

Composición química de aceites esenciales de plantas aromáticas pertenecientes a los géneros *Artemisia*, *Mentha* y *Thymus* procedentes de poblaciones ubicadas en el entorno de Calamocha (Teruel)

Juan A. Llorens-Molina*

Sandra Vacas González**

RESUMEN: En este trabajo se describe la composición química de los aceites esenciales obtenidos de diferentes especies de los géneros *Artemisia*, *Thymus* y *Mentha* que crecen silvestres en los alrededores de Calamocha (Teruel). Los datos provienen de diferentes investigaciones realizadas por los autores en los últimos años y muestran la alta variabilidad intrapoblacional de estas especies.

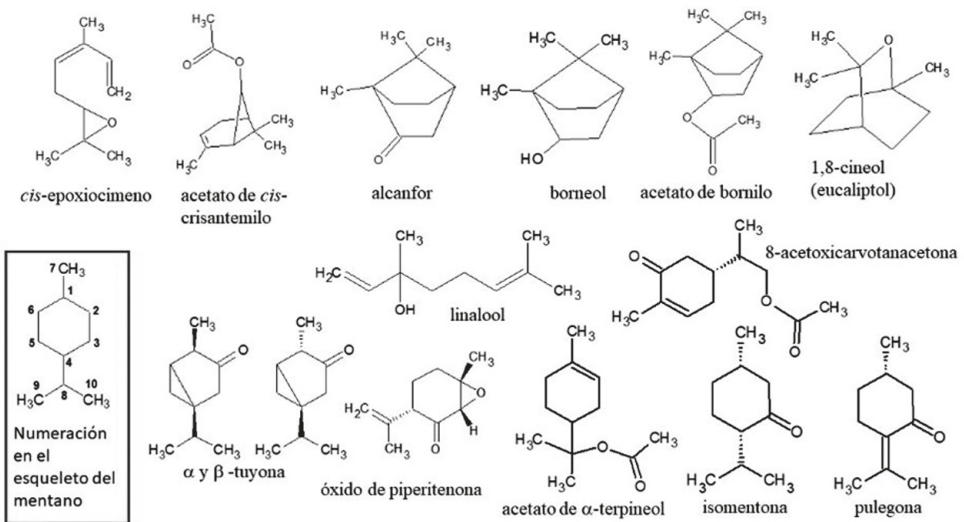
Palabras clave: Composición química, aceites esenciales, *Artemisia*, *Mentha*, *Thymus*.

ABSTRACT: This paper describes the chemical composition of essential oils obtained from different species of the genera *Artemisia*, *Thymus* and *Mentha* that grow wild in the surroundings of Calamocha (Teruel). The data come from different researches conducted by the authors in recent years and show the high intrapopulation variability of these species.

Keywords: Chemical composition, essential oils, *Artemisia*, *Mentha*, *Thymus*.

* Centro de Estudios del Jiloca-Instituto Agroforestal Mediterráneo, Universitat Politècnica de València

** Centro de Ecología Química Agrícola-Instituto Agroforestal Mediterráneo. Universitat Politècnica de València



Ilustr. 1: Estructuras moleculares de los compuestos mayoritarios en las especies citadas

Introducción

Este trabajo pretende contribuir al estudio de la quimiodiversidad de los aceites esenciales procedentes de plantas aromáticas representativas de la comarca del Jiloca y más concretamente, del entorno del término municipal de Calamocha. En este sentido, el conocimiento de la biodiversidad en la flora de una comarca, como elemento de su patrimonio natural, no solo es importante desde el punto de vista cultural y educativo, sino que es potencialmente útil en la medida en que el cultivo de las plantas aromáticas y medicinales puede llegar a ser una alternativa digna de consideración desde el punto de vista agrícola. Ello es de particular interés en zonas donde los factores edafoclimáticos son determinantes y muchas veces restrictivos de cara a otros cultivos. En este sentido, cabe citar un estudio de gran interés desarrollado por el Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón (CITA) en la década de los 90 sobre diferentes plantas como el tomillo español, el francés, romero, salvia, amaro (*Salvia sclarea* L.), lavandín, hisopo y ajedrea, siendo Calamocha una de las zonas de experimentación (Burillo, 2003).

Los resultados presentados constituyen una selección de los expuestos en diferentes trabajos publicados durante los últimos diez años en diferentes revistas internacionales, referidos todos a poblaciones de especies pertenecientes a los géneros *Mentha*, *Artemisia* y *Thymus*, localizadas en el entorno de Calamocha. Aunque a lo largo del trabajo se citan algunas referencias representativas de artículos de revisión sobre su actividad biológica, el objetivo fundamental es describir la composición química en relación a los datos proporcionados en otras investigaciones.

Desde el punto de vista químico, los aceites esenciales suelen presentar una notable complejidad. De hecho, en algunos de los más sencillos como los obtenidos de las cortezas de cítricos, es posible llegar a identificar 30 o 40 compuestos diferentes. Los aceites esenciales están constituidos por la fracción volátil y semivolátil de los productos del metabolismo secundario de numerosas especies vegetales. Aunque estos compuestos pueden aislarse mediante numerosos métodos de extracción, dando lugar a composiciones en mayor o menor medida similares, el concepto de aceite esencial se halla vinculado al uso concreto de determinados métodos de extracción, tal como se define a partir de la norma ISO 9235:2013(en), término 2.11, que define el aceite esencial como:

“Producto obtenido a partir de una materia prima natural de origen vegetal, por destilación al vapor, por procesos mecánicos a partir del epicarpio de los cítricos, o por destilación en seco, después de la separación de la fase acuosa, en su caso, por procesos físicos”.

En cuanto a su naturaleza química, los aceites esenciales contienen principalmente terpenos, moléculas formadas por unidades de isopreno (2-metilbuta-1,3-dieno) y sobre todo por monoterpenos, sesquiterpenos y diterpenos, constituidos por dos, tres o cuatro unidades de isopreno, respectivamente, así como por sus derivados oxigenados, denominándose en general “terpenoides”. También forman parte de los aceites esenciales otros tipos de compuestos como los fenilpropanoides, y alcoholes, aldehídos y cetonas alifáticos, etc. Cabe señalar

que los aromas característicos de los aceites esenciales proceden principalmente de los monoterpenos oxigenados, cuyos grupos funcionales más representativos, además de los aldehídos y cetonas, son también los ésteres y los epóxidos.

Independientemente de sus usos tradicionales en el ámbito de la cosmética o la aromaterapia, existe un creciente interés por las aplicaciones prácticas de sus diversas formas de actividad biológica, como resulta evidente a través del volumen de literatura científica generado en los últimos años (Bakkali et al., 2008; Shari-fi-Rad, 2017). En efecto, cabe citar sus aplicaciones en la conservación de alimentos y en el tratamiento post-cosecha de productos agrícolas, como consecuencia de su actividad antioxidante (Amorati et al., 2013), antifúngica (Nazzaro et al., 2017) o antimicrobiana (Chouhan et al., 2017). De este modo, determinados aditivos alimentarios de origen sintético, en ocasiones potencialmente nocivos, pueden ser sustituidos por aceites esenciales. Algunos ejemplos significativos son el aceite de orégano (*Origanum vulgare* L.) como aditivo antioxidante, en sustitución del BHA (E-320) (butilhidroxianisol) y BHT (E-321) (butilhidroxitolueno), o el aceite de alcaravea (*Carum carvi* L.), utilizado comercialmente en formulaciones para prevenir la germinación de las patatas durante su almacenamiento (Sanlı, A., & Karadosan, T., 2019). Asimismo, desde el punto de vista agronómico cabe citar también su aplicación como plaguicidas alternativos (Tworkoski, T. et al., 2002; Mossa et al., 2016). Junto a este tipo de actividad, el carácter alelopático y fitotóxico de determinados aceites esenciales ha permitido también su aplicación en tratamientos de fitotoxicidad selectiva en malas hierbas, bien por su acción directa sobre las plántulas, bien por su capacidad para inhibir la germinación (Azirak, S., & Karaman, S., 2008) constituyendo una alternativa a productos como el glifosato, de contrastado impacto ambiental (Van Bruggen et al., 2018). Asimismo, cabe citar como ejemplo de su aplicabilidad en otros ámbitos, el efecto inhibidor de la corrosión en objetos metálicos del aceite esencial de *Artemisia herba-alba* Asso., popularmente conocida como ontina, tan abundante en los terrenos baldíos del entorno de Calamocha (Hossain et al., 2020).

