



Vol. 25, No 3, 4
Julio - Diciembre 2017

CIENTIFICA



An International Refereed Scientific Journal
of the Facultad Experimental de Ciencias
at the Universidad del Zulia

Esta publicación científica en
formato digital es continuidad
de la revista impresa

Depósito Legal: pp 199302ZU47

ISSN: 1315-2076

CIENCIA 25 (3,4), 113 - 119, 2017
Maracaibo, Venezuela

Composición química y actividad antibacteriana preliminar del aceite esencial de las hojas de *Lippia schlimii*

*Néstor Peña**, *Dinorah Ávila*, *José G. Ortega F.*

Laboratorio de Productos Naturales. Departamento de Química, Facultad Experimental de Ciencias,
Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela

Recibido: 19-07-2017 Aceptado: 11-09-2017

Resumen

El aceite esencial obtenido por hidrodestilación de las partes aéreas de *Lippia schlimii* se analizó por Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG/EM). Se identificaron aproximadamente 33 componentes, de los cuales los mayoritarios fueron: Linalool-L (2,96%), Benzeneethanol (2,77%), Terpeneol-4 (2,25%), α -Guaieno (4,59%), α -Amorfenol (3,39%), δ -Cadineno (5,01%), Germacreno (2,9%), α -Cadinol (2,45%), T-Cadinol (4,19%) y 1-hidroxilinalool (31,26%). Se evaluó la actividad antibacteriana del aceite esencial por el método de difusión en agar con pozos, y de la concentración mínima inhibitoria (CMI) frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Micrococcus sp*, *Bacillus subtilis* (Gram +), *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Serratia marcescens*, *Proteus vulgaris* y *Enterobacter cloacae* (Gram -). Los resultados muestran que el aceite inhibió el desarrollo de *S. aureus*, *Serratia marcescens* y *Micrococcus sp*, a una concentración mínima inhibitoria (CMI) de 300 μ g/ml, y de *B. subtilis* de 200 μ g/ml.

Palabra claves: *Lippia schlimii*, Verbenácea, aceite esencial, actividad antibacteriana.

Chemical composition and preliminary antibacterial activity of the essential oil of the leaves of *Lippia schlimii*

Abstract

The essential oil obtained by hydrodistillation of the leaves of *Lippia schlimii*, was analyzed by gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC/MS). Approximately 33 compounds were identified, of which the majority were Linalool-L (2,96%), Benzeneethanol (2,77%), Terpeneol-4 (2,25%), α -Guaiene (4,59%), α -Amorphene (3,39%), δ -Cadinene (5,01%), Germacreno (2,9%), α -Cadinol (2,45%), T-Cadinol (4,19%) and 1-hydroxylinalool (31,26%). The antibacterial activity of essential oil was evaluated by the agar diffusion method and minimum inhibitory concentration (MIC), against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Micrococcus sp*, *Bacillus subtilis* (Gram +), *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 *Serratia marcescens*, *Proteus vulgaris*, *Enterobacter cloacae* (Gram -). The results show that the oil inhibited the development of *S. aureus*, *S. marcescens* and *Micrococcus sp.*, at a minimum inhibitory concentration (MIC) of 300 μ g/ml and *B. subtilis* 200 μ g/ml.

Key Words: *Lippia schlimii*; Verbenácea; essential oil; antimicrobial activity.

* nestorspa@hotmail.com

Introducción

El hombre ha aprovechado las virtudes aromáticas de las plantas. Los aceites esenciales extraídos de ellas han servido de base para la aromatización de postres, guisos y para la elaboración de perfumes, remedios y medicamentos.

Los aceites volátiles son mezclas muy complejas de compuestos, generalmente constituidos mayoritariamente por monoterpenos y sesquiterpenos; de hecho, se ha estimado la presencia de más de 1000 monoterpenos y 3000 sesquiterpenos en los aceites esenciales de diversas plantas. Otros tipos de compuestos que se encuentran en los aceites son los hidrocarburos de fórmula general $(C_5H_8)_n$ y compuestos oxigenados derivados de dichos hidrocarburos, tales como alcoholes, aldehídos, ésteres, éteres, cetonas, fenoles y óxidos (1).

