

ACEITE ESENCIAL DE ORÉGANO: DE LA OBTENCIÓN A LA ENCAPSULACIÓN

Jaime O. Rojas-Molina¹, Mario A. García², Jorge A. Pino^{3,4}*

¹Universidad Técnica de Cotopaxi. Latacunga, Ecuador.

²Dpto. Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad Técnica de Manabí, Portoviejo, Ecuador.

³ Instituto de Investigaciones para la Industria Alimenticia. Carretera al Guatao km 3 ½, C.P. 19 200, La Habana, Cuba.

⁴Dpto. de Alimentos, Instituto de Farmacia y Alimentos. Universidad de La Habana, Cuba.

E-mail: jpino@iiia.edu.cu

Recibido: 15-06-2020 /Revisado: 06-07-2020 /Aceptado: 23-07-2020 /Publicado: 31-07-2020

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue revisar las propiedades del aceite esencial de orégano (AEO), su obtención comercial, así como los procesos de encapsulación usados hasta la fecha. El AEO es un producto natural constituido por una mezcla compleja de compuestos volátiles, donde predominan los fenoles monoterpenos carvacrol y timol. El AEO se usa en bebidas alcohólicas, productos horneados, productos cárnicos, condimentos y sazonadores, productos lácteos, vegetales procesados, grasas y aceites. Su obtención comercial es por destilación mediante arrastre con vapor. A pesar de las numerosas aplicaciones, el AEO es muy sensible al medio donde se aplica. La encapsulación es una alternativa que mejora la estabilidad y favorece su liberación controlada. Varias técnicas han sido evaluadas, pero el secado por aspersión emerge como la más reportada para la microencapsulación del AEO.

Palabras clave: orégano, aceite esencial, obtención, encapsulación.

ABSTRACT

Oregano essential oil: from the obtaining to encapsulation

The aim of the present paper was to review the properties of the oregano essential oil (OEO), its commercial obtaining, as well as the encapsulation processes used. The OEO is a natural product constituted by a complex mixture of volatile compounds, in which the monoterpene phenols carvacrol and thymol prevail. The OEO is used in alcoholic drinks, baked products, meat products, condiments and seasonings, dairy products, processed vegetables, fat and oils. The commercial obtaining is by water steam distillation. Despite the numerous applications, the OEO is very sensitive to the media where it is applied. Encapsulation is an alternative to improve the stability and it favors its controlled release. Several techniques have been evaluated, but spray drying emerges as the most reported for OEO microencapsulation.

Keywords: oregano, essential oil, obtaining, encapsulation.

INTRODUCCIÓN

***Jorge A. Pino:** Investigador titular del Departamento de Aromas del IIIA. Doctor en Ciencias Técnicas (CNIC, La Habana, 1980) y Doctor en Ciencias (IFAL, La Habana, 2011). Miembro titular de la Academia de Ciencias de Cuba. Investiga en la química y tecnología del aroma de los alimentos y aceites esenciales.

Los aceites esenciales (AEs) han ganado un renovado interés en varias áreas. Como productos naturales, ellos tienen las características fisicoquímicas interesantes con valores agregados altos y ecológicos. Los AEs también tienen actividades biológicas relevantes y, por ejemplo,

son usados como bactericidas, virucidas, fungicidas, antioxidantes e insecticidas, así como por otras propiedades médicas (1-7). La industria alimentaria también presenta una demanda creciente para los AEs debido a sus aplicaciones importantes como preservantes de alimentos (1). La Administración de Alimentos y Drogas de EE.UU. (USFDA) reconoce a los AEs como sustancias seguras de acuerdo con el Código de Regulaciones Federales (8).

Los AEs son productos caracterizados por un fuerte olor, constituidos por mezclas complejas de compuestos volátiles y obtenidos a partir de algún material natural mediante destilación (seca, con agua o vapor) o por expresión mecánica (para las frutas cítricas) (9). La Farmacopea Europea define al aceite esencial como: «Un producto oloroso, usualmente de composición compleja, obtenido de un material de una planta definida botánicamente, mediante destilación con vapor, destilación seca o por algún proceso mecánico sin calor» (10). Debido a la prohibición del uso de materiales provenientes de animales para la elaboración de fragancias, los aceites AEs son, en la actualidad, producidos solamente a partir de materiales vegetales.

Los constituyentes de los AEs, alrededor de 500 compuestos, incluyen terpenos (monoterpenos y sesquiterpenos), isoprenoides, compuestos alifáticos y aromáticos. En algunos casos un componente mayoritario puede constituir el 85 % de la composición total del AE (11). Se estima que alrededor de 3000 AEs son reconocidos, de los cuales 300 son comercializados (12), entre los que se encuentra el AEO (11). La composición química de los AEs depende de varios factores, tales como condiciones ambientales, composición del suelo, forma de cultivo, época de recolección, hora del día, almacenamiento y procesamiento del material vegetal, método de aislamiento del AE (13).

