



# Efecto del secado y la edad de las plantas en la composición de los aceites esenciales de *Lippia alba* (Mill.) N.E.Br. ex Britton & P. Wilson y *Lippia organoides* Kunth

Effects of drying and age plants on the composition of the essential oils of *Lippia alba* (Mill.) N.E.Br. ex Britton & P. Wilson and *Lippia organoides* Kunth accessions

Johannes Delgado Ospina<sup>1\*</sup>, Manuel Salvador Sánchez Orozco<sup>1</sup> y Carmen Rosa Bonilla Correa<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Colombia sede Palmira, Colombia. <sup>2</sup> Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Colombia sede Bogotá, Colombia. \*Autor para Correspondencia: [jdelgado@unal.edu.co](mailto:jdelgado@unal.edu.co)

Rec.: 28.11.2014 Acep.: 21.01.2015

## Resumen

En el estudio se determinaron el efecto de la edad de las plantas al momento de la cosecha y del secado de las hojas sobre la composición y concentración de los aceites esenciales de tres accesiones de *Lippia organoides* Kunth. (Patía, Cítrica y Típica) y dos accesiones de *Lippia alba* (Mill.) N.E.Br. ex Britton & P. Wilson (Cítrica y Típica) cultivadas en campo en la Universidad Nacional de Colombia sede Palmira. En un arreglo de parcelas divididas con tres repeticiones, se evaluaron 2 factores de secado y tres épocas de cosecha. Los resultados mostraron que el secado aumentó la concentración de los componentes principales de cada accesión de las dos especies de *Lippia* y que la edad de las plantas al momento de la cosecha no afectó la concentración ni la composición de los aceites esenciales.

**Palabras clave:** Plantas medicinales, metabolitos secundarios, timol, geranial, carvona.

## Abstract

A test was conducted under field conditions at the Universidad Nacional de Colombia sede Palmira and oils analysis in the Universidad Industrial de Santander (UIS), in order to determine the effect of plant age at the time cutting and the effect of drying the plant material on the composition and concentration of the essential oils of three accessions of *Lippia organoides* Kunth. (Patía, Cítrica and Típica) and two accessions of *Lippia alba* (Mill.) N.E.Br. ex Britton & P. Wilson (Cítrica and Típica). In a split plot arrangement with three replications, two factors were evaluated drying and three harvest times. The results showed that drying increased the concentration of the main components of the accessions of the two *Lippia* species, and age of the plants at harvest did not affect the composition and concentration of essential oils.

**Keywords:** Medicinal plants, secondary metabolites, thymol, geranial, carvone.

## Introducción

Los aceites esenciales son fracciones líquidas volátiles que contienen mezclas complejas de varias sustancias químicas biosintetizadas por las plantas que dan el aroma característico a flores, árboles, frutos, hierbas, especias, semillas y a productos de origen animal.

La calidad final de los productos fitoterapéuticos depende de factores que se inician desde la identificación correcta de la especie, manejo del cultivo, cosecha y beneficio. Entre los factores que afectan la calidad del producto final se encuentran las variaciones de clima, suelo, época de cosecha, características genéticas de la planta, condiciones de secado y tiempo de almacenamiento (Montanari *et al.*, 2011); por su parte, la calidad de los aceites esenciales está definida por la relación porcentual de cada uno de sus componentes. La calidad de los aceites esenciales es el factor principal para su utilización en industrias cosméticas, terapéutica o agrobiológica, ya que son una fuente natural de compuestos difíciles de sintetizar. Entre los aspectos que pueden dar lugar a pequeños cambios en la composición de los aceites esenciales se encuentran el método de extracción utilizado (Stashenko *et al.*, 2004), la etapa fisiológica de la planta al momento de la cosecha, el clima, los días de sol, la humedad relativa y el ciclo circadiano.

El contenido de humedad del material vegetal al momento de la extracción es un factor importante en el rendimiento de los aceites esenciales; así, en plantas de pronto alivio (*Lippia alba*) el rendimiento fue mayor cuando el material al momento de la extracción en fresco presentaba 75% de humedad vs. 12% en seco (Mejía *et al.*, 2007). El contenido de humedad del material vegetal al momento de la extracción no sólo afecta el rendimiento sino que puede generar variabilidad en la composición química de los aceites esenciales. Barbosa *et al.* (2006) encontraron que temperaturas de secado hasta 80 °C redujeron entre el 12 y 17% en el contenido de aceite esencial de plantas secas de *Lippia alba* en comparación con los contenidos de los mismos aceites en plantas frescas, no obstante, el contenido de citral en el aceite esencial en plantas secas fue ligeramente mayor que el obtenido en plantas frescas.

