

CARACTERIZACIÓN FÍSICO-QUÍMICA DEL ACEITE ESENCIAL DE ALBAHACA. II

PHYSICAL-CHEMICAL CHARACTERIZATION OF ESSENTIAL OIL OF BASIL. II

Elizabeth Murillo*, Katherine Fernández**, Diana M. Sierra** y Amparo Viña*

Recibido: 02/08/04 – Aceptado: 02/12/04

RESUMEN

Se estudió la composición química del aceite esencial de *Ocimum americanum* L. (albahaca querendona morada) obtenido por hidrodestilación de vegetales recolectados en Chapetón-Ibagué. El análisis realizado por cromatografía de gases de alta eficiencia/detector selectivo de masas (HRGC/MSD) reveló que la esencia está constituida en un 85,4% por cinamato de metilo y un 5% de estragol. Adicionalmente, se caracterizó el aceite esencial mediante la determinación de la densidad, índice de refracción, pH, solubilidad y los espectros IR y UV.

Palabras clave: Albahaca, *Ocimum americanum*, aceite esencial, cinamato de metilo, hidrodestilación, quimiotipo.

ABSTRACT

The essential oil of *Ocimum americanum* L. (querendona morada basil) obtained by hydrodistillation from vegetables gat-

hered in Chapeton-Ibague, was analysed by high resolution gas chromatography/mass selective detector (HRGC/MSD). Its chemical composition was characterized by the presence of a high percentage of methyl cinnamate (85.4%) and estragol 5%. The density, refraction index, pH, solubility and spectroscopy analysis (IR-UV) of the hydrodistilled oil were determined.

Key words: Basil, *Ocimum americanum*, essential oil, methyl cinnamate, hydrodistillation, chemotypes.

INTRODUCCIÓN

La albahaca, género *Ocimum* (Lamiaceae), es también conocida como basilico (Francia), basil (Inglaterra), basilico (Italia), basilikum y basilienkraut (Alemania), tulsi (India), chiu Ts'Eng T'A (China), damma-kasseh y ofgahng (Etiopía), hung que (Vietnam), entre otros (1, 2). El conocimiento del vegetal a nivel mundial justificaría en parte la diversidad

* Departamento de Química. Facultad de Ciencias. Universidad del Tolima, Ibagué, Colombia.
Correo electrónico: emurillo@hotmail.com

** Especialización en química de productos naturales, Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad del Tolima.

de usos y aplicaciones encontrados para la planta completa o bien para su aceite esencial en alimentos, cosmética, perfumería, productos orales y dentales, licores, medicina e incluso ornamental (2, 3, 4, 5), lo que a su vez redundará en múltiples estudios científicos realizados a las especies vegetales de este género a fin de conocer sus características agronómicas (2, 6), la composición química del aceite esencial (1, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12) o la actividad biológica (1, 4, 9, 13). En Colombia, el interés por el estudio de la albahaca se concentra principalmente en la Universidad del Tolima, en donde se ha investigado desde el punto de vista botánico (14), químico (13, 15) y de su bioactividad (16, 17, 18, 19, 20, 21).

Pese a que Viña y Murillo (13) estudiaron la composición química de doce variedades de albahaca recolectadas en Ibagué, en la primera etapa de este estudio se verificó la composición química de los volátiles de una de ellas –albahaca querendona morada (*Ocimum americanum* L.)–, dado que en la segunda fase de la investigación se pretende probar su actividad antimicrobiana frente a la levadura *Candida albicans*, generadora de una patología que afecta un amplio sector poblacional, y porque además fue recolectada en una zona suburbana diferente de la meseta de este municipio, en relación con la citada por las investigadoras antes mencionadas. Debe recordarse que la síntesis de los aceites esenciales en plantas aromáticas depende de la genética del vegetal, de su estado de desarrollo vegetativo y de los factores agroclimáticos (22, 23).

