

**ESTUDIO COMPARATIVO DE LOS ACEITES ESENCIALES DE *Lippia alba*
Mill N.E. Brown ex Britton & Wills CULTIVADA CON TRES TIPOS DE
COMPOST.**

**ANDREA JULIANA AGUDELO NIÑO
KATERINE MARÍA BLANCO VELANDIA**

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE QUÍMICA
BUCARAMANGA
2007**

**ESTUDIO COMPARATIVO DE LOS ACEITES ESENCIALES DE *Lippia alba*
Mill N.E. Brown ex Britton & Wills CULTIVADA CON TRES TIPOS DE
COMPOST.**

**ANDREA JULIANA AGUDELO NIÑO
KATERINE MARÍA BLANCO VELANDIA**

**Trabajo de Grado presentado como requisito
parcial para optar al Título de Químico**

Directora:

Elena E. Stashenko, Química, Ph.D.

Co-director:

Jairo René Martínez Morales, Químico, Ph.D.

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE QUÍMICA
BUCARAMANGA**

2007

DEDICATORIA

*Por supuesto, con todo mi amor, a esa luz que esta conmigo
en cada paso que doy en la vida,
YESID JAVIER GÓMEZ LANDAZABAL.
Y a la persona que me enseñó, que una sonrisa es el gesto
más sencillo que alivia el alma,
LESCY JOHANNA BLANCO VESGA.
(Que en paz descansen).*

KATERINE MARÍA BLANCO VELANDIA

DEDICATORIA

A todas aquellas personas que con su trabajo y
esfuerzo mantienen vivo este país y esperan
un mejor presente y futuro a través de nuevas
opciones para trabajar la tierra que nos sostiene.

ANDREA JULIANA AGUDELO NIÑO

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por ser mi refugio y fortaleza, y por llenarme de bendiciones cada día.

A la doctora Elena Stashenko, por compartir con nosotros toda su cultura y conocimiento, por sus aportes para nuestra formación integral, inculcándonos responsabilidad y profesionalismo.

Al doctor Jairo René Martínez por todas sus contribuciones para el desarrollo de este trabajo, y por ser ejemplo de serenidad y dedicación a la ciencia.

Con todo mi ser, quiero agradecer a Orlando Blanco y Cecilia Velandia mis padres, quienes me han brindado todo lo necesario y más... para alcanzar mis metas. Por todos sus sacrificios, consejos, regaños, besos, abrazos, preocupaciones, paciencia y confianza.

A mi hermana Marta por ser la más comprensiva y bondadosa, a mi hermana Yolima por ser mi ejemplo de mujer luchadora y emprendedora y a mi hermano Vladimir por ayudarme a creer en mi misma.

A Alejo, Cata, Vale y Santi mis sobrinos, por ser mi fuente de alegría y constante motivación.

A la familia Gómez Landazabal, por ser un apoyo incondicional en mi vida.

A Jimena, Bibiana y Carolina por todo su apoyo, sinceridad, honestidad y sobretodo por todo su amor.

A Gregorio, por las risas, la espontaneidad, la complicidad, su amistad y por toda su disposición y colaboración.

A Teto, Luchia, Juanpis, Carlos, Victor, Germán, Monis y Lala por todo su apoyo y colaboración, por ser compañeros y amigos, por todas las experiencias que hicieron más agradables los últimos años de mi carrera universitaria.

A Jaime Camargo y Yolanda Vargas por contribuir en mi formación profesional y personal, ya que, fueron para mí no solo profesores sino maestros de vida.

Al Laboratorio de Cromatografía y al Centro de Investigación de Excelencia, CENIVAM, por brindarme los medios necesarios para realizar mi trabajo de grado, y por permitirme compartir y adquirir conocimiento.

A COLCIENCIAS (contrato RC-432-2004), que con su apoyo económico permitió el desarrollo de esta investigación.

KATERINE MARÍA BLANCO VELANDIA

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Elena Stashenko por la oportunidad, por su generosidad en todos los aspectos, por compartir su conocimiento, por su ejemplo de constancia y esfuerzo.

Al Dr. Jairo René Martínez por su colaboración, su paciencia, sencillez y nobleza.

Al profesor José Carlos Gutiérrez por confiar en mí, por sus consejos y apoyo.

A la profesora Isabel Ocazones por compartir sus experiencias y conocimiento en el proceso de compostaje.

A Kellyn por ayudarme a ser una mejor persona, por escucharme, por su amistad. A Fredy por su apoyo y sus palabras. A Virginia Gavilán por su ayuda. A Césitar y Luchito por la colaboración en el desarrollo del proceso.

A Adrianita, por esa complicidad que siempre nos unió e identificó nuestra amistad. A Sindy, Marthica, Sayde, Sandra, Edwin, por las bonitas experiencias, por las mutuas alegrías y risas, a Olguita por su nobleza y por permitirme ver la bella persona que es, a Wilfredo por los momentos compartidos, a Silvia por estar ahí y por su apoyo en los tiempos no tan buenos, a Rocío por su amistad incondicional, por hacerme siempre sonreír, a los Oscars por contagiarme de su entusiasmo y brindarme su amistad y a aquellas personas que fueron llegando a mi camino y me brindaron su cariño: Leti, Angelita, Lucía, Amner.

Agradezco a mi familia por su amor, por su incondicionalidad, por creer en mí y por ser mi mayor motivación para ser cada vez mejor. A mi madre María Eugenia, por su inmenso deseo y esfuerzo por hacerme feliz y cumplir todos mis anhelos; a mi tío Javier, por estar siempre ahí, por ser quien es, por hacerme la persona quien soy, por su amor, por sus palabras y por enseñarme la importancia del estudio y del trabajo.

A COLCIENCIAS por la financiación del proyecto, a CIBIMOL, CENIVAM, Laboratorio de Cromatografía, de Suelos y Consultas Industriales por facilitar los medios necesarios para llevar a cabo el proyecto.

GRACIAS a **Dios** y a todas aquellas personas, que de una u otra forma me acompañaron en el proceso que culmina.

ANDREA JULIANA AGUDELO NIÑO.

TABLA DE CONTENIDO

INTRODUCCIÓN	24
1. MARCO TEÓRICO	27
1.1 PLANTAS AROMÁTICAS	27
1.2 METABOLISMO DE LAS PLANTAS	27
1.3 TERPENOS	29
1.3.1 Posible función biológica de los terpenos	30
1.4 ACEITES ESENCIALES	30
1.4.1 Factores que influyen sobre la composición y el rendimiento del aceite esencial	31
1.4.2 Propiedades fisicoquímicas de los AEs:	31
1.5 EXTRACCIÓN	31
1.5.1 TÉCNICAS CONVENCIONALES	32
1.6 TÉCNICA EMPLEADA: hidrodestilación asistida por la radiación de microondas (MWHd)	32
1.7 PLANTA BAJO ESTUDIO: <i>Lippia alba</i>	33
1.7.1 Descripción botánica	34
1.7.2 Método de reproducción	34
1.7.2 Producción anual	34
1.7.3 Usos etnomédicos	34
1.7.4 Quimiotipos	34
1.7.5 Farmacología y actividad biológica	37
1.8 ESTADO DINÁMICO DE LA <i>Lippia alba</i>	38
1.9 COMPONENTES MAYORITARIOS DE <i>Lippia alba</i> COLOMBIANA	38
1.9.1 Carvona	38
1.9.2 Limoneno	39
1.10 ANÁLISIS INSTRUMENTAL	39
1.10.1 Cromatografía de gases (GC) y espectrometría de masas (MS)	39
1.11 PREPARACIÓN DE LA MUESTRA PARA ANÁLISIS GC-MS	42
1.11.1 Identificación de sustancias	42
1.11.2 Análisis cuantitativo	42

1.12 RESIDUOS ORGÁNICOS	43
1.13 COMPOSTAJE	43
1.13.1 Sistemas de compostaje	44
1.13.2 Dinámica del compostaje	44
1.13.3 Materiales a compostar	45
1.13.4 Características de los procesos de transformación biológica de la MO	45
1.14 COMPOSTAJE AERÓBICO: MICROBIOLOGÍA	45
1.15 CONSIDERACIONES DE DISEÑO Y FUNCIONAMIENTO	47
1.15.1 Tamaño de partícula	47
1.15.2 La relación carbono- nitrógeno	47
1.15.3 Humedad	47
1.15.4 Temperatura	48
1.15.5 pH	49
1.16 ESTABILIDAD Y MADUREZ	51
1.16.1 Parámetros de estabilidad y madurez del <i>compost</i> :	51
1.16.2 Índices de madurez	52
1.16.3 Compost inmaduro	52
1.16.4 Compost Vs. fertilizantes químicos	53
1.16.5 Efectos del uso del compost en las cosechas	53
1.16.6 Ventajas	54
1.17 FIGURAS DE MÉRITO	55
1.17.1 Exactitud	55
1.17.2 Precisión	56
1.17.3 Coeficiente de variación	56
1.18 CIENCIOMETRÍA	56
1.18.1 Análisis cienciométrico del compostaje	57
1.18.2 Análisis cienciométrico de <i>Lippia alba</i>	66
1.19 MERCADO DE LOS AEs	74
2. DESARROLLO EXPERIMENTAL	80
2.1 MATERIALES Y REACTIVOS	80
2.2 COMPOST	81
2.3 ANÁLISIS DE SUELOS	84

2.4 MATERIAL VEGETAL: <i>Lippia alba</i>	85
2.4.1 Propagación y cultivo	86
2.4.2 Cantidad de compost y frecuencia de abono	86
2.4.3 Descripción de las parcelas cultivadas	87
2.5 EXTRACCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL	87
2.6 ANÁLISIS INSTRUMENTAL	89
2.7 CUANTIFICACIÓN DE LOS COMPONENTES DEL AE	92
2.8 DETERMINACIÓN DE BIOMASA DE LOS CULTIVOS DE <i>Lippia alba</i>	93
2.9 DIAGRAMA DE FLUJO DEL DESARROLLO METODOLÓGICO	94
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	95
3.1 PROCESO DE COMPOSTAJE	95
3.2 PROPIEDADES DEL COMPOST ELABORADO	100
3.3 EFECTO DEL COMPOST SOBRE EL SUELO	100
3.4 EFECTO DEL COMPOST SOBRE LOS CULTIVOS DE <i>Lippia alba</i>.	101
3.4.1 Efecto de la aplicación de compostaje sobre la producción de biomasa foliar	101
3.4.2 Efecto del compostaje sobre el contenido de AE de <i>Lippia alba</i>	107
3.5 EFECTO DE LA APLICACIÓN DE COMPOSTAJE SOBRE LA COMPOSICIÓN DEL AE	111
3.5.1 Efecto de la aplicación de compost sobre la concentración de los analitos del AE de <i>Lippia alba</i>	111
3.5.2 Caracterización química por GC-MS de los aceites esenciales de <i>Lippia alba</i>	112
3.5.3 Correlación existente entre los micro y macro elementos del suelo y los componentes mayoritarios del AE de <i>Lippia alba</i>	121
3.6 ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES (PCA)	123
3.7 IDENTIFICACIÓN DE LOS COMPONENTES DE LOS AEs DE LIPPIA ALBA.	127
3.8 DETERMINACIÓN DE LA REPRODUCIBILIDAD DE tR Y ÁREAS DE LOS PICOS CROMATOGRÁFICOS	132

4. CONCLUSIONES	138
5. RECOMENDACIONES	141
BIBLIOGRAFÍA	143
ANEXOS	161

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Factores de “estrés” que pueden afectar la producción de metabolitos secundarios de las plantas.	28
Figura 2. Rutas biosintéticas del metabolismo secundario de las plantas.	29
Figura 3. Diagrama del cromatógrafo de gases acoplado a un detector de masas.	41
Figura 4. Descripción gráfica del proceso de compostaje	50
Figura 5. Estructura de la industria de hierbas medicinales/aromáticas.	75
Figura 6. Requisitos para el ingreso de ingredientes naturales en el mercado estadounidense.	76
Figura 7. Puntos seleccionados para el seguimiento de los parámetros de pH y temperatura en las pilas de compostaje.	84
Figura 8. Toma de muestra para el análisis químico de suelos.	85
Figura 9. Representación de la distribución del terreno para el cultivo del material vegetal y aplicación de los distintos tratamientos.	86
Figura 10. Montaje de la técnica de hidrodestilación asistida por la radiación de microondas (<i>MWHD</i>), empleada para la extracción del AE de <i>Lippia alba</i> .	88
Figura 11. Cromatógrafo de gases <i>Agilent Technologies 6890 Plus Series GC</i> , acoplado a un detector selectivo de masas.	90
Figura 12. Cromatógrafo de gases <i>Agilent Technologies 6890N Network Series</i> , con columna polar, acoplado a un espectrómetro de masas.	91
Figura 13. Determinación de biomasa	93
Figura 14. Subparcela LABSol.	104
Figura 15. Subparcela LAC2Sol.	104
Figura 16. Subparcela LABP3.	105
Figura 17. Subparcela LAC1P3.	105
Figura 18. Subparcela LAC2P3.	106
Figura 19. Subparcela LAC3P3.	106

Figura 20.	Perfil cromatográfico típico del AE de <i>Lippia alba</i> cultivada en P1, aislado por <i>MWHD</i> . Columna <i>DB-5</i> , 60 m. Detector selectivo de masas (EI, 70 eV). La identificación de los picos se reporta en la Tabla 17 .	113
Figura 21.	Perfil cromatográfico típico del AE de <i>Lippia alba</i> cultivada en P2, aislado por <i>MWHD</i> . Columna <i>DB-5</i> , 60 m. Detector selectivo de masas (EI, 70 eV). La identificación de los picos se reporta en la Tabla 18 .	115
Figura 22.	Perfil cromatográfico típico del AE de <i>Lippia alba</i> cultivada en P3, aislado por <i>MWHD</i> . Columna <i>DB-5</i> , 60 m. Detector selectivo de masas (EI, 70 eV). La identificación de los picos se reporta en la Tabla 19 .	118
Figura 23.	Relación existente entre los compuestos mayoritarios del AE de <i>Lippia alba</i> , y los macro y microelementos del suelo.	122
Figura 24.	Análisis de componentes principales (PCA) de los compuestos presentes en los AEs de <i>Lippia alba</i> que fueron cultivadas en parcelas diferentes y abonadas con tres tipos de <i>compost</i> .	124
Figura 25.	Análisis de componentes principales de los parámetros fisicoquímicos del suelo: elementos menores - mayores y acidez, influenciados por el uso de tres tipos de <i>compost</i> .	127
Figura 26.	Espectro de masas del limoneno.	129
Figura 27.	Espectro de masas de la carvona.	131

LISTA DE TABLAS

		Pág.
Tabla 1.	Quimiotipos de <i>Lippia alba</i> , según su origen geográfico.	35
Tabla 2.	Análisis comparativo de los procesos de transformación aerobios y anaerobios.	45
Tabla 3.	Rangos de temperatura típicos para diversas bacterias.	47
Tabla 4.	Principales países exportadores y su AE.	79
Tabla 5.	Principales países importadores y su AE.	79
Tabla 6.	Detalle de los materiales y reactivos utilizados en la investigación.	80
Tabla 7.	Relación de los diferentes materiales de partida utilizados en la elaboración de los tres tipos de <i>compost</i> .	82
Tabla 8.	Frecuencia de volteo del montón.	83
Tabla 9.	Análisis químico de los <i>compost</i> obtenidos.	100
Tabla 10.	Peso seco de hojas y tallos de <i>Lippia alba</i> cultivada en PSol y P3.	101
Tabla 11.	Biomasa foliar (kg/ha) para las parcelas PSol y P3.	101
Tabla 12.	Prueba de la t, para PSol.	102
Tabla 13.	Test de Tukey para P3.	102
Tabla 14.	Subgrupos Homogéneos.	103
Tabla 15.	Rendimiento del AE (% p/p), por parcela y tipo de tratamiento.	109
Tabla 16.	Kilogramo de AE por hectárea, según el tratamiento usado.	110
Tabla 17.	Cantidad relativa (%), de los analitos constituyentes del AE de <i>Lippia alba</i> cultivada en P1.	113
Tabla 18.	Cantidad relativa (%), de los analitos constituyentes del AE de <i>Lippia alba</i> cultivada en P2.	116
Tabla 19.	Cantidad relativa (%), de los analitos constituyentes del AE de <i>Lippia alba</i> cultivada en P3.	119
Tabla 20.	Estudio de la reproducibilidad de los t_R del AE de <i>Lippia alba</i> , tratamiento LAC1P3.	133
Tabla 21.	Estudio de la reproducibilidad de los t_R del AE de <i>Lippia alba</i> , tratamiento LAC2P3.	134

Tabla 22.	Estudio de la reproducibilidad de los t_R del AE de <i>Lippia alba</i> , tratamiento LAC3P2.	134
Tabla 23.	Intervalos de los resultados de los coeficientes de variación (%), obtenidos para los t_R y t_{RR} de tres muestras de AE por GC-MS.	135
Tabla 24.	Estudio de la reproducibilidad de las áreas cromatograficas del AE de <i>Lippia alba</i> , muestra LAC1P3.	135
Tabla 25.	Estudio de la reproducibilidad de las áreas cromatograficas del AE de <i>Lippia alba</i> , muestra LAC2P3.	136
Tabla 26.	Estudio de la reproducibilidad de las áreas cromatograficas del AE de <i>Lippia alba</i> , muestra LAC3P2.	136
Tabla 27.	Valores máximo y mínimo entre los que fluctúan los coeficientes de variación (%), de las áreas y áreas relativas de tres muestras de AE por GC-MS.	137

LISTA DE GRÁFICAS

	Pág.
Gráfica 1a. Relación entre las diversas revistas científicas y el número de sus publicaciones (Base de datos: <i>Web of Science</i>).	58
Gráfica 1b. Relación entre las diversas revistas científicas y el número de sus publicaciones (Base de datos: <i>Scopus</i>).	59
Gráfica 2a. Producción científica de diferentes autores (Base de datos: <i>Web of Science</i>).	60
Gráfica 2b. Producción científica de diferentes autores (Base de datos: <i>Scopus</i>).	61
Gráfica 3a. Evolución cronológica de la producción científica (Base de datos: <i>Web of Science</i>).	62
Gráfica 3b. Evolución cronológica de la producción científica (Base de datos: <i>Scopus</i>).	63
Gráfica 4a. Relación del tipo de documento con el número de publicaciones (Base de datos: <i>Web of Science</i>).	64
Gráfica 4b. Relación del tipo de documento con el número de publicaciones (Base de datos: <i>Scopus</i>).	64
Gráfica 5a. Relación entre diferentes áreas de especialización y el número de publicaciones (Base de datos: <i>Web of science</i>).	65
Gráfica 5b. Relación entre diferentes áreas de especialización y el número de publicaciones (Base de datos: <i>Scopus</i>).	66
Gráfica 6a. Relación entre las diversas revistas científicas y el número de sus publicaciones (Base de datos: <i>Scopus</i>).	67
Gráfica 6b. Relación entre las diversas revistas científicas y el número de sus publicaciones (Base de datos: <i>Web of Science</i>).	68
Gráfica 7 a. Producción científica de diferentes autores (Base de datos: <i>Scopus</i>).	69
Gráfica 7b. Producción científica de diferentes autores (Base de datos: <i>Web of Science</i>).	69

Gráfica 8a.	Evolución cronológica de la producción científica (Base de datos: <i>Web of Science</i>).	70
Gráfica 8b.	Evolución cronológica de la producción científica (Base de datos: <i>Scopus</i>).	71
Gráfica 9a.	La relación entre diferentes áreas de conocimiento y el número de publicaciones (Base de datos: <i>Web of Science</i>).	72
Gráfica 9b.	La relación entre diferentes áreas de conocimiento y el número de publicaciones (Base de datos: <i>Scopus</i>).	73
Gráfica 10.	Relación del tipo de documento con el número de publicaciones (Bases de datos: <i>Web of Science</i> y <i>Scopus</i>).	73
Gráfica 11.	Registro de la temperatura del <i>compost</i> 1 (C1).	96
Gráfica 12.	Registro de la temperatura del <i>compost</i> 2 (C2).	96
Gráfica 13.	Registro de la temperatura del <i>compost</i> 3 (C3).	97
Gráfica 14.	Seguimiento del pH para el <i>compost</i> 1 (C1).	98
Gráfica 15.	Seguimiento del pH para el <i>compost</i> 2 (C2).	99
Gráfica 16.	Seguimiento del pH para el <i>compost</i> 3 (C3).	99
Gráfica 17.	Producción de hojas en peso seco, de <i>Lippia alba</i> según el tratamiento usado.	107
Gráfica 18.	Rendimiento de AE (%p/p) obtenido en cada uno de los tratamientos.	110
Gráfica 19.	Efecto en la cantidad relativa (%) de las familias de terpenos de los AEs de <i>Lippia alba</i> cultivada con los diferentes tipos de <i>compost</i> en P1.	115
Gráfica 20.	Efecto en la cantidad relativa (%), de las familias de terpenos de los AEs de <i>Lippia alba</i> cultivada con los diferentes tipos de <i>compost</i> en la P2.	118
Gráfica 21.	Efecto en la cantidad relativa (%), de las familias de terpenos de los AEs de <i>Lippia alba</i> cultivada con los diferentes tipos de <i>compost</i> en P3.	121

LISTA DE ESQUEMAS

	Pág.
Esquema 1. Posibles rutas de fragmentación del limoneno.	130
Esquema 2. Posibles rutas de fragmentación de la carvona.	132

ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

AE	Aceite esencial.
CEC	<i>Capacity Exchange of Cations</i> : Capacidad de intercambio catiónico.
C_{org}	<i>Organic Carbon</i> : Carbono orgánico.
CA	<i>Canonical Analysis</i> : Análisis Canónico.
CENIVAM	Centro Nacional de Investigaciones para la Agroindustrialización de Especies Vegetales Aromáticas y Medicinales Tropicales.
CIBIMOL	Centro de Investigación en Biomoléculas.
C_w	<i>Water soluble organic carbon</i> : Carbono soluble en agua.
°C	Grado (s) Celsius.
cm	Centímetro.
D.I.	Diámetro interno, mm.
d_f	Espesor de la fase estacionaria, µm.
e⁻	Electrón.
e.g.	Por ejemplo
EO	<i>Essential Oil</i>
EI	<i>Electron impact</i> : Impacto de electrones.
EU	European Union: Unión Europea.
GC	<i>Gas Chromatograph</i> (Cromatógrafo de gases o Cromatografía de gases, según el contexto).

GC-MS	<i>Gas Chromatography-Mass Spectrometry</i> (Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas).
h	Hora (s).
ha	Hectárea (s).
I_k	Índices de Kovàts.
i.e.	Es decir, o sea.
Istd	<i>Internal Standar</i> : Estándar Interno.
kg	Kilogramo (s).
L	Longitud (m).
MS	<i>Mass spectrometry</i> : Espectrometría de masas.
MWHD	<i>Microwave-AssistedHydro-distillation</i> : Hidrodestilación asistida por la radiación de microondas.
m/z	Relación masa/carga.
MO	Materia Orgánica.
m.s.n.m.	Metros sobre el nivel del mar.
N_t	<i>Total Nitrogen</i> : Nitrógeno total.
N_{org}	<i>Organic nitrogen</i> : nitrógeno orgánico.
NPK	<i>Conventional chemical fertilizer NPK</i> : Fertilizantes químicos convencionales de nitrógeno, fósforo y potasio.
PA	Planta(s) aromática(s).
% (p/p)	Porcentaje peso a peso.
PCA	<i>Principal Component Analysis</i> : Análisis de Componentes Principales.
PDMS	<i>Poly (dimetilsiloxane)</i> : Poli (dimetilsiloxano).
RSU	Residuos sólidos urbanos.
RDA	<i>Retro Diels- Alder</i>

SDE	<i>Simultaneous Distillation-Solvent Extraction:</i> Destilación-extracción simultánea con solvente.
SFE	<i>Supercritical Fluid Extraction:</i> Extracción con fluido supercrítico.
TIC	<i>Total Ion Current:</i> Corriente iónica total.
t_R	Tiempo de retención.
UIS	Universidad Industrial de Santander.
μL	Microlitro(s).
μm	Micrómetro(s).
W	Vatio(s).

RESUMEN

TÍTULO: ESTUDIO COMPARATIVO DE LOS ACEITES ESENCIALES DE *Lippia alba* Mill N.E. Brown & Wills CULTIVADA CON TRES TIPOS DE COMPOST*.

Autores: Andrea Juliana Agudelo Niño**
Katerine María Blanco Velandia**

Palabras clave: *compost*, roca fosfórica, *Lippia alba*, aceite esencial, biomasa.

Se produjeron tres tipos de *compost* y se utilizaron en cultivos experimentales de *Lippia alba*, con el fin de evaluar su efecto sobre la composición y el rendimiento del aceite esencial (AE).

Los materiales de partida en común para la elaboración de todos los tipos de *compost* fueron: tamo de arroz, estiércol de codorniz y hojas secas; la principal fuente de materia orgánica (MO) para los *compost* tipo 1 y 2 (C1 y C2) consistió de residuos de vegetales y frutas, mientras que para el tipo 3 (C3) se utilizaron hojas frescas de poda y desechos de hidrodestilaciones. Además, los *compost* C2 y C3 se diferenciaron de C1, en que estaban enriquecidos mineralmente con roca fosfórica. Cada *compost*, fue elaborado por triplicado, mediante la técnica de descomposición aeróbica en pilas estáticas con aireación mecánica. El proceso tuvo una duración de 40 días.

Se observó que el uso de cualquier tipo de *compost* incrementó la producción de biomasa y el rendimiento del AE (kg AE/ha) en las plantas de *Lippia alba*. Sin embargo, la subparcela fertilizada con *compost* tipo C2, fue la que presentó los mejores resultados, aumentando la obtención de AE 5.5 veces con respecto a la subparcela testigo. La concentración de los compuestos mayoritarios (carvona y limoneno) de los AEs extraídos mediante hidrodestilación asistida por la radiación de microondas (MWHD), caracterizados por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS), no varió con la fertilización, durante el período de estudio de cada una de las subparcelas (5 meses).

*Tesis de Grado

**Universidad Industrial de Santander, Facultad de Ciencias, Escuela de Química. Directora, Elena E. Stashenko.

ABSTRACT

TITLE: COMPARATIVE STUDY OF THE ESSENTIAL OILS OF *Lippia alba* Mill N.E. Brown & Wills GROWN WITH THREE TYPES OF COMPOST*.

Autores: Andrea Juliana Agudelo Niño**
Katerine María Blanco Velandia**

Key Words: *compost*, phosphoric rock, *Lippia alba*, essential oil, biomass.

Three types of compost were prepared and were applied to experimental crops of *Lippia alba*, with the purpose of evaluating their effect on the composition and the yield of the essential oil (EO).

The starting materials common for the elaboration of all types of compost were: husk of rice, dung of quail and dry leaves; the main source of organic matter (MO) for compost type 1 and 2 (C1 and C2) consisted of wastes of vegetables and fruits, whereas for type 3 (C3) fresh leaves of pruning and wastes of hydrodistillations were used. In addition, compost C2 and C3 were enriched with minerals from phosphoric rock. Each type of compost was prepared in triplicate by means of aerobic decomposition in heap with mechanic aeration. The process lasted 40 days.

The three types of compost increased the production of biomass and the EO yield (kg EO/ha) in the plants of *Lippia alba*. Nevertheless, the subplot fertilized with compost C2 presented the best results, with a 5.5 fold increase in EO yield with respect to the control subplot. Concentration of main compounds (carvone and limonene) of the EOs extracted by means of microwave-assisted hydrodistillation (MWHD), determined by gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS), did not change with fertilization, during the period of study of each one of the subplots (5 months).

*Degree Project

**Universidad Industrial de Santander, Science Faculty, Chemistry Department. Directed by Elena E. Stashenko.

INTRODUCCIÓN

A pesar de que Colombia cuenta con una gran riqueza, en cuanto a número de especies vegetales aromáticas, el mercado de los aceites esenciales (AE) en el país, según un estudio realizado por el Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt, se caracteriza por el alto volumen de importaciones de mezclas de sabores y fragancias que son utilizadas por las industrias de consumo masivo, tanto nacionales como multinacionales (tales como las de perfumes, cosméticos, plásticos, textiles, pinturas, productos de aseo y limpieza, y la industria farmacéutica), lo que muestra que existen muy pocas empresas que están produciendo AE en el país [1].

Es por esto que el Centro Nacional de Investigaciones para la Agroindustrialización de Especies Vegetales Aromáticas y Medicinales Tropicales (CENIVAM) tiene como objetivo principal el desarrollo nacional de esta industria, empezando desde la selección de las plantas aromáticas más usadas, así como de la incorporación de especies nuevas, hasta la obtención de los AE y productos refinados, provenientes de los mismos.

La importancia de este proyecto radica en que crea nuevas alternativas de trabajo e ingresos para la comunidad campesina, que no sólo ha sufrido la pérdida de rentabilidad de los cultivos tradicionales, sino también el conflicto armado. A largo plazo, la agroindustria de aceites esenciales puede propiciar la sustitución de cultivos ilícitos [2, 3]; y se fundamenta en que el consumo de fragancias y sabores naturales continúa creciendo a pesar del incremento en el mercado de los substitutos sintéticos, los cuales ofrecen varias ventajas como bajos costos de producción, precios estables y oferta continua [4].

Impulsar la industria de AE implica el uso de los suelos adecuados, por lo que se hace necesaria su conservación, garantizando de esta manera, una

producción continua y suficiente de las especies aromáticas cultivadas.

La primera parte del proyecto consistió en la elaboración de *compost*, que es una de las opciones que permite llevar a cabo este objetivo. Además, en la presente investigación, su uso tuvo otras finalidades, a saber: a) aumentar o, por lo menos mantener la fertilidad de los suelos; b) contribuir al desarrollo de la industria agrícola con la producción limpia y sostenible, por medio de la incorporación de los residuos provenientes de las extracciones de los AE; y c) evitar además, que grandes cantidades de desechos orgánicos, producidos por las actividades municipales, agrícolas y agroindustriales, pasen a formar parte de los residuos sólidos urbanos (RSU) al incorporarlos como materiales de partida para la elaboración de *compost*.

El uso del *compost* puede restaurar la fertilidad del suelo, disminuir la pérdida por la remoción de sus nutrientes debido a las cosechas y por la baja eficiencia que tienen los fertilizantes químicos, utilizados ampliamente por los campesinos para regenerarla. Esto es debido a que la materia orgánica (MO) proveniente de los residuos, activa la biota del suelo, que es la encargada de mineralizar los micro y macro elementos, incorporándolos en los terrenos, permitiendo así su regeneración [5-7].

Este proyecto, al constituir una de las ramas de investigación a cargo del Centro de Investigación de Excelencia, CENIVAM, busca colaborar con el desarrollo agroindustrial del país, estudiando las mejores condiciones de fertilización bajo las cuales se desarrolla la *Lippia alba (Mill) N.E. Brown*, planta aromática (PA) utilizada en medicina popular en Centro y Sur América [8], cuyo corto ciclo de crecimiento y fácil capacidad de enraizamiento [9] facilitan su estudio y la hacen atractiva para su comercialización.

El *compost* elaborado se aplicó a la planta, obteniéndose mayor producción de biomasa y contenido de AE. Cabe aclarar, que el efecto generado por su uso

es dependiente de las condiciones bajo las cuales se desarrolla la planta principalmente, la cantidad de radiación solar a la que es expuesta y el suelo en el cual es cultivada. En cuanto a los componentes mayoritarios constituyentes de su AE: carvona y limoneno [10], que son ampliamente utilizados en las industrias de alimentos, cosméticos, saborizantes, etc; no tuvieron cambios estadísticamente significativos en su contenido.

Resultados parciales del presente trabajo, fueron expuestos en el IX Congreso Colombiano de Fitoquímica, modalidad póster. La investigación total se resume en 26 tablas, 27 figuras, 21 gráficas y en 152 páginas. Se espera, que sea útil a aquellas personas o comunidades que buscan implementar la *Lippia alba*, dentro de sus cultivos.

1. MARCO TEÓRICO

1.1 PLANTAS AROMÁTICAS

Una PA habitualmente es definida como aquella que genera por algún proceso fisicoquímico, principios activos de olor o sabor agradable. Es necesario tener en cuenta que los principios activos no siempre se producen en condiciones naturales. Algunas veces se deben someter las PAs a un tratamiento postcosecha para que produzcan aromas. No todos los productos aromáticos tienen características organolépticas agradables; existen algunos, que por su finalidad poseen olores despreciables [11, 12].

1.2 METABOLISMO DE LAS PLANTAS

El conjunto de reacciones químicas que tienen lugar dentro de las células de los organismos vivos se denomina metabolismo.

En las plantas las células vegetales realizan procesos metabólicos comunes que conducen a la formación de compuestos que, dependiendo del origen biosintético y el papel bioquímico, se clasifican en metabolitos primarios o secundarios [13, 14].

Las rutas metabólicas primarias producen metabolitos que son fundamentales para la vida celular y en general, para la planta, por lo que se conocen como primarios. Estos compuestos incluyen los azúcares simples, aminoácidos, grasas, proteínas y ácidos nucleicos, entre otros. Los metabolitos secundarios, denominados así, porque no tienen un papel directo en el crecimiento y desarrollo de las plantas, poseen usos más limitados [13-16].

La biosíntesis de los metabolitos secundarios suele hallarse restringida a fases específicas del desarrollo tanto del organismo como de las células especializadas y a períodos de estrés causados por diversas situaciones (Véase **Figura 1**), entre ellas, la deficiencia de nutrientes, factores ambientales o el ataque de microorganismos y herbívoros.

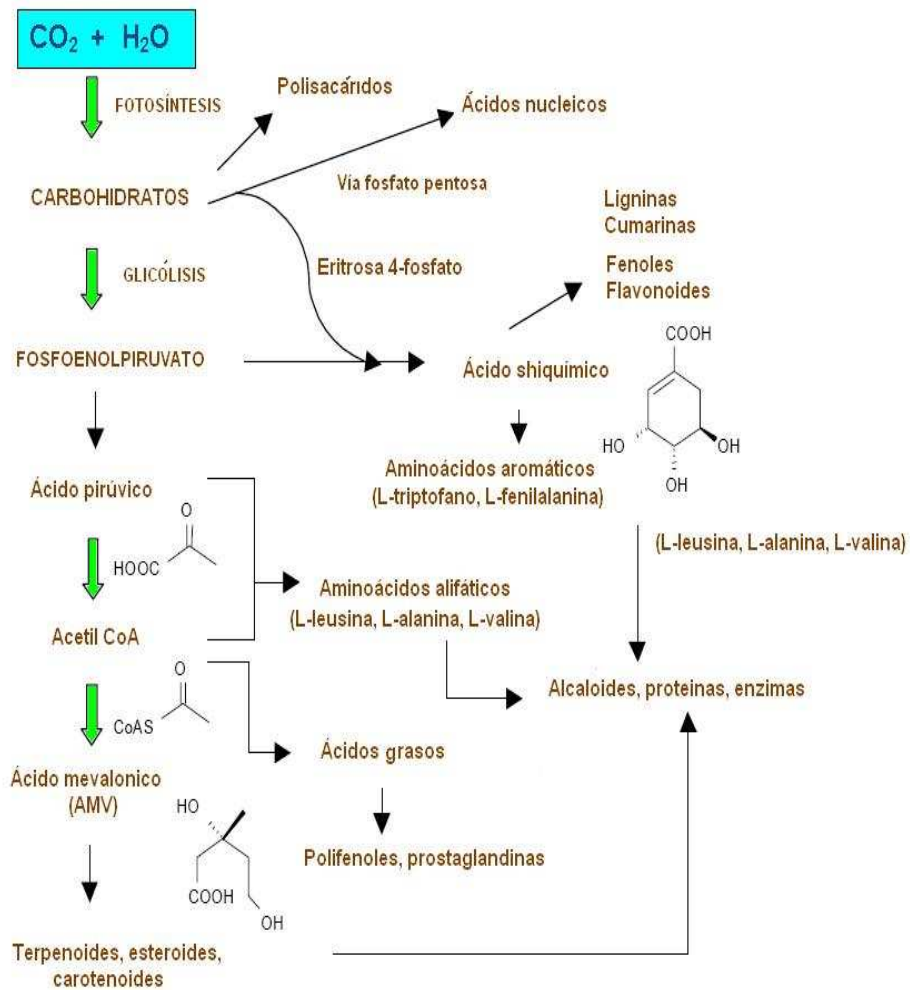
Figura 1. Factores de “estrés”, que pueden afectar la producción de metabolitos secundarios de las plantas.



Las moléculas esenciales para las plantas son las que constituyen los materiales de partida para las más importantes rutas del metabolismo secundario (Véase **Figura 2**) [13].

Con base en su estructura, los metabolitos secundarios de las plantas pueden ser divididos en 3 grandes grupos, a saber: terpenoides, compuestos nitrogenados y fenólicos. Sin importar que sean de la misma especie, es decir, que sus precursores químicos sean los mismos, la cantidad y diversidad de estos compuestos varía de una planta a otra [13-18].

Figura 2. Rutas biosintéticas del metabolismo secundario de las plantas [15].



Uno de los grupos de metabolitos con actividad biológica importante, formados por la polimerización de unidades del compuesto C_5 isopentenil pirofosfato, que, a su vez, se forman en la vía del ácido mevalónico, son los terpenos o isoprenoides [13-15, 17].

1.3 TERPENOS

Constituyen la clase más grande de metabolitos secundarios, las diversas sustancias de esta clase son generalmente insolubles en agua. Pertenecen a la

clase de lípidos sencillos y comprenden una amplia gama de compuestos como vitaminas, pigmentos vegetales y muchos otros productos naturales como los AE de las PAs.

Todos los terpenos son derivados de la unión de cinco carbonos elementales que tienen ramificaciones en su esqueleto de isopentano. La estructura elemental de los terpenos se denomina, por lo general, unidad isoprénica, ya que a altas temperaturas los terpenos pueden descomponerse generando isopreno [14, 16, 18].

1.3.1 Posible función biológica de los terpenos

Los metabolitos secundarios cumplen funciones ecológicas, proveen defensa contra herbívoros o patógenos, atraen animales que dispersan las semillas o el polen, protegen contra los rayos UV, o actúan como inhibidores de germinación de plantas vecinas [16].

1.4 ACEITES ESENCIALES

El aceite esencial (AE), es una mezcla de componentes volátiles, producto del metabolismo secundario de las plantas.

Las esencias son mezclas más o menos complejas en cuya composición entra una porción de hidrocarburos de la serie polimetilénica del grupo de los terpenos que responden a la fórmula $(C_5H_8)_n$ (monoterpenos, $n=2$; sesquiterpenos, $n=3$; diterpenos, $n=4$), junto con otros compuestos casi siempre oxigenados (alcoholes, éteres, ésteres, aldehídos y compuestos fenólicos) que son los que imparten a los aceites esenciales el aroma que los caracteriza [19-21]. El AE se encuentra almacenado en glándulas aceitosas, venas, sacos de aceite, o cabellos glandulares de diferentes partes en las plantas [20].

El valor comercial y el uso del aceite esencial dependen básicamente de su composición química, la cual a su vez está condicionada por diversos factores de tipo botánico y agrícola [20, 22].

1.4.1 Factores que influyen sobre la composición y el rendimiento del aceite esencial

- ✓ Condiciones geobotánicas del medio: Clima, altitud, tipo de suelo, cantidad de lluvia.
- ✓ Método de cultivo: Uso de fertilizantes, abonos, pesticidas, otros agentes químicos.
- ✓ Época de recolección y parte de la planta: Raíz, tallo, hojas, semillas.
- ✓ Manejo y almacenamiento del material vegetal: Fresco, seco, fermentado.
- ✓ Método de extracción: Arrastre con vapor, expresión, hidrodestilación asistida con la radiación de microondas [19].

1.4.2 Propiedades fisicoquímicas de los AEs:

- ✓ AEs son generalmente líquidos a temperatura ambiente;
- ✓ La mayoría son incoloros;
- ✓ Inestables ante la presencia de luz, oxidantes, reductores y a pH extremos;
- ✓ Son solubles en solventes no polares (entre más liposolubles, mayor contenido de monoterpenos);
- ✓ Presentan poca solubilidad en agua;
- ✓ Refractan la luz polarizada [19].

1.5 EXTRACCIÓN

La mayoría de los procesos extractivos usados para plantas aromáticas, son difusionales, es decir, la separación se realiza por la transferencia o difusión de uno o varios componentes cuando dos fases se ponen en contacto;

entendiéndose por difusión el movimiento a escala molecular de componentes químicos de una región de alta concentración a una de concentración baja.

1.5.1 TÉCNICAS CONVENCIONALES

1.5.1.1 Técnicas discontinuas convencionales: las más usadas son la extracción con agua (bajo condiciones ambientales), sin la aplicación de una fuente de energía [23].

1.5.1.2 Técnicas continuas convencionales: están la destilación con vapor, destilación con agua (hidrodestilación) [20, 24], y destilación al vacío [23].

1.6 TÉCNICA EMPLEADA: hidrodestilación asistida por la radiación de microondas (MWHD)

Esta técnica tiene gran importancia biológica y ambiental, se emplea principalmente para reducir el tiempo de extracción y reacciones químicas [20, 24].

Las ventajas de usar la energía de microondas, y no una fuente de calor en contacto directo, incluyen un calentamiento más efectivo, una rápida transferencia de energía, reducción de gradientes térmicos, incremento en la producción y eliminación de pasos en el proceso [25]. Cuando se usa la energía de microondas, la extracción puede llevarse a cabo en recipientes cerrados o abiertos, usando solventes con una constante dieléctrica alta que la absorban [26, 27].

El principio de este sistema es el calentamiento dieléctrico [28], que aprovecha la radiación de microondas; la técnica fue inicialmente patentada en Canadá por Paré y colaboradores en 1983 [29]. Consiste en la transformación de la energía electromagnética de las microondas en energía calórica, la cual calienta un líquido que es transparente a esta radiación y que está en contacto

con muestras sólidas, en este caso el material vegetal, rompiendo las estructuras celulares que contienen a la esencia, por efecto de su presión de vapor; la esencia es así liberada y se realiza la partición de los compuestos de interés en el solvente por difusión, estos son dirigidos con el vapor de agua al montaje tipo *Clevenger* donde se colectan, se condensan y se separan por decantación [27,28, 30].

1.7 PLANTA BAJO ESTUDIO: *Lippia alba*

Pertenece a la familia Verbenáceae, que incluye géneros de hierbas, arbustos, árboles y lianas, todas caracterizadas por sus hojas opuestas (en espiral). Algunas especies de *Lippia* son subarbustos, difieren de la *Lantana* en su cáliz dentado en lugar de truncado [31]. Su AE aún no posee una denominación propia en el mercado [4].

- ✓ Sinónimos: *Lantana alba* Mill, *Lippia citrata* Cham., *Verbena odorata* Pers.
- ✓ Nombres comunes: Colombia: Pronto alivio; Cuba: Quita dolor, menta americana, toronjil isleño; Guatemala: Mastranto, Salvia santa; México: Hierba buena.
- ✓ Estudios previos: fue fertilizada por Dos Santos e Innecco [32], con un producto comercial: “Vitasolo”, al que llamaron condimento orgánico, los resultados de este trabajo se vieron hasta la segunda cosecha, los autores no evidenciaron diferencias significativas entre tratamientos, en cuanto a la producción de hojas secas y AE. Sin embargo, el contenido de limoneno no se afectó por la fertilización; al contrario del contenido de la carvona, que disminuyó en las plantas durante la primera recolección; pero en la segunda y en ausencia de fertilizante, obtuvieron una mayor cantidad [32]. Por otra parte, Ming [33], estudió el uso de reguladores de crecimiento en las plantas, quien apreció que se genera cierta tendencia a aumentar la materia seca de los tallos, hojas y flores. Sin embargo, los resultados obtenidos fueron menores o iguales a los de las plantas testigo [33].

