

Dr. Eduardo Dellacassa, Bachs.
Daniel Lorenzo y Daniel Paz.
Cátedra de Farmacognosia, Facultad de Química,
Uruguay

10

Caracterización físicoquímica de los aceites esenciales

Introducción

Los aceites esenciales son mezclas muy complejas, tanto desde el punto de vista cualitativo como cuantitativo, en las cuales se encuentran presentes diferentes clases de sustancias y un número elevado de componentes individuales. Los componentes más importantes presentes en los aceites esenciales pertenecen fundamentalmente a 2 tipos estructurales: terpenos y fenilpropanos.

En la fracción terpénica predominan los monoterpenos, de fórmula general $C_{10}H_{16}$, los sesquiterpenos de fórmula general $C_{15}H_{24}$, y sus derivados oxigenados: alcoholes, aldehídos, ésteres. Estos derivados oxigenados son los responsables del aroma característico del aceite esencial. En adición, se pueden encontrar presentes sustancias de naturaleza alifática y aromática.

A su vez, los fenilpropanos son sustancias naturales ampliamente distribuidas en los vegetales caracterizadas por un anillo aromático unido a una cadena de 3 carbonos y derivados biosintéticamente del ácido shikímico. El anillo aromático generalmente está sustituido en los carbonos 3, 4 y 5, siendo estos sustituyentes grupos hidroxilo, metoxilo o metiléndioxi, principalmente.

El estudio de los aceites esenciales como materias primas básicas para la industria de fragancias y sabores, se ha transformado en una de las áreas de investigación y desarrollo más importantes para muchos países.

La evolución en el conocimiento de las características químico-analíticas de los aceites esenciales se ha debido fundamentalmente al desarrollo de las técnicas instrumentales

de análisis, sobre todo las técnicas cromatográficas, y en particular la cromatografía gaseosa.

Debe diferenciarse claramente entre aquellas técnicas que son utilizadas con un fin estrictamente de control analítico, de aquellas utilizadas en la investigación de la composición química de los aceites esenciales.

Prácticamente las técnicas analíticas actualmente utilizadas para el control de rutina, son aquellas que estaban inicialmente disponibles para un conocimiento primario de la composición. Lo mismo sucederá en el futuro con técnicas en desarrollo y hoy consideradas como sofisticadas.

El análisis enantiomérico es un ejemplo de técnica analítica cuyo desarrollo se ha visto acelerado por la importancia de la aplicación de sus resultados a la caracterización de mezclas volátiles como los aceites esenciales.

La identificación y aislamiento de los diferentes componentes de los aceites esenciales ha constituido siempre un desafío para los químicos por su complejidad y variabilidad de composición. En el caso de los componentes quirales u ópticamente activos, los atributos de fragancia y sabor así como la capacidad de actuar como mediadores biológicos es responsabilidad, no sólo de sus estructuras químicas, sino fundamentalmente de sus propiedades estereoquímicas.

La determinación de la pureza enantiomérica de un compuesto natural o sintético es de gran importancia para diferentes áreas porque ambos enantiómeros de una molécula poseen diferentes propiedades. De esta forma, por ejemplo en el campo farmacéutico,

ambos enantiómeros de compuestos farmacológicamente activos son a menudo caracterizados por diferentes actividades fisiológicas, riesgo toxicológico y efectos secundarios.

Por otra parte, los compuestos quirales responsables de aromas de origen natural se caracterizan por una distribución específica y definida de sus enantiómeros. En este sentido, la discriminación quiral es considerada como un principio importante vinculado con la percepción de aroma, por lo que la determinación de la distribución enantiomérica permite una clasificación y validación de los aceites esenciales y matrices complejas responsables de aroma y sabor.

Más aun, la determinación de la distribución enantiomérica de algunos componentes contribuye a la evaluación de la calidad de los aceites esenciales. A su vez, el control de genuinidad (autenticidad) de los sabores y fragancias es de muchos interés debido a la alta demanda por los productos naturales y la necesidad de garantizar esta característica para un producto a comercializar.

Por ejemplo, las regulaciones legales de la Unión Europea requieren una diferenciación entre sustancias saborizantes naturales e idénticas a naturales. Mientras que los componentes naturales son de origen natural, los idénticos a los naturales son químicamente idénticos a sus modelos naturales, pero obtenidos por síntesis química o aislados por procesos químicos, lo que les confiere otro estatus legal.

