

Microextracción en fase sólida de compuestos volátiles en albahaca (*Ocimum basilicum* L.)

Juan Antonio González-Zúñiga*, Héctor Manuel González-Sánchez**, Salvador González-Palomares**, Tábata Rosales-Reyes**, e Isaac Andrade-González***

RESUMEN

Los compuestos volátiles de la albahaca (*Ocimum basilicum* L.) fueron extraídos mediante la microextracción en fase sólida (SPME) y analizados con cromatografía de gases-espectrometría de masas (GC-MS). Se evaluaron dos fibras, Polidimetilsiloxano/Divinilbenceno (PDMS/DVB, 65 μm) y Carbowax/Divinilbenceno (CW/DVB, 65 μm), para comparar la extracción de componentes. Entre los 25 compuestos volátiles recuperados en la albahaca, se identificaron fenilpropanoides, monoterpenos, sesquiterpenos, ésteres, y aldehídos. Hubieron diferencias significativas ($P < 0,05$) entre las fibras analizadas. La comparación de las dos fibras mostró que la extracción con la fibra CW/DVB es aparentemente mejor tanto en el número de componentes aislados como en la concentración total de los compuestos. Cuantitativamente, el componente más importante fue el cinamato de metilo, seguido por el linalol.

ABSTRACT

Volatile compounds of basil (*Ocimum basilicum* L.) were extracted with solid phase microextraction (SPME) and analyzed with gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). Two SPME fiber coatings, Polydimethylsiloxane/Divinylbenzene (PDMS/DVB, 65 μm) and Carbowax/Divinylbenzene (CW/DVB, 65 μm) were evaluated in order to compare the extraction of components. Among the 25 volatile compounds detected were phenylpropanoids, monoterpenes, sesquiterpenes, esters, and aldehydes. There were significant ($P < 0,05$) differences between the two analyzed fibers: with CW/DVB fiber is apparently superior with respect to the number of components isolated as well as the total concentration of compounds. Quantitatively, the most important component was methyl cinnamate, followed by linalool.

Recibido: 13 de septiembre de 2010
Aceptado: 12 de noviembre de 2010

INTRODUCCIÓN

La albahaca (*Ocimum basilicum* L., *Lamiaceae*) es una hierba anual, tiene gran aprecio por los consumidores debido a sus propiedades medicinales, así como también por su aroma y sabor característico (Koba *et al.*, 2009). En México, el cultivo de esta planta se distribuye en casi todo el país y es ampliamente usada en desórdenes digestivos, problemas inflamatorios y enfermedades respiratorias (Argueta y Cano, 1994; Salazar, 2003). Actualmente se le reconoce al aceite esencial de la planta entera una cierta acción sobre el sistema digestivo y el sistema neurovegetativo (Arvy y Gallouin, 2007). La albahaca también tiene una diversidad de usos en alimentos, cosméticos, perfumes, productos orales y dentales, licores, pesticidas y medicinas (Lachowicz *et al.*, 1997; Murillo *et al.*, 2004; Arvy y Gallouin, 2007; Koba *et al.*, 2009).

Palabras clave:

SPME; volátiles; albahaca; cinamato de metilo.

Keywords:

SPME; volatile; basil; methyl cinnamate.

El género *Ocimum*, colectivamente llamado albahaca, crece en varias regiones del mundo (Simon *et al.*, 1999) e incluye un gran número de especies, subespecies y variedades que son producto de una abundante polinización cruzada (Lawrence, 1988). Por estas razones, se ha investigado extensamente la composición química del aceite esencial de la albahaca en diferentes países (Fleisher, 1981; Lachowicz *et al.*, 1996; Viña y Murillo, 2003; Lee

*Unidad de Ciencias de los Alimentos. Instituto Tecnológico Superior de La Huerta (ITSH). Av. Rafael Palomera No. 161, col. El Maguey, C.P. 48850. La Huerta, Jalisco, México. Correo electrónico: chava1142@hotmail.com

**Laboratorio de Biotecnología. Universidad de Guadalajara (UdG). Centro Universitario de la Costa Sur (CUCSur). Av. Independencia Nacional No. 151. C.P. 48900. Autlán de Navarro, Jalisco, México. Correo electrónico: chava1142@yahoo.com.mx