Este trabajo se propuso examinar las características físico-químicas del aceite

esencial de *O. americanum*, lo que contribuye ampliar el conocimiento científico de las especies aromáticas del Tolima.

PARTE EXPERIMENTAL

Material vegetal

Los volátiles de *Ocimum americanum* L. se extrajeron a partir de la parte aérea de plantas en época de floración cosechadas en la zona de Chapetón-Ibagué, ubicada a 1390 msnm, 22 °C y 70% de humedad relativa. Las muestras se secaron en estufa (35-40 °C). La identificación del vegetal se realizó utilizando las claves taxonómicas aplicadas en el Herbario TOLI de la Universidad del Tolima.

Extracción del aceite esencial

Hojas, flores y tallos tiernos del material vegetal (100 g), se sometieron a hidrodeshidratación (1:10) en un aparato modificado por Clevenger (15) durante 2h, manta de calentamiento: 90 °C, termostato: 7 °C. El producto se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se almacenó en recipientes protegidos de la luz y se guardó en nevera a 4 °C hasta su utilización.

Características físicas

Al aceite esencial se le determinó el color, el olor, la densidad, el índice de refracción, la solubilidad en éter de petróleo, diclorometano, acetato de etilo, etanol, metanol, agua y tween. Adicionalmente se registró el rendimiento y los espectros IR y UV, en un equipo Genesis Mattson 9423 FTIR, y en un espectrofo-

tómetro UV/VIS Milton-Roy Genesis-5, respectivamente.

Análisis HRGC/MSD

Preparación de la muestra. El aceite esencial de albahaca querendona morada (50 μL) se disolvió en diclorometano (1 mL); el extracto final (1 μL) se inyectó al cromatógrafo de gases acoplado a masas.

Parámetros analíticos. Los constituyentes mayoritarios del aceite esencial y la cantidad de cada compuesto se determinó a través de un análisis HRGC/MSD, con un cromatógrafo de gases HP 5890A Series II (Hewlett-Packard, Palo Alto, California, USA), con un detector selectivo de masas HP 5992. Las condiciones GC fueron: columna capilar de 5% fenil-poli (dimetilsiloxano), longitud de 60 min^{-1} X 0,25 mm i.d.; espesor de la fase estacionaria 0,25 μm ; temperatura 50 $^{\circ}\text{C}$ (5 min), 5-270 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$ (30 min); se utilizó He como gas de acarreo (99,995%) a presión de 200 kPa, velocidad de 1 mL min^{-1} a 70 $^{\circ}\text{C}$; puerto de inyección split automático HP 6890 (relación split 30:1) a 250 $^{\circ}\text{C}$; volumen de inyección, 1 μl (sln. 5% v/v de aceite esencial en diclorometano). Las condiciones del espectrómetro de masas (MSD) fueron: Cámara de ionización a 183 $^{\circ}\text{C}$, presión $5,6 \times 10^{-5}$ torr. (N_2), línea de transferencia a 285 $^{\circ}\text{C}$; analizador: emisión 35 mA, ion focus 90 V, repeller 25,03 V, Ent. lens 40,66 V, energía de los electrones ionizantes 70 eV, multiplicador 1988 V, velocidad de barrido 2,13 (scan seg^{-1}), filamento off 8 min, rango de m/z 40-350 u.m.a.s. Los compuestos fueron identificados por comparación de los espectros de masas de cada componente resultante en la HRGC/MSD, con los estándares de las

bases de datos NBS75K y Wiley 138, y con datos reportados en la literatura (5, 24, 25, 26, 27).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Características físicas

Las propiedades físicas de los aceites esenciales están relacionadas con la diversidad de sus constituyentes, convirtiéndose en un instrumento rápido de identificación y evaluación del grado de pureza o del origen del producto, puesto que se trata de su huella digital.

La Tabla 1 muestra las características físicas del aceite esencial de *Ocimum americanum* L. cultivada en la zona de Chapetón-Ibagué.