1.7.1 Descripción botánica

Lippia alba es una hierba perenne, erecta, algunas veces arbusto o subarbusto, hasta 2 m de alto, con un fuerte olor a limón, lima o menta, densamente pubescente. Hojas decusado-opuestas o ternadas; lámina ovada u oblonga, 2-7 cm de longitud, márgenes serrados [8].

1.7.2 Método de reproducción

La *Lippia alba* puede propagarse con estacas semileñosas con un par de hojas, o con estacas leñosas sin hojas, con tamaños desde 10 a 20 cm de longitud [9]. Cabe resaltar, que un aumento en el tamaño de la estaca, proporciona un aumento lineal en la producción de raíces y retoños.

1.7.2 Producción anual

La biomasa foliar producida está alrededor de 5 ton/ha en 4 cortes durante un año [34].

1.7.3 Usos etnomédicos

La *Lippia alba*, en general, se ha usado como antiespasmódico en cólico hepático, en trastornos digestivos, para la tos, para resfriados, expectorante, como sedante, para afecciones hepáticas, gastrointestinales, contra resfriado, congestión de las vías respiratorias y afecciones de la piel [8].

1.7.4 Quimiotipos

La composición química diferente para cada especie, se debe a factores de orden genético endógeno [35], así como del origen geográfico y de la época vegetativa de la planta [36, 37]; la síntesis de los metabolitos secundarios está influenciada igualmente por factores externos y técnicos, como lo son los climáticos, el suelo, la latitud y altitud, incluyendo forma de plantación, tiempo de corte y fertilización [33].

Además de los quimiotipos naturales, a través de mutación genética controlada pueden generarse otros nuevos, como lo es el caso de la *Lippia alba* llamada “Bhurakshak”, que se caracteriza por el nuevo aroma de su AE constituido principalmente por 1,8-cineol (7.2%), linalool (42.3%), y citrales A (14.2%) y B (12.9%), que hace más atractivo su aceite para la industria cosmética y de jabones, ya que ninguna otra *Lippia*, posee estos terpenos constituyentes en las mismas proporciones [38]. En la **Tabla 1**, se muestran algunos quimiotipos de la planta de acuerdo con su ubicación geográfica [39-49].

Tabla 1. Quimiotipos de *Lippia alba*, según su origen geográfico.

PAÍS	COMENTARIOS	COMPUESTOS MAYORITARIOS
Uruguay [39]	<i>Lippia alba</i> (Mill.) N.E. Brown cultivada en un área experimental a micro-escala, el AE analizado por GC y GC-MS (cuadrupolo). Se identificaron 27 compuestos. Es un quimiotipo rico en (+)-linalool.	Linalool (55%).
Guatemala [40]	El aceite esencial fue obtenido por hidrodestilación, con un rendimiento del 0.22%; analizado por GC y GC-MS.	Limoneno (43.6%) y piperitona (30.6%).
Brasil [41]	Los aceites esenciales fueron analizados por GC-MS. Las plantas fueron recolectadas en tres municipios de Brasil (Santa Maria, Belterra, Chaves). Dándose a conocer tres quimiotipos de <i>Lippia alba</i> .	Tipo A (Santa Maria): 1,8-Cineol (34.9%), limoneno (18.4%), carvona (8.6%) y sabineno (8.2%). Tipo B (Belterra): Limoneno (32.1%), carvona (31.8%) y mirceno (11.0%). Tipo C (Chaves): Neral (13.7%), geranial (22.5%), germacreno-d (25.4%) y β -cariofileno (10.2%).

Continuación, **Tabla 1.**

India [42]	El aceite esencial se obtuvo por hidrodestilación con un rendimiento entre 0.6 y 0.8%. El análisis se realizó por GC y GC-MS y se identificaron 15 compuestos (4 monoterpenos, 8 monoterpenos oxigenados y 3 sesquiterpenos).	Linalool (65%).
Cuba [43,44]	El aceite esencial fue analizado por GC y GC-MS. Se identificaron 42 compuestos.	Carvona (28.95%), β -guaieno (11.53%), limoneno (6.50%) y piperitona (6.35%).
Argentina [45]	El material fue recogido en diversas épocas de desarrollo fisiológico de la planta. El aceite esencial fue obtenido por hidrodestilación y analizado por GC-FID	Linalol, neral y geranial dependiendo de la época de recolección (otoño, primavera y verano).
Colombia [46]	Se estudiaron los metabolitos secundarios volátiles, obtenidos por diferentes técnicas de extracción, de tres plantas de la familia Verbenaceae, entre estas la <i>Lippia alba</i> (Mill.) N.E. Brown.	Métodos extractivos: Carvona (40-57%), limoneno (24-37%), biciclosequifelandreno (2-22%). Métodos <i>Headspace</i> : Limoneno(27-77%), carvona (14-30%), biciclosequifelandreno (1-33%).
Colombia [47]	Comparación de la composición química de los aceites esenciales de las plantas de <i>Lippia alba</i> (Mill) N.E. Brown, provenientes de diferentes regiones de Colombia. La variabilidad en la composición química de los AEs extraídos, se debe a factores geobotánicos, condiciones de cultivo y, posiblemente, a la diversidad genética de la especie.	Los aceites esenciales (MWH) de <i>Lippia alba</i> de 14 localidades de Colombia se ser clasificarón, según su composición química, en tres quimiotipos, a saber: Carvona, Citral y un quimiotipo Híbrido, no descrito previamente en la literatura, caracterizado por la presencia tanto de la carvona (ca. 23%), como del citral (ca. 20%).
Colombia [48]	Estudio comparativo de la composición y actividad biológica de los aceites esenciales extraídos de <i>lippia alba</i> , <i>Lippia Origanoides</i> y <i>phyla (lippia) dulcis</i> , especies de la familia <i>verbenaceae</i> . Muestra que el contenido de AE en las plantas estudiadas varía de una especie a otra: <i>Lippia origanoides</i> contiene 1.46±0.05% siendo la especie de mayor rendimiento del aceite, seguida de <i>Lippia alba</i> , quimiotipo carvona, con 0.97±0.03%, y <i>Lippia alba</i> , quimiotipo citral, con 0.4±0.03%; el rendimiento más bajo de AE lo presenta <i>Phyla (Lippia) dulcis</i> , con tan solo 0.129±0.008%.	MWH: <i>L. alba</i> , quimiotipo citral: Neral, 19% y geranial, 23%. <i>L. alba</i> , quimiotipo carvona: 38% de cetonas cíclicas (carvona, piperitenona, piperitona), <i>L. origanoides</i> , timol, 14% y carvacrol, 33%. <i>Phyla (Lippia) dulcis</i> , alto contenido de sesquiterpenos (63%).

Continuación, **Tabla 1.**

<p>Antillas francesas [49]</p>	<p>Se estudiaron los extractos polares de hojas de <i>Lippia alba</i>, de 4 regiones y locaciones diferentes, debido a que tenían un amplio uso en farmacéutica. A y B son locaciones de Guadalupe; C de la Guiana francesa y D es una locación de Martinica.</p>	<p>A. Goubeyre: Citral (53.9% 33.1% neral and 20.8% geranial), α-guaieno (6.3%), y ocimeno (6.7%: 0.4% (Z)-ocimeno y 6.3% (E)-ocimeno).</p> <p>B. Capesterre: 16.9% Citral (9.1% geranial y 7.8% neral), 15.4% α-guaiene, 13.9% ocimen (0.6% (Z)-ocimeno y 13.3% (E)-ocimeno), 9.2% β-caryofileno, 8.5% γ-terpineno, 6.5% β-myrcene, 5.6% p-cymene y 5.0% 6-metilhept-5-en-2-one</p> <p>C. Cayenne: Carvona (67.8%) y limoneno (18.5%).</p> <p>D. Pierre: Limoneno (51.1%) y D-germacreno (18.1%)</p>
--------------------------------	---	--

1.7.5 Farmacología y actividad biológica

El alto contenido de alcanfor en el AE del género *Lippia* y, que ha sido utilizado como expectorante, podría explicar el fundamento de su uso popular en los trastornos respiratorios [8]. Ricciardi *et al.*, atribuyen algunas de las propiedades de esta planta al alto contenido de terpenos livianos, como 1,8-cineol, limoneno, β -mirceno [37].

Estudios realizados con infusiones de la planta, demuestran que posee una potente actividad antiulcerogénica, además no modifica el pH gástrico, ni la acidez total, a diferencia de los medicamentos comúnmente usados en este tipo de enfermedades; igualmente las dosis trabajadas, no causaron lesiones gástricas o hiperanemia [50]. Las hojas de *Lippia alba* presentan actividad antimicrobiana, antiedematogénica, anticonvulsiónante y analgésica [51, 52].

Extractos en etanol y diclorometano, sugieren la presencia de compuestos antiproliferativos contra el herpes, siendo los segundos los más tóxicos [53]; en etilacetato tienen actividad antipolivirus del herpes tipo II [54]. Extractos en

etanol (80% v/v) de *Lippia alba* (quimitipo β -caryophyllene (33.9%)), tienen actividad sedativa, relacionada con la presencia de compuestos no volátiles en las hojas (posiblemente los flavonoides) [55]. Las propiedades cambian según el quimitipo, como es de esperarse; mientras que la *Lippia alba* quimitipo “Linalool” (50.0-79.2%), presenta actividad antioxidante semejante a la de la vitamina E [56], la *Lippia alba*, quimitipo “Carvona”, posee una actividad antirradicalaria más baja que la de esta sustancia y el Trolox® [48].

1.8 ESTADO DINÁMICO DE LA *Lippia alba*

Extracciones realizadas en períodos lluvioso y seco, a distintas horas del día, muestran el dinamismo de interconversión que ocurre entre las sustancias que componen el AE, al obtenerse mayor cantidad de AE en período seco y una concentración superior de carvona entre las 15 y 17 horas del día [57, 58]; los autores citan a Castro [59], quien explica que estas interconversiones resultan de variables ambientales que actúan sobre el metabolismo celular, en las que intervienen reacciones de oxidación, reducción, hidratación, deshidratación, ciclación e isomerización. Al realizarse las extracciones con secado natural, el rendimiento del AE aumenta hasta el día cuarto y disminuye después [58]; con secado artificial y a temperaturas más altas (50-70°C), se obtiene mayor cantidad de AE, sin cambio alguno en sus componentes mayoritarios [60].

En cuanto al estado nutricional de la planta, refiriéndose a su contenido de macro- (N, P, K, Ca, Mg) y micronutrientes (Cu, Mn, Fe, Zn), es variable durante los distintos meses del año [61].

1.9 COMPONENTES MAYORITARIOS DE *Lippia alba* COLOMBIANA

1.9.1 Carvona: es el compuesto mayoritario del quimitipo colombiano [46]; es una cetona monoterpénica diinsaturada [19]. Es el constituyente principal en la

alcaravea (*Carum carvi* L.): (47-81.17%) y es uno de los componentes mayoritarios de la semilla de eneldo (*Anethum graveolens*, L.): (27.29%) [62].

La importancia de este compuesto se debe a la amplia gama de usos que tiene: Actúa como inhibidor de retoños o brotes, como agente antimicrobiano, es repelente, posee relevancia médica al ser un potencial agente quimiopreventivo y es usado como saborizante y aromatizante [63].

1.9.2 Limoneno: es un monoterpeno ópticamente activo, es el principal constituyente de los AEs de cítricos, y es el segundo componente mayoritario del AE de *Lippia alba*, cultivada en Colombia [47].

Es usado comúnmente en la industria de pinturas como disolvente biodegradable, como solvente en jabones y champúes para mascotas, como reemplazo de solventes clorocarbonados empleados en la industria electrónica y ha sido empleado como ingrediente activo de formulaciones pesticidas.

El limoneno es uno de los principales ingredientes en la industria de saborizantes, y es ampliamente utilizado en los laboratorios para la síntesis de la carvona vía oxidación del limoneno [20, 64].

1.10 ANÁLISIS INSTRUMENTAL

1.10.1 Cromatografía de gases (GC) y espectrometría de masas (MS)

La cromatografía es una potente técnica analítica que puede separar los componentes de una muestra y, al mismo tiempo, determinar sus concentraciones. Las separaciones cromatograficas utilizan repartos selectivos de los componentes de la muestra entre una fase estacionaria que permanece

inmovilizada en el interior de la columna y una fase móvil que atraviesa esta columna [65, 66].

El proceso cromatográfico ocurre como el resultado de repetidos actos de absorción/desorción, durante el movimiento de los componentes de la muestra a través de la fase estacionaria; la separación se da debido a las diferencias en la constante de distribución (K), de cada uno de los analitos [67].

Las muestras analizadas por esta técnica pueden ser líquidas, sólidas o estar en fase gaseosa y son introducidas al sistema cromatográfico a través del inyector por un sistema dinámico que va a la cabeza de la columna [68], ya sea en un modo *split* o *splitless*. La inyección *split* proporciona una rápida transferencia de una pequeña porción de los analitos a la columna, lo que genera picos cromatográficos angostos. En el modo *splitless*, toda la muestra es introducida en la columna con un flujo bajo; este método de inyección es usado para análisis de componentes en concentraciones bajas [68].

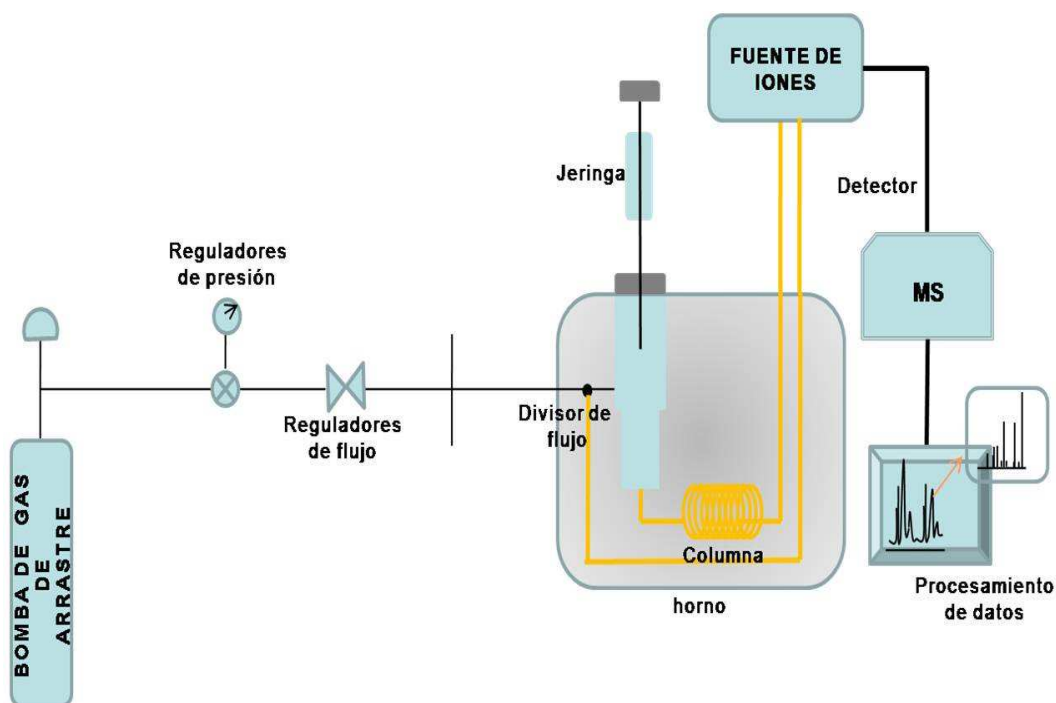
Las columnas capilares implementadas en el presente estudio son de sílice fundida (resistentes y flexibles) y están recubiertas por una delgada capa de fase estacionaria; en la mayoría de los casos, la polaridad de esta fase debe ser parecida a la de los analitos de la muestra; cuando esta fase es apolar, el orden de elución, viene determinado por el punto de ebullición de los compuestos [65, 66, 68-70], estos analitos salen de la columna directamente acoplada a un espectrómetro de masas de cuadrupolo con ionización electrónica (EI).

El principio de operación de la espectrometría de masas (MS), consiste en la generación de iones moleculares cargados positivamente y fragmentos de moléculas, provenientes de la columna GC, mediante el bombardeo con electrones. Los iones fragmento producidos, entran al filtro de masas, *i.e.* cuadrupolo, donde son separados de acuerdo con su relación masa/carga (m/z). Después de la detección de los iones con un electromultiplicador, se obtiene la corriente iónica total, cromatograma, dando información sobre los t_R

de cada compuesto y sus espectros de masas, consistentes con sus patrones de fragmentación únicos. *MS* es un método de detección de alta sensibilidad con una cantidad mínima de muestra dentro del rango de 0.1 a 1 ng por compuesto, que puede incrementarse en el modo de monitoreo del ion seleccionado (*SIM*), en el cual, se escogen los iones representativos de un compuesto en particular [71].

Los componentes básicos de un instrumento para cromatografía de gases acoplada a un detector selectivo de masas (*GC-MS*) se muestran en la **Figura 3**, que incluye un cilindro de gas portador o de arrastre, que debe ser químicamente inerte (helio, hidrogeno y nitrógeno), para no interferir en la detección de los componentes.

Figura 3. Diagrama del cromatógrafo de gases acoplado a un detector de masas.



1.11 PREPARACIÓN DE LA MUESTRA PARA ANÁLISIS GC-MS

Un AE debe ser diluido para tener respuesta dentro del rango dinámico lineal del detector y en un solvente apropiado que cuando se volatilice, no supere el volumen de la cámara de vaporización del puerto de inyección. Éste es el caso del solvente usado, diclorometano.

1.11.1 Identificación de sustancias

Además del espectro de masas de la sustancia, su identificación se realiza por medio de criterios instrumentales. La forma más común, es calcular los índices de Kovàts (I_k) donde la relación se determina con respecto a una mezcla patrón de hidrocarburos lineales que generalmente están en el rango entre C_5 y C_{30} , analizados bajo las mismas condiciones operacionales a las cuales se corrió la muestra. Los índices de Kovàts se calculan según la **Ecuación 1**:

$$I_k = 100C_n + 100[t_{RX} - t_{Rm} / (t_{RM} - t_{Rm})] \quad \text{Ecuación 1.}$$

Donde C_n es el número de átomos de carbono del hidrocarburo que eluye antes del compuesto de interés, t_{RX} es el tiempo de retención del componente de interés, t_{Rm} es el tiempo de retención del hidrocarburo que eluye inmediatamente antes del compuesto de interés, y t_{RM} es el tiempo de retención del hidrocarburo que eluye después del compuesto de interés [72, 73].

1.11.2 Análisis cuantitativo

La cuantificación de los componentes, implica conocer la concentración de cada uno de ellos en la muestra, para lo cual el método más usado es el de estandarización interna [67] (Ver **Ecuación 2**), en el cual el área del compuesto de interés se compara con el de la sustancia patrón, de la cual se conoce la concentración:

$$C_x = C_i \times (A_x/A_i) \quad \text{Ecuación 2.}$$

Donde:

C_x = Concentración del compuesto de interés;

C_I = Concentración del estándar interno;

A_x = Área del compuesto de interés;

A_I = Área del estándar interno.

1.12 RESIDUOS ORGÁNICOS

Se refiere a todos aquellos que tienen su origen en los seres vivos, animales o vegetales y se generan durante el “ciclo vital”, como consecuencia de las funciones fisiológicas de mantenimiento y perpetuación o son producto de la explotación por el hombre de los recursos bióticos [74, 75].

1.13 COMPOSTAJE

El compostaje es una técnica que se enfatiza en el reciclaje, la disminución y la eliminación de patógenos de los desechos de actividades domésticas e industriales, que además no degrada el medio ambiente y cuyo producto final es el *compost* [76].

La palabra *compost* viene del Latín “*Componere*”, que significa juntar [74] y, en general, es materia orgánica (MO), que ha sufrido una descomposición aeróbica, termofílica parcial, es decir, un proceso bio-oxidativo controlado, en donde la etapa termofílica se encarga de la higienización [77, 78].

Un método accesible y de bajo costo, consiste en la formación de montones de residuos, que se revuelven periódicamente para mejorar su aireación, homogeneización y acelerar su proceso de descomposición [79].

La práctica de utilizar restos orgánicos para producir abono se ha realizado desde los inicios de la civilización occidental (Roma y Grecia), donde los granjeros amontonaban estiércol para utilizarlo como fertilizante. La técnica de compostaje permaneció intacta hasta que a principios del siglo XX surgieron movimientos que revalorizaban el uso de la materia orgánica, liderados por el científico británico Alberth Howard [80], quien en la India implementó el método *Indore*, que consistía en capas o estratos de material biodegradable ubicados en zanjas elaboradas en el suelo entre 60-90 cm de profundidad que se volteaba dos veces durante todo el proceso del compostaje, que duraba seis meses o más [74, 80, 81].

Poco a poco se fue confirmando la influencia de factores tales como microorganismos, humedad, aireación y temperatura en el proceso, con estudios iniciados en los EE.UU. (1953) – Universidad de California [82]; hoy en día, se sigue estudiando para mejorar el proceso, e incluir nuevas materias primas.

1.13.1 Sistemas de compostaje

a. Sistema en camellones o parvas: parvas, camellones o pilas es la denominación que se le da a la masa de residuos en compostaje cuando la misma presenta una morfología y dimensiones determinadas. Pueden ser con aireación mecánica (mediante remoción de las pilas) o con sistemas estáticos [75, 80].

b. Sistema en reactores: los reactores, son estructuras, por lo general metálicas, donde se procura mantener constantes parámetros como la humedad y la aireación [75, 80].

1.13.2 Dinámica del compostaje

La dinámica del proceso de compostaje empieza a partir de la descomposición de la MO, lo cual libera calor, aumentando la velocidad de las reacciones que

durante el proceso sufre la MO, tales como degradación y transformación, luego, mineralización y humificación. Estos procesos corresponden a diferentes contenidos de energía, los cuales se reflejan por el comportamiento térmico de las muestras [83]. Mediante métodos térmicos se ha confirmado que los primeros en degradarse son los carbohidratos, seguidos por las estructuras aromáticas y por último se degradan los carbonatos [83, 84].

1.13.3 Materiales a compostar

- a. Residuos de jardín: hojas, recortes de césped, podas de plantas y matorrales
- b. Estiércoles: de vaca, caballo, cerdo, ovejas y aves.
- c. Residuos de la actividad agroindustrial: provenientes de las industrias cafetera, arroceras, azucarera, entre otras [80, 81].

1.13.4 Características de los procesos de transformación biológica de la MO

Tabla 2. Análisis comparativo de los procesos de transformación aerobios y anaerobios.

CARACTERÍSTICA	PROCESOS AEROBIOS	PROCESOS ANAEROBIOS
Uso energético	Consumidor neto de energía	Productor neto de energía
Productos finales	Humus, CO ₂ , H ₂ O	Fangos. CO ₂ , CH ₄
Reducción de volumen	Hasta del 50% volumen inicial	Hasta el 50% del volumen inicial
Tiempo de procesamiento	20-30 días	20-40 días
Objetivo primario	Reducción de volumen	Producción de energía
Objetivo secundario	Producción de <i>compost</i>	Reducción de volumen

1.14 COMPOSTAJE AERÓBICO: MICROBIOLOGÍA

Las bacterias, levaduras, hongos y actinomicetos, son los microorganismos encargados de la conversión biológica de la MO [75, 80]; permanecen en el

compost final, debido a que están presentes tanto en los materiales de partida, así como también, son el resultado del proceso de compostaje [85].

Además son de gran importancia, porque mejoran la estructura del suelo, permiten el ciclo de los nutrientes, y mantienen a menudo la buena salud de las plantas [86], ya que según Fichtner [87], el aumento de microorganismos en el suelo, que se produce al adicionar *compost* cambia el balance entre microorganismos patógenos y los benéficos, disminuyendo los efectos nocivos, que los primeros generan.

- ✓ **Bacterias:** las bacterias son de naturaleza ubicua, unicelulares y pueden ser cocos, bacilos o espirilos; se encuentran en ambientes aeróbicos y anaeróbicos o facultativos [74, 80, 88]. El pH óptimo de su crecimiento está entre 6.5 y 7.5 [80, 89].

- ✓ **Hongos:** se consideran como protistas multicelulares, no fotosintéticos, heterotróficos. No favorecen el crecimiento de bacterias, y pueden tolerar valores de pH relativamente bajos, altos niveles de oxígeno, la mayor parte son mesofílicos y muy pocos son termofílicos; su metabolismo es aerobio y crecen en largos filamentos llamados hifas.

- ✓ **Levaduras:** son hongos que no pueden formar filamentos y, por tanto, son unicelulares.

- ✓ **Actinomicetos:** son un grupo de organismos con propiedades intermedias entre bacterias y hongos. Degradan desde azúcares simples, proteínas, ácidos orgánicos, hasta sustratos muy complejos, compuestos por hemicelulosa, ligninas y parafinas [90].

Según la gama de temperatura en que funcionan mejor, las bacterias pueden clasificarse como psicrófilas, mesófilas o termófilas.

Tabla 3. Rangos de temperatura típicos para diversas bacterias.

Clasificación	Temperatura °C	
	Rango	Óptimo
Psicrofílicos	-10 – 20	15
Mesofílicos	20 – 50	35
Termofílicos	45 – 75	55

1.15 CONSIDERACIONES DE DISEÑO Y FUNCIONAMIENTO

1.15.1 Tamaño de partícula: un tamaño de partícula reducido, aumenta la superficie expuesta al ataque microbiano, acelerando la velocidad de descomposición de las partículas. El tamaño ideal para el compostaje es menor de 5 cm, pero se pueden fermentar partículas más grandes [75, 80].

1.15.2 La relación carbono- nitrógeno (C/N): expresa las unidades de carbono por unidades de nitrógeno que contiene un material. El carbono es una fuente de energía para los microorganismos y el nitrógeno es un elemento necesario para la síntesis proteica. Una relación C/N 25 – 35 es la óptima para el inicio del proceso, valores superiores en C/N disminuyen la actividad microbiológica, porque el material a compostar se hace poco biodegradable. Valores bajos de esta relación no afectan el proceso, pero sí la conservación de los nutrientes debido al poco carbono disponible para los microorganismos. De este modo las pérdidas de nitrógeno por volatilización de amoníaco se incrementan, por la falta de estructuras de carbono que permitan retener el nitrógeno [75, 80, 90].

1.15.3 Humedad: el contenido de humedad es una variable que afecta la actividad microbiana. Provee un medio de transporte requerido para disolver los nutrientes necesarios para las actividades metabólicas y físicas de los microorganismos [89]. Durante el compostaje, se libera vapor de agua como un resultado de la descomposición de la MO, dando un alto contenido inicial de

humedad [77]; después, con el aumento de temperatura, es necesaria la adición de agua, teniendo en cuenta que la humedad ideal para el proceso está en el rango de 50-70% [80, 90-92].

El contenido de humedad debe indicarse para la comercialización del *compost* y no debe superar el 40% [90]. Para el control del contenido de humedad, durante el proceso de elaboración, se puede aplicar el siguiente procedimiento empírico [75]:

- a) Tomar con la mano una muestra de material;
- b) Cerrar la mano y apretarla fuertemente;
- c) Si con esta operación verifica que sale un hilo de agua continuo, entonces el material contiene más de un 40% de humedad. Si no se produce un hilo continuo de agua y el material gotea intermitentemente, su contenido en humedad es cercano al 40%;
- d) Si el material no gotea y cuando se abre el puño de la mano permanece moldeado, la humedad se presenta entre un 20 y 30 %;
- e) Finalmente si se abre el puño y el material se disgrega, contiene una humedad inferior al 20 %.

1.15.4 Temperatura: es un parámetro importante en el compostaje, al ser el resultado y un factor determinante de la actividad microbiana, la que al igual que el crecimiento microbial, aumenta con la temperatura [77, 90].

El aumento en la temperatura de los residuos en fermentación, se debe a las reacciones exotérmicas asociadas con el metabolismo respiratorio de los microorganismos [80].

En las pilas se distinguen varios focos de actividad térmica:

- a. Núcleo de compostaje o zona central: la más caliente, sujeta a los cambios térmicos más notorios y

- b. La corteza o zona cortical, que rodea al núcleo y presenta menor temperatura [77, 80].

Durante el compostaje se pueden diferenciar cuatro etapas, en función de la temperatura [75, 77, 80, 83].

- I. **Etapa mesofílica:** va desde 37 a 43 °C, se caracteriza por la presencia de bacterias y hongos, se dan procesos de nitrificación y oxidación de compuestos reducidos de azufre, fósforo, etc; en relación al tiempo, esta etapa se considera corta.
- II. **Etapa termofílica:** inicia cerca del tercer día de compostaje, va desde los 43 a los 70 °C, alcanza su máximo cerca del día cuarto. En este momento, se eliminan todos los microorganismos patógenos, siendo ésta la etapa de la higienización. En ella, se degradan ceras, proteínas, hemicelulosas y escasamente lignina y celulosa.
- III. **Etapa de enfriamiento:** la temperatura llega nuevamente a la ambiental. reaparecen los microorganismos mesófilos, que utilizan como nutrientes los materiales más resistentes a la biodegradación, tales como la celulosa y la lignina restante en las pilas; en este momento la degradación empieza a hacerse lenta [78, 93, 94].
- IV. **Etapa de maduración:** el periodo de maduración puede prolongarse meses, durante el cual se va produciendo un enriquecimiento en sustancias húmicas en el *compost*.

1.15.5 pH: el pH inicial de la masa a compostar es ácido (4,5 – 6.0) debido a la presencia de ácidos orgánicos de cadena corta, principalmente, el láctico y el acético; si el proceso se desarrolla correctamente, el pH aumenta de 8 a 9, permaneciendo básico, a causa de la degradación y mineralización de compuestos orgánicos tales como proteínas, aminoácidos o péptidos, a amoníaco (NH₃) [75, 80, 93, 95].

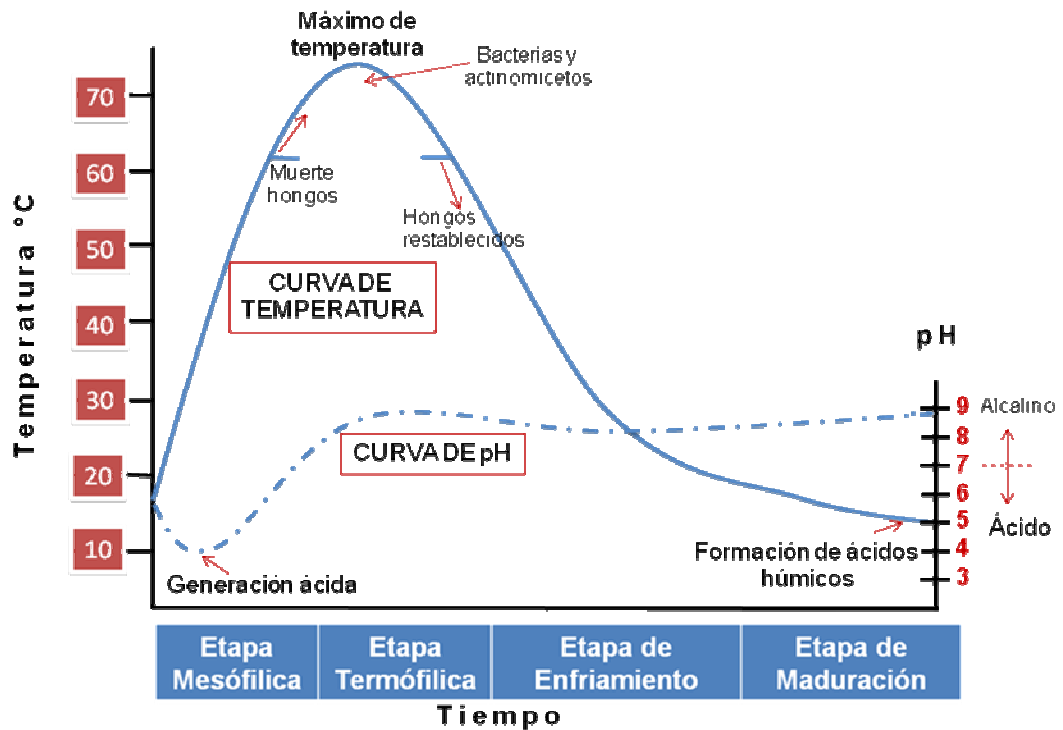
El aumento del pH contribuye con el proceso de higienización, ya que lo altos

niveles de amoníaco generados principalmente por la degradación de algunas proteínas, pone en peligro la supervivencia de los patógenos sobrevivientes de las altas temperaturas [96]. La acidez se puede controlar adicionando agentes neutralizantes como la cal dolomítica, que además actúa como fuente de magnesio [97].

1.15.6 Aireación: el contenido de aire es importante, tanto para suplir las necesidades de oxígeno, como para remover el CO₂, el exceso de humedad y para limitar la excesiva acumulación de calor [77].

Cuando el *compost* se realiza en pilas (montón), la temperatura no aumenta igualmente en todas sus zonas, y en la central se puede presentar una carencia de oxígeno. El volteo constante de la materia a compostar, no sólo permite una adecuada oxigenación, que garantiza las condiciones aeróbicas de degradación, si no que además, homogeneiza toda la MO en descomposición [96].

Figura 4. Descripción gráfica del proceso de compostaje [98].



1.16 ESTABILIDAD Y MADUREZ

Estabilidad y madurez son dos términos usados a menudo para describir la proporción de la descomposición y transformación de la MO en el *compost* [94].

La madurez está asociada con el potencial de crecimiento de las plantas o fitotoxicidad, mientras que la estabilidad lo está a menudo, con la actividad microbiana del *compost* [78]; se refiere al *compost* en el cual la proporción de energía liberada debido a la degradación microbiana de la MO iguala la proporción de energía perdida por el ambiente [94].

Características físicas tales como color, olor y temperatura dan una idea general del estado de descomposición alcanzado, pero dan poca información para determinar el grado de maduración [78]. Usualmente, la madurez se ha evaluado basándose en parámetros químicos [94].

Hay dos métodos simples para probar la estabilidad del *compost* [99], que son:

- a. Tomar un puñado de *compost* (húmedo, pero no seco), manteniéndolo durante 24 horas en una bolsa plástica, para determinar si produce un olor desagradable.
- b. Un montón de *compost* con una dimensión de 1 m³, no debe aumentar sustancialmente su temperatura, en el transcurso de 24 horas.

1.16.1 Parámetros de estabilidad y madurez del *compost*:

a. Color: marrón oscuro-negro.

b. Relación C/N: esta relación decrece durante el proceso de compostaje sin importar la técnica empleada. La cantidad de nitrógeno total (N_t) incrementa en la mayoría de las mezclas debido al efecto de concentración causado por la fuerte degradación de los compuestos fácilmente biodegradables (carbohidratos, aminoácidos, péptidos, etc.), los cuales reducen el peso de la

masa a compostar; y debido además a que la pérdida de N en forma de NH_3 es menor [88, 93].

c. Relación $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$: una relación $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ a favor de la forma oxidada se considera deseable para el *compost* maduro; y se da cuando se multiplican los microorganismos nitrificadores, al terminar la etapa termofílica [93].

d. CEC: los procesos de humificación producen grupos funcionales, y también incrementan la oxidación de la materia orgánica aumentando la capacidad de intercambio catiónico (CEC) [78, 83].

1.16.2 Índices de madurez [77].

$$\text{C/N} < 12$$

$$\text{C}_w < 1.7\%$$

$$\text{C}_w/\text{N}_{\text{org}} < 0.55$$

$$\text{NH}_4/\text{NO}_3 < 0.16$$

$$\text{NH}_4\text{N} < 0.04\%$$

$$\text{CEC} > 60 \text{ por Harada e Inoko}$$

1.16.3 Compost inmaduro: adicionar *compost* inmaduro o desechos orgánicos al suelo, causa un aumento en la concentración de CO_2 y una disminución en el nivel de O_2 del suelo, generando condiciones anaeróbicas. Además, el fuerte aumento en la actividad microbiana promueve la degradación de su MO como efecto primario, y causa la inmovilización del N a través de su incorporación a los tejidos microbianos, haciéndolo temporalmente indisponible para las plantas [100].

Un *compost* inmaduro genera efectos fitotóxicos, al tener sustancias que inhiben la germinación de semillas y el crecimiento de las plantas. El ácido acético, es probablemente el ácido orgánico más dañino, liberado por un *compost* fresco, al igual que otros compuestos presentes, como acetaldehído, etanol, acetonas, etileno y ácidos fenólicos [78, 101]. Otro efecto negativo es que se produce un aumento de los enemigos naturales de las cosechas [6].

1.16.4 Compost Vs. fertilizantes químicos: el uso de fertilizantes sintéticos, cambia bruscamente las propiedades químicas de los suelos, alterando los ecosistemas biológicos, lo que afecta adversamente sus microorganismos endógenos [102].

Tanto el uso de N como de P, reducen el pH del suelo (efecto de acidificación), las irrigaciones generan lixiviados, generando un riesgo potencial para la contaminación de aguas subterráneas y superficiales. Específicamente, en el caso de los nitratos de amonio, se genera una acumulación de nitritos y nitratos y un aumento en la CEC; igualmente, la aplicación de P, produce su acumulación en las capas de arados y, a largo plazo, se reduce la capacidad de absorción por parte del suelo de este elemento [103, 104].

En cuanto a producción, en algunos casos, no existe una diferencia significativa entre las parcelas tratadas con compostaje y los fertilizantes tipo NPK. Sin embargo, se observa una tendencia a obtener mejores resultados, con los abonos orgánicos [6, 103]; adicionalmente, el *compost* aumenta el pH, el contenido de P, K, Ca y Mg en los suelos [6].

Los abonos orgánicos proporcionan una nutrición adecuada y equilibrada a las plantas, las cuales aumentan su densidad foliar, y presentan una mayor estimulación en su microclima, lo que las hace más susceptibles al ataque de enemigos naturales, que aquellas sin abono o abonadas con NPK [100, 105].

1.16.5 Efectos del uso del *compost* en las cosechas: los efectos del uso del compostaje, no sólo dependen de su calidad, que determina el crecimiento y el desarrollo de las plantas [106], sino también de la dosis aplicada, de los materiales de partida y técnica usada en el proceso de su producción, de la planta sobre la cual se va a utilizar, al igual que del momento en el que se aplica [107, 108].

En los cultivos de brócoli, e.g. no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos. Sin embargo, la mayor producción se obtuvo con la dosis

intermedia (0, 22 y 44 Mg/ha) de *compost*, con o sin la adición de fertilizante sintético, por lo cual, los autores sugieren que 22 Mg/ha suple los requerimientos nutritivos para esta planta [103]; en el caso del maíz, se encontró que a mayor cantidad de *compost* mayor biomasa se produce [107]. Para el sésame, todos los tipos de compostaje estimularon su crecimiento, contenido de carbohidratos y minerales [108].

El estudio realizado por Lima *et. al.*, [107] muestra que el *compost* proveniente de residuos previamente seleccionados, proporciona mejores resultados en cuanto a producción de biomasa, altura y diámetro de tallos en las plantas de maíz, que aquel proveniente de residuos no seleccionados [107].

Mirando el efecto en PA, se encontró que el *Cymbopogon winterianus* tenía una respuesta lineal a la cantidad de compostaje aplicado; sin embargo, similar al brócoli, después de cierta cantidad, el aumento fue pequeño [109].

Lo que significa que las plantas sólo absorben la cantidad de nutrientes que requieren para su desarrollo; por lo tanto, un exceso no implica una mayor producción de biomasa.

1.16.6 Ventajas

- a. El *compost* es una buena fuente de elementos mayores [108].
- b. Los nutrientes que contiene el *compost* a diferencia de los fertilizantes minerales, son liberados lentamente, permitiendo la deseada “fertilización de disponibilidad controlada”, lo que proporciona un crecimiento sostenible de las plantas; además, entre más diversa es la materia prima de la cual parte el *compost*, mayor es la cantidad de nutrientes que éste será capaz de suplir [82, 90, 92].
- c. El *compost*, al aumentar la MO del suelo, activa su biota, mejorando su fertilidad [82].
- d. A pesar de que los abonos orgánicos tienen una alta capacidad de

intercambio catiónico (CEC) y una lenta nitrificación del N, logran estabilizar las propiedades químicas de los suelos, al aumentarles su efecto o capacidad *buffer* [103].

- e. El *compost* aumenta la cantidad de los nemátodos, que contribuyen tanto a la descomposición de la MO de los suelos enmendados, como a acrecentar la mineralización del nitrógeno y el fósforo (ciclo de los nutrientes), estimulando el crecimiento de las plantas [110].
- f. El *compost* mejora la salud del suelo. La materia orgánica compostada se une a partículas (arena, limo, arcilla) formando pequeños gránulos que ayudan a la retención y drenaje del agua, mejorando la aireación. [82, 103].
- g. Aumenta la retención de N por parte del suelo y las plantas [111].
- h. Evita los lixiviados nitrogenados característicos de los fertilizantes químicos, que generan eutroficación o contaminación de las aguas subterráneas [111].
- i. Al mezclarlo con N-fertilizantes, provee una mayor producción que la esperada con sólo fertilizantes químicos [111].
- j. Aumenta la producción de peso seco de las plantas, en comparación a aquellas cultivadas en suelos no enmendados y, en algunos casos, se obtienen producciones mayores que al usar NPK [108, 109, 112].

1.17 FIGURAS DE MÉRITO

El tratamiento estadístico de los datos, se realizó determinando la media (\bar{x}), la desviación estándar (σ) y el coeficiente de variación (CV%).

1.17.1 Exactitud

La exactitud se refiere a cuán cercana está una medida de su valor verdadero, aceptado o conocido (correcto) [113]. Conocerla es el propósito de la química analítica cuantitativa. Un análisis no está terminado por sí mismo, éste es el preludio para una interpretación, la cual es seguida por una decisión sobre la acción más apropiada a llevarse a cabo.

1.17.2 Precisión

Es el término usado para describir la cercanía existente entre las réplicas medidas. Un modo para conocer la precisión de un conjunto de medidas es el cálculo de la desviación estándar (σ), así:

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum(X_i - \bar{X})^2}{(n-1)}} \quad \text{Ecuación 3.}$$

Donde:

$$\bar{X} = \frac{\sum_{i=1}^n X_i}{n} \quad \text{Ecuación 4.}$$

X_i = Valor de cada dato;

n= Número de mediciones.

1.17.3 Coeficiente de variación

Un valor de esta medida, por debajo del 10% indica una excelente precisión. Se calcula mediante la fórmula:

$$CV = (\sigma/\bar{X}) * 100 \quad \text{Ecuación 5.}$$

1.18 CIENCIOMETRÍA

La cienciometría es una herramienta que permite situar a un país, una institución, un área temática o un individuo en el contexto mundial de la productividad científica. Es, por lo tanto, una herramienta analítica que ayuda a determinar cuáles son las instituciones, que están produciendo, cómo lo están haciendo, en qué campos de investigación, qué revistas están publicando, cuáles son los autores más citados, cuáles son los principales países con los que se colabora, qué tipo de documentos se están publicando, entre otros [114, 115].

En el desarrollo del presente trabajo, se analizaron diversos tipos de información procedentes de bases de datos, a saber: *Web of Science (ISI Web of Knowledge, Thomson)* y *Elservier (Scopus)*, también de libros, conferencias e *internet*.

La información se obtuvo a partir de la selección de indicadores apropiados en las bases de datos, como nombres de los autores y palabras clave, entre éstas se encuentran: “*compost*”, “*composting*”, “*essential oil*” y “*Lippia alba*” [116, 117].

La revisión bibliográfica se ha realizado durante todo el desarrollo del trabajo de grado. Las últimas revisiones se efectuaron el día 13 de abril de 2007 en *Web of Science* y el 10 de abril de 2007 en *Scopus*.