La actividad biológica depende de la composición química, que está sujeta a numerosos factores de variabilidad. En primer lugar, cabe mencionar la presencia de quimiotipos o “razas químicas”, de naturaleza genética, a veces vinculados a procedencias geográficas específicas, pero también simultáneamente presentes en una misma población. Estos quimiotipos vienen definidos por el conjunto de compuestos mayoritarios, caracterizados en un estado fenológico específico de la planta, habitualmente la plena floración. Así, aceites esenciales procedentes de una misma especie pueden mostrar perfiles químicos notablemente distintos. Es muy característico el caso del romero (*Rosmarinus officinalis* L.) en el que podemos distinguir los quimiotipos 1,8-cineol, alcanfor o verbenona, ligados en este caso a la procedencia geográfica. Por ello, desde el punto de vista comercial reviste tanta importancia que los aceites esenciales estén convenientemente “quimiotipados”, indicando claramente la proporción de sus compuestos mayoritarios.

En segundo lugar, cabe citar los factores abióticos, relacionados con las condiciones edafoclimáticas: temperatura, precipitación, luz, naturaleza del suelo, pH, salinidad, etc., variables que afectan a la fisiología de la planta y cuya influencia

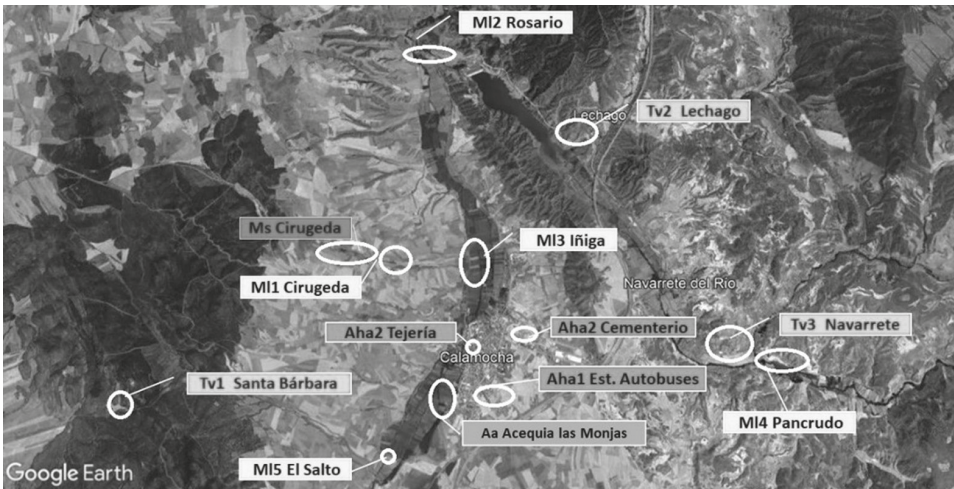
suele ser más cuantitativa que cualitativa. En tercer lugar, factores ontogenéticos, relacionados con la propia evolución de la planta y sus estados fenológicos. Puede haber, por ejemplo, cambios muy notorios entre la fase de crecimiento vegetativo y el periodo de floración, parte de la planta considerado: flores, hojas, tallos, semillas, etc., y, por último, el método de extracción utilizado.

Centrándonos en el primero de los factores citados, la variabilidad intrapoblacional puede considerarse un importante obstáculo cuando se pretende obtener muestras representativas de una población. No obstante, también constituye una oportunidad para la selección de aquellos genotipos cuyos aceites esenciales presenten una composición química relacionada con actividades biológicas especialmente adecuadas en un determinado sector productivo (Schippmann et al., 2002; Gupta et al., 2017). Para ello es necesario orientar la investigación sobre poblaciones silvestres mediante el análisis de plantas individuales (Nemeth, 2016), susceptibles de propagación para la creación de explotaciones agrícolas. En efecto, con las técnicas de propagación actuales (micropropagación) (Mathe et al., 2015), la posibilidad de clonar individuos particularmente interesantes en cuanto a su composición química abre interesantes oportunidades desde el punto de vista agronómico. De hecho, los individuos denominados atípicos (Judgentiene, 2016) son, por este motivo, objeto de creciente atención. Por otra parte, la caracterización y propagación de individuos con perfiles específicos en la composición de su aceite esencial puede contribuir a la conservación de la biodiversidad y a la sostenibilidad de las poblaciones silvestres de plantas aromáticas (Lange et al., 2004; Canter et al., 2005; Schippmann et al., 2006; Lubbe et al., 2011). En este sentido, la mayor parte de las diferentes investigaciones a las que hace referencia este trabajo están centradas en el análisis de plantas individuales.

Material y métodos

Material vegetal

Las zonas de muestreo para cada una de las especies estudiadas se muestran en la figura 2 y su localización geográfica en la tabla 1. En los estudios basados en muestras individuales, se consideró la totalidad de las partes aéreas de la planta. Las muestras representativas de una población han sido obtenidas mediante la homogeneización del material procedente de 30-50 individuos separados entre sí al menos 10 m. En ambos casos, las muestras, una vez desecadas al aire hasta peso constante en las condiciones habituales del laboratorio, fueron analizadas de inmediato o almacenadas a -40 °C hasta la extracción del aceite esencial y su análisis cromatográfico. Es importante precisar que en los datos correspondientes a muestras individuales no se incluye el contenido en aceite esencial, dado que por la naturaleza de las muestras procesadas los resultados serían escasamente representativos.



Ilustr. 2: Zonas de muestreo en las diferentes investigaciones referidas, con la denominación utilizada en las mismas

Tabla 1. Localización de las zonas de muestreo

Zona de muestreo	Coordenadas (Centro de la zona indicada en el mapa)	Altitud
<i>Thymusvulgaris</i> L. Tv1 Ermita de Santa Bárbara	40° 54' 33" N1° 22' 16" O	1097 m
Tv2 Lechago	40° 55' 26" N1° 23' 1" O	1166 m
Tv3 Navarrete	40° 55' 13" N1° 14' 34" O	948 m
<i>Menthalongifolia</i> L. ML1 Fuente de la Cirugeda	40° 55' 59" N1° 19' 25" O	895 m
ML2 Ermita Virgen del Rosario	40° 58' 15" N1° 18' 45" O	868 m
ML3 Iñiga – El Tormo	40° 55' 55" N1° 18' 08" O	874 m
ML4 Río Pancrudo	40° 55' 59" N1° 14' 35" O	922 m
ML5 El Salto	40° 54' 06" N1° 19' 00" O	896 m
<i>Mentha suaveolens</i> Ehrh. Rambla Cirugeda	40° 56' 02" N1° 19' 29" O	917 m
<i>Artemisia absinthium</i> L. Acequia de las Monjas	40° 54' 30" N1° 18' 22" O	891 m
<i>Artemisia herba-alba</i> Asso. Aha1 Estación de autobuses	40° 54' 51" N1° 17' 50" O	895 m
Aha2 Carretera Navarrete - Cementerio	40° 55' 15" N1° 17' 32" O	900 m
Aha3 Tejería - Camino antigua estación FF.CC.	40° 55' 08" N1° 18' 26" O	892 m

Extracción de los aceites esenciales

Los resultados descritos proceden de investigaciones cuya metodología básica ha sido, bien la hidrodestilación con equipo Clevenger en los estudios basados en

muestras representativas de poblaciones, bien mediante extracción-destilación simultánea (Godefroot et al. 1981), con muestras menores, principalmente en los estudios basados en el análisis de muestras individuales. La diferencia fundamental entre ambos métodos es que con el primero se aísla el aceite esencial puro, mientras que con el segundo se obtiene un extracto concentrado en el disolvente apropiado (diclorometano, en los trabajos descritos).