La familia Verbenácea está constituida por una amplia variedad de plantas principalmente de árboles tropicales, dentro de éstas, el género *Lippia* (Verbenácea) comprende alrededor de 200 especies las cuales han sido estudiadas con insistencia debido a la marcada variabilidad que presenta la composición de sus aceites esenciales, estrechamente ligada a la diversidad de acciones farmacológicas (2). *L. alba* (Mill.) N. E. Br. es una de las especies más estudiadas hasta los momentos; su aceite esencial contiene componentes que pueden considerarse como marcadores quimiotaxonómicos (3), los cuales permiten su identificación botánica. Es utilizada popularmente para el tratamiento de estados gripales, en casos de afecciones estomacales, disfunciones digestivas, también se utiliza como tónico y antirreumático, además posee propiedades antiinflamatorias y anti-ulcerogénicas (3, 4).

El valor comercial y el uso de los aceites dependen básicamente de su composición química, la cual a su vez está condicionada por diversos factores de tipo botánico y agrícola, entre otros. La clasificación de los constituyentes en función del contenido presente en cada esencia es fundamental tanto para determinar la calidad de la esencia, como para precisar sus características organolépticas, sus efectos fisiológicos y/o actividad biológica.

Algunas especies estudiadas del género son *L. grandis* (5), *L. integrifolia* (6-11), *L. javanica* (12-14), *L. junelliana* (15, 16), *L. laxibracteata* (17), *L. lupulina* (18), *L. palmieri* (19), *L. stoechadifolia* (20), *L. triphyla* (21), *L. polystachya* (22), *L. turbinata* (22, 23) y *L. uckambensis* (24), las cuales han demostrado poseer gran variedad de compuestos terpenoidales, específicamente sesquiterpenos, así como actividad antimicrobiana y antiviral entre otras. Algunas de ellas también presentan actividad antiinflamatoria, analgésica y antipirética en sus

extractos foliares y parecen ser los terpenos los responsables de dichas propiedades (25, 26). En base a los antecedentes antes mencionados, resulta de gran interés el estudio de la composición química del aceite esencial de la especie *L. schlimii*, así como también determinar la actividad antibacteriana por parte de dicho aceite.

Materiales y Métodos

Tratamiento del material Vegetal.

La especie *L. schlimii* fue localizada en El Cobre, municipio José María Vargas del Estado Táchira, a unos 2300 m de altitud. El vegetal fue recolectado e identificado por el Dr. Miguel Pietrangeli, del Laboratorio de Plantas Vasculares de la Facultad Experimental de Ciencias de la Universidad del Zulia en febrero de 2009. Se realizó un muestreo del tipo aleatorio sobre especies silvestres, hasta obtener la cantidad necesaria de material vegetal. El material recolectado (hojas), se dejó secar bajo sombra a temperatura ambiente durante varios días, luego se molió finamente hasta obtener 0,5 Kg. de material seco y molido.

Obtención del aceite esencial

Las hojas molidas se sometieron a hidrodestilación, colocando porciones de 150 y 200 g de las mismas con 1000 mL de agua destilada. Se reunieron los destilados y se separó el aceite de la fase acuosa con cloroformo y se secó con sulfato de sodio anhidro. El aceite obtenido (0,5 mL) se guardó en un frasco ámbar y se refrigeró a 4 °C por aproximadamente 5 días, hasta su posterior análisis.

Cromatografía de gas (CG)

La composición porcentual del aceite se determinó por el método de normalización de área de pico. El análisis se realizó en un cromatógrafo de gas Perkin-Elmer, con detector FID y sistema de *data-handling*. Se inyectó 1.0 µL con relación de *split* de 10:1, el gas de arrastre fue helio a 0.8 mL/min. La temperatura del inyector y detector varió de 200 a 280 °C. Se utilizó una columna capilar HP-5, de sílice fundida a 5% de fenilmetilpolisiloxano (30 m x 0.25 mm d.i, con un grosor de película de 0.25 µm); la temperatura fue programada desde 60 a 260 °C con una rampa de 4 °C/min.

Análisis químico del aceite esencial (CG-MS)

El análisis del aceite esencial se realizó mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas en un cromatógrafo de gases Hewlett

Packard HP 6890 acoplado a un detector de masa Hewlett Packard modelo 5973, equipado con una columna HP-5MS de sílice fundida (30 m x 0.25 mm d.i, con un grosor de película de 0.25 μm). La temperatura de la cámara de ionización y de línea de transferencia fue de 150 a 280 °C; el gas de arrastre fue helio ajustado a una velocidad lineal de 34 cm/s. La energía de ionización fue de 70 eV. Los espectros de masa se obtuvieron por barrido automático en el rango de m/z 20-400 u.m.a, a 3.9 scan/s.