En años recientes la evaluación de la quiralidad de los componentes de los aceites esenciales se ha introducido como un indicador versátil de genuinidad y origen, en combinación con el análisis químico, cromatográfico y espectroscópico tradicionales.

La determinación del exceso enantiomérico de los terpenos presentes en el aceite esencial puede hacerse por GC ya sea mediante prefraccionamiento del aceite para obtener compuestos puros y separando luego ambos enantiómeros usando un GC con columnas quirales, o utilizando un sistema GC-GC multidimensional (MDGC).

De cualquier forma la exactitud de la identificación normalmente requiere un método adicional (GC/MS, LRI) para confirmar la identidad de los picos, teniendo en cuenta que los enantiómeros tienen patrones de fraccionamiento idénticos.

En este trabajo se ha evaluado la distribución enantiomérica, por MDGC, de diferentes monoterpenos en aceites de diferentes especies (*Lippia alba*, *Mentha pulegium*, *Salvia sclarea* y *Eupatorium buniifolium*) como criterio de autenticidad y origen.

Con un sistema como el descrito en la parte experimental, se logra una transferencia de fracciones seleccionadas desde una columna con fase no quiral (precolumna) a una quiral (columna analítica). La técnica de "heart-cut" permite obtener información acerca de la distribución enantiomérica de diferentes componentes mediante transferencias sucesivas en el curso de una misma corrida. Los resultados obtenidos han demostrado la selectividad asociada con la distribución enantiomérica de los monoterpenos para las especies seleccionadas, donde la presencia de diferentes posibilidades, desde entidades enantioméricamente puras a racematos, refleja procesos biosintéticos diferentes y por lo tanto específicos del taxón considerado.

En resumen, se puede afirmar que la determinación de los excesos enantioméricos mediante la técnica de MDGC, siguiendo el modelo propuesto, representa una herramienta útil para evaluar aspectos taxonómicos así como su aplicación como criterio de autenticidad y origen.

Materiales y métodos

Material vegetal y separación del aceite esencial. La fitomasa utilizada provino de las experiencias de cultivo desarrolladas en la Estación Experimental INIA Las Brujas, en el marco del Proyecto FPTA 137. En todos los casos las muestras de material vegetal fueron representativas de la especie y su distribución geográfica; se seleccionaron de forma de ser representativas de las mismas condiciones pedoclimáticas de colecta, y la extracción del aceite se realizó en idénticas condiciones para todas las muestras. De esta forma, se evitó la influencia de los parámetros del ecosistema y extractivos sobre la composición del aceite. La extracción se realizó utilizando una trampa de Clevenger.

Análisis por cromatografía gaseosa (HRGC). La composición del aceite se estudió por cromatografía gaseosa en un cromatógrafo de gases Shimadzu 14 B equipado con detector FID y un software Shimadzu EZ-Chrom, utilizando 2 columnas capilares con diferentes fases estacionarias:

la primera fue una SE-52 (Mega, Legnano, Italia) cross-linked (25 m x 0.32 mm d.i.), cubierta con 5% de fenil-polimetilsiloxano (0.40-0.45 μm); temperatura de la columna, 60°C (8 min), aumentando hasta 180°C a 3°C/min, luego hasta 250°C a 20°C/min; 250°C (10 min). Temperatura del inyector 250°C; temperatura del detector 280°C; modo de inyección, split; split ratio 1:30; volumen inyectado, 0.2 μL del aceite. El gas carrier fue Hidrógeno, 55 kPa

La segunda columna fue una Carbowax 20M (Ohio Valley, USA) bonded (25 m x 0.32 mm d.i.), cubierta con polietilenglicol (0.25 μm); temperatura de la columna, 40°C (8 min), aumentando hasta 180°C a 3°C/min, luego hasta 230°C a 20°C/min. Temperatura del inyector 250°C; temperatura del detector 250°C; modo de inyección, split; split ratio 1:30; volumen inyectado, 0.2 μL del aceite. El gas carrier fue Hidrógeno, 30 kPa.