Los AEs, por lo general, son inestables pues están constituidos por compuestos químicos que pueden degradarse fácilmente por efecto de la luz y el calor, así como volatilizarse por su alta volatilidad, si no son protegidos de los factores externos. Tal protección puede incrementar su acción y permitir la liberación controlada. La estabilidad de los AEs puede aumentarse por su encapsulación (14). La encapsulación de AEs con actividad biológica también beneficia la liberación controlada, incrementa la biodisponibilidad celular e incrementa la eficiencia contra los patógenos (15).

El objetivo del presente trabajo fue revisar las propiedades del AEO, su obtención comercial, así como los procesos de encapsulación usados hasta la fecha.

Características botánicas

Al menos 61 especies de 17 géneros pertenecientes a seis familias botánicas se conocen con el nombre de orégano (16). La familia Lamiaceae (sin. Labiateae) es considerada la más importante pues contiene al género *Origanum* que provee la mayor fuente de las especies conocidas como orégano (tipos turco y griego). Dos géneros de la familia Verbenaceae (*Lanata* y *Lippia*) son cultivados también como orégano. Las otras familias (Rubiaceae, Scrophulariaceae, Apiaceae y Asteraceae) poseen una menor importancia (16).

El orégano pertenece a la familia Lamiaceae y la especie más representativa es *Origanum vulgare* L. Etimológicamente, el nombre proviene del nombre griego de la planta (*origanon*), el cual se deriva de las palabras *oros* (montaña) y *ganos* (brillantez, belleza), pues esta planta crece a altitudes entre 400 y 1800 m en lugares soleados (16).

El género *Origanum* incluye distintas especies con diversidad morfológica y química, la mayoría de las cuales provienen de la región mediterránea (17, 18). Las especies más importantes de *O. vulgare* con la subespecie son: *O. vulgare* subsp. *L. vulgare*, *O. vulgare* subsp. *L. glandulosum*, *O. vulgare* ssp. *L. gracile*, *O. heracleoticum* y *O. dictamnus* (18). Otras especies mencionadas son *O. microphyllum* (Creta), *O. scabrum* (Grecia central y del sur), *O. onites* (Sicilia y Mediterráneo oriental), *O. symes* (Grecia), *O. akhdarense* y *O. cyrenaicum* (Libia), *O. libanoticum* (Líbano), *O. bargyli* (Siria), *O. dayi* y *O. ramonense* (Israel), *O. elongatum* y *O. grosii* (Marruecos), *O. floribundum* (Algeria), *O. petraeum*, *O. punonense* y *O. jordanicum* (Jordania). Las especies *O. acutidens*, *O. solymicum*, *O. bilgeri*, *O. minutiflorum*, *O. boissieri*, *O. saccatum*, *O. hypericifolium*, *O. brevidens*, *O. haussknechtii*, *O. leptocladum*, *O. rotundifolium*, *O. amanum* y *O. micranthum* son indígenas de Turquía (20, 21). Especies relacionadas son *O. syriacum*, que crece en el sureste de Europa, Asia occidental y Mediterráneo oriental, y que están constituidos por concentraciones similares de carvacrol, *p*-cimeno y γ -terpineno (22), así como *O. majorana* (conocido como mejorana), que

crece en el Mediterráneo oriental y Asia, que contiene principalmente monoterpenos y poco contenido de fenoles (23, 24).

Atendiendo a la importancia económica, todos los oréganos pueden dividirse en cuatro tipos: *O. vulgare* L. ssp. *vulgare* (griego), *O. onites* L. (turco), *Coridothymus capitatus* Rchb., (español) y *Lippia graveolens* HBK (mejicano), principalmente sobre la base del contenido de carvacrol (25).

Composición del aceite esencial

Un gran número de compuestos han sido aislados del orégano, pero el grupo más importante, en el aspecto comercial y de aplicación, son los terpenoides (16). La composición varía significativamente entre los diferentes genotipos. Las especies de orégano son ricas en fenoles monoterpenos, tal como el carvacrol y, en segundo lugar, timol; mientras que otras especies son ricas en los monoterpenos bicíclicos hidratos de sabineno (isómeros *cis*- y *trans*-), las que son designadas como mejoranas. Es relativamente fácil diferenciar ambos tipos por el olor pungente del orégano y el olor dulce de la mejorana. En el primer grupo, que es el presente objeto de estudio, se caracteriza además por la presencia mayoritaria de los monoterpenos *p*-cimeno y γ -terpineno.

O. vulgare posee un contenido de AE que fluctúa de 0,5 a 2 % hasta 7 % (26). Componentes mayoritarios: carvacrol, timol, *p*-cimeno y γ -terpineno (Fig. 1). En la

literatura se han reportado diversos contenidos de los constituyentes mayoritarios, desde 80 y 64 % para el carvacrol y timol, respectivamente y hasta 52 % para cada uno de sus precursores (16). El contenido de carvacrol en los diferentes quimotipos de *O. vulgare* es variable y puede alcanzar hasta 95 % (26, 27).

Usos en alimentos y medicina

El orégano se ha usado como condimento desde la antigüedad. La industria alimentaria emplea el AE y las oleoresinas en alimentos y bebidas. El AEO es usado en bebidas alcohólicas, productos horneados, productos cárnicos, condimentos y sazonadores, productos lácteos, vegetales procesados, grasas y aceites (16).

