



**REVISIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS Y PROPIEDADES
ANTIOXIDANTES DE EXTRACTOS DEL GÉNERO *MENTHA***

DIANA CAROLINA GARZÓN MOLINA

**UNIVERSIDAD NACIONAL ABIERTA Y A DISTANCIA
CEAD JOSÉ ACEVEDO Y GÓMEZ
QUÍMICA
BOGOTÁ, COLOMBIA
2019**

**REVISIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS Y PROPIEDADES ANTIOXIDANTES
DE EXTRACTOS DEL GÉNERO *MENTHA***

DIANA CAROLINA GARZÓN MOLINA

**Monografía presentada como requisito parcial para obtener el título de
Químico**

ASESOR:

Rafael Andrés Ramírez Alvarado MsC.

Línea de investigación:

Química de productos naturales

**UNIVERSIDAD NACIONAL ABIERTA Y A DISTANCIA
CEAD JOSÉ ACEVEDO Y GÓMEZ
QUÍMICA
BOGOTÁ, COLOMBIA
2019**

Resumen

Mediante este documento se actualiza el estado de arte sobre la actividad antioxidante del género *Mentha* desde una aproximación química. La revisión bibliográfica abarcará artículos originales Open Access publicados en bases de datos indexadas en los últimos 10 años en los idiomas español e inglés (ScienceDirect, Scopus, Google academics, Annual reviews, Academic Search Complete, ACS databases, Wiley). Se hará especial énfasis en las metodologías de extracción novedosas empleadas a nivel laboratorio e industrial para la obtención de extractos con actividad antioxidante de las especies de este género, así como en la fitoquímica relacionada a dicha actividad y aplicaciones.

Actualmente, diversas especies del género *Mentha* son cultivadas a nivel industrial debido a su aceite esencial y sus extractos, que tienen diversos usos en industrias variadas que van desde alimentos, pasando por la industria cosmética, hasta usos terapéuticos y medicinales, tanto en ámbitos tradicionales como en medicina de punta. Colombia, gracias a su variedad de climas y suelos, tiene un gran potencial para el cultivo agroindustrial de plantas aromáticas y su posterior refinación y transformación en productos con valor agregado.

Palabras clave: aceite esencial, capacidad antioxidante, oxidación, polifenoles, terpenos.

Abstract

This document updates the state of the art on the antioxidant activity of the genus *Mentha* from a chemical approach. The bibliographic review will include original Open Access articles published in databases indexed over the last 10 years in Spanish and English (ScienceDirect, Scopus, Google academics, Annual reviews, Academic Search Complete, ACS databases, Wiley). Special emphasis will be placed on novel extraction methodologies used at laboratory and industrial level to obtain extracts with antioxidant activity from species of this genus, as well as on the phytochemistry related to this activity and applications.

Currently, several species of the genus *Mentha* are cultivated at an industrial level due to their essential oil and extracts, which have typical Industrial applications such as food, cosmetics industry, and therapeutic and medicinal uses, both in traditional fields and in cutting-edge medicine. Colombia, thanks to its variety of climates and soils, has great potential for the agro-industrial cultivation of aromatic plants and their subsequent refining and transformation into value-added products.

Keywords: essential oil, polyphenols, terpenes, antioxidant capacity, oxidation

Contenido

Resumen	V
Abstract	VII
Contenido	IX
Lista de figuras	XI
Introducción	1
Introducción al género <i>Mentha</i>	6
Mercado global del género <i>Mentha</i>	8
Relación morfológica en la síntesis de aceites esenciales en el género <i>Mentha</i> ..	13
Biosíntesis de terpenos en el género <i>Mentha</i>	17
Formación del IPP	17
Isomerización del IPP	18
Generación de las estructuras básicas	19
Síntesis de estructuras finales	23
Obtención de aceites esenciales y extractos del género <i>Mentha</i>	25
Uso como antioxidante de extractos del género <i>Mentha</i>	29