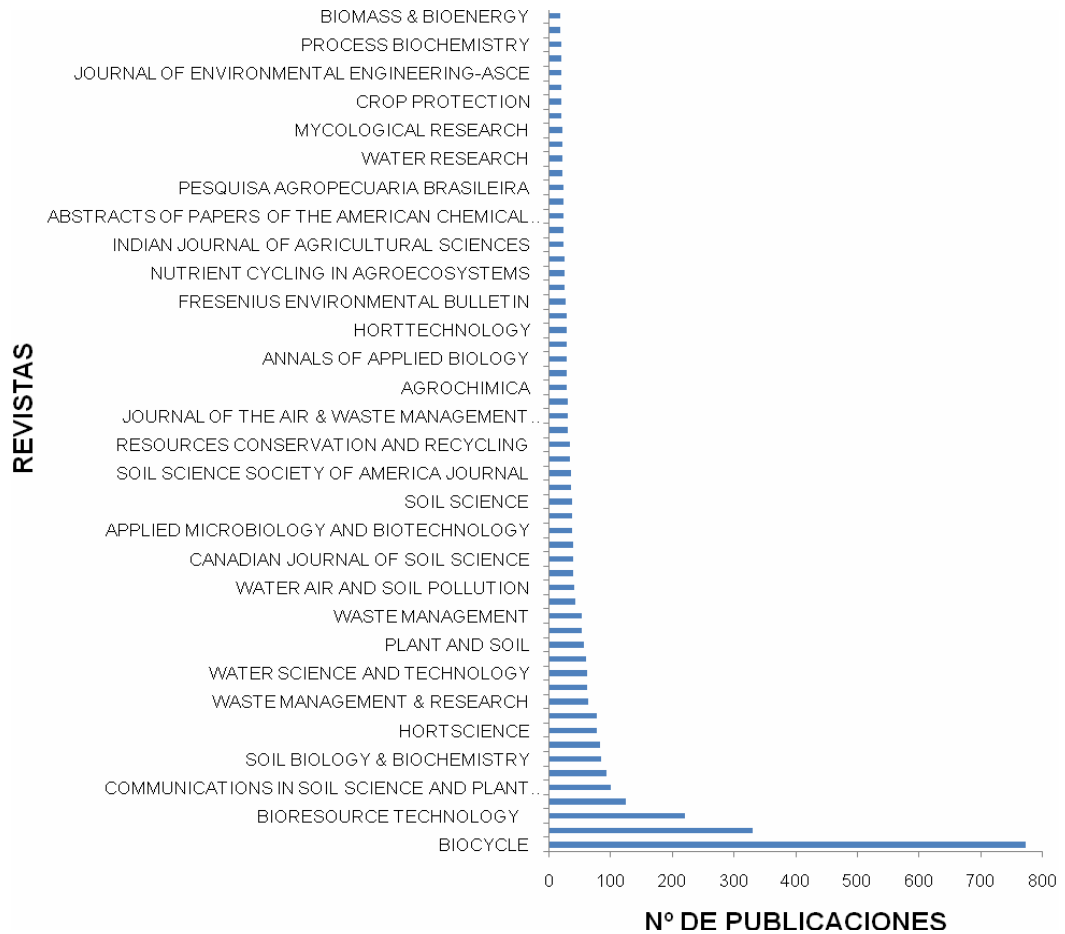
Los resultados de estas consultas se presentan en las siguientes gráficas, donde se muestran los avances y evolución de la actividad científica y técnica del presente tema de investigación.

1.18.1 Análisis cuantitativo del compostaje

El grado de desarrollo alcanzado en el estudio e implementación del compostaje y su importancia a nivel agroindustrial como en otras ramas, pueden ser medidos a través del constante interés por grupos de investigación y científicos de publicar estudios relacionados con el tema.

En las **Graficas 1a** y **1b**, se presenta el número de publicaciones realizadas en revistas y se observa que la más interesada en la divulgación de temas concernientes al compostaje es *BIOCYCLE*, con 774 publicaciones en la base de datos *Web of Science* y 501 en *Scopus*, seguida de *COMPOST SCIENCE & UTILIZATION*. La diferencia de resultados radica en que *Scopus* cuenta con 33 revistas menos que *Web of Science*, en su base de datos.

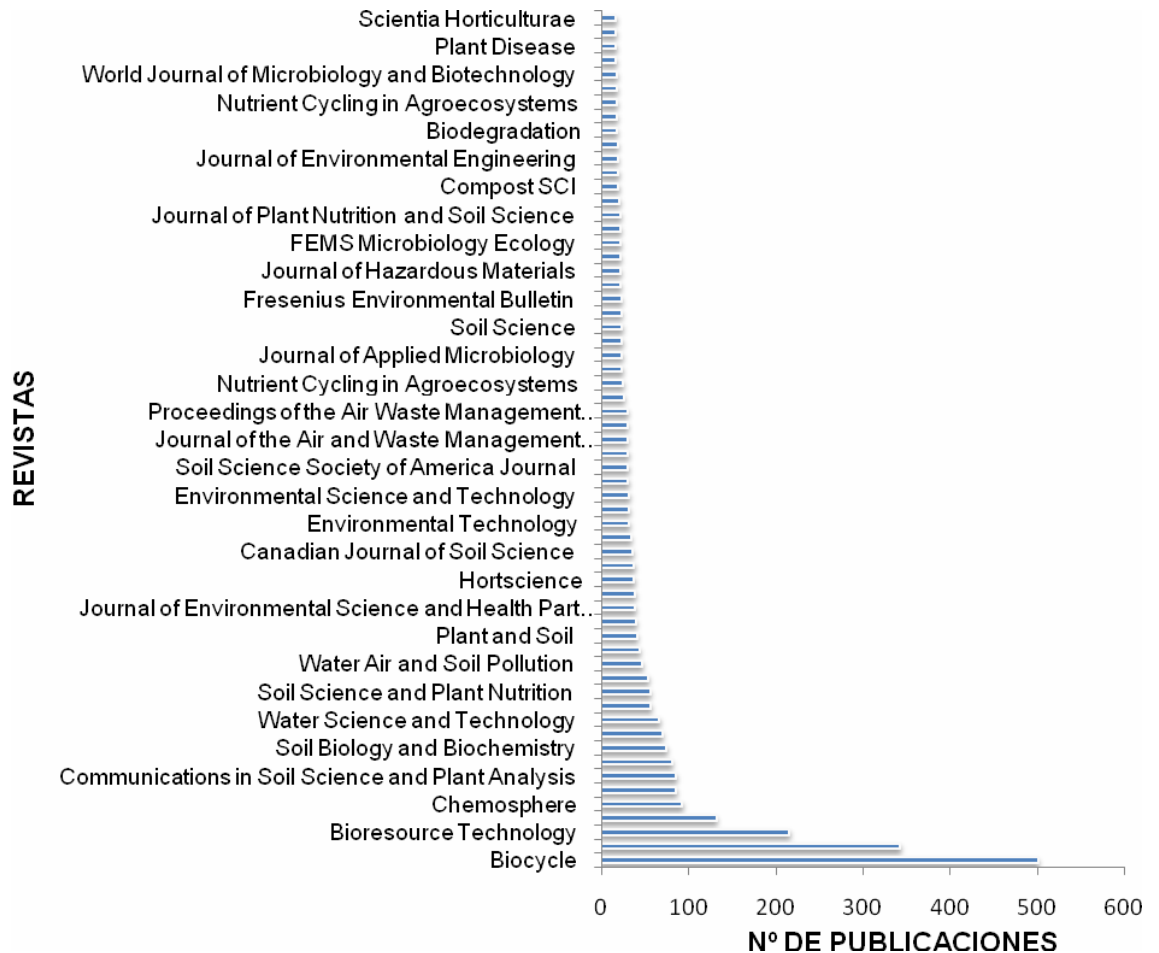
Gráfica 1a. Relación entre las diversas revistas científicas y el número de sus publicaciones (Base de datos: *Web of Science*).



REVISTA DE MAYOR IMPACTO	Nº PUBLICACIONES
BIOCYCLE	774
COMPOST SCIENCE & UTILIZATION	331
BIORESOURCE TECHNOLOGY	220
JOURNAL OF ENVIRONMENTAL QUALITY	125
COMMUNICATIONS IN SOIL SCIENCE AND PLANT ANALYSIS	101

Fuente: *Web of Science*. Periodo de observación: 1976-2006. Fecha de consulta: 13 de abril de 2007. Ecuación de búsqueda: TITLE-ABS-KEY-AUTH ("Compost", "Composting").

Gráfica 1b. Relación entre las diversas revistas científicas y el número de publicaciones (Base de datos: *Scopus*).



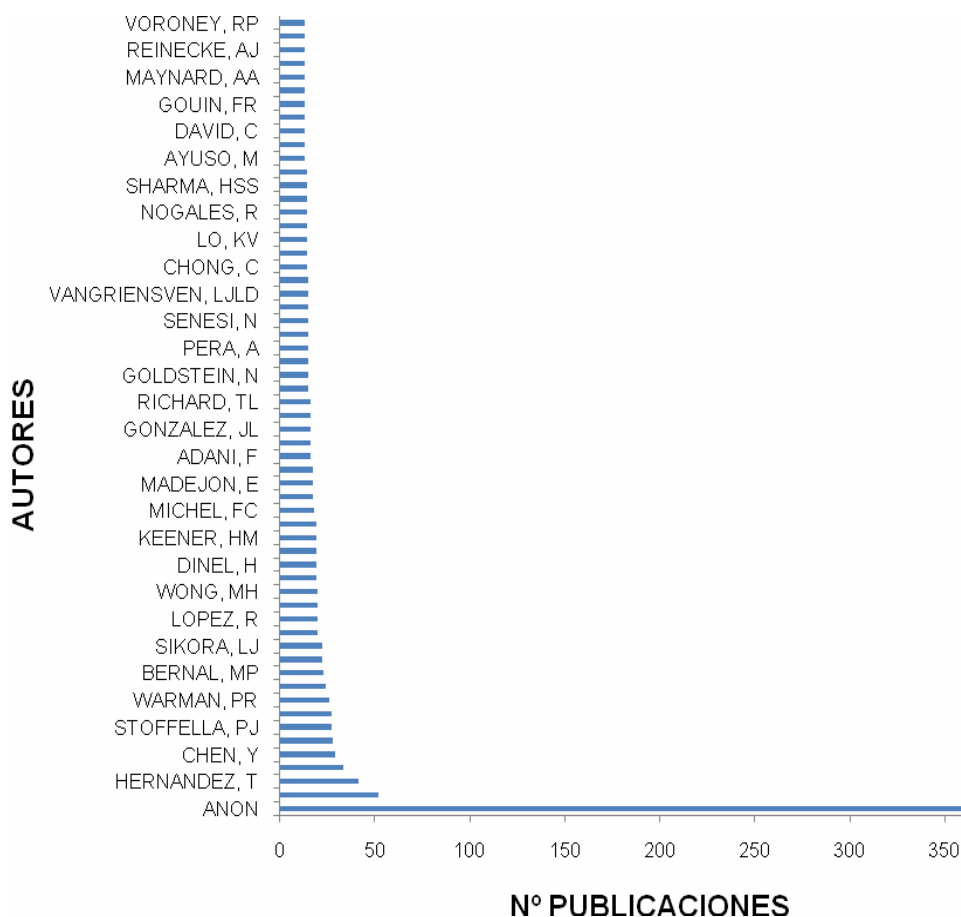
REVISTA	Nº PUBLICACIONES
BIOCYCLE	501
COMPOST SCIENCE AND UTILIZATION	343
BIORESOURCE TECHNOLOGY	216
JOURNAL OF ENVIRONMENTAL QUALITY	132

Fuente: *Scopus*. Periodo de observación: 1930-2007. Fecha de consulta: 10 de abril de 2007.
Ecuación de búsqueda: TITLE-ABS-KEY-AUTH (“Compost”, “Composting”).

La productividad de los autores, permite un análisis y evaluación del continuo estudio e interés por parte de instituciones y entidades por aplicar técnicas que beneficien al medio ambiente y el entorno en el que vivimos, ampliando el uso de los RSU y obteniendo productos que favorecen las propiedades del suelo.

Las **Gráficas 2a y 2b**, muestra a ANON y HOITINK, H.A.J como los autores con mayor número de publicaciones con temas relacionados con el empleo del compostaje como técnica para producción de abonos orgánicos, con una marcada diferencia sobre el resto de autores.

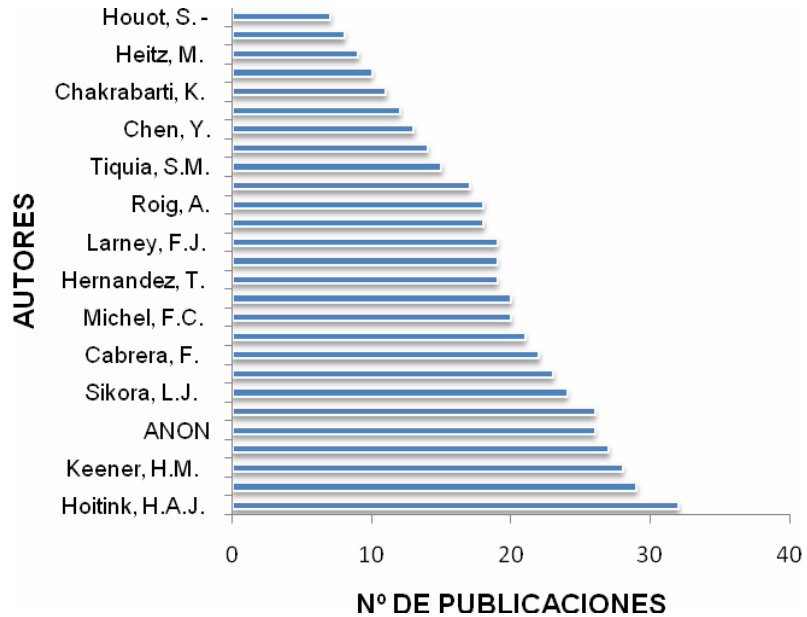
Gráfica 2a. Producción científica de diferentes autores (Base de datos: *Web of Science*).



AUTOR	Nº PUBLICACIONES	AUTOR	Nº PUBLICACIONES
ANON	375	CABRERA, F	28
GARCIA, C	52	STOFFELLA, PJ	27
HERNANDEZ, T	41	WONG, JWC	27
HOITINK, HAJ	33	WARMAN, PR	26
CHEN, Y	29	HADAR, Y	24

Fuente: *Web of Science*. Periodo de observación: 1976-2006. Fecha de consulta: 13 de abril de 2007. Ecuación de búsqueda: TITLE-ABS-KEY-AUTH ("Compost", "Composting").

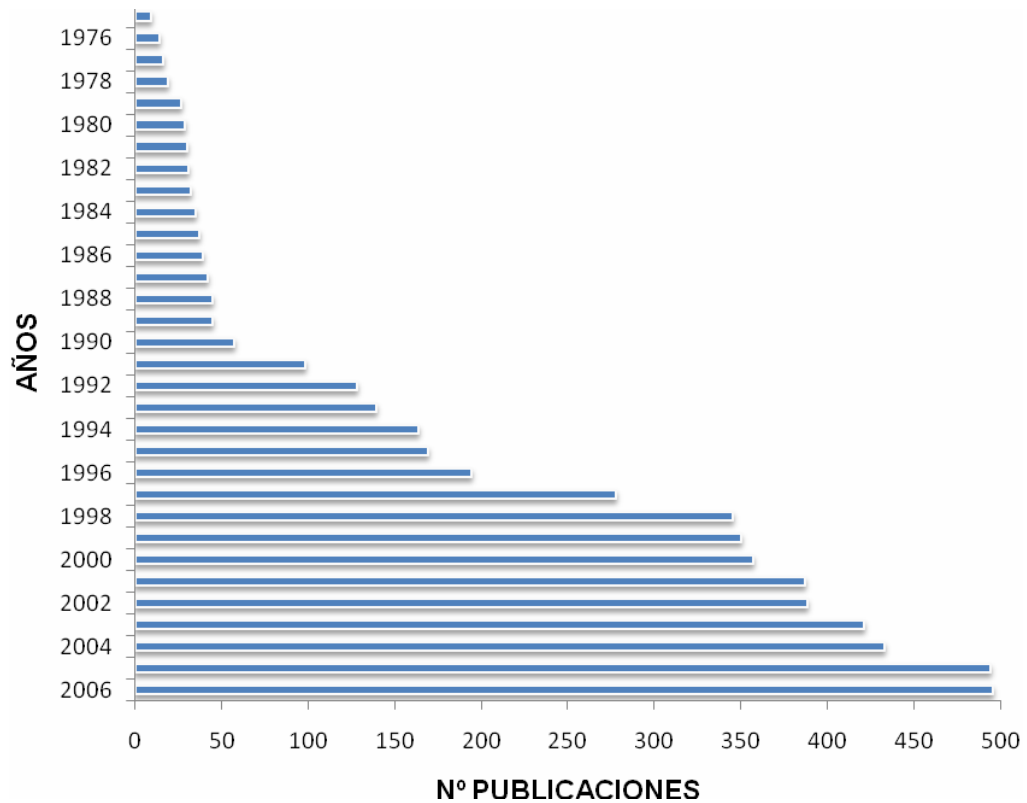
Gráfica 2b. Producción científica de diferentes autores (Base de datos: *Scopus*).



Fuente: *Scopus*. Periodo de observación: 1930-2007. Fecha de consulta: 10 de abril de 2007. Ecuación de búsqueda: TITLE-ABS-KEY-AUTH ("Compost", "Composting").

Según el año de la publicación de los documentos, la evolución cronológica de la producción científica, representa el desarrollo de los temas de investigación. La **Gráfica 3a**, presenta un aumento progresivo de publicaciones desde el año 1975 hasta 2006, y se observa que en los últimos diez años la cantidad de publicaciones se ha mantenido, creciendo. Los años 2005 y 2006 se destacan por tener 494 y 498 publicaciones, respectivamente.

Gráfica 3a. Evolución cronológica de la producción científica (Base de datos: *Web of Science*).

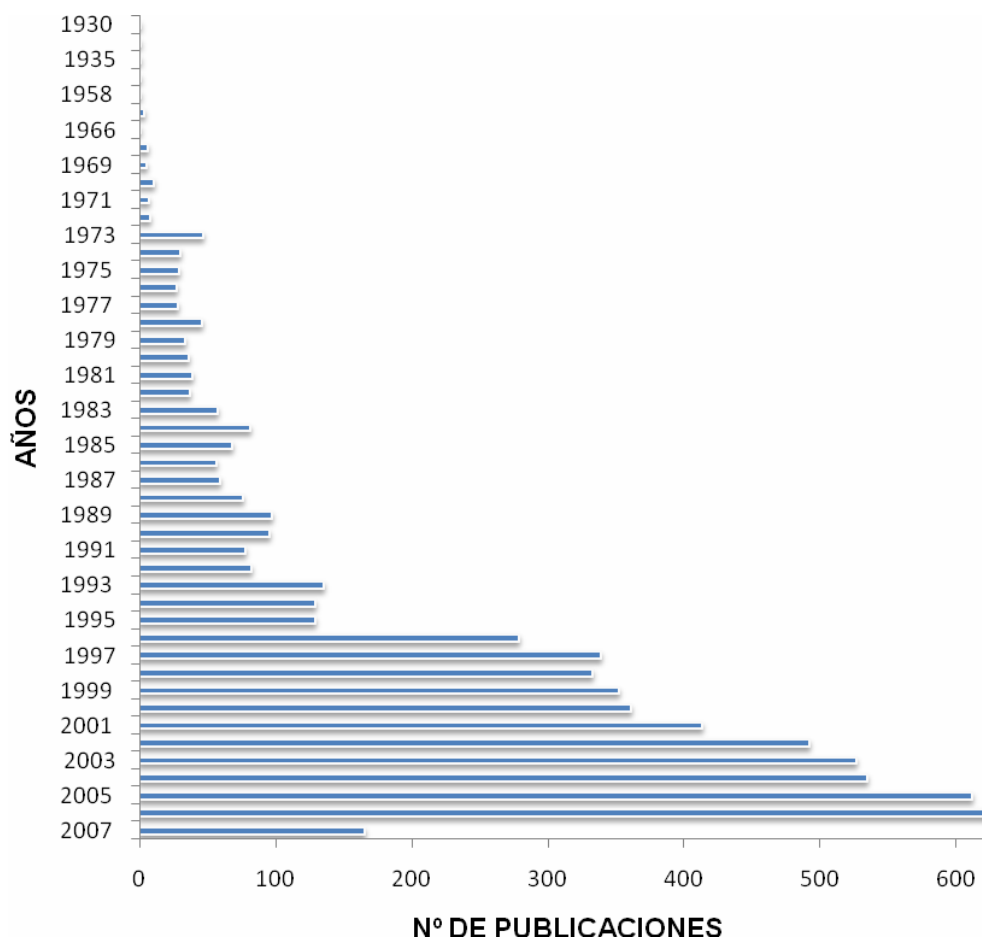


Año	2006	2005	2004	2003	2002	2001	2000	1999	1998	1997	1996
Nº	498	494	433	421	388	387	357	350	345	278	194

Fuente: *Web of Science*. Periodo de observación: 1976-2006. Fecha de consulta: 13 de abril de 2007. Ecuación de búsqueda: TITLE-ABS-KEY-AUTH ("Compost", "Composting").

El periodo de divulgación e investigación registrados en la base de datos *Scopus*, comprende un intervalo desde 1930 hasta el año 2007, con aproximadamente 6.560 publicaciones (Véase, **Gráfica 3b**), teniendo en cuenta que en los últimos diez años el número de publicaciones ha estado en alza, a la fecha (13-04-2007) ya se encuentran divulgados 165 documentos, que demuestran dinamismo por esta investigación en el presente año.

Gráfica 3b. Evolución cronológica de la producción científica (Base de datos: *Scopus*).

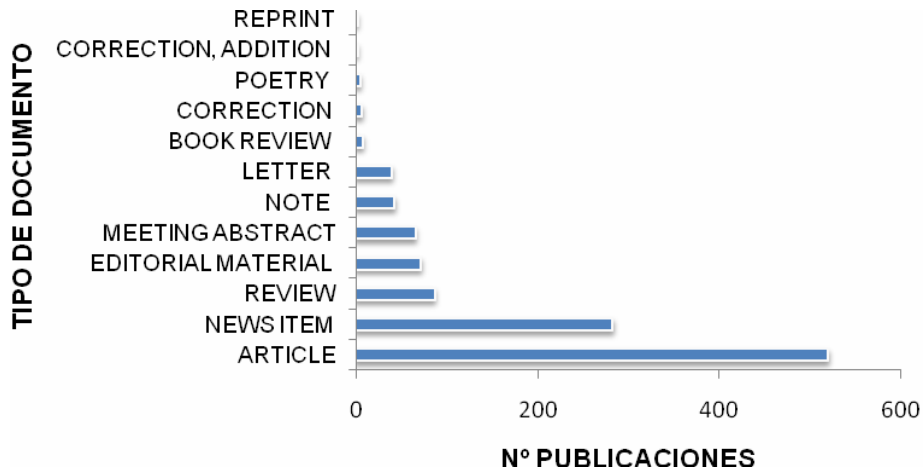


Año	2007	2006	2005	2004	2003	2002	2001	2000	1999	1998	1997
Nº	165	622	612	535	527	492	413	361	352	333	339

Fuente: *Scopus*. Periodo de observación: 1930-2007. Fecha de consulta: 10 de abril de 2007. Ecuación de búsqueda: TITLE-ABS-KEY-AUTH ("Compost", "Composting").

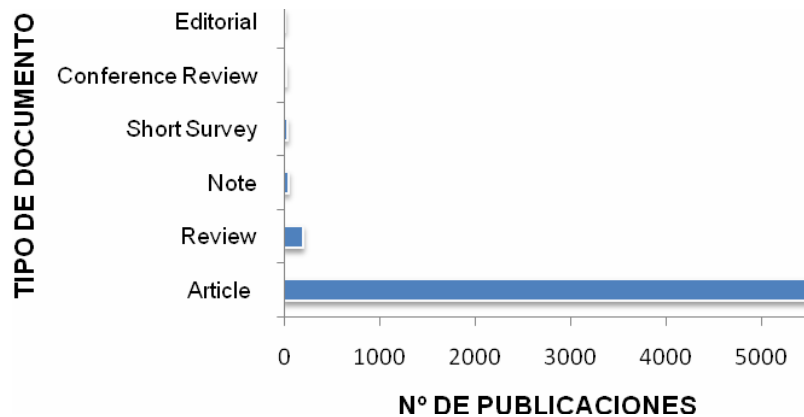
El artículo es el tipo de documento elegido por los científicos e instituciones para divulgar sus trabajos de investigación. Esto se representa en las **Gráficas 4a y 4b**, donde se observa que son la fuente de mayor impacto con 520 publicaciones en *Web of Science* y 5483 en *Scopus*, destacándose sobre diferentes modalidades de documentos, a saber: resúmenes, material editorial, notas, cartas, entre otros.

Gráfica 4a. Relación del tipo de documento con el número de publicaciones
(Base de datos: *Web of Science*).



Fuente: *Web of Science*. Periodo de observación: 1976-2006. Fecha de consulta: 13 de abril de 2007. Ecuación de búsqueda: TITLE-ABS-KEY-AUTH (“*Compost*”, “*Composting*”).

Gráfica 4b. Relación del tipo de documento con el número de publicaciones
(Base de datos: *Scopus*).

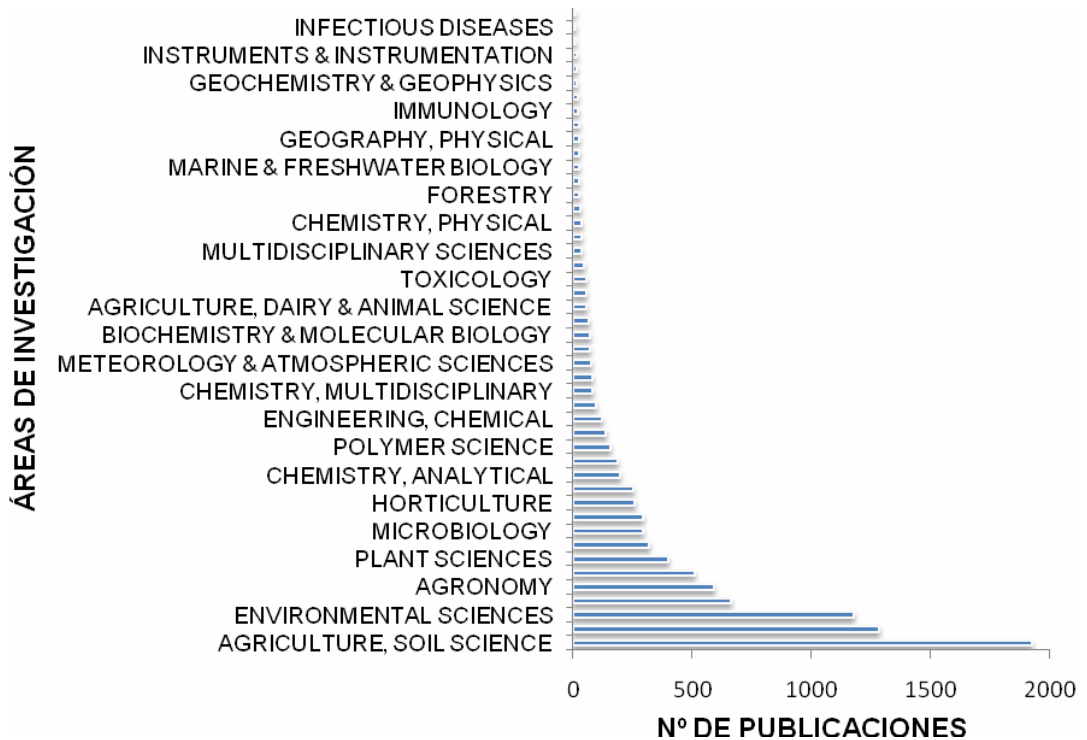


Fuente: *Scopus*. Periodo de observación: 1930-2007. Fecha de consulta: 10 de abril de 2007. Ecuación de búsqueda: TITLE-ABS-KEY-AUTH (“*Compost*”, “*Composting*”).

La relación entre diferentes campos de especialización con la producción científica y tecnológica se presenta en las **Gráficas 5a y 5b**, donde cabe resaltar que hay más de 90 áreas de estudio interesadas en aplicación del

compostaje como procedimiento que disminuye los problemas de contaminación ambiental y restaura la fertilidad del suelo. Agricultura, ecología, ciencias del suelo, ciencias del medioambiente y biología, son las áreas de investigación con mayor número de publicaciones en las dos bases de datos consultadas.

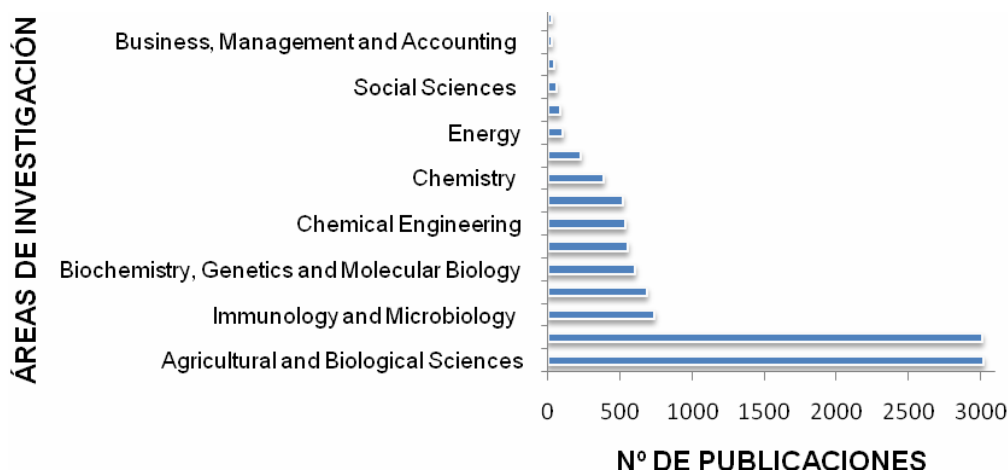
Gráfica 5a. La relación entre diferentes áreas de especialización y el número de publicaciones (Base de datos: *Web of Science*).



Área de investigación	Nº Publicaciones
AGRICULTURE, SOIL SCIENCE	1923
ECOLOGY	1282
ENVIRONMENTAL SCIENCES	1175

Fuente: *Web of Science*. Periodo de observación: 1976-2006. Fecha de consulta: 13 de abril de 2007. Ecuación de búsqueda: TITLE-ABS-KEY-AUTH ("Compost", "Composting").

Gráfica 5b. La relación entre diferentes áreas de especialización y el número de publicaciones (Base de datos: *Scopus*).



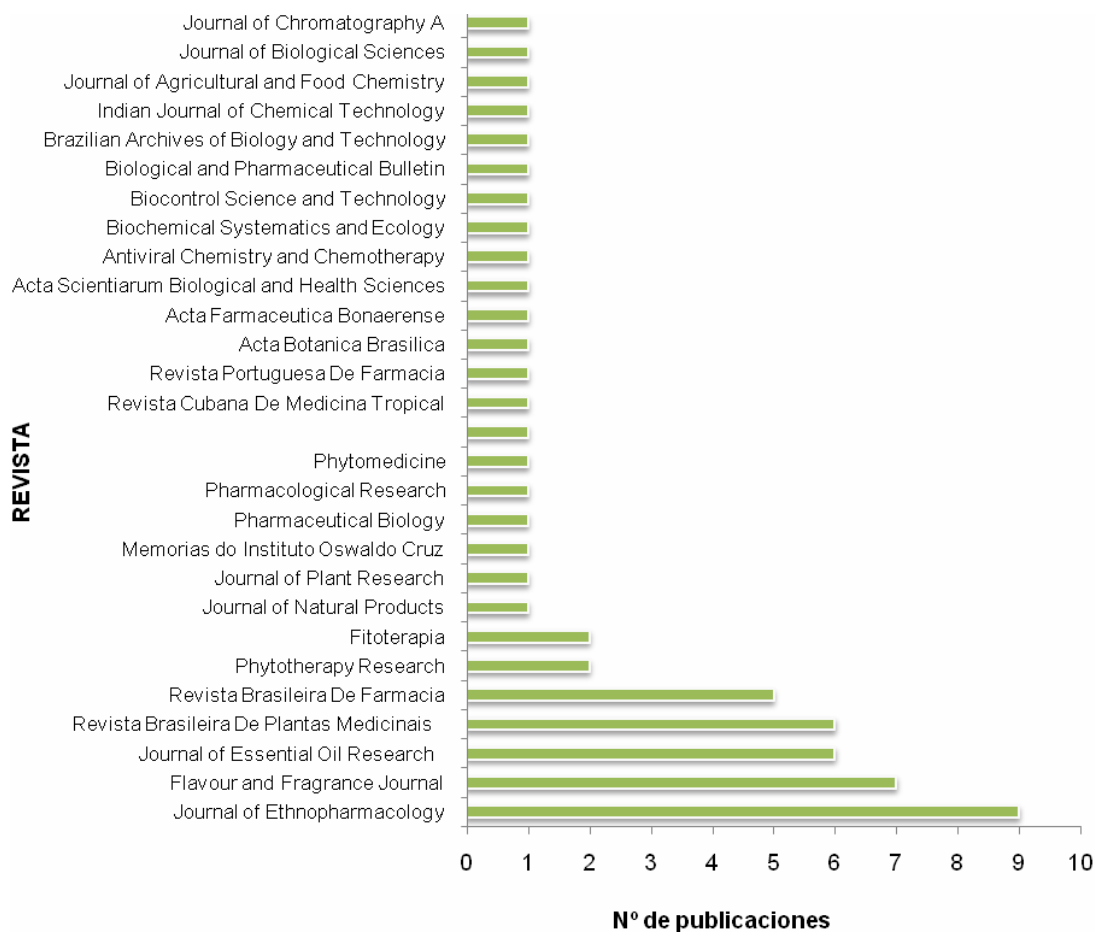
Fuente: *Scopus*. Periodo de observación: 1930-2007. Fecha de consulta: 10 de abril de 2007. Ecuación de búsqueda: TITLE-ABS-KEY-AUTH (“*Compost*”, “*Composting*”).

1.18.2 Análisis cuantitativo de *Lippia alba*

El análisis cuantitativo permite situar a la especie vegetal de *Lippia alba* en el contexto de la producción científica, como una planta aromática con múltiples propiedades funcionales y accesible para la investigación por su amplia distribución en zonas tropicales y subtropicales. Se tienen reportes sobre su estudio desde 1979 hasta la fecha, y cabe resaltar, que existen más de 60 revistas que han publicado los resultados de investigación sobre esta planta. Las gráficas que se presentan a continuación permiten obtener una mejor visión sobre ello.

Las **Gráficas 6a** y **6b**, muestran la relación entre el número de revistas de mayor impacto y el número de publicaciones, demostrando que *Web of Science* tiene un número de revistas y publicaciones menores en comparación con el de la base de datos *Scopus*.

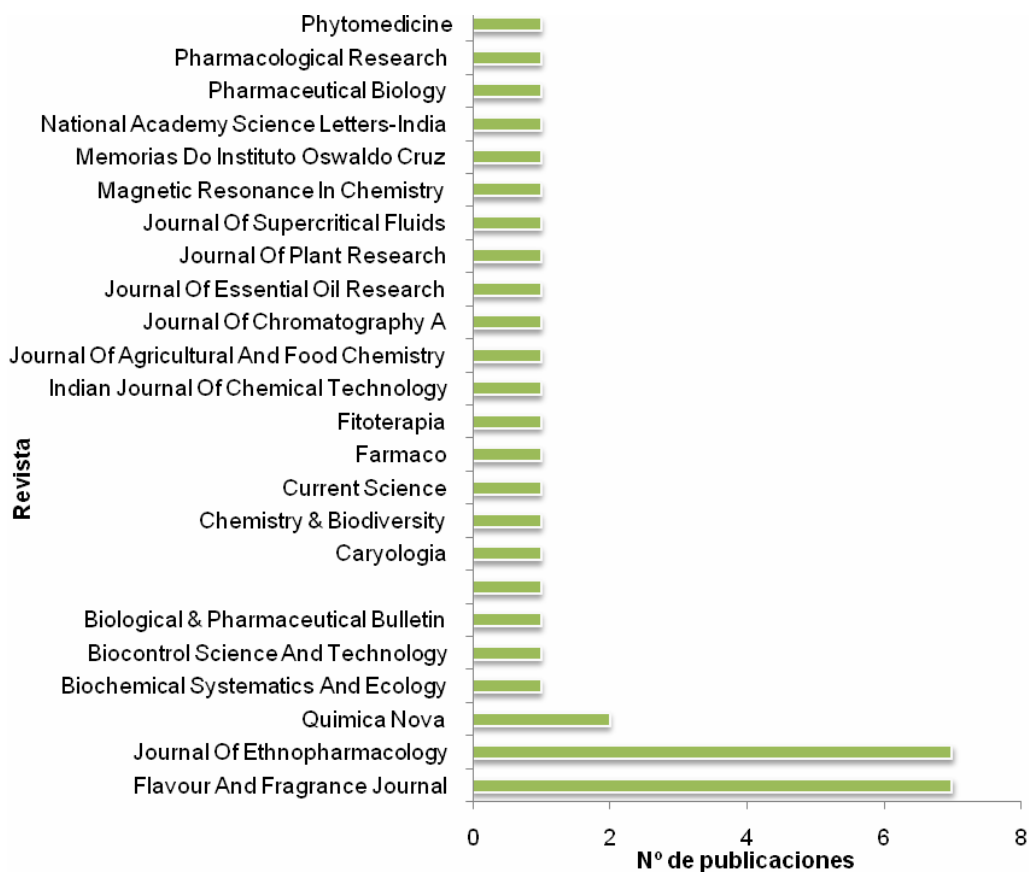
Gráfica 6a. Relación entre las diversas revistas científicas y el impacto en el número de sus publicaciones (Base de datos: *Scopus*).



REVISTAS DE MAYOR IMPACTO	Nº DE PUBLICACIONES
Journal of Ethnopharmacology	9
Flavour and Fragrance Journal	7
Journal of Essential Oil Research	6
Revista Brasileira de Plantas Mediciniais	6
Revista Brasileira de Farmacia	5

Fuente: *Scopus*. Periodo de observación: 1979-2007. Fecha de consulta: 10 de abril de 2007. Ecuación de búsqueda: TITLE-ABS-KEY-AUTH ("*Lippia alba*", "*Essential oil*").

Gráfica 6b. Relación entre las diversas revistas científicas y el número de sus publicaciones (Base de datos: *Web of Science*).

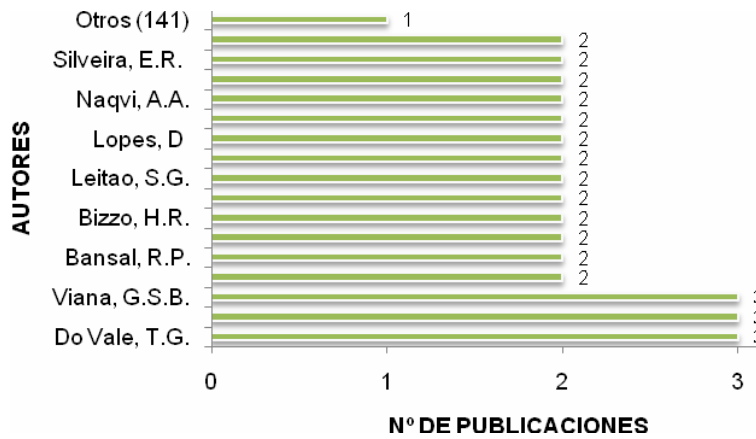


REVISTAS DE MAYOR IMPACTO	Nº DE PUBLICACIONES
Pharmacology & Pharmacy	13
Chemistry, Applied	10
Plant Sciences	10
Chemistry, Medicinal	9
Food Science & Technology	9

Fuente: *Web of Science*. Periodo de observación: 1991-2007. Fecha de consulta: 13 de abril de 2007. Ecuación de búsqueda: TITLE-ABS-KEY-AUTH ("*Lippia alba*", "*Essential oil*").

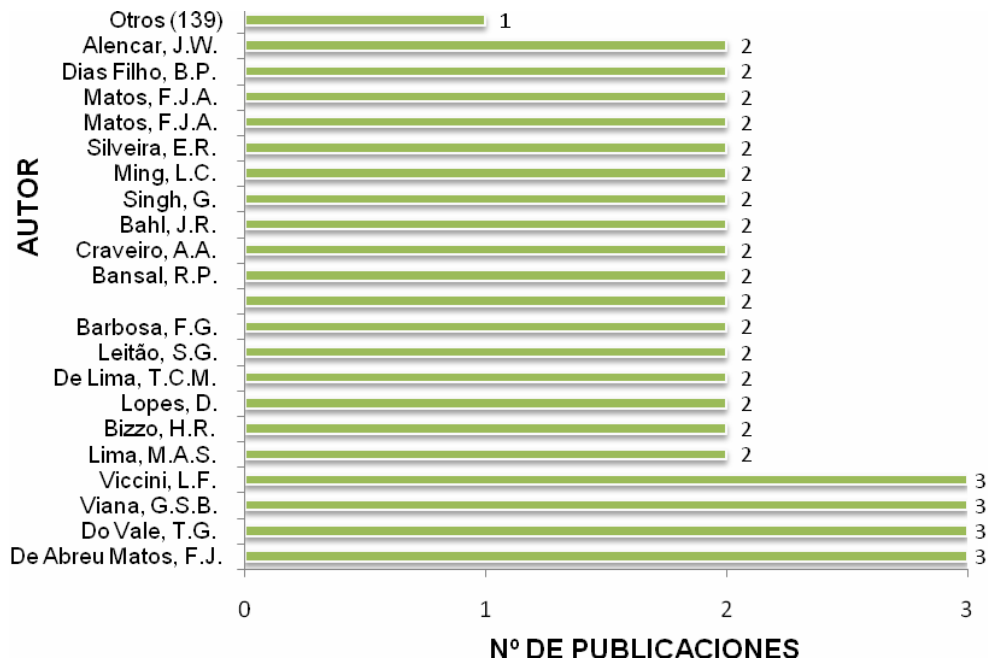
Al analizar la cantidad de registros atribuidos a diferentes autores a nivel mundial, en el periodo de 1979-2007 (Véase **Gráficas 7a** y **7b**), se observa, que el aporte a la producción científica se ha mantenido en evolución. La mayor cantidad de publicaciones las registran Do Vale, T.G. y Viana, G.S.B., entre otros autores.

Gráfica 7a. Producción científica de diferentes autores (Base de datos: *Scopus*).



Fuente: *Scopus*. Periodo de observación: 1979-2007. Fecha de consulta: 10 de abril de 2007. Ecuación de búsqueda: TITLE-ABS-KEY-AUTH ("*Lippia alba*", "*Essential oil*").

Gráfica 7b. Producción científica de diferentes autores (Base de datos: *Web of Science*).

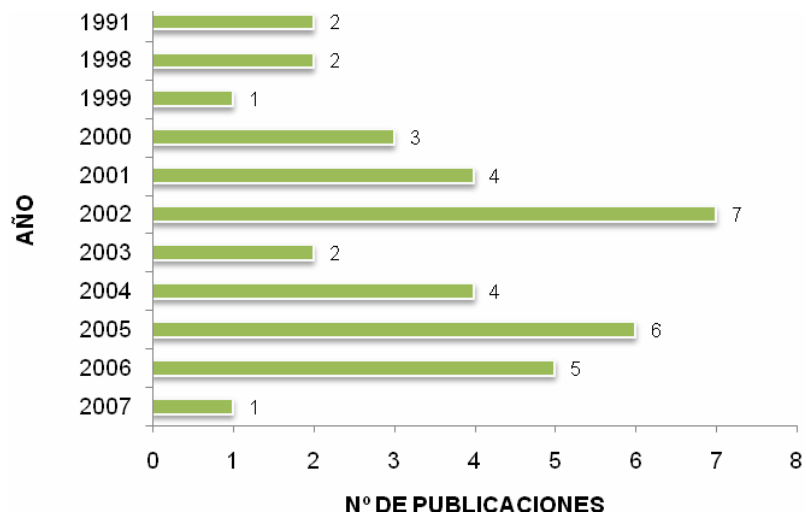


Fuente: *Web of Science*. Periodo de observación: 1991-2007. Fecha de consulta: 13 de abril de 2007. Ecuación de búsqueda: TITLE-ABS-KEY-AUTH ("*Lippia alba*", "*Essential oil*").