El género *Lippia* (familia Verbenaceae) incluye 221 especies aceptadas y 360 registros de especies consideradas como sinónimos de algunas de las especies aceptadas. Se distribuye en América del Sur (Venezuela, Brasil, Colombia) y en América Central (México, Guatemala, Cuba, Costa Rica) y en regiones tropicales de África. Varias especies de este género se utilizan contra afecciones respiratorias y gastrointestinales, además para condimentos, entre ellas se destacan: (1)

*Lippia alba* (Mill.) N.E.Br. ex Britton & P. Wilson (*L. alba*), conocida también como 'pronto-alivio'. Se utiliza como infusión, antidiarreico, antiespasmódico, diaforético, diurético, expectorante, laxante y sedante. Estas propiedades pueden relacionarse con el hecho de que las plantas exhiben propiedades antifúngicas, antimicrobianas y antioxidantes (Stashenko *et al.*, 2004). Estos beneficios y las propiedades bioactivas están directamente relacionadas con la composición de los aceites esenciales presentes en la planta. (2) *Lippia organoides* Kunth (*L. organoides*) es utilizada como condimento debido a su gran parecido con el orégano. El aceite esencial de las hojas de esta especie en cocimiento tiene múltiples usos terapéuticos y medicinales. Presenta actividad bacteriostática contra tres especies de *Nocardia* sp. (Méndez *et al.*, 2007) y actividad antimicrobiana contra algunas especies de *Cándida*, *Staphylococcus aureus*, entre otros. También presenta actividad inhibitoria contra *Trichophyton rubrum* T544 (Oliveira *et al.*, 2007).

El objetivo de este estudio fue evaluar los efectos del contenido de humedad del material vegetal en la composición y la concentración de los metabolitos secundarios volátiles del aceite esencial de dos accesiones de *L. alba* y tres de *L. organoides* en diferentes edades del cultivo.

## Materiales y métodos

**Localización.** El experimento de campo se estableció en el Centro Experimental de la Universidad Nacional de Colombia sede Palmira (CEUNP) localizado en el municipio de Candelaria, departamento de Valle del Cauca, a 930 m.s.n.m. con temperatura media de 26 °C y 65% de humedad relativa. El secado y la extracción de los aceites esenciales se realizaron en el Laboratorio de Química de la Universidad Nacional de Colombia sede Palmira y los análisis de los aceites esenciales en la Universidad Industrial de Santander.

**Material vegetal.** Las especies fueron sembradas por estacas obtenidas de plantas adultas provenientes de la Colección in vivo de Plantas Medicinales Nativas, Aromáticas y Condimentarias de la Universidad. Las plantas corresponden a dos accesiones (Cítrica y Típica) de *Lippia alba* (Mill.) N.E.Br. ex Britton & P. Wilson y tres accesiones (Patía, Cítrica y Típica) de *Lippia organoides* Kunth. Los esquejes de 12 -15 cm, obtenidos del tercio medio de tallos de las accesiones, fueron enraizados en la sombra en un sustrato suelo-arena (1:1). El trasplante en campo se realizó 28 días después a razón de 12 esquejes enraizados/parcela a una distancia entre plantas de 0.75 m y 0.50 m entre surcos en parcelas de 6 m<sup>2</sup>. Catorce días después del trasplante se aplicaron 50 kg/ha de urea (46% N). Las plantas fueron

dispuestas en un arreglo de parcelas divididas con tres repeticiones, para evaluar dos factores secado y tres edades de las plantas al momento de la cosecha. Cada muestra consistió en hojas cosechadas manualmente de cuatro plantas del surco central. La toma de muestras se hizo cada 4 meses hasta 12 meses de edad de la planta.

**Secado de muestras y extracción de aceites esenciales.** Las determinaciones se hicieron en muestras de hojas secadas a la sombra en bodega techada, con una humedad relativa de 65% y temperatura de 33 °C por un periodo de 48 h hasta un contenido de humedad de 12%; y en hojas frescas con un contenido de humedad al momento de cosecha de 75%. La extracción de los aceites esenciales se hizo mediante destilación por arrastre con vapor de agua en un equipo tipo Clevenger, donde se sometieron 100 g de hojas en fresco y 40 g de hojas en seco a extracción durante 1 hora.