***Planta Piloto de Procesos Agroindustriales. Instituto Tecnológico de Tlajomulco, Jalisco (ITTJ). Km. 10 carr. San Miguel Cuyutlán. C.P. 45640. Tlajomulco de Zúñiga, Jalisco, México.

et al., 2005; Koba *et al.*, 2009), encontrándose que ésta varía mucho según el origen geográfico de la planta (Arvy y Gallouin, 2007), el estado de desarrollo vegetativo (Fleisher, 1981), las condiciones agronómicas en su producción (Miele *et al.*, 2001), y las variedades cultivadas (Lachowicz *et al.*, 1997; Viña y Murillo, 2003). Sin embargo, hay pocos datos disponibles acerca de la caracterización química de las especies del género *Ocimum* cultivadas en México.

Los aceites esenciales contienen compuestos aromáticos muy volátiles, los cuales son responsables de los olores y sabores característicos de las plantas (Padrini y Lucheroni, 1997; González-Palomares y Vázquez-García, 2008). En la albahaca, el carácter aromático de cada variedad se origina principalmente por una mezcla compleja de monoterpenos, sesquiterpenos, fenilpropanoides (Fleisher, 1981; Lachowicz *et al.*, 1997; Miele *et al.*, 2001; Wossa *et al.*, 2008; Koba *et al.*, 2009), ácidos orgánicos (Argueta y Cano, 1994), alcoholes, aldehídos, cetonas y ésteres (Lee *et al.*, 2005). Varios compuestos aromáticos, tales como metil-chavicol (estragol), cinamato de metilo, metil-eugenol, eugenol, linalol y geraniol, han sido reportados como los mayores componentes de los aceites de *O. basilicum* (Sajjadi, 2006; Wossa *et al.*, 2008). Estas diferencias en la composición química, permitieron la clasificación de la albahaca en quimiotipos [conocidos por los nombres según el origen geográfico (Simon *et al.*, 1999)] con base en los componentes predominantes (Lawrence, 1988) o a los compuestos detectados en una cantidad superior al 20 % (Miele *et al.*, 2001; Wossa *et al.*, 2008). Actualmente se han añadido nuevos quimiotipos y subtipos a la clasificación establecida por Lawrence en 1988 (Wossa *et al.*, 2008).

El análisis por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) ha permitido conocer la composición química y la abundancia relativa de los principales componentes de los aceites de *O. basilicum* (Acosta *et al.*, 2003). Para lo cual, previamente se realiza la extracción de los compuestos volátiles a través de métodos como la microextracción en fase sólida (SPME), que es muy popular en la actualidad (Fan y Sokorai, 2002; Marín y Céspedes, 2007; Reineccius, 2007; González-Palomares *et al.*, 2009; González-Palomares *et al.*, 2010a).

Las virtudes de la SPME son ampliamente aclamadas e incluyen que es relativamente económica, rápida, no utiliza disolventes en la preparación de la muestra y es razonablemente sensible a la recuperación de compuestos volátiles (Pawliszyn, 1997; Beaulieu y Lea, 2006; Marín y Céspedes, 2007; Reineccius, 2007). En esta técnica, una fibra revestida con uno o

más polímeros de extracción remueve por adsorción los analitos de la muestra (e.g. los compuestos aromáticos), y luego es insertada directamente dentro del sistema GC-MS para la desorción térmica y el análisis (Marín y Céspedes, 2007; Reineccius, 2007; González-Palomares *et al.*, 2009). La combinación de SPME y GC-MS ha sido exitosamente aplicada en la extracción de compuestos orgánicos volátiles y semi-volátiles de diversas muestras (Vas y Vékey, 2004; González-Palomares *et al.*, 2010a).

La escasez de información científica acerca de la composición química de la albahaca cultivada en Jalisco, México, generó como objetivo del trabajo: determinar los componentes aromáticos más abundantes de la albahaca (*Ocimum basilicum* L.) procedente de La Huerta, Jalisco, mediante la evaluación de dos fibras de extracción de compuestos volátiles por microextracción en fase sólida y cromatografía de gases-espectrometría de masas. La información generada servirá como antecedente básico para trabajos futuros dirigidos a la búsqueda de los compuestos volátiles de plantas popularmente empleadas en Jalisco, México, como es el caso de la albahaca.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestras de albahaca: Las hojas y tallos frescos de albahaca (*Ocimum basilicum* L.), con 80 % de humedad, se colectaron de un campo de producción de La Huerta, Jalisco, México. El material vegetal cosechado provino de plantas en época de floración. En esta etapa fenológica es cuando la albahaca tiene un mayor contenido de aceite esencial (Fleisher, 1981).