Análisis cromatográfico

En cuanto al proceso analítico, se ha utilizado la cromatografía de gases con detector de espectroscopía de masas para la identificación (GC/MS) y de ionización de llama (GC/FID) para la cuantificación. El equipo empleado para la identificación consta de un cromatógrafo de gases acoplado a un detector de masas Clarus 500 GC-MS (Perkin-Elmer Inc. Wellesley, EEUU) equipado con una columna capilar ZB-5 (5% fenil – 95% dimetilpolisiloxano) (30 m x 0.25 mm i.d. x 0.25 μ m; Phenomenex Inc., Torrance, EEUU). La fase móvil es el gas Helio con un caudal de 1,2 mL/min. La temperatura del inyector es de 250°C, mientras que la temperatura del horno se programó desde 50°C a 250°C a razón de 3°C/min. La detección se realizó en modo de ionización de impacto electrónico (70 eV), siendo la temperatura de la fuente de ionización 200°C. Los espectros se obtuvieron mediante el modo de escaneo total de iones (rango de masas m/z 45-500 uma). Los cromatogramas y espectros se procesaron con el software Turbomass 5.4 (Perkin-Elmer Inc.). Los datos obtenidos son registrados y comparados con los de la base de datos NIST MS Search 2.0 (ThermoElectron Corp., Waltham, EEUU), de forma que las sustancias correspondientes a cada pico del cromatograma son identificadas según las coincidencias de alta probabilidad con los espectros de masas dados por la base de datos NIST 2.0. Al mismo tiempo, una vez determinados los tiempos de retención para los patrones de la serie homóloga de los *n*-alcanos (FlukaTM), se determinaron los índices de retención de Kovats y de Van den Door (Erdey et al., 1970) para confirmar la identificación realizada a partir de los espectros de masas mediante la comparación con los índices de retención tabulados en la bibliografía (Adams, 2007).

La cuantificación de las muestras se ha realizado mediante un cromatógrafo de gases Clarus 500 GC de Perkin-Elmer Inc. (Wellesley, MA, EEUU), equipado con una columna capilar ZB-5 de las mismas características mencionadas anteriormente. En este caso, el gas portador también es Helio, utilizando un flujo de 1,2 mL/min. La temperatura del inyector es de 250°C y la del detector de 250°C. La temperatura del horno se programa igualmente desde 50°C a 250°C a razón de 3°C/min. Los cromatogramas obtenidos se procesan con el software TotalChrom 6.2 (Perkin Elmer Inc.) Para llevar a cabo cada análisis se inyectaron 1-2 μ L de muestra.

Todos los estudios estadísticos realizados en los trabajos en que se basa este estudio han sido realizados con la aplicación Statgraphics Centurion XVIIITM, aplicando en los análisis de varianza el test de Tukey ($P < 0.05$).

Algunos resultados relevantes acerca de las especies citadas

Thymus vulgaris L.

Los datos expuestos a continuación proceden de un estudio realizado durante el año 2015 (Llorens-Molina et al., 2017) en el que se estudió la influencia de la sequía estival en la composición de *Thymus vulgaris* correspondiente al quimiotipo rico en 1,8-cineol, característico de la Península Ibérica (Guillén y Manzanos, 1998, Torras et al., 2007; Santana et al., 2012), en diversas localidades de Aragón y la Comunidad Valenciana. La tabla 2 muestra un resumen de los resultados correspondientes a los compuestos mayoritarios (compuestos que muestran > 5 % en alguna de las muestras) y a los grupos de compuestos en muestreos consistentes en 5 plantas individuales, realizados previa y posteriormente al periodo de sequía estival.

Los resultados obtenidos en el entorno de Calamocha se refieren a las zonas indicadas en la tabla 1. De acuerdo con la cartografía geológica, (Instituto Geográfico y Minero de España), dichas zonas muestran importantes diferencias en cuanto a la naturaleza de los suelos: conglomerados cuarcíticos (Tv1), limonitas y arcillas rojas (Tv2), limonitas y yesos en Tv3.



Thymus vulgaris, cerca de Navarrete del Río

Ilustr. 3: *T. vulgaris* en los alrededores de Navarrete del Río

Como puede observarse en la tabla, el compuesto mayoritario es el 1,8-cineol, como corresponde al quimiotipo referido en la bibliografía y que también es el principal componente en el cultivo experimentado en el proyecto del CITA ya mencionado (Burillo, 2003). No obstante, considerando la elevada variabilidad entre individuos, se aprecian diferencias notorias con respecto al estudio citado, principalmente la menor proporción de linalool y la elevada proporción de compuestos correspondientes al esqueleto molecular del canfano: alcanfor, borneol y acetato de bornilo (Ver figura 1), sobre todo en la población Tv1 (Cerro de Santa Bárbara).

Cabe citar también el aumento significativo de 1,8-cineol con las condiciones de *stress* hídrico durante la sequía estival (Llorens-Molina et al., 2017), que da también

Tabla 2. Composición del aceite esencial de *T. vulgaris* L. en tres poblaciones del entorno de Calamocha: cerro de Sta. Bárbara, Lechago y Navarrete (valores medios $\pm$ desviación estándar de cinco plantas individuales)

Compuestos ¹	Navarrete		Lechago		Santa Bárbara	
	Mayo	Agosto	Mayo	Agosto	Mayo	Agosto
Mirceno	4.7 $\pm$ 2.7	5.0 $\pm$ 1.6	5.6 $\pm$ 3.6	4.3 $\pm$ 1.1	2.7 $\pm$ 3.4	2.0 $\pm$ 1.8
1,8-Cineol	26.8 $\pm$ 8.6	50.5 $\pm$ 11.9**	21.8 $\pm$ 9.1	55.1 $\pm$ 8.7**	24.5 $\pm$ 11.0	42.6 $\pm$ 13.6*
Linalool	2.1 $\pm$ 1.9	1.2 $\pm$ 0.5	6.7 $\pm$ 7.5	3.7 $\pm$ 2.5	0.9 $\pm$ 1.2	1.2 $\pm$ 1.5
Alcanfor	3.2 $\pm$ 5.0	6.2 $\pm$ 3.1	6.8 $\pm$ 1.3	4.9 $\pm$ 1.2*	8.8 $\pm$ 4.2	13.1 $\pm$ 6.8
Borneol	4.1 $\pm$ 1.7	2.3 $\pm$ 1.6	4.5 $\pm$ 3.0	2.5 $\pm$ 1.2	9.9 $\pm$ 5.8	7.5 $\pm$ 4.4
β -cariofileno	4.1 $\pm$ 0.6	2.7 $\pm$ 2.3	4.1 $\pm$ 2.1	1.5 $\pm$ 1.1	5.2 $\pm$ 3.1	0.2 $\pm$ 0.2
Biciclogermacreno	7.6 $\pm$ 5.7	1.4 $\pm$ 0.8	8.6 $\pm$ 5.1	1.4 $\pm$ 1.3	5.4 $\pm$ 4.1	0.4 $\pm$ 0.6
No identificado ²	15.9 $\pm$ 8.4	4.2 $\pm$ 2.6	15.0 $\pm$ 9.2	1.6 $\pm$ 1.8	7.1 $\pm$ 3.2	0.4 $\pm$ 0.5
Monoterpenos	15.9 $\pm$ 4.1	19.6 $\pm$ 3.7	16.4 $\pm$ 4.5	14.8 $\pm$ 2.1	16.6 $\pm$ 7.6	20.0 $\pm$ 7.1
Monoterpenos oxigenados	39.3 $\pm$ 10.3	64.1 $\pm$ 12.6**	49.5 $\pm$ 12.8	73.5 $\pm$ 9.5**	52.1 $\pm$ 13.8	68.3 $\pm$ 16.0*
Sesquiterpenos	12.5 $\pm$ 5.7	4.80 $\pm$ 2.43*	14.1 $\pm$ 5.8	3.5 $\pm$ 1.7*	11.2 $\pm$ 5.2	1.8 $\pm$ 1.1**
Sesquiterpenos oxigenados	25.9 $\pm$ 9.9	11.2 $\pm$ 6.3*	18.6 $\pm$ 9.3	3.3 $\pm$ 2.1**	19.4 $\pm$ 8.0	2.7 $\pm$ 2.0**
Total identificado	76.8	95.5	83.6	93.4	92.3	91.4

Los pares de valores indicados con asterisco muestran diferencias estadísticamente significativas (Tukey test) entre los dos periodos de muestreo (mayo-agosto) *(P<0.05), ** (P<0.01).

1. Compuestos en orden de elución en una columna ZB-5.
2. Compuesto identificado tentativamente como: 4,4,11,11-tetrametil tetraciclo [6.2.1.0(3.8)0(3.9)] undecanol, (Espectro de masas: 8. MS, 70 eV, 200°C, m/z(rel.int.): 77 (45), 91 (74), 93 (56), 105 (72), 131 (53), 145 (60), 159 (100), 187 (29), 202 (24), 220 (3)).

lugar a un aumento significativo de la fracción monoterpénica oxigenada, asociado a una disminución de la fracción sesquiterpénica, tanto hidrocarbonada como oxigenada. Por último, es notoria la presencia de un compuesto identificado tentativamente (se proporciona la descripción de su espectro de masas) cuya pauta de variación estacional se repite en las tres poblaciones, experimentando un claro descenso tras la sequía estival, aunque con una variabilidad interindividual muy acusada.