**Purificación y rendimientos.** Los aceites esenciales obtenidos en la destilación por arrastre con vapor fueron purificados con dietil-eter (separando el agua y los compuestos hidrosolubles) y secados con sulfato de sodio anhidro adquiridos de Merck (Darmstadt, Germany), luego se midió el volumen obtenido. El rendimiento se determinó por el volumen de aceite esencial obtenido por peso de hojas secas en todos los casos.

**Análisis cromatográfico.** La composición química de la fracción volátil y semivolátil de los aceites esenciales se determinó por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG-MS). Para ello los aceites esenciales fueron inyectados en forma directa al cromatógrafo de gases (Agilent Technologies 6890 Plus) acoplado a un detector selectivo de masas (MSD, Agilent Technologies 5973) operado en modo de barrido completo (full scan). 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 inyección se realizó en modo split (30:1), volumen de inyección de 2 µl. La identificación de los compuestos se estableció con base en sus índices de retención y espectros de masas (EI, 70eV) usando las bases de datos de Adams, Wiley 138 y W8N08. La temperatura del horno se programó en gradiente desde 45 °C hasta alcanzar 275 °C, las temperaturas de la cámara de ionización y de la línea de transferencia se establecieron a 230 y 285 °C, como lo describe Ruiz *et al.* (2007). A los datos obtenidos se sometieron a análisis de varianza (Anova) y pruebas de medias (Duncan) usando el programa SAS versión 9.2 (2007).

## Resultados y discusión

### Efecto de secado

El secado de hojas al momento de la extracción se asoció inicialmente con una reducción del rendimiento de aceites esenciales (Mejía *et al.*, 2007), lo que es importante para evitar deterioro en el material vegetal durante el transporte y almacenamiento previo a la extracción. Los resultados mostraron que las pérdidas no fueron uniformes, sino que afectaron diferencialmente algunos de los compuestos presentes. Los contenidos de los componentes principales de *L. alba* accesión Cítrica y las accesiones de *L. origanoides* variaron de manera significativa entre los estados de secado ( $P < 0.05$ ) (Tabla 1).

***Lippia alba* (Mill.) N.E.Br. ex Britton & P. Wilson.** Entre los aceites volátiles obtenidos en la accesión Cítrica se identificaron un total de 15 compuestos y 26 en la accesión Típica. En la accesión Cítrica, los compuestos Geranial, Neral y el Geraniol fueron los componentes principales representando 87.8% del total. Para la accesión Típica, la Carvona, el Limoneno y el Germacreno-D fueron los componentes principales, totalizando 92% de los compuestos identificados, lo que coincide con resultados de trabajos con esta accesión (quimiotipo) realizados por Stashenko *et al.* (2004).

Estos resultados sugieren que los aceites esenciales de la accesión Cítrica se pueden clasificar de acuerdo con el criterio de Hennebelle *et al.* (2008) en el quimiotipo Ia debido a los altos contenidos de Carvona y Limoneno, y la accesión Típica en el quimiotipo IIIa. En la mayoría de los departamentos de Colombia donde se ha encontrado *L. alba* predomina este último quimiotipo.

La composición de los aceites esenciales de la accesión Cítrica varió con los tratamientos de secado. El Geranial, un compuesto con fuerte olor a limón, aumentó su concentración de manera significativa en 5.2% cuando las hojas fueron sometidas a secado, mientras que el Neral y el Geraniol disminuyeron su concentración, aunque en forma no significativa (Tabla 1). Debido a la cercanía de los puntos de ebullición de los tres principales componentes del aceite esencial, no es posible determinar si el aumento de Geranial es debido a la mayor volatilidad de los otros componentes principales. El aumento de este compuesto puede ser el resultado de oxidaciones que ocurren durante el proceso de secado. A partir de la oxidación de Geraniol se produce el Geranial, en procesos descritos vía radicales libres (Nunes *et al.*, 2005), en menor medida por oxidación catalítica (Dapurkar *et al.*, 2011) y más importante por biotransformaciones mediadas por enzimas (Demyttenaere *et al.*, 2000) como la

geraniol deshidrogenasa dependiente del NADP + (Sangwan *et al.*, 1993) en el que el estado redox de la coenzima puede regular el equilibrio entre Geraniol y Geranial.