Color. Aunque la gran mayoría de las esencias vegetales son incoloras, algunas presentan coloraciones modificables por el oxígeno del aire; es el caso del aceite esencial de albahaca querendona morada, cuyo color amarillo suave es modificado por acción de la luz, lo que a su vez insinúa la presencia de compuestos alifáticos con pocas insaturaciones o bien aromáticos monoanulares.

Densidad. Las densidades de los aceites esenciales generalmente oscilan entre 0,8 y 1,2 g/mL (28). El valor de 1,0332 g/mL encontrado en la esencia bajo estudio, implicaría un alto contenido de compuestos de bajo peso molecular o de constituyentes tipo fenol capaces de asociarse a través de puentes de hidrógeno, que aumentarían la masa en un volumen pequeño.

Índice de refracción. En su gran mayoría las esencias vegetales muestran ín-

Tabla 1. Características físicas del aceite esencial de *Ocimum americanum L.* Cultivada en Chapetón-Ibagué

Características	Valoración	
Olor	Hierbas amargas	
Color	Amarillo claro	
pH	5,0 a 26 °C	
Densidad	1,0332 g/mL	
Índice de refracción	1,515 a 26 °C	
Rendimiento	0,3%	
Solubilidad	Éter de petróleo	S
	Cloroformo	S
	Diclorometano	S
	Acetato de etilo	S
	Etanol	S
	Metanol	S
	Agua	Ins.
	Tween	S

^S Soluble, ^{Ins} Insoluble

lices de refracción entre 1,40 y 1,61 a 20 °C (28). Como se observa en la Tabla 1, el valor encontrado para la esencia bajo estudio se encuentra dentro de los rangos normales.

pH. El pH 5,0 determinado en este caso es un indicio de la presencia de compuestos tipo fenol, lo que concuerda con lo planteado en la densidad.

Solubilidad. Como es de esperarse, el aceite resulta soluble en solventes de naturaleza orgánica e insoluble en agua; no obstante, ésta adquiere el olor y sabor de la esencia al mezclárseles, lo que se explica por la presencia de compuestos capaces de formar puentes de hidrógeno con ella o bien moléculas lo suficientemente pequeñas para solubilizarse en el agua.

Características espectroscópicas. El espectro IR del aceite en estudio dejó ver absorciones características en 3141, 3035, 1814, 1479, 1035 y 673 cm^{-1} . Por su parte, el espectro UV mostró bandas a 205 nm, (A: 0,251), 217 nm (A: 0,240) y 277 nm (A: 0,293).

Composición química

Los constituyentes químicos de los aceites esenciales pertenecen de manera casi exclusiva a dos grupos caracterizados por diferentes rutas biosintéticas: el de los terpenoides, los más abundantes, y los compuestos aromáticos derivados del fenilpropano ($\text{C}_6\text{-C}_3$), mucho menos frecuentes.

La Tabla 2 relaciona los tiempos de retención y las cantidades relativas de los constituyentes del aceite esencial en estu-

dio. Como se observa, los componentes mayoritarios del aceite son: cinamato de metilo (85,4%), metil chavicol (5%) y

Tabla 2. Componentes químicos del aceite esencial hidrodestilado de albahaca querendona morada colectada en la zona de Chapetón-Ibagué