La identificación de los componentes se basó en la comparación computarizada de sus espectros de masas con los de las librerías Wiley MS Data y NIST, además de los descritos por Adams (27), así como por la comparación de sus índices de retención con los datos de la literatura (28).

Actividad antibacteriana

Se realizaron estudios de susceptibilidad antimicrobiana, sobre bacterias de interés clínico, utilizando el método de difusión en pozo.²⁹ Seguidamente se realizaron ensayos de concentración mínima inhibitoria (CMI), para los cuales se seleccionaron las bacterias que resultaron ser más susceptibles al aceite, en el ensayo de difusión, utilizando la técnica de micro dilución en caldo; se emplearon 9 cepas bacterianas Gram positivas y Gram negativas del tipo ATCC y otras provenientes de aislados clínicos: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Micrococcus* sp., *Bacillus subtilis* (Gram +), *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853, *Serratia marcescens*, *Proteus vulgaris*, *Enterobacter cloacae* (Gram -), proporcionadas por la sección de bacteriología del Hospital Universitario de Maracaibo Venezuela.

Para la prueba de susceptibilidad antimicrobiana, se utilizó agar Müller-Hinton (Difco) como medio de cultivo; se prepararon inóculos en caldo nutritivo (Becton Dickinson) para cada una de las especies bacterianas, la concentración del inóculo osciló entre 10⁷-10⁸ UFC mL⁻¹. Luego de ser inoculadas y de adicionar 20 μL del aceite esencial en cada pozo, las placas fueron incubadas a 37 °C durante 18-24 horas; transcurrido este tiempo se procedió

a la medida del halo de inhibición. Los ensayos se realizaron por triplicado y fueron comparados con antibióticos comerciales. El aceite se disolvió en una solución etanol/agua 9:1, (esta solución se utilizó como control negativo y no presentó efecto alguno sobre el crecimiento bacteriano).

La determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) se realizó utilizando una modificación del método descrito por Pino A. y col. (30), en un rango de concentraciones de 10–500 mg/L; la concentración del inóculo osciló entre 10⁷-10⁸ UFC mL⁻¹. Los tubos con las diluciones del aceite, después de expuestos a las bacterias, se incubaron a 37 °C durante 18–24 horas, transcurrido este tiempo se midió la transmitancia a 580 nm, Vera y col., (31), en un espectrómetro UV PERKIN – ELMER. En aquellos casos donde se observó inhibición se tomaron alícuotas y se sembraron en medios agarizados, para corroborar que no existiera crecimiento bacteriano, determinándose entonces el valor de la CMI para cada microorganismo, definida como la menor concentración del agente antimicrobiano capaz de inhibir el crecimiento bacteriano. Se realizaron controles con los solventes utilizados para diluir la muestra (etanol/agua 9:1)

Resultados y discusión

Composición del aceite esencial de *L. schlimi*.

A partir de 0,5 Kg de hojas secas y mediante hidrodestilación se obtuvo el aceite esencial de coloración rojiza (0,52 g) con un rendimiento de 0,1 % m/m. En la tabla 1, se muestran los componentes del aceite detectados por CG-EM de acuerdo al orden de elución y cuyas concentraciones relativas fueron mayores a 0,5 % con un porcentaje de confiabilidad mayor o igual a 90 %; así como los índices de Kovats (IK). El IK es un término que relaciona los componentes y tiempos de retención del aceite esencial con una serie de n-parafinas multiplicados por 1000 que tendrían un tiempo de retención ajustado idéntico al del pico de interés cuando es analizado sobre condiciones idénticas, ayudando a identificar positivamente los componentes de una mezcla (32, 33).