Análisis por cromatografía gaseosa-espectrometría de masa (hrgc-ms). El análisis por espectrometría de masa acoplada a cromatografía gaseosa se realizó en un instrumento Shimadzu QP 5050 equipado con bibliotecas de referencia (Adams, R.P. "Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Quadrupole Mass Spectroscopy" Allured: Carol Stream, IL, 2001; McLafferty, F.W.; Stauffer, D.B. "The Wiley/NBS Registry of Mass Spectral Data" 5th ed. Wiley and Sons: NY, 1991) y utilizando las mismas fases estacionarias que para el análisis por cromatografía gaseosa. La primera columna fue una SE-52 (Mega, Legnano, Italia) de sílica fundida cross-linked (25 m x 0.25 mm d.i.), cubierta con 5% fenil-polimetilsiloxano (0.25 μm); temperatura de la columna, 60°C (8 min), aumentando hasta 180°C a 3°C/min, luego hasta 230°C a 20°C/min. Temperatura del inyector 250°C; modo de inyección, split; split ratio 1:40; volumen inyectado, 0.2 μL del aceite. El gas carrier fue Helio, 122.2 kPa (51.6 cm/sec); temperatura de la interfase 250°C; rango de adquisición, m/z 40-400.

La segunda columna fue una BP 20 (SGE, Australia) de sílica fundida bonded (25 m x 0.25 mm d.i.), cubierta con polietilenglicol (0.25 μm); temperatura de la columna, 40°C (8 min), aumentando hasta 180°C a 3°C/min, luego hasta 230°C a 20°C/min. Temperatura del inyector 250°C; modo de inyección, split; split ratio 1:40; volumen inyectado, 0.2 μL del aceite. El gas carrier fue Helio, 92.6 kPa (55.9

cm/seg); temperatura de la interfase 250°C; rango de adquisición, m/z 40-400.

Identificación y cuantificación. Los componentes del aceite se identificaron por comparación de sus índices de retención lineal (LRIs) obtenidos en las dos columnas, determinados en relación a una serie homóloga de *n*-alcanos, con los correspondientes valores de estándares o reportados en la literatura. También se realizó la comparación de los patrones de fragmentación en el espectro de masas con los correspondientes almacenados en bases de datos propias y comerciales.

Análisis quiral. La distribución enantiomérica de los monoterpenos seleccionados se obtuvo por cromatografía gaseosa multidimensional en un sistema formado con 2 cromatógrafos de gases. El primero equipado con una columna cubierta con SE-52 (Mega, Legnano, Italia) y el segundo GC con una columna quiral cubierta con una de las siguientes β -ciclodextrinas derivatizadas: 2,3-di-O-etil 6-O-t-butildimetilsilil- β -ciclodextrina en PS 086; 2,3-di-O-acetil 6-O-t-butildimetilsilil- β -ciclodextrina en OV 1701; 2,3-di-O-metil 6-O-t-butildimetilsilil- β -ciclodextrina en PS 086; 2,3-di-O-metil 6-O-pentil- β -ciclodextrina en OV 1701 (Mega, Legnano, Italia); una interfase; una válvula de 6 vías y un sistema para mantener constante el flujo durante la transferencia. Con este sistema, se aplicó la técnica de "heart-cut" y se transfirieron las fracciones de interés desde la columna no-quiral a la quiral. Las condiciones experimentales se han reportado previamente (Lorenzo, D.; Loayza, I.; Dellacassa, E. Composition of the Essential Oil of *Tagetes maxima* Kuntze from Bolivia. *Flavour Fragr. Flavour Fragr. J.* 2002, 17, 115). El volumen inyectado en cada caso fue 1 μL de una dilución 1:10 de cada aceite en *n*-hexano; modo de inyección, split; split ratio 1:15. El gas carrier fue Helio, 90 kPa (precolumna), 110 kPa (columna analítica). La repetitibilidad del sistema de medida mostró coeficientes de variación inferiores al 5% para todos los componentes.

Resultados

Los análisis realizados han tenido como objetivo colaborar en la priorización de las especies aromáticas destinadas a ser incorporadas al programa de cultivo y

eventualmente de transformación. Los parámetros de referencia han sido la determinación de rendimientos en aceite esencial para cada especie, así como el estudio de la composición química de los mismos.

Los aceites esenciales de las muestras (correspondientes a 12 especies vegetales) han sido analizados en la Cátedra de Farmacognosia y Productos Naturales de la Facultad de Química de Montevideo mediante cromatografía de gases y cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas. Un resumen de los resultados obtenidos se incluye a continuación.