**Tabla 1.** Componentes y concentración relativa (%) de los principales metabolitos secundarios volátiles de accesiones de *L. alba* y *L. origanoides* en dos estados de poscosecha.

Especie (accesión)	Componente en aceite	Estado	
		Fresco (75%)	Seco (12%)
<b><i>L. alba</i></b>			
Cítrica	Geranial	44.7 ± 1.4 a*	49.9 ± 0.2 b
	Neral	31.7 ± 0.8 a	30.8 ± 1.2 a
	Geraniol	10.1 ± 1.1 a	8.7 ± 1.0 a
Típica	Carvona	47.9 ± 4.6 a	50.7 ± 4.8 a
	Limoneno	32.4 ± 0.5 a	34.4 ± 1.5 a
	Germacreno D	10.5 ± 3.3 a	7.2 ± 2.7 a
<b><i>L. origanoides</i></b>			
Patía	Timol	81.8 ± 3.7 a	87.9 ± 0.6 b
	ρ-Cimeno	5.1 ± 1.0 b	4.1 ± 0.4 a
	γ-Terpineno	4.1 ± 2.3 b	2.6 ± 0.3 a
	trans-β-Cariofileno	2.2 ± 0.6 b	1.0 ± 0.03 a
Típica	Timol	76.9 ± 1.6 a	83.5 ± 4.0 b
	ρ-Cimeno	5.35 ± 0.4 b	4.45 ± 1.1 a
	γ-Terpineno	5.05 ± 1.5 a	4.1 ± 1.7 a
	trans-β-Cariofileno	2.7 ± 0.4 b	1.1 ± 0.1 a
Cítrica	Timol	78.15 ± 0.4 a	84.6 ± 1.6 b
	ρ-Cimeno	5.3 ± 0.1 b	4.25 ± 0.4 a
	γ-Terpineno	4.4 ± 0.6 a	3.65 ± 0.5 a
	trans-β-Cariofileno	2.25 ± 0.2 b	1.05 ± 0.1 a

\* Medias en la misma fila con letras diferentes son significativamente diferentes (P < 0.05), según la prueba de Duncan.

En la accesión Típica no se encontraron diferencias significativas (P > 0.05), aunque la Carvona y el Limoneno aumentaron su concentración 2.8% y 2.0%, respectivamente, cuando las hojas fueron secadas, mientras que el Germacreno-D disminuyó su concentración 3.3% (Tabla 1).

Se esperaba que la concentración del Limoneno disminuiría por efecto del secado debido a su menor punto de ebullición; sin embargo, la tendencia fue aumentar al igual que la Carvona, incremento que podría ser favorecido por las biotransformaciones que continúan ocurriendo durante la etapa de secado y que generan producción de estos compuestos a partir de intermediarios comunes relacionados biogenéticamente

y que están, probablemente, formados en vías divergentes de un intermediario común. Igualmente, los sesquiterpenos como el Germacreno-D que tienen un mayor número de puntos de ebullición, disminuyeron durante el secado. Uno de los roles del Germacreno-D es la biosíntesis de nuevos sesquiterpenos, no solo por vías enzimáticas sino también por catálisis ácida, fotoquímica y térmicamente (Bülow y König, 2000), haciendo posible que la etapa de secado pueda generar una conversión del Germacreno-D en otros sesquiterpenos de mayor peso molecular, pero aún sin identificar, disminuyendo su concentración en el aceite.

La utilización de hojas frescas de *L. alba* para la extracción de los aceites esenciales trae beneficios importantes en el rendimiento (Mejía *et al.*, 2007), no obstante, según estos resultados también puede representar ventajas para la proporción de algunos de los componentes de los aceites esenciales, aunque la metodología del secado empleada (temperatura como factor principal) puede influir de manera negativa (Teles *et al.*, 2012; Shahhoseini *et al.*, 2013) en la composición de los mismos.

***Lippia origanoides* Kunth.** En el análisis de GC-MS de los aceites esenciales volátiles de las accesiones Patía, Cítrica y Típica fueron identificados 26 compuestos, de los cuales Timol es el componente principal, seguido por ρ-Cimeno, γ-Terpineno y trans-β-Cariofileno. Las cantidades altas de Timol en el aceite esencial de las accesiones de esta especie hacen que sea de gran interés para la agroindustria.