Tabla 1. Componentes del aceite esencial de *Lippia schlimii*

Nº	Componente	Área	IK cal.	IK ref.
1	1-hexanol	0,74	865	870
2	Benzaldehído	0,63	963	960
3	Octenol	0,79	978	979
4	Benzenometanol	0,98	1036	1031
5	Linalool- L	2,96	1100	1096
6	Benzeneethanol	2,77	1117	-
7	Terpineol-4	2,25	1184	1177
8	β -Bourbeneno	1,13	1390	1388
9	β -Elemeno 2,4-diisopropenil-1-metil-1-vinil-ciclohexano	0,91	1397	1390
10	β -Cariofileno	1,35	1428	1421
11	α -Guaieno	4,59	1449	1439
12	α -Humuleno	1,67	1465	1454
13	Aromandendreno	1,72	1473	1441
14	α -Amorfenol	3,39	1489	1484
15	Pseudowiddreno	0,89	1496	1498
16	β -Selineno	2,04	1499	1490
17	Valenceno	1,53	1507	1496
18	α -Muuroleno	1,16	1513	1500
19	β -Bisaboleno	2,62	1520	1505
20	Gamma.Cadineno	2,14	1526	1513
21	7-epi-alfa-Selineno	2,72	1530	1522
22	δ - Cadineno	5,01	1535	1523
23	Germacreno	2,9	1546	1557
24	Selina-3,7(11)-dieno	1,68	1552	1546
25	Nerolidol	1,46	1558	1561
26	(-)-Cariofileno óxido	1,26	1588	1583
27	γ -Eudesmol	1,09	1618	1629
28	α -Cadinol	2,45	1623	1635
29	T-Cadinol	4,19	1630	1640
30	1-hidroxilinalool	31,26	1638	-
31	4,4-difluoro-3-metoxibifenilo	1,41	1646	-
32	trans-alfa-bisaboleno	1,45	1689	1680
33	Fitol isómero	1,1	2106	2102

IK cal (HP5): Índice de Kovats calculado, Columna HP-5MS.

IK ref. (HP5): Índice de Kovats de referencia, Columna HP-5MS.^{27,28}

El componente mayoritario del aceite presentó una concentración relativa de 31,26 %, su estructura corresponde al 1-1-hidroxilinalool, la correlación obtenida para este componente fue de 90 % (se realizaron comparaciones con las diferentes bases de datos), otros componentes presentes en el aceite resultaron ser los sesquiterpenos, Linalool (3,0 %), Benzeneethanol (2,8 %), Terpineol-4 (2,3 %), α -Guaieno (4,6%), α -Amorphenol (3,4 %), d-Cadineno (5,0 %), Germacreno (3,0 %), α -Cadinol (2,5 %), T-Cadinol (4,2%), los cuales se han encontrado en proporciones similares en aceites de otras especies del género *Lippia*, como *L. alba* (34, 3), *L. integrifolia* (6, 11), y *Lippia junelliana* (15) por

nombrar algunas. Los resultados obtenidos fueron diferentes a los reportados por Yáñez y col. (35) en el 2006, realizados a la misma especie ubicada al norte de Santander (Colombia), y que crece de forma silvestre a la misma altitud y temperatura; en dicho estudio se identificaron 16 componentes, de los cuales solo 4 (β -Bourboneno, β -Cariofileno, Aromadendreno y óxido de cariofileno), están presente en el aceite de la especie venezolana. Por su parte el componente mayoritario del aceite para la especie cultivada en Colombia resultó ser Germacreno D (21%) el cual difiere totalmente al componente mayoritario encontrado en este estudio. Estos resultados indican una notable diferencia

en la composición del aceite esencial para ambos vegetales, hecho que se observa en otras especies del género *Lippia* tal es el caso *L. alba*, *L. origanoides*, *L. multiflora* y *L. sidoides*, cuyos componentes principales del aceite esencial varían de una planta a otra dentro de la misma especie, característica que es utilizada para diferenciarlas como *quimiotipos*. De acuerdo a los resultados obtenidos en este trabajo se puede decir que ambos vegetales difieren en la composición del su aceite esencial por lo que se está en presencia de un nuevo *quimiotipo para la especie Lippia schlimi* correspondiente a la especie que crece en territorio Venezolano.

Actividad antimicrobiana del aceite esencial de *L. schlimi*

Se realizaron ensayos de susceptibilidad antibacteriana mediante el método de difusión en pozo, para lo cual se utilizaron 9 cepas bacterianas evidenciándose actividad en 4 de las nueve cepas estudiadas. Como se aprecia en la tabla 2, los halos de inhibición obtenidos fueron inferiores a los de sus respectivos controles. Sin embargo, se evidencia propiedad antibacteriana sobre cepas tanto Gram positivas como Gram negativas, por lo que se procedió al estudio de la concentración inhibitoria mínima.