Microextracción en fase sólida (SPME): Se emplearon dos fibras de extracción, polidimetilsiloxano/divinilbenceno (PDMS/DVB, 65 μ m) y carbowax/divinilbenceno (CW/DVB, 65 μ m). Las fibras se acondicionaron considerando las instrucciones provistas por el fabricante: 30 min a 260 °C para PDMS/DVB y 30 min a 250 °C para CW/DVB. Después del acondicionamiento, se corrieron las fibras blanco para confirmar la limpieza del sistema GC-MS. La jeringa, fibras y viales para SPME se obtuvieron de la Compañía Supelco (Bellefonte, PA, USA).

Las muestras de albahaca se homogeneizaron a temperatura ambiente durante 20 segundos. Los compuestos volátiles de las muestras homogenizadas fueron extraídos por el método de SPME (Cuevas-Glory *et al.*, 2008), con modificaciones (González-Palomares *et al.*, 2009; González-Palomares *et al.*, 2010a). Se transfirieron 8 g del homogenizado de albahaca, 1 g de NaCl y 8 mL de agua desionizada

(Barnsted E-pure) a un vial de 40 mL, el cual se selló herméticamente por medio de una septa PTFE-silicón. El vial se incubó a 70 °C en un termobañó con agitación durante 30 min. Transcurrido este tiempo, la fibra para SPME se insertó en el espacio de cabeza del vial, manteniéndose la temperatura y la agitación durante 40 min. La incubación con temperatura y agitación sirvió para promover el equilibrio entre los analitos en el espacio de cabeza del vial, la muestra y el polímero de la fibra, y así obtener una mayor concentración de compuestos volátiles en la fibra. Al terminar el tiempo de extracción, se retiró del vial la fibra con los compuestos volátiles adsorbidos y se insertó en el puerto de inyección de un cromatógrafo de gases con un tiempo de desorción de 5 min. Este proceso se realizó con cinco repeticiones en las mismas condiciones.

Cromatografía de gases-espectrometría de masas (GC-MS): Los compuestos volátiles aislados de la albahaca por SPME, se analizaron en un GC-MS Hewlett-Packard 6890/5973 (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA), equipado con una columna capilar polar Supelcowax-10 (Supelco, Bellefonte, PA, USA) de 30 m de largo x 0,25 µm de diámetro interno y con fase estacionaria de polietilenglicol. Las condiciones empleadas durante el análisis de las muestras fueron: temperatura del inyector y del detector de 190 °C y 240 °C, respectivamente. Se estableció una temperatura inicial del horno de 40 °C, mantenida por 5 min hasta llegar a una temperatura final de 250 °C con incrementos de 5 °C por minuto. El gas acarreador fue helio grado cromatográfico (INFRA S.A.), con un flujo de 0,8 mL/min (González-Palomares *et al.*, 2009; González-Palomares *et al.*, 2010b).

Identificación y cuantificación de compuestos volátiles: Los compuestos volátiles de albahaca se identificaron por comparación espectral de los picos del cromatograma de iones totales de las muestras con los compuestos de referencia de la biblioteca Wiley 275L instalada en el GC-MS. La cuantificación se realizó con base en el porcentaje de área de cada pico del cromatograma correspondiente a cada compuesto volátil de la albahaca (González-Palomares *et al.*, 2009; González-Palomares *et al.*, 2010b).

Análisis estadístico: Se evaluaron las fibras de extracción utilizadas durante la SPME, con base en el número y concentración de compuestos volátiles aislados. Las concentraciones totales de compuestos volátiles de la albahaca se obtuvieron del promedio de las cinco repeticiones ($n = 5$) realizadas en la microextracción con las fibras PDMS/DVB y CW/DVB. Los datos generados fueron sujetos a análisis estadístico

a través de la prueba de “*t de Student*” y considerados significativos con $P < 0,05$ (González-Palomares *et al.*, 2010b).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En albahaca (*Ocimum basilicum* L.) procedente de La Huerta, Jalisco, México, se identificaron y cuantificaron 25 compuestos volátiles vía GC-MS. En el aislamiento de los componentes aromáticos mediante SPME, se emplearon dos fibras: PDMS/DVB y CW/DVB. Del total de los compuestos extraídos, 18 fueron comunes para ambas fibras (tabla 1).

