

Variación de la composición química del aceite esencial de especies del género Santolina L. I: Condiciones de extracción y conservación

MARÍA JOSÉ PÉREZ-ALONSO y ARTURO VELASCO-NEGUERUELA

Departamento de Biología Vegetal I. Facultad de Biología. Universidad Complutense. E-28040 Madrid.

Resumen. En la composición del aceite esencial de un determinado taxón intervienen factores extrínsecos, tales como el tiempo y forma de extracción, junto con otros debidos a condiciones de conservación y almacenamiento del aceite extraído en atmósfera inerte. En algunas de las especies del género *Santolina* L. se ha estudiado y observado una distinta incidencia de estos factores. Las mayores diferencias se obtuvieron mediante la variación de la forma de destilación, y las menores, modificando las condiciones de conservación y almacenamiento.

Palabras clave: Aceites esenciales, extracción, conservación, *Santolina*.

Abstract. In this paper various factors related with the essential oil composition of aromatic plants like time and extraction procedures, storing and preservation were studied. Some species of *Santolina* L. were selected. The largest differences were observed in the destillation procedures and minor ones with the storing and preservation methods.

Key words: Essential oils, extraction, storing, preservation, *Santolina*.

INTRODUCCIÓN

Cada día se hace más patente la importancia de la quimiosistemática como técnica de apoyo y ayuda a la taxonomía vegetal (TETENYI, 1986; HEGNAUER, 1986), siendo flavonoides, glicósidos cianogenéticos, y acetilenos los compuestos tradicionalmente más utilizados en este sentido. Sin embargo, en la actualidad tienden cada vez más a emplearse en los análisis quimiosistemáticos los compuestos mono- y sesquiterpénicos constituyentes del aceite esencial de un determinado taxón (GREGER, 1977).

Dada la gran diversidad química, tanto estructural como funcional, de los compuestos terpénicos frente a los glicósidos, cianogenéticos ace-

tilenos y flavonoides, cabe pensar que una serie de factores, ya sean extrínsecos (debidos al proceso de extracción, KOEDAM, 1982) ya sean intrínsecos (propios del taxón estudiado por sus características al ser recolectado), pueden afectar a su presencia en la esencia, minimizándose por tanto su utilidad quimiosistemática.

En el presente trabajo estudiamos una serie de posibles alteraciones debidas al proceso de extracción o almacenamiento del aceite esencial provocadas por factores tales como el tiempo y forma de extracción, así como el almacenamiento o no de la esencia en atmósfera inerte.

PARTE EXPERIMENTAL

Las poblaciones utilizadas en el presente estudio fueron las siguientes:
S. chamaecyparissus L. subsp. *squarrosa* (Will.) Nyman., Guadalajara: Cantalojas, 27-8-91 (S.Ch.1). Cantalojas, 23-8-81 (S.Ch.2). Galve de Sorbe, 21-8-80 (S.Ch.7).

S. chamaecyparissus L. subsp. *incana* (Lam.) Gren. & Godron., Toledo: Tembleque, 8-7-82 (S.Ch.10).

S. rosmarinifolia L. subsp. *canescens* (Lag.) Nyman., Toledo: Entre Mora y Tembleque, 25-5-82 (S.R.C.TA).

S. viscosa Lag. Almería: Vera, 31-5-77 (S.V.C). Cuevas de Almanzora, 19-5-83 (S.V.A).

Los pliegos testigo están depositados en el herbario MAF.

Muestra comercial «Manzanilla de Mahón», (S.M).

EXTRACCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL

El aceite esencial se obtuvo mediante destilación en corriente de vapor en un aparato de Clevenger modificado, tras adición de ClNa al agua de extracción. El aceite esencial obtenido se secó con SO₄Mg (PÉREZ-ALONSO & VELASCO-NEGUERUELA, 1984). La destilación se realizó partiendo del material vegetal fragmentado (troceado) y seco, salvo en el caso de la población S.V.C., que se encontraba pulverizada, y una parte de la población S.R.C.T.A. que no se dejó secar.