Nº Pico	t _R /min	Identificación	Cantidad relativa (%)
1	17,70	Limoneno	0,1
2	17,80	β-felandreno	0,3
3	17,85	1,8-Cineol (eucaliptol)	0,3
4	18,25	trans-Ocimeno	0,4
5	19,96	Fenchona	0,3
6	20,10	Terpinoleno	0,15
7	20,19	Linalol	0,15
8	22,47	3- Tujanol	0,1
9	23,76	Metil chavicol (estragol)	5,2
10	27,15	(Z)-Cinamato de metilo	10,0
11	30,14	(E)-Cinamato de metilo	75,4
12	30,80	Cariofileno	0,8
13	30,92	(Z)-β-Farneseno	0,7
14	31,23	(E)-β-Farneseno	0,4
15	31,76	β-Selineno	0,5
16	32,40	Valenceno	0,3
17	32,78	Biciclogermacreno	0,4
18	33,18	γ-Cadineno	0,2
19	33,69	Germacreno B	1,3
20	34,94	Espatuleno	0,3
21	35,15	Óxido de cariofileno	0,6
22	35,84	Sesquiterpenoide C ₁₅ H ₂₄ O	0,3
23	36,48	<i>Epi</i> -Biciclosesquifelandreno	0,6
24	36,93	β-Eudesmol	0,2
25	37,40	α-Bisabolol	0,2
26	44,1	N.I.	0,2
27	44,55	N.I.	0,1
28	50,07	N.I.	0,2

N.I.: No identificado.

germacreno (1,3%). Es notoria la prevalencia de compuestos fenilpropanoides (90,4%).

Quimiotipo

El quimiotipo de un aceite esencial se define con base en sus constituyentes mayoritarios; para Grayer (29) aquellos compuestos detectados en cantidad igual o superior al 20% son tenidos en cuenta para tal propósito. Adoptando este criterio, la Tabla 2 deja ver con claridad que el quimiotipo de los volátiles de *Ocimum americanum* de Chapetón-Ibagué es “cinamato de metilo”.

El mercado mundial para el aceite esencial de albahaca está dominado por dos tipos: el europeo (Europa, región del Mediterráneo y Estados Unidos), caracterizado por altas concentraciones de linalol y metil chavicol en relación 2:1 o 3:1, y el tipo egipcio, similar al anterior pero con cantidad y proporción mayor de metil chavicol en relación con el linalol (2). El quimiotipo establecido para el aceite esencial estudiado es poco frecuente, aunque resulta similar al de origen búlgaro. Cabe anotar que este quimiotipo fue encontrado en el 80% de las especies de albahaca estudiadas por Viña y Murillo (13).

Los resultados que muestra la Tabla 2 adicionalmente permiten agrupar los constituyentes del aceite, de acuerdo con sus cantidades relativas, en tres familias de compuestos: fenilpropanos (90,6%), monoterpenos (1,8%) y sesquiterpenos (6,8%). La Figura 1 ilustra el perfil químico del hidrodestilado definido en las dos investigaciones mencionadas como “fenilpropano”, con compuestos sinteti-

zados a través de la ruta biogénica del ácido shikímico. Cabe resaltar la disminución del contenido de monoterpenos en la esencia analizada en este trabajo frente a lo reportado en la investigación anterior.

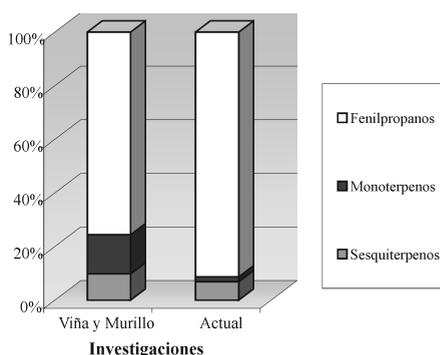


Figura 1. Perfil químico del aceite esencial de albahaca querendona morada colectada en Chapetón-Ibagué comparada con la reportada por Viña y Murillo (13).

La síntesis de monoterpenos y sesquiterpenos es particularmente dependiente de la producción de acetil CoA, además de las enzimas apropiadas y estructuras de membrana para la compartimentalización intracelular (30). Podría pensarse que los factores que alteran tanto la generación de biomasa como la acumulación de aceite esencial en la planta afectarían la concentración y el metabolismo de estos constituyentes secundarios.