En todos los casos se presenta la información correspondiente a los componentes considerados como relevantes para cada aceite esencial. Este criterio se basa no sólo en el porcentaje de cada componente sino fundamentalmente en su importancia relativa en el

aceite desde el punto de vista de su aplicación.

Los resultados representan además los valores medios de composición correspondientes a muestreos estacionales del material vegetal de acuerdo al criterio de evaluación de cada especie y su comportamiento.

Se incluye para algunos casos seleccionados (*Mentha pulegium*, *Lippia alba*, *Salvia sclarea* y *Eupatorium buniifolium*) el estudio de la distribución enantiomérica de componentes relevantes. La inclusión de estos casos busca ejemplificar la importancia y utilidad de esta herramienta en la caracterización y valorización de los aceites en cuestión. Representa también una herramienta para el mayor conocimiento de los productos al momento de su comercialización y con este criterio los resultados que se incluyen han sido publicados en revistas internacionales y reuniones especializadas en este tema tal como se muestra en la bibliografía.

Achyrocline satureioides

Compuesto	%
β -Ocimeno	21,9
1,8-Cineol	3,1
(E)- β -Cariofileno	10,4
α -Humuleno	3,1
δ -Guaiano	1,2
Grupos de compuestos	
Hidrocarburos	39,3
Monoterpenos	27,1
Sesquiterpenos	15,3
Compuestos oxigenados	3,1
Eteres	3,1

Chenopodium ambrosioides

Compuesto	%
α -Pino	11,7
Mirceno	16,8
α -Terpineno	7,3
<i>p</i> -Cimeno	5,7
Pinocarvona	6,1
(E)-Pinocarveol	16,5
Timol	1,2
Acetato de pinocarvilo	1,3
Grupos de compuestos	43
Monoterpenos	77,6
Compuestos oxigenados	25,1
Compuestos carbonílicos	7,4
Alcoholes	17,7

Mentha pulegium

Compuesto	%
3-Octanol	1.5
Limoneno	0.9
1,8-Cineol	0.1
(1R,4S)-(-)-Mentona	3.6
(1R,4R)-(+)-Isomentona	12.9
<i>neo</i> -Mentol	0.3
Isopulegona	1.4
(1R,3R,4S)-(-)-Mentol	0.6
(1R,3S,4R)-(+)-Isomentol	0.1
<i>neo</i> -Isomentol	0.8
α -Terpineol	0.1
(1R)-(+)-Pulegona	73.4
Piperitona	0.1
Piperitenona	0.9
Grupos de compuestos	
Hidrocarburos monoterpénicos	2.2
Monoterpenos oxigenados	94.3
Hidrocarburos sesquiterpénicos	1.0
Sesquiterpenos oxigenados	0.3
Otros	1.5

Mentha rotundifolia

Compuesto	%
1,8-Cineol	0.1
(Z)- β -Ocimeno	0.8
(E)- β -Ocimeno	0.1
Hidrato de (Z)-sabineno	2.0
Acetato de octen-3-ilo	0.2
4-Terpineol	1.5
α -Terpineol	0.2
Oxido de piperitona	80.8
β -Longipineno	0.2
Grupos de compuestos	
Hidrocarburos monoterpénicos	5.3
Monoterpenos oxigenados	84.6
Hidrocarburos sesquiterpénicos	2.0
Sesquiterpenos oxigenados	0.5
Otros	1.1

Ocimum selloi

Compuesto	%
1-8 Cineol	7,2
(Z)- β -Ocimeno	8,6
(E)- β -Ocimene	2,1
Linalol	0,6
Estragol	0,1
Metil eugenol	57,3
(E)- β -Cariofileno	5,8
Germacreno D	1,6
Biciclogermacreno	6,0
Elemicina	3,4
Espatulenol	0,1

Blepharocalyx salicifolia

Compuesto	%
α -Pineno	3,7
1,8-Cineol	62,7
γ -Terpineno	3,8
4-terpineol	3,6
α -Terpineol	4,1
Grupos de compuestos	
Hidrocarburos	7,5
Monoterpenos	77,9
Compuestos oxigenados	70,4
Alcoholes	7,7
Eteres	62,7

Hyptis floribunda

Compuesto	%
α -Pineno	0,8
1-8 Cineol	0,1
<i>n</i> -Octanol	0,1
Linalol	0,5
α -Copaeno	1,4
β -Burboneno	3,6
β -Elemeno + Metil eugenol	4,7
(E)- β -Cariofileno	20,6
γ -Elemeno	16,9
α -Humuleno	1,2
Germacreno D	10,3
β -Guaieno	6,1
δ -Cadineno	0,8
Germacreno B	10,1

Distribución enantiomérica para sabineno, limoneno, α -pineno y linalol en el aceite esencial de *Lippia alba* (Mill.)