Contenido

Clasificación de antioxidantes.....	30
Métodos de obtención de aceites esenciales y extractos	31
Actividad antioxidante en especies del género <i>Mentha</i>	35
Aplicaciones de la actividad antioxidante de extractos y aceites esenciales	39
Conclusiones.....	45
Recomendaciones.....	47
Referencias bibliográficas	49
Glosario	59

Lista de figuras

Fig. 1 Ilustración de <i>Mentha viridis</i> (Crispata) - Köhler–s Medizinal-Pflanzen	6
Fig. 2 Mercado global de aceites esenciales del género <i>Mentha</i>	9
Fig. 3. Principales países importadores de aceite esencial de especies del género <i>Mentha</i> en el año 2018.....	10
Fig. 4 Principales países importadores de aceite esencial de especies del género <i>Mentha</i> en el año 2018.....	11
Fig. 5 Diagrama esquemático de una glándula peltada en una hoja de <i>M. spicata</i>	15
Fig. 6 Esquema general de la primera etapa de síntesis de terpenos en el género <i>Mentha</i> . Adaptado de (Tholl, 2015)	18
Fig. 7 Esquema general de la segunda etapa de síntesis de terpenos en el género <i>Mentha</i> . Adaptado de (F. Chen et al., 2011)	19
Fig. 8. Esquema de la biosíntesis de la tercera etapa de síntesis de terpenos. Adaptado de (Markus Lange & Turner, 2013)	22

Introducción

La oxidación es un fenómeno de interés por sus efectos en diferentes campos de la ciencia y la industria. En la industria de alimentos, la oxidación es generalmente evitada debido a su efecto sobre los lípidos, alterando sus propiedades y generando productos que impactan negativamente el sabor y olor de los alimentos. Una situación similar sucede en el campo de la biología y la medicina, donde la oxidación ha sido responsabilizada de la aparición de diversas dolencias y enfermedades.

Sin embargo, no es posible eliminar totalmente los procesos de oxidación, pues su origen natural y en el caso de los procesos biológicos, cumplen un papel importante en la respiración celular, donde hacen parte los procesos de síntesis de moléculas energéticas claves para la vida en la tierra.

La comprensión de los procesos de oxidación permite disminuir su impacto cuando sea necesario. Una de las herramientas a mano para controlar la oxidación es el uso de sustancias capaces de prevenir, retrasar y finalizar las reacciones de oxidación, los llamados antioxidantes.

Muchos compuestos han sido propuestos y empleados como antioxidantes a lo largo de la historia, sin embargo, en las últimas décadas se ha observado un interés creciente en el uso de sustancias de origen natural como antioxidantes debido a los posibles efectos secundarios asociados al empleo de antioxidantes de origen sintético.

Una de las fuentes de antioxidantes ampliamente estudiadas han sido las especias y plantas aromáticas. El empleo de plantas aromáticas y especias como conservante data de varios siglos atrás, sin embargo, en el último siglo se ha

estudiado de manera sistemática los mecanismos y los compuestos que le otorgan dichas propiedades.

Una de las plantas aromáticas de mayor cultivo y comercialización son las especies pertenecientes al género *Mentha*. Gracias a sus características sensoriales, ha logrado un importante puesto entre los géneros más explotados en muchas industrias. Su explotación incluye su uso en fresco, así como la obtención de subproductos y derivados como aceites esenciales, extractos, pulverizados entre otros.

La aplicación de las especies del género *Mentha* son muy variadas, desde saborizantes en la industria de confitería y alimentos, pasando por el sector de la cosmética y aseo personal donde se emplea por su olor y sensación de frescura asociada al mentol, que es uno de los compuestos característicos de dicho género, hasta la industria química, que emplea múltiples metabolitos secundarios obtenidos y purificados de varias especies de menta para la síntesis de compuestos de mayor complejidad.

Una de las aplicaciones de más reciente investigación ha sido el uso de los extractos y aceites esenciales del género menta como sustituto parcial o total de los antioxidantes empleados de manera tradicional. Para determinar el potencial como antioxidante de este género, es necesario analizar la composición de los aceites esenciales y extractos en busca de compuestos o familias de compuestos con dicha actividad, así como los mecanismos para su biosíntesis con el fin de encontrar métodos para estimular su producción.