A pesar del importante crecimiento de la producción científica, sobre todo, durante el periodo de 1997-2007 (Véase **Gráficas 8a y 8b**), se aprecian en los últimos años cifras alarmantes.

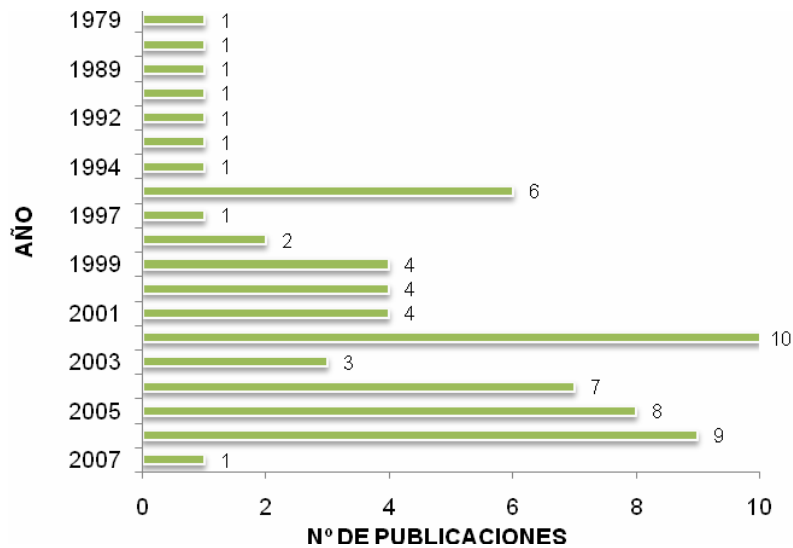
En 2003 se observa un virtual estancamiento de la producción con respecto al año anterior, con una caída del 70% en publicaciones. Nuevamente, se genera dinamismo en cuanto a las divulgaciones, resaltando un continuo avance hasta el 2006, se espera que el 2007 culmine con un mejor rendimiento.

Gráfica 8a. Evolución cronológica de la producción científica (Base de datos: *Web of Science*).



Fuente: *Web of Science*. Periodo de observación: 1991-2007. Fecha de consulta: 13 de abril de 2007. Ecuación de búsqueda: TITLE-ABS-KEY-AUTH ("Lippia alba", "Essential oil").

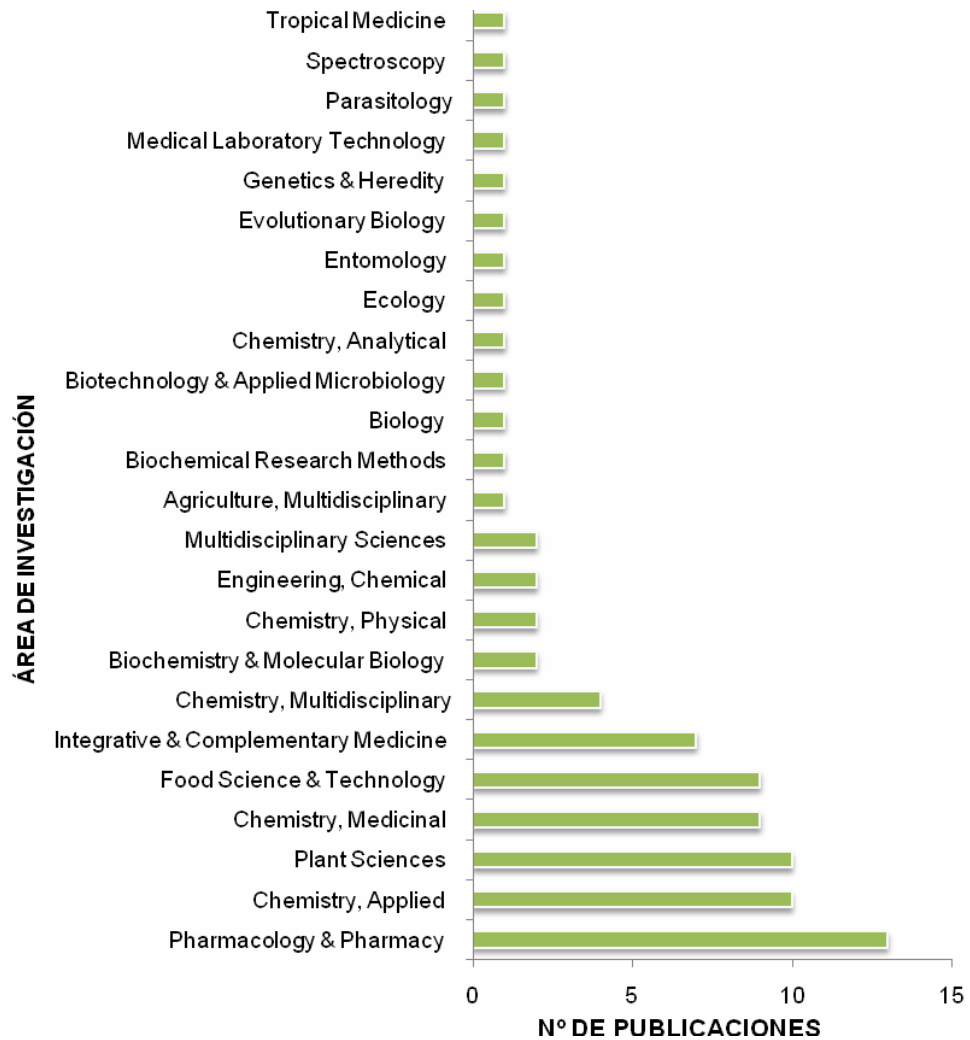
Gráfica 8b. Evolución cronológica de la producción científica (Base de datos: *Scopus*).



Fuente: *Scopus*. Periodo de observación: 1979-2007. Fecha de consulta: 10 de abril de 2007. Ecuación de búsqueda: TITLE-ABS-KEY-AUTH ("*Lippia alba*", "*Essential oil*").

Con el objetivo de facilitar el análisis y visualización de la distribución disciplinar de la producción científica, se presenta una relación entre las áreas de investigación y la cantidad de publicaciones en las **Gráficas 9a** y **9b**. La farmacología, la farmacéutica y la toxicología son las áreas más "interesadas" en el estudio de la *Lippia alba*.

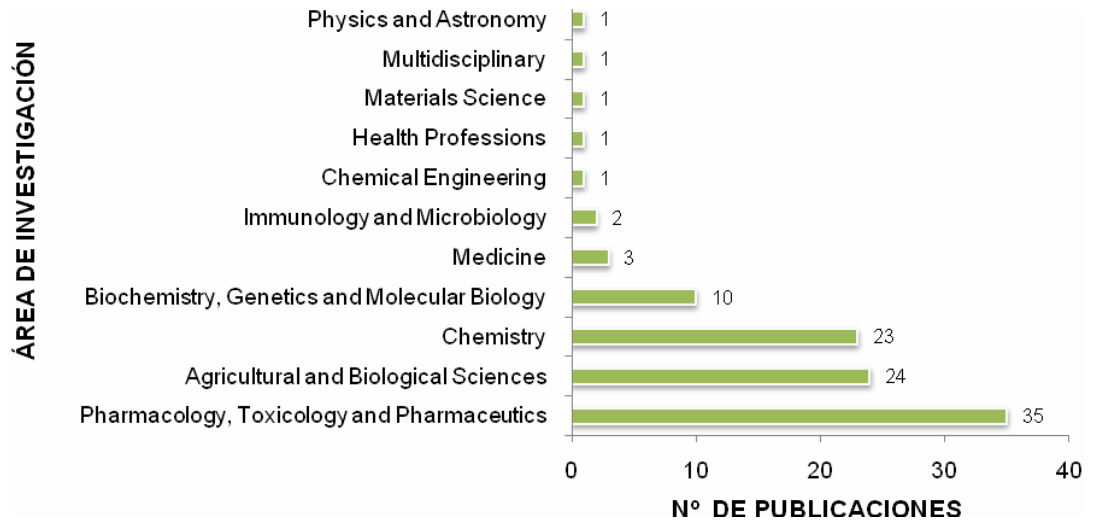
Gráfica 9a. La relación entre diferentes áreas de conocimiento y el número de publicaciones (Base de datos: *Web of Science*).



ÁREAS DE MAYOR IMPACTO	No. DE PUBLICACIONES
Pharmacology and Pharmacy	13
Chemistry, applied	10
Chemistry, medicinal	9
Food Science & Technology	9
Plant Sciences	9
Integrative & Complementary Medicine	7

Fuente: *Web of Science*. Periodo de observación: 1991- 2007. Fecha de consulta: 13 de abril de 2007. Ecuación de búsqueda: TITLE-ABS-KEY-AUTH ("*Lippia alba*", "*Essential oil*").

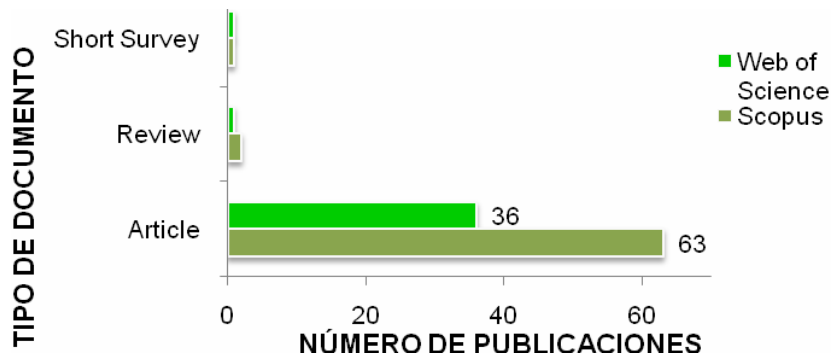
Gráfica 9b. La relación entre diferentes áreas de conocimiento y el número de publicaciones (Base de datos: *Scopus*).



Fuente: *Scopus*. Periodo de observación: 1979-2007. Fecha de consulta: 10 de abril de 2007. Ecuación de búsqueda: TITLE-ABS-KEY-AUTH ("*Lippia alba*", "*Essential oil*").

La **Gráfica 10**, presenta la proporción de registros entre los que se incluyen artículos, resúmenes y revisiones. Se detectó la evolución de los artículos, como el componente principal de los documentos registrados en las bases de datos bibliográficas. Éstos superan en un 95% el total de los registros.

Gráfica 10. Relación del tipo de documento con el número de publicaciones (Bases de datos: *Web of Science* y *Scopus*).



Fuente: *Scopus*. Periodo de observación: 1979-2007. Fecha de consulta: 10 de abril de 2007. Ecuación de búsqueda: TITLE-ABS-KEY-AUTH ("*Lippia alba*", "*essential oil*") y *Web of Science*. Periodo de observación: 1991-2007. Fecha de consulta: 13 de abril de 2007. Ecuación de búsqueda: TITLE-ABS-KEY-AUTH ("*Lippia alba*", "*Essential oil*").

1.19 MERCADO DE LOS AEs

El gran deterioro ambiental y la evidencia de que los productos sintéticos no sólo afectan el medio ambiente sino también la salud del hombre, han generado una preferencia por los ingredientes y productos naturales, que no sólo tengan una suficiente evidencia documentada de seguridad y eficacia en cuanto a la finalidad de su creación, sino también que sean obtenidos de una manera ecológica y económicamente sostenible; con certificación orgánica y ética, libre de componentes provenientes de la ingeniería genética, que no hayan sido elaborados “con crueldad” o no haber sido probados en animales y elaborados por compañías que practiquen la agricultura sostenible; con productos “verdes” o “ambientalmente responsables” [118].

Aprovechar esta preferencia por los productos naturales, por medio de investigación para desarrollar, implementar y/o mejorar, tales productos, proporciona una gran oportunidad para ingresar en el mercado y generar desarrollo científico e industrial en un país.

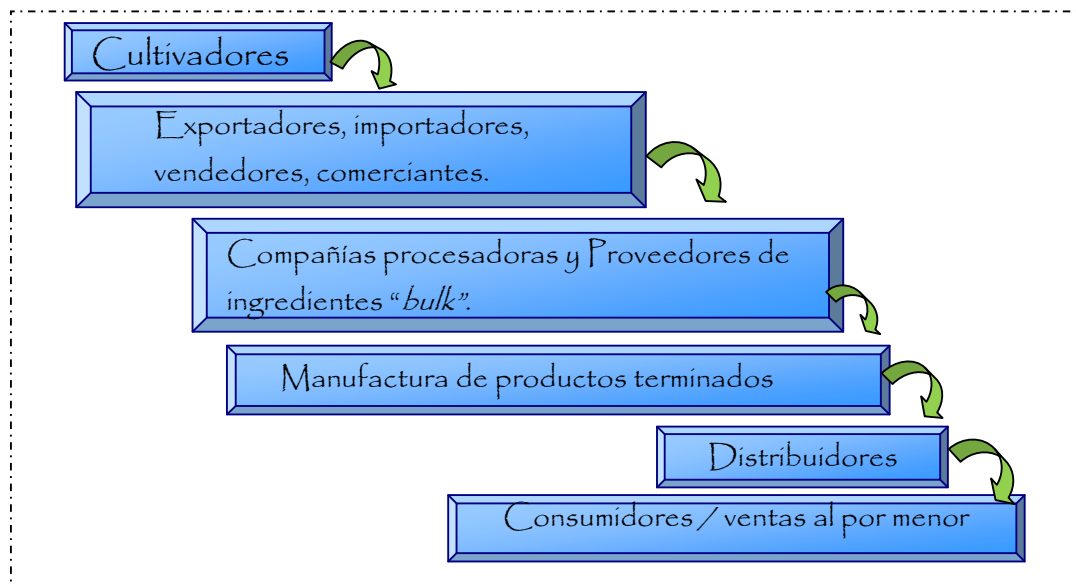
Este es un negocio rentable y seguro, ya que existe la clara tendencia de que su uso aumente globalmente, debido no sólo a la explosión demográfica, sino también por la gran popularidad de los productos amistosos con el medio ambiente [119]; según la Organización Mundial de la Salud y la organización de las Naciones Unidas para la Alimentación, se calcula que las dos terceras partes de la población recurren al uso de las plantas medicinales, debido a razones económicas, para cuidar su salud [120]; específicamente para la industria farmacéutica, que es de gran importancia por que suple una de las necesidades fundamentales para el ser humano, los motivos que hacen rentable desarrollar nuevas medicinas provenientes de hierbas medicinales son [119]:

- ✓ Interés en validar la seguridad y eficacia de los remedios medicinales;
- ✓ Búsqueda de los consumidores de una alternativa o complemento a las drogas farmacéuticas;

- ✓ Aumento en la demanda de medicina “natural”, fuertemente relacionada con el movimiento de consumo “verde”;
- ✓ Creación de leyes, que acrecientan el estatus de la industria de la hierba medicinal;
- ✓ interés de las compañías en aislar los compuestos útiles de las plantas;
- ✓ búsqueda de nuevas drogas y tratamiento de enfermedades resistentes.

Igualmente en la industria alimenticia, ha entrado en apogeo el uso de alimentos funcionales o *nutraceuticals*, que son compuestos naturales bioquímicamente activos, que promueven la salud, previenen las enfermedades o tienen propiedades medicinales [118]. Sabiendo que las principales fuentes de materia prima para la elaboración de estos productos “verdes” son las plantas aromáticas y medicinales, cuyo AE puede usarse en la industria alimenticia, cosmética y farmacéutica, es necesario impulsar y optimizar su cultivo. Además no sólo promover su cultivo y recolección, sino tratar de darle un valor agregado, extrayendo y refinando sus AEs; ya que entre más se ascienda por la cadena productiva, mayores serán los precios con los que se puedan comercializar dichos productos. A continuación, en la **Figura 11**, se muestra la estructura de la industria de las plantas aromáticas/medicinales.

Figura 5. Estructura de la industria de hierbas medicinales/aromáticas.

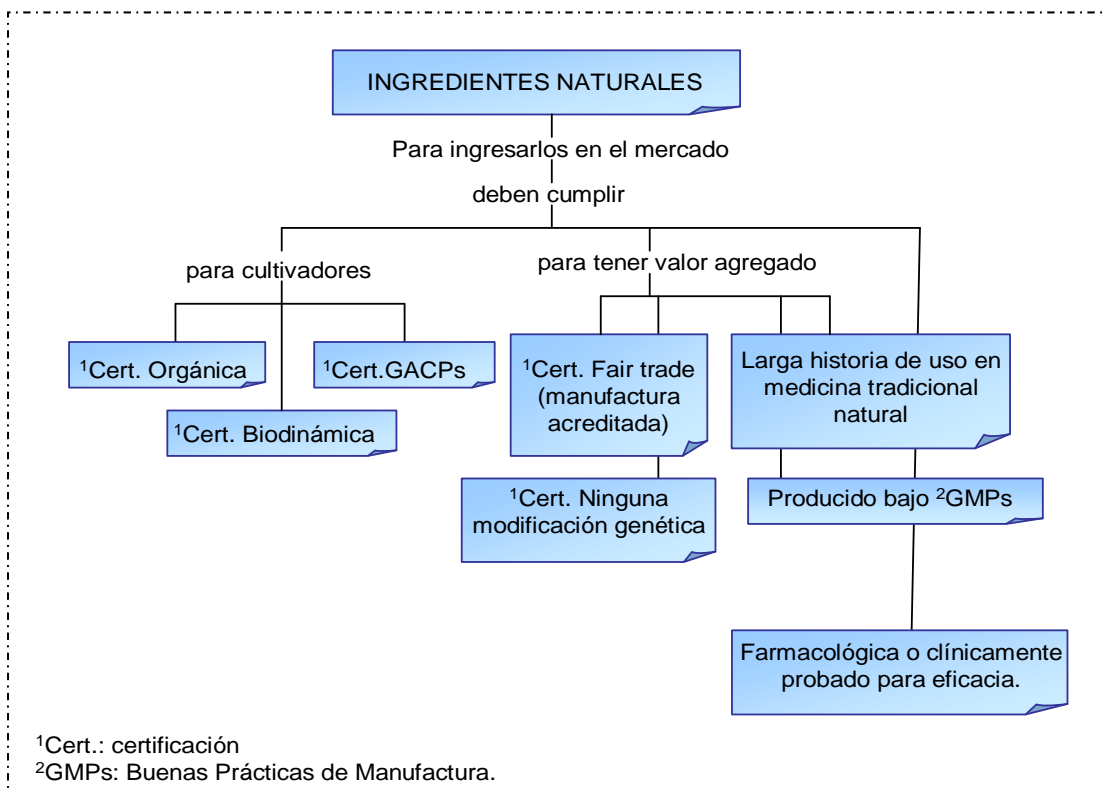


Específicamente, según el sistema de codificación llamado *Harmonised Commodity Description System (HS)*, introducido para unificar mundialmente el mercado, los aceites esenciales y oleorresinas se clasifican con el código 3301, y las plantas aromáticas y medicinales (material vegetal) con el código 1211.

Para ingresar en el mercado de las plantas medicinales y aromáticas se deben tener en cuenta los requisitos que son exigidos. Estos se muestran en el **Figura 6**; y los más importantes se describen a continuación [118]:

- ✓ Buenas prácticas de recolección y agricultura (GACPs): deben minimizar la carga microbiológica, así como también garantizar el crecimiento orgánico y manejo higiénico de las plantas medicinales.
- ✓ Certificados fitosanitarios: documenta el origen de la carga y confirma la inspección en el país de origen por un miembro de la Organización para la Protección de Plantas; quien asegura que la carga esta libre de pestes y enfermedades.

Figura 6. Requisitos para el ingreso de ingredientes naturales en el mercado estadounidense.



En el mercado Europeo, uno de los más importantes requisitos para que una planta medicinal o un producto farmacéutico, sea comercializado, es que la planta medicinal tenga una larga historia y uso tradicional, lo cual afirma su seguridad y eficacia. Sin embargo, en su legislación usan el procedimiento centralizado realizado por la EMEA (*European Agency for the Evaluation of Medicinal Products*) para productos derivados de la biotecnología y para los medicinales nuevos y/o innovados; y uno descentralizado que se aplica para los productos medicinales convencionales, efectuado por los estados miembros de la Unión Europea (EU) [119].

Cumpliendo los requisitos legales, se deben analizar las oportunidades de exportación para ingredientes naturales. Para los países en desarrollo, las más opcionadas son aquellas plantas que sólo pueden ser cultivadas en una región o clima específico, y que no pueden ser fácil o rentablemente producidas por EE.UU. u otros países cultivadores, tales como China o India [118].

Existe además la opción de incorporar nuevas especies, propias de cada país; en este caso, es bien conocida la gran biodiversidad de los países tropicales, de lo cual también es participe Colombia [119]. Sin embargo, existe la gran amenaza por parte de grandes compañías extranjeras, que buscan explotar la biodiversidad para encontrar nuevos valores genéticos y fuentes bioquímicas. Financian el estudio de sus actividades y propiedades, para desarrollar nuevas medicinas, que puedan patentar.

Aprovechando estas posibilidades, se debe analizar la rentabilidad que las plantas y sus productos pueden generar. Los precios en el mercado, dependen de un gran número de factores, incluyendo el grado de procesamiento, cantidad anual requerida y ofrecida, el valor total de los negocios realizados con los clientes durante un periodo de tiempo, etc [118]. Explícitamente están [119]:

- ✓ Factores de calidad: determinada por el país de origen, el clima, las cosechas, la concentración de los ingredientes y el método de extracción.
- ✓ Factores económicos: se basan en la demanda y oferta. La oferta depende del tamaño de las cosechas, el *carry-over* de cosechas previas y la existencia de sustitutos sintéticos.

Un factor fundamental y que determina el éxito o el fracaso en la industria de los AEs, es conocer la competencia o países exportadores, al igual que determinar los clientes o países importadores y los productos con mayor demanda, o crear nuevos, que generen alto impacto y nos hagan básicos proveedores.

Los principales exportadores de hierbas medicinales (código HS 1211) para el 2002 fueron principalmente: India y China; seguidos por Turquía, México, España, Canadá, Egipto y Alemania. Y los de AEs y oleorresinas fueron Francia, India, Argentina, China, Brasil y México [118].

Los más grandes mercados de hierbas medicinales para la EU se encuentran en Alemania, Francia, Italia, Inglaterra y España, y están constituidos por un gran rango de clases de productos, que incluyen venta de materia prima, como hierbas frescas o secas, y otros, que son procesados a diferentes grados incluyendo *tinctures* (infusiones de hierbas en alcohol) y extractos [119].

Los principales exportadores de AE (HS 3301) son: Estados Unidos, Francia, Reino Unido, Brasil, China, Argentina, Indonesia, México, Italia, Alemania, España, Suiza, Taiwán, Canadá, Países Bajos, Austria y Japón. La **Tabla 4**, muestra los principales AE exportados por algunos de estos países [121].

Tabla 4. Principales países exportadores y su AE.

PRINCIPALES PAÍSES EXPORTADORES	
PAÍS	AE
Estados Unidos	<i>Menta piperita</i> y aceites agrios
Francia	No agrios, Ylang-ylang y de lavanda
Reino Unido	De clavo, <i>Menta piperita</i> y subproductos de AE
Brasil	AE de Narajanja y subproductos de su desterpenación
China	Eucalipto, AE no agrios y de menta

Según el informe de mercado de la EU, los países en desarrollo para el 2002, proveyeron una cantidad importante de plantas medicinales y aromáticas, nombrados en orden descendiente del valor importado por la EU estuvieron: China, India, Marrueco, Egipto, Kenia, Turquía, Sur África, Chile, Brasil, Tailandia, Namibia, Argentina, México, Paraguay, Irán, Sudan, Perú, Madagascar, Tunisia, Congo, Togo, Camerún, Pakistán, Siria, Guatemala, Indonesia y Azerbaiján [119].

Los principales países importadores y, por lo tanto, posibles clientes son: Estados Unidos, Francia, Reino Unido, Japón, Alemania, Suiza, México, China, España, Países bajos, Canadá, Brasil, Irlanda, Italia, Benelux, Australia, Corea, Austria, Taiwán, Indonesia, Dinamarca. En la **Tabla 5**, se describen los países con el mayor volumen en importaciones y los AE que más demandados [121].

Tabla 5. Principales países importadores y su AE.

PRINCIPALES PAÍSES IMPORTADORES	
PAÍS	AE
Estados Unidos	Nuez moscada, sándalo, eucalipto, limón y naranja
Francia	Ylang-ylang, subproductos terpénicos y oleorresinas de extracción
Reino Unido	De clavo, niauli, ylang-ylang, naranja y limón
Japón	No agrios, naranja, limón, subproductos de AE y oleorresinas de extracción
Alemania	No agrios, subproductos terpénicos, naranja y menta piperita

2. DESARROLLO EXPERIMENTAL

2.1 MATERIALES Y REACTIVOS

En la **Tabla 6** se presenta una lista de los materiales y reactivos utilizados en el presente estudio, los cuales fueron suministrados por el centro de investigación de excelencia, CENIVAM, y el laboratorio de Cromatografía del Centro de Investigación en Biomoléculas, CIBIMOL.

Tabla 6. Detalle de los materiales y reactivos utilizados en la investigación.

	MATERIALES Y EQUIPOS	REACTIVOS Y SOLVENTES
COMPOSTAJE	<ul style="list-style-type: none"> • 6 bultos de estiércol de codorniz • 1 bulto (50 kg) de roca fosfórica • 7 bultos de tamo de arroz • Residuos orgánicos • Hojas secas • Residuos de jardinería • Molino de martillo • Balanza METLER Toledo AG 285 • Termómetro digital de punzón (0-200°C) KEX-50. • Termohigrómetro digital máx./min. <i>Taylor</i>, ref. 1422. • pH-metro 	<ul style="list-style-type: none"> • Agua potable
AE	<ul style="list-style-type: none"> • 250 esquejes de <i>Lippia alba</i> • Balón de fondo redondo de 2 L • Reductor de 45/50 a 24/40 • Alargadera 24/40 • Trampa <i>Dean-Stark</i> • Condensador de bolas • Condensador de espiras • Pipetas Pasteur • Tubos de ensayo • Microtubos cónicos • Pipeteadores <i>Transfer</i> de 2 -20 µL y de 20-300 µL 	<ul style="list-style-type: none"> • Agua destilada • Diclorometano • <i>n</i>-tetradecano • Sulfato de sodio anhidro • Etanol

	<ul style="list-style-type: none"> • Horno microondas LG • Balanza METLER Toledo AG 285 • Cromatografo <i>Agilent Technologies</i> 6890 Plus, Serie GC System, equipado con un puerto de inyección <i>split/splitless</i>. • Columna DB-5MS, 60 m x 0.25 mm x 0.25 µm • Columna DB-Wax, 60 m x 0.25 mm x 0.25 µm • Detector selectivo de masas <i>Agilent Technologies</i> 5973 Network 	
--	---	--

2.2 COMPOST

Esta investigación se llevó a cabo en el complejo agroindustrial de CENIVAM, ubicado en el campus Universitario a 960 m.s.n.m, y simultáneamente en el laboratorio de Cromatografía del Centro de Investigación en Biomoléculas, CIBIMOL, de la Universidad Industrial de Santander.

El Centro de Investigación de Excelencia, CENIVAM, cuenta con una planta de compostaje para la obtención de abono orgánico, el cual se elaboró implementando las etapas experimentales que se describen a continuación.

- a. **Recolección de materia prima:** el material orgánico fue recolectado de los puestos de fruta localizados frente a la Universidad, de comedores de Bienestar Universitario y de la plaza de mercado San Francisco. Como material secante se usaron los residuos de poda de jardinería de la Universidad que contenían hojas frescas y secas. Los derivados de procesos agrícolas como es caso del tamo de arroz, el estiércol de codorniz, junto con la roca fosfórica, fueron adquiridos en el mercado.

- b. **Disminución del tamaño de partícula:** el material orgánico se trituró en un molino de martillo ubicado en las instalaciones de Bienestar Universitario.

c. Preparación del *compost*

- ✓ Tipo y cantidad de materia prima: para analizar el efecto de la fertilización orgánica sobre los cultivos de *Lippia alba*, se prepararon tres réplicas de los tratamientos que se presentan en la **Tabla 7**, donde se muestran las proporciones en que se mezcló la materia prima en cada uno de ellos.

Tabla 7. Relación de los diferentes materiales de partida utilizados en la elaboración de los tres tipos de *compost*.

Compost 1 (C1)	MO + estiércol de codorniz (5% en peso de MO) + tamo de arroz (10% en peso de MO)
Compost 2 (C2)	MO + estiércol de codorniz (5% en peso de MO) + tamo de arroz (10% en peso de MO) + roca fosfórica (10% en peso de MO)
Compost 3 (C3)	Estiércol de codorniz (5% en peso de MO) + tamo de arroz (10% en peso de MO) + roca fosfórica (10% en peso de MO) + residuos de poda de jardín.

- ✓ Técnica: la técnica que se empleó en la elaboración de los tres tipos de *compost* fue la de compostaje aeróbico en pilas estáticas (montón), con aireación mecánica. Las tres pilas tenían una dimensión de 306 cm de largo x 130 cm de ancho x 76.5 cm de alto, cada una estaba construida con ladrillos perforados para promover la aireación durante todo el proceso, y divididas en el centro (153 cm) para facilitar el volteo de un lado al otro de la pila.
- ✓ Volteo de la materia orgánica: el volteo es el método más práctico que se usa, no sólo para suplir las necesidades de oxígeno, sino también para homogenizar la MO en descomposición. Ya que en el montón la temperatura no se incrementa en todas las partes por igual, [77, 80, 122, 123], cada vez que se realizaba un volteo, se procuraba que toda la MO, se intercalara para estar en el centro

(zona de mayor temperatura); de esta manera, todo el montón fue sometido a altas temperaturas. A continuación se describe la frecuencia de volteo realizado durante el proceso de descomposición de la MO:

Tabla 8. Frecuencia de volteo del montón.

Período (días)	Volteo (veces/día)
3 al 10	2
11 al 20	1
21 al 30	0.5 (*)
31 al 40	0.5(*)

(*) día de por medio

- d. Seguimiento de parámetros: la temperatura, el pH y la humedad, fueron parámetros que se usaron como guía, para determinar si el proceso se estaba desarrollando correctamente, por lo cual se monitorearon regularmente.

La temperatura y el pH se midieron usando el termómetro de punzón y el termohigrómetro descritos en la **Tabla 6**, a la misma hora del día, y en los mismos cinco puntos seleccionados en las pilas de compostaje, como se ilustra en la **Figura 5**, los datos de estas mediciones se muestran en el **Anexo 1**. La humedad se determinó empíricamente con la prueba del puño, tal y como se describe en el marco teórico, con el fin de mantenerla constante desde el inicio hasta el final del proceso.

Figura 7. Puntos seleccionados para el seguimiento de los parámetros de pH y temperatura en las pilas de compostaje.



- e. Análisis químico del *compost* obtenido: el producto final, color marrón-oscuro, con olor a humus y a temperatura ambiente, fue analizado por el Laboratorio Químico de Consultas Industriales de la Universidad, dirigido por la Química Yolanda Vargas, donde se llevó a cabo la caracterización fisicoquímica del *compost*, reportando datos de humedad, cenizas, materia orgánica, elementos menores y mayores, la presencia de N, P, K, S, entre otros. Estos resultados se muestran el **Anexo 2**.

2.3 ANÁLISIS DE SUELOS

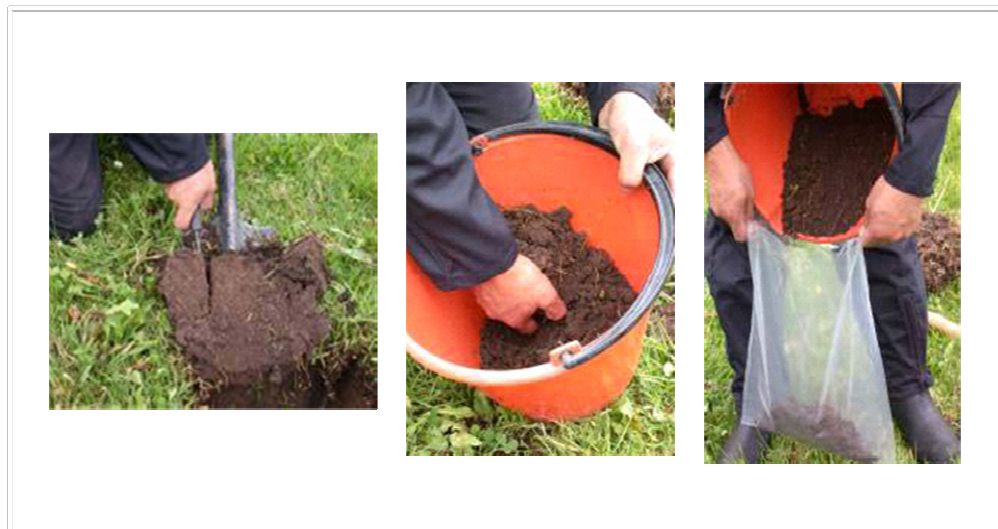
Los análisis de los suelos, se realizaron sobre muestras homogéneas que se tomaron de las tres parcelas asignadas para esta investigación, las cuales estaban ubicadas en el complejo agroindustrial de CENIVAM.

El suelo es un material muy heterogéneo debido a la presencia de diferentes condiciones de topografía, tipos de vegetación, entre otros, por ello para

efectuar el análisis del suelo cada parcela se dividió en 4 subparcelas donde se tomaron porciones representativas de cada una de ellas, siguiendo un modelo de x, para llevar a cabo el muestreo, que se realizó con una pala y un balde limpios [124].

De los puntos seleccionados, se tomaron muestras a la misma profundidad (25 cm), procurando que cada una tuviera una cantidad similar de suelo; las submuestras se mezclaron en el balde para homogeneizarlas, la muestra final se almacenó en una bolsa plástica, que se etiquetó y llevó al Laboratorio Químico de Suelos-Secretaria de Agricultura y Desarrollo rural de Santander, que realizó el análisis y reportó cuantitativamente la presencia de elementos mayores y menores, la acidez y textura del suelo.

Figura 8. Toma de muestra para el análisis químico de suelos.



2.4 MATERIAL VEGETAL: *Lippia alba*

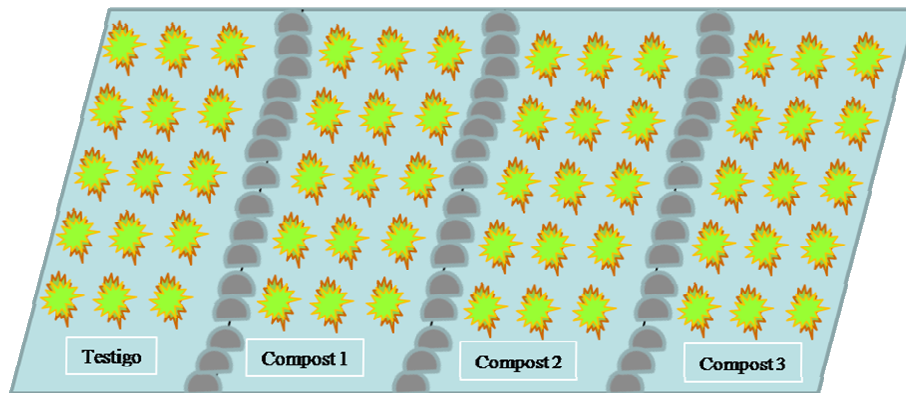
La identificación taxonómica del material vegetal se efectuó en el Herbario Nacional Colombiano, Instituto de Ciencias Naturales, Facultad de Ciencias, de la Universidad Nacional de Colombia (Bogotá) y fue clasificado como: *Lippia alba* (Mill) N.E. Brown, *Voucher* No Col. 512078 por José Luís Fernández.

2.4.1 Propagación y cultivo: para la reproducción de la planta, se empleó el método de propagación por esquejes, cada uno con una longitud c.a. de 15 cm, los cuales se obtuvieron de una planta madre que presentó características sobresalientes en cuanto a producción de follaje y altura.

Los esquejes se plantaron en parcelas localizadas en el complejo piloto de la Cadena Productiva de AE (CENIVAM), cuando tenían aproximadamente dos meses de enraizamiento en el invernadero, a una distancia de 60 cm entre cada uno de ellos y 90 cm entre surcos.

Cada parcela se dividió en 4 zonas designadas como: blanco (sin abono= BPx), *compost 1* (C1Px), *compost 2* (C2Px) y *compost 3* (C3PX); donde P se refiere a parcela y x, al número de replica; esto se puede observar de manera representativa en la **Figura 9**, aclarando que cada parcela asignada tenía dimensiones diferentes.

Figura 9. Representación de la distribución del terreno para el cultivo del material vegetal y aplicación de los distintos tratamientos.



2.4.2 Cantidad de compost y frecuencia de abono: en el momento de la siembra de los esquejes, se hicieron perforaciones en el suelo, con un diámetro c.a. de 20 cm y una profundidad de longitud similar, donde se agregaron 500 g de los *compost* preparados, según el caso; después de cubrir los esquejes con tierra, se adicionó a cada uno de ellos, 200 g de *compost* en su superficie. En cuanto a la frecuencia de abono, se realizó cada 30 o 40 días, dependiendo de

la cantidad de materia orgánica que aún se conservara en la superficie, para lo cual se usaron *c.a.* de 200g de los *compost* elaborados.

2.4.3 Descripción de las parcelas cultivadas: las características fisicoquímicas del suelo de cada una de las parcelas, se describen en el **Anexo 3**, y corresponden a los resultados obtenidos por el Laboratorio Químico de Suelos.

En cuanto a intensidad lumínica, todas las subparcelas de la parcela 1 (P1) recibían por igual la luz del sol, desde las 10:00 a.m. hasta las 3:00 p.m. *c.a.*; mientras que las subparcelas correspondientes al duplicado (P2), la tomaban desde las 7:00 a.m. hasta la 1:00 p.m. *c.a.*, sin embargo a algunas plantas las cubría la sombra debido a los árboles cercanos. La parcela 3 (P3) estaba expuesta al sol *c.a.* desde la 9:00 a.m. hasta 4:00 p.m., sin embargo, la subparcela correspondiente al blanco (BP3), lo estaba hasta las 2:00 p.m. debido a que se encontraba ubicada detrás del edificio de CENIVAM.

Dado que las plantas correspondientes a P2 se demoraron en crecer, por el corto periodo, en el que les llegaba la luz solar, se hizo un experimento adicional a los planteados inicialmente, donde las plantas se sembraron de manera que la luz, les llegara desde la salida, hasta la puesta del sol, esta parcela se denominó PSol, compuesta por BSol (subparcela Blanco) y C2Sol (*compost 2* al sol).

2.5 EXTRACCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL

La extracción de los metabolitos secundarios volátiles se efectuó durante el estado de floración de las plantas, ya que según los resultados obtenidos por Durán [124], este es el estado fenológico en el que las hojas acumulan mayor cantidad de AE; y se realizó mediante hidrodestilación asistida por la radiación de microondas (MWHd). Para esto, se pesaron alrededor de 200 g de material vegetal fresco (hojas y flores), cortado en pequeños trozos para facilitar la

extracción (Véase **Figura 10**). El aislamiento del aceite esencial se llevo a cabo utilizando un equipo de destilación tipo Clevenger, con reservorio de destilación *Dean-Stark* y adaptación para calentamiento por radiación mediante un horno de microondas convencional LG- *Intelowave* modelo MS-1242ZK con potencia de salida de 720 W. Cada extracción duró 30 min, dividido en intervalos de 10 min (10 min X 3); y se realizaron tres replicas de cada una.

Figura 10. Montaje de la técnica hidrodestilación asistida por la radiación de microondas (MWHd), empleada para la extracción del AE de *Lippia alba*.



Una vez terminada la extracción, el aceite esencial se recolectó en tubos de ensayo previamente pesados, para por medio de la diferencia en peso, conocer el del AE extraído, y calcular su rendimiento, después de extraer el agua de las muestras de AE.

Rendimiento:
$$\left(\frac{w_{AE}}{w_{mv}} \right) \times 100$$
 Ecuación 6.

w_{AE} = Peso AE

w_{mv} = Peso material vegetal

2.6 ANÁLISIS INSTRUMENTAL

2.6.1 Preparación de la muestras: para realizar el análisis cromatográfico se mezclaron 50 μ L del AE con 2 μ L del estándar interno (n-tetradecano); y se aforaron a 1 mL con diclorometano en un microtubo de reacción, después de homogeneizar, la mezcla se trasvasó a un vial de 1.5 mL. Este proceso se realizó para cada una de las extracciones.

2.6.2 Análisis por GC-MS de las muestras de AE de *Lippia alba*: la caracterización química de los compuestos presentes en el AE, se basó en la comparación de sus espectros de masas, obtenidos por medio de un cromatógrafo de gases *Agilent Technologies 6890 Plus Series GC*, acoplado a un detector selectivo de masas *Agilent Technologies 5973 Network* (Véase Figura 9), equipado con un sistema computarizado de datos *MSD ChemStation* (Versión D.02.00.275); con los de las bases de datos: NBS 75K, WILEY 138K, ADAMS y NIST 02; pertenecientes a este sistema.

Además se usaron criterios instrumentales, como el cálculo de los I_K para cada uno de ellos. Para la separación de los analitos, se emplearon dos columnas, una de fase estacionaria polar (*DB-WAX*) y otra apolar (*DB-5*).

Figura 11. Cromatógrafo de gases *Agilent Technologies 6890 Plus Series GC*, acoplado a un detector selectivo de masas.



Los parámetros operacionales del cromatógrafo de gases fueron los siguientes:

- Puerto de inyección: split/splitless (relación Split 1:30)
- Temperatura del puerto de inyección: 250°C
- Columna capilar: DB-5 (*J & W Scientific, Folsom, CA, EE.UU*), de 60 m(L) x 0.25 mm (D.I) x 0.25µm recubierta con fase estacionaria apolar de 5% fenil-poli(metilsiloxano).
- Temperatura del horno: Se programó desde 45°C (5 min) @ 4°C/min, hasta 150°C (2 min) @ 5°C/min; luego de 250°C (5 min) @ 5°C/min, hasta alcanzar 275°C (15 min) @ 10°C/min.
- Gas de arrastre: helio, presión de entrada a la columna 16,47 psi con velocidad lineal de flujo de 26 cm/seg
- Modo de inyección: automático
- Volumen de inyección: 1 µL de muestra.

Los parámetros operacionales del detector selectivo de masas

- Analizador: cuadrupolar
- Funcionamiento del cuadrupolo: barrido automático de radiofrecuencia completo (*full scan*) con velocidad 4.75 scan's/seg, en el rango de masas 40-350 u.m.a's.
- Energía de los electrones bombardeantes: 70 eV.

Para el análisis de los metabolitos secundarios volátiles en columna polar, se empleó un cromatógrafo *Agilent Technologies 6890N Network Series GC*, acoplado a un espectrómetro de masas *Agilent Technologies 5975 Inert XL* (Véase **Figura 12**), con un sistema computarizado de datos *MSD ChemStation* (Versión D.02.00.275).

Figura 12. Cromatógrafo de gases *Agilent Technologies 6890N Network Series*, con columna polar, acoplado a un espectrómetro de masas.