Género *Artemisia*

a) *Artemisia absinthium* L.

En los terrenos baldíos y secos del entorno del casco urbano de Calamocha, generalmente de carácter nitrófilo, son particularmente abundantes dos especies del género *Artemisia*: ajenjo (*Artemisia absinthium* L.) y ontina (*Artemisia herba-alba* Asso.). En un anterior trabajo, en esta misma revista, ya se describió detalladamente la composición de *A. absinthium* (Llorens-Molina et al., 2008). Lo más destacable es la práctica ausencia del compuesto neurotóxico β -tuyona y la caracterización de dos quimiotipos coexistentes en la misma población: *cis*-epoxiocimeno y acetato de crisantemilo (Ver figura 1), siendo también relevante la presencia de linalool. En ambos quimiotipos se observó un significativo descenso en la proporción del *cis*-epoxiocimeno y un aumento del linalool, así como del acetato de crisantemilo en el segundo de los quimiotipos.

En un trabajo posterior sobre esta misma población (Llorens y Vacas, 2015), se estudió la variación estacional de ambos quimiotipos, para las partes aéreas, con resultados similares a los anteriormente citados, y para las raíces. La presencia de compuestos volátiles en las raíces fue descrita por primera vez en este trabajo, resultando muy llamativa la presencia mayoritaria α -fencheno, mirceno y ésteres monoterpénicos como los acetatos de bornilo, terpinilo o geranilo, sustancias características de muchos aceites esenciales. Este hecho podría estar relacionado con su acción alelopática, dificultando la germinación o desarrollo de otras especies competidoras, lo que a su vez explicaría su carácter de especie invasora.

La composición descrita para el ajenjo recolectado en Calamocha difiere sensiblemente del procedente de otras zonas geográficas. Ariño (1999) se refiere a muestras ricas en tuyonas en el centro y norte de la península Ibérica, así como las citadas por Zanousi et al., (2012) en Irán. Del mismo modo, podemos encontrar en la literatura otros perfiles químicos distintos: sabineno y acetato de sabinilo (Erel et al., 2012) en Turquía, Serbia (Blagojevic et al, 2006) y Lituania (Judzientiene et al., 2012); β -pineno y β -tuyona (Rezaeinodehi y Khangoli, 2008) en Irán, o quimiotipos ricos de camazuleno y dihidrocamazuleno en Tajikistán (Sharopov et al., 2012)

Artemisia absinthium ha sido utilizada desde la antigüedad frente a los parásitos intestinales, en el tratamiento de la malaria y como antídoto para el opio y otros venenos depresores del sistema nervioso central (Ariño, 1999). También ha mostrado actividad antibacteriana frente a patógenos humanos comunes como *Escherichiacoli*, *Salmonella enteriditis*, *Pseudomonas aeuriginosa*, *Klebsiellapneumoniae* y *Staphylococcus aureus* (Ariño, 1999), así como propiedades acaricidas (Abad et al., 2012) y antifúngicas (Bailén et al., 2013). Además de por sus virtudes medicinales, el ajenjo ha

sido también muy utilizado como aromatizante alimentario desde la antigüedad, y se ha utilizado igualmente como sustituto del lúpulo en la fabricación de cerveza así como de la menta en ciertas infusiones (Ariño, 1999).



Ilustr. 4: Poblaciones de *A. absinthium* y *A. herba-alba* en los alrededores del núcleo urbano de Calamocha

b) *Artemisia herba-alba* Asso.

La *Artemisia herba-alba* Asso., conocida popularmente como ontina, está ampliamente extendida en los terrenos baldíos cercanos al casco urbano de Calamocha, sobre todo en los ubicados junto a la antigua carretera N-234, así como en los alrededores de la ya desaparecida tejería, camino de la antigua estación Calamocha Vega. Se describen a continuación los resultados de un estudio (compuestos mayoritarios), basado también en el análisis de plantas individuales (Torres, 2017).

Tabla 3. Composición química de las partes aéreas de *Artemisia herba-alba* Asso (% normalización de las áreas de los picos en el cromatograma GC-FID) (valor medio $\pm$ error estándar)

Muestra											
Compuesto	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Promedio $\pm$ ES
Camfeno	5.1	4.1	6.9	2.5	8.9	5.8	5.7	7.3	5.5	4.1	5.6 ± 1.8
1,8-Cineol	4.2	4.9	6.4	6.1	13.0	17.5	11.9	6.9	10.2	7.0	8.8 ± 1.3
α + β - tuyona	54.0	44.5	23.1	50.7	1.4	1.9	1.6	18.9	30.9	32.0	25.9 ± 6.4
Alcanfor	23.1	33.9	45.4	29.5	63.1	60.3	67.7	50.3	34.2	34.5	44.2 ± 4.9
Borneol	3.8	1.7	4.75	2.42	1.6	1.5	1.5	3.0	3.6	6.2	3.0 ± 0.5

Independientemente de la variabilidad intrapoblacional, los dos compuestos mayoritarios son la tuyona (isómeros α y β) y el alcanfor, y en menor medida 1,8-cineol, camfeno y borneol. Si realizamos una comparación con los compo-

resultados son similares, como los descritos por Sana Bellil et al., (2016) en Túnez donde predomina la α y β -tuyona (45.5 y 11.4%, respectivamente) y el alcanfor (6.4%), siendo el borneol el compuesto minoritario (3.4%). En muestras procedentes de Argelia predomina la β -tuyona (15 %) y el alcanfor (19.4%), (Dob y Benabdelkader, 2006). En Jordania, los componentes principales reportados por Hudaib y Arbujai (2006) fueron la α y β -tuyona (16.2 y 8.5% respectivamente), en el sudeste de Marruecos predomina la α -tuyona (59,07%) (Sbayou et al., 2014). En Aranjuez (España) predomina el alcanfor (15%) y el borneol vuelve a ser el compuesto minoritario (4.8%) (Feuerstein et al., 1988). Es relevante, por tanto, observar la relativa homogeneidad de la composición de este aceite esencial en el entorno mediterráneo. Cabe citar también la composición de una muestra de *Artemisia herba-alba* Asso spp. *valentina* recolectada en Jaén durante el periodo de floración, cuyos componentes principales fueron *p*-cimeno, 1,8-cineol, crisantenona, acetato de (Z)-crisantenilo, γ -terpineno, mirceno y alcanfor. Otros compuestos mayoritarios como 1,8-cineol o eucaliptol y davanona fueron hallados por primera vez en *A. herba-alba* recolectada en España, habiendo sido previamente encontrados en poblaciones procedentes de otras zonas geográficas del Mediterráneo (Salido et al., 2004). La actividad biológica de este aceite esencial es notoria. Cabe citar, por ejemplo, la acción antioxidante (Djeridane et al., 2006) y la antibacteriana y antifúngica (Charchari et al., 1996).

Género *Mentha*

a) *Mentha longifolia*

La *M. longifolia*, llamada comúnmente menta silvestre o mentastro es una planta perenne, herbácea, con tallos erguidos de 25 – 120 cm de sección cuadrangular y una pilosidad grisácea o blanquecina. Es habitual en los márgenes de las acequias y en general junto a cursos de agua, propagándose fácilmente a través de estolones que rebrotan cada primavera tras desaparecer las partes aéreas al comienzo de cada invierno.

Si nos centramos exclusivamente en la composición del aceite esencial, constituido por la fracción volátil y semivolátil extraíble mediante destilación por arrastre de vapor, podemos observar que presenta una notable variabilidad. Ésta no se refiere solamente a la distinta procedencia geográfica, (Lawrence, 2006; Sharopov et al., 2012; Abedi et al., 2015) sino, tal como se ha demostrado en nuestros trabajos, a una notoria variabilidad intrapoblacional. Este hecho aporta importantes dificultades a la hora de caracterizar químicamente las poblaciones, así como al estudiar las variaciones estacionales o la influencia de factores ecológicos, dada la dificultad de establecer diferencias estadísticamente significativas; sin embargo, tal como ya se expuso en la introducción, es una oportunidad para identificar genotipos potencialmente útiles para el desarrollo de explotaciones agrarias.