Compuesto	α -Pineno		Sabineno		Limoneno		Linalol	
	1R-(+)	1S-(-)	(1R, 5R)-(+)	(1S,5S)-(-)	4R-(+)	4S-(-)	3S-(+)	3R-(-)
Ratio (%):	8,3	91,7	16,4	83,6	95,4	4,6	99,6	0,4

Lippia alba

Compuesto	%
3-Hexen-1-ol	0,1
Limoneno	2,9
1,8-Cineol	1,3
Linalol	55,3
(Z)-Dihidrocarvona	0,8
(E)-Dihidrocarvona	1,2
Neral	0,1
β -Elemeno	4,0
(E)-Cariofileno	9,0
γ -Elemeno	1,4
Germacreno D	6,0
Germacreno B	3,1
Germacreno A	1,3
(E)-Nerolidol	0,4
Grupos de compuestos	
Hidrocarburos monoterpénicos	6,0
Monoterpenos oxigenados	58,7
Hidrocarburos sesquiterpénicos	27,6
Sesquiterpenos oxigenados	0,9
Otros	0,1

Aloysia gratissima

Compuesto	%
α -Pineno	2,9
Sabineno + β -Pineno	38,3
β -Mirceno	2,2
1,8-Cineol	3,0
Linalol	0,4
α -Tujona	0,4
<i>trans</i> -Tujona	0,2
<i>trans</i> -Pinocarveol	0,9
Pinocamfeno	4,8
4-Terpineol	1,2
Mirtenal	0,5
Acetato de bornilo	0,3
Acetato de sabinilo	0,9
Acetato de pinocarvilo	4,5
δ -Elemeno	1,9
Acetato de carvilo	0,2
(E)- β -Cariofileno	6,1
α -Bergamoteno	0,5
α -Humuleno	1,1
Espatuleno	2,3

Aloysia chamaedryfolia

Compuesto	%
α -Pinoeno	3,0
Sabineno + β -Pinoeno	6,8
β -Felandreno + 1,8-Cineol	18,4
(<i>E</i>)- α -Ocimeno	1,4
Linalol	2,5
α -Terpineol	0,8
Mirtenol	0,6
α -Copaeno	2,3
β -Burboneno	2,7
β -Elemeno	4,6
(<i>E</i>)- β -Cariofileno	6,3
α -Humuleno	2,7
Germacreno D	6,5
Biciclogmacreno	7,3
Viridiflorol	9,1

Salvia guaranitica

Compuesto	%
(<i>Z</i>)- β -Ocimeno	0,1
(<i>E</i>)- β -Ocimeno	1,2
Nonanal	0,2
α -Copaeno	2,2
β -Burboneno	7,3
β -Elemeno	32,5
(<i>E</i>)- β -Cariofileno	6,6
Germacreno D	31,8
Germacreno A	3,2
δ -Cadineno	2,1
Guaiol	0,1
α -Cadinol	0,7

Elionurus muticus

Compuesto	%
Linalol	2.4
Neral	28.3
Geranial	50.0

Salvia sclarea

Compuesto	%
Mirceno	1,5
(<i>E</i>)- β -Ocimeno	1,1
Linalol	14,7
α -Terpineol	1,6
Nerol	0,5
Acetato de Linalilo	43,8
Acetato de nerilo	1,1
α -Copaeno	1,9
Acetato de geranilo	1,9
(<i>E</i>)- β -Cariofileno	4,2
Germacreno D	14,5
Biciclogermacreno	1,5
Salvia-4 (14)-en-1-ona	0,1
β -Eudesmol	0,4
Esclareol	1,6
Grupos de compuestos	
Hidrocarburos monoterpénicos	4,3
Monoterpenos oxigenados	63,6
Hidrocarburos sesquiterpénicos	25,3
Sesquiterpenos oxigenados	0,5
Otros	1,6

Distribución enantiomérica para α -pinoeno, sabineno, β -pinoene, limoneno, linalol, acetato de linalilo y germacreno D en el aceite esencial de *Salvia sclarea* L.