Las poblaciones S.Ch.7, S.R.C.TA y S.V.A. se destilaron hasta agotar la planta, recogiendo juntos los diferentes destilados de los periodos consecutivos. Tanto la población S.Ch.7 como la S.R.C.TA se destilaron en dos porciones, con la diferencia de que en el primer caso ambas porciones, denominadas SCh7 y SCh7.1, se dejaron secar y se mezclaron una vez analizadas, constituyendo la muestra SCh7m, mientras que en S.R.C.TA una porción se destiló húmeda (SRCTA1) y otra seca (SRCTA2), no mezclándose tras el análisis.

El rendimiento (en ml esencia/100 g planta) y el volumen de aceite esencial (en ml) fueron los que aparecen en la tabla 1.

TABLA 1. Rendimiento y volumen de aceite esencial.

Muestra	Rendimiento	Volumen
SCh7	0,28	6,25
SCh7.1	0,18	1,00
SCh7m	0,26	—
SRCTA1	0,97	5,90
SRCTA2	1,14	4,50
SVA	0,35	3,75

Las poblaciones S.Ch.1, S.Ch.2, S.Ch.10, S.V.C y S.M también se destilaron hasta agotar la planta, pero las fracciones se recogieron por separado con el fin de realizar su análisis y comprobar la variación temporal. En el caso de S.Ch.1 se destiló en dos porciones diferentes, recogiendo en cada una fracciones distintas a diferentes tiempos y uniendo las obtenidas al mismo tiempo de destilación, salvo las correspondientes al menor; éstas se conservaron con y sin nitrógeno. Una vez efectuado el análisis se reunieron todas las fracciones. De esta manera para analizar disponemos de las muestras que aparecen en la tabla 2 (el rendimiento y el volumen se dan en las unidades ya indicadas, el tiempo en hr):

Metodología analítica

Las técnicas utilizadas para el estudio analítico de los aceites esenciales, tanto desde el punto de vista cuantitativo como cualitativo, se han descrito con anterioridad en otros trabajos relativos al análisis de esencias en este u otros géneros (PÉREZ-ALONSO, 1986; VELASCO-NEGUERUELA & PÉREZ-ALONSO, 1986). Las empleadas fueron básicamente: espectroscopía infrarroja y ¹³C-RMN, cromatografía gas-líquido/espectrometría de masas, cromatografía gas-líquido.

Para el análisis cualitativo se dispuso de datos concernientes a los diferentes patrones, bien de procedencia bibliográfica, bien obtenidos por los autores en las mismas condiciones que los correspondientes a las esencias (BELLANATO & HIDALGO, 1971; FORMACEK & KUBEZCKA, 1982a, 1982b; PÉREZ-ALONSO & VELASCO-NEGUERUELA, 1988b; EIGHT PEAK, 1974; JENNINGS & SHIBAMOTO, 1980).

Por lo que respecta al análisis cuantitativo, se llevó a cabo básicamente con los resultados obtenidos por cromatografía de gas líquido, empleando la columna de Silicona-OV1 y, cuando los componentes solapaban su

TABLA 2. Muestras obtenidas en función del tiempo de destilación y modo de conservación.

Muestra	Fracción	Rendimiento	Volumen	Tiempo	Conservación
SCh1	1 ^a	0,34	8,50	20	s/nitrógeno
	1 ^a dest.				
SCh1n	1 ^a	0,30	3,60	20	c/nitrógeno
	2 ^a dest.				
SCh.1	2 ^a	0,054	1,90	30	s/nitrógeno
	1 ^a +2 ^a d.				
SCh1.2	3 ^a	0,10	0,50	40	s/nitrógeno
	2 ^a dest.				
SCh1m	mezcla	0,40	∑	—	—
SCh2	1 ^a	0,30	6,25	20	s/nitrógeno
SCh2.1	2 ^a	0,02	0,45	30	s/nitrógeno
SCh2m	mezcla	0,32	∑	—	—
SCh10	1 ^a	1,19	17,90	10	s/nitrógeno
SCh10.1	2 ^a	0,045	0,45	20	s/nitrógeno
SCh10.2	3 ^a	0,079	0,40	30	s/nitrógeno
SCh10m	mezcla	1,24	∑	—	—
SVC	1 ^a	0,037	1,55	10	s/nitrógeno
SVC1	2 ^a	0,023	0,95	20	s/nitrógeno
SVC2	3 ^a	0,031	1,30	50	s/nitrógeno
SVCm	mezcla	0,090	∑	—	—
SM1	1 ^a	0,45	11,00	20	s/nitrógeno
SM2	2 ^a	0,19	4,70	40	s/nitrógeno
SMm	mezcla	0,64	∑	—	—