También es necesario realizar ensayos *in vitro* e *in vivo* para determinar la actividad antioxidante de dichos extractos y aceites esenciales en comparación a patrones empleados tradicionalmente en la caracterización de sustancias antioxidantes, así como su desempeño en condiciones reales comparando con sustancias empleadas actualmente en la industria e investigación.

Introducción

En la última década se han realizado avances de importancia en el estudio del género *Mentha*, incluyendo su aplicación potencial como antioxidante. Para comprender e interrelacionar los avances, es necesario resumirlos y estructurarlos de manera coherente, que es el fin de este estudio monográfico.



Introducción al género *Mentha*

El género *Mentha* (Fig. 1) es miembro de la tribu Mentheae, subfamilia Nepetoideae, familia Lamiaceae, orden Lamiales, clase Magnoliopsida, división Magnoliophyta, reino Plantae (Cruz, 2016). La taxonomía de este género cambia de manera continua debido a avances en análisis filogenéticos de morfología, número de cromosomas y los constituyentes mayores de sus aceites esenciales, actualmente se han clasificado cerca de 18 especies y 11 especies híbridas (Šarić-Kundalić *et al.*, 2009), separadas en cuatro secciones.

Fig. 1 Ilustración de *Mentha viridis* (*Crispata*) - Köhler's Medizinal-Pflanzen



Fuente: Wikimedia commons

Las plantas pertenecientes a este género alcanzan generalmente una altura aproximada de 120 cm, estolones tanto subterráneos como superficiales que les permiten invadir terrenos cercanos, llegando al punto de ser invasivas con otros cultivos. Sus hojas pueden ser de forma oblonga o lanceolada, ligeramente pubescentes y se disponen en pares opuestos simples y con margen dentado dependiendo de la especie. Sus flores en forma de espigas bilabiadas de cuatro

lóbulos pueden exhibir colores blanco o violeta (POWO, 2018). Son capaces de generar hasta cuatro semillas, pero en muchas especies estas semillas son estériles. La reproducción del género *Mentha* se puede realizar por propagación asexual de los estolones.

La clasificación del género *Mentha* se basa en la combinación de una serie de características en vez de un único factor. Las características son la presencia de más o menos cuatro estambres, filamentos desnudos, anteras diferentes y paralelas, cáliz actinomorfo con cuatro a cinco lóbulos y corola ligeramente bilabiada. Sin embargo, el análisis de secuencias *rbcL*, unido a análisis de DNA ribosomal, han dado nuevos elementos para redefinir las especies pertenecientes a este género (Jedrzejczyk & Rewers, 2018).

Se cree que la domesticación del género se dio en el mediterráneo y su introducción a otros ambientes comenzó probablemente con los romanos, que llevaron las primeras plantas a Inglaterra y a otras partes del imperio gracias a su agradable aroma y el sabor de sus infusiones (Peter, 2012).

Varias de las especies de *Mentha* actualmente se emplean como cultivos industriales debido a sus aceites esenciales. El mayor constituyente de estos aceites esenciales es el l-mentol, un alcohol monoterpenico monocíclico (Sahota, 2013). Por mucho tiempo, el aceite esencial obtenido de varias especies de mentas fue la única fuente de mentol para la síntesis y producción de derivados para diferentes industrias. El primer país productor de aceite esencial de *Mentha spicata* fue Japón en 1870, categoría que mantuvo hasta el inicio de la segunda guerra mundial. Posteriormente Brasil y otros países latinoamericanos comenzaron a proveer el mercado de aceites esenciales de menta, así como India y China, que iniciaron su cultivo en gran extensión en la década de los años 80 del siglo pasado (Bhattacharya, 2016).