Compuesto	α -Pinoeno		Sabineno		β -Pinoeno		Limoneno		Linalol		Acetato de linalilo		Germacreno D	
	1R-(+)	1S-(-)	1R, 5R-(+)	1S, 5S-(-)	1R-(+)	1S-(-)	4R-(+)	4S-(-)	3S-(+)	3R-(-)	3S-(+)	3R-(-)	7R-(+)	7S-(-)
Enantiomero:	10,2	89,8	51,3	48,7	4,5	95,5	68,3	31,7	27,1	72,9	0,9	99,1	0,2	99,8

Eupatorium buniifolium

Compuesto	%
α -Pineno	14,7
Camfeno	1,1
Sabineno	3,3
β -Pineno	4,4
Mirceno	1,7
Limoneno	3,3
(<i>E</i>)- β -Ocimeno	2,0
4-Terpineol	0,1
Acetato de carquejilo	0,1
δ -Elemeno	1,7
Acetato de terpinilo	0,1
β -Elemeno	12,2
(<i>E</i>)- β -Cariofileno	4,3
Germacreno D	11,5
Biciclogrmacreno	2,6
Germacreno A	3,6
<i>trans</i> - β -Guaieno	6,5
γ -Cadineno	0,7
δ -Cadineno	2,2
α -Cadineno	3,1
Elemol	1,0
Germacreno B	3,9
(<i>E</i>)-Nerolidol	0,4
Germacreno D-4-ol	0,6
Oxido de cariofileno	0,2
β -Eudesmol	0,4
Selin-11-en-4- α -ol	1,0
Grupos de compuestos	
Hidrocarburos monoterpénicos	32,5
Monoterpenos oxigenados	0,3
Hidrocarburos sesquiterpénicos	55,8
Sesquiterpenos oxigenados	3,5

Baccharis trimera

Compuesto	%
α -Pineno	0,25
Sabineno+ β -Pineno	8,60
Limoneno + β -Felendreno	4,14
(<i>Z</i>)- β -Ocimeno	0,49
(<i>E</i>)- β -Ocimeno	2,09
Pinocarvona	0,87
Acetato de carquejilo	54,94
β -Elemeno	0,69
Ledol	6,87
Espatulenol	1,72
Globulol	2,82
β -Eudesmol	3,32

Baccharis dracunculifolia

Compuesto	%
α -Pineno	7,16
Sabineno+ β -Pineno	26,80
β -Mirceno	1,92
Limoneno	9,52
Terpinen-4-ol	0,20
α -Terpineol	0,39
Espatulenol	18,39
Vidriflorol	12,88

Distribución enantiomérica para α -pineno, sabineno, β -pinene, limoneno, 4-terpinol y germacreno D en el aceite esencial de *Eupatorium buniifolium* Hooker et Arnott.

Compuesto	α -Pineno		Sabineno		β -Pineno		Limoneno		4-Terpineol		Germacreno D	
	1 <i>R</i> (+)	1 <i>S</i> (-)	1 <i>R</i> , 5 <i>R</i> (+)	1 <i>S</i> , 5 <i>S</i> (-)	1 <i>R</i> (+)	1 <i>S</i> (-)	4 <i>R</i> (+)	4 <i>S</i> (-)	4 <i>S</i> (+)	4 <i>R</i> (-)	7 <i>R</i> (+)	7 <i>S</i> (-)
	2,7	97,3	40,4	59,6	12,7	87,3	78,0	22,0	45,2	54,8	3,0	97,0