elución en ésta, utilizando la columna empaquetada con Carbowax 20M, si era posible su separación.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las composiciones cuantitativas de los aceites esenciales estudiados, agrupados según los diferentes taxones, han sido y serán objeto de diferentes estudios y publicaciones (PÉREZ-ALONSO, 1986, VELASCO-NEGUE- RUELA & PÉREZ-ALONSO, 1988, PÉREZ-ALONSO & VELASCO-NEGUE- RUELA, 1988a; 1988b).

Las variaciones obtenidas las analizaremos separadamente, según los diferentes factores extrínsecos considerados.

a) Efecto del nitrógeno en la conservación del aceite esencial.

Se ha estudiado en una población de *S. chamaecyparissus* L. subsp. *squarrosa* (Will.) Nyman recogida en Cantalojas (Guadalajara) y denominada S.Ch.1. La composición cualitativa se mantiene, y las variaciones porcentuales de los componentes individuales en la muestra no tratada SCh1 respecto a la tratada SCh1n no son muy notables, ya que sólo el borneol y el β -pineno superan el 1 %, mientras que al ar-curcumeno no sufre variación. En cuanto a las variaciones globales (bien del conjunto, bien según el grupo funcional) de los mono- y sesquiterpenos, se observa una disminución de los primeros, menor del 1 % en el caso de las cetonas y mayor en hidrocarburos, alcoholes y en el conjunto, y un aumento de los sesquiterpenos menor del 1 % en las cetonas e hidrocarburos y mayor en los alcoholes y en el conjunto. En ninguno de los casos se supera el 5 % (Fig. 1). Según estas variaciones no parece existir una variación sustancial en la composición del aceite esencial por la conservación de éste en atmósfera inerte.

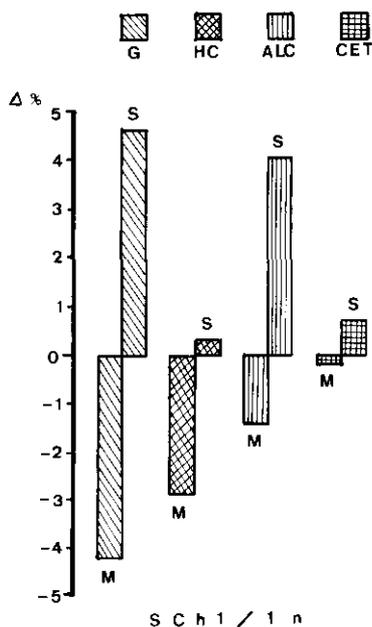


Fig. 1. Efecto de las condiciones de conservación del aceite esencial en su composición. Abreviaturas : G = global; HC = hidrocarburos; ALC = alcoholes; CET = cetonas; M = monoterpenos; S = sesquiterpenos.

b) Efecto del tiempo de destilación

Se ha estudiado en tres poblaciones de *S. chamaecyparissus* L. dos correspondientes a la subsp. *squarrosa* (Willd.) Nyman, S.Ch.1 de la que se obtuvieron tres fracciones: SCh1, SCh1.1 y SCh1.2, y S.Ch.2 de la que se recogieron dos fracciones: SCh2 y SCh2.1, y una de la subsp. *incana* (Lam.) Gren. & Godron, S.Ch.10 de la que se obtuvieron tres fracciones: SCh10, SCh10.1 y SCh10.2, en una población de *S. viscosa* Lag., S.V.C. de la que se recogieron tres fracciones: SVC, SVC1 y SVC2, y en la muestra comercial «Manzanilla de Mahón», S.M de la que se obtuvieron dos fracciones: SM1 y SM2. Las diferentes fracciones una vez analizadas se reunieron, obteniéndose la muestra mezcla en cada caso: SCh1m, SCh2m, SCh10m, SVCm y SMm.