Varios estudios han confirmado los beneficios del orégano en la salud humana y su uso en los tratamientos de distintos desórdenes como en el tracto respiratorio (como agente expectorante y espasmolítico), gastrointestinales (como agente digestivo, colérico y espasmolítico), en el tracto urinario (como diurético y anti-séptico) y en afecciones dermatológicas (picaduras de insectos y cicatrización), infecciones virales y cáncer (28-31).

De acuerdo con los estudios relacionados con las propiedades antioxidantes del AEO, este posee una actividad antioxidante muy intensa, debido al contenido de carvacrol y timol (32-42). Sin embargo, el uso del AE como preservante de alimentos es limitado debido al fuerte olor que puede afectar las características sensoriales del alimento.

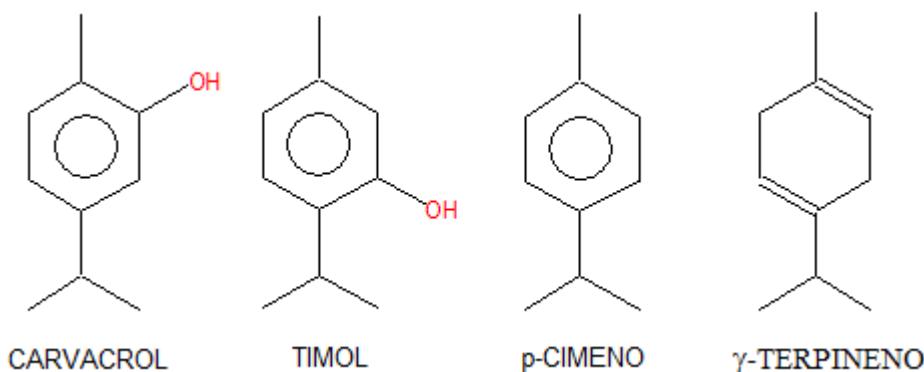


Fig. 1. Compuestos mayoritarios del aceite esencial de orégano.

La actividad antimicrobiana del AEO y sus constituyentes mayoritarios está bien documentada (32, 42-61). Los mecanismos de acción del AEO han sido relacionados a la síntesis de componentes estructurales y a la ruptura de una serie de sistemas de energía (62).

El AEO posee también actividad acaricida, nematicida, repelente de insectos e insecticida (63-71).

Método de obtención industrial

La obtención de los AEs puede hacerse por diferentes métodos, los cuales pueden clasificarse en dos tipos: métodos clásicos/convencionales y métodos avanzados/innovativos. Las investigaciones en nuevas tecnologías (ultrasonido, microonda) en las últimas décadas ha dado lugar a procesos más eficientes, que reducen el tiempo del proceso, consumo de energía, mayores rendimientos y mejor calidad de los AEs (14).

En el caso particular del orégano, las prácticas agrícolas pueden resumirse de la forma siguiente: en dependencia de la frecuencia de irrigación se pueden cosechar hasta dos o tres cosechas anualmente. La recolección de hojas y tallos se inicia en el período de floración, la que puede ser manual o mecánica. Después de la cosecha, las plantas se secan a la sombra o en cámaras entre 30 y 35 °C hasta alcanzar una humedad entre 7 y 12 % (72).

El método clásico de la destilación por arrastre con vapor continúa siendo el método comercial por excelencia. En este método, la generación del vapor ocurre en una caldera de vapor separada del alambique de destilación. El vapor, generalmente sobresaturado o sobrecalefactado por encima de la presión atmosférica, penetra por la parte de abajo del alambique y pasa a través del material vegetal (73, 74).

Encapsulación

La encapsulación de compuestos activos es un proceso relativamente reciente, pero los avances rápidos y significativos han permitido su aplicación en diversas áreas de la industria, particularmente farmacéutica, cosmética y alimentaria. Esto es un proceso en el cual un componente activo o núcleo es atrapado o cubierto por una pared matricial. Esta matriz aísla a la molécula bioactiva del ambiente que la rodea hasta que se libera en respuesta a las condiciones externas, por ejemplo,

presión, pH, temperatura, etc. El soporte puede ser escogido de un amplio grupo de polímeros naturales y sintéticos según las características que se desea en el producto final (75).

Existen diferentes técnicas para la encapsulación de los AEs, entre las que se incluyen la emulsificación, secado por aspersión, congelación y enfriamiento por aspersión, coacervación, liposomas, complejos de inclusión molecular, electroaspersión coaxial, liofilización, gelación iónica, polimerización interfacial, polimerización *in situ*, extrusión, tecnología de fluido supercrítico y revestimiento por cama fluidizada (75, 76). Las partículas pueden ser producidas en nanómetros (nanoencapsulación), micrómetros (microencapsulación) o escala milimétrica, por diferentes técnicas. Cada técnica presenta sus ventajas y limitaciones, como son condiciones desfavorables para el AE, complejidad de la operación, baja eficiencia de encapsulación o baja reproducibilidad (76).

La Tabla 1 resume los trabajos reportados con AEO, donde se aprecia que el secado por aspersión ha sido la tecnología más usada para microencapsular.