Si se comparan los componentes mayoritarios (con contenido mayor al 1%) encontrados en la actual investigación frente a los reportados por Viña y Murillo (13) para la misma albahaca (Tabla 3), se destaca que el quimiotipo establecido para la esencia en las dos investigaciones es el mismo, aunque con diferencias en

Tabla 3. Comparación de algunos componentes químicos del aceite esencial de albahaca querendona morada en dos investigaciones llevadas a cabo en Ibagué-Tolima

Componentes	Resultados investigación actual, 2004 (%)	Resultados Viña y Murillo, 2000 (%)
(Z)-cinamato de metilo	10	9,7
(E)-cinamato de metilo	75,4	65,2
metil chavicol	5,2	6,36
Linalol	0,15	4,62
Terpinoleno	0,15	
Germacreno	1,3	0,46
Cariofileno	0,8	1,3
1,8-cineol	0,3	1,98
β -felandreno	0,6	
trans-ocimeno	0,4	1,84
β -farneseno	1,1	0,43

sus cantidades relativas, independiente de las condiciones agroclimatólogicas en las que se encontraban cultivadas las plantas de dichos estudios.

El linalol, considerado como contribuyente importante en el fino olor de los aceites tipo europeo y egipcio, disminuyó considerablemente en el aceite objeto del estudio, aunque el porcentaje de metil chavicol, otro compuesto importante, se mantuvo casi igual.

En general, el número y tipo de constituyentes químicos de *Ocimum americanum* recolectada en dos zonas suburbanas diferentes de la meseta de Ibagué, resultan similares, encontrándose diferencias sólo en las cantidades relativas de cada componente.

Simon et al. (31) encontraron que el contenido de linalol y metil chavicol se incrementa en la medida que aumenta el estrés por agua, y sugieren que aun bajo una presión media de déficit hídrico puede

acrecentarse el contenido de aceite esencial y alterarse su composición, la cual es altamente responsable del aroma, sabor y bioactividad de la planta. Burbott y Loomis (32) teorizaron que la acumulación de terpenos depende del balance entre la fotosíntesis en el día y la utilización de los productos de este proceso en la noche. Todo lo anterior induce a pensar que la puesta en acción del mecanismo enzimático que incrementa la biosíntesis de compuestos C_6-C_3 depende en gran manera de las condiciones medioambientales.

La literatura (33, 34, 35, 36) reconoce a los fenilpropanoides como compuestos con una alta actividad biológica; la mayor cantidad de cinamato de metilo y de metil chavicol encontrados en la esencia de la actual investigación, podría encontrar respuesta al medio agreste en que se desarrolló el vegetal; se esperaría entonces una alta acción antimicrobiana frente a *Candida albicans*, debido al alto contenido de los dos fenilpropanos y potenciali-

zada por la presencia del sesquiterpeno germacreno y los constituyentes minoritarios.

CONCLUSIONES

El aceite esencial de albahaca querendona morada recolectada en la zona de Chapetón-Ibagué en época de floración muestra un rendimiento de 0,3%, un 85,4% de cinamato de metilo, máximos al UV de 205, 217 y 277 nm, señales en el IR en 3141, 3035, 1814, 1479, 1035 y 673 cm^{-1} , solubilidad en solventes orgánicos e insolubilidad en agua.

El quimiotipo "cinamato de metilo" tipifica el aceite esencial de *Ocimum americanum* L. (albahaca querendona morada) de Ibagué-Tolima. El perfil químico del aceite está constituido por fenilpropanos.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el apoyo dado por el laboratorio de fitoquímica del Departamento de Química de la Universidad del Tolima. El soporte técnico del laboratorio de cromatografía de la Universidad Industrial de Santander es altamente apreciado.