Los parámetros operacionales del cromatógrafo de gases fueron los siguientes:

- Puerto de inyección: split/splitless (relación Split 50:1)

- Temperatura del puerto de inyección: 250°C
- Columna capilar: DB-WAX (*J & W Scientific, Folsom, CA, EE.UU.*), de 60 m (L)x 0.25 mm (D.I.) x 0.25 µm; recubierta con fase estacionaria polar entrecruzada e inmovilizada de poli(etilenglicol).
- Temperatura del horno: se programó desde 45°C (5 min) @ 3°C/min, hasta 120°C (3 min) @ 4°C/min, luego de 250°C (5 min) @ 5°C/min, hasta alcanzar 220°C (5 min) @ 10°C/min.
- Gas de arrastre: helio, con presión de entrada a la columna 20.15 psi con velocidad lineal de flujo de 39 cm/seg.
- Modo de inyección: automático
- Volumen de inyección: 2 µL de muestra.

Los parámetros operacionales del detector selectivo de masas:

- Analizador: cuadrupolar
- Funcionamiento del cuadrupolo: barrido automático de radiofrecuencia completo (*full scan*) con velocidad 4.75 scan's/seg, en el rango de masas 40-350 u.m.a's.
- Energía de los electrones bombardeantes: 70 eV.

2.7 CUANTIFICACIÓN DE LOS COMPONENTES DEL AE

Los compuestos identificados en los aceites esenciales extraídos implementando la técnica *HDMW*, se cuantificaron aplicando el método de estandarización interna con n-tetradecano, C₁₄H₃₀ como patrón interno. La concentración de cada compuesto se calculó empleando la **Ecuación 2**.

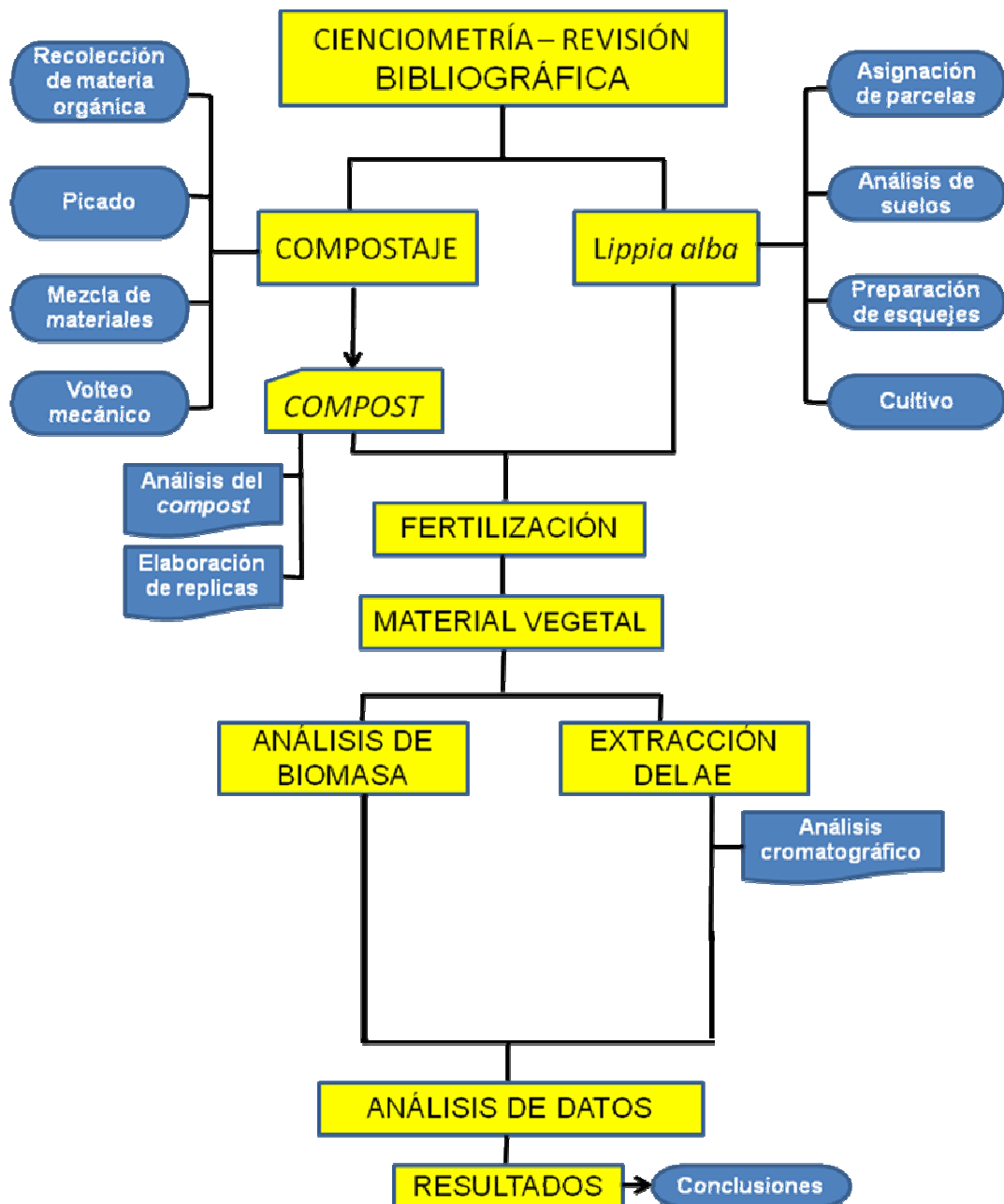
2.8 DETERMINACIÓN DE BIOMASA DE LOS CULTIVOS DE *Lippia alba*

Para la determinación de la biomasa total, se seleccionaron 5 plantas de cada una de las subparcelas de *Lippia alba*, a las que no se les extrajo el AE, y se separaron en tallos, hojas y flores, que se guardaron en bolsas de papel marcadas con el nombre cada uno de los individuos y el órgano correspondiente según se ilustra en la **Figura 13**. Las hojas y tallos, se sometieron a una temperatura de 80 °C, hasta peso constante, en una estufa de secado forzado *Indumegas*.

Figura 13. Determinación de biomasa.



2.9 DIAGRAMA DE FLUJO DEL DESARROLLO METODOLÓGICO



3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

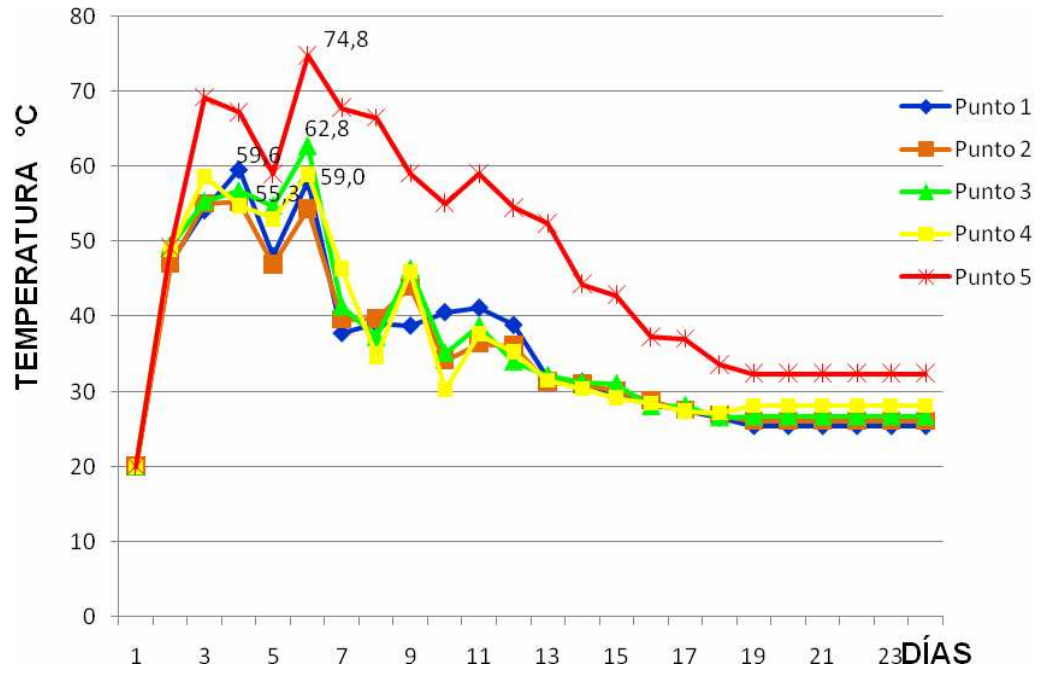
3.1 PROCESO DE COMPOSTAJE

Todos los tipos de *compost* se realizaron por triplicado, y se obtuvieron mediante descomposición aeróbica de la materia orgánica, en un periodo de 40 días. En el **Anexo 1**, están recopilados los datos de los parámetros que se usaron como guía, para determinar que los procesos tuvieran un correcto desarrollo.

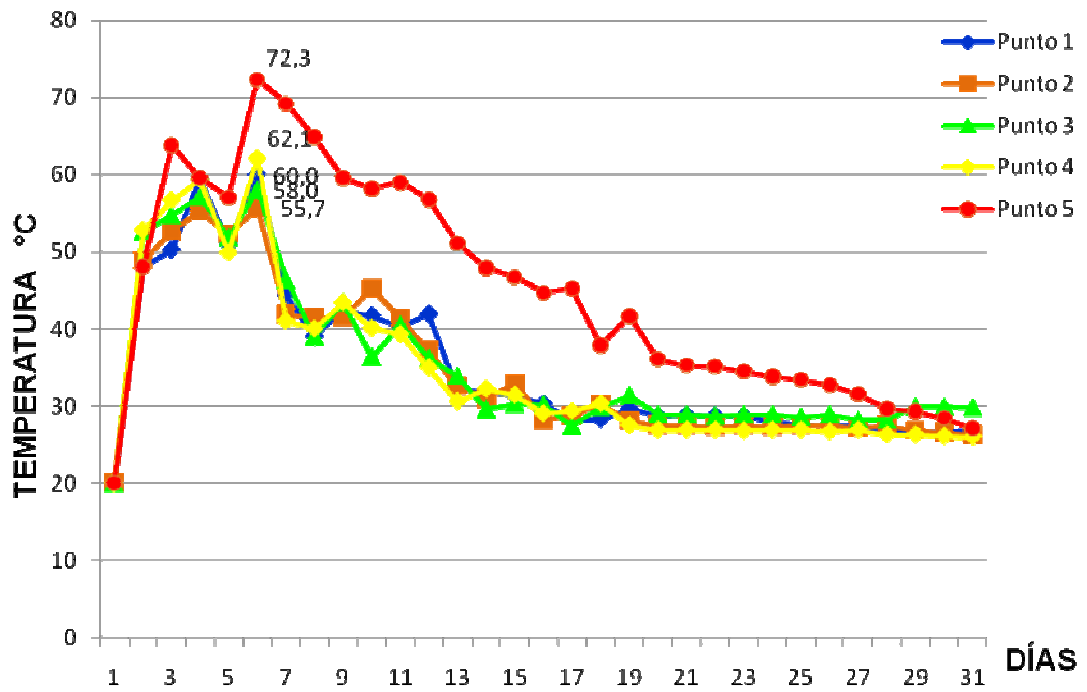
- **Temperatura:** en el montón de materia orgánica, se encontraban diversos focos de temperatura, la zona central fue la que mayores rangos alcanzó, tal y como se describe en la literatura; en las **Gráficas 11, 12 y 13**, se muestra el comportamiento térmico de cada una de las pilas de compostaje. Los puntos 1, 2, 3, 4 y 5 corresponden a los señalados en la **Figura 7** del numeral **2.2**. Los valores señalados en las gráficas mencionadas anteriormente, corresponden a la temperatura máxima alcanzada en cada uno de los puntos monitoreados de las pilas de compostaje.

En la **Gráfica 11**, se observa que la temperatura en el centro de la pila (Punto 5), cumplió con las etapas del compostaje, alcanzando un máximo de 74.8°C en el cual se produjo el proceso de higienización, para después disminuir y alcanzar estabilidad a temperatura ambiente. Este mismo comportamiento se evidenció en las **Gráficas 12 y 13**, con máximos de temperatura de 72.3°C y 64.9°C, respectivamente. Los datos del monitoreo de la temperatura en los puntos 1, 2, 3, 4 y 5 de las pilas de compostaje se encuentran registrados en el **Anexo 1**.

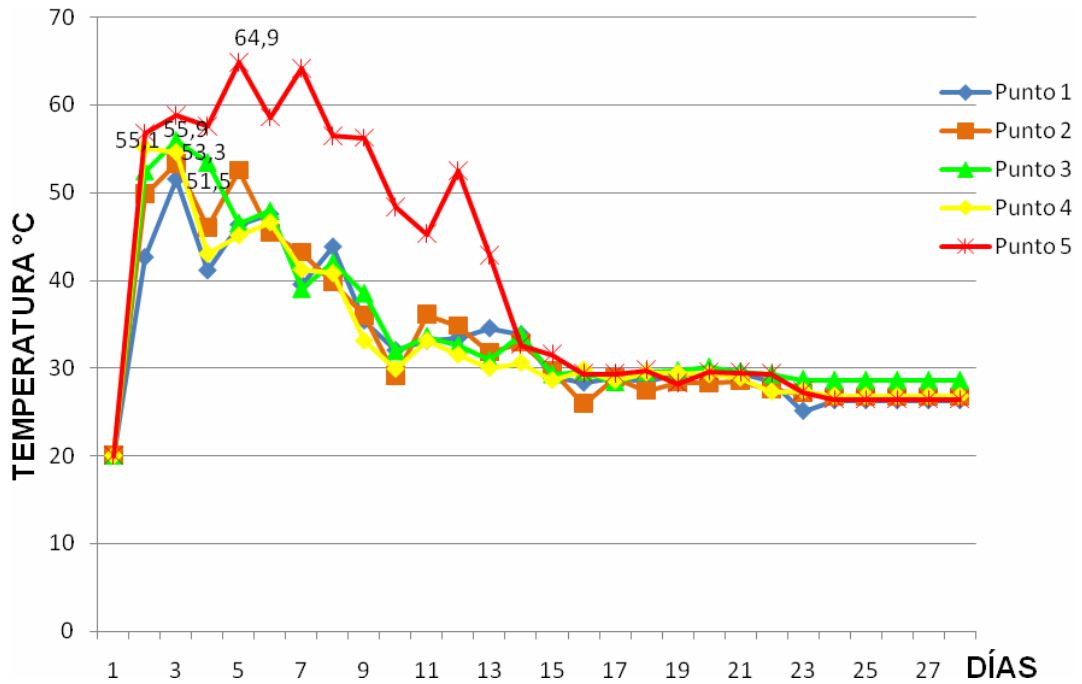
Gráfica 11. Registro de la temperatura del *compost 1* (C1).



Gráfica 12. Registro de la temperatura del *compost 2* (C2).



Gráfica 13. Registro de la temperatura del *compost* 3 (C3).



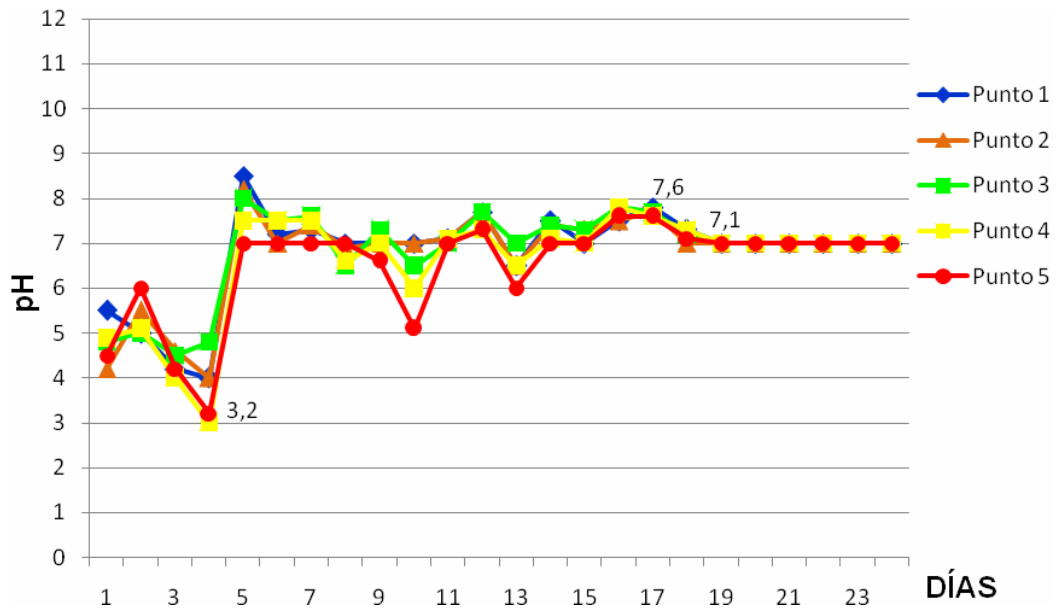
Según Palmisano y Barlaz [126], las temperaturas necesarias para la eliminación de microorganismos patógenos están entre 50–70 °C. Dado que durante cada uno de los procesos de descomposición este rango fue alcanzado, se presume que esta etapa de higienización, se llevó a cabo exitosamente, exterminando los patógenos presentes.

Un beneficio adicional de alcanzar temperaturas termofílicas, es que estas inhiben el desarrollo de las semillas presentes en los residuos orgánicos, usados como materiales de partida (> 60°C) [99], efecto que se comprobó experimentalmente, al no crecer ningún otro tipo de vegetal o planta donde el *compost* fue utilizado.

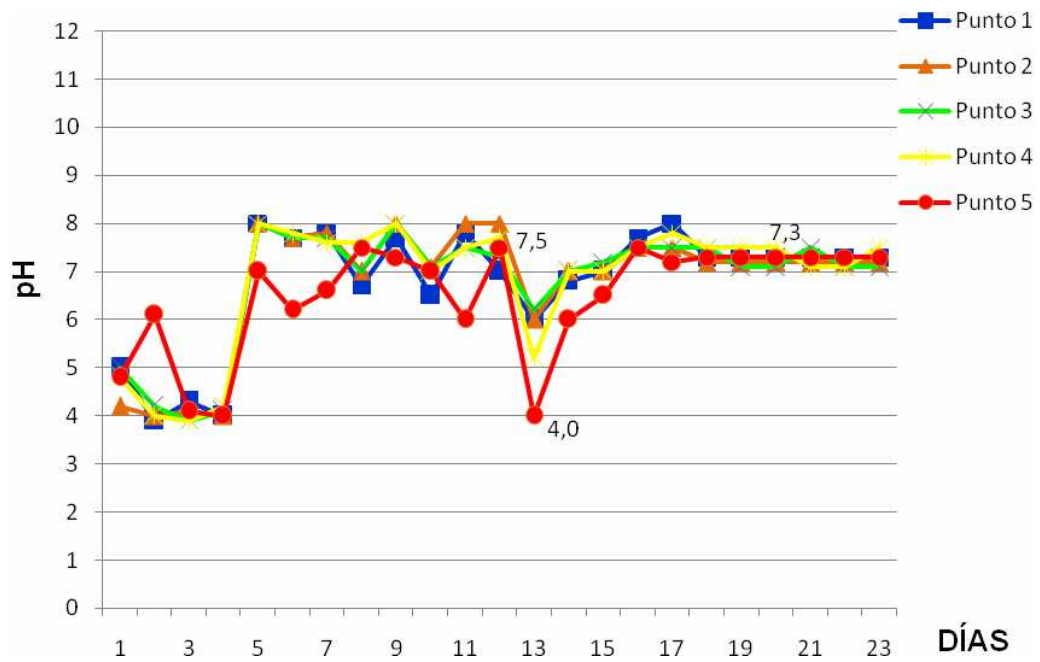
- **pH:** simultáneamente, el pH incrementó y permaneció constante al final del los procesos de compostaje, en un rango de 7.0–7.3 unidades, indicando su excelente desarrollo.

En el **Anexo 1**, están registrados los datos de seguimiento del pH de cada uno de los montones preparados y las siguientes gráficas los ilustran. Los puntos 1, 2, 3, 4 y 5 descritos en las **Gráficas 14, 15 y 16**, corresponden a los señalados en la **Figura 7**, del numeral **2.2**. En estas gráficas se señala el valor mínimo y máximo de pH alcanzado por cada tipo de *compost*, en el centro de la pila (Punto 5), y el valor en el cual se estabilizó.

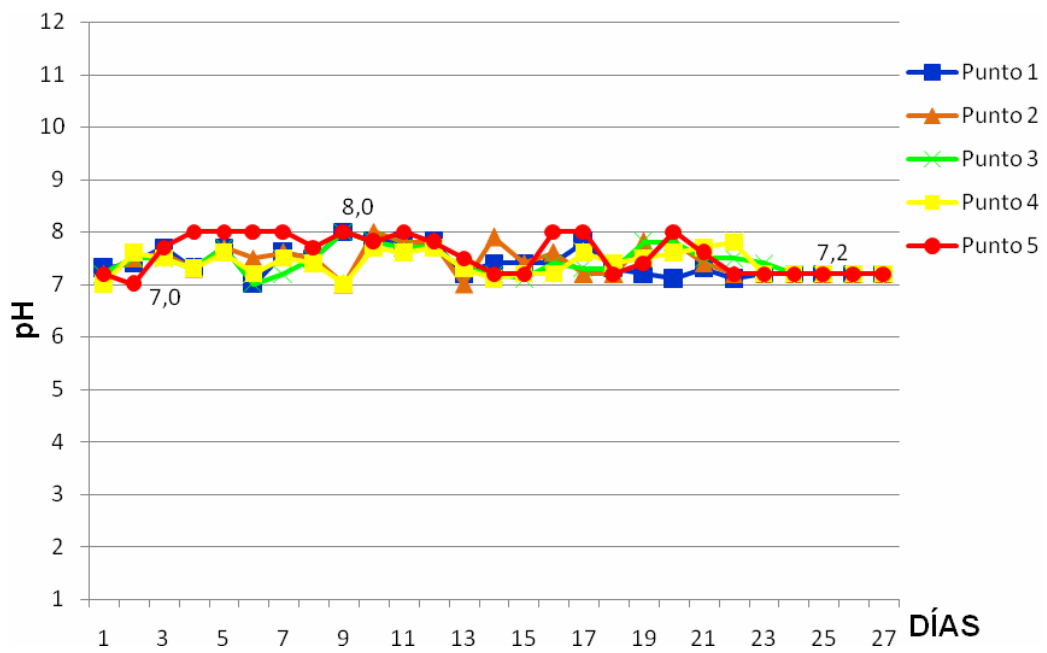
Gráfica 14. Seguimiento del pH para el *compost* 1 (C1).



Gráfica 15. Seguimiento de pH para el *compost 2* (C2).



Gráfica 16. Seguimiento de pH para el *compost 3* (C3).



3.2 PROPIEDADES DEL COMPOST ELABORADO

En la **Tabla 9**, se muestran los resultados del análisis químico, de cada uno de los *compost* elaborados. Con esto se puede concluir que el uso de la roca fosfórica como enriquecedor mineral aumenta los contenidos de P, Ca, Zn, S y Fe en el *compost* obtenido. Además se observa que la relación C/N determinada indica un buen grado de madurez para cada uno de ellos.

Tabla 9. Análisis químico de los *compost* obtenidos.

PARAMETROS	COMPOST 1		COMPOST 2		COMPOST 3	
	Cantidad	$\pm \sigma$	Cantidad	$\pm \sigma$	Cantidad	$\pm \sigma$
pH (Unidades de pH)	8.8	0.57	9.2	5.81	7.9	0.31
Humedad	29.7	0.64	22	20.5	29	6.01
Cenizas (%)	34	3.94	44	21.4	42	5.10
Materia Orgánica (%MO)	34	4.82	32	20.6	28	1.40
Nitrógeno (%N)	2.0	0.23	2	1.2	1.4	0.25
Relación C/N	11.0	0.9	8	7.08	11	1.31
Fósforo (ppm)	0.6	0.24	2.1	0.22	1.5	0.33
Calcio (%Ca)	1.7	0.47	4.6	0.89	4.1	0.33
Magnesio (%Mg)	0.6	0.21	0.3	0.26	0.30	0.03
Sodio (%Na)	0.22	0.08	0.25	0.09	0.21	0.06
Potasio (%K)	2.7	0.24	2	1.71	1.4	0.11
Cobre (%Cu)	N.D	---	0.002	---	0.003	---
Hierro (%Fe)	0.16	0.03	0.310	0.09	0.290	0.000
Zinc (%Zn)	0.012	0.008	0.024	0.002	0.03	0.02
Manganeso (%Mn)	0.007	0.002	0.008	0.003	0.006	0.003
Azufre (%S)	0.14	0.03	0.27	0.078	0.210	0.000

3.3 EFECTO DEL COMPOST SOBRE EL SUELO

Al analizar las pruebas de suelos, antes y después de la aplicación del *compost*, se observa que todos los abonos elaborados aumentan en general los contenidos de C, Fe, Mg, S y K; mientras que los tipo C2 y C3 incrementan el pH, P, Ca, Na, Zn y el B del suelo (véase, **Anexo 3**).

3.4 EFECTO DEL COMPOST SOBRE LOS CULTIVOS DE *Lippia alba*.

3.4.1 Efecto de la aplicación de compostaje sobre la producción de biomasa foliar (peso seco): la producción de biomasa se determinó para las parcelas P3 y PSol, debido a que eran las únicas que tenían suficiente material vegetal para realizar esta determinación y dejar los individuos necesarios para realizar las extracciones. En las **Tablas 10** y **11**, está registrado el peso seco de cada uno de las plantas, que fueron seleccionadas aleatoriamente para la determinación de biomasa.

Tabla 10. Peso seco de hojas y tallos de *Lippia alba* cultivada en PSol y P3.

Biomasa (Peso Seco)							
Hojas							
Tratamiento	I	II	III	IV	V	Promedio	σ
LAC2Sol	37.08	59.66	74.00	32.49	74.22	55.49	19.87
LABsol	54.56	25.19	21.62	47.29	25.35	34.80	15.02
LABP3	35.45	28.12	27.96	29.12	24.91	29.11	1.82
LAC1P3	50.46	82.29	51.51	52.06	----	59.08	0.81
LAC2P3	110.12	121.28	133.99	169.97	----	133.84	11.94
LAC3P3	86.14	90.73	82.18	115.25	----	93.58	4.28
Tallos							
Tratamiento	I	II	III	IV	V	Promedio	σ
LAC2Sol	106.75	160.12	132.23	66.06	157.02	12.44	39.10
LABsol	91.05	45.04	36.59	103.72	51.64	65.61	29.83
LABP3	58.56	43.15	55.71	48.22	28.55	46.84	11.90
LAC1P3	88.58	170.41	92.83	89.1	----	110.23	40.16
LAC2P3	253.10	321.91	356.39	448.91	----	345.08	81.46
LAC3P3	180.71	194.32	141.21	190.15	----	176.59	24.27

Tabla 11. Biomasa foliar (kg/ha) para las parcelas PSol y P3

Biomasa foliar (Peso seco)						
Tratamiento	LABP3	LAC1P3	LAC3P3	LAC2P3	LABsol	LAC2Sol
kg hoja/ha	509,78	950,8	1599,07	2255,48	644,44	1027,59

- **Análisis estadístico:** sólo se le realizó a los datos de peso seco de hojas, ya que son los órganos de interés en la obtención del AE. LAPSol al estar constituida por 2 subparcelas, se requirió la prueba de la t de *Student*, en

términos de significancia, con $P=0.05$; debido a que este valor (en negrilla) es mayor que el nivel de significación, se acepta la hipótesis nula: C2, no causa cambios significativos en la producción de biomasa en la *Lippia alba* sembrada directamente al sol, bajo las condiciones del terreno.

Tabla 12. Prueba de la t, para LAPSol.

Prueba de la t				
t	df	Sig. (2-tailed)	Diferencia Significativa	Error Estándar
1.858	8	0.100	20.688	11.1368
1.858	7.446	0.103	20.688	11.1368

Debido a que P3 estaba constituida por 4 subparcelas, se le realizó la prueba de Tukey para comparaciones múltiples; fue necesario excluir unos valores atípicos, que correspondían al mayor valor existente en cada grupo (resaltados en la **Tabla 10**) para que los datos siguieran una distribución normal, en las **Tablas 13 y 14** se muestran los resultados obtenidos.

Tabla 13. Test de Tukey para P3.

Comparación Múltiple Tukey HSD				
Tratamiento (I)	Tratamiento (J)	Diferencia Significativa (I-J)	Std Error	Significancia
LABP3	LAC1P3	-23.816 (*)	4.647	0.003
	LAC2P3	-94.269(*)	4.647	0.0001
	LAC3P3	-58.822(*)	4.647	0.0001
LAC1P3	LABP3	23.816(*)	4.647	0.003
	LAC2P3	-70.453(*)	4.968	0.0001
	LAC3P3	-35.006(*)	4.968	0.0001
LAC2P3	LABP3	94.269(*)	4.647	0.0001
	LAC1P3	70.453(*)	4.968	0.0001
	LAC3P3	35.446(*)	4.968	0.0001
LAC3P3	LABP3	58.822	4.647	0.0001
	LAC1P3	35.006	4.968	0.0001
	LAC2P3	-35.446	4.968	0.0001

Basado en las medias observadas

* Diferencia significativa al nivel de 0.05

Teniendo en cuenta que la significancia es menor que $P=0.05$, se concluye que todos los tipos de compostaje aumentan significativamente la producción de hojas en *Lippia alba*. bajo las condiciones de P3.

Tabla 14. Subgrupos Homogéneos.

Subgrupos Homogéneos					
Tratamiento	n	Subgrupos			
		1	2	3	4
LABP3	4	27.528			
LAC1P3	3		51.343		
LAC3P3	3			86.350	
LAC2P3	3				121.796
Significancia		1.000	1.000	1.000	1.000

La media para los grupos en subgrupos homogéneos está expuesta.
Alfa= 0.05

El análisis de subgrupos muestra que cada tipo de *compost* produce un efecto completamente diferente para las plantas estudiadas ($P=0.05$).

Observando las tablas es fácil concluir, que la mayor producción de biomasa se dio con LAC2P3, seguido en orden decreciente por $LAC3P3 > LAC1P3 > LABP3$, igualmente se puede deducir, que la adición de roca fosfórica, es el factor más influyente en los tipos de compostaje sobre la producción de hojas en las plantas, ya que LAC1P3 se diferencia únicamente de LAC2P3 por la ausencia de roca fosfórica, mientras que LAC3P3, si la contiene en sus materiales de partida.

Comparando la composición del suelo de cada una de las subparcelas después de la adición del compostaje (véase **Anexo 3**), se observa que LAC2P3 posee el mayor contenido de C, P, Ca, Mg, Na, K y mayor pH, mientras que para las subparcelas sembradas al sol, el contenido de estos elementos fue mucho menor, lo que sugiere que estos elementos tienen gran influencia en la producción de biomasa.

A continuación se ilustran las plantas que fueron sometidas a la determinación de biomasa, y por lo tanto se ve el efecto de cada tipo de *compost* sobre cada

subparcela; además en la **Gráfica 17**, se muestran los datos de los promedios obtenidos.

Figura 14. Subparcela LABSol.



Figura 15. Subparcela LAC2Sol.



Figura 16. Subparcela LABP3.



Figura 17. Subparcela LAC1P3.



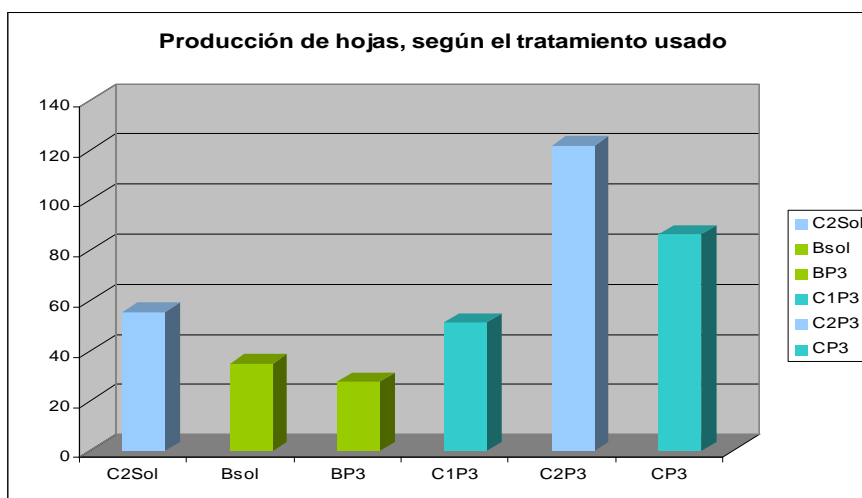
Figura 18. Subparcela LAC2P3.



Figura 19. Subparcela LAC3P3.



Gráfica 17. Producción de hojas en peso seco, de *Lippia alba* según el tratamiento usado.



3.4.2 Efecto del compostaje sobre el contenido de AE de *Lippia alba*: en las Tablas 15 y 16 se muestran los resultados obtenidos.

En general, el uso de compostaje disminuyó la producción de AE, de las plantas cultivadas en P1; los rendimientos de mayor a menor fueron: LABP1>LAC3P1>LAC1P1>LAC2P1; esto concuerda con el planteamiento de Gottlier [127] y Almeida [128] quienes afirman que el AE es fundamental para la defensa de la planta y por lo tanto ésta genera una mayor cantidad, cuando crece en condiciones menos favorables.

Guzmán, García y Cardozo, analizaron el crecimiento de la planta cultivada en distintas zonas de Colombia; y reportaron que se producen mejores rendimientos en suelos con bajo contenido de MO, [129] y citan a Ming [130] quien señala que a medida que se aumenta la cantidad de MO en el suelo el rendimiento del AE disminuye.

A grandes rasgos, se puede decir que esa es la razón por la cual el uso del *compost* disminuyó el contenido de AE en las plantas de P1; sin embargo, el análisis fisicoquímico de los *compost* usados, muestra que el contenido de MO

es mayor para C3, seguido por C1 y el menor para C2 (Véase, **Anexo 2**), por lo cual, según los autores citados, el orden de disminución en el rendimiento del AE debió haber sido: LABP1>LAC2P1>LAC1P1>LAC3P1; por esto, se sugiere, que la cantidad de MO, no es el factor determinante en la producción de AE por parte de las plantas de *Lippia alba*.

Para P2, no ocurrió una disminución general, en el rendimiento del AE, respecto al blanco. Por el contrario, dos tipos de *compost* aumentaron su contenido: LAC3P2>LAC1P2>LABP2>LAC2P2; sin embargo, la tendencia entre tipos de compostaje continúa; obteniéndose la mayor cantidad para C3 y la menor para C2.

Para P3, al igual que en P2, C3 continúa siendo el abono que mayor rendimiento genera en las plantas; sin embargo, el menor contenido de AE en esta ocasión lo proporcionó C1: LAC3P3>LAC2P3>LABP3>LAC1P3.

Para la parcela sembrada directamente al sol, el *compost* 2 aumentó el contenido del AE: LAC2Sol > LABSol.

Los resultados encontrados en P2, P3 y PSol, presentaron aumentos para casi todos los tratamientos; lo que concuerda con los obtenidos por Hernández, Bonilla y Sánchez, quienes al comparar la fertilización nitrogenada en *Lippia alba*, encontraron que se obtenía un mayor rendimiento del AE (1.6%) al abonarla con 50 kg/ha de N en forma de úrea.

Igualmente, para otras plantas aromáticas, como *Dracocephalum moldavica* L., algunas especies de menta [131, 132], y en el *Cymbopogon winterianus*, [109] el uso de compostaje como fertilizante promueve el crecimiento, acelera y aumenta la acumulación y producción (mL/planta) de AE. En campin-santo (*Cymbopogon citratus*) el *compost* fue el tratamiento que proporcionó mayor producción de biomasa y aunque no tuvo un efecto significativo (P=5%) en el rendimiento del AE; fue el que proporcionó una cantidad superior por tonelada

[112]. Los mismos resultados se dieron en *Melissa ssp.* cuando Sousa y colaboradores compararon la producción de biomasa en función de la dosis y tipos de abono usados [133].

Sin embargo, en esta investigación no se observó una tendencia general en los rendimientos obtenidos para cada uno de los tratamientos y cada una de sus réplicas (exceptuando a C3). Para conocer las causas, se analizaron distintas variables, entre las cuales está la intensidad lumínica (IL); Teniendo en cuenta que en P2 y P3, los mayores rendimientos los presentaron las subparcelas sometidas a mayor radiación solar y con algún tipo de compostaje, se puede sugerir, que el uso de *compost* estimula la producción de AE, que actúa como mecanismo de defensa ante la mayor cantidad de energía proveniente del sol, evitando a lo mejor, la sequedad de la planta. Esta proposición puede respaldarse por el hecho de que en LAC2Sol, el *compost*, aumentó el contenido de AE en las plantas, mientras que LAPBSol, obtuvo el menor rendimiento entre los blancos de las demás parcelas.

Aunque el rendimiento no presento una tendencia definitiva frente al pH del suelo, se observa que en un gran número casos, las mayores cantidades de AE se presentaron a pH básico.

Tabla 15. Rendimiento de AE (% p/p), por parcela y tipo de tratamiento.

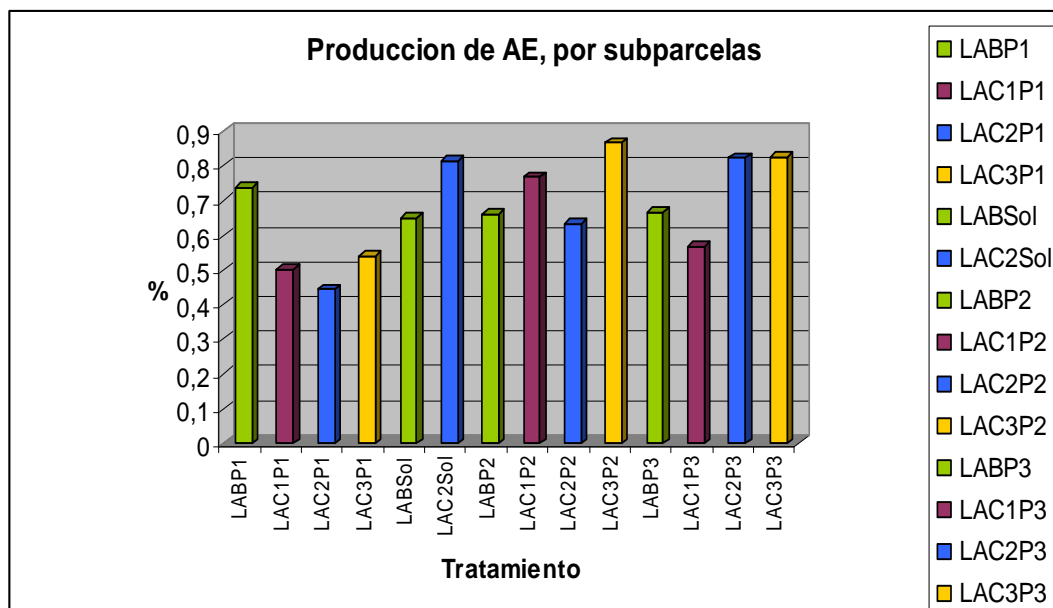
AE	Rendimiento		
	%(p/p)	Desviación	CV %
LABP1	0,74	0,13	17,23
LAC1P1	0,50	0,05	10,33
LAC2P1	0,44	0,07	16,4
LAC3P1	0,54	0,07	12,68
LABsol	0,65	0,04	5,93
LAC2Sol	0,82	0,08	9,97
LABP2	0,66	0,09	14,13
LAC1P2	0,8	0,12	15,32
LAC2P2	0,63	0,04	6,46
LAC3P2	0,87	0,02	2,57
LABP3	0,67	0,02	2,5
LAC1P3	0,57	0,03	5,72
LAC2P3	0,8	0,12	14,3
LAC3P3	0,8	0,14	16,55

Tabla 16. Kilogramo de aceite esencial por hectárea, según el tratamiento usado.

Tratamiento	kg AE/ha
LABP3	340,02
LAC1P3	540,05
LAC2P3	1858,52
LAC3P3	1320,84
LABsol	420,18
LAC2Sol	839,54

La **Gráfica 18**, muestra los rendimientos obtenidos, con cada uno de los tratamientos y cada una de las réplicas; y en ella se pueden observar mejor los resultados obtenidos.

Gráfica 18. Rendimiento de AE (%p/p) obtenido en cada uno de los tratamientos.



3.5 EFECTO DE LA APLICACIÓN DE COMPOSTAJE SOBRE LA COMPOSICIÓN DEL AE

En las **Tablas 17 a 20**, se puede observar que el uso de compostaje, no altera cualitativamente la composición química del AE; por lo menos a corto plazo, los constituyentes tanto principales, como minoritarios, continúan siendo los mismos. Sólo se presentan variaciones en la cantidad relativa de estos componentes.

3.5.1 Efecto de la aplicación de compost sobre la concentración de los analitos del AE de *Lippia alba*:

- ✓ **Parcela 1 (P1):** todos los tipos de *compost*, aumentaron el contenido de los compuestos mayoritarios en el AE, en comparación con la subparcela testigo; sin embargo, existe una relación más estrecha entre C2 y C3. Ambos tipos de *compost* proporcionaron un aumento superior que C1, en la concentración de los analitos mayoritarios; este efecto compartido puede atribuirse al factor común entre ellos y que los diferencia de C1, su enriquecimiento mineral con la adición de roca fosfórica, en sus materiales de partida.

- ✓ **Parcela 2 (P2):** el efecto de los diferentes tipos de compostaje aplicados a P2, tiene a grandes rasgos, la tendencia de aumentar el contenido de los monoterpenos oxigenados y disminuir el de los sesquiterpenos en el AE (Veáse **Tabla 18**). Según la prueba de la t de *Student* [134], con un nivel de significación del 5% ($P=0.05$) se puede considerar que el compostaje sí tiene una influencia significativa en el aumento de la concentración de monoterpenos oxigenados, tales como: óxido de *cis*-limoneno, *trans-p*-menta-2,8-dien-1-ol, *cis-p*-menta-2,8-dien-1-ol, óxido de *trans*-limoneno, óxido de *cis*- y *trans*-carvona, piperitona y epóxido de *trans*-piperitona; así como en la disminución en el contenido de todos los sesquiterpenos presentes en el AE; como una excepción, con todos los abonos disminuyó la cantidad de *trans*-dihidrocarvona. La piperitenona, presentó una

disminución con C1 y un aumento con C2, de una manera estadísticamente significativa, y tuvo un aumento superior con C3, a pesar de que el valor de su t calculada, no fue superior al valor crítico.

En los compuestos en que los resultados no tuvieron significación al nivel de $P=0.05$, se puede observar que hubo un aumento en el contenido, con todos los compostajes para: el mirceno, el linalool, el cumín aldehído y la *trans-p*-menta-2,8-dien-1-ol; mientras que en los compuestos mayoritarios (limoneno, carvona y piperitona), el contenido disminuyó ligeramente con C1, y aumentó con C3; para la carvona y la piperitona (compuestos oxigenados), se presentó una ligera disminución con C2, sin embargo no fue mayor que la producida por C1.