CONCLUSIONES

El AEO es un producto natural constituido por una mezcla compleja de compuestos volátiles, donde predominan los fenoles monoterpenos carvacrol y timol. Este ha sido usado en bebidas alcohólicas, productos horneados, productos cárnicos, condimentos y sazonadores, productos lácteos, vegetales procesados, grasas y aceites. Su obtención comercial es por destilación mediante arrastre con vapor. A pesar de las numerosas aplicaciones, los AEs son muy sensibles al medio donde se encuentra. La encapsulación es una alternativa que mejora la estabilidad y favorece su liberación controlada. Varias técnicas han sido evaluadas, pero el secado por aspersión emerge como la más reportada para la microencapsulación del AEO.

Tabla 1. Aplicaciones de encapsulación del AEO

Aceite esencial	Aplicación	Forma	Método	Soporte	Referencia
<i>O. vulgare</i>	Saborizante	Micropartículas	Secado por aspersión	Almidones modificados	77
<i>O. vulgare</i>	Saborizante	Micropartículas	Secado por aspersión	Aislado de proteína de leche y leche descremada	78
<i>Lippia graveolens</i>	Preservante	Micropartículas	Complejo de inclusión	β -ciclodextrina	79
<i>O. vulgare</i>	Preservante	Micropartículas	Fluido supercrítico	Quitosana y goma de marañón	80
<i>O. vulgare</i>	Antibacteriano	Micropartículas	Secado por aspersión	Almidón, inulina, gelatina/sacarosa	81
<i>O. vulgare</i>	Saborizante	Micropartículas	Secado por aspersión	Almidón modificado/goma arábiga/maltodextrina	82
<i>O. vulgare</i>	Preservante	Nanopartículas	Gelación iónica	Quitosana	83, 84
<i>O. vulgare</i>	Preservante	Micropartículas	Secado por aspersión	Almidón modificado/goma arábiga/maltodextrina	85
<i>O. vulgare</i>	Preservante	Micropartículas	Fluido supercrítico	Almidón	86
<i>O. vulgare</i> , <i>L. graveolens</i>	Preservante	Micropartículas	Secado por aspersión	Almidón modificado	87
<i>O. vulgare</i> ssp. <i>hirtum</i>	Preservante	Micropartículas	Secado por aspersión	Hidroxipropil metil celulosa/maltodextrina	88
<i>Lippia berlandieri</i>	Preservante	Micropartículas	Complejo de inclusión	β -ciclodextrina	89
<i>O. vulgare</i>	Preservante	Micropartículas	Secado por aspersión	Goma arábiga/almidón/maltodextrina	90
<i>L. graveolens</i>	Preservante	Micropartículas	Complejo de inclusión	β -ciclodextrina	91

REFERENCIAS

- Burt S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *Int J Food Microbiol* 2004;94:223-53.
- Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. Biological effects of essential oils - A review. *Food Chem Toxicol* 2008; 46: 446-75.
- Adorjan B, Buchbauer G. Biological properties of essential oils: an updated review. *Flavour Fragr J* 2010; 25:407-26.
- Kunicka Styczyńska A. Activity of essential oils against food spoiling yeast. A review. *Flavour Fragr J* 2011; 26:326-28.
- Amorati R., Foti MC, Valgimigli L. Antioxidant activity of essential oils. *J Agric Food Chem* 2013; 61:10835-47.
- Raut JS, Karuppayil SM. A status review on the medicinal properties of essential oils. *Ind Crops Prod* 2014; 62:250-264.
- Saeidnejad AH, Rajaei P. Chemical composition, antimicrobial activity and biological properties of essential oils. *Int J Life Sci* 2015; 9 (2):9-13.
- CFR – Code of Federal Regulations Title 21 [WWW Document], 2015 n.d. Disponible en <http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm?fr=182.20>. Acceso 10 abril 2020.
- Dewick PM. Medicinal and Natural Products: A Biosynthetic Approach, 2nd ed. Chichester: Wiley Publishers; 2002.
- Farmacopea Europea. Pharmacopoeia, 6th ed. Strasbourg, France: EDQM (Council of Europe); 2008.
- Sakkas H, Papadopoulou C. Antimicrobial activity of basil, oregano, and thyme essential oils. *J Microbiol Biotechnol* 2017; 27 (3):429-38.