Tabla 1. Compuestos volátiles de albahaca identificados mediante dos fibras de extracción a través de SPME/GC-MS.

Compuesto	Concentración (% de área)	
	PDMS/DVB:	CW/DVB:
Fenilpropanoides		
Cinamato de etilo	3,11	4,11
Cinamato de metilo	8,50	15,00
Monoterpenos		
Linalol	6,00	10,50
Neral	--	0,90
α-Pineno	--	0,63
β-Pineno	--	0,44
β-Mirceno	--	0,32
p-Cimeno	--	0,45
α-Terpineno	1,60	2,00
Sesquiterpenos		
β-Cariofileno	0,93	1,70
α-Cadineno	--	0,51
Ésteres		
Acetato de isoamilo	0,23	1,10
Acetato de hexilo	0,92	2,15
Acetato de etilo	1,10	1,41
Acetato de octilo	1,17	2,05
Acetato de bencilo	1,19	1,85
2-metilbutirato de etilo	1,25	2,21
Miristato de etilo	1,21	1,35
Benzoato de etilo	0,97	0,99
Hexanoato de etilo	--	1,95
Aldehídos		
Nonanal	0,94	0,81
Hexanal	0,91	0,90
Decanal	0,45	1,54
(E)-2-Octenal	0,47	0,70
(E)-2-Nonenal	0,59	1,89
Total de compuestos:	18	25

Los valores representan el promedio de cinco repeticiones ($n=5$).

Se encontraron diferencias significativas ($P < 0,05$) al comparar entre sí las fibras de extracción, tanto en el número de componentes identificados (18 con la fibra PDMS/DVB y 25 con la fibra CW/DVB) como en la concentración total: 31,54 % con la fibra PDMS/DVB y 57,46 % con la fibra CW/DVB. Además, con la fibra PDMS/DVB se aislaron menos terpenos que con la fibra CW/DVB. Estas discrepancias pueden deberse a la composición de cada fibra y a la afinidad de los compuestos de la muestra a la matriz adsorbente. En el tequila, la fibra PDMS/DVB permitió muy baja cuantificación de terpenos, la cual mejoró al adicionar 100 % de NaCl, con temperatura y tiempo de extracción de 25 °C y 30 min, respectivamente (Peña-Álvarez *et al.*, 2006). En el aislamiento de los componentes de la miel, la fibra PDMS/DVB tuvo mayor eficiencia que la CW/DVB (Cuevas-Glory *et al.*, 2008). Para Costa *et al.*, (2001) la fibra CW/DVB permitió la clasificación de los compuestos volátiles del café con base en el origen geográfico. Klimánková *et al.*, (2008) obtuvieron perfiles de compuestos volátiles de albahaca bastante similares entre las fibras PDMS/DVB y CW/DVB.

En el actual estudio, los componentes extraídos de la albahaca se agruparon con base en sus características estructurales en fenilpropanoides, monoterpenos, sesquiterpenos, ésteres y aldehídos. Los compuestos volátiles pertenecientes a los tres primeros grupos coincidieron con los reportados en otros trabajos de investigación (Lachowicz *et al.*, 1996; Özcan y Chalchat, 2002; Viña y Murillo, 2003; Lee *et al.*, 2005; Chang *et al.*, 2009). Estos autores han tabulado en la albahaca más compuestos, sin embargo, debido a que fueron aislados por hidrodestilación o por destilación con vapor, posibles artefactos o productos de degradación están en algunas de estas listas. De otros estudios, que utilizaron SPME, correspondieron los compuestos más abundantes (Reyes *et al.*, 2007) y algunos mono y sesquiterpenos (Klimánková *et al.*, 2008).