BIBLIOGRAFÍA

1. Beckstrom-Sternberg; Stephen, M.; Duke, J. A.; Wain, K. K. (1994). The Ethnobotany Database. www.probe.nalusda.gov:8300/cgi-bin/browse/ethnobotdb. (ACEDB versión 4.3-data versión July).
2. Simon, J. E. (1995). Basil. Purdue University Center for New Crops y Plant Products.
3. Lachowicz, K. J.; Jones, G. P.; Briggs, D. R.; Bienvenu, F. E.; Palmer, M. V.; Mishra, V.; Murray, M. (1997). Characteristics of Plants and Plant Extracts from five varieties of Basil (*Ocimum basilicum* L.) grown in Australia. *Journal Agriculture Food Chemical*. **45**, 2660-2665.
4. Hernández, L.; Rodríguez, M. (2001). Actividad antimicrobiana de plantas que crecen en Cuba. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*. **2**, 44-47.
5. Moraes, L.; Facanali, R.; Ortiz, M.; Ming, L. C.; Meireles, A. (2002). Phytochemical characterization of essential oil from *Ocimum selloi*. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*. **74** (1): 183-186.
6. Álvarez, A. M. (1995). Cultivo de algunas especies aromáticas. Seminario de plantas aromáticas. Universidad Nacional de Colombia, pp. 65-70.
7. Medina, J. (1994). Extracción y caracterización cromatográfica de aceites esenciales en algunas plantas aromáticas. Universidad de Antioquia, pp. 3-10.
8. Ravid, U.; Putievsky, E.; Katzir, I.; Lewinsohn, E. (1997). Enantiomeric composition of linalol in the essential oils of *O.* species and in commercial basil oils. *Journal Flavour and Fragrance*. **12**, pp. 293-296.
9. Amvam Zollo, P. H.; Bigiti, L.; Tchoumboungang, F.; Menut, C.; Lamaty, G.; Bouchet, Ph. (1998).

- Journal Flavour and Fragrance*. **13**, pp. 107-114.
10. Sanda, K.; Koba, K.; Nambo, P.; Gaset, A. (1998). Chemical investigation of *Ocimum* species growing in Togo. *Journal Flavour and Fragrance*. **13**, pp. 226-232.
 11. Yusuf, M.; Begum, J.; Mondello, L.; Stagno d'Alcontres, I. (1998). Studies on the essential oil bearing plants of Bangladesh. Part VI. Composition of the oil of *Ocimum gratissimum*. *Journal Flavour and Fragrance*. **13**, pp. 163-166.
 12. Lawrence, B. M. (1989). Progress in essential oils. *Perfumer and Flavorist*. **14** (5): 45.
 13. Viña, A.; Murillo, E. (2003). Essential oil composition from twelve varieties of Basil (*Ocimum spp*) grown in Colombia. *Journal Brazilian Chemical Society*. **14**, pp. 1-6.
 14. Montealegre, M. E.; Villanueva, D. M. (1998). Determinación taxonómica y cuantificación de aceite esencial de las especies de albahaca (*Ocimum spp*) en el municipio de Ibagué áreas urbana y suburbana. Tesis Universidad del Tolima. Facultad de Educación, Programa de Biología y Química.
 15. Murillo, E.; Viña, A. (1999). Determinación de constituyentes volátiles de la albahaca (*Ocimum spp*) mediante dos métodos de extracción. *Revista Colombiana de Química*. **28** (1): 65-74.
 16. Cabrera, V. M.; Vera, P. R. (1995). Validación biológica de las plantas de mayor uso medicinal en el municipio de Venadillo. Tesis Universidad del Tolima, Facultad de Educación, Programa de Biología y Química.
 17. Grattz, J. M; Luna, S. B. (1999). Reconocimiento de plantas aromáticas del cañón del Combeima (Chapeón-Juntas) y determinación del contenido de aceite esencial en las dos especies más representativas. Tesis Universidad del Tolima, Facultad de Educación, Programa de Biología y Química.
 18. Correa, I. L.; Linares, M. A. (2000). Propiedades insecticidas y fúngicas del aceite esencial de las variedades de albahaca (*Ocimum spp*), recolectadas en el área urbana y suburbana de Ibagué. Tesis Universidad del Tolima, Facultad de Educación, Programa de Biología y Química.
 19. Alcocer, M. R.; Cardona, M. P. (2002). Actividad repelente e insecticida del aceite esencial de albahaca canela (*Ocimum micranthum* W.) en diferentes condiciones de cultivo. Tesis Universidad del Tolima, Facultad de Educación, Programa de Biología y Química.
 20. Reyes, M.; Silva, D.M. (2002). Fungitoxicidad de tres variedades de *Ocimum* y actividad sinérgica de sus aceites esenciales. Tesis Universidad del Tolima. Facultad de Educación. Programa de Biología y Química.
 21. Guzmán, Y.; Méndez, O. R. (2003). Determinación del efecto alelopático de los extractos de *Eucalyptus globulus* Labili y *Ocimum americanum* L. sobre las arvenses en cultivos de