Se puede apreciar que el porcentaje global de monoterpenos disminuye con el tiempo de destilación, mientras que el de sesquiterpenos se incrementa (Fig. 2).

Los compuestos que experimentan mayor variación en cada caso, respecto a los correspondientes a la fracción obtenida a menor tiempo, se indican en la Tabla 3. Puede apreciarse que en todas las muestras de *S. chamaecyparissus* L. los componentes monoterpénicos disminuyen su porcentaje, mientras que los sesquiterpénicos lo aumentan; en las muestras de *S. viscosa* Lag. y «Manzanilla de Mahón» los monoterpénicos tienen la misma variación, pero en los sesquiterpénicos hay componentes que aumentan y otros que disminuyen (se considera significativa una variación superior al 1 % y muy significativa a partir del 5 %).

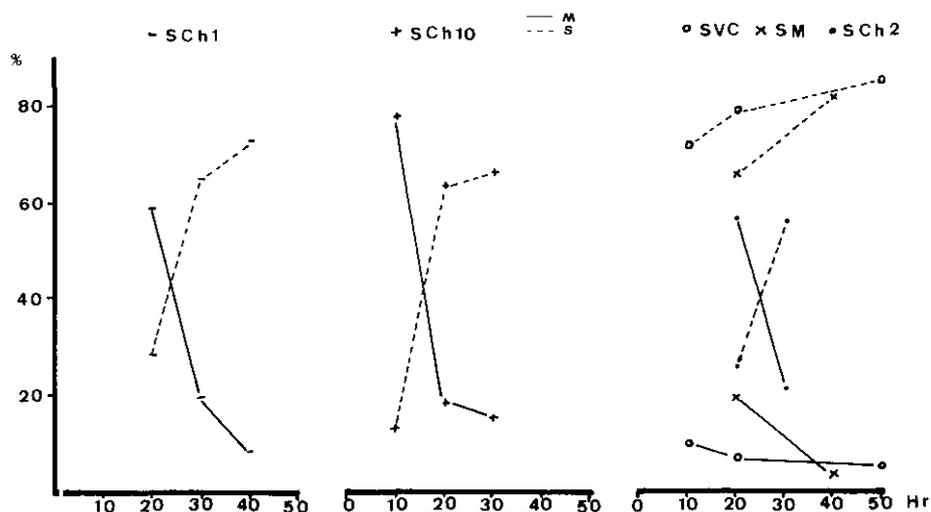


Fig. 2. Variación de monoterpenos (M) y sesquiterpenos (S) con el tiempo de extracción.

TABLA 3. Componentes con mayor variación individual en las diferentes fracciones de aceite esencial recogidas a diferente tiempo de destilación y en la muestra mezcla, respecto a la fracción obtenida al menos tiempo de destilación. Abreviaturas: n.i. = compuesto no identificado; IK = Índice de Kovats respecto a las *n*-parafinas en la columna de Silicona; d = disminución; a = aumento; Cariofiladienol = (1R, 5R, 9S)-cariofila-4(12), 8(13)-dien-5 α -ol.

Muestra	Monoterpenos (d)	Sesquiterpenos
SCh1.1	Alcanfor	Cariofiladienol (a)
SCh1.2	Alcanfor	δ -Cadinol (a)
SCh2.1	Alcanfor	δ -Cadinol (a)
SCh10.1	Borneol	Cariofiladienol (a)
	Alcanfor	Ledol (a)
	Cineol	δ -Cadinol (a)
SCh10.2	Borneol	Cariofiladienol (a)
	Alcanfor	δ -Cadinol (a)
	Cineol	
SVC1	todos <1% (alcanfor)	τ -Eudesmol (d) Canferanona (a)
SVC2	Borneol	(Nerolidol + Espatuleno) (d)
	Alcanfor	n.i. IK 1595.1 (a)
SM2	Alcanfor (Nerolidol + Espatuleno) (d) n.i. IK 1596.9 (a)	
SCh1m	Alcanfor	ninguno >1%
SCh2m	ninguno >1%	ninguno >1%
SCh10m	Cineol	ninguno >1%
SVCm	Mirceno	<i>ar</i> -Curcumeno (d) (Nerolidol+ Espatuleno) (a)
SMm	Alcanfor Borneol	n.i. IK 1637.5 (d)