Con las dos fibras de extracción utilizadas, el cinamato de metilo (fenilpropanoide), el linalol (monoterpeno), y el cinamato de etilo (fenilpropanoide) fueron los compuestos de mayor concentración. El cinamato de metilo y el linalol, han sido reportados por otros autores como los mayores componentes (Lachowicz *et al.*, 1997; Acosta *et al.*, 2003; Viña y Murillo, 2003; Reyes *et al.*, 2007), o dentro de los mayores constituyentes del aroma (Lee *et al.*, 2005; Muñoz *et al.*, 2007; Politeo *et al.*, 2007; Klimánková *et al.*, 2008) en diferentes variedades de *O. basilicum*. Lee *et al.*, (2005) también detectaron al cinamato de etilo aunque en baja concentración. De acuerdo con Lawrence (1988),

el componente predominante es el que determina el quimiotipo de la albahaca. En la presente investigación, el cinamato de metilo fue el principal componente, seguido por el linalol (razón 1,5:1). En algunas variedades de *O. basilicum* se han encontrado proporciones iguales o similares entre estos compuestos (Lachowicz *et al.*, 1997; Viña y Murillo, 2003) y se estableció que eran del quimiotipo "cinamato de metilo", subtipo "cinamato de metilo > linalol" (Viña y Murillo, 2003). Posiblemente dicho quimiotipo y subtipo sean también los que corresponden a la albahaca utilizada en este trabajo. No obstante, se requieren investigaciones posteriores para confirmar tal información.

En las hojas de la albahaca se encuentran grandes cantidades de fenilpropanoides, monoterpenos y sesquiterpenos, así como metabolitos derivados de los ácidos grasos. Estos grupos de compuestos, individualmente y en combinación, imparten un distintivo aroma y sabor (Gang *et al.*, 2001). Los ácidos grasos insaturados y poliinsaturados son precursores de un gran número de compuestos volátiles que son importantes para definir el carácter aromático, entre ellos, los ésteres y los aldehídos (Christensen *et al.*, 2007). Los ésteres y los aldehídos han sido escasamente reportados en albahaca, sin embargo, en este estudio el mayor número de los compuestos extraídos corresponden a estos dos grupos. En la albahaca se han registrado un amplio rango de aromas: a limón, rosa, alcanfor, licor, amaderado y afrutado (Simon *et al.*, 1999). Los compuestos encontrados en esta investigación proporcionan diversas notas: los fenilpropanoides y los ésteres, aromas afrutados (Christensen *et al.*, 2007); los monoterpenos y sesquiterpenos proveen olores frescos, florales, a limón, dulces, herbáceos, afrutados y amaderados (Tamura *et al.*, 2001), y los aldehídos, notas frescas, verdes, cítricas, florales, jabonosas y oleosas (Rouseff y Perez-Cacho, 2007). Los compuestos volátiles se forman de los constituyentes mayores de las plantas a través de varias rutas bioquímicas (Christensen *et al.*, 2007). Los fenilpropanoides se biosintetizan a partir del ácido cinámico a través de la ruta del siquimato. Los monoterpenos y sesquiterpenos tienen su origen biosintético en la vía del ácido mevalónico, también conocida como ruta del mevalonato (Viña y Murillo, 2003; Wossa *et al.*, 2008). Los ésteres y aldehídos resultan de la degradación de los ácidos grasos insaturados y poliinsaturados (Christensen *et al.*, 2007).

La composición química de la albahaca puede verse influenciada por la variedad, las condiciones agroclimáticas (Lachowicz *et al.*, 1997; Viña y Murillo,

2003), el estatus nutricional de las plantas (Özcan y Chalchat, 2002; Sajjadi, 2006), el estado de desarrollo vegetativo (Fleisher, 1981), y la parte de la planta analizada (Muñoz *et al.*, 2007; Klimánková *et al.*, 2008). Las variedades de *Ocimum basilicum* L., exhiben distinto carácter aromático, características morfológicas, composición química en los aceites esenciales, y quimiotipos (Simon *et al.*, 1999). Varios métodos analíticos han sido desarrollados para determinar los constituyentes volátiles de los aceites esenciales, aunque algunos de ellos pueden ocasionar cambios químicos en los compuestos o pérdida de la mayoría de los volátiles (Klimánková *et al.*, 2008). Aún cuando la extracción de los compuestos volátiles se realice mediante el mismo método, hay factores que pueden variar los resultados. Particularmente, en la SPME, el tipo y espesor del recubrimiento de la fibra usada, la adición de un electrolito (*e.g.* una sal), las condiciones de extracción (tiempo y temperatura), y la temperatura del puerto de inyección para la desorción de los analitos de la fibra (Vas y Vékey, 2004). Las variaciones encontradas en el aislamiento de compuestos volátiles de la albahaca, entre este proyecto y otras investigaciones pueden deberse a la variedad de las plantas, al método y las condiciones de extracción utilizadas.