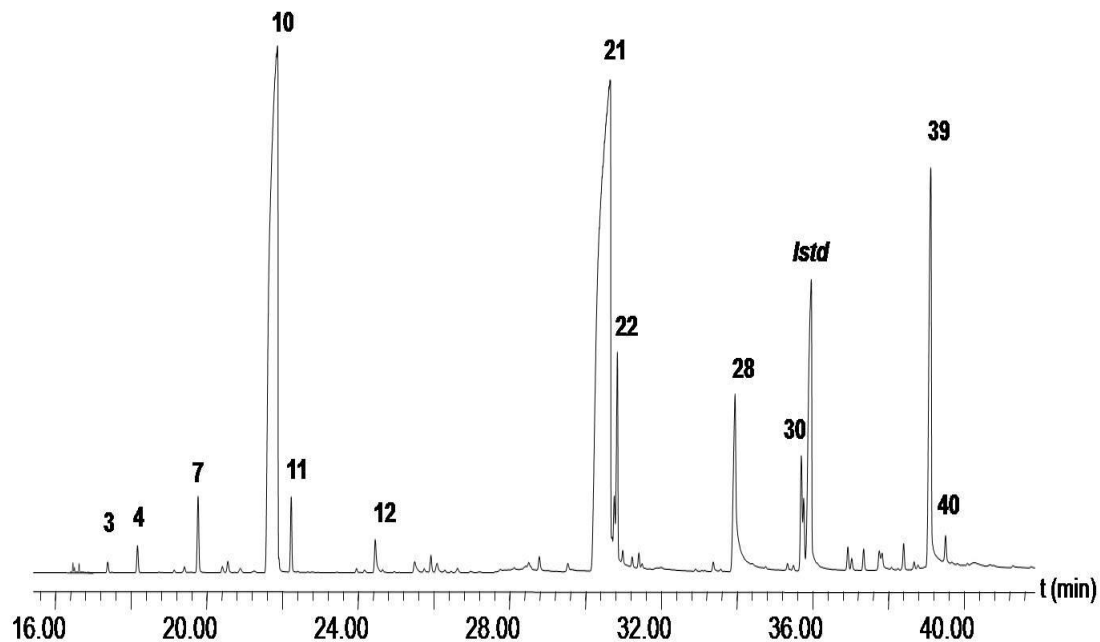
- ✓ **Parcela 3 (P3):** para la parcela 3, con 4 grados de libertad, el valor observado de $|t|$, para cada compuesto es inferior a su valor crítico, $|t| = 2.78$, ($P=0.05$), por lo que se concluye que no hay pruebas de que el compostaje afecte la concentración de los componentes mayoritarios. Sin embargo, para los compuestos *trans*- β -farneseno y *allo*-aromadendreno, el valor de $|t|$ observado es mayor que el crítico, con C2; con lo cual se concluye, que este tipo de compostaje, sí aumentó la concentración de estos compuestos en el AE.
- ✓ **Parcela al Sol (PSol):** presentó una disminución de la carvona, y un aumento en el biciclosesquifelandreno ($P=0.5$).

3.5.2 Caracterización química por GC-MS de los aceites esenciales de *Lippia alba*

En la **Figura 20**, se presenta el perfil cromatográfico típico de los metabolitos secundarios volátiles obtenidos por MWHD de *Lippia alba* cultivada en la parcela 1(P1). En la **Tabla 17**, se registran los componentes mayoritarios aislados e identificados por GC-MS, según el orden de elución en la columna

DB-5MS, junto con sus índices de retención y cantidades relativas (%) para cada uno de los tratamientos.

Figura 20. Perfil cromatográfico típico del AE de *Lippia alba* cultivada en P1, aislado por MWHD. Columna DB-5, 60 m. Detector selectivo de masas (EI, 70 eV). La identificación de los picos se reporta en la **Tabla 17**.



Parámetros de integración: área de rechazo: 15, ancho de pico: 0.1 y umbral de detección: 17.

Tabla 17. Cantidad relativa (%), de los analitos constituyentes del AE de *Lippia alba* cultivada en P1.

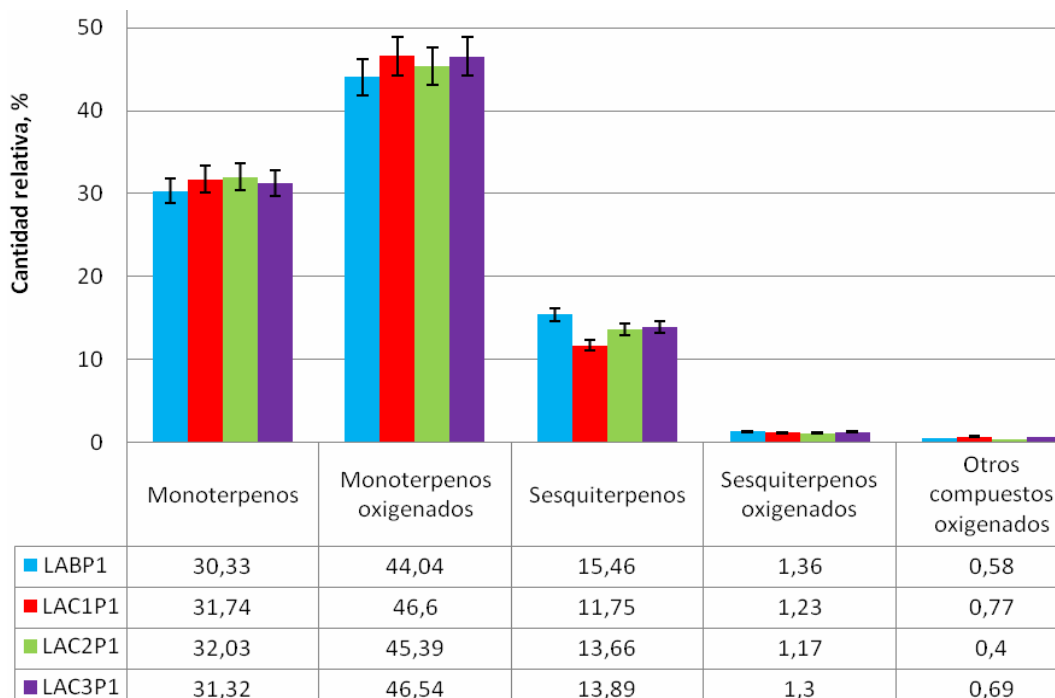
N° Pico Fig.20	Ik		Compuesto	AE, Cantidad relativa %			
	DB-5	DB-WAX		LABP1	LAC1P1	LAC2P1	LAC3P1
1	881	1227	Acetato de 2- Metil-butilo	0.03	---	---	---
2	855	1233	cis-3-Hexenol	0.00	0.20	0.12	0.11
3	939	1018	α -Pinenol	0.11	0.11	0.13	0.09
4	954	1060	Canfeno	0.28	0.29	0.33	0.25
5	979	1383	1-Octen-3-ol	0.07	0.00	0.00	0.00
6	979	1020	β -Pinenol	0.06	0.03	0.06	0.00
7	991	1162	Mirceno	0.87	0.85	0.91	0.85
8	1005	1210	Acetato de cis-3-hexenilo	0.07	0.03	0.00	0.13
9	1009	1172	p-Cimeno	0.14	0.12	0.14	0.00

Continuación, **Tabla 17.**

10	1038	1206	Limoneno	28.08	29.67	29.71	29.72
11	1048	1250	<i>trans</i> - β -Ocimeno	0.79	0.67	0.75	0.72
12	1101	1409	Linalool	0.45	0.41	0.44	0.43
13	1127	1635	<i>trans</i> - <i>p</i> -Menta-2,8-dien-1-ol	0.16	0.27	0.21	0.24
14	1133	1460	<i>trans</i> -Hidrato de pineno	0.00	0.07	0.06	0.06
15	1139	1448	<i>cis</i> -Óxido de limoneno	0.17	0.19	0.17	0.16
16	1143	1870	<i>cis</i> - <i>p</i> -Menta-2,8-dien-1-ol y <i>trans</i> -Óxido de limoneno	0.06	0.17	0.13	0.14
17	1181	1713	Borneol	0.60	0.68	0.68	0.64
18	1205	1618	<i>cis</i> -Dihidrocarvona	0.24	0.08	0.33	0.26
19	1213	1631	<i>trans</i> -Dihidrocarvona	0.39	0.17	0.27	0.20
20	1230	1844	<i>trans</i> -Carveol	0.41	0.49	0.43	0.49
21	1261	1759	Carvona	34.37	35.55	34.62	35.66
22	1271	1735	Piperitona	2.63	2.97	2.90	3.02
23	1271	1865	<i>cis</i> -Óxido de carvona	0.14	0.15	0.17	0.17
25	1283	1802	<i>trans</i> -Óxido de carvona	0.18	0.17	0.14	0.15
26	1285	1253	Peril aldehído	0.00	0.09	0.00	0.00
27	1293	1662	Tlmal	0.27	0.31	0.28	0.32
29	1336	1672	<i>trans</i> -Acetato de carveilo	0.14	0.14	0.00	0.13
30	1351	1942	Piperitenona	4.24	5.23	4.84	4.92
31	1388	1711	α -Copaeno	0.08	0.00	0.06	0.07
33	1397	1522	β -Bourboneno	0.57	2.11	2.33	1.42
34	1399	1597	β -Elemeno	1.95	---	0.08	1.05
36	1432	1527	β -Ylangeno	0.30	0.24	0.27	0.30
37	1436	1603	<i>trans</i> - β -Cariofileno	0.17	0.12	0.14	0.15
38	1445	1691	β -Copaeno	0.29	0.24	0.27	0.29
39	1457	1673	<i>trans</i> - β -Farneseno	0.66	0.54	0.55	0.53
41	1459	1662	<i>allo</i> -Aromandendreno	0.32	0.33	0.37	0.40
43	1484	1779	γ -Muuroleno	0.04	0.07	0.03	0.03
44	1487	1654	D-Germacreno	0.03	0.03	0.02	0.02
45	1497	1852	Biciclosesquifelandreno	10.39	7.63	9.00	9.10
46	1510	1839	Biciclogermacreno	0.66	0.44	0.54	0.53
48	1529	2064	10- <i>epi</i> -Cubebol	0.64	0.56	0.53	0.58
53	1591	2069	Germacreno D-4-ol y Espatunelol	0.72	0.67	0.64	0.72
Familias de compuestos				LABP1	LAC1P1	LAC2P1	LAC3P1
Monoterpenos				30,33	31,74	32,03	31,32
Monoterpenos oxigenados				44,04	46,6	45,39	46,54
Sesquiterpenos				15,46	11,75	13,66	13,89
Sesquiterpenos oxigenados				1,36	1,23	1,17	1,3
Otros compuestos oxigenados				0,58	0,77	0,4	0,69

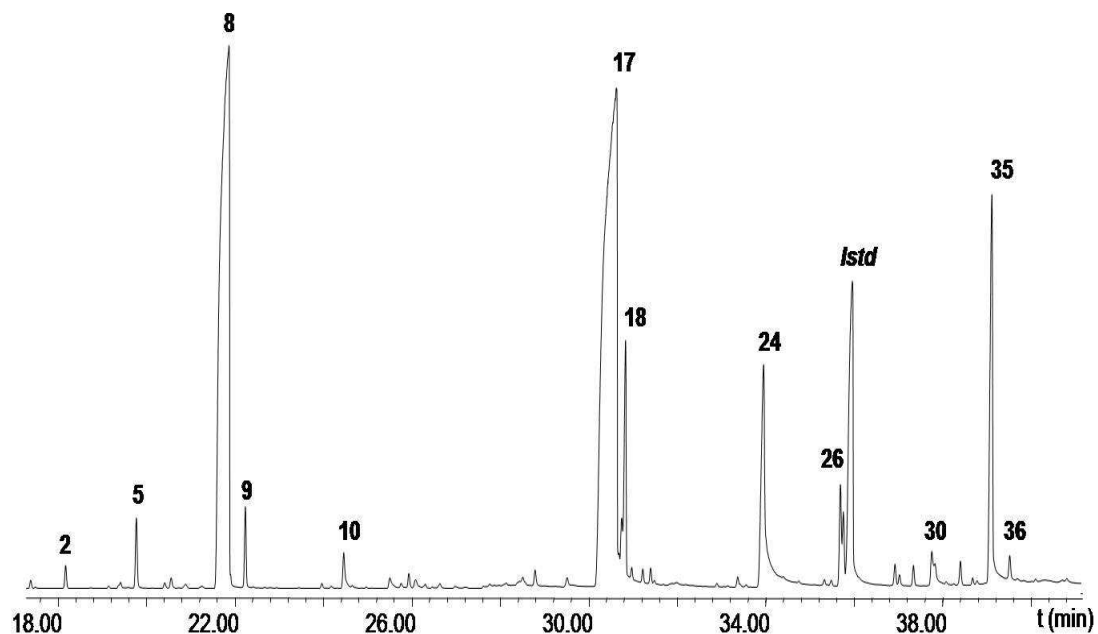
¹Número de pico en la **Figura 20.**²Índices de Kovàts determinados experimentalmente [134, 135].³Promedio de tres extracciones independientes, n=3.

Gráfica 19. Efecto en la cantidad relativa (%) de las familias de terpenos de los AEs de *Lippia alba* cultivada con los diferentes tipos de *compost* en P1.



En la **Gráfica 19**, se observa que la aplicación de diferentes tipos de *compost* en la parcela 1, no tiene un efecto significativo en el aumento de terpenos del aceite esencial, pero cabe destacar un ligero aumento en la cantidad de monoterpenos oxigenados. En la **Figura 21**, se presenta el perfil cromatográfico típico de los metabolitos secundarios volátiles obtenidos por *MWHD* de *Lippia alba* cultivada en la parcela 2 (P2). En la **Tabla 18**, se registran los componentes mayoritarios aislados e identificados por *GC-MS*, según el orden de elución en la columna *DB-5MS*, junto con sus índices de retención y cantidades relativas (%) para cada uno de los tratamientos.

Figura 21. Perfil cromatográfico típico del AE de *Lippia alba* cultivada en P2, aislado por *MWHD*. Columna *DB-5*, 60 m. Detector selectivo de masas (EI, 70 eV). La identificación de los picos se reporta en la **Tabla 18**.



Parámetros de integración: área de rechazo: 15, ancho de pico: 0.1 y umbral de detección: 17.

Tabla 18. Cantidad relativa (%) de los analitos constituyentes del AE de *Lippia alba* cultivada en P2.

Nº Pico ¹ Fig.21	Ik ²		Compuesto	AE, Cantidad relativa % ³			
	DB-5	DB-WAX		LABP2	LAC1P2	LAC2P2	LAC3P2
1	855	1234	<i>trans</i> -2-Hexenal+ <i>cis</i> -3-Hexenol	---	0,07	0,02	0,07
2	939	1018	α -Pino	0,10	0,15	0,10	0,12
3	954	1060	Canfeno	0,26	0,29	0,26	0,29
4	979	1383	1-Octen-3-ol	---	0,07	0,07	0,07
5	991	1162	β -Mirreno	0,79	0,93	0,90	0,88
6	1005	1211	Acetato de <i>cis</i> -3-hexenilo	0,07	0,06	---	---
7	1008	1215	1,3,8- <i>p</i> -Mentatrieno	0,13	0,16	0,15	0,15
8	1038	1208	Limoneno	26,73	29,47	30,33	27,99
9	1048	1251	<i>trans</i> - β -Ocimeno	0,67	0,72	0,68	0,71
10	1101	1409	Linalool	0,36	0,43	0,43	0,42
11	1127	1635	<i>trans-p</i> -Menta-2,8-dien-1-ol	0,19	0,24	0,28	0,20
12	1138	1448	<i>cis</i> -Óxido de limoneno	0,12	0,16	0,17	0,14
13	1142	1870	<i>cis-p</i> -Menta-2,8-dien-1-ol + <i>trans</i> -Óxido de limoneno	0,14	0,16	0,18	0,14
14	1181	1713	Borneol	0,41	0,36	0,25	0,32

Continuación, **Tabla 18.**

15	1212	1631	<i>trans</i> -Dihidrocarvona	0,53	0,27	0,15	0,39
16	1231	1844	<i>trans</i> -Carveol	0,07	0,11	0,15	0,08
17	1261	1759	Carvona	37,82	39,47	38,83	39,18
18	1267	1739	<i>trans</i> -Epóxido de piperitona + Piperitona	3,22	3,16	3,26	3,45
19	1271	1805	<i>cis</i> -Óxido de Carvona	0,32	0,42	0,41	0,44
20	1278	1635	<i>trans-p</i> -Mentha-2,8-dien-1-ol	0,15	0,15	0,13	0,22
21	1283	1802	<i>trans</i> -Óxido de Carvona	0,17	0,16	0,17	0,27
22	1293	1662	Timol	---	0,09	0,09	---
23	1337	1673	<i>trans</i> -acetato de carveílo	0,10	0,12	0,12	0,11
24	1351	1942	Piperitenona	5,00	4,53	4,80	5,20
25	1388	1711	α -Copaeno	0,14	0,08	0,09	0,08
26	1392-1397	1522-1598	β -Bourboneno + β -Elemeno	2,85	2,14	2,14	2,01
27	1433	1527	β -Ylangeno	0,36	0,26	0,26	0,25
28	1436	1604	<i>trans</i> - β -Cariofileno	0,20	0,14	0,12	0,17
29	1445	1692	β -Copaeno	0,34	0,24	0,27	0,28
30	1457	1673	<i>trans</i> - β -Farneseno	0,81	0,48	0,57	0,74
31	1459	1662	<i>Allo</i> -Aromadendreno	0,45	0,27	0,26	0,29
32	1476	1720	γ -Gurjuneno	0,12	0,07	---	0,06
33	1487	1779	γ -Muuroleno	0,11	0,06	0,07	0,09
34	1497	1655	Germacreno D	0,38	0,30	0,35	0,39
35	1510	1853	Biciclosesquifelandreno	9,30	6,30	6,04	7,14
36	1516	1839	Biclogermacreno	0,68	0,37	0,33	0,44
37	1529	2064	γ -Cadineno	0,07	0,05	---	---
38	1591	2069	Germacreno D-4-ol	0,36	0,27	0,32	0,30

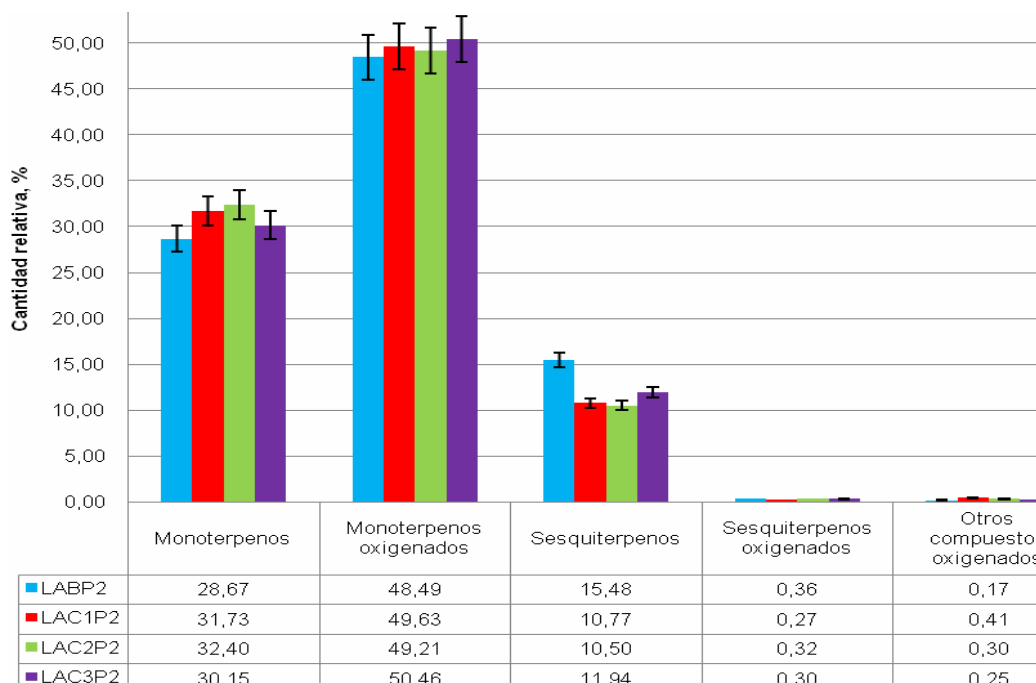
Familias de compuestos	LABP2	LAC1P2	LAC2P2	LAC3P2
Monoterpenos	28,67	31,73	32,40	30,15
Monoterpenos oxigenados	48,49	49,63	49,21	50,46
Sesquiterpenos	15,48	10,77	10,50	11,94
Sesquiterpenos oxigenados	0,36	0,27	0,32	0,30
Otros compuestos oxigenados	0,17	0,41	0,30	0,25

¹Número de pico en la **Figura 21**.

²Índices de Kovàts determinados experimentalmente [134, 135].

³Promedio de tres extracciones independientes, n=3.

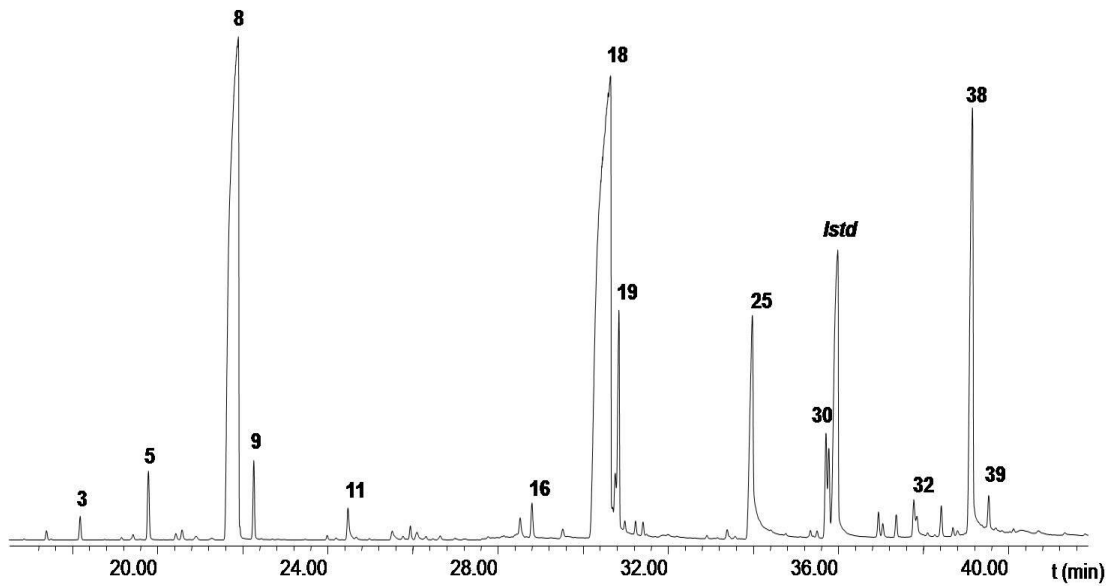
Gráfica 20. Efecto en la cantidad relativa (%), de las familias de terpenos de los AEs de *Lippia alba* cultivada con los diferentes tipos de *compost* en la P2.



La **Gráfica 20**, señala un ligero aumento de los monoterpenos con la aplicación de *compost 2* y *compost 3*; los monoterpenos oxigenados aumentaron con la fertilización, y finalmente se observa un mayor contenido de sesquiterpenos en la parcela testigo, es decir la parcela sin *compost*.

En la **Figura 22**, se presenta el perfil cromatográfico típico de los metabolitos secundarios volátiles obtenidos por *MWHD* de *Lippia alba* cultivada en la parcela 3 (P3). En la **Tabla 19**, se registran los componentes mayoritarios aislados e identificados por *GC-MS*, según el orden de elución en la columna *DB-5MS*, junto con sus índices de retención y cantidades relativas (%) para cada uno de los tratamientos.

Figura 22. Perfil cromatográfico típico del AE de *Lippia alba* cultivada en P3, aislado por *MWHD*. Columna *DB-5*, 60 m. Detector selectivo de masas (EI, 70 eV). La identificación de los picos se reporta en la **Tabla 19**.



Parámetros de integración: área de rechazo: 15, ancho de pico: 0.1 y umbral de detección: 17.

Tabla 19. Cantidad relativa (%), de los analitos constituyentes del AE de *Lippia alba* cultivada en P3.

Nº Pico ¹ Fig.22	IK ²		Compuesto	AE, Cantidad relativa % ³			
	DB-5	DB-WAX		LABP3	LAC1P3	LAC2P3	LAC3P3
1	855	1233	<i>trans</i> -2-Hexenal+ <i>cis</i> -3-Hexenol	---	0,08	0,17	0,12
2	939	1018	α -Pino	0,11	0,12	0,09	0,11
3	954	1060	Canfeno	0,29	0,31	0,27	0,28
4	979	1383	1-Octen-3-ol	0,07	0,09	0,08	0,08
5	991	1162	β -Mirceno	0,87	0,88	0,81	0,84
6	1006	1210	Acetato de <i>cis</i> -3-hexenilo	0,07	0,09	0,09	0,08
7	1010	1215	1,3,8- <i>p</i> -Mentatrieno	0,15	0,14	0,13	0,14
8	1041	1206	Limoneno	28,52	28,31	27,79	28,27
9	1050	1250	<i>trans</i> - β -Ocimeno	0,72	0,77	0,81	0,80
10	1090	1405	Terpinoleno	---	0,05	0,05	0,06
11	1102	1409	Linalool	0,45	0,51	0,50	0,44
12	1126	1635	<i>trans-p</i> -Menta-2,8-dien-1-ol	0,23	0,24	0,23	0,18
13	1136	1448	<i>cis</i> -Óxido de limoneno	0,17	0,16	0,16	0,14
14	1140	1870	<i>cis-p</i> -Menta-2,8-dien-1-ol + <i>trans</i> -Óxido de limoneno	0,17	0,16	0,16	0,13
15	1195	1713	Borneol	0,24	0,26	0,28	0,34
16	1202	1631	<i>trans</i> -Dihidrocarvona	0,21	0,29	0,21	0,37
17	1223	1844	<i>trans</i> -Carveol	0,15	0,08	0,16	0,13
18	1254	1759	Carvona	39,16	35,02	36,35	35,55
19	1259	1735	<i>trans</i> -Epóxido de piperitona + Piperitona	3,30	5,58	3,67	3,48

Continuación, **Tabla 19.**

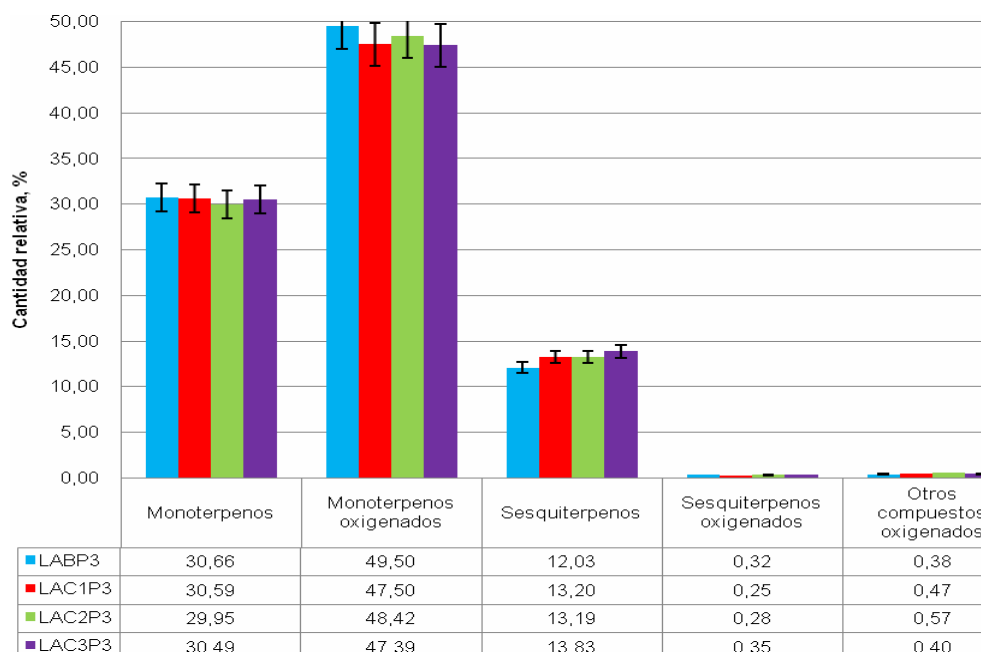
20	1264	1805	<i>cis</i> -Óxido de Carvona	0,38	0,37	0,34	0,38
21	1271	1585	<i>p</i> -Menta-1,8-dien-3-ona	0,15	0,18	0,19	0,22
22	1276	1802	<i>trans</i> -Óxido de carvona	0,17	0,17	0,18	0,23
23	1278	1662	Timol	0,12	0,09	0,09	---
24	1329	1672	<i>trans</i> -acetato de carveilo	0,12	0,11	0,14	0,12
25	1344	1942	Piperitenona	4,73	4,49	6,00	5,81
26	1381	1711	α -Copaeno	0,09	0,11	0,10	0,10
27	1388	1615	C ₁₅ H ₂₄	---	0,09	0,08	0,08
28	1392-1397	1522- 1597	β -Bourboneno + β -Elemeno	2,32	2,42	2,34	2,32
29	1429	1527	β -Ylangeno	0,28	0,29	0,29	0,28
30	1439	1603	<i>trans</i> - β -Cariofileno	0,15	0,25	0,16	0,16
31	1451	1691	β -Copaeno	0,26	0,28	0,27	0,26
32	1453	1673	<i>trans</i> - β -Farneseno	0,27	0,74	0,98	0,80
33	1470	1662	<i>Allo</i> -Aromadendreno	0,28	0,33	0,34	0,35
34	1479	1720	γ -Gurjuneno	0,31	0,06	0,07	0,07
35	1487	1779	γ -Muuroleno	0,08	0,08	0,09	0,08
36	1492	1654	Germacreno D	0,42	0,54	0,46	0,54
37	1504	1852	Biciclosesquifelandreno	7,54	7,81	7,97	8,70
38	1517	1839	Biciclogermacreno	0,05	0,17	0,07	0,08
39	1529	2064	γ -Cadineno	---	0,03	---	---
40	1590	2069	Germacreno D-4-ol	0,32	0,25	0,28	0,35
Familias de compuestos				LABP3	LAC1P3	LAC2P3	LAC3P3
Monoterpenos				30,66	30,59	29,95	30,49
Monoterpenos oxigenados				49,50	47,50	48,42	47,39
Sesquiterpenos				12,03	13,20	13,19	13,83
Sesquiterpenos oxigenados				0,32	0,25	0,28	0,35
Otros compuestos oxigenados				0,38	0,47	0,57	0,40

¹Número de pico en la **Figura 22.**

²Índices de Kovàts determinados experimentalmente [134, 135].

³Promedio de tres extracciones independientes, n=3.

Gráfica 21. Efecto en la cantidad relativa (%), de las familias de terpenos de los AEs de *Lippia alba* cultivada con los diferentes tipos de *compost* en P3.



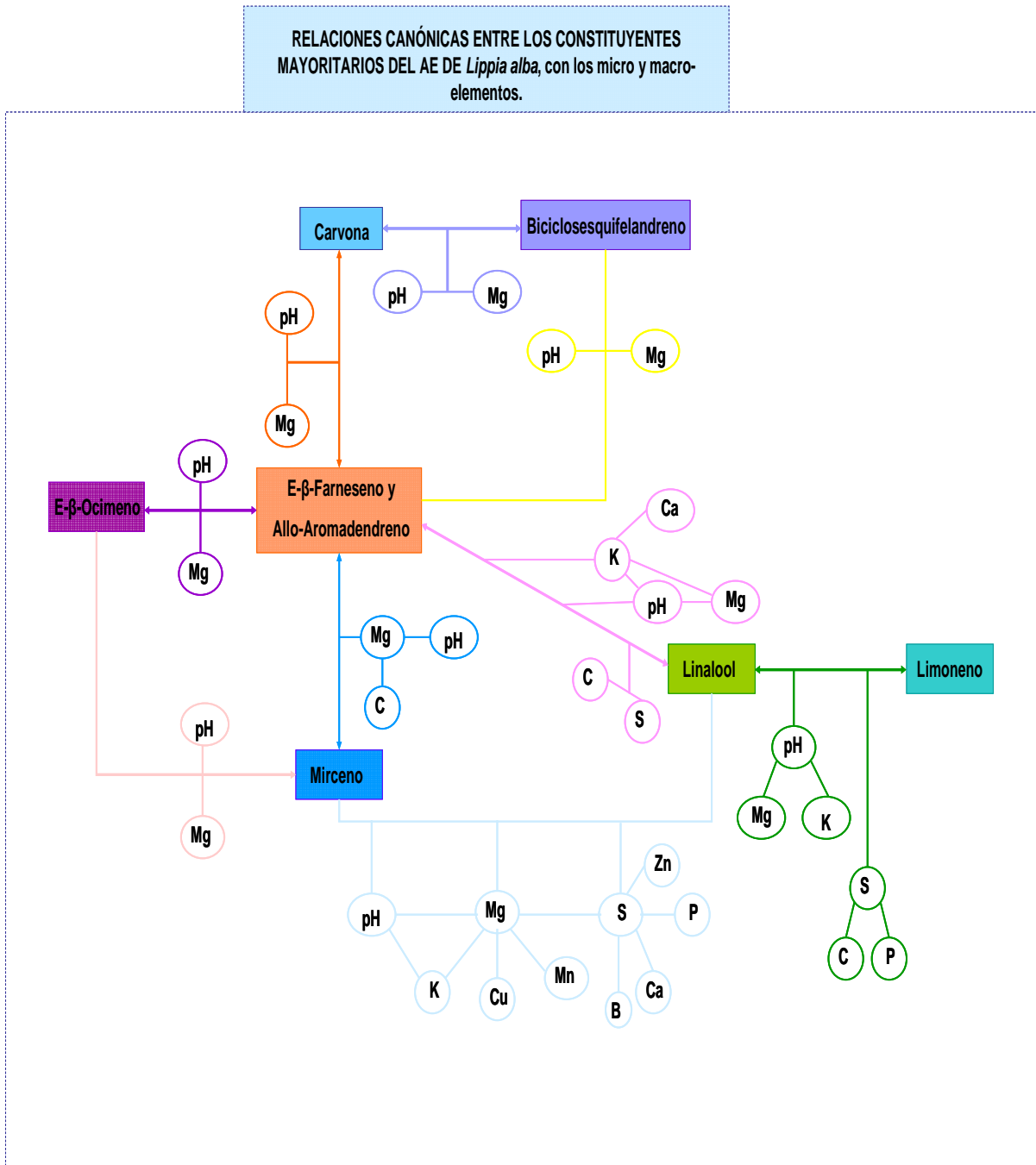
En la **Gráfica 21**, no se observó variación en la cantidad de monoterpenos en presencia del *compost*, los monoterpenoides disminuyeron ligeramente, mientras la familia de sesquiterpenos aumentó progresivamente con la aplicación de los tres tipos de *compost*.

3.5.3 Correlación existente entre los micro y macro elementos del suelo y los componentes mayoritarios del AE de *Lippia alba*

Se estudió la correlación existente entre la concentración de los analitos mayoritarios del AE de *Lippia alba* y cada uno de los iones presentes en el suelo, junto con el pH del mismo. Inicialmente se examinó la correlación individual y luego la grupal mediante un análisis canónico, realizado en el programa *Statistica 6.0*; dado que la correlación individual dio positiva para todos los compuestos relacionados, la canónica se interpreta de igual manera como positiva. Los datos fueron estandarizados centrándolos en su menor

valor y dividiendo luego por el rango, con el fin de unificar su escala para hacerlos comparables, y evitar distorsiones en el análisis estadístico.

Figura 23. Relación existente entre los compuestos mayoritarios del AE de *Lippia alba*, y los macro y microelementos del suelo.



Los resultados obtenidos se muestran en la **Figura 23**, en donde se observan los compuestos relacionados entre sí; junto con las variables que mostraron correlación con su concentración. e.g. para aumentar el contenido de carvona en el AE, se deberían aumentar el pH y el Mg, con lo cual aumentaría también la concentración de los compuestos relacionados con ella, más aquellos que se ven afectados por las mismas variables.

3.6 ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES (PCA)

a. Análisis de componentes principales (PCA) de los AEs de *Lippia alba* quimiotipo carvona, obtenidos por MWHD empleando tres tipos de *compost*.

Con el fin de organizar un gran conjunto de datos, de una manera que permitiera mejorar su interpretación, se empleó el análisis de componentes principales (PCA, *STATISTICA* Versión 6.0, *StatSoft Inc.*, Tulsa, Oklahoma, USA), que pertenece a un grupo de técnicas estadísticas multivariantes conocidas como métodos factoriales.

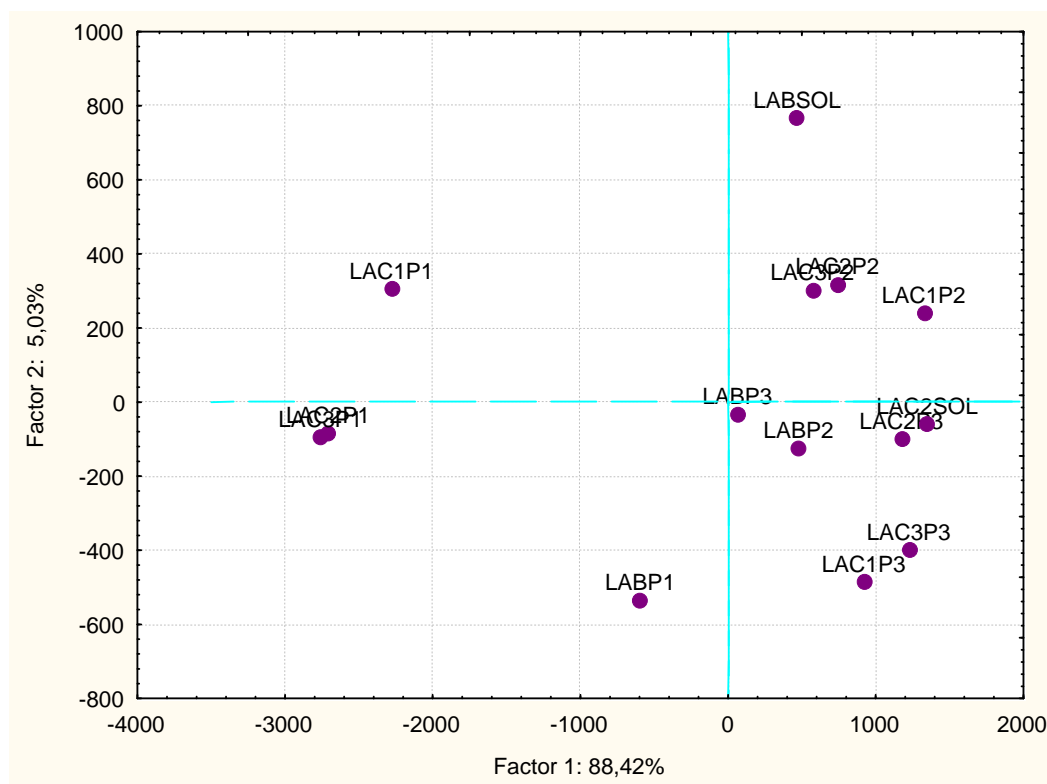
La matriz utilizada para el estudio estaba formada por 13 casos, que son los diversos tratamientos realizados en este proyecto y por 10 variables que son los compuestos más representativos y que se encuentran en mayor proporción. Este análisis permitió establecer de una manera mas clara el efecto del *compost* en la composición de los AEs de *Lippia alba* obtenidos empleando MWHD como técnica extractiva.

El resultado del análisis estadístico, señala que el 93% de la información de las **Tablas 17 a 19**, puede ser representado por un subespacio de dos coordenadas (los componentes principales), construido con base en las combinaciones lineales de las concentraciones (ppm), de los componentes presentes en los diferentes AEs. Como se observa en la **Figura 24**, el *Factor 1* representa el 88% de la información y se encuentra conformado por limoneno

(51%), carvona (40%), biciclosesquifelandreno (7%) y piperitenona (1%). El *Factor 2* constituye el 5% y esta constituido por biciclosesquifelandreno (71%), carvona (25%), piperitona + epóxido de *trans*-piperitona (2%) y limoneno (1%).

En la **Figura 24**, los desplazamientos a la izquierda en el eje de las abscisas representan los tratamientos que resultan en mayor contenido de limoneno, carvona y biciclosesquifelandreno y corresponden a los AEs de las plantas de *Lippia alba* cultivadas en la Parcela 1. Las distancias euclidianas con relación al eje de las ordenadas se ven influenciadas por la concentración de biciclosesquifelandreno y carvona, los tratamientos que condujeron a un bajo contenido de estos compuestos se localizan hacia arriba, es decir a valores más positivos en el *Factor 2*.

Figura 24. Análisis de componentes principales (PCA) de los compuestos presentes en los AEs de *Lippia alba* que fueron cultivadas en parcelas diferentes y abonadas con tres tipos de *compost*.



Cabe mencionar que las plantas testigo de cada parcela no presentan bajas concentraciones de los compuestos mayoritarios. Estos tratamientos se encuentran ubicados en el centro de la grafica (LABP1, LABP2, LABP3 y LABSOL), que corresponde a concentraciones destacables sobre otros tratamientos, resaltando que la concentración de los compuestos mayoritarios en LABP1 es alta comparada con cultivos que fueron mejorados con la ayuda del *compost*. Al observar en la **Figura 24**, que los blancos no presentan distancias euclidianas cercanas que permitan señalar un comportamiento similar en la concentración de la composición, se demuestra que la concentración de los analitos no solo se ve afectada por el uso del *compost*, sino que también dependen del terreno y las condiciones ambientales a las que se encuentre expuesto cada cultivo.

b. Análisis de componentes principales de los parámetros fisicoquímicos del suelo: elementos menores - mayores y acidez, influenciados por el uso de tres tipos de *compost*.

Para el estudio del efecto del *compost* sobre el suelo de las parcelas donde se realizaron los cultivos de *Lippia alba*, y entender cuales son los verdaderos parámetros que influyen en la comparación de los experimentos, se analizaron los resultados finales para cada tratamiento, y se diseñó una matriz que indicaba el estado final del suelo después de haber fertilizado con el *compost*. Ésta contenía 13 variables (elementos menores, elementos mayores y pH del suelo), y los mismos 13 casos mencionados en el numeral anterior.

El resultado del análisis de componentes principales, señala que el 100% de la información del **Anexo 3**, puede ser representada por un subespacio de dos coordenadas (los componentes principales), que son obtenidos como combinaciones lineales de las variables originales expresadas en términos de concentraciones (ppm: mg del elemento/kg de suelo), de los diferentes elementos presentes en el suelo.

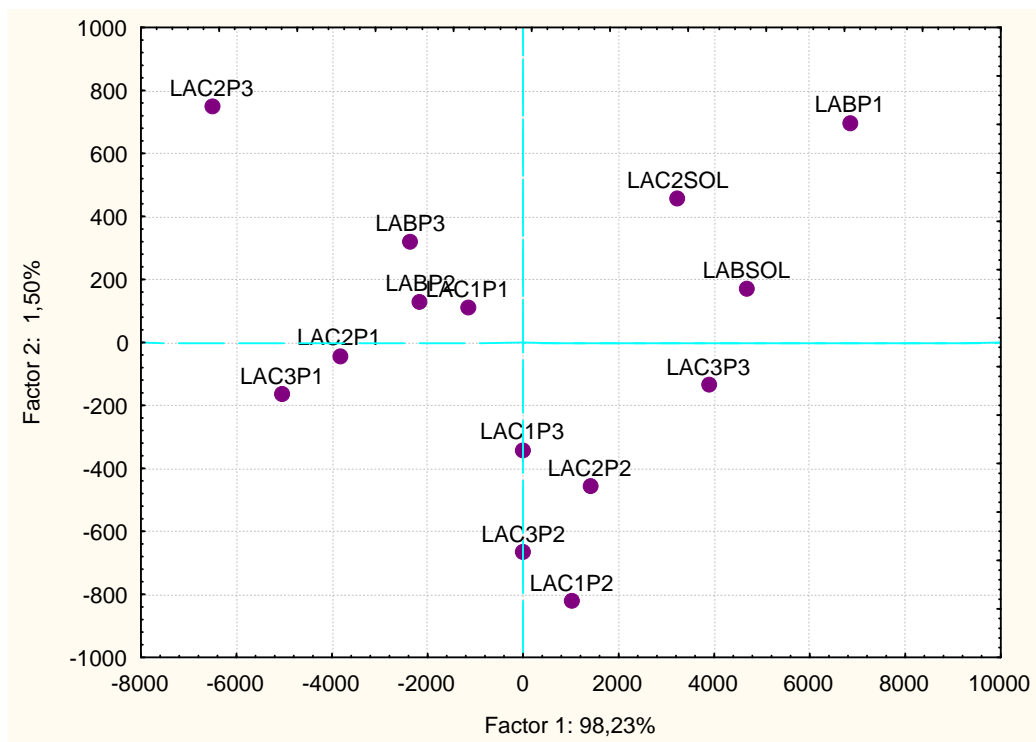
En la **Figura 25**, el *Factor 1* representa el 98% de la información e involucra básicamente a la materia orgánica (C%) con un 99%. El *Factor 2* constituye el 2% de la información y esta formado por el calcio (94%) y el potasio (5%).