Actualmente las especies de menta que más se cultivan para fines comerciales son *Mentha spicata*, conocida comúnmente como hierbabuena, *Mentha piperita* o menta común, *Mentha arvensis* o menta verde en los países anglosajones, *Mentha*

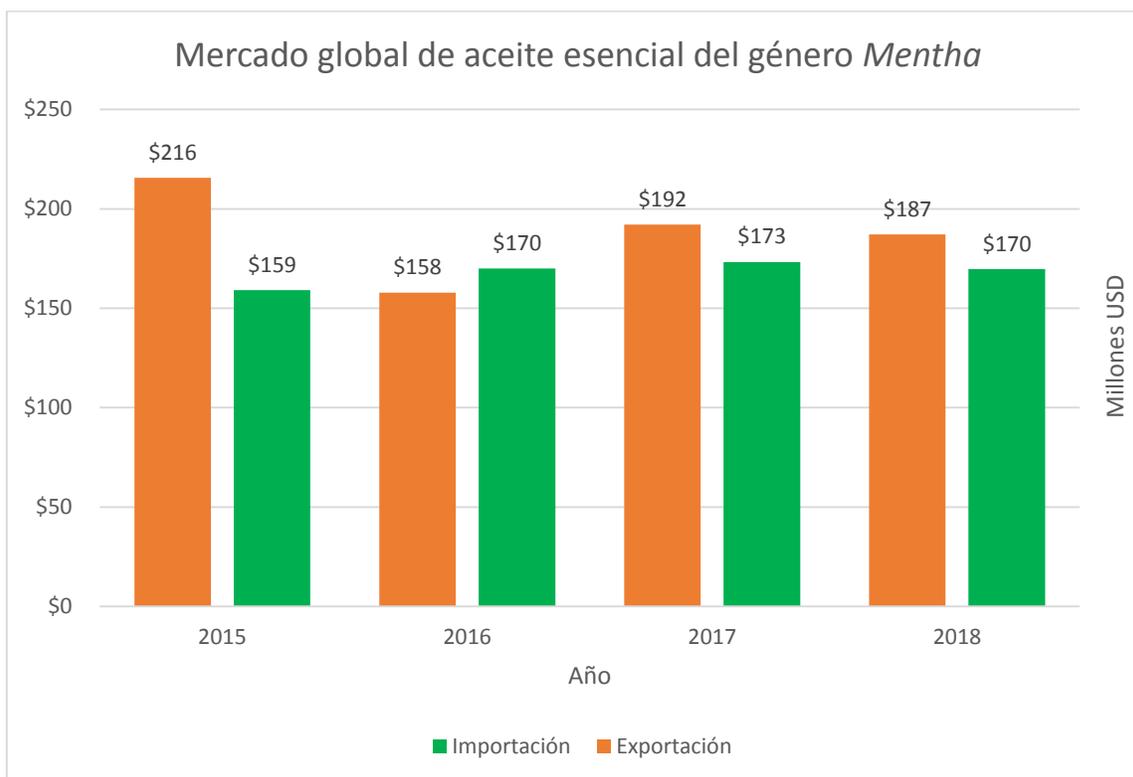
pulegium o pennyroyal y *Mentha requieni* o menta Corcega. Todas estas especies de menta se emplean en aplicaciones culinarias, industrias de alimentos, cosmética y productos de cuidado personal, así como en aromaterapia y medicina tradicional (Cook & Lanaras, 2016). Sus extractos también son empleados como materia prima para la síntesis de compuestos en química fina.

Mercado global del género *Mentha*

El mercado global de las especies del género *Mentha* se centran en sus subproductos, especialmente el aceite esencial, que es empleado en diversas industrias. Generalmente, la obtención del aceite esencial y otros subproductos se realiza en instalaciones dentro o cerca de los cultivos, empleando mano de obra local y con bajo nivel de tecnificación (Akbulut & Bayramoglu, 2013). Esta situación permite un mercado dinámico de aceite esencial “crudo” y un aceite esencial refinado. Además del aceite esencial, de diversas especies del género como *Mentha spicata* se puede obtener mentol de origen natural, el cual ha resurgido como ingrediente de origen natural empleado en cosmética y alimentos (Chermahini *et al.*, 2011).