Tabla 2. Actividad antibacteriana *in vitro* de los extractos de *Lippia schlimii* y antibióticos comerciales (Promedio del halo de inhibición en mm).

Cepas	Aceite esencial 20µl	Antibióticos				
		G	S	C	Cf	Nx
<i>E. coli</i> (ATCC 25922)	-	20	20	29	29	31
<i>S. aureus</i> (ATCC 25923)	11	20	16	33	25	21
<i>Ps. aeruginosa</i> (ATCC 27853)	-	19	19	-	29	32
<i>S. marcescens</i>	10	27	23	29	33	34
<i>P. vulgaris</i>	-	23	20°	17	38°	34°
<i>Micrococcus sp.</i>	9	38	-	40°	28	10°
<i>Bacillus subtilis</i>	11	32	16°	15	35	31
<i>E. faecalis</i> (ATCC 29212)	-	-	-	-	21	18
<i>E. cloacae</i>	-	22	20	27	35	35

G: Gentamicina; S: Estreptomina; C: Cloranfenicol; Cf: Ciprofloxacina; Nx: Norfloxacina,

- No se observó inhibición. ° Algunas colonias resistentes.

La CMI, se realizó utilizando un rango de concentración de 10-500 µg/mL sobre las cepas activas al ensayo de susceptibilidad. En la tabla 3, se infiere que el aceite de *L. schlimi*, evidenció actividad de amplio espectro al inhibir bacterias Gram positivas y Gram negativas, pues resultó activo sobre cuatro de las cepas estudiadas, *S. aureus*, *Micrococcus sp*, Gram + y *S. marcescens* Gram -, a CMI de 300 µg/mL, respectivamente para cada cepa. La cuarta cepa, más susceptible, fue *B. subtilis* a 200 µg/mL, el efecto obtenido por parte del aceite no fue comparable con los antibióticos Ampicilina y Estreptomina, probablemente porque algunas de estas bacterias presenten mecanismos de resistencia adquiridos al ser aislados clínicos, generando la diferencia en eficacia con respecto a los controles positivos; sin embargo otras especies del mismo género, como *L. chevalieri* (36), *L. javanica* (12, 13), *L. gracillis* (37) han mostrado efectos comparables a los obtenidos, en este trabajo, presentando CMI por encima de 200 µg/mL. En tal caso es importante resaltar que este es el primer estudio de actividad antibacteriana para esta especie, y que componentes como el linalool, hidroxilinalool, cadinol, por nombrar algunos, pueden ser los responsables de la actividad antibacteriana del aceite bajo estudio, lo que la convierte en un potencial agente bactericida (38).

Tabla 3. Concentración mínima inhibitoria *in vitro* (CMI) del aceite esencial de *L. schlimi*.

MIC (µg/mL)			
Microorganismo	Aceite esencial	Ampicilina (Amp)	Estreptomina (S)
<i>S. aureus</i> (ATCC 25923)	300	10	10
<i>S. marcescens</i> (aislado clínico)	300	35	20
<i>Micrococcus sp.</i> (aislado clínico).	300	30	25
<i>B. subtilis</i> (aislado clínico)	200	15	10

Agradecimientos

Los autores agradecen al FONACIT y al CONDES, proyecto CC-0558-08 por el financiamiento de este trabajo.

Referencias bibliográficas

1. SVOBODA K.P. AND HAMPSON J.B. Bioactivity of essential oils of selected temperate aromatic plants: antibacterial, antioxidant, antiinflammatory and other related pharmacological activities. *Plant Biology*