La composición de los aceites esenciales de las accesiones de esta especie varió (P < 0.05) en ambos tratamientos de secado. La concentración de Timol aumentó entre 6.2% y 6.6% en hojas secas, mientras que el ρ-Cimeno, el γ-Terpineno y el trans-β-Cariofileno disminuyeron su concentración (Tabla 1). Se evidenció en este caso que el secado disminuye la concentración de los compuestos más volátiles, entre ellos el ρ-Cimeno y el γ-Terpineno e incrementa la concentración de las fracciones menos volátiles como Timol.

La concentración de trans-β-Cariofileno, uno de los más abundantes sesquiterpenos en la atmósfera (Helmig *et al.*, 2007), disminuyó debido a la fácil oxidación que sufre cuando se expone al aire, produciendo óxido de Cariofileno como producto principal (Sköld *et al.*, 2006), aunque también se han encontrado ácidos derivados de la oxidación como el ácido β-nocariofilenoico (Van Eijck *et al.*, 2013), todos ellos productos oxigenados de baja volatilidad (Lee *et al.*, 2006).

Aunque los aceites esenciales de las accesiones de *L. origanoides* estudiadas tienen composición química semejante, su aroma es diferente

debido a variaciones en los componentes que se encuentran en menor proporción, lo que permite diferenciarlas fácilmente.

Las variaciones encontradas en la concentración de los componentes de los aceites esenciales demuestran el efecto del secado del material vegetal debido, principalmente, a factores como temperatura y evaporación de los componentes más volátiles. La concentración de otros compuestos en el aceite incrementa una vez se realiza la extracción y las biotransformaciones, reacciones de oxidoreducción, (química o enzimática) o reacciones de biosíntesis las cuales durante el secado de las hojas pueden seguir ocurriendo y producir un tipo de componente del aceite en mayor proporción a expensas de otros, lo cual explica el aumento en la concentración de algunos de los compuestos más volátiles.

### Efecto de la edad de las plantas

Con excepción de la accesión Típica de *L. alba* en la cual se observó que la Carvona, su componente principal, disminuyó su concentración en 8.5% después del primer corte, en las demás no se

observaron diferencia ( $P > 0.05$ ) entre la cantidad relativa de los aceites esenciales volátiles y la edad de las plantas al momento de la cosecha. Por otra parte, la composición de los aceites esenciales no varió en el tiempo y permaneció constante durante el periodo de 12 meses de evaluaciones (Tabla 2). Estos resultados son debidos al hecho que los aceites esenciales en plantas del el género *Lippia* se extraen principalmente de las hojas, por lo que su producción no se ve afectada ni depende de la época de floración de la planta. Rojas *et al.* (2006) encontraron que las plantas de *L. origanoides* difieren en la composición de Timol según las hojas sean recolectadas en época de lluvia o de sequía. En las condiciones climáticas del presente trabajo, las especies de *Lippia* permanecieron florecidas a través del periodo experimental y la recolección de hojas se hizo en días secos en cada época, evitando de esta forma que la humedad excesiva de la planta causara cambios en el metabolismo que afectan la producción de aceites esenciales.

La frecuencia de deshoje cada 4 meses permite que la planta se recupere del daño ocasionado por la recolección de muestras y la acumulación de

**Tabla 2.** Componentes y concentración relativa en hojas (%) de los principales metabolitos secundarios volátiles de accesiones de *L. alba* y *L. origanoides* en diferentes edades de planta.