Según datos de las Naciones Unidas, el mercado global de aceites esenciales del género *Mentha* es del orden de 150 a 200 millones de dólares anuales, con una ligera caída reportada en el año 2016. Como se puede observar en la Fig. 2, existe una ligera inclinación de la balanza comercial hacia la exportación de dichos aceites esenciales, con la notable excepción de los datos del año 2016. Este fenómeno se debe a que una parte del aceite esencial importado se procesa e incorpora a otros productos tanto de consumo interno como de exportación.

Fig. 2 Mercado global de aceites esenciales del género *Mentha*.



Fuente: *United Nations Commodity Trade Statistics Database (UN, 2019)* Gráfico: Autor

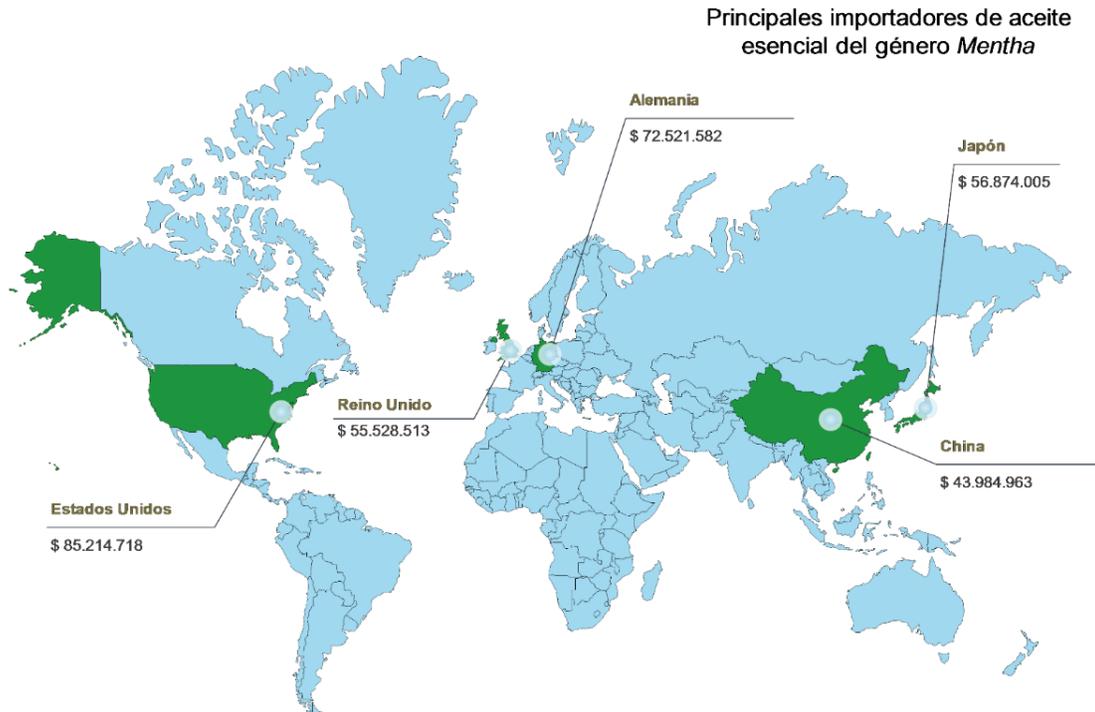
En las Fig. 3 y 4 se observan los principales países importadores y exportadores de aceite esencial derivado de especies del género *Mentha*. La lista de los importadores más grandes de aceite esencial está encabezada por los Estados Unidos, seguido de cerca por Alemania, la lista la complementan de lejos países como Gran Bretaña, China y Japón, todos estos países con una industria relacionada con la química fina bien desarrollada.

El valor de las exportaciones de aceite esencial se diferencia de las importaciones globales por cerca de un orden de magnitud, esto debido a que la mayoría de aceite exportado es refinado, es decir, aceite al cual se le ha extraído parte del mentol, este aceite tiene un mayor valor comercial que el aceite puro.