Como se observa en la **Figura 25**, la posición de cada tratamiento en el subespacio está determinada por la caracterización del suelo de cada experimento. Los movimientos en el eje de las abscisas están influenciados totalmente por la concentración de carbono (C), representando de esta manera la materia orgánica de los distintos tratamientos; las concentraciones mas altas son desplazamientos al lado izquierdo del *Factor 1*, la mayor concentración de C, la presenta el tratamiento LAC2P3 (18300 ppm) y siguiendo la línea, el experimento con menor concentración de C en el suelo fué LABP1 (5000 ppm).

Los desplazamientos en el *Factor 2* están relacionados en su totalidad con la concentración de calcio (Ca), en cada tratamiento. Para comprender el significado de los puntos en la grafica, cabe señalar que la línea paralela al eje de las ordenadas que corta al punto cero del *Factor 1*, permite comprender el efecto del Ca. Entonces, los tratamientos ubicados hacia la izquierda son los que poseen la máxima cantidad de Ca y de arriba hacia abajo disminuye tal concentración. El experimento LAC2P3 (913 ppm), posee la más alta concentración de Ca y el LAC3P1 la más baja. Las muestras que se encuentran sobre la línea tienen la misma concentración de C, pero LAC1P3 muestra un mayor contenido de Ca que LAC3P2, debido a lo contemplado anteriormente.

Finalmente, el grupo de puntos ubicados al lado izquierdo de la línea tienen una concentración menor de Ca, que disminuye de arriba hacia abajo, es decir que el tratamiento LAC1P2 es el que contiene la más baja proporción de calcio (39 ppm) en todo el estudio.

Figura 25. Análisis de componentes principales de los parámetros fisicoquímicos del suelo: elementos menores - mayores y acidez, influenciados por el uso de tres tipos de *compost*.



3.7 IDENTIFICACIÓN DE LOS COMPONENTES DE LOS AEs DE *LIPPIA ALBA*.

La caracterización química de los compuestos presentes en el AE de *Lippia alba*, se realizó por medio de la técnica de cromatografía de gases empleando dos columnas, una de fase estacionaria polar (*DB-WAX*) y otra apolar (*DB-5*), acoplada a espectrometría de masas. Los parámetros que se emplearon para la identificación son los siguientes: área de rechazo: 15, ancho de pico: 0.1, y el umbral de detección: 17.

Los compuestos presentes fueron identificados con base en los índices de Kováts calculados, teniendo en cuenta los tiempos de retención de una serie

homologa de hidrocarburos lineales C₁₀-C₂₅ que fue inyectada en cada equipo con los mismos parámetros operacionales que las muestras de AE, y con los espectros de masas obtenidos comparados con los de las bases de datos NBS 75K, WILEY 138K, ADAMS y NIST 02 y los reportados en la literatura [135, 136].

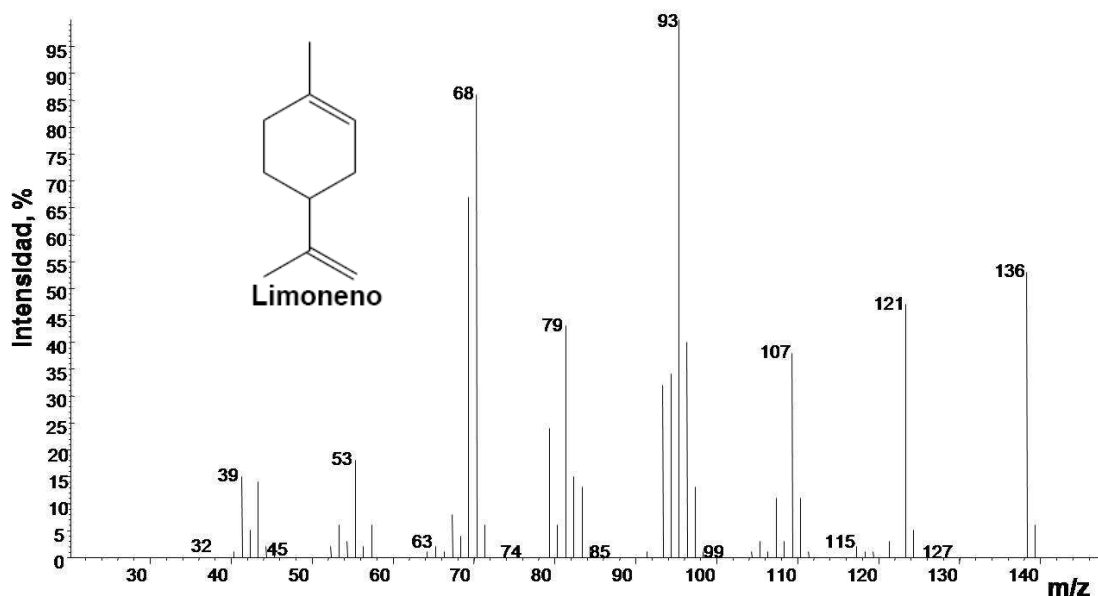
A continuación, se presentan los análisis de los espectros de masas de la carvona y el limoneno, los compuestos mayoritarios y de mayor interés comercial presentes en los aceites esenciales de *Lippia alba*.

a. Limoneno

Es un monoterpeno cíclico ópticamente activo, de densidad 0.845 g/mL y punto de ebullición entre 176-177°C. Su isómero-*d* es el principal constituyente de los AEs de cítricos, y es el segundo componente mayoritario del AE de *Lippia alba* cultivada en Colombia.

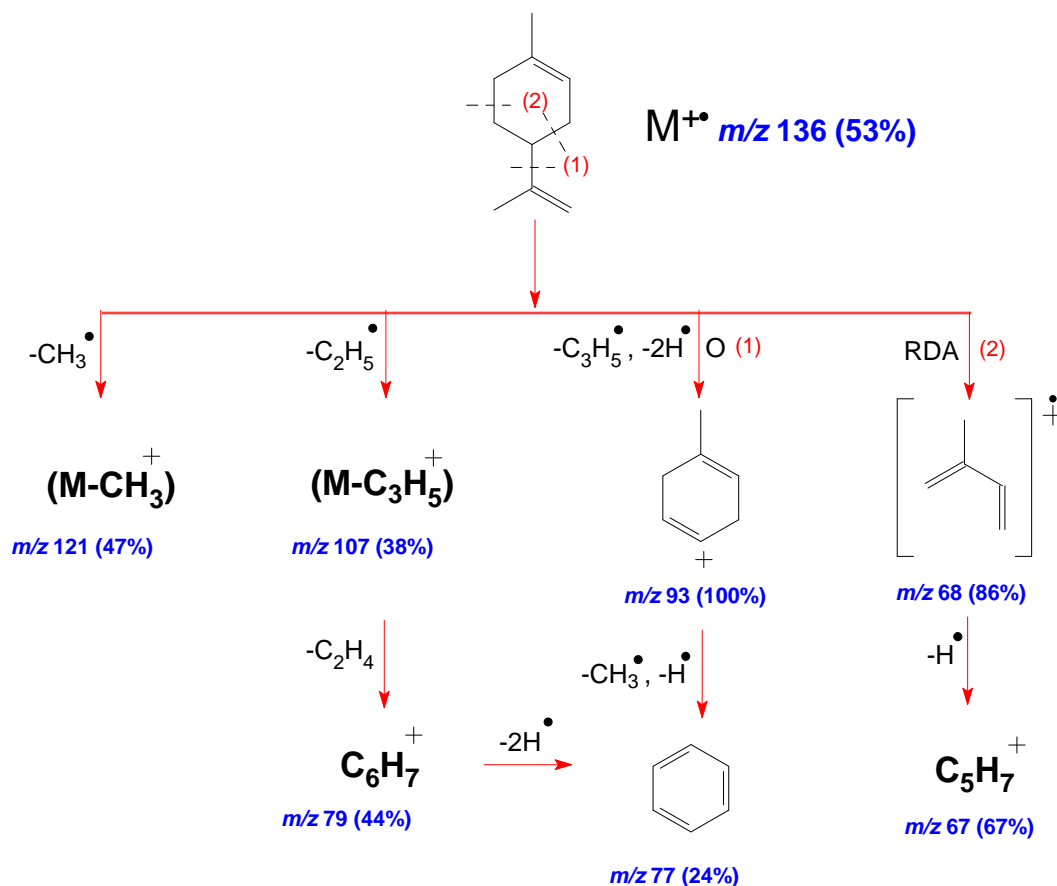
No hay evidencia de que el d-limoneno sea tóxico en humanos y en animales y es medianamente irritante. El isómero-*l* es un componente minoritario en los aceites esenciales de pino y menta, no presenta toxicidad y es medianamente irritante [137]. El espectro de masas del limoneno se encuentra en la **Figura 26** y sus rutas propuestas de ionización disociativa se presentan en el **Esquema 1**.

Figura 26. Espectro de masas del limoneno.



Se observa el ion molecular M^+ (m/z 136) con una intensidad media (53%). Su fragmentación se caracteriza por una ruptura tipo *retro Diels-Alder* (RDA), acompañada de la formación de un fragmento en m/z 68 (86%). Los iones $(M - CH_3)^+$ y $(M - C_3H_5 - 2H)^+$ en m/z 121 (47%) y m/z 93 (100%), respectivamente, se producen a partir del ion M^+ por pérdida del radical $CH_3\cdot$ y del grupo isopropenílico, seguido de dos átomos de hidrógeno. Los iones de intensidad media en m/z 107(38%) y m/z 79(44%) $(M - C_2H_5 - C_2H_4)^+$, provienen de la pérdida del radical $C_2H_5\cdot$ y de una molécula de etileno, respectivamente, a partir del ion molecular.

Esquema 1. Posibles rutas de fragmentación del limoneno.

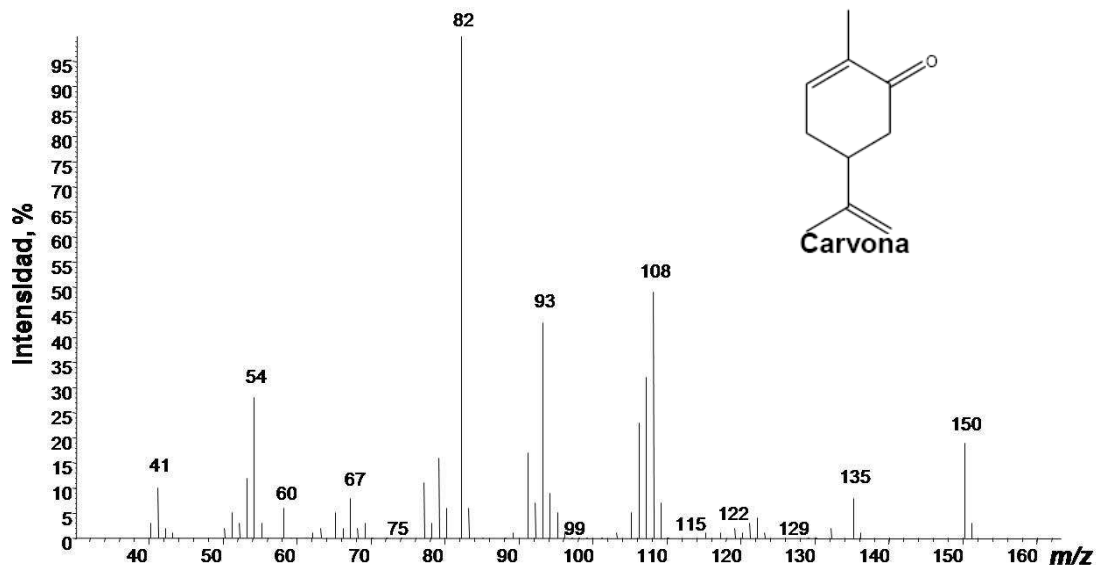


b. Carvona

Es el compuesto mayoritario de los AE del presente estudio, es una cetona monoterpénica cíclica diinsaturada de densidad 0.960 g/mL y punto de ebullición entre 228-230 °C. Ambos isómeros ópticos se encuentran en la naturaleza. El isómero-*d* se encuentra en el AE de *caraway* y semillas de eneldo. El isómero-*l* es uno de los compuestos del aceite esencial de hierbabuena. La dosis letal media LD₅₀ 1.64 g/kg en ratas. No es irritante ni hepatotóxico [137].

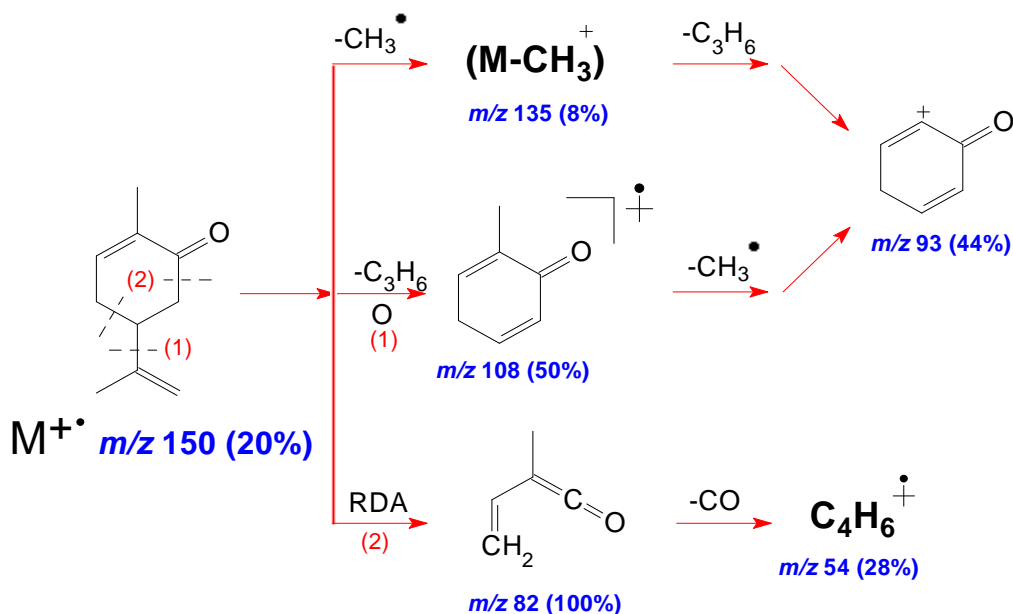
El espectro de masas y las posibles rutas de fragmentación disociativa por impacto de electrones a 70 eV de la carvona se presentan en la **Figura 27** y en el **Esquema 2**, respectivamente.

Figura 27. Espectro de masas de la carvona.



El ion molecular (M^+ , m/z 150), de la carvona posee una intensidad relativa de 20%. Se genera una ruptura tipo *retro Diels-Alder* (RDA), que conduce a la formación del ion pico de base con una intensidad relativa de 100%, en m/z 82, el cual genera monóxido de carbono produciendo el catión radical $C_4H_6^+$ en m/z 54 (28%). Se generan también los iones $(M-CH_3)^+$ en m/z 135 el cual se formó por pérdida de CH_3 y el $(M-C_3H_6)^+$ en m/z 108 el cual se formó por pérdida de propeno con intensidades relativas del 8% y 50% respectivamente. Con pérdida del ion radical metilo y una molecula de propeno a partir del fragmento $(M-C_3H_6)^+$, se origina el catión $C_6H_5O^+$ localizado en m/z 93 con intensidad relativa de 44%.

Esquema 2. Posibles rutas de fragmentación de la carvona.



3.8 DETERMINACIÓN DE LA REPRODUCIBILIDAD DE t_R Y ÁREAS DE LOS PICOS CROMATOGRÁFICOS.

Se tomaron tres muestras de AE, las cuales se inyectaron 5 (cinco) veces cada una, en el cromatógrafo de gases acoplado al detector selectivo de masas, bajo las mismas condiciones usadas durante toda la investigación, las cuales están descritas en el procedimiento. Para la determinación de la reproducibilidad de los t_R y las áreas de los picos se calcularon la media, la desviación estándar y el coeficiente de variación mediante las ecuaciones 3, 4 y 5 respectivamente.

Los resultados se presentan en las **Tablas 20 a 27**. Las Buenas Prácticas de Laboratorio (GLP), establecen un valor máximo de 2% para los CV de t_R y del 10% para las áreas de los picos cromatográficos, analizando las tablas se puede observar que los valores obtenidos se encuentran dentro de los rangos

permitidos, con lo cual se concluye una alta reproducibilidad de los equipos usados [134, 138].

a. Tiempos de retención

En las **Tablas 20 a 22**, se presentan los valores de los tiempos de retención (t_R) y tiempos de retención relativos (t_{RR}) promedio de cinco inyecciones de cada muestra de AE corridos en un cromatógrafo *Agilent Technologies 6890 Plus Series GC* con columna apolar DB-5 MS, correspondientes a los tratamientos LAC1P3, LAC2P3 y LAC3P2 respectivamente y reportados al 95% de confianza.

Se utilizó *n*-tetradecano como patrón interno (*Istd*) y se calcularon los tiempos de retención relativos según la ecuación:

$$t_{RR} = (t_{Ri}) / (t_{Ristd}) \quad \text{Ecuación 7.}$$

Los coeficientes de variación (%), de los t_R y t_{RR} reportados en las **Tablas 20 a 22**, para los compuestos más importantes, fueron ordenados del valor máximo al mínimo de variación para cada muestra.

Tabla 20. Estudio de la reproducibilidad de los t_R del AE de *Lippia alba*, tratamiento LAC1P3.

COMPUESTOS MAYORITARIOS TRATAMIENTO LAC1P3	Tiempos de retención promedio ^a , min		σ^a		CV, %	
	t_R	t_{RR}	t_R	t_{RR}	t_R	t_{RR}
β -Mirreno	19.777	0.550	0.008	2.23E-04	0.040	0.041
Limoneno	21.86	0.608	0.013	2.38E-04	0.058	0.039
<i>trans</i> - β -Ocimeno	22.242	0.619	0.007	2.18E-04	0.033	0.035
Linalol	24.465	0.680	0.009	2.47E-04	0.037	0.036
Carvona	30.60	0.851	0.033	7.83E-04	0.109	0.092
<i>trans</i> -Epóxido de piperitona + Piperitona	30.80	0.856	0.031	7.54E-04	0.100	0.088
Piperitenona	33.91	0.943	0.024	7.06E-04	0.071	0.075
β -Bourboneno + β -Elemeno	35.68	0.992	0.022	6.55E-04	0.060	0.066
<i>trans</i> - β -Farneseno	37.75	1.050	0.024	7.25E-04	0.064	0.069
Biclosesquifelandreno	39.13	1.088	0.029	8.47E-04	0.075	0.078

^a Promedio y desviación estándar de cinco inyecciones de la muestra LAC1P3, bajo las mismas condiciones cromatográficas. n=5

Tabla 21. Estudio de la reproducibilidad de los t_R del AE de *Lippia alba*, tratamiento LAC2P3.

COMPUESTOS MAYORITARIOS TRATAMIENTO LAC3P2	Tiempos de retención promedio ^a , min		σ^a		CV, %	
	t_R	t_{RR}	t_R	t_{RR}	t_R	t_{RR}
β -Mirceno	19.77	0.550	0.011	5.39E-04	0.056	0.098
Limoneno	21.85	0.608	0.014	6.65E-04	0.065	0.109
<i>trans</i> - β -Ocimeno	22.23	0.619	0.012	5.39E-04	0.054	0.087
Linalol	24.47	0.681	0.013	7.42E-04	0.052	0.109
Carvona	30.64	0.852	0.028	7.57E-04	0.090	0.089
<i>trans</i> -Epóxido de piperitona + Piperitona	30.84	0.858	0.030	6.14E-04	0.096	0.071
Piperitenona	33.92	0.944	0.023	9.76E-04	0.069	0.103
β -Bourboneno + β -Elemeno	35.66	0.992	0.024	7.71E-04	0.068	0.078
<i>trans</i> - β -Farneseno	37.74	1.050	0.022	1.02E-03	0.057	0.097
Biciclosesquifelandreno	39.11	1.088	0.021	9.42E-04	0.054	0.087

^a Promedio y desviación estándar de cinco inyecciones de la muestra LAC3P2, bajo las mismas condiciones cromatográficas. n=5

Tabla 22. Estudio de la reproducibilidad de los t_R del AE de *Lippia alba*, tratamiento LAC3P2.

COMPUESTOS MAYORITARIOS TRATAMIENTO LAC2P3	Tiempos de retención promedio ^a , min		σ^a		CV, %	
	t_R	t_{RR}	t_R	t_{RR}	t_R	t_{RR}
β -Mirceno	19.770	0.550	0.007	2.03E-04	0.034	0.037
Limoneno	21.803	0.607	0.007	2.21E-04	0.032	0.036
<i>trans</i> - β -Ocimeno	22.229	0.619	0.006	1.95E-04	0.028	0.032
Linalol	24.462	0.681	0.006	1.83E-04	0.026	0.027
Carvona	30.586	0.851	0.009	1.62E-04	0.030	0.019
<i>trans</i> -Epóxido de piperitona + Piperitona	30.803	0.857	0.004	1.02E-04	0.012	0.012
Piperitenona	33.917	0.944	0.003	1.16E-04	0.010	0.012
β -Bourboneno + β -Elemeno	35.683	0.993	0.003	9.35E-05	0.008	0.009
<i>trans</i> - β -Farneseno	37.743	1.050	0.004	9.76E-05	0.011	0.009
Biciclosesquifelandreno	39.112	1.089	0.005	8.79E-05	0.012	0.008

^a Promedio y desviación estándar de cinco inyecciones de la muestra LAC2P3, bajo las mismas condiciones cromatográficas. n=5

Los intervalos de variación entre los principales compuestos del AE para cada muestra se presentan en la **Tabla 23**, con lo cual se evidencia la alta

repetitividad y reproducibilidad en las inyecciones, cumpliendo con las Buenas Prácticas de Laboratorio (GLP), que establecen en un 2%, el valor máximo permitido para los tiempos de retención de muestras en GC [138].

Tabla 23. Intervalos de los resultados de los coeficientes de variación (%), obtenidos para los t_R y t_{RR} de tres muestras de AE.

MUESTRA	CV, %	
	t_R	t_{RR}
LAC1P3	0.033 - 0.109	0.035 - 0.092
LAC2P3	0.008 - 0.034	0.008 - 0.037
LAC3P2	0.052 - 0.096	0.071 - 0.109

b. Reproducibilidad de las áreas

Los resultados de las áreas (A_i) y áreas relativas (A_i/A_{Istd}) obtenidos de la inyección de 1 μ L de cada una de las tres muestras seleccionadas empleando diclorometano como *Istd* se presentan en las **Tablas 24 a 26**. Cada muestra se inyectó cinco veces ($n=5$), en el cromatógrafo *Agilent Technologies 6890 Plus Series GC* con columna apolar *DB-5 MS: 5% fenil-poli(metilsiloxano) 60 m x 0.25 mm (d.i.) x 0.25 μ m (d_f)*, acoplado a un detector selectivo de masas *Agilent Technologies 5973 Network*.

Tabla 24. Estudio de la reproducibilidad de las áreas del AE de *Lippia alba*, muestra LAC1P3.

COMPUESTOS MAYORITARIOS TRATAMIENTO LAC1P3	Áreas promedio ^a , cuentas		σ^a		CV, %	
	A_i	A_i / A_{Istd}	A_i	A_i / A_{Istd}	A_i	A_i / A_{Istd}
β -Mirceno	25521732	0.104	1076631	0.003	4.22	3.30
Limoneno	872603921	3.544	19537829	0.068	2.24	1.92
<i>trans</i> - β -Ocimeno	24445622	0.099	715173	0.002	2.93	2.51
Linalol	17941031	0.072	423798	0.001	2.36	1.25
Carvona	17941031	4.496	423798	0.157	2.36	3.49
<i>trans</i> -Epóxido de piperitona + Piperitona	234443811	0.928	8167598	0.017	3.48	1.79
Piperitenona	113319028	0.458	4273138	0.011	3.77	2.41
β -Bourboneno + \square -Elemeno	96297374	0.389	4394060	0.009	4.56	2.38
<i>trans</i> - β -Farneseno	28519329	0.115	975852	0.003	3.42	2.72
Biciclosesquifelandreno	328193168	1.327	12792730	0.037	3.90	2.81

^a Promedio y desviación estándar de cinco inyecciones de la muestra LAC1P3, bajo las mismas condiciones cromatográficas. $n=5$

Tabla 25. Estudio de la reproducibilidad de las áreas del AE de *Lippia alba*, muestra LAC2P3.

COMPUESTOS MAYORITARIOS TRATAMIENTO LAC2P3	Áreas promedio ^a , cuentas		σ^a		CV, %	
	A_i	A_i / A_{Istd}	A_i	A_i / A_{Istd}	A_i	A_i / A_{Istd}
β -Mirceno	15933475	0.074	236897	0.001	1.49	1.71
Limoneno	674628869	3.129	9998157	0.007	1.48	0.22
<i>trans</i> - β -Ocimeno	18867739	0.087	327321	0.001	1.73	1.20
Linalol	15498070	0.071	146364	0.002	0.94	2.42
Carvona	1075515746	4.944	16760162	0.131	1.56	2.66
<i>trans</i> -Epóxido de piperitona + Piperitona	111803850	0.511	1476274	0.005	1.32	1.00
Piperitenona	139341678	0.640	4994119	0.025	3.58	3.84
β -Bourboneno + β -Elemeno	82714930	0.384	729149	0.001	0.88	0.28
<i>trans</i> - β -Farneseno	26331736	0.121	799543	0.004	3.04	3.55
Biciclosesquifelandreno	272857831	1.240	4640571	0.017	1.70	1.38

^a Promedio y desviación estándar de cinco inyecciones de la muestra LAC2P3, bajo las mismas condiciones cromatográficas. n=5

Tabla 26. Estudio de la reproducibilidad de las áreas del AE de *Lippia alba*, muestra LAC3P2.

COMPUESTOS MAYORITARIOS TRATAMIENTO LAC3P2	Áreas promedio ^a , cuentas		σ^a		CV, %	
	A_i	A_i / A_{Istd}	A_i	A_i / A_{Istd}	A_i	A_i / A_{Istd}
β -Mirceno	25949191	0.114	727066	0.006	2.80	5.12
Limoneno	861009661	3.792	18185505	0.200	2.11	5.26
<i>trans</i> - β -Ocimeno	20955911	0.092	842935	0.006	4.02	5.99
Linalol	14714549	0.065	622151	0.003	4.23	4.83
Carvona	1265937673	5.572	42323797	0.254	3.34	4.55
<i>trans</i> -Epóxido de piperitona + Piperitona	112020376	0.492	7133910	0.016	6.37	3.26
Piperitenona	138636908	0.610	8422531	0.030	6.08	4.89
β -Bourboneno + β -Elemeno	70750502	0.316	4514728	0.016	6.38	5.13
<i>trans</i> - β -Farneseno	19414988	0.085	758507	0.003	3.91	3.00
Biciclosesquifelandreno	254486642	1.119	13735106	0.044	5.40	3.97

^a Promedio y desviación estándar de cinco inyecciones de la muestra LAC3P2, bajo las mismas condiciones cromatográficas. n=5

En la **Tabla 27**, se reportan los resultados de los coeficientes de variación (%), de las A_i y A_i/A_{Istd} , estos intervalos de variación de los principales compuestos de cada muestra se encuentran dentro de los aceptados por las Buenas

Prácticas de Laboratorio (GLP), que señalan que el CV (%), puede ser máximo 10% para las áreas [137].

Tabla 27. Valores máximo y mínimo entre los que fluctúan los coeficientes de variación (%), de las áreas y áreas relativas de tres muestras de AE por GC-MS.

MUESTRA	CV, %	
	A_i	A_i/A_{Istd}
LAC1P3	2.44 - 4.56	1.25 - 3.49
LAC2P3	0.88 - 3.58	0.22 - 3.84
LAC3P2	2.11 - 6.38	3.00 - 5.99

La precisión de los resultados está reportada al 95% de confianza y se analizó en dos aspectos, a saber: la repetitividad (bajo las mismas condiciones), y la reproducibilidad.

Tanto los resultados expuestos en la **Tabla 24** como los de la **Tabla 27**, muestran que los resultados están en los límites aceptados por las Buenas Prácticas de Laboratorio y garantizan que los datos reportados en la cuantificación de los aceites son correctos, confiables y reproducibles.

4. CONCLUSIONES

- Tanto la temperatura como el pH, se comportaron tal como está descrito en la literatura, lo que indica que el proceso se desarrolló correctamente.
- Las altas temperaturas alcanzadas durante todos los procesos de elaboración del *compost* (etapa termofílica), inhibieron el crecimiento de semillas provenientes de la MO usada en su elaboración; se presume además que estas temperaturas higienizaron los montones, ya que las plantas en las que cada uno de ellos fueron aplicados se desarrollaron exitosamente.
- El uso de roca fosfórica como enriquecedor mineral aumenta el contenido de P, Ca, Zn, S y Fe en los abonos elaborados.
- En general, la aplicación de *compost* en el suelo, aumenta su contenido de C, Fe, S y K; mientras que los tipos C2 y C3 incrementan la cantidad de P, Ca, Na, Zn y B presentes.
- Todos los tipos de *compost* aumentaron la producción de biomasa en la *Lippia alba*. Sin embargo, su efecto depende de las propiedades del terreno y las condiciones climáticas, bajo las cuales se desarrollan las plantas, principalmente de la cantidad e intensidad de radiación solar que éstas reciben.

- El *compost* enriquecido con roca fosfórica proporcionó la mayor producción de biomasa en las plantas.
- La *Lippia alba* es una planta que no se desarrolla con baja intensidad lumínica, ni presenta una gran producción de biomasa cultivada directamente al sol. Las mejores plantas obtenidas en el proyecto, en cuanto a altura, tamaño y cantidad de hojas, fueron aquellas que crecieron en un suelo rico en C, P, Ca, Mg, Na, K, pH básico, e iluminación solar al 100% durante 7 horas del día.
- El *compost* tipo 3 (C3), fue el que proporcionó mayor rendimiento de AE en las plantas de *Lippia alba* en cada una de las parcelas estudiadas.
- Las condiciones bajo las cuales se obtuvo mayor producción de biomasa y contenido de AE fueron: 7 horas de radiación solar al 100% y fertilización con *compost* tipo 2.
- El tamaño de las variaciones asociadas al error experimental en la concentración de los componentes mayoritarios del AE (carvona y limoneno), es mayor que el de las variaciones causadas por el uso del *compost*.
- Con el análisis de componentes principales de los compuestos presentes en los AEs de *Lippia alba* que fueron cultivadas en parcelas diferentes y abonadas con tres tipos de *compost*, se determinó que la dispersión de los puntos en el espacio que corresponden a los distintos tratamientos bajo estudio, está relacionada con el aumento o disminución de la concentración de limoneno, carvona y biciclosquifelandreno. Estos compuestos son los más relevantes para establecer una comparación entre los tratamientos; se observó que las concentraciones en los experimentos de las plantas testigo (LABP1, LABP2, LABP3 y LABSOL), presentaban valores intermedios, al

ser comparados con aquellos tratamientos que poseen las máximas concentraciones.

- El análisis de componentes principales de los parámetros fisicoquímicos del suelo: elementos menores - mayores y acidez, influenciados por el uso de tres tipos de *compost*, permite concluir que la materia orgánica (C%), y el calcio (Ca), son los parámetros mas influyentes para diferenciar los distintos tratamientos.
- El *compost* 2 en el suelo de la parcela 3 mejoró notablemente la concentración de materia orgánica (18300 ppm) y calcio (2600 ppm) en el terreno, lo que se ve reflejado en sus altos rendimientos de AE en las extracciones y en el aumento de la masa foliar debido a que el Ca es uno de los nutrientes esenciales mas absorbido y asimilado por las plantas y es necesario para su crecimiento, comparado con el de las más bajas concentraciones LABP1 (C: 5000 ppm y Ca: 1726 ppm).
- Los coeficientes de variación para los tiempos de retención - tiempos de retención relativos y áreas - áreas relativas, no superaron el 2% y el 10% respectivamente permitido por GLP para muestras analizadas por GC, lo que garantiza que los datos reportados en la cuantificación de los aceites esenciales son confiables y reproducibles.

5. RECOMENDACIONES

- La cantidad de *compost* usada en la investigación: 13 ton/ha en el momento de la siembra y 3.7 ton/ha cada 40 días hasta el momento del corte, proporcionó grandes incrementos en la producción de biomasa, sería bueno, variar las cantidades usadas y determinar cuál es la que mejores resultados produce, en investigaciones futuras.
- Realizar un estudio económico de fertilización, donde se tengan en cuenta los costos de implantación, el mantenimiento, la producción, comercialización y rendimiento neto, que pueda servir de referencia para futuros agricultores o asociaciones, interesados en el proceso del compostaje.
- Tener en cuenta una fertilización equilibrada para obtener alta calidad y buen rendimiento en los cultivos, hay que definir la dosis de fertilización, basado principalmente en el análisis preliminar de suelo, para evitar el peligro de suministrar dosis demasiado bajas incapaces de satisfacer las necesidades del cultivo, y por otro lado evitar el exceso, ya que se corre el riesgo de contaminar el suelo y provocar desequilibrios, que puedan interferir con la nutrición o disponibilidad de los nutrientes.
- Se recomienda el uso de coberturas inertes o “*mulch*”, ya que mantienen la humedad del suelo y evitan la pérdida del *compost* aplicado, por la acción de vientos y lluvias.

- El análisis canónico permitió establecer la relación existente entre la composición química y la caracterización del suelo, para establecer el efecto del compost sobre la concentración de los compuestos mayoritarios presentes en el AE, resaltando que el pH y el Mg son las sustancias más influyentes en cada caso. Entonces se recomienda realizar experimentos, donde se tengan en cuenta estas variables, modificando el material de partida para el *compost* o enriqueciéndolo con sustancias que alteren el pH y el magnesio del suelo y finalmente comparar resultados.
- Realizar un análisis foliar a las plantas, antes y después de la fertilización, y compararlos con los resultados de la caracterización del suelo, para poder afirmar cuales nutrientes son asimilados por las plantas.
- Diseñar un dispositivo que permita el volteo mecánico de una manera, que no requiera o sea menor, el esfuerzo físico necesario para la aireación del proceso.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN DE RECURSOS BIOLÓGICOS ALEXANDER von HUMBOLDT, Estudio del mercado nacional de los aceites esenciales. Biocomercio sostenible, Bogotá. **2003**, pp. 34-37.
- [2] TOVAR, Hermes. La economía de la coca en América Latina. El paradigma Colombiano. Venezuela, ed: Nueva Sociedad. **1994**, pp. 88-111.
- [3] GARRIDO, J.F., Guerra y pobreza en Colombia, Universidad ICESI, Cali, Colombia, *Revista Facultad de Ciencias Administrativas y Económicas*. **2001**, pp. 69-76.
- [4] Market Brief in the European Union for selected natural ingredients derived from native species. *Lippia alba*, Prontoalivio, Erva cidreira, juanilama, Melissa. The United Nations Conference on Trade and Development (UNCTAD). BioTrade Initiative / BioTrade Facilitation Programme (BTFP). January **2005**. pp. 9, 14, 17, 18.
- [5] RAVIV, M. Production of high-quality composts for horticultural purposes: A Mini-Review. *Hort Technol.* **2005**.15: (1), pp. 52-57.
- [6] KARUNGI J.; EKBOM B.; KYAMANYWA S. Effects of organic versus conventional fertilizers on insect pests, natural enemies and yield of *Phaseolus vulgaris*. *Agric. Ecosyst. Environ.* **2006**. 115, pp. 51-55.
- [7] CASTALDI, P.; ALBERTI, G.; MERELLA, R.; MELIS, P. Study of the organic matter evolution during municipal solid waste composting aimed at identifying suitable parameters for the evaluation of compost maturity. *Waste Management*. **2005**. 25, pp. 209-213.

- [8] GUPTA, P.M. 270 Plantas medicinales iberoamericanas. CYTED-SECAB, Editorial Presencia. Santafé de Bogotá, Colombia. **1995**. pp. 557-559, 561-563.
- [9] BIASI, L.; COSTA, G., Propagação vegetativa de *Lippia alba*, *Ciência Rural*, Santa Maria. **2003**. 33: (3), pp. 455-459.
- [10] JARAMILLO, B.E. Estudio de la actividad antioxidante *in Vitro* de aceites esenciales de plantas tropicales y compuestos sintéticos nitrogenados. Tesis Doctoral (Química). Facultad de Ciencias, Universidad Industrial de Santander. **2004**, pp. 85-90.
- [11] COWAN, M., Plant products as antimicrobial agents, *Clin. Microbiol.* **1999**. 12, pp. 564-582.
- [12] MUÑOZ, FERNANDO. Plantas medicinales y aromáticas, estudio, cultivo y procesado, Madrid: Mundi Prensa. **1987**, pp. 15-30.
- [13] TAIZ, L. and ZEIGER, E., Plant Physiology. 3^a Ed. Sinauer Associates Inc, Publisers: Massachusetts. **2002**, pp. 285-303.
- [14] AZCÓN, B. J., TALÓN, M., Fundamentos de fisiología vegetal. McGraw-Hill. 1^a ed., Madrid. **2001**, pp. 261-283, 481-490.
- [15] TOLONEN, A., Analysis of secondary metabolites in plant and cell culture tissue of *Hypericum perforatum* L. and *Rhodiola rosea* L. Oulu University Press: Finland. **2003**, pp. 14-19.
- [16] LINCOLN T.; ZEIGER E., Plant physiology. Massachussets: Sinauer Associates. **2002**, Ed 3, pp. 248, 287-290.
- [17] KLIEBENSTEIN D., Secondary metabolites and plant/environment interactions: a view through *Arabidopsis thaliana* tinged glasses.

Plant, Cell Environ. **2004**, 27, pp. 675–684.

[18] DUDAREVA, N.; PICHERSKY, E.; GERSHENZON J., Biochemistry of Plant Volatiles. *Plant Physiol.* **2004**,135, pp. 1893–1902.

[19] STASHENKO, E.E.; COMBARIZA, Y.; PUERTAS, M.A., Aceites Esenciales: Técnicas de extracción y análisis, Laboratorio de Fitoquímica y Cromatografía, Bucaramanga: Universidad Industrial de Santander. **1998**, pp. 1-23.

[20] BANDONI, Arnaldo (Ed). Los recursos vegetales aromáticos en Latinoamérica, su aprovechamiento industrial para la producción de aromas y sabores. 1ª Ed. La Plata, Argentina: Red de Editoriales Universitarias. **2000**, pp. 13-58, 103-242, 296-298.

[21] COWAN, M. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology.* **1999**,12, pp. 564-582.

[22] ProFound ADVISERS IN DEVELOPMENT, Compilado para Programa Nacional De Biocomercio Sostenible (PNBS) Bolivia, Breve Scan de Mercado para aceites esenciales, *Quick Market Scan Essential Oils.* **2005**, pp. 12-17.

[23] LUQUE DE CASTRO, M.D., JIMÉNEZ-CARMONA, M.M., FERNÁNDEZ-PÉREZ, V. Towards more rational techniques for the isolation of valuable essential oils from plants. *Tr. Anal. Chem.* **1999**. 18: (11), pp. 708-716.

[24] TSARKOVA Tatiana, Desarrollo de la técnica de extracción de metabolitos secundarios de plantas aromáticas utilizando la radiación de microondas, Tesis de Grado (Químico). Universidad Industrial de Santander. **1997**, pp. 13-16; 17; 36.

[25] METAXAS, A.; MEREDITH, R. (Eds.), Industrial microwave heating, Peregrinus Ltd., London, **1993**.

[26] LOPEZ-AVILA, V.; BENEDICTO, J., Microwave-assisted extraction combined with gas chromatography and enzyme-linked immunosorbent assay. *Tr. Anal. Chem.* **1996**. 15: (8), pp. 334-340.

[27] GÓMEZ, N.; WITTE, L., A simple method to extract essential oils from tissue simples by using microwave radiation. *J. Chem. Ecol.* **2001**. 27, pp. 2351-2359.

[28] FERHAT, M.; MEKLATI, B.; SMADJA, J.; CHEMAT, F., An improved microwave Clevenger apparatus for distillation of essential oils from orange peel, *J. Chromatogr. A.* **2006**, 1112, pp. 121-126.

[29] PARÉ, J.R.J.; SIGAMIN, M.; LAPONTE, J., US Patent 5.002.784., **1991**.

[30] KINGSTON, H.; JASSIE L., Introduction to microwave simple preparation, theory and practice. Washington: American Chemical Society. **1988**. pp.7-30.

[31] GENTRY Alwyn, Woody plants of Northwets of South América (Colombia, Ecuador, Peru), Washington, DC: Conservation International. **1993**. pp. 833, 840.

[32] DOS SANTOS, M.; INNECCO, R. Adubação orgânica e altura de corte da erva-cidreira brasileira. *Horticult. Brasil.* **2004**. 22: (2), pp. 182-185.

[33] MING, L.C ; STEFANINI, M., RODRIGUES, S.Ação de fitorreguladores no crescimento da erva-cidreira-brasileira. *Horticult. Brasil.* **2002**. 20: (1), pp. 18-23.

[34] CASTRO, D.M.; MING, L.C.; MARQUES, M.O.M., Biomass production and

chemical composition of *Lippia alba* (MILL.) N.E. BR. Ex Britt & Wilson in leaves on different parts in different seasons, *Acta Hort.*, **2002**, 569, pp. 111-115.

[35] MING, L.C. Influência de diferentes níveis de adubação orgânica na produção de biomassa e teor de óleos essenciais de *Lippia alba* (Mill.) N.E.Br. - Verbenaceae. (Tese mestrado). Curitiba: *UFPr*. **1992**. 206 p.

[36] RICCIARDI, G.; VEGLIA, J.; RICCIARDI, A.; BANDONI, A. Examen comparado de la composición de los aceites esenciales de especies autóctonas de *Lippia alba* (Mill.) N. E. BR., Argentina: Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura. *Comun. Cient. Tecnol.* **1999**. VIII. pp. 103-106.

[37] RICCIARDI, G.; RICCIARDI, A.; BANDONI, A. Fitoquímica de verbenáceas (*Lippias* y *Aloysias*) del nordeste Argentino, Facultad de Ciencias Exactas y Agrimensura. *Comun. Cient. Tecnol.* **2000**. pp.104-108.

[38] KUMAR, SUSHIL; JANAK, RAJ; RAVI, PRAKASH; et al. US PP13,110 P2. *Lippia alba*, PLANT NAMED 'BHURAKSHAK'. **2002**

[39] LORENZO, D.; PAZ, D.; DAVIES, P.; VILA, R. CAÑIGUERAL, S., and DELLACASSA, E. Composition of a new essential oil type of *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown from Uruguay. *Flav. Fragr. J.*, **2001**. 16: (5), pp. 356-359.

[40] SENATORE, F.; RIGANO, D., Essential oil of two *Lippia* spp. (Verbenaceae) growing wild in Guatemala. *Flavour Fragr. J.*, **2001**. 16: (3), pp. 169-171.

[41] ZOGHBI, M.; ANDRADE, E.; SANTOS, A.; SILVA, M., and MAIA, J., Essential oils of *Lippia alba* (Mill.) N. E. Br. growing wild in the Brazilian Amazon. *Flav. Fragr. J.*, **1998**. 13: (1), pp. 47-48.

[42] BAHL, J.; GARG, S.; SINGH, S.; BANSAL, R.; NAQVI, A., and KUMAR, S., Composition of linalool rich essential oil from *Lippia alba* grown in Indian plants. *Flav. Fragr. J.*, **2000**. 15: (3), pp.199-200.