En cuanto a las variaciones globales de los mono- y sesquiterpenos en cada fracción respecto a la obtenida a menor tiempo de destilación (Fig. 3), se observa que en el caso de *S. chamaecyparissus* L. las variaciones son muy elevadas, con valores del 30 % o superior. Sin embargo, en *S. viscosa* Lag. y en «Manzanilla de Mahón» son cuantitativamente menores. Estas diferencias pueden ser debidas a que tanto la composición cualitativa como la cuantitativa de los aceites esenciales es diferente: en el caso de *S. chamaecyparissus* L. predominan los compuestos monoterpénicos frente a los sesquiterpénicos, mientras que en *S. viscosa* Lag. y en «Manzanilla de Mahón» prevalecen los segundos.

Por lo que respecta a las muestras mezcla, en *S. chamaecyparissus* L. las variaciones son muy pequeñas ya que sólo los monoterpenos en

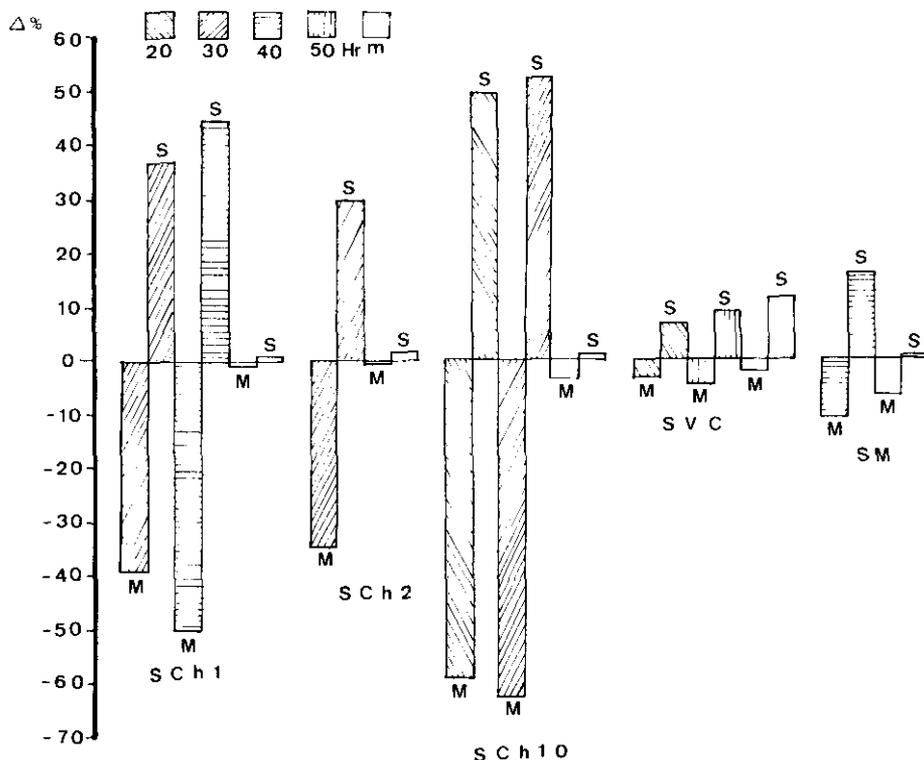


Fig. 3. Variaciones globales del aceite esencial en cada fracción respecto a la obtenida a menor tiempo de destilación.

Abreviaturas: M = monoterpenos; S = sesquiterpenos; m = mezcla.

SCh1m y SCh10m y los sesquiterpenos en SCh2m superan el 1 % (Fig. 3). Sin embargo, tanto en *S. viscosa* Lag. como en «Manzanilla de Mahón» los monoterpenos superan el 1 %, mientras que los sesquiterpenos tienen un modelo diferente, ya que en SVCm superan el 10 %, mientras que en SMm la variación es despreciable puesto que sólo alcanza el 0,01 %.

Puede ser que estas modificaciones tan dispares en las muestras mezcla sean debida a la diferencia de volumen en las distintas fracciones. En todas las muestras de *S. chamaecyparissus* L. el volumen de la primera fracción es mucho mayor que el del resto. Sin embargo, tanto en *S. viscosa* Lag. como en «Manzanilla de Mahón» las diferencias son menores ya que los volúmenes son casi iguales (Tabla 4).