12. Freires IA, Denny C, Benso B, de Alencar SM, Rosalen PL. Antibacterial activity of essential oils and their isolated constituents against cariogenic bacteria: a systematic review. *Molecules* 2015; 20:7329-58.
13. Figueiredo AC, Barroso JG, Pedro LG, Scheffer JJC. Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. *Flavour Fragr J* 2008; 23:213-26.
14. El Asbahani A, Miladi K, Badri W, Sala M, Ait Addi EH, Casabianca H, El Mousadik A, Hartmann D, Jilale A, Renaud FNR, Elaissari A. Essential oils: From extraction to encapsulation. *Int J Pharm* 2015; 483 (1-2):220-43.
15. Rai M, Paralikar P, Jogee P, Agarkar G. Synergistic antimicrobial potential of essential oils in combination with nanoparticles: Emerging trends and future perspectives. *Int J Pharm* 2017; 519:67-78.
16. Kintzios SE. Oregano. En: Peter KV, Ed. *Handbooks of Herbs and Spices*, Vol. 2. Cambridge: Woodhead Publishing Limited; 2001. pp. 215-29.
17. Aligiannis N, Kalpoutzakis E, Mitaku S, Chinou B. Composition and antimicrobial activity of the essential oils of two *Origanum* species. *J Agric Food Chem* 2001; 49:4168-70.
18. de Falco E, Roscigno C, Landolfi S, Scandolera E. Growth, essential oil characterization, and antimicrobial activity of three wild types of oregano under cultivation condition in Southern Italy. *Ind Crops Prod* 2014; 62:242-9.
19. Chorianopoulos N, Kalpoutzakis E, Aligiannis N, Mitaku S, Nychas G-J, Haroutounian S. Essential oils of *Satureja*, *Origanum* and *Thymus* species: chemical composition and antibacterial activities against foodborne pathogens. *J Agric Food Chem* 2004; 52:8261-7.
20. Dulger B. An investigation on antimicrobial activity of endemic *Origanum solymicum* and *Origanum bilgeri* from Turkey. *Afr J Tradit Complement Altern Med* 2005; 2:259-63.
21. Baydar H, Sagdic O, Ozkan G, Karadogan T. Antibacterial activity and composition of essential oils from *Origanum*, *Thymbra* and *Satureja* species with commercial importance in Turkey. *Food Control* 2003; 15:169-72.
22. Alma M, Mavi A, Yildirim A, Digrak M, Hirata T. Screening chemical composition and in vitro antioxidant and antimicrobial activities of the essential oils from *Origanum syriacum* L. growing in Turkey. *Biol Pharm Bull* 2003; 26:1725-9.
23. Sagdic O. Sensitivity of four pathogenic bacteria to Turkish thyme and oregano hydrosols. *LWT Food Sci Technol* 2003; 36:467-73.
24. Vagi E, Simandi B, Suhajda A, Hethelyi E. Essential oil composition and antimicrobial activity of *Origanum majorana* L. extracts obtained with ethyl alcohol and supercritical carbon dioxide. *Food Res Int* 2005; 38:51-7.
25. Pino JA, Borges P., Roncal E. Diferenciación del aceite esencial de cuatro especies de orégano por cromatografía gas-líquido. *Alimentaria* 1993; (244):105-7.
26. Kokkini S, Karousou R, Dardioti A, Krigas N, Lanaras T. Autumn essential oils of Greek oregano. *Phytochem* 1997; 44:883-6.
27. Gounaris Y, Skoula M, Fournarakis C, Drakakaki G, Makris A. Comparison of essential oils and genetic relationship of *Origanum × intercedens* to its parental taxa in the island of Crete. *Biochem Syst Ecol* 2002; 30:249-58.
28. Baricevic D, Bartol T. The biological/pharmacological activity of the oregano genus. En: Kintzios S, Ed. *Medicinal and Aromatic Plants – Industrial profiles – Oregano: The Genera Origanum and Lippia*, London: Taylor & Francis, 2002. pp. 177-214.
29. Cingi MI, Kirimer N, Sarikardasoglu I, Cingi C, Baser KHC. Pharmacological activities of the essential oils of *Origanum onites* and *Origanum minutiflorum*. En: Baser KHC Ed, Proc 9th Symp Plant Drugs. Eskişehir: Anadolu University Press 1992; pp. 10-5.
30. Aydin S, Ozturk Y, Beis R, Baser KHC. Investigation of *Origanum onites*, *Sideritis congesta* and *Satureja cuneifolia* oils for analgesic activity. *Phytother Res* 1996; 10: 342-4.
31. Aydýn S, Ozturk Y, Baser KHC. Effect of the essential oil of *Origanum onites* L. on cardiovascular system, En: Coskun M Ed, Proc 11th Symp Plant Drugs. Ankara: Ankara University 1997; pp. 332-8.
32. Ruberto G, Barrata MT, Sari M, Kaabexhe M. Chemical composition and antioxidant activity of essential oils from Algerian *Origanum glandulosum* Desf. *Flavour Fragr J* 2002; 17:251-4.
33. Hazzit M, Baaliouamer A, Leonor-Faleiro M, Graca MM. Composition of the essential oils of *Thymus* and *Origanum* species from Algeria and their antioxidant and antimicrobial activities. *J Agric Food Chem* 2006; 54:6314-21.
34. Mastelic J, Jerkovic I, Blazevic I, Poljak-Blazi M, Borovic S, Ivancic-Bace I, Smrecki V, Zarkovic N, Brcic-Kostic K, Vickovic Topic D, Muller N. Comparative study on the antioxidant and biological activities of carvacrol, thymol, and eugenol derivatives. *J Agric Food Chem* 2008; 56:3989-96.
35. Baser KHC. Biological and pharmacological activities of carvacrol and carvacrol bearing essential oils. *Curr Pharm Des* 2008; 14:3106-19.
36. Viuda-Martos M, Ruiz-Navajas Y, Sánchez-Zapata E, Fernández-López J, Pérez-Álvarez JA. Antioxidant activity of essential oils of five spice plants widely used in a Mediterranean diet. *Flavour Fragr J* 2010; 25:13-9.
37. Mechergui K, Coelho JA, Serra MC, Lamine SB, Boukhchina S, Kouja ML. Essential oils of *Origanum vulgare* L. subsp. *glandulosum* (Desf.) letswaart from Tunisia: chemical composition and antioxidant activity. *J Sci Food Agr* 2010; 90:1745-9.