[43] PINO, J.; ORTEGA, A.; ROSADO, A., Arístides *et al.* Composición y propiedades antibacterianas del aceite esencial de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown. *Rev. Cub. Farm.*, **1996**. 30: (1), pp. 1-7.

[44] PINO, J.; ORTEGA, A.; ROSADO, A., Chemical composition of the essential oil of *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown from Cuba, *J. Essent. Oil Res.*, **1996**. 8: (4), pp. 445-446.

[45] RICCIARDI, G.; RICCIARDI, A., Efecto de las variaciones estacionales sobre la composición química del aceite esencial de plantas de “Savia morada” de Sáenz Pena (Chaco). *Comun. Cient. Tecnol.* **2000**.

[Sitio en Internet]. Disponible en:

[http://\(www.plantasmedicinales.org/archivos/salvia_morada_variabilidad_fitog_uimica_estacional.pdf?PHPSESSID=690\)](http://(www.plantasmedicinales.org/archivos/salvia_morada_variabilidad_fitog_uimica_estacional.pdf?PHPSESSID=690)). Página web consultada el 23 de junio de 2007.

[46] STASHENKO, E.; JARAMILLO, B.; MARTÍNEZ, J., Comparison of different extraction methods for the analysis of volatile secondary metabolites of *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown, grown in Colombia, and evaluation of its in vitro antioxidant activity, *J. Chromatogr. A.*, **2004**. 1025: (1), pp. 93-103.

[47] MONSALVE, L., Comparación de la composición química de los aceites esenciales de las plantas de *Lippia alba* (Mill) N.E. Brown, provenientes de diferentes regiones de Colombia, Tesis de Grado (Química), Universidad Industrial de Santander, **2006**, pp. 120.

[48] CELIS, N., Estudio comparativo de la composición y actividad biológica de los aceites esenciales extraídos de *Lippia alba*, *Lippia Origanoides* y *Phyla*

(*Lippia dulcis*), especies de la familia *Verbenaceae*, Tesis de grado (Química), Universidad Industrial de Santander, **2007**, pp. 131.

[49] HENNEBELLEA, T.; SAHPAZA, S.; DERMONTB, C.; JOSEPHC, H.; AND BAILLEUL, F., The essential oil of *Lippia alba*: Analysis of samples from French Overseas departments and review of previous works, *Chem. Biodiver.* **2006**, 3, pp. 1116-1125.

[50] PASCUAL, M.; SLOWING, K.; CARRETERO, M.; VILLAR, V., Antiulcerogenic activity of *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown (Verbenaceae), *IL Farmaco*, **2001**, 56, pp. 501-504.

[51] BARBIÉRI F.; PESSINI, G.; SANCHES, N.; GARCIA, D.; NAKAMURA, C., DIAS, B., Screening of some plants used in the brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* **2002**, 97: (7), pp. 1027-1031.

[52] VALE, T.; MATOS, F.; LIMA, T.; Behavioral effects of essential oils from *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown chemotypes, *J. Ethnopharm.*, **1999**, 167: pp. 127–133.

[53] ABAD, M.; BERMEJO, P.; VILLAR, A.; SANCHEZ, S. y CARRASCO, L., Antiviral activity of medicinal plant extracts, *Phytother. Res.*, **1996**, 11, pp. 198-202.

[54] SAVIA, L.; GAIDOA, D.; BETTEGAA, D.; MANCINIB, D.; ALMEIDAB de, C.; BARBOSAB, R.A.; FARIASB, M.R.; BARARDIA, C.; SIMOˆESA, D., Antiviral evaluation of plants from Brazilian atlantic tropical forest, *Fitoter.*, **2005**, 76, pp. 374–378.

[55] ZEˆTOLA, M.; LIMA DE, T.; SONAGLIO, D.; GONZAˆLEZ-ORTEGA, G.; LIMBERGER, R.P.; PETROVICK, P.R.; BASSANI, V.L., CNS activities of liquid

and spray-dried extracts from *Lippia alba*, Verbenaceae (Brazilian false melissa), *J. Ethnopharm.*, **2002**, 82, pp. 207-215.

[56] ROSSATO, M.; ATTI, A.; ATTI, L.; AGOSTINI, F.; PANSERA, M.; WASUM, R.; BARBIERI, R., Avaliação do óleo essencial de *Aloysia sellowii* (briquet) Moldenke (Verbenaceae) do Sul do Brasil, *Quim. Nova*, **2006**, 29: (2), pp. 200-202.

[57] DOS SANTOS, M.; INNECCO, R.; SOARES, A., Caracterização anatomica das estruturas secretoras e produção de óleo essencial de *Lippia alba* (Mill.) N.E. Br. em função do horário de colheita nas estações seca e chuvosa. *Ciência Agrônômica*, **2004**. 35: (2), pp. 377–383.

[58] DOS SANTOS, M.; INNECCO, R., Influência de períodos de secagem de folhas no óleo essencial de erva-cidreira (quimiotipo limoneno-carvona), *Ciência Agrônômica*, **2003**, 34: (1), pp. 5-11.

[59] CASTRO, D. M., Efeito da variação sazonal, colheita selecionada e temperaturas de secagem sobre a produção e de biomassa, rendimento e composição de óleos essenciais de folhas de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Br. Ex Britt. & Wilson (Verbenaceae), **2001**, 132 f. Tese (Doutorado em Horticultura) Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

[60] CASTRO D.; MING, L. C.; MARQUES, M.; MACHADO, S., Effect of different drying temperature on *Lippia alba* essential oil production and yield, Biology and Phytochemical Agronomic Institute, No. 22, *Rev. Bras. Plantas Mediciniais*, **2002**, 4, pp. 75.

[61] SCHOROEDER M.; LÓPEZ A.; MARTINEZ G., Resultados preliminares del análisis foliar de *Lippia alba* (Mill.) N:E: Brown, *Pluchea sagittalis* (Lamb) Cab., *Petiveria alliacea* L. y *Ocimum Selloi* Benth, Tesis de grado, **2004**, Argentina: Universidad Nacional del Nordeste. Fac. de Ciencias Agrarias U.N.N.E. A.

- [62] HUSAIN, Akhtar, Essential oil plants and their cultivation, Central Institute of Medicinal and Aromatic Plants, **1994**, pp. 94, 162, 215, 237.
- [63] CARVALHO DE, C. R.; DA FONSECA, M., Carvone: Why and how should one bother to produce this terpene, *Food Chem.*, **2006**, 95: (3), pp. 413-422.
- [64] BRADDOCK, R.; CADWALLADER, K., Citrus by-products manufacture for food use, *Food Tech.*, **1992**, 2, pp.105-110.
- [65] SATINDER, A., Chromatography and separation science, Academic Press, EE.UU., **2003**, 4, pp. 1-9, 133-142.
- [66] KARASEK, F., Basic gas chromatography-mass spectrometry. 1ª edición, Amsterdam: Elsevier, **1988**, pp. 201.
- [67] POOLE, C.; POOLE, S., Chromatography today, Amsterdam: Elsevier, **1991**, pp. 2, 92.
- [68] RÖDEL, W.; WÖLM, G., A guide to gas chromatography, Huethig Verlag: New York, **1987**, 211 p.
- [69] MESSAGE, G.; WILEY, J. & Sons, Practical aspects of gas chromatography/mass spectrometry, **1984**, 1 ed., Canada, pp. 33-37 y 141-157.
- [70] JENNINGS, W., Analytical gas chromatography, Academic Press: San Diego, **1987**, pp. 48-51
- [71] TAYLOR and FRANCIS Group, Biology of floral scent, London: CRC Press, **2006**, pp. 14-15.
- [72] KOVÀTS, E. Gas- Chromatographische charakterisierung organischer verbindungen. Teil: 1 retentionsindices aliphatischer Halogenide, Alkohole, Aldehyde und Ketone. *Helv. Chim. Acta*, **1958**, 41, pp. 1915-1932.

[73] SKOOG, D., HOLLER, J., NIEMAN, T., Principios de análisis instrumental. Madrid: McGraw-Hill/Interamericana de España, 5ª ed., **2001**, pp. 754, 776, 777.

[74] GOTAAS, HAROLD., Composting-Sanitary disposal and reclamation of organic wastes. *World Health Organization*, Ginebra, **1956**, pp. 13-24.

[75] SZTERN, D.; PRAVI, M., *et al.*, Manual para la elaboración de compost bases conceptuales y procedimientos, Uruguay: Novi Mundi, **1999**, pp. 17-27, 42-54.

[76] ESCOSTEGUY, P.; PARCHEN, C.; SELBACH, P., Bactérias enteropatogênicas em compostos de lixo domiciliary, solo e planta, *Rev. Brás. Ci Solo Campinas*, **1993**, 17, pp. 365-369.

[77] MOHEE, R.; MUDHOO, A., Analysis of the physical properties of an in-vessel composting matrix, *Powder Technol.*, **2005**, 155: (1), pp. 92-99.

[78] BERNAL, C.; PAREDES, M.A.; SÁNCHEZ-MONEDERO and *et. al.*, Maturity and stability parameters of compost prepared with a wide range of organic wastes, *Bioresource Technol.*, **1998**, 63, pp. 91-99.

[79] PEREIRA, J.T., Minimização de resíduos sólidos: reciclagem/coleta seletiva e compostagem. In: Simpósio Internacional de Destinação de Lixo, Salvador. Salvador: CONDER, **1994**, pp. 269-280.

[80] TCHOBANOGLIOUS,G.; THEISEN, H.; VIGIL, S, Gestión Integral de Residuos Sólidos. España: Mc Graw-Hill/Interamericana de España, **1994**, pp. 339-353, 770-791.

[81] DEFRIERI, R.; JIMENEZ, M.; EFFRON, D.; PALMA, M., Utilización de parámetros químicos y microbiológicos como criterios de madurez durante el proceso de compostaje, *Agriscientia Rev. Cient.*, **2005**, 22, pp. 25-31.

[82] BERNADETE, M. Procedimentos para aproveitamento de resíduos sólidos urbanos em municípios de Pequeno Porte, Universidade Federal Santa Catarina, Programa de Pós-Graduação em engenharia de produção (Tese), **2002**, pp. 39, 41, 42.

[83] SMIDT, E.; LECHNER P., Study on the degradation and stabilization of organic matter in waste by means of thermal analyses, *Thermochim. Acta*, **2005**, 438, pp. 22-28.

[84] PIETRO, M.; CASTALDI P., Thermal analysis for the evaluation of the organic matter evolution during municipal solid waste aerobic composting process. *Thermochim. Acta*, **2004**, 413, pp. 209–214.

[85] LABRIE, C.; LECLERE, P.; CÔTÉ, N.; ROY, S.; BRZEZINSKI, R.; HOGUE, R.; BEAULICU, C., Effect of chitin waste-based compost produced by two-phase compost on two oomycete plant pathogens, *Plant Soil*, **2001**, 235: (1), pp. 27-34.

[86] DUMONTET, S.; DINEL, H. and BALODA, S.B., Pathogen reduction in sewage sludge by composting and other biological treatments: a review. *Biol. Agricul. Horticult.*, **1999**, 16: (4), pp. 409-430.

[87] FICHTNER, E.J.; BENSON, D.M.; DIAB, H.; SHEW, H., Abiotic and biological suppression of *Phytophthora parasitica* in horticultural medium containing composted swine waste, *Phytopathology*, **2004**, 94, pp. 780-788.

[88] PASCUAL, J.; AYUSO, M.; GARCIA, C., *et al.*, Characterization of urban wastes according to fertility and phytotoxicity parameters, *Waste Manage*, **1997**, 15, pp.103–112.

[89] TIQUIA, S.; JUDY J.; TAM N., Microbial population dynamics and enzyme activities during composting, *Compost Sci. Utiliz.*, **2002**, 2, pp. 150-161.

- [90] CEGARRA, JUAN, Compostaje y lombricompostaje características de los compost. Residuos orgánicos aprovechamiento agrícola como abono y sustrato, Medellín: Sociedad Colombiana de la Ciencia del Suelo, Comité Regional de Antioquia, 2ª ed., **1998**, pp. 39-52.
- [91] GARCÍA, C.; HERNANDEZ, M.; AYUSO, M., *et al.*, Changes in the microbial activity of an arid soil amended with urban organic wastes. *Biol. Fertil. Soils*, **1997**, 24, pp. 429-434.
- [92] FARÍAS, D.; BALLESTEROS M.; BENDECK, M., Variación de parámetros Físicoquímicos durante un proceso de compostaje, *Rev. Col. Quím.*, **1999**, 28, pp. 75-86.
- [93] BENITO, M.; MASAGUER, A.; MOLINER, A.; ARRIGO, N.; PALMA, R. M.; EFFRON, D., Evaluation of maturity and stability of pruning waste compost and their effect on carbon and nitrogen mineralization in soil, *Soil Sci.*, **2005**, 170, (5), pp. 360-370.
- [94] ZMORA-NAHUM, S.; MARKOVITCH, O.; TARCHITZKY, J.; CHEN, Y., Dissolved organic carbon (DOC) as a parameter of compost maturity, *Soil Biol. Biochem.*, **2005**, 37, pp. 2109-2116.
- [95] SUNDBERG, C.; SMÅRS, S.; JÖNSSON, H., Low pH as an inhibiting factor in the transition from mesophilic to termophilic phase in composting, *Bioresource Technol.*, **2004**, 95, pp. 145-150.
- [96] HEINONEN-TANSKI, H; MOHAIBES, M; KARINEN, P;; KOIVUNEN, J., Methods to reduce pathogen microorganisms in manure, *Livestock Sci.*, **2006**, 102, pp. 248–255.
- [97] SALAMANCA, R., Suelos y fertilizantes, Bucaramanga: Sanabria, Universidad Santo Tomas, **1990**, pp. 275-276.

- [98] ABARRATALDEA, Manual práctico de técnicas de compostaje, 3ra ed., **2005**, [Sitio en Internet], Disponible en: [http:// www.abarrataldea.org/manual.htm](http://www.abarrataldea.org/manual.htm), Página *Web* consultada el 8 de mayo de **2006**.
- [99] SÆBO, A.; FERRINI, F., The use of compost in urban green areas – A review for practical application, *Urb. Forest. Urb. Green.*, **2006**, 4, pp. 159-169.
- [100] BERNAL, M.; SÁNCHEZ-MONEDERO, M.; PAREDES, C., Carbon mineralization from organic wastes at different composting stages during their incubation with soil, *Agric. Ecosyst. Environ.*, **1998**, 69, pp. 175-189.
- [101] ROE, N.E., Compost utilization for vegetable and fruit crops, *Hort. Sci.*, **1998**, 33: (6), pp. 934-937.
- [102] DAHAMA, A. K., Organic farming: an overview. In: Dahama, A. K. (Ed), Organic farming for sustainable agriculture, *AgroBotanical Publishers, India*, (Chapter 1), **1996**.
- [103] STAMATIADIS, S.; WERNER, M.; BUCHANAN, M., Field assessment of soil quality as affected by compost and fertilizer application in a broccoli field (San Benito County, California), *App. Soil Ecol.*, **1999**, 12, pp. 217-225.
- [104] LEE, C.; PARK, C.; PARK, K., Long-term effects of fertilization on the forms and availability of soil phosphorus in rice paddy, *Chemosphere*, **2004**, 56, pp. 299-304.
- [105] LUNA, J. Influence of soil fertility practices on agricultural pests. In: Allen, P., Van Dusen, (Eds.), *Global Perspectives in Agro-ecology and Sustainable Agricultural Systems. Proceedings of the Sixth International Scientific Organic Agriculture Movements*, University of California, Santa Cruz, **1988**, pp. 589–600.

- [106] VOGTMANN, H.; FRICKE, K.; TURK T., Quality, physical characteristics, nutrient content, heavy metals and organic chemicals in biogenic waste *compost. Comp. Sci. Utiliz.*, **1993**, 1: (4), pp. 69-87.
- [107] LIMA, J.S.; de QUEIROZ, J.E.G.; FREITAS, H.B. Effect of selected and non-selected urban waste *compost* on the initial growth of corn. *Res. Conserv. Recycl.*, **2004**, pp. 309-305.
- [108] ABDEL-SABOUR, M.F.; EL-SEOUD, M.A., Effects of organic-waste *compost* addition on sesame growth, yield and chemical composition, *Agric. Ecosyst. Environ.*, **1996**, 60, pp. 157-164.
- [109] TANU; PRAKASH, A.; ADHOLEYA, A., Effect of different organic manures/compost on the herbage and essential oil yield of *Cymbopogon winterianus* and their influence on the native AM population in a marginal alfisol, *Bioresource Technol.*, **2004**, 92, pp. 311-319.
- [110] AKHTAR, M., Effects of two compositae plant species and two types of fertilizer on nematodes in an alluvial soil, India, *App. Soil Ecol.*, **1998**, 10, pp. 21-25.
- [111] KEELING, A.; MCCALLUM, K.; BECKWITH, C. Mature green waste enhances growth and nitrogen uptake in wheat (*Triticum aestivum* L.) and oilseed rape (*Brassica napus* L.) through the action of water-extractable factors. *Bioresource Technol.* **2003**, 90, pp. 127-132.
- [112] CARVALHO, C. de; de MENEZES, C.; dos SANTOS, J.; DIAS, R.; OLIVEIRA, C. & RODRIGUES, J., Rendimento da produção de óleo essencial de campin-santo submetido a diferentes tipos de adubação, *Rev. Biol. Ciências da Terra*, **2005**, 5: (2).

[113] McCORMICK, D.; ROACK, A., Measurement, statistics and computation. Analytical chemistry by open learning, John Wiley & Sons, London, **1992**, pp. 3, 9, 11.

[114] DE LA VEGA, IVÁN, Cienciometría y política científica en la periferia: el caso de Venezuela, *Rev. Espacios*, **2003**, 24: (1), [Sitio en Internet], Disponible en: <http://www.revistaespacios.com/a03v24n01/03240101.html>, Página Web consultada el 8 de abril de **2007**.

[115] PÉREZ, MIGUEL ÁNGEL. Usos y abusos de la cienciometría, México, **2006**, [Sitio en Internet]. Disponible en: <http://www.cinvestav.mx/publicaciones/revista/enemar06/usos>. Página Web consultada el 2 de abril de **2007**.

[116] Disponible en: <http://www.scopus.com/scopus/home.url>. Página Web consultada el 10 de abril de **2007**.

[117] Disponible en: <http://www.portal.isiknowledge.com/portal.cgi?DestApp=WOS&Func=Frame>. Página Web consultada el 13 de abril de **2007**.

[118] BRINCKMANN, JOSEF A., The United States market for natural ingredients used in dietary supplements and cosmetics, *International Trade Centre UNCTAD/WTO*, **2003**, junio, Geneva, 152 p.

[119] CBI and DÜRBECK, KLAUS, Natural ingredients for pharmaceuticals, Pro Found, Septiembre, **2004**, 110 p.

[120] PALACIOS, E., Economía y plantas medicinales, Facultad de Ciencias Económicas, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, CSI, boletín 52, **2005**, pp. 28-31.

[121] ERKEKDJIAN, M., Análisis de la tendencia del mercado internacional de aceites esenciales, Informe mensual de la fundación Export·Ar., **2005**, pp. 54.

[122] HOLOPAINEN, P.; AIRAKSINEN, S.; HEINONEN-TANSKI, H.; HEISKANEN, M-L., Utilization of composted horse manure with peat bedding in greenhouse and field cultivation. In Schmilweski, G., ROCHEFORT, L. (Eds.), Peat in Horticulture. Quality and Environmental Challenges, **2002**, a Joined Symposium of Commissions II (Industrial utilization of peat and peatlands) and V (After-use of cut-over peatlands) of the International Peat Society.

[123] MUKHERJEE, A.; SPEH, D.; DYCK, E.; DIEZ-GONZALEZ, F., Preharvest evaluation of coliforms, Escherichia coli, Salmonella, and Escherichia coli O157:H7 in organic and conventional produce grown by Minnesota farmers, *J. Food Prot.*, **2004**, 67, pp. 894–900.

[124] MARÍN, G., Fertilidad de Suelos con énfasis en Colombia, Ministerio de Agricultura, Instituto Colombiano Agropecuario, ICA, **1987**, pp. 167.

[125] DURÁN GARCÍA, C., Estudio del aceite esencial de Lippia alba (Fam. Verbenaceae) y de los aspectos fisiológicos en diferentes etapas de su crecimiento bajo tres niveles de luz, Trabajo de grado (Químico), Universidad Industrial de Santander, **2005**, Bucaramanga. pp. 5-36.

[126] PALMISANO, A.C.; BARLAZ, M.A., Microbiology of solid waste. Boca raton: CRC Press, **1996**. 120 p.

[127] GOTTLIER, O. R., Phytochemistry and evolution of angiosperms, *Anais Acad. Brasil. Cienc.*, **1984**, 56, pp. 43-50.

[128] ALMEIDA, E.S., A alelopatia e as plantas, Circular 53, IAPAR-Londirna, **1988**, 60p.

[129] GUZMÁN, S.; CARDOZO, R.; GARCIA, V., Desarrollo agrotecnológico de *Lippia alba* (Miller) N. E. Brown ex Britton & Wilson, Universidad de San Buenaventura Cali, *Rev. Científica Guillermo de Ockham*, **2004**, 7, pp. 201-215.

[130] MING, L.C. Plantas medicinais aromáticas e condimentares. Avances na pesquisa agronomica. Volumen II. Sao Paulo, Brasil: Universidade Estadual Paulin, **1998**, pp. 165-190.

[131] HUSSEIN, M.S.; EL-SHERBENY, S.E.; KHALIL, M.Y., and *et. al.*, Growth characters and chemical constituents of *Dracocephalum moldavica* L. plants in relation to compost fertilizer and planting distance, *Scientia Horticulturae*, **2006**, 108, pp. 322–331.

[132] KHALIL, M.Y.; EL-SHERBENY, S.E., Improving the productivity of three *Mentha* species recently cultivated under Egyptian condition, *Egypt. J. Appl. Sci.*, **2003**, 18: (1), pp. 285–300.

[133] SOUSA, A.; De MARACAJÁ, P.; SOUZA, J.; VASCONCELOS, W.; MAIA, C., Produção de biomassa na parte aérea da erva cidreira (*Melissa ssp.*) em função de doses de esterco bovino, húmus de minhoca, composto orgânico e NPK em casa de vegetação, *Revista de Biologia e Ciências da Terra*, **2003**, 3: (2), pp. 232-242.

[134] MILLER, J.C.; MILLER, J.N., Estadística para química analítica, 2ª ed., Londres, **1988**, pp. 20-30, 41-43.

[135] ADAMS, R.P., Identification of essential oil components by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy, Ed. Allured Publishing Corporation, Illinois, **2004**, 469p.

[136] N.W. DAVIES, Gas chromatographic retention indices of monoterpenes and sesquiterpenes on methyl silicone and Carbowax 20M phases, Review. *J. Chromatogr. A.*, **1990**, 503, p.p. 501-513.

[137] TISSERAND, R.; BALACS, T., Essential oil safety, Churchill Livingstone, 1^a ed., **1999**, London, pp. 7-20.

[138] GARNER, W.; BARGE, M.; USSARY, J., Good Laboratory Practice, Standards, Washington, DC. *ACS Professional Reference Book*, **1992**, pp. 571

ANEXOS

ANEXO 1. Seguimiento de los parámetros temperatura y pH para los tres tipos de *compost*.

➤ **TEMPERATURA**

Seguimiento de la temperatura (°C) para <i>compost</i> 1 (C1)				
Punto 1*	Punto 2*	Punto 3*	Punto 4*	Punto 5*
21.0	20.1	21.1	20.3	22.4
47.3	47.0	49.5	48.9	49.2
54.2	55.0	55.4	58.6	69.2
59.6	55.3	56.8	54.8	67.2
48.1	46.9	54.8	53.0	59.0
58	54.3	62.8	59.0	74.8
37.8	39.6	41.4	46.4	67.8
39.1	39.7	37.3	34.7	66.5
38.8	43.9	46.4	46.0	59.1
40.6	34.2	35.2	30.3	55.1
41.2	36.4	38.8	37.7	59.0
38.9	36.1	34.0	35.3	54.5
31.8	31.3	32.2	31.5	52.4
31.3	31.0	31.2	30.4	44.3
29.6	30.1	31.1	29.2	42.9
28.4	28.8	28.1	28.5	37.3
27.5	27.5	28.2	27.4	37.0
26.5	26.9	26.6	27.2	33.6
25.4	26.1	26.7	28.2	32.4
25.4	26.1	26.7	28.2	32.4
25.4	26.1	26.7	28.2	32.4
25.4	26.1	26.7	28.2	32.4
25.4	26.1	26.7	28.2	32.4
25.4	26.1	26.7	28.2	32.4
25.4	26.1	26.7	28.2	32.4

* Puntos seleccionados para el seguimiento (Véase, **Figura 7**).

Seguimiento de la temperatura (°C) para <i>compost</i> 2 (C2)				
Punto 1*	Punto 2*	Punto 3*	Punto 4*	Punto 5*
22.1	21.4	22.0	22.2	23.1
48.0	48.9	52.6	52.8	48.0
50.2	52.7	54.7	56.7	63.8
59.4	55.3	57.1	59.3	59.6
50.9	52.3	51.8	49.9	57.0
60.0	55.7	58.0	62.1	72.3
44.3	41.9	46.3	41.0	69.2
39.0	41.5	39.0	40.0	64.9
42.4	41.5	43.4	43.4	59.6
41.7	45.2	36.4	40.1	58.2

40.3	41.4	40.5	39.3	59.0
41.9	37.2	36.2	35.0	56.8
32.2	32.6	33.9	30.6	51.1
31.9	31.0	29.6	32.2	47.9
31.3	32.9	30.3	31.4	46.7
30.3	28.2	30.2	29.0	44.7
28.3	28.7	27.4	29.3	45.2
28.3	30.3	29.8	30.3	37.9
29.6	28.1	31.4	27.5	41.6
28.7	27.5	28.9	26.9	36.1
28.8	27.5	28.9	26.9	35.3
28.7	27.4	28.7	26.9	35.1
28.7	27.5	28.9	26.8	34.5
27.9	27.3	28.9	26.9	33.8
27.6	27.5	28.6	26.9	33.4
27.5	27.5	28.9	26.7	32.7
27.4	27.2	28.2	26.9	31.5
26.9	27.5	28.2	26.3	29.6
26.6	26.8	29.9	26.3	29.3
26.7	26.6	29.9	26.1	28.4
26.8	26.3	29.8	26.0	27.1

* Puntos seleccionados para el seguimiento (Véase, **Figura 7**).

Seguimiento de la temperatura (°C) para <i>compost 3 (C3)</i>				
Punto 1*	Punto 2*	Punto 3*	Punto 4*	Punto 5*
21.0	20.5	22.0	21.0	22.5
42.6	49.8	52.4	55.1	56.8
51.5	53.3	55.9	54.6	58.8
41.1	46.0	53.4	43.0	57.6
46.3	52.5	46.5	45.1	64.9
47.5	45.4	47.9	46.6	58.6
39.5	43.2	39.0	41.2	64.2
43.8	39.8	42.0	40.8	56.5
35.4	36.0	38.5	33.1	56.3
32.0	29.1	31.9	29.9	48.4
33.1	36.1	33.6	33.1	45.3
33.4	34.8	32.6	31.5	52.5
34.5	31.8	30.9	30.0	42.9
33.8	32.9	33.8	30.6	32.7
29.1	29.7	29.3	28.6	31.6
28.3	25.9	29.6	29.8	29.4
28.9	28.9	28.4	28.6	29.4
28.5	27.4	29.6	29.5	29.8

29.3	28.4	29.7	29.4	28.3
29.3	28.3	30.1	29.3	29.6
29.4	28.5	29.6	28.9	29.5
28.5	27.6	29.3	27.3	29.4
25.1	27.1	28.7	27.4	27.3
26.3	26.7	28.6	26.8	26.4
26.3	26.7	28.6	26.8	26.4
26.3	26.7	28.6	26.8	26.4
26.3	26.7	28.6	26.8	26.4
26.3	26.7	28.6	26.8	26.4

* Puntos seleccionados para el seguimiento (Véase, **Figura 7**).

➤ pH

Seguimiento del pH para el <i>compost 1 (C1)</i>				
Punto 1*	Punto 2*	Punto 3*	Punto 4*	Punto 5*
5.5	4.2	4.8	4.9	4.5
5.0	5.5	5	5.1	6.0
4.2	4.6	4.5	4.0	4.2
4,0	4,0	4.8	3.0	3.2
8.5	8.2	8.0	7.5	7,0
7.2	7.0	7.5	7.5	7,0
7.3	7.4	7.6	7.5	7,0
7,0	6.9	6.5	6.6	7,0
7,0	7,0	7.3	7.0	6.6
7,0	7,0	6.5	6.0	5.1
7.1	7.1	7.0	7.1	7.0
7.7	7.7	7.7	7.3	7.3
6.5	6.5	7.0	6.5	6.0
7.5	7.4	7.4	7.1	7.0
7.0	7.3	7.3	7.0	7.0
7.5	7.5	7.8	7.8	7.6
7.8	7.7	7.7	7.6	7.6
7.3	7.0	7.2	7.3	7.1
7.2	7.0	7.0	7.2	7.0
7.0	7.2	7.0	7.0	7.2
7.0	7.0	7.0	7.0	7.2
7.0	7.2	7.2	7.0	7.0
7.2	7.0	7.2	7.2	7.0
7.0	7.0	7.0	7.0	7.2

* Puntos seleccionados para el seguimiento (Véase, **Figura 7**).

Seguimiento del pH para el <i>compost 2 (C2)</i>				
Punto 1*	Punto 2*	Punto 3*	Punto 4*	Punto 5*
5	4.2	5.0	4.8	4.8
3.9	4.0	4.2	4.0	6,1
4.3	4.1	3.9	3.9	4.1
4.0	4.0	4.1	4.2	4,0
8	8.0	8	8.0	7.0
7.7	7.7	7.7	7.8	6.2
7.8	7.8	7.7	7.6	6.6
6.7	7.0	7	7.6	7.5
7.7	8.0	8	8.0	7.3
6.5	7.1	7.1	7.0	7.0
7.8	8.0	7.5	7.5	6.0
7	8.0	7.3	7.7	7.5
6	6.0	6.2	5.2	4,0
6.8	7.0	7.0	7.0	6.0
7	7.0	7.2	7.0	6.5
7.7	7.5	7.5	7.5	7.5
8	7.5	7.5	7.8	7.2
7.3	7.2	7.5	7.5	7.3
7.3	7.2	7.1	7.5	7.3
7.3	7.2	7.1	7.5	7.3
7.3	7.2	7.5	7.1	7.3
7.3	7.2	7.1	7.1	7.3
7.3	7.2	7.1	7.5	7.3

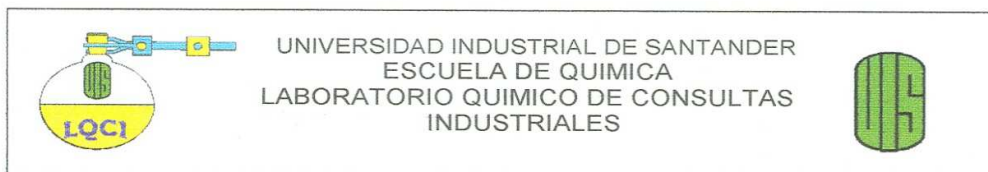
* Puntos seleccionados para el seguimiento (Véase, **Figura 7**).

Seguimiento del pH para el <i>compost 3 (C3)</i>				
Punto 1*	Punto 2*	Punto 3*	Punto 4*	Punto 5*
7.3	7.2	7.2	7,0	7.2
7.4	7.5	7.5	7.6	7,0
7.7	7.6	7.5	7.5	7.7
7.3	7.3	7.3	7.3	8,0
7.7	7.7	7.7	7.6	8,0
7,0	7.5	7,0	7.2	8,0
7.6	7.6	7.2	7.5	8,0
7.5	7.5	7.5	7.4	7.7
8,0	7,0	8,0	7,0	8,0
7.8	8,0	7.8	7.7	7.8
7.8	7.8	7.7	7.6	8,0
7.8	7.8	7.7	7.7	7.8
7.2	7,0	7.3	7.3	7.5
7.4	7.9	7.2	7.1	7.2

7.4	7.4	7.1	7.2	7.2
7.4	7.6	7.4	7.2	8,0
7.8	7.2	7.3	7.6	8,0
7.3	7.2	7.3	7.4	7.2
7.2	7.8	7.8	7.5	7.4
7.1	7.8	7.8	7.6	8,0
7.3	7.4	7.5	7.7	7.6
7.1	7.2	7.5	7.8	7.2
7.2	7.2	7.4	7.2	7.2
7.2	7.2	7.3	7.2	7.2
7.2	7.2	7.2	7.3	7.2
7.2	7.2	7.3	7.2	7.3
7.3	7.2	7.2	7.3	7.2

* Puntos seleccionados para el seguimiento (Véase, **Figura 7**).

ANEXO 2: Análisis químico de los *compost* elaborados, realizado por el Laboratorio de Consultas Industriales. Universidad Industrial de Santander.



REPORTE DE RESULTADOS

FECHA: Junio 02 de 2006 SOLICITUD No 101
 NOMBRE DEL SOLICITANTE: Lab. De Cromatografía -UIS
 NOMBRE DE LAS MUESTRAS: Abono
 No DE MUESTRAS: 3
 MUESTRAS TOMADAS POR: El Solicitante
 FECHA DE LLEGADA AL LABORATORIO: Mayo 25 de 2006

RESULTADOS ANALISIS FISICOQUIMICO

Muestras Identificadas como:

- Abono No 1
- Abono No 2
- Abono No 3

PARAMETRO	No 1	No 2	No 3	METODO
pH (Unidades de pH)	9.44	9.50	8.34	Potenciométrico
Humedad (%)	18.0	22.0	34.2	Gravimétrico
Cenizas (%)	38.67	45.88	36.70	Gravimétrico
Carbono Orgánico Oxidable (%C)	16.53	14.39	16.82	Espectrofotométrico
Materia Orgánica (%MO)	28.60	24.9	29.10	Espectrofotométrico
Nitrógeno (%N)	2.19	2.27	1.58	Kjeldahl
Fósforo (%P ₂ O ₅)	3.14	5.98	3.15	Gravimétrico - Titrimétrico
Calcio (%CaO)	3.55	5.61	3.89	Absorción Atómica
Magnesio (%MgO)	0.73	0.49	0.17	Absorción Atómica
Potasio (%K ₂ O)	2.85	3.11	1.53	Absorción Atómica
Cobre (%Cu)	N.D.	N.D.	N.D.	Absorción Atómica
Hierro (%Fe)	0.26	0.62	0.60	Absorción Atómica
Azufre (%S)	0.36	0.32	0.21	Espectrofotométrico

*Resultados de análisis en Base Húmeda.

N.D. No detectable a la mínima concentración detectable por el método utilizado.

L.C.D. Límite de Cuantificación Directa.
 Ca (mg Ca/L) = 0.08
 Mg(mg Mg/L) = 0.08
 Cu (mg Cu/L) = 0.09
 Fe (mg Fe/L) = 0.12
 K (mg K/L) = 0.04

Ciudad Universitaria - Edificio Camilo Torres / Laboratorio 225
 Apartado Aereo 0678 - Conmutador : 6344000 Ext. 2465. Directo : 6349009
 Telefax : 6349069
 E-mail : labquim@uis.edu.com
 Bucaramanga - Colombia

REPORTE DE RESULTADOS

Página 2 de 2



PARAMETRO	<i>C1a</i>	<i>C1b</i>	<i>C2a</i>	<i>C2b</i>	<i>C3a</i>	<i>C3b</i>
	No.1	No.2	No.3	No.4	No.5	No.6
pH (Unidades de pH)	8.41	8.52	9.39	8.80	7.77	7.86
Humedad (%)	29.2	30.1	24.2	20.1	22.5	30.8
Cenizas (%)	33.0	31.1	40.4	46.2	46.9	41.4
Materia Orgánica (%MO)	35.7	37.8	32.7	32.2	28.7	26.5
Nitrógeno (%N)	1.76	2.1	2.27	2.01	2.80	1.22
Relación C/N	11.7	10.3	8.3	9.2	5.9	12.5
Fósforo (%P)	0.39	0.73	1.70	2.47	1.74	1.27
Calcio (%Ca)	1.41	2.08	4.03	4.19	4.36	2.83
Magnesio (%Mg)	0.17	0.43	0.32	0.35	0.28	0.33
Sodio (%Na)	0.16	0.28	0.27	0.23	0.25	0.17
Potasio (%K)	1.29	2.50	2.22	2.04	1.31	1.47
Cobre (%Cu)	N.D	N.D	N.D	0.002	N.D	0.003
Hierro (%Fe)	0.14	0.18	0.24	0.38	0.29	0.29
Zinc (%Zn)	0.006	0.018	0.022	0.025	0.039	0.015
Manganeso (%Mn)	0.005	0.008	0.006	0.009	0.004	0.008
Azufre (%S)	0.12	0.17	0.22	0.14	0.44	0.21


Nota 1: Estos resultados son válidos únicamente para las muestras analizadas y reportadas por el laboratorio.

Nota 2: La suma de % Humedad, %Cenizas y %Materia Orgánica debe ser aproximadamente 100. Además, todos los parámetros, excepto la materia orgánica, están expresados en base húmeda.

Nota 3: En caso de ser copia del resultado original se realizará la siguiente aclaración. COPIA DE RESULTADO ORIGINAL.


Luz Yolanda Vargas Fiallo
 Directora Laboratorio Químico
 de Consultas Industriales
 Matrícula Profesional PQ.1144

LABORATORIO QUÍMICO DE SUELOS		CONVENIO GOBERNACIÓN DE SANTANDER - UIS										ANÁLISIS DE SUELOS: UN BENEFICIO MAYOR Y PRIORITARIO PARA EL CAMPO																	
 PROGRAMA DE SUELOS DIRECCIÓN: Carrera 27 Calle 9 Ciudad Universitaria Teléfono: 6344000 Ext. 2499 Bucaramanga - Santander del Sur		SECRETARÍA DE AGRICULTURA Y DESARROLLO RURAL Teléfonos: 6301966 Fax: 6300480 - 6339018 ESCUELA DE QUÍMICA - UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER										DÍA	MES	AÑO															
		VEREDA:										13	JULIO	2006															
MUNICIPIO:		Bucaramanga										Finca:																	
TELÉFONOS:		Santander										Cultivo: Lippia Alba																	
DIRECCIÓN:		ANÁLISIS SOLICITADOS										AZUFRE	CIC	CE															
TOPOGRAFÍA:												X	X																
RESULTADO DEL ANÁLISIS DE SUELOS																													
No. Orden	No. Lab.	pH Unidad	% C	P (ppm) Bray II	Ca	Mg	Na	K	Al	% Arena	% Limo	% Arcilla	TEXTURA	CIC meq/100g	CE mmhos/cm	S	B	Fe	Mn	Cu	Zn								
1	537	6,0	1,40	22	9,18	1,00	0,17	0,27	---	60	18	22	Franco-Arcilloarenoso	---	---	0,22	20,00	2,72	0,44	0,44	2,04								
2	538	6,3	0,10	13	8,45	1,12	0,17	0,38	---	60	18	22	Franco-Arcilloarenoso	---	---	0,33	12,00	1,32	0,36	0,36	2,00								
3	539	5,5	1,20	16	4,00	0,67	0,17	0,37	---	58	18	24	Franco-Arcilloarenoso	---	---	0,22	26,40	1,56	0,40	0,40	1,12								
4	540	5,2	1,20	7	3,35	0,54	0,15	0,18	0,40	60	14	26	Franco-Arcilloarenoso	---	---	0,17	22,00	0,84	0,16	0,16	0,72								
PARAMETROS														OBSERVACIONES															
pH: Potencial de Hidrógeno C: Carbono P: Fósforo disponible Ca, Mg, Na, K Al: Aluminio intercambiable % Textura B: Boro Fe, Mn, Cu, Zn S: Azufre CIC Capacidad Intercambio Catiónico CE: Conductividad Eléctrica														MÉTODO ANALÍTICO Electrométrico: Relación 1:1 Agua destilada Colorimétrico: Walkley Black K2Cr2O7-H2SO4 Colorimétrico: Bray II. HCl 0,1 N-NH4F 0,03 N Absorción Atómica: Extracción: Acetato de Amonio Valoración: Extracción KCl Bouyoucos: Agua destilada Colorimétrico: Extracción Fosfato Monocálcico Absorción Atómica: Extracción con DTPA Turbidimétrico: Extracción Fosfato Monocálcico Electrométrico: Extracción Acetato de Amonio Agua destilada								VoBo Muestra 1: Lab. N° 537 : Suelo B Muestra 2: Lab. N° 538 : Suelo C1 Muestra 3: Lab. N° 539 : Suelo C2 Muestra 4: Lab. N° 540 : Suelo C3							
														 JAIME H. CAMARGO HERNANDEZ Químico Mat. Prof. 0047															

LABORATORIO QUÍMICO DE SUELOS PROGRAMA DE SUELOS DIRECCIÓN: Carrera 27 Calle 9 Ciudad Universitaria Teléfono: 6344000 Ext. 2499 Bucaramanga - Santander del Sur		CONVENIO GOBERNACIÓN DE SANTANDER - UIS SECRETARÍA DE AGRICULTURA Y DESARROLLO RURAL Teléfonos: 6301966 Fax: 6300480 - 6339018 ESCUELA DE QUÍMICA - UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER				ANÁLISIS DE SUELOS: UN BENEFICIO MAYOR Y PRIORITARIO PARA EL CAMPO DIA: 15 MES: DICIEMBRE AÑO: 2006																																									
CLIENTE: Katherine Blanco DIRECCIÓN: GENIVAM TOPOGRAFÍA: Quebrado		MUNICIPIO: Bucaramanga DEPARTAMENTO: Santander ANÁLISIS SOLICITADOS: X		VEREDA: Cultivo: Lippia Alba AZUFRE: CIC CE		Finca: Cultivo: Lippia Alba AZUFRE: CIC CE																																									
RESULTADO DEL ANÁLISIS DE SUELOS																																															
No. Orden	No. Lab.	pH Unidad	% C	P (ppm) Bray II	Ca	Mg meq/100g suelo	Na	K	Al	% Arena	% Limo	% Arcilla	TEXTURA	CIC meq/100g	CE mmhos/cm	S	B	Fe (ppm)	Mn	Cu	Zn																										
102	1218	7,3	1,74	192	14,0	1,71	0,13	1,46	---	58	16	26	Franco-Arcilloarenoso	---	---	0,5	17,6	0,7	0,28	3,44																											
103	1219	5,7	0,64	24	3,23	0,71	0,08	0,64	---	54	20	26	Franco-Arcilloarenoso	---	---	0,19	12,7	0,20	N.D.	0,89																											
PARAMETROS pH: Potencial de Hidrógeno C: Carbono P: Fósforo disponible Ca, Mg, Na, K Al: Aluminio intercambiable % Textura B: Boro Fe, Mn, Cu, Zn S: Azufre CIC Capacidad Intercambio Catiónico CE: Conductividad Eléctrica																MÉTODO ANALÍTICO Electrométrico: Relación 1:1 Agua destilada Colorimétrico: Walkley Black K ₂ Cr ₂ O ₇ -H ₂ SO ₄ Colorimétrico: Bray II. HCl 0,1 N-NH ₄ F 0,03 N Absorción Atómica: Extracción: Acetato de Amonio Valoración: Extracción KCl Bouyoucos: Agua destilada Colorimétrico: Extracción Fosfato Monocálcico Absorción Atómica: Extracción con DTPA Turbidimétrico: Extracción Fosfato Monocálcico Extracción Acetato de Amonio Electrométrico: Agua destilada																OBSERVACIONES N.D.: No detectable a la mínima concentración detectada para el método															
																VoBo  JAIME H. CAMARGO HERNÁNDEZ Químico Mat. Prof. 0047																															