Cuanto mayores sean las diferencias de volumen entre las fracciones menor influencia tendrán las obtenidas a tiempos más largos en la composición total o individual del aceite esencial respecto a la primera frac-

TABLA 4. Relación de volúmenes entre las diferentes fracciones obtenidas a distintos tiempos. * Se considera como primera fracción la muestra no tratada con nitrógeno (SCh1).

Población	Relación
S.Ch.1*	1ª F/2ª F = 4,50 1ª F/3ª F = 17,00
S.Ch.2	1ª F/2ª F = 14,00
S.Ch.10	1ª F/2ª F = 40,00 1ª F/3ª F = 44,75
S.V.C	1ª F/2ª F = 1,60 1ª F/3ª F = 1,20
S.M	1ª F/2ª F = 2,30

ción. Cuanto más similares sean los volúmenes, mayores diferencias existirán entre las composiciones global e individual de la esencia obtenida.

c) Forma de extracción

La variación producida por la forma de destilación de la muestra se estudió en las poblaciones correspondientes a *S. rosmarinifolia* L. subsp. *canescens* (Lag.) Nyman (S.R.C.TA), *S. viscosa* Lag. (S.V.C y S.V.A) y *S. chamaecyparissus* (S.Ch.7).

Las diferencias en cuanto a la forma de extracción son las siguientes: 1) Muestra destilada húmeda (SRCTA1) o seca (SRCTA2) que se toma de referencia. 2) Muestra destilada pulverizada (SVCm) o fragmentada (SVA), que se toma de referencia. 3) Muestra destilada en dos porciones (SCh7 y SCh7.1), ambas secas y fragmentadas, reunidas tras el análisis individual (SCh7m), SCh7 se toma de referencia para SCh7.1 y ambas para SCh7m.

En la tabla 5 se reflejan los componentes que sufren mayor variación en cada caso, así como la relación de volúmenes de las dos porciones de SCh.

En el caso de la muestra SCh7m, las variaciones son diferentes según quién sea la muestra de referencia, ya que respecto a SCh7 ningún componente varía en proporción superior al 1 %, mientras que con respecto a SCh7.1 hay tanto monoterpenos como sesquiterpenos que aumentan en mayor proporción, ya sea aumentando o disminuyendo su porcentaje.

Estas variaciones se pueden achacar a la diferencia de volumen entre ambas porciones, con lo que el peso en la mezcla será diferente.

Por lo que respecta a las variaciones globales (Fig. 4), tanto en *S. rosmarinifolia* L. subsp. *canescens* (Lag.) Nyman como en *S. viscosa* Lag., cuanto más seca está la muestra menor es la cantidad de monoterpenos

TABLA 5. Componentes con mayor variación individual en las muestras obtenidas con diferente forma de extracción. Relación de volúmenes de las dos porciones de *S.chamaecyparissus* L. SCh7/SCh7.1 = 6.25. Abreviaturas: dism. = disminución de porcentaje; aumen. = aumento de porcentaje.

Muestra	Monoterpenos	Sesquiterpenos
SRCTA1	β -Pineno (dism.) Alcanfor (dism.) Mirceno (aumen.)	α -Cadinol (dism.)
SVCm	Mirceno (dism.) β -Pineno (dism.) Alcanfor (dism.)	Ledol (dism.) ar-curcumeno (dism.) (Nerolidol+Espatuleno) (aum.)
SCh7.1	Linalol (aumen.) Cineol (dism.) p-Cimeno (dism.)	δ -Cadinol (dism.)
SCh7m (resp.7)	ninguno >1%	ninguno >1%
Sch7m (resp.7.1)	Cineol (aumen.) Borneol (dism.)	δ -Cadinol (aumen.) (Nerolidol+Espatuleno) (dism.)