Este aceite esencial refinado se usa como materia prima en procesos de producción en perfumería, cosmética, alimentos y confitería. Una notable excepción a la regla es la India, el cual es el mayor exportador de aceites esenciales de especies de

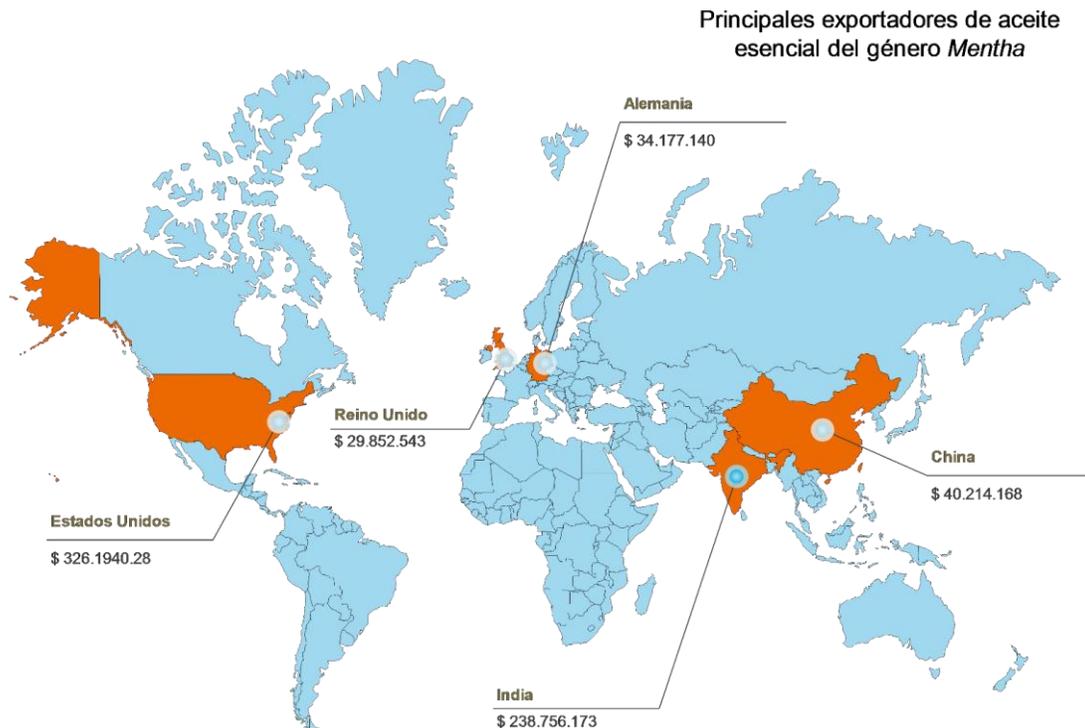
menta del mundo, pero la mayoría de dichos aceites esenciales no son refinados previamente, lo cual deja espacio para que otros países puedan refinar y aumentar el valor del aceite esencial y de sus productos derivados (Lawrence, 2011).

Fig. 3. Principales países importadores de aceite esencial de especies del género *Mentha* en el año 2018



Fuente: *United Nations Commodity Trade Statistics Database (UN, 2019)* Diseño: Autor

Fig. 4 Principales países exportadores de aceite esencial de especies del género *Mentha* en el año 2018



Fuente United Nations Commodity Trade Statistics Database (UN, 2019) Diseño: Autor

Los valores reportados corresponden a los cinco primeros países de cada lista, sin embargo, otros países como Sri Lanka, Paraguay, Brasil, Argentina, Marruecos y Francia entre otros, producen aceite esencial de diferentes especies del género *Mentha* como *M. arvensis*, *M. piperita*, *M. spicata* y *M. citrata*, los cuales se destinan tanto a consumo interno como a exportación (Cseke *et al.*, 2016).

La información sobre el área cultivada con especies de menta es limitada, el único país con un registro detallado del cultivo y aprovechamiento de esta especie es la India, donde se considera un *commodity* de importancia (Joshi, 2015). En otros países, al no tener dicho estatus, persiste un subregistro relacionado con el cultivo y explotación de las especies de este género, dificultando realizar un análisis del panorama económico de este.