A modo de síntesis, desde una visión global de la literatura, pueden distinguirse varios perfiles químicos fundamentales según el esqueleto molecular de sus compuestos mayoritarios (Llorens-Molina et al., 2019):

Las estructuras basadas en el esqueleto del mentano oxigenado en C2 (Ver figura 1), que contienen carvona y dihidrocarvona (isómeros *cis* y *trans*).

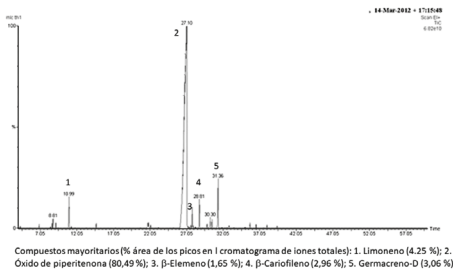
Perfiles basados en el esqueleto del mentano oxigenados en C3, donde podemos distinguir a su vez dos perfiles típicos relacionados con pasos metabólicos alternativos que implican el doble enlace entre C4 y C8:

b.1. Piperitona, piperitenona y sus epóxidos, como compuestos más representativos

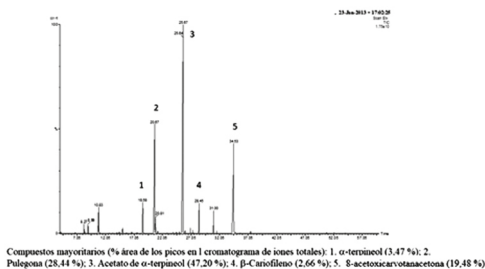
b.2. Pulegona, mentona e isomentona y mentol con sus diferentes isómeros y ésteres de los mismos.

c) Esqueleto de mentano oxigenado en C4, siendo los compuestos más característicos el α -terpineol y su éster acético (acetato de α -terpineol) y el terpinen-4-ol, que es la composición mayoritaria en ciertas muestras procedentes de Turquía (Baser et al. (1999).

Junto a estos compuestos cabe destacar la elevada proporción de 1,8-cineol o eucaliptol en muchos de estos quimiotipos, (Koliopoulos et al., 2010; Moradalizadeh et al., 2014) llegando a ser incluso el compuesto mayoritario (Fleisher and Fleisher, 1998). También han sido descritas diversas composiciones donde predominan estructuras tales como: *trans*-hidrato de sabineno, borneol o linalool (Llorens-Molina et al., 2019). Esta acusada variabilidad también se manifiesta entre las muestras analizadas en el entorno de Calamocha. Un ejemplo muy llamativo de esta diversidad lo podemos apreciar comparando los perfiles obtenidos mediante espectroscopía de masas a partir de 2 muestras individuales obtenidas en la Fuente de la Cirugeda:



Ilustr. 5: Cromatograma GC/MS de una muestra procedente del entorno de la Fuente de la Cirugeda, rica en óxido de piperitenona



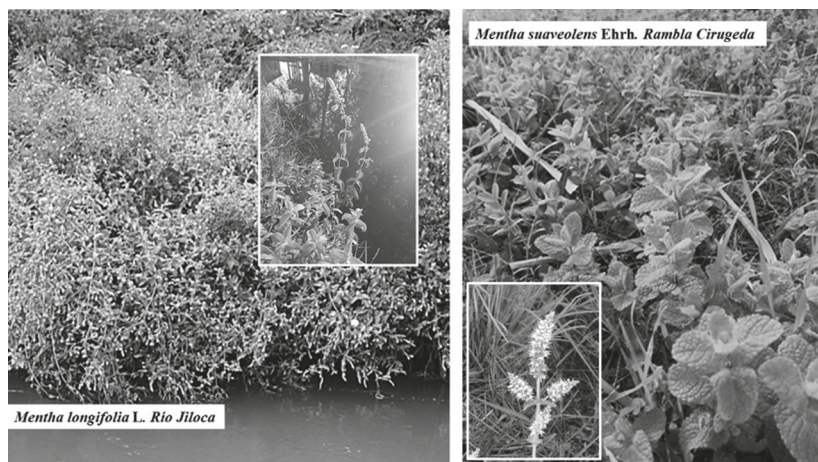
Ilustr. 6: Cromatograma GC/MS de una muestra procedente del entorno de la Fuente de la Cirugeda, rica en acetato de α -terpineol y 8-acetoxycarvotanacetona.

La siguiente tabla muestra las proporciones de los compuestos mayoritarios y de los grupos de compuestos en determinados enclaves cercanos a Calamocha (López-Castaño, 2012; Bonet-Sanfeliu, 2013):

Tabla 4. Composición química del aceite esencial de distintos individuos de *Mentha longifolia* recogidos en enclaves cercanos a Calamocha

Componentes*	Muestras Cirugeda					Muestras El Salto					Muestras Pancrudo					Muestras Iñiga					Muestras V. del Rosario				
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
Sabineno	3	1,7	2,2	1,7	1,7	0,4	0,3	1,8	2,2	0,3	0,7	1,1	0,7	1,4	1,1	2,5	1	2	0,4	1,53	6	0,4	0,5	0,4	0,4
β-Mirceno	2	1,1	0,3	1,3	1,2	0,6	0,6	0,9	1,3	0,5	0,7	0,7	0,5	0,8	0,6	1,2	0,7	1,2	0,7	1	1,1	0,7	0,7	0,7	0,7
Limoneno	0,7	0,4	nd	1,2	0,4	1,7	1,8	0,5	0,9	1,4	1	0,2	0,1	0,2	0,1	0,8	0,2	0,5	2,7	0,30	5	2,1	1,4	2,1	2
Monoterpenos hidrogenados	6,7	8,6	2,9	5,1	4	4	3,8	4,1	5,6	3,5	4	2,9	1,4	3,1	2,6	5,9	2,3	4,1	5	3,118	5,7	5,6	5,6	5,6	5
1,8-Cineol	5,3	2,3	6,1	3,4	3,9	0,3	0,5	2,7	2,3	0,2	1,5	nd	nd	nd	2,5	nd	4,2	nd	2	1,1	0,71	1,7	2,2	3,3	1,5
Cis-Hidrato de sabineno	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	51	nd	nd	nd	nd
Terpinen-4-ol	nd	nd	nd	0,1	nd	0,8	0,9	nd	nd	0,9	nd	0	nd	nd	nd	0,2	nd	nd	1,2	nd	16	0	0,1	nd	nd
α-Terpineol	3,2	2,7	2,2	4,7	3	0,3	0,5	1	2,3	0,2	nd	1,4	nd	1,5	1,4	2,2	1,2	1,5	0,4	3,71	5	0,4	0,6	0,4	0,5
Isomentona	nd	nd	nd	0,2	0,1	23	18	0,3	1,5	40	10	nd	nd	nd	nd	3,3	0,1	0,1	0,9	nd	0	nd	nd	0,6	nd
Pulegona	1,8	0,3	0	23	0,9	54	64	0,8	6,1	50	51	0,7	0,1	0,3	0,2	17	1,5	4,5	85	3,50	2	0,1	0,1	1,5	0,2
Carvona	0,3	0,9	nd	0,5	0,7	0,9	0,1	2,1	5,7	0,2	0,1	1,8	2,1	0,9	1,4	1,6	1,3	1,7	0,1	1,4	nd	nd	nd	nd	nd
Óxido de piperitona	0,2	0,2	nd	0	0,2	nd	nd	nd	nd	nd	0,2	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0,50	1	33	14	32	34
Acetato de α-terpineol	53	41	69	44	49	4,4	5,6	33	50	0,5	11	37	31	35	35	30	33	28	3	33	0,2	50	67	51	52
8-acetoxycarvotana	19	35	7,2	13	29	7,5	2,5	50	15	nd	11	47	55	48	50	28	53	50	0,2	47	nd	nd	nd	nd	nd
acetona																									
Monoterpenos oxigenados	84	83	85	89	88	93	92	91	86	93	87	89	89	89	90	88	91	89	92	93	76	85	86	88	89
β-Cariofileno	4,2	3,2	5,3	3,5	3,4	0,1	0,1	0,6	1,2	0	2,4	3,7	3,4	3,3	3,7	1,5	3,1	2,5	0,6	0,71	8	4,5	4,7	2,6	2,5
Germacreno-D	2,1	1,8	2,4	0,2	1,5	1,5	2,1	1,7	2,1	1,2	2	1,4	1,4	1,4	1,6	1,5	1,4	2	1,6	1	1,4	3,5	2,8	1,6	1,5
Sesquiterpenos hidrogenados	7,8	6	9,3	4,7	6,2	2,5	3,6	3,1	4,6	2,2	5,1	6,4	5,9	6	6,4	3,9	5,5	5,6	2,3	3,43	1	8,3	8,1	4,5	4,1
Totales sesquiterpenos oxigenados	0,1	0,1	0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,6	0	0	0,1	0	0,4	0	0,1	0,1	0,1	0	0,10	0	0,1	0	0,1	0,1
Otros	0,7	2	0,2	0,5	0,8	0,4	0,4	1,6	1,7	0,4	0,8	1,2	1	1,2	0,9	1,6	0,5	0,8	0,2	0,72	6	0,3	0,1	0,1	0,3