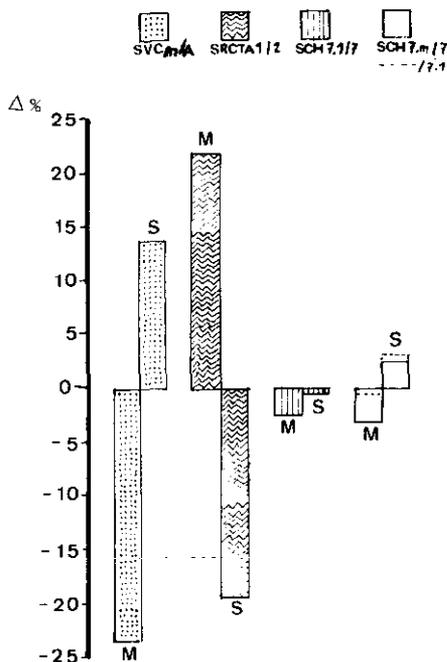


Fig. 4. Variación de los monoterpenos (M) y sesquiterpenos (S) con la forma de extracción.

y mayor la de sesquiterpenos (SVCm), y viceversa cuanto más húmeda (SRCTA1); desde el punto de vista cuantitativo las variaciones son similares, ya que en SVCm (destilada pulverizada y muy seca) los monoterpenos disminuyen un 23 % y los sesquiterpenos aumentan un 14 % respecto de SVA (destilada fragmentada y seca), y en SRCTA1 (destilada fragmentada y húmeda) los monoterpenos aumentan un 22 % y los sesquiterpenos disminuyen un 19 %.

En *S. chamaecyparissus* L. se observa que en la muestra SCh7.1 (destilada fragmentada y seca) tanto los mono- como los sesquiterpenos disminuyen con respecto a la otra porción SCh7 (destilada fragmentada y seca), aunque cuantitativamente son valores diferentes: los primeros en un 2,4 % y los segundos tan solo en un 0,39 %; por lo que respecta a la mezcla de ambas (SChm), los monoterpenos disminuyen y los sesquiterpenos aumentan de porcentaje sea cual sea la muestra de referencia, siendo distintos desde el punto de vista cuantitativo. Mientras los sesquiterpenos superan siempre el 1 %, los monoterpenos presentan un comportamiento muy diferente, puesto que respecto a SCh7 varían en casi un 3 % y, con respecto a SCh7.1, tan solo en un 0,5 %.

En definitiva, en el caso de *S. chamaecyparissus* L., las variaciones tanto individuales como globales pueden deberse al azar, al tratarse de dos porciones de la misma muestra destilada en iguales condiciones. Tanto en *S. rosmarinifolia* L. subsp. *canescens* (Lag.) Nyman como en *L. viscosa* Lag. se puede inferir que la diferencia en el estado de la muestra al ser destilada influye considerablemente en el sentido de que, cuanto más seca está la muestra, mayor es la disminución en el porcentaje de monoterpenos y el aumento en el de sesquiterpenos; todo ello se debe, por una parte, a que al dejar secar la muestra no sólo se evapora el agua sino también aquellos componentes más volátiles, por otra, en *S. viscosa* Lag., al estar la muestra pulverizada no sólo se incrementaría esta evaporación sino que, además, se dificulta la humectación al extraer la esencia.

OBSERVACIONES FINALES

1. Por lo que respecta a la conservación de la esencia, en nuestro caso no parece imprescindible la utilización de atmósfera inerte; sin embargo, parece aconsejable su utilización puesto que, en el caso de no saber realmente la composición, no se puede estar seguro de las posibles alteraciones que las esencias puedan sufrir en el periodo de conservación.
2. En cuanto al tiempo de destilación se ha de utilizar el necesario para agotar totalmente la planta pues si su esencia es rica en sesquiterpenos, debido a su menor volatilidad, necesita mayor tiempo de destilación, y si el aceite esencial es rico en monoterpenos