Bibliografía

- E. Dellacassa, Estándares en la producción de aceites esenciales. 2do Seminario técnico del COTEPa. INIA Las Brujas, Uruguay (1998).
- E. Dellacassa, A. Vázquez, S. Etcheverry. Curso de Actualización en normativa y técnicas en productos naturales aromáticos y medicinales. Asociación de Química y Farmacia del Uruguay. Montevideo, Uruguay (2000).
- Lorenzo, D.; Paz, D.; Davies, P.; Vila, R.; Cañigueral, S.; Dellacassa, E. Composition of a new essential oil type of *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown from Uruguay. *Flavour Fragr. J.* 2001, 16, 356.
- D Lorenzo, D Paz, P Davies, R Vila, S Cañigueral and E. Dellacassa. Composition of a new essential oil type of *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown from Uruguay. XLI Congresso Brasileiro de Química Porto Alegre, Brasil (2001).
- E. Dellacassa, Normalizaciones de Productos Naturales Obtenidos de Especies de la Flora Aromática Latino Americana. XLI Congreso Brasileiro de Química. Porto Alegre, Brasil (2001).
- E. Dellacassa, A. Bandoni. Curso de Control de calidad de aceites esenciales (normas y estandarización). XLI Congreso Brasileiro de Química. Porto Alegre, Brasil (2001).
- E. Dellacassa, Normalización en productos aromáticos. Mesa redonda sobre "Productos naturales: una actualización" en el IV Simposio y Exposición de la Sección de América Latina y el Caribe de AOAC International. Montevideo, Uruguay (2001).
- Lorenzo, D.; Loayza, I.; Dellacassa, E. Composition of the Essential Oil of *Tagetes maxima* Kuntze from Bolivia. *Flavour Fragr. J.* 2002, 17, 115.
- Lorenzo, D.; Paz, D.; Davies, P.; Vila, R.; Cañigueral, S.; Dellacassa, E. Essential Oils of *Mentha pulegium* and *Mentha rotundifolia* from Uruguay. *Brazilian Archives of Biology and Technology. Brazilian Archives of Biology and Technology* 2002, 45, 519.
- D. Lorenzo, D. Paz, I. Loayza, R. Vila, S. Cañigueral, E. Dellacassa, El análisis enantiomérico en la caracterización y evaluación de plantas aromáticas. *Ing. Cienc. Quím.* 2002, 21, 14.
- D. Lorenzo, D. Paz, I. Loayza, R. Vila, S. Cañigueral, E. Dellacassa. El análisis enantiomérico en la caracterización de plantas aromáticas. I Congreso Latinoamericano de Fitoquímica. Buenos Aires, Argentina (2002).
- E. Dellacassa, P. Moyna, P. Menéndez. Métodos Analíticos en Oleos Esenciales. En: *Biotecnología, avanços na agricultura e na agroindústria*. L. Atti Serafini, N. Monteiro de Barros, J.L. de Azevedo (eds.). Editorial EDUCS, Caxias do Sul, 2002.
- S. Cañigueral, E. Dellacassa, A. L. Bandoni. Plantas medicinales y Fitoterapia: indicadores de dependencia o factores de desarrollo? *Acta Farm. Bonaerense* 2003, 22, 265.
- E. Dellacassa. Investigación en plantas aromáticas. Proyecto CYTED IV.20. ¿Cuál es el papel del popularizador de Ciencia y Tecnología, ante la realidad de América Latina? SEMINARIO-TALLER- Asociación Ciencia Viva de Uruguay, Montevideo (2003).
- E. Dellacassa, P. Moyna, A. Nieto. Documento Base para el Análisis de una estrategia para el desarrollo nacional y regional del Sector de la Producción e Industrialización de las Plantas Medicinales y Aromáticas. Montevideo, 2003.
- E. Dellacassa, Un esquema para evaluar plantas aromáticas nativas para la industria de aromas y sabores. III Congreso nacional de Ingeniería Química, Alimentos y Ambiental, CONEI-QAA. Cochabamba, Bolivia (2004).
- E. Dellacassa, Quiralidad y bioactividad en plantas medicinales y aromáticas. VIII Simposio Argentino. XI Simposio Latinoamericano de Farmacobotánica. Buenos Aires, Argentina (2004).
- D. Lorenzo, D. Paz, P. Davies, J. Villamil, R. Vila, S. Cañigueral, E. Dellacassa. Application of multidimensional gas chromatography to the enantioselective characterization of *Eupatorium buniifolium* Hooker et Arnott essential oil. *Phytochemical Analysis*. Aceptado para su publicación.
- C. Vallverdú, R. Vila, D. Lorenzo, D. Paz, E. Dellacassa, P. Davies, J. Villamil, F. Tomi, M. J. Casanova, S. Cañigueral. Composition of the essential oil of *Salvia guaranitica* A. St-Hil. Ex Benth. from Uruguay. *Flavour Fragr. J.* Aceptado para su publicación.