38. Hussain AI, Anwar F, Rasheed S, Nigam PS, Janneh O, Sarker SD. Composition, antioxidant and chemotherapeutic properties of the essential oils from two *Origanum* species growing in Pakistan. *Braz J Pharmacog* 2011; 21(6):943-52.
39. Anthony KP, Deolu-Sobogun SA, Saleh MA. Comprehensive assessment of antioxidant activity of essential oils. *J Food Sci* 2012; 77:839-43.
40. Beena Kumar D, Rawat DS. Synthesis and antioxidant activity of thymol and carvacrol based Schiff bases. *Bioorg Med Chem Lett* 2013; 23:641-5.
41. Friedman M. Chemistry and multibeneficial bioactivities of carvacrol (4-isopropyl-2-methylphenol), a component of essential oils produced by aromatic plants and spices. *J Agric Food Chem* 2014; 62:7652-70.
42. Hajlaoui H, Mighri H, Aouni M, Gharsallah N, Kadri A. Chemical composition and in vitro evaluation of antioxidant, antimicrobial, cytotoxicity and anti-acetylcholinesterase properties of Tunisian *Origanum majorana* L. essential oil. *Microbial Pathogenesis* 2016; 95:86-94.
43. Sivropoulou A, Papanikolaou E, Nikolaou C, Kokkini S, Lanaras T, Arsenakis M. Antimicrobial and cytotoxic activities of *Origanum* essential oils. *J Agric Food Chem* 1996; 44:1202-5.
44. Tabanca N, Demirci F, Ozek T, Tumen G, Baser KHC. Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Origanum x dolichosiphon* P.H. Davis. *Chem Nat Comp* 2001; 37 238-41.
45. Baydar H, Sagdic O, Ozkan G, Karadogan T. Antibacterial activity and composition of essential oils from *Origanum*, *Thymbra* and *Satureja* species with commercial importance in Turkey. *Food Control* 2004; 15:169-72.
46. Nostro A, Blanco AR, Cannatelli MA, Enea V, Flamini G, Morelli I, Roccaro AS, Alonzo V. Susceptibility of methicillin-resistant *staphylococci* to oregano essential oil, carvacrol and thymol. *FEMS Microbiol Lett* 2004; 230:191-5.
47. Sokmen M, Serkedjieva J, Daferera D, Gulluce M, Polissiou M, Tepe B, Akpulat HA, Sahin F, Sokmen A. In vitro antioxidant, antimicrobial, and antiviral activities of the essential oil and various extracts from herbal parts and callus cultures of *Origanum acutidens*. *J Agric Food Chem* 2004; 52:3309-12.
48. Katalin V, Erzsébet V, Zsuzsanna S, József M, Ber J, Imre M, Chemical composition and antimicrobial activities of essential oils of four lines of *Origanum vulgare* subsp. *hirtum* (Link) Ietswaart grown in Hungary. *Nat Prod Comm* 2007; 2(11):1155-8.
49. Esen G, Azaz AD, Kurkcuglu M, Baser KHC, Tinmaz A. Essential oil and antimicrobial activity of wild and cultivated *Origanum vulgare* L. subsp. *Hirtum* (Link) letswaart from the Marmara region, Turkey. *Flavour Frag J* 2007; 22:371-6.
50. Ozcan MM, Chalchat JC. Chemical composition and antimicrobial properties of the essential oil of *Origanum saccatum* L. *J Food Safety* 2009; 29:617-28.
51. Cosge B, Turker A, Ipek A, Gurbuz B. Chemical compositions and antibacterial activities of the essential oils from aerial parts and corollas of *Origanum acutidens* (Hand.-Mazz.) Ietswaart, an endemic species to Turkey. *Molecules* 2009; 14:1702-12.
52. Pilau MR, Alves SH, Weible R, Arenhart S, Cueto AP, Lovato LT. Antiviral activity of the *Lippia graveolens* (Mexican oregano) essential oil and its main compound carvacrol against human and animal viruses. *Braz J Microbiol* 2011; 42:1616-24.
53. Nostro A, Papalia T. Antimicrobial activity of carvacrol: current progress and future prospectives. *Recent Pat Anti-Infect. Drug Discovery* 2012; 7:28-35.
54. Suntres ZE, Coccimiglio J, Alipour M. The bioactivity and toxicological actions of carvacrol. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2013; 55(3):304-18.
55. Vale-Silva L, Silva MJ, Oliveira D, Gonc' alves MJ, Cavaleiro C, Salgueiro L, Pinto E. Correlation of the chemical composition of essential oils from *Origanum vulgare* subsp. *virens* with their in vitro activity against pathogenic yeasts and filamentous fungi. *J Med Microbiol* 2012; 61:252-60.
56. Altintas A, Tabanca N, Tyihak E, Ott PG, Moricz AM, Mincsovics E, Wedge DE. Characterization of volatile constituents from *Origanum onites* and their antifungal and antibacterial activity. *J AOAC Int* 2013; 96:1200-8.
57. Luz Ida S, de Melo AN, Bezerra TK, Madruga MS, Magnani M, de Souza EL. Sublethal amounts of *Origanum vulgare* L. essential oil and carvacrol cause injury and changes in membrane fatty acid of *Salmonella Typhimurium* cultivated in a meat broth. *Foodborne Pathog Dis* 2014; 11:357-61.
58. Mancini E, Camele I, Elshafie HS, De Martino L, Pellegrino C, Grulova D, De Feo V. Chemical composition and biological activity of the essential oil of *Origanum vulgare* ssp. *hirtum* from different areas in the southern Apennines (Italy). *Chem Biodivers* 2014; 11:639-51.
59. Gilling DH, Kitajima M, Torrey JR, Bright KR. Antiviral efficacy and mechanisms of action of oregano essential oil and its primary component carvacrol against murine norovirus. *J Appl Microbiol* 2014; 116:1149-63.
60. Mith H, Dure R, Delcenserie V, Zhiri A, Daube G, Clinquart A. Antimicrobial activities of commercial essential oils and their components against food-borne pathogens and food spoilage bacteria. *Food Sci Nutr* 2014; 2:403-16.