- éstos se extraerán rápidamente, pero no así los sesquiterpenos que contenga, por lo que la composición global del aceite esencial no será totalmente correcta.
3. Por lo que respecta a la forma de extracción, para que los resultados sean lo más fieles posibles parece indicado no pulverizar la muestra sino fragmentarla, realizando la destilación, ya sea la muestra seca o húmeda, con poca diferencia temporal respecto a la época de recolección.
 4. Sería imprescindible indicar tanto el procedimiento de extracción como el de conservación del aceite esencial con el máximo rigor posible, a fin de que los datos, bien cuantitativos o cualitativos, puedan ser comparados, con posterioridad por diferentes investigadores y así su uso quimiosistemático pueda ser realmente válido.
 5. Las poblaciones estudiadas deberían quedar testificadas con la mayor exactitud mediante un pliego testigo depositado en un herbario.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BELLANATO, J & A. HIDALGO. 1971. *Infrared Analysis of Essential Oil*. Heyden, London, 154 pp.
- EIGHT PEAK INDEX OF MASS SPECTRA. 1974. 4 vols. MSDC ICI Ltd., Aldermaston, 2933 pp.
- FORMACEK, V & K. -H. KUBEZKA. 1982a. 13C-NMR Analysis of Essential Oils. In N. Margaris & al (Eds.), *Aromatics Plants: Basic and Applied Aspects*. Cap. 4: 177-181. Martinus Nijhoff Publishers, La Haya.
- FORMACEK, V & K. -H. KUBEZKA. 1982b. *Essential Oil Analysis by Capillary gas Chromatography and Carbon-13 NMR Spectroscopy*. Wiley, Chichester, 373 pp.
- GREGER, H. 1977. Anthemideae Chemical Review. In V. H. Heywood, & C. J. Humphries, (Eds.), *Biology and Chemistry of the Compositae*. Vol. 2: 899-941. Academic Press, London.
- HEGNAUER, R. 1986. Phytochemistry and Plant Taxonomy. An Essay on the Chemotaxonomy of Higher Plants. *Phytochemistry* 25(7): 1519-1535.
- JENNINGS, W. & SHIBAMOTO. 1980. *Qualitative Analysis of Flavor and Fragrance Volatiles by Glass Capillary Gas Chromatography*. Academic Press, Nueva York, 472 pp.
- KOEDAN, A. 1982. The Influence of some Distillation Conditions on Essential Oil Composition, In N. Margaris & al. (Eds.), *Aromatic Plants: Basic and Applied Aspects*. Cap. 5: 229-236. Martinus Nijhoff Publishers, La Haya.
- PÉREZ-ALONSO, M. J. 1986. *Aceites esenciales de Santolinas ibéricas*. Tesis Doctoral Inéd., Facultad de Ciencias, Universidad de Alcalá de Henares, Madrid.
- PÉREZ-ALONSO, M. J. & A. VELASCO-NEGUERUELA 1984. Essential Oil Analysis of *Thymus villosus* L. subsp. *lusitanicus* (Boiss.) Coutinho *Phytochemistry* 23(3): 581-582.
- PÉREZ-ALONSO, M. J. & A. VELASCO-NEGUERUELA. 1988a. Essential Oil Analysis of *Santolina rosmarinifolia* L.: Comparative Study of Iberian Taxa. *II Jorn. Plant. Aromat. Oleos Essenc. (Lisboa, 1987)* (en prensa).

- PÉREZ-ALONSO, M. J. & A. VELASCO-NEGUERUELA. 1988b. The Essential Oils of Four *Santolina* Species. *Flavour Frag. J.* (Londres) 3:37-42.
- TETENYI, P. 1986. Chemotaxonomic Aspects of Essential Oils. In L. E. Craker & J. E. Simmons (Eds.), *Herbs, Spices & Medicinal Plants: Recent Advances in Botany, Horticulture and Pharmacology*. Vol. 1: 11-32. Oryx Press, Phoenix.
- VELASCO-NEGUERUELA, A. & M. J. PÉREZ-ALONSO. 1986. Aceites Esenciales de tomillos ibéricos IV. Contribución al estudio quimiotaxonómico (Terpenoides) del género *Thymus* L. *Trab. Dep. Botánica (Madrid)* 13: 115-133.
- VELASCO-NEGUERUELA, A. & M. J. PÉREZ-ALONSO. 1988. Contribución al estudio del Aceite Esencial de la Manzanilla de Gredos, *Santolina oblongifolia* Boiss. Análisis comparativo con otras especies de *Santolina* L. del sureste ibérico y con la Manzanilla de Mahón. *VI Jornadas Nac. Plant. Arom. Med. Cond. (León, 1986)* (en prensa).