- Department, SAC Auchincruive, Ayr, Scotland, UK., KA6 5HW. p.p. 1-17. 1999
2. PASCUAL M.E., SLOWING K., CARRETERO E., SÁNCHEZ M., VILLAR A. *Lippia* Traditional Uses, Chemistry and Pharmacology: a review. **J Ethnopharmacol** 76: 201-214. 2001
 3. RICCIARDI G., RICCIARDI A., BANDONI A. Fitoquímica de Verbenáceas (*Lippias y Aloysias*) del Nordeste Argentino. Universidad Nacional del Nordeste, Comunicaciones Científicas y Tecnológicas 2000
 4. PASCUAL M., SLOWING K., CARRETERO M., VILLAR A. Antiulcerogenic activity of *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown (Verbenaceae). **Il Farmaco** 56: 501-504. 2001
 5. MAIA J., TAVEIRA F., ANDRADE E., DA SILVA M., ZOGHBI M. Essential oils of *Lippia grandis* Schauer. **Flavour Fragr J** 18: 417-420. 2003
 6. FRICKE C., HARDT I., KÖNIG W., JOULAIN D., ZYGADLO J., GUZMÁN C. Sesquiterpenes from *Lippia integrifolia* Essential Oil. **J Nat Prod** 62: 694-696. 1999
 7. CATALAN C., DE LAMPASONA M., DE FENIK I. Minor Constituents of *Lippia integrifolia*. **J Nat Prod** 1(2): 206-210. 1994
 8. CATALAN C., DE LAMPASONA M. Trace constituents of *Lippia integrifolia*. **J Nat Prod** 58(11): 1713-1717. 1995
 9. CATALAN C., DE LAMPASONA M., DE FENIK I. Structure and conformation of a humulenedione from *Lippia integrifolia*. **J Nat Prod** 56(3): 381-385. 1993
 10. ROJAS C., CORONEL A., DE LAMPASONA M., CATALÁN C., NATHAN P. Absolute Configuration of lippifoliane and africanane derivatives. **J Nat Prod** 68: 659-665. 2005
 11. CORONEL A., ROJAS C., NATHAN P. AND CATALÁN C. Chemical composition, seasonal variation and a new sesquiterpene alcohol from the essential oil of *Lippia integrifolia*. **Flavour Fragr J** 21: 839-847. 2006
 12. VILJOEN A., SUBRAMONEY S., VAN VUUREN S., BAŞER K., DEMIRC, B. The composition, geographical variation and antimicrobial activity of *Lippia javanica* (Verbenaceae) leaf essential oils. **J Ethnopharmacol** 96: 271-277. 2005
 13. NGASSAPA O., RUNYORO D., HARVALA E., CHINO, I. Composition and antimicrobial activity of essential oils of two populations of Tanzanian *Lippia javanica* (Burm. f.) Spreng. (Verbenaceae). **Flavour Fragr J** 18: 221-224. 2003
 14. MANENZHE N., POTGIETER N., VAN REE T., "Composition and antimicrobial activities of volatile components of *Lippia javanica*. **Phytochemistry** 65: 2333-2336. 2004
 15. JULIANI JUNIOR H., KOROCH A., JULIANI H., TRIPPI V., ZYGADLO J. Intraespecific variation in leaf oils of *Lippia junelliana* (Mold.) Tronc. **Biochem Syst Ecol** 30: 163-170. 2002
 16. GARCÍA C., TALARICO L., ALMEIDA N., COLOMBRES S., DUSCHATZKY C. DAMONTE E. Virucidal Activity of Essential Oils from Aromatic Plants of San Luis, Argentina. **Phytother Res** 17: 1073-1075. 2003
 17. JULIANI JR H., BIURRUN F., KOROCH A., JULIANI H., ZYGADLO J. Chemical constituents of the essential oil of *Lippia laxibracteata* (Verbenaceae). **Planta Med** 66: 567-568. 2000
 18. ZOGHBI M., ANDRADE E., DA SILVA M., MAIA J. Volatile constituents of *Lippia lupulina* **Cham Flavour Fragr J** 17: 29-31. 2002
 19. RAMÍREZ O.R., RAMÍREZ R.G., GONZÁLEZ H., HAENLEIN G. Mineral content of browse species from Baja California Sur, Mexico. **Small Ruminant Res** 57: 1-10. 2005
 20. RIVERA L., FERNÁNDEZ P., ORTIZ J. Efecto del extracto de *Lippia stoehadifolia* en la mortalidad de los nauplios. Universidad de Puerto Rico, Recinto de Río Piedras, Facultad de Ciencias Naturales, Departamento de Matemáticas, P.R., <http://www.edustatspr.com/Materiales/proyectos/Inv-99-2000-II-9.pdf>. 2000
 21. PROESTOS C., SERELI D., KOMAITIS M. Determination of phenolic compounds in aromatic plants by RP-HPLC and GC-MS. **Food Chem** 95: 44-52. 2006
 22. GLEISER R., ZYGADLO J. Insecticidal properties of essential oils from *Lippia turbinata* and *Lippia polystachya* (Verbenaceae) against *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). **Parasitol Res** 101(5): 1349-54. 2007
 23. WÄCHTER G., VALCIC S., FRANZBLAU S., SUAREZ E., TIMMERMANN B. Antitubercular Activity of Triterpenoids from *Lippia turbinata*. **J Nat Prod** 64: 37-41. 2001
 24. CHOGO J. CRANK G. Essential oil and leaf constituents of *Lippia ukambensis* from Tanzania. **J Nat Prod** 45, 2: 186-188. 1982