61. Nabavi SM, Marchese A, Izadi M, Curti V, Daglia M, Nabavi SF. Plants belonging to the genus *Thymus* as antibacterial agents: from farm to pharmacy. *Food Chem* 2015; 173:339-47.
62. Lambert RJW, Skandamis PN, Coote PJ, Nychas G-JE. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *J Appl Microbiol* 2001; 91:453-62.
63. Karpouhtsis I, Pardali E, Feggou E, Kokkini S, Scouras ZG, Mavragani-Tsipidou P. Insecticidal and genotoxic activities of oregano essential oils. *J Agric Food Chem* 1998; 46:1111-5.
64. Aslan I, Calmasur O, Sahin F, Caglar O. Insecticidal effects of essential plant oils against *Ephestia kuehniella*, *Lasioderma serricorne* and *Sitophilus granarius*. *Z Pflanzenkrankh Pflanzensch* 2005; 112:257-67.
65. Erler F. Fumigant activity of six monoterpenoids from aromatic plants in Turkey against the two stored-product pests confused flour beetle, *Tribolium confusum* and Mediterranean flour moth, *Ephestia kuehniella*. *Z Pflanzenkrankh Pflanzensch* 2005; 112:602-11.
66. Sampson BJ, Tabanca N, Kirimer N, Demirci B, Baser KHC, Khan IA. Insecticidal activity of 23 essential oils and their major compounds against adult *Lipaphis pseudobrassicae* (Davis) (Aphididae: Homoptera). *Pest Manag Sci* 2005; 61:1122-28.
67. Park B-S, Choi W-S, Kim J-H, Kim K-H, Lee S-E. Monoterpene from thyme (*Thymus vulgaris*) as potential mosquito repellents. *J Am Mosquito Control Assoc* 2005; 21:80-3.
68. Dietrich G, Dolan MC, Peralta-Cruz J, Schmidt J, Piesman J, Eisen RJ. Repellent activity of fractioned compounds from *Chamaecyparis nootkatensis* essential oil against nymphal *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae). *J Med Entomol* 2006; 43:957-61.
69. Choi I-H, Kim J, Shin S-C, Park I-K. Nematicidal activity of monoterpenoids against the pine wood nematode (*Bursaphelenchus xylophilus*). *Russian J Nematol* 2007; 15:35-40.
70. Cetin H, Erler F, Yanikoglu A. A comparative evaluation of *Origanum onites* essential oil and its four major components as larvicides against the pine processionary moth *Thaumetopoea wilkinsoni* Tams. *Pest Manag Sci* 2007; 63:830-3.
71. Cetin H, Cilek J, Aydin L, Yanikoglu A. Acaricidal effects of the essential oil of *Origanum minutiflorum* (Lamiaceae) against *Rhipicephalus turanicus* (Acari: Ixodidae). *Vet Parasitol* 2009; 160:359-61.
72. Makri O. Cultivation of oregano. En: Kintzios S, Ed. Medicinal and Aromatic Plants – Industrial profiles – Oregano: The Genera *Origanum* and *Lippia*. London: Taylor & Francis, 2002. pp. 153-62.
73. Masango P. Cleaner production of essential oils by steam distillation. *J Clean Prod* 2005; 13:833-39.
74. Baser KHC. Biological and pharmacological activities of carvacrol and carvacrol bearing essential oils. *Curr Pharm Design* 2008; 14:3106-20.
75. Turek C, Stintzing FC. Stability of essential oils: a review. *Compr Rev Food Sci Saf* 2013; 12:40-53.
76. Bakry AM, Abbas S, Ali B, Majeed H, Abouelwafa MY, Mousa A, Lianget L. Microencapsulation of oils: a comprehensive review of benefits, techniques, and applications. *Compr Rev Food Sci Food Saf* 2016; 15:143-82.
77. Baranauskienė R, Venskutonis PR, Galdikas A, Senulienė D, Ėatkus A. Testing of microencapsulated flavours by electronic nose and SPME-GC. *Food Chem* 2005; 92:45-54.
78. Baranauskienė R, Venskutonis PR, Dewettinck K, Verhé R. Properties of oregano (*Origanum vulgare* L.), citronella (*Cymbopogon nardus* G.) and marjoram (*Majorana hortensis* L.) flavors encapsulated into milk protein-based matrices. *Food Res Int* 2006; 39:413-25.
79. Arana-Sánchez A, Estarrón-Espinosa M, Obledo-Vázquez EN, Padilla-Camberos E, Silva-Vázquez R, Lugo-Cervantes E. Antimicrobial and antioxidant activities of Mexican oregano essential oils (*Lippia graveolens* H.B.K.) with different composition when microencapsulated in α-cyclodextrin. *Lett Appl Microbiol* 2010; 50(6):585-90.
80. Abreu FOMS, Oliveira EF, Paula HCB, de Paula RCM. Chitosan/cashew gum nanogels for Q16 essential oil encapsulation. *Carbohydr Polym* 2012; 89:1277-82.
81. Beirão da Costa S, Duarte C, Bourbon AI, Pinheiro AC, Serra AT, Moldão-Martins M, Nunes-Januário MI, Vicente AA, Delgadillo I, Duarte C, Beirão da Costa ML. Effect of the matrix system in the delivery and in vitro bioactivity of microencapsulated Oregano essential oil. *J Food Eng Int Conf Food Innov – FoodInnova* 2012; 110:190-9.
82. Botrel DA, Vilela-Borges S, de Barros Fernandes RV, Dantas-Viana A, Gomes da Costa JM, Marques GR. Evaluation of spray drying conditions on properties of microencapsulated oregano essential oil. *Int. J Food Sci Technol* 2012; 47:2289-96.
83. Hosseini SF, Zandi M, Rezaei M, Farahmandghavi F. Two-step method for encapsulation of oregano essential oil in chitosan nanoparticles: preparation, characterization and in vitro release study. *Carbohydr Polym* 2013; 95:50-6.
84. Hosseini, S.M., Hosseini H, Mohammadifar MA, Mortazavian AM, Mohammadi A, Khosravi-Darani K, Shojaee-Aliabadi S, Dehghan S, Khaksar R. Incorporation of essential oil in alginate microparticles by multiple emulsion/ionic gelation process. *Int J Biol Macromol* 2013; 62:582-8.

