. Approved standard, 7th ed. CLSI publication M07-A7. Clinical and Laboratory Standards Institute; Wayne, PA. 2019 [acceso 08/07/2020]. Disponible en:

https://clsi.org/media/1928/m07ed11_sample.pdf

19. Mutlu A, Devecioglu D, Dikmetas DN, Karbancioglu F, Capanoglu E. Antibacterial, Antifungal, Antimycotoxigenic, and Antioxidant Activities of Essential Oils: An Updated Review. *Molecules*. 2020;25(20):4711. DOI: [10.3390/molecules25204711](https://doi.org/10.3390/molecules25204711)
20. Boskovic M, Zdravkovic N, Ivanovic J, Janjic J, Djordjevic J, Starcevic M, et al. Antimicrobial activity of Thyme (*Thymus vulgaris*) and Oregano (*Origanum vulgare*) essential oils against some food-borne microorganisms. *Procedia Food Sci*. 2015;5:18-21. DOI: [10.1016/j.profoo.2015.09.005](https://doi.org/10.1016/j.profoo.2015.09.005)
21. Cáceres B, Rozo V, García E. Estudio de la calidad de aceites esenciales de orégano, tomillo y romero cultivados en Severino (El Carmen, Jujuy) recolectados en invierno y primavera. *Revista Científica FCA*. 2021 [acceso 20/02/2022];14(1):7-18. Disponible en: https://www.fca.unju.edu.ar/media/revista_articulo/RC2021_Caceres_Roso_Garcia.pdf
22. Baranauskiene R, Venskutonis R, Viskelis P, Dambrauskiene E. Influence of nitrogen fertilizers on the yield and composition of thyme (*Thymus vulgaris*). *J Agric Food Chem*. 2003;51:7751-58. DOI: [10.1021/jf0303316](https://doi.org/10.1021/jf0303316)
23. Pavela R, Zabka M, Vrchotová N, Tríska J. Effect of foliar nutrition on the essential oil yield of Thyme (*Thymus vulgaris* L.). *Ind Crops Prod*. 2018;112:762-65. DOI: [10.1016/j.indcrop.2018.01.012](https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.01.012)
24. González S, Guerra P, Van Baren C, Di Lio Lira P, Retta D, Bandoni A. Variabilidad química del “tomillo silvestre” (*Acantholippia seriphiooides*, Verbenaceae) en la meseta Patagónica. *Bol Latinoam Caribe Plantas Med Aromat*. 2016 [acceso 13/05/2020];15(1):61-8. Disponible en: <https://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/39312>
25. Khirabdhi D, Sudipta J, Asit R, Ambika S, Subrat K, Rajesh K. Chemical Composition of Carvacrol Rich Leaf Essential Oil of *Thymus vulgaris* from India: Assessment of Antimicrobial, Antioxidant and Cytotoxic Potential. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. 2021;24(5):1134-45. DOI: [10.1080/0972060X.2021.2008273](https://doi.org/10.1080/0972060X.2021.2008273)

26. Abhay K, Pandey, Pradeep Kumar, Pooja Singh, Nijendra N. Tripathi and Vivek K. Bajpai. Essential Oils: Sources of Antimicrobials and Food Preservatives Front. Microbiol. 16 January 2017. DOI: [10.3389/fmicb.2016.02161](https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.02161)
27. Manion CR, Widder RM. Essentials of essential oils. Am J Health Syst Pharm. 2017;74 (9):e153-62. DOI: [10.2146/ajhp151043](https://doi.org/10.2146/ajhp151043)
28. De Abreu A, Pamplona J, Paulo J, Rodrigo S, Hilsdorf R. Interacción entre *Salmonella* sp. y aceites esenciales: actividad bactericida y adaptabilidad. Revista Ciencia y Tecnología. Julio-diciembre de 2019 [acceso 20/05/2022];12(2):1-6. Disponible en: <https://revistas.uteq.edu.ec/index.php/cyt/article/view/320>
29. Gormez A, Bozari S, Yanmis D, Gulluce M, Agar G, Sahin F. The use of essential oils of *Origanum rotundifolium* as antimicrobial agent against plant pathogenic bacteria. J. Essent. Oil Bear Plants. 2016;19:656-63. DOI: [10.1080/0972060X.2014.935052](https://doi.org/10.1080/0972060X.2014.935052)
30. Meeran N, Fizur M, Javed H, Al Tae H, Azimullah S, Ojha SK. Pharmacological properties and molecular mechanisms of thymol: prospects for its therapeutic potential and pharmaceutical development. Front Pharmacol. 2017;8:380. DOI: [10.3389/fphar.2017.00380](https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00380)
31. López RM, Ruiz LM, Delgadillo J. Actividad antimicrobiana del aceite esencial de tomillo (*Thymus vulgaris* L.). Agroproductividad. 2016 [acceso 15/06/2020];9(11):78-82. Disponible en: http://colposdigital.colpos.mx:8080/jspui/bitstream/10521/2850/1/Lopez_Ambrocio_RM_MC_Botanica_2015.pdf
32. Galovičová L. Thymus serpyllum Essential Oil and Its Biological Activity as a Modern Food Preserver. Plants. 2021;10(7):1416. DOI: [10.3390/plants10071416](https://doi.org/10.3390/plants10071416)

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existe conflicto de interés.

Contribuciones de los autores

Conceptualización: Karen Piedad Martínez Marciales, Javier Andrés Soto.

Curación de datos: Javier Andrés Soto.

Análisis formal: Javier Andrés Soto.

Adquisición de fondos: Karen Piedad Martínez Marciales.

Investigación: Karen Piedad Martínez Marciales.

Metodología: Karen Piedad Martínez Marciales, Javier Andrés Soto, Elaysa Josefina Salas-Osorio.

Administración del proyecto: Karen Piedad Martínez Marciales.

Recursos: Karen Piedad Martínez Marciales.

Supervisión: Elaysa Josefina Salas-Osorio.

Validación de datos: Javier Andrés Soto, Elaysa Josefina Salas-Osorio.

Visualización: Javier Andrés Soto.

Redacción - borrador original: Karen Piedad Martínez Marciales, Javier Andrés Soto, Elaysa Josefina Salas-Osorio.

Redacción - revisión edición: Karen Piedad Martínez Marciales, Javier Andrés Soto, Elaysa Josefina Salas-Osorio.