25. ELAKOVICH, S. Volatile Constituents of *Lippia Nodiflora*. **J Nat Prod** 48(3): 504-506. 1985
26. FORESTIERI A., MONFORTE M., RAGUSA S. TROVATO, A., IAUK L. Antiinflammatory, Analgesic and Antipyretic Activity in Rodents of Plant Extracts used in African Medicine. **Phytother Res** 10: 100-106. 1996
27. ADAMS R Identification of essential Oil Components by Gas Chromatography / Mass spectroscopy. Allured Publishing Corporation: Carol Stream Illinois, USA, 1995.
28. DAVIES N.W. Gas Chromatographic retention indices of monoterpenes and sesquiterpenes on methyl silicone and carbowax 20M phases. **J Chromatogr** 503: 1-24. 1990
29. PÉREZ C., PAULI M., BAZERQUE P. An antibiotic assay by the agar-well diffusion method. **Act Biol Med Espe** 15:113-5. 1990
30. PINO J.A., ORTEGA A.G., ROSADO A., RODRÍGUEZ M., J., BALUJA R. Composición y propiedades antibacterianas del aceite esencial de *Lippia alba* (Mill.) n. e. Brown. **Rev Cubana Farm** 30:1. 1996
31. VERA J.R., PASTRAMA P.F., FERNÁNDEZ K., VIÑA A. Actividad Antimicrobiana *in vitro* de Volátiles y no volátiles de *Lippia alba* y extractos Orgánicos y Acuoso de *Justicia pectoralis* Cultivadas en Diferentes pisos Térmicos del Departamento del Tolima. **Scientia et Technica** XIII(33): 345-348. 2007
32. KOVATS E. Gas Chromatographische Charakterisierung organischer Verbindungen. Teil 1: Retentions indices aliphatischer Halogenide, Alkohole, Aldehyde und Ketone. **Helv Chim Acta** 41: 1915-1932. 1958
33. ROUESSAC F., ROUESSAC A. Análisis Químico. Métodos y Técnicas Instrumentales Modernas. McGraw-Hill Interamericana de España, SAU: Madrid, pp 48-52. 2003
34. LORENZO D., PAZ D., D AVIES 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** 16: 356-359. 2001
35. YÁÑEZ X., SÁNCHEZ L., PINZÓN M. Composición química del aceite esencial de *Lippia schlimii* Turcz (Salvio blanco). **Clon** 4(2): 32-39. 2006
36. MEVY J.P., BESSIERE J.M., DHERBOMEZ M., MILLOGO J., VIANO J. Chemical composition and some biological activities of the volatile oils of a chemotype of *Lippia chevalieri* Moldenke. **Food Chem** 101: 682-685. 2007
37. PESSOA O.D.L., CARVALHO C.B.M., SILVESTRE J.O.V.L., LIMA M.C.L., NETO R.M., MATOS F.J.A., LEMOS T.L.G. Antibacterial activity of the essential oil from *Lippia aff. Gracillis*. **Fitoterapia** 76: 712-714. 2005
38. SOKOVIĆ M., GLAMOČLIJA J., MARIN P.D., BRKIĆ D., VAN GRIENSVEN L. Antibacterial Effects of the Essential Oils of Commonly Consumed Medicinal Herbs Using an *In Vitro* Model. **Molecules** 15: 7532-7546. 2010



UNIVERSIDAD
DEL ZULIA

CIENCIA

Vol.25 N°3, 4

*Esta revista fue editada en formato digital y publicada en diciembre de 2017, por el **Fondo Editorial Serbiluz**, Universidad del Zulia. Maracaibo-Venezuela*

www.luz.edu.ve
www.serbi.luz.edu.ve
produccioncientifica.luz.edu.ve