Es importante recordar que ningún método para aislar el aroma de una planta da una identificación completa de los compuestos aromáticos presentes en ella (Reineccius, 2007; González-Palomares y Vázquez-García, 2008). La composición del aroma es una mezcla compleja de sustancias que aunque lleva en sí misma la huella del vegetal del que procede, cada planta tiene su esencia particular, la cual es única e irreproducible (Padrini y Lucheroni, 1997; González-Palomares *et al.*, 2009).

La sensibilidad de la SPME usada en este trabajo fue comparable con métodos convencionales como la hidrodestilación o la destilación con vapor en cuanto a la extracción de los fenilpropanoides, monoterpenos y sesquiterpenos. Según la literatura citada en los resultados, dentro de estos grupos de compuestos se encuentran los mayores constituyentes del aroma. En la SPME, las variaciones en la composición química de la albahaca con respecto a reportes previos, principalmente estuvieron dadas por la variedad, el recubrimiento de la fibra, la adición de sal, el tiempo y la temperatura de extracción. Con el fin de ampliar y complementar la información obtenida de la albahaca, se justifican investigaciones posteriores de los compuestos volátiles y así dirigir la información obtenida hacia posibles aplicaciones.

CONCLUSIONES

El perfil químico de *Ocimum basilicum* L., procedente de La Huerta, Jalisco, México está constituido principalmente por fenilpropanoides y monoterpenos, cuyos principales compuestos representantes son el cinamato de metilo y el linalol, respectivamente.

La técnica de SPME/GC-MS representa un método apropiado para la extracción de compuestos volátiles de la albahaca. En las condiciones analíticas empleadas, la fibra CW/DVB presentó una mejor eficiencia de adsorción de compuestos volátiles.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Estatal de Ciencia y Tecnología de Jalisco (COECYTJAL), por el apoyo económico para realizar esta investigación. A la doctora Lya Esther Sañudo Guerra, doctora Martha Vergara Fregoso, maestra Ruth Catalina Perales Ponce y a la maestra Martha Daniela Concepción García Moreno, autoridades de la Dirección General de Investigación de la Secretaría de Educación Jalisco (SEJ), por las sugerencias en el desarrollo del trabajo.

REFERENCIAS

- Acosta, M., González, M., Araque, M., Velazco, M., Khour, N., Rojas, L., y Usubillaga, A. (2003). Composición química de los aceites esenciales de *Ocimum basilicum* L. var *basilicum*, *O. basilicum* L. var *purpurensens*, *O. gratissimum* L., y *O. tenuiflorum* L., y su efecto antimicrobiano sobre bacterias multiresistentes de origen nosocomial. *Rev. Fac. Farm.* 45(1):19-24.
- Argueta, V.A., y Cano, A.L. (1994). *Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana*. Instituto Nacional Indigenista. México. Pp: 86-88.
- Arvy, M.P., y Gallouin, F. (2007). *Espicias, aromatizantes y condimentos*. Mundi-Prensa Libros. Madrid. Pp: 36-37.
- Beaulieu, J.C., y Lea J.M. (2006). Characterization and semiquantitative analysis of volatiles in seedless watermelon varieties using Solid-Phase Microextraction. *J. Agric. Food Chem.* 54:7789-7793.
- Chang, X., Alderson, P.G., y Wright, C.J. (2009). Enhanced UV-B radiation alters basil (*Ocimum basilicum* L.) growth and stimulates the synthesis of volatile oils. *J. Hortic. For.* 12:27-31.
- Christensen, L.P., Edelenbos, M., y Kreutzmann, S. (2007). Fruits and vegetables of moderate climate. In: *Flavours and Fragrances. Chemistry, Bioprocessing and Sustainability*. Berger, R.G. (Ed.). Springer. Germany. Pp: 135-181.
- Costa, A.M.F., Parreira, C., y Vilas-Boas, L. (2001). Comparison of two SPME fibers for differentiation of coffee by analysis of volatile compounds. *Chromatographia.* 54(9-10):647-652.
- Cuevas-Glory, L.F., Ortiz-Vázquez, E., Centurión-Yah, A., Pino J.A., y Sauri-Duch, E. (2008). Desarrollo de un método por microextracción en fase sólida para el análisis de la fracción volátil de la miel de abeja de Yucatán. *Téc. Pec. Méx.* 46(4):387-395.