* Componentes mayoritarios y valores totales para cada grupo de compuestos clasificados según su naturaleza química.
 ** nd: no detectado



Ilustr. 7: *M. longifolia* y *M. suaveolens* en el río Jiloca y en la rambla Cirugeda

La elevada variabilidad intrapoblacional observada llevó al planteamiento de una nueva investigación centrada en una de las poblaciones (Virgen del Rosario), en la que se obtuvieron fragmentos de los estolones que fueron cultivados en invernadero, determinándose su perfil por cromatografía en capa fina (Llorens-Molina et al., 2017). Después de agrupar los perfiles similares se transplantaron a una parcela cultivada en el Campus de la Universitat Politècnica de València y fueron objeto de diferentes estudios, algunos actualmente en curso, sobre la variación estacional y la variación diurna de los compuestos volátiles emitidos por las inflorescencias. Estos son los quimiotipos identificados en dicha población (Composición referida al estado fenológica de plena floración): A. Óxido de piperitona (22.6 – 63.3 %) y óxido de piperitenona (7.1-55.7 %)

B. Óxido de piperitona (42.0 – 61.0 %) y óxido de piperitenona (2.8-18.3 %) + pulegona (10.1-23.8 %)

C. Acetato de α -terpineol (42.1-48.8 %) y acetoxicarvotanacetona (6-20.1 %)

D. Cis-dihidrocarvona (68.3-73.7%)

E. Pulegona (49.4-77.2 %), isomentona (trazas-27.8 %)

Entre los resultados de este trabajo cabe destacar sobre todo la importancia del quimiotipo A, en el que existen individuos con un % muy elevado de óxido de piperitenona, compuesto de notable interés tanto por su amplio abanico de actividades biológicas como por su utilidad como punto de partida de diferentes síntesis químicas (Bozovic et al., 2015).

En cuanto a sus usos tradicionales, la *Mentha longifolia* destaca por sus usos medicinales, ya que esta especie posee propiedades antisépticas, antiasmáticas, carminativas y estimulantes para el aparato digestivo. Sus infusiones se emplean también para tratar fiebres, dolores de cabeza y problemas digestivos. Cabe citar también sus usos culinarios, ya que las hojas se emplean crudas o cocinadas, como aditivo a las comidas y como infusión. Asimismo, el aceite esencial de sus hojas se emplea como aditivo saborizante en repostería (López Castaño, 2012).

Un estudio realizado sobre la actividad antifúngica de *Mentha longifolia* reveló que el extracto de dicha planta inhibía el crecimiento de hongos de interés clínico, además de ser activo frente a las enterobacterias *Klebsiella pneumoniae* y *Serratia marcescens* (Saeide et al., 2014). Otros estudios han demostrado la actividad insecticida tanto de la *M. longifolia* como de otras diferentes especies del género *Mentha* (Kumar et al., 2011).

b) *Mentha suaveolens*

La *Mentha suaveolens* Ehrh. es una planta herbácea que crece hasta los 100 cm de altura, leñosa en la parte inferior, a veces estolonífera y potencialmente invasiva, con nudos enraizantes. Sus tallos llegan a tener un diámetro de hasta 4 mm en la parte inferior, de sección cuadrangular y con cantos marcados, de simples a muy ramificados. Las hojas, agudas o no, pueden ser dentadas, con nervios marcados, y en general, su superficie es rugosa con un color verde intenso en el haz y blanquecino en el envés debido a las vellosidades que posee. Aunque es originaria de Europa meridional y occidental, puede encontrarse también en lugares húmedos de Europa y el norte de África, así como introducida en países templados. La *M. suaveolens*, a diferencia de la *M. longifolia*, no crece junto a los cursos de agua, pero requiere que la capa freática se halle a escasa profundidad, ya que requiere también disponer de una elevada humedad. En el entorno de Calamocha ha sido identificada en la rambla de la Cirugeda, siendo la población estudiada (población que ya no existe por una reciente transformación de los terrenos). También ha sido observada en las cercanías de otras acequias y cursos de agua.

El aceite esencial de la *Mentha suaveolens* Ehrh. ha sido objeto de diferentes estudios con el fin de conocer su composición. En casi todos ellos se ha observado un alto porcentaje de óxido de piperitona y de piperitenona, llegando a ser este último el componente principal del aceite esencial con una proporción muy elevada. Otras variedades de esta especie han mostrado un alto contenido en alcoholes, como el mentol o cetonas como la pulegona (El-Kashouri, 2012, Llorens-Molina, 2014, Bozovic, 2015). Es precisamente la subespecie *M. suaveolens* subsp. *suaveolens*, la más común en las zonas sur y centro de Europa, la que muestra una mayor concentración de compuestos oxigenados en C3, como la piperitona, piperitenona y sus epóxidos así como mentol y pulegona, lo que se traduce en una potencial importancia económica derivada de los diferentes tipos de actividad biológica de sus compuestos mayoritarios (Oumzil et al., 2002, El-Kashouri et al., 2012; Petretto et al. 2014, Llorens-Molina et al. 2017). También cabe citar su acción antifúngica y antiviral, antioxidante (Bozovic, 2015) o insecticida, propiedad derivada del alto contenido en monoterpenos oxigenados, principalmente el óxido de piperitenona (Amzouar, 2016).

Tabla 5. Composición de una muestra representativa de aceite esencial de *M. suaveolens* de la población ubicada en la rambla Cirugeda (valores medios $\pm$ desviación estándar de tres repeticiones)

Compuesto	media $\pm$ SD	Compuesto	media $\pm$ SD
α -Pinenol	0,33 $\pm$ 0,12	β -Copaeno	0,08 $\pm$ 0,01
Camfeno	0 $\pm$ 0	α -Humuleno	0,19 $\pm$ 0,17
Sabineno	0,36 $\pm$ 0,12	Cis-Muurolo-3,5-dieno	0,16 $\pm$ 0,11
β -Pinenol	0,3 $\pm$ 0,02	Trans-muurolo-3,5-dieno	0,09 $\pm$ 0,07
Mirceno	0,44 $\pm$ 0,04	Germacreno -D	1,59 $\pm$ 0,29
p-Cimeno	0,01 $\pm$ 0,01	Biciclogermacreno	0,02 $\pm$ 0,01
Limoneno	1,91 $\pm$ 0,27	γ -Cadineno	0,05 $\pm$ 0,03
Cis- β -Ocimeno	0,1 $\pm$ 0,11	Hidrocarburos sesquiterpénicos	2,59 $\pm$ 0,35
γ -Terpineno	0,01 $\pm$ 0,01	Óxido de cariofileno	0,29 $\pm$ 0,14
Hidrocarburos mono-terpénicos	3,46 $\pm$ 0,14	Cubenol<1,10-di-epi>	0,06 $\pm$ 0,00
1,8-Cineol	0,08 $\pm$ 0,06	Eudesm-7(11)-en-4-ol	0,07 $\pm$ 0,00
Borneol	0,08 $\pm$ 0,01	Sesquiterpenos oxigenados	0,43 $\pm$ 0,18
Terpinen-4-ol	0,03 $\pm$ 0,04	Heptenal<(4Z)>	0,03 $\pm$ 0,02
p-Cimeno-8-ol	0,04 $\pm$ 0,03	Octen-3-ol <-1>	0,64 $\pm$ 0,07
Pulegona	0,41 $\pm$ 0,45	3-Octanol	0,03 $\pm$ 0,02
Piperitona	0,07 $\pm$ 0,02	Acetato de 3-octenilo	0,16 $\pm$ 0,01
Óxido de piperitona	0,65 $\pm$ 0,3	Acetato de octanol	0,01 $\pm$ 0,01
Acetato de bornilo	0,02 $\pm$ 0,01	Coahuilensol, metil éter	0,04 $\pm$ 0,04
Óxido de piperitenona	75,10 $\pm$ 0,90	(4E)-Decen-1-ol	0,1 $\pm$ 0,07
Monoterpenos oxigenados	76,48 $\pm$ 1,59	Cis-Jasmona	0,8 $\pm$ 0,34
β -Bourboneno	0,02 $\pm$ 0,02	Otros	1,81 $\pm$ 0,51
β -Cariofileno	0,38 $\pm$ 0,06		

La elevada proporción del óxido de piperitenona refleja el interés de esta población dada la existencia de individuos susceptibles de propagación para dar lugar a cultivares homogéneos con una proporción muy elevada de este compuesto, del que ya se ha descrito su importancia práctica.