(accesión)	Especie  Componente (aceites)	Tipo de muestra y edad de las plantas (meses)					
		Fresco			Seco		
		4	8	12	4	8	12
<b><i>L. alba</i></b>		<b>Cantidad relativa (%)</b>					
Cítrica	Geranial	46.1 a	44.8 a	43.3 a	50.1 a	49.8 a	49.7 a
	Neral	32.6 a	31.2 a	31.3 a	32.1 a	30.0 a	30.2 a
	Geraniol	9.1 a	10.1 a	11.2 a	7.6 a	9.2 a	9.3 a
Típica	Carvona	53.1 b	44.6 a	45.9 a	56.2 b	47.4 a	48.4 a
	Limoneno	32.1 a	32.1 a	33.0 a	34.1 a	36.0 a	33.1 a
	Germacreno D	6.8 a	13.3 a	11.3 a	4.2 a	8.3 a	9.2 a
<b><i>L. origanoides</i></b>							
Patía	Timol	80.2 a	79.1 a	84.4 a	87.9 a	87.5 a	88.3 a
	p-Cimeno	5.0 a	5.8 a	4.4 a	4.2 a	4.4 a	3.8 a
	γ-Terpineno	4.0 a	5.7 a	2.5 a	2.5 a	2.8 a	2.4 a
	trans-β-Cariofileno	2.1 a	1.8 a	2.6 a	1.1 a	1.0 a	1.0 a
Típica	Timol	76.1 a	75.8 a	78.0 a	84.5 a	80.7 a	86.3 a
	p-Cimeno	5.2 a	5.6 a	5.1 a	4.4 a	5.2 a	3.7 a
	γ-Terpineno	5.9 a	6.1 a	4.0 a	4.0 a	5.3 a	2.9 a
	trans-β-Cariofileno	2.9 a	2.4 a	3.0 a	1.2 a	1.2 a	1.0 a
Cítrica	Timol	78.3 a	78.4 a	77.9 a	85.1 a	85.7 a	83.4 a
	p-Cimeno	5.2 a	5.2 a	5.4 a	4.2 a	4.0 a	4.5 a
	γ-Terpineno	4.2 a	4.0 a	4.8 a	3.5 a	3.3 a	4.0 a
	trans-β-Cariofileno	2.1 a	2.4 a	2.1 a	1.0 a	1.0 a	1.1 a

\* Medias en la misma fila con letras diferentes son significativamente diferentes ( $P < 0.05$ ), según la prueba de Duncan.

reservas para asegurar la producción de aceites esenciales.

## Conclusiones

La composición de los aceites esenciales de las hojas de *L. alba* y *L. organoides* son sensibles a la poscosecha, están influenciados por el contenido de humedad de las hojas al momento de la extracción, pero no por la edad de las plantas.

El secado aumenta la concentración del componente principal en cada especie estudiada, Geranial para *L. alba* y Timol para *L. organoides*. Esta condición se puede emplear para mejorar las características de los aceites esenciales obtenidos, dependiendo del componente principal requerido. Para aumentar o reducir la proporción de aceites esenciales se pueden utilizar hojas secas o frescas.