- Fan, X., and Sokorai, K.J.B. (2002). Changes in volatile compounds of *γ*-irradiated fresh cilantro leaves during cold storage. *J. Agric. Food Chem.* (50):7622-7626.
- Fleisher, A. (1981). Essential oils from two varieties of *Ocimum basilicum* L., grown in Israel. *J. Sci. Food Agric.* 32:1119-1122.
- Gang, D.R., Wang, J., Dudareva, N., Nam, K.H., Simon, J.E., Lewinsohn, E., and Pichersky, E. (2001). An investigation of the storage and biosynthesis of phenylpropenes in sweet basil. *Plant Physiol.* 125:539-555.
- González-Palomares, S., Estarrón-Espinosa, M., Gómez-Leyva, J.F., and Andrade-González, I. (2009). Effect of the Temperature on the Spray Drying of Roselle Extracts (*Hibiscus sabdariffa* L.). *J. Plant Foods for Human Nutrition.* 64(1):62-67.
- González-Palomares, S., Estrada-Dichi, A., Del Val-Díaz, R., Rosales-Reyes, T., Andrade-González, I., and Hernández-Estrada, A. (2010a). Determinación de compuestos volátiles en noni (*Morinda citrifolia* L.) mediante microextracción en fase sólida y cromatografía de gases. *Memoria del VI Congreso Internacional y XVII Congreso Nacional de Ingeniería Bioquímica.* Colegio Mexicano de Ingenieros Bioquímicos, A.C. Acapulco, Guerrero, México. Pp: 1-6.
- González-Palomares, S., Rivera-Camero, L.H., and Rosales-Reyes, T. (2010b). Análisis de compuestos volátiles en cilantro (*Coriandrum sativum* L.). *Revista Acta Universitaria.* Universidad de Guanajuato. 20(1):19-24.
- González-Palomares, S., and Vázquez-García, E.S. (2008). Caracterización de compuestos aromáticos en fruta de noni (*Morinda citrifolia* L.). *Boletín de Ciencia y Tecnología.* Secretaría de Educación Jalisco (SEJ). (3):21-26.
- Klimánková, E., Holadová, K., Hajšlová, J., Čajka, T., Poustka, J., and Koudela, M. (2008). Aroma profiles of five basil (*Ocimum basilicum* L.) cultivars grown under conventional and organic conditions. *Food Chem.* 107:464-472.
- Koba, K., Poutouli, P.W., Raynaud, C., Chaumont, J.P., and Sanda, K. (2009). Chemical composition and antimicrobial properties of different basil essential oils chemotypes from Togo. *Bangladesh J. Pharmacol.* 4:1-8.
- Lachowicz, K.J., Jones G.P., Briggs, D.R., Bienvenu, F.E., Palmer, M.V., Ting, S.S.T., and Hunter, M. (1996). Characteristics of essential oil from basil (*Ocimum basilicum* L.) grown in Australia. *J. Agric. Food Chem.* 44:877-881.
- Lachowicz, K.J., Jones, G.P., Briggs, D.R., Bienvenu, F.E., Palmer, M.V., Mishra, V., and Hunter, M.M. (1997). Characteristics of plants and plant extracts from five varieties of basil (*Ocimum basilicum* L.) grown in Australia. *J. Agric. Food Chem.* 45(7):2660-2665.
- Lawrence, B.M. (1988). A further examination of the variation of *Ocimum basilicum* L., *In Flavors and Fragrances: A world perspective.* Lawrence, B.M., Mookerjee, B.D., and Willis, B.J. (Eds.). Elsevier Science Publishers B.V. Amsterdam. Pp: 61-169.
- Lee, S.J., Umamo, K., Shibamoto, T., and Lee, K.G. (2005). Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties. *Food Chem.* 91:131-137.
- Marín, L.J.C., and Céspedes, C.L. (2007). Compuestos volátiles de plantas. Origen, emisión, efectos, análisis y aplicaciones al agro. *Revista Fitotécnica Mexicana.* Sociedad Mexicana de Fitogenética. 30(4):327-351.