En el caso de Colombia, la información disponible se encuentra mezclada con otras especies de plantas aromáticas que se producen en el país y son exportadas tanto en fresco como sus productos derivados, aunque el ministerio de agricultura ha reportado un crecimiento en el cultivo tecnificado de plantas aromáticas y especias del orden de 21% a 2017, y con tendencia a mantener dicho ritmo en los años subsecuentes (Vega, 2018).

Un importante porcentaje del mercado interno de plantas aromáticas en el país aún se comercializa en plazas de mercado de pueblos y ciudades, donde los campesinos llevan pequeñas cantidades de plantas aromáticas que cosechan en sus parcelas o recogen en zonas boscosas para su venta a intermediarios que las almacenan a condiciones ambientales hasta su venta (Ortiz-Rojas, 2016).

Relación morfológica en la síntesis de aceites esenciales en el género *Mentha*

Los aceites esenciales son sustancias lipofílicas que se producen en tejidos especializados llamados tricomas glandulares, por esta razón, la presencia y conformación de estos tricomas glandulares juegan un papel de importancia en el potencial económico de las especies vegetales a la luz de producción de extractos y aceites esenciales a nivel industrial (Ali *et al.*, 2015).

En diferentes estudios se ha identificado la presencia de tricomas glandulares en diferentes especies del género *Mentha*, siendo encontrados principalmente en las superficies de hojas y tallos. Se han encontrado dos tipos de tricomas glandulares en estudios sobre distintas especies del género *Mentha*: tricomas glandulares capitados, de tamaño pequeño y con una célula secretora única; y tricomas glandulares peltados, con un conjunto apical de ocho células secretoras, sostenidas por un tallo y una célula basal que se encuentra embebida entre la células epidermales ordinarias del tejido (Tiwari, 2016).

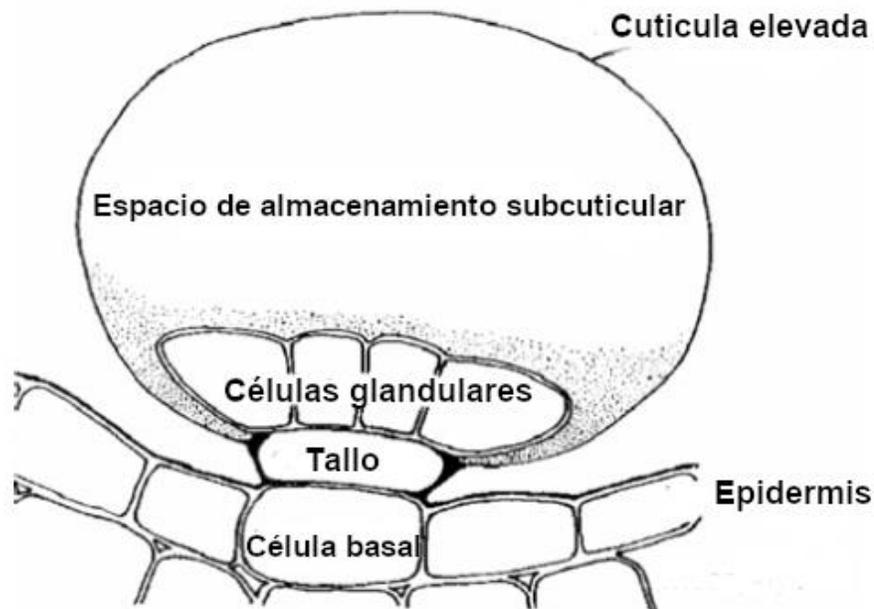
Los tricomas peltados están envueltos por una vaina que acumula el aceite esencial, mientras que los tricomas capitados tienen una capacidad de almacenamiento limitada, y su secreción es excretada a través de una cutícula porosa y consiste en una mezcla compleja de carbohidratos, lípidos y proteínas. Diferentes estudios han confirmado que los tricomas glandulares peltados son los responsables de la mayoría de la producción de monoterpenos en especies de *Mentha* como por ejemplo *Mentha piperita* (Bishr & Salama, 2018).