85. Gomes da Costa JM, Borges SV, Toledo AAC, Silva EK, Marques GR, Cirillo MA, Da Azevedo VM. Matrix structure selection in the microparticles of essential oil oregano produced by spray dryer. *J Microencap* 2013; 30:717-27.
86. Almeida AP, Rodríguez-Rojo S, Serra AT, Vila-Real H, Simplicio AL, Delgadilho I, Beirão da Costa S, Beirão da Costa L, Nogueira ID, Duarte CMM. Microencapsulation of oregano essential oil in starch-based materials using supercritical fluid technology. *Innov Food Sci Emerg Technol* 2013; 20:140-5.
87. Hernández-Hernández E, Regalado-González C, Vázquez-Landaverde P, Guerrero-Legarreta I, García-Almendárez BE. Microencapsulation, chemical characterization, and antimicrobial activity of Mexican (*Lippia graveolens* H.B.K.) and European (*Origanum vulgare* L.) oregano essential oils. *The Sci World J* 2014; Article ID 641814.
88. Asensio CM, Paredes AJ, Martin MP, Allemandi DA, Nepote V, Grossi NR. Antioxidant stability study of oregano essential oil microcapsules prepared by spray-drying. *J Food Sci* 207; 82:2864-72.
89. Anaya-Castro MA, Ayala-Zavala JF, Muñoz-Castellanos L, Hernández-Ochoa L, Peydecastaing J, Durrieu V. α -Cyclodextrin inclusion complexes containing clove (*Eugenia caryophyllata*) and Mexican oregano (*Lippia berlandieri*) essential oils: Preparation, physicochemical and antimicrobial characterization. *Food Pack Shelf Life* 2017; 14:96-101.
90. Partheniadis I, Karakasidou P, Vergkizi S, Nikolakakis I. Spectroscopic examination and release of microencapsulated oregano essential oil. *ADMET & DMPK* 2017; 5(4):224-33.
91. Barbieri N, Sanchez-Contreras A, Canto A, Cauich-Rodriguez JV, Vargas-Coronado R, Calvo-Irabien LM. Effect of cyclodextrins and Mexican oregano (*Lippia graveolens* Kunth) chemotypes on the microencapsulation of essential oil. *Ind Crops Prod* 2018; 121:114-23.