Conclusiones

Los resultados expuestos son un ejemplo de la notable biodiversidad que, desde el punto de vista químico, presentan especies características del entorno natural de

Calamocha y, por extensión, de la comarca del Jiloca. Esta biodiversidad se expresa, tanto en relación a las composiciones descritas en ámbitos geográficos muy diversos, como dentro de las propias poblaciones. La identificación de individuos con perfiles químicos potencialmente útiles desde el punto de vista agronómico puede abrir interesantes perspectivas en cuanto al cultivo de plantas aromáticas. Sin embargo, este proceso requiere disponer de métodos analíticos no destructivos, rápidos y económicos que permitan estudiar un elevado número de individuos. La cromatografía en capa fina puede ser una herramienta adecuada para lograr este fin.

Bibliografía

- ABAD, M. J., BEDOYA, L. M., APAZA, L., & BERMEJO, P. (2012). The *Artemisia* L. genus: a review of bioactive essential oils. *Molecules*, 17(3), 2542-2566.
- ABEDI, R., GOLPARVAR, A. R., & HADIPANAH, A. (2015). Identification of the essential oils composition from four ecotypes of *Mentha longifolia* (L.) Huds. growing wild in Isfahan province, Iran. *Journal of BioScience and Biotechnology*, 4(2), 117-121.
- ADAMS, R. P. (2007). *Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry* (Vol. 456). Carol Stream, IL: Allured publishing corporation.
- AMORATI, R., FOTI, M. C., & VALGIMIGLI, L. (2013). Antioxidant activity of essential oils. *Journal of agricultural and food chemistry*, 61(46), 10835-10847.
- AMZOUAR, S., BOUGHADAD, A., MAATOUI, A., & ALLAM, L. (2016). Comparison of the chemical composition and the insecticidal activity of essential oils of *Mentha suaveolens* Ehrh. collected from two different regions of Morocco. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 18(3), 836-845.
- ARIÑO, A., ARBERAS, I., RENOBALLES, G., ARRIAGA, S., & DOMINGUEZ, J. B. (1999). Essential oil of *Artemisia absinthium* L. from the Spanish Pyrenees. *Journal of Essential Oil Research*, 11(2), 182-184.
- AZIRAK, S., & KARAMAN, S. (2008). Allelopathic effect of some essential oils and components on germination of weed species. *Acta Agriculturae Scandinavica-Section B-Soil and Plant Science*, 58(1), 88-92.
- BAILÉN, M., JULIO, L. F., DIAZ, C. E., SANZ, J., MARTÍNEZ-DÍAZ, R. A., CABRERA, R., & GONZALEZ-COLOMA, A. (2013). Chemical composition and biological effects of essential oils from *Artemisia absinthium* L. cultivated under different environmental conditions. *Industrial crops and products*, 49, 102-107.
- BAKKALI, F., AVERBECK, S., AVERBECK, D., & IDAOMAR, M. (2008). Biological effects of essential oils—a review. *Food and chemical toxicology*, 46(2), 446-475.
- BASER, K. H. C., KÜRKÇÜOĞLU, M., TARIMCILAR, G., & KAYNAK, G. (1999). Essential oils of *Mentha* species from Northern Turkey. *Journal of Essential Oil Research*, 11(5), 579-588.
- BLAGOJEVIC, P., RADULOVIC, N., PALIC, R., & STOJANOVIC, G. (2006). Chemical composition of the essential oils of Serbian wild-growing *Artemisia absinthium* and *Artemisia vulgaris*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(13), 4780-4789.

- BONET-SANFELIU, A. (2013). Caracterización de quimiotipos de *Mentha longifolia* L., en poblaciones del Valle del Jiloca. Trabajo Fin de Grado. E.T.S. de Ingeniería Agronómica y del Medio Natural, Universitat Politècnica de València (repositorio institucional Riunet).
- BOŽOVIC, M., PIROLI, A., & RAGNO, R. (2015). *Mentha suaveolens* Ehrh. (Lamiaceae) essential oil and its main constituent piperitenone oxide: Biological activities and chemistry. *Molecules*, 20(5), 8605-8633.
- BURILLO ALQUÉZAR, J. (2003). *Investigación y experimentación de plantas aromáticas y medicinales en Aragón: cultivo, transformación y analítica*. CITA, Zaragoza.
- CANTER, P. H., THOMAS, H., & ERNST, E. (2005). Bringing medicinal plants into cultivation: opportunities and challenges for biotechnology. *Trends in Biotechnology*, 23(4), 180-185.
- CHARCHARI, S., DAHOUN, A., BACHI, F., & BENSLIMANI, A. (1996). Antimicrobial activity in vitro of essential oils of *Artemisia herba-alba* Asso and *Artemisia judaica* L. from Algeria. *Riv Ital EPPOS*, 18(3).
- CHOUHAN, S., SHARMA, K., & GULERIA, S. (2017). Antimicrobial activity of some essential oils—present status and future perspectives. *Medicines*, 4(3), 58.
- EL-KASHOURY, E. S. A., EL-ASKARY, H. I., KANDIL, Z. A., SALEM, M. A., & SLEEM, A. A. (2012). Chemical composition and biological activities of the essential oil of *Mentha suaveolens* Ehrh. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 67(11-12), 571-579.
- ERDEY, L., TAKÁCS, J., & SZALANCZY, E. (1970). Contribution to the theory of the retention index system: I. Retention indices using programmed-temperature gas chromatography. *Journal of Chromatography A*, 46, 29-32.
- EREL, B., REZNICEK, G., ENOL, S. G., YAVAO LU, N. Ü. K., KONYALIOLU, S., & ZEYBEK, A. U. (2012). Antimicrobial and antioxidant properties of *Artemisia* L. species from western Anatolia. *Turkish Journal of Biology*, 36(1), 75-84.
- FLEISHER, Z., & FLEISHER, A. (1998). Volatile extract of *Mentha longifolia* growing in Israel. Aromatic plants of the Holy Land and the Sinai. Part XIII. *Journal of Essential Oil Research*, 10(6), 647-648.
- GODEFROOT, M., SANDRA, P., & VERZELE, M. (1981). New method for quantitative essential oil analysis. *Journal of Chromatography A*, 203, 325-335.
- GUILLEN, M. D., & MANZANOS, M. J. (1998). Study of the composition of the different parts of a Spanish *Thymus vulgaris* L. plant. *Food Chemistry*, 63(3), 373-383.
- GUPTA, A. K., MISHRA, R., SINGH, A. K., SRIVASTAVA, A., & LAL, R. K. (2017). Genetic variability and correlations of essential oil yield with agro-economic traits in *Mentha* species and identification of promising cultivars. *Industrial Crops and Products*, 95, 726-732.
- HOSSAIN, S. M. Z., RAZZAK, S. A., & HOSSAIN, M. M. (2020). Application of essential oils as green corrosion inhibitors. *Arabian Journal for Science and Engineering*, 1-23.
- INSTITUTO GEOGRÁFICO Y MINERO DE ESPAÑA (www.igme.es) (acceso 10-12-2021)