Se ha determinado que el desarrollo de estos tricomas depende de la edad de la hoja, siendo escasos en hojas jóvenes y aumentan en número a medida que la hoja crece, con una distribución no uniforme en su superficie (Ahkami *et al.*, 2015). También se ha reportado que la posición del tricoma influye en la producción de algunos compuestos en específico, aunque sin depender del tamaño de la hoja. Los tricomas crecen de manera constante a lo largo de la vida del tejido y los tricomas antiguos conviven con los nuevos en las mismas regiones, encontrándose en una zona determinada estructuras de diferentes edades (Yu *et al.*, 2018).

Al observarse la superficie de la hoja bajo el microscopio, el desarrollo de las glándulas peltadas se puede describir inicialmente como protuberancias epidermales que se dividen asimétricamente para producir una célula basal vacuolada, una célula tallo y una célula apical citoplásmica. Posteriores divisiones de la célula apical producen el tricoma peltado con una célula basal, una célula tallo y ocho células glandulares como se puede observar en el diagrama de la Fig. 5 (Ahkami *et al.*, 2015).

El inicio de la fase secretora sucede cuando se observa la separación del espacio de almacenamiento subcuticular y la maduración se alcanza cuando los leucoplastos de las células glandulares inician la biosíntesis de monoterpenos y se generan retículos endoplásmicos extensos donde se producen las etapas de hidroxilación de la ruta biosintética de terpenos (Qi *et al.*, 2018).

Fig. 5 Diagrama esquemático de una glándula peltada en una hoja de *M. spicata*



FUENTE: (AHKAMI ET AL., 2015). TRADUCCIÓN Y ADAPTACIÓN: AUTOR

Otras estructuras celulares también intervienen en la producción de aceite esencial en el género *Mentha*. Se ha encontrado que las primeras etapas de biosíntesis de monoterpenos ocurren en los plastidos, donde la sintasa (4 S) Limoneno es producida de manera exclusiva aparentemente (Johnson *et al.*, 2017). Las siguientes etapas del metabolismo de monoterpenos en el género *Mentha* ocurren fuera de los leucoplastos de las células glandulares.

La correlación entre la producción de aceite esencial y estas estructuras, no solo en el género *Mentha*, sino en muchas especies de plantas aromáticas, es de gran valor para disciplinas como la ingeniería biológica con el fin de desarrollar técnicas que estimulen el crecimiento de dichas estructuras glandulares con el objetivo de aumentar el rendimiento de producción, así como favorecer la producción de compuestos específicos o familias de compuestos para su explotación industrial, e inclusive, la producción de nuevos compuestos que le brinden a la planta herramienta para la defensa frente a plagas y enfermedades (Caspi *et al.*, 2015).

Existen factores que afectan el desarrollo de estas estructuras celulares y su funcionamiento, y, por ende, la producción y composición del aceite esencial producido. De manera general los factores que pueden afectar el rendimiento de síntesis de aceite esencial son: disponibilidad de agua en el terreno, presencia de macro y micronutrientes en el suelo, cantidad de horas de radiación solar, características de la radiación incidente en la planta, presencia de plagas e insectos y el uso de abonos en el cultivo (Rodrigues *et al.*, 2013). La mayoría de las especies del género *Mentha* han mostrado una alta sensibilidad a uno o más de los factores antes mencionados, que, a largo plazo, pueden incidir sobre la capacidad y actividad antioxidante de los extractos obtenidos a partir de dichas plantas.

Biosíntesis de terpenos en el género *Mentha*

La biosíntesis de monoterpenos en especies del género *Mentha* se pueden dividir en cuatro etapas: la primera etapa envuelve la síntesis de difosfato isopentenilo (IPP – isopentenyl difosfato). La segunda etapa es la formación de difosfatos prenil alílicos a partir del IPP, que son intermediarios en la síntesis de diversas familias de isoprenoides. La tercera etapa es la conversión de los difosfatos alílicos en las estructuras base de diferentes isoprenoides a través de enzimas sintasas específicas y la cuarta etapa incluye las transformaciones secundarias que sufren estos compuestos por estas mismas enzimas sintasas u otras (L. Yang et al., 2016).