- Daucus carota* L. y *Lactuca sativa* L. en la zona de Chapetón del Cañón del Combeima. Tesis Universidad del Tolima, Facultad de Educación, Programa de Biología y Química.
22. Crespo, M. (1992). Cultivo de plantas aromáticas. Editorial Albatros saci.
23. Domínguez, X. A. (1998). Métodos de investigación fitoquímica. Editorial Limusa: México, p. 229.
24. Adams, R. P. (1995). Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography-Mass Spectroscopy. Allured Publishing Corporation: Carol Stream, IL, USA.
25. Simon, J. E.; Quinn, J., Murray, R. G. (1990). Basil: A source of essential oil. *Advances in new crops*. Timber press: Portland, OR., pp. 484-489.
26. Simon, J. E. (1992). Basil: Promising new essential oil crop. *New Crops News*, Spring. **2** (1).
27. Power, J. Gas chromatographs: A basic explanation. *Dreaming Earth Botanicals*. 2541 Lower Flat Creek Road. Black Mountain, NC 28711, 2000-2003. En www.dreamingearth.com/basic.html
28. Calderón, E. (1963). Guía para análisis de plantas y notas prácticas sobre fitoquímica. Universidad Nacional: Bogotá.
29. Grayer, R. J.; Kite, G. C.; Goldstone, F. J.; Bryan, S. E.; Paton, A.; Putievsky, E. (1996). Intraspecific taxonomy and essential oil chemotypes in sweet basil, *Ocimum basilicum*. *Phytochemistry*. **43**, 1033-1039.
30. Loomis, W. D.; Croteau, R. (1973). Biochemistry and Physiology of Lower Terpenoids. In: *Terpenoids: Structure, Biogenesis and Distribution*. Recent Advances in Phytochemistry. V. C. Runeckles and T. J. Mabry (eds.). Academic Press, New York. **6**, 147-185.
31. Simon, J. E.; Reiss-Bubenheim, D.; Joly, R. J.; Charles, D. J. (1992). Water Stress-Induced Alterations in Essential Oil Content and Composition of Sweet Basil. *Journal of Essential Oil Research*. **4**, 71-75.
32. Burbott, A. J.; Loomis, W. D. (1967). Effects of light and temperature on the monoterpenes of peppermint. *Plant Physiol*. **42**, 20-28.
33. Martínez, A. (2001). Aceites esenciales. Facultad de Química Farmacéutica. Universidad de Antioquia, pp. 1-34. En www.muiscas.udea.edu.co
34. Gil, P. (2002). Productos naturales. Universidad Pública de Navarra: España, pp. 62-67, 113-137.
35. Bruneton, J. (1991). Elementos de fitoquímica y farmacognosia. Editorial Acribia, S.A.: España, pp. 242-244.
36. Kuklinski, C. (2000). Farmacognosia. Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. Ediciones Omega, S.A.: Barcelona, pp. 140-141.