## Referencias

- Barbosa, F. da F.; Barbosa, L. C. A.; Melo, E. C.; Mendes, B. F. y Santos, R. H. S. 2006. Influência da temperatura do ar de secagem sobre o teor e a composição química do óleo essencial de *Lippia alba* (Mill) N. E. Brown. *Química Nova* 29(6):1221 - 1225.
- Bülow, N. y König, W. A. 2000. The role of germacrene D as a precursor in sesquiterpene biosynthesis: investigations of acid catalyzed, photochemically and thermally induced rearrangements. *Phytoch.* 55(2):141 - 168.
- Dapurkar, S. E.; Kawanami, H.; Chatterjee, M.; Rode, C. V.; Yokoyama, T.; y Ikushima, Y. 2011. Selective catalytic oxidation of geraniol to citral with molecular oxygen in supercritical carbon dioxide. *Appl. Catal. A. General* 394(1-2):209 - 214.
- Demyttenaere, J. C. R.; Herrera, M. C.; y De Kimpe, N. 2000. Biotransformation of geraniol, nerol and citral by sporulated surface cultures of *Aspergillus niger* and *Penicillium* sp. *Phytoch.* 55(4):363 - 373.
- Helmig, D.; Ortega, J.; Duhal, T.; Tanner, D.; Guenther, A.; Harley, P.; Wiedinmyer, C.; Milford, J.; y Sakulyanontvittaya, T. 2007. Sesquiterpene emissions from pine trees e identifications, emission rates and flux estimates for the contiguous United States. *Environ. Sci. Techn.* 41(5):1545 - 1553.
- Hennebelle, T.; Sahpaz, S.; Joseph, H.; y Bailleul, F. 2008. Ethnopharmacology of *Lippia alba*. *J. Ethnopharm.* 116(2):211 - 222.
- Lee, A.; Goldstein, A. H.; Kröll, J. H.; Ng, N. L.; Varutbangkul, V.; Flagan, R.C.; y Seinfeld, J. H. 2006. Gas-phase products and secondary aerosol yields from the photooxidation of 16 different terpenes. *J. Geophysical Res.* 111(D17305):1 - 25.
- Mejía, O.; Marcial, J.; Sánchez, M. S.; Bonilla, C. R. y Vanegas, P. 2007. Efecto de la altura y frecuencia de corte y secado en el rendimiento y calidad del aceite esencial de pronto alivio. *Scientia tech.* 23(33):253-255.
- Méndez, R.; Serrano, J.; Chataing, B.; Jiménez, D.; Mora, D.; Rojas, L.; Subillaga, A.; y O'Callaghan, J. 2007. Estudio Comparativo de la actividad biológica del aceite esencial *Protium heptaphyllum* (Aubl.) March y el aceite esencial *Lippia organoides* HBK sobre tres especies de *Nocardia* sp. *Salud y Desarrollo Social* 2:49 - 52.
- Montanari, R. M, Barbosa, L. C.; Demuner, A. J.; Silva, C.; Carvalho L. S. y Andrade N. J. 2011. Chemical composition and antibacterial activity of essential oils from verbenaceae species: Alternative sources of (*E*)-caryophyllene and germacrene-D. *Química Nova* 34(9):1550 - 1555.
- Nunes, F. M. N.; Veloso, M. C. C.; Pereira, P. A. P.; y de Andrade J. B. 2005. Gas-phase ozonolysis of the monoterpenoids (S)-(+)-carvone, (R)-(-)-carvone, (-)-carveol, geraniol and citral. *Atmosph. Environ.* 39(40):7715 - 7730.
- Oliveira, D. R.; Leitão, G. G.; Bizzo, H. R.; Lopes, D.; Alviano, D. S.; Alviano, C. S.; y Leitão, S. G. 2007. Chemical and antimicrobial analyses of essential oil of *Lippia organoides* H.B.K. *Food chem.* 101(1):236 - 240.
- Oliveira, D. R.; Leitão, G. G.; Santos, S. S.; Bizzo, H. R.; Lopes, D.; Alviano, C. S.; Alviano, D. S.; y Leitão, S. G. (2006). Ethnopharmacological study of two *Lippia* species from Oriximiná, Brazil. *J. Ethnopharm.* 108(1):103 - 108.
- Rojas, J.; Morales, A.; Pasquale, S.; Márquez, A.; Rondón, M.; Imré, M.; y Veres, K. 2006. Comparative study of the chemical composition of the essential oil of *Lippia oreganoides* collected in two different seasons. *Natural Product Comm.* 1(3):205 - 207.
- Ruiz, C.; Tunarosa, F.; Martínez, J. R.; y Stashenko, E. E. 2007. Estudio comparativo por GC-MS de metabolitos secundarios volátiles de dos quimiotipos de *Lippia organoides* H.B.K.; obtenidos por diferentes técnicas de extracción. *Scientia Techn.* 23(33):3:325 - 328.
- Shahhoseini, R.; Ghorbani, H. Razi, K. S.; Ahmad, E.; y Moghaddam, M. 2013. Qualitative and quantitative changes in the essential oil of lemon verbena (*Lippia citriodora*) as affected by drying condition. *Drying Techn.* 31(9):1020 - 1028.
- Sköld, M.; Karlberg, A. T.; Matura, M.; y Börje, A. 2006. The fragrance chemical  $\beta$ -caryophyllene—air oxidation and skin sensitization. *Food Chem. Toxicol.* 44(4):538 - 545.
- Stashenko, E. E.; Jaramillo, B. E.; y Martínez, J. R. 2004. Comparison of different extraction methods for the analysis of volatile secondary metabolites of *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown, grown in Colombia, and evaluation of its in vitro antioxidant activity. *J. Chromatogr.* 1025(1):93 - 103.
- Teles, S.; Pereira, J. A.; Santos, C. H. B.; Menezes, R. V.; Malheiro, R.; Lucchese, A. M.; y Silva, F. 2012. Geographical origin and drying methodology may affect the essential oil of *Lippia alba* (Mill) N.E. Brown. *Ind. Crops Prod.* 37(1):247 - 252.
- Van Eijck, A.; Opatz, T.; Taraborrelli, D.; Sander, R.; y Hoffmann, T. 2013. New tracer compounds for secondary organic aerosol formation from  $\beta$ -caryophyllene oxidation. *Atmosph. Environ.* 80:122-130.