- Miele, M., Dondero, R., Ciarallo, G., and Mazzei, M. (2001). Methyleugenol in *Ocimum basilicum* L. Cv. Genovese Gigante. *J. Agric. Food Chem.* 49:517-521.
- Muñoz, A., Patiño, J.G., Cárdenas, C.Y., Reyes, J.A., Martínez, J.R., Stashenko, E.E. (2007). Composición química de extractos obtenidos por destilación extracción simultánea con solvente de hojas e inflorescencias de nueve especies y/o variedades de albahacas (*Ocimum spp*). *Scientia Et Technica.* XIII(033):197-199.
- Murillo, E., Fernández, K., Sierra, D.M., y Viña, A. (2004). Caracterización físico-química del aceite esencial de albahaca. II. *Rev. Colomb. Quim.* 33(2):139-148.
- Özcan, M., and Chalchat, J.C. (2002). Essential oil composition of *Ocimum basilicum* L. and *Ocimum minimum* L. in Turkey. *Czech. J. Food Sci.* 20(6):223-228.
- Padrini, F., y Lucheroni, M.T. (1997). *Aceites esenciales.* De Vecchi, S.A. Barcelona. Pp: 8.
- Pawliszyn, J. (1997). *Solid-Phase Microextraction. Theory and practice.* Wiley-VCH Inc., New York, USA. 247p.
- Peña-Álvarez, A., Capella, S., Juárez R., and Labastida, C. (2006). Determination of terpenes in tequila by solid phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr. A.* 1134:291-297.
- Políteo, O., Jukic, M., and Milos, M. (2007). Chemical composition and antioxidant capacity of free volatile aglycones from basil (*Ocimum basilicum* L.) compared with its essential oil. *Food Chem.* 101:379-385.
- Reineccius, G.A. (2007). Flavour-Isolation Techniques. In: *Flavours and Fragrances. Chemistry, Bioprocessing and Sustainability.* Berger, R.G. (Ed.). Springer. Germany. Pp: 409-426.
- Reyes, J.A., Patiño, J.G., Martínez, J.R., and Stashenko, E.E. (2007). Caracterización de los metabolitos secundarios de dos especies de *Ocimum* (Fam. Labiatae), en función del método de extracción. *Scientia et Technica.* 33:121-123.
- Rouseff, R., and Perez-Cacho, P.R. (2007). Citrus Flavour. In: *Flavours and Fragrances. Chemistry, Bioprocessing and Sustainability.* Berger, R.G. (Ed.). Springer. Germany. Pp: 117-134.
- Sajjadi, S.E. (2006). Analysis of the essential oils of two cultivated basil (*Ocimum basilicum* L.) from Iran. *DARU.* 14(3):128-130.
- Salazar, L. (2003). Catálogo de la colección del Jardín Etnobotánico. En: *Jardín Etnobotánico, Museo de medicina tradicional y herbolario.* Cuernavaca, Morelos. Parrilla, L.A. (ed.). Instituto Nacional de Antropología e Historia. México. Pp: 69.
- Simon, J.E., Morales, M.R., Phippen, W.B, Vieira, R.F., Hao, Z. (1999). Basil: A source of aroma compounds and a popular culinary and ornamental herb. In: *Perspectives on new crops and new uses.* Janick, J. (Ed.). ASHS Press, Alexandria, VA. Pp: 499-505.
- Tamura, H., Boonbumrung, S., Yoshizawa, T., and Varayanond, W. (2001). The volatile constituents in the peel and pulp of a green thai mango, Khieo Sawoei cultivar (*Mangifera indica* L.). *Food Sci. Technol. Res.* 7(1):72-77.
- Vas, G., and Vékey, K. (2004). Solid-phase microextraction: a powerful sample preparation tool prior to mass spectrometric analysis. *J. Mass Spectrom.* 39:233-254.
- Viña, A., and Murillo, E. (2003). Essential oil composition from twelve varieties of basil (*Ocimum spp*) grown in Colombia. *J. Braz. Chem. Soc.* 14(5):744-749.
- Wossa, S.W., Rali, T., and Leach, D.N. (2008). Volatile chemical constituents of three *Ocimum* species (Lamiaceae) from Papua New Guinea. *SPJNS.* 26:25-27.