- JUDZETIENE, A. & BUDIENE, J., (2010). Compositional variation in essential oils of wild *Artemisia absinthium* from Lithuania. *J. Essent. Oil Bear. Pl.*, 13, 275–285
- JUDZENTIENE, A. (2016). Atypical chemical profiles of wild yarrow (*Achillea millefolium* L.) essential oils. *Records of Natural Products*, 10(2), 262.
- KOLIOPOULOS, G., PITAROKILI, D., KIOULOS, E., MICHAELAKIS, A., & TZAKOU, O. (2010). Chemical composition and larvicidal evaluation of *Mentha*, *Salvia*, and *Melissa* essential oils against the West Nile virus mosquito *Culex pipiens*. *Parasitology research*, 107(2), 327–335.
- LANGE, D. (2004). The German foreign trade in medicinal and aromatic plants during the 1990s. *Medicinal Plant Conservation*, 9(10), 38–46.
- LAWRENCE, B. M. (Ed.). (2006). *Mint: the genus Mentha*. CRC Press.
- LLORENS-MOLINA, J. A. ZEISING, V. C., RAMÍREZ, R. P., (2008). Composición del aceite esencial de *Artemisia absinthium* L. procedente del término municipal de Calamocha (Teruel). Caracterización de su quimiotipo y estudio de las variaciones estacionales. *Xiloca*, 36, 61–84.
- LLORENS-MOLINA, J. A., & VACAS, S. (2015). Seasonal variations in essential oil of aerial parts and roots of an *Artemisia absinthium* L. population from a Spanish area with supramediterranean climate (Teruel, Spain). *Journal of Essential Oil Research*, 27(5), 395–405.
- LLORENS-MOLINA, J. A., & VACAS, S. (2017). Effect of drought stress on essential oil composition of *Thymus vulgaris* L. (Chemotype 1, 8-cineole) from wild populations of Eastern Iberian Peninsula. *Journal of Essential oil research*, 29(2), 145–155.
- LLORENS-MOLINA, J. A., CASTELL, V., VACAS, S., & VERDEGUER, M. (2017). TLC-GC/MS Method for identifying and selecting valuable essential Oil Chemotypes from Wild Populations of *Mentha longifolia* L. *Natural Volatiles and Essential Oils*, 4(4), 49–61.
- LLORENS-MOLINA, J. A., RIVERA SECLÉN, C. F., VACAS GONZALEZ, S., & BOIRA TORTAJADA, H. (2017). *Mentha suaveolens* Ehrh. chemotypes in Eastern Iberian Peninsula: Essential oil variation and relation with ecological factors. *Chemistry & biodiversity*, 14(12), e1700320.
- LLORENS-MOLINA, J. A., VACAS, S., CASTELL, V., & VERDEGUER, M. (2020). Seasonal variations of essential oils from five accessions of *Mentha longifolia* (L.) L. with selected chemical profiles. *Journal of Essential Oil Research*, 32(5), 419–428.
- LOPEZ-CASTAÑO, S. (2012). Estudio de la variabilidad química en dos poblaciones de *Mentha longifolia* L., procedentes de Calamocha (Teruel). Trabajo Fin de Grado. E.T.S. de Ingeniería Agronómica y del Medio Natural, Universitat Politècnica de València (repositorio institucional Riunet).
- LUBBE, A., & VERPOORTE, R. (2011). Cultivation of medicinal and aromatic plants for specialty industrial materials. *Industrial crops and products*, 34(1), 785–801.
- MÁTHÉ, A., HASSAN, F., & KADER, A. A. (2015). In vitro micropropagation of medicinal and aromatic plants. In *Medicinal and aromatic plants of the world* (pp. 305–336). Springer, Dordrecht.
- MORADALIZADEH, M., KHODASHENAS, M., AMIRSEIFADINI, L., & GANJEHKAVIRI, M. (2014). Identification of chemical compounds in essential oils from stems, leaves and flowers of *Mentha longifolia* var. *kermanensis* by GC/MS. *International Journal of Biosciences*, 4(6), 117–121.

- MOSSA, A. T. H. (2016). Green pesticides: Essential oils as biopesticides in insect-pest management. *Journal of environmental science and technology*, 9(5), 354.
- NAZZARO, F., FRATIANNI, F., COPPOLA, R., & FEO, V. D. (2017). Essential oils and antifungal activity. *Pharmaceuticals*, 10(4), 86.
- NÉMETH-ZÁMBORINÉ, E. (2016). Natural variability of essential oil components. *Handbook of essential oils: Science, technology, and applications*, 87-125.
- OUMZIL, H., GHOULAMI, S., RHAJAOU, M., ILIDRISSI, A., FKIHTETOUANI, S., FAID, M., & BENJOUAD, A. (2002). Antibacterial and antifungal activity of essential oils of *Mentha suaveolens*. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 16(8), 727-731.
- PETRETTO, G. L., FANCELLO, F., ZARA, S., FODDAI, M., MANGIA, N. P., SANNA, M. L., & PINTORE, G. (2014). Antimicrobial activity against beneficial microorganisms and chemical composition of essential oil of *Mentha suaveolens* ssp. *insularis* grown in Sardinia. *Journal of Food Science*, 79(3), M369-M377.
- REZAEINODEHI, A. & KHANGOLI, S. (2008). Chemical composition of the essential oil of *Artemisia absinthium* growing wild in Iran. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 11 (6): 946-949.
- ANLI, A., & KARADO, AN, T. (2019). Carvone containing essential oils as sprout suppressants in potato (*Solanum tuberosum* L.) tubers at different storage temperatures. *Potato Research*, 62(3), 345-360.
- SANTANA, O., CABRERA, R., GIMÉNEZ, C., GONZÁLEZ-COLOMA, A., SÁNCHEZ-VIOQUE, R., DE LOS MOZOS-PASCUAL, M. & HERRAIZ, D. (2012). Perfil químico y biológico de aceites esenciales de plantas aromáticas de interés agro-industrial en Castilla-La Mancha (España). *Grasas y aceites*, 63(2), 214-222.
- SBAYOU, H., ABABOU, B., BOUKACHABINE, K., MANRESA, A., ZEROUALI, K., & AMGHAR, S. (2014). Chemical composition and antibacterial activity of *Artemisia herba-alba* and *Mentha pulegium* essential oils. *Journal of Life Sciences*, 8(1).
- SCHIPPMANN, U., LEAMAN, D. J., & CUNNINGHAM, A. B. (2002). Impact of cultivation and gathering of medicinal plants on biodiversity: global trends and issues. *Biodiversity and the ecosystem approach in agriculture, forestry and fisheries*. Ninth Regular Session of the Commission on Genetic Resources for Food and Agriculture. Rome 12-13 October 2002.
- SCHIPPMANN, U. W. E., LEAMAN, D., & CUNNINGHAM, A. B. (2006). A comparison of cultivation and wild collection of medicinal and aromatic plants under sustainability aspects. *Frontis*, 75-95.
- SHARIFI-RAD, J., SUREDA, A., TENORE, G. C., DAGLIA, M., SHARIFI-RAD, M., VALUSSI, M., ... & IRITI, M. (2017). Biological activities of essential oils: From plant chemoeology to traditional healing systems. *Molecules*, 22(1), 70.
- SHARPOV, F. S., SULAIMONOVA, V. A., & SETZER, W. N. (2012). Composition of the Essential oil of *Artemisia absinthium* from Tajikistan. *Records of Natural Products*, 6(2).

- TORRAS, J., GRAU, M. D., LÓPEZ, J. F., & DE LAS HERAS, F. X. C. (2007). Analysis of essential oils from chemotypes of *Thymus vulgaris* in Catalonia. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87(12), 2327-2333.
- TORRES-JUAN, M. (2017). Composición química y actividad antifúngica de aceites esenciales de *Artemisia herba-alba* Asso., *Artemisia-absinthium* L. y *Mentha-longifolia* L. Trabajo Fin de Grado. E.T.S. de Ingeniería Agronómica y del Medio Natural, Universitat Politècnica de València (repositorio institucional Riunet).
- TWORKOSKI, T. (2002). Herbicide activity of essential oil. *Weed Sci*, 50, 425-431.
- VAN BRUGGEN, A. H., HE, M. M., SHIN, K., MAI, V., JEONG, K. C., FINCKH, M. R., & MORRIS JR, J. G. (2018). Environmental and health effects of the herbicide glyphosate. *Science of the Total Environment*, 616, 255-268.
- ZANOUSI, M. B. P., ABEROOM, P., & RAEESI, M. (2012). Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils of different organs of three *Artemisia* species from Iran. *Journal of Medicinal Plants Research*, 6(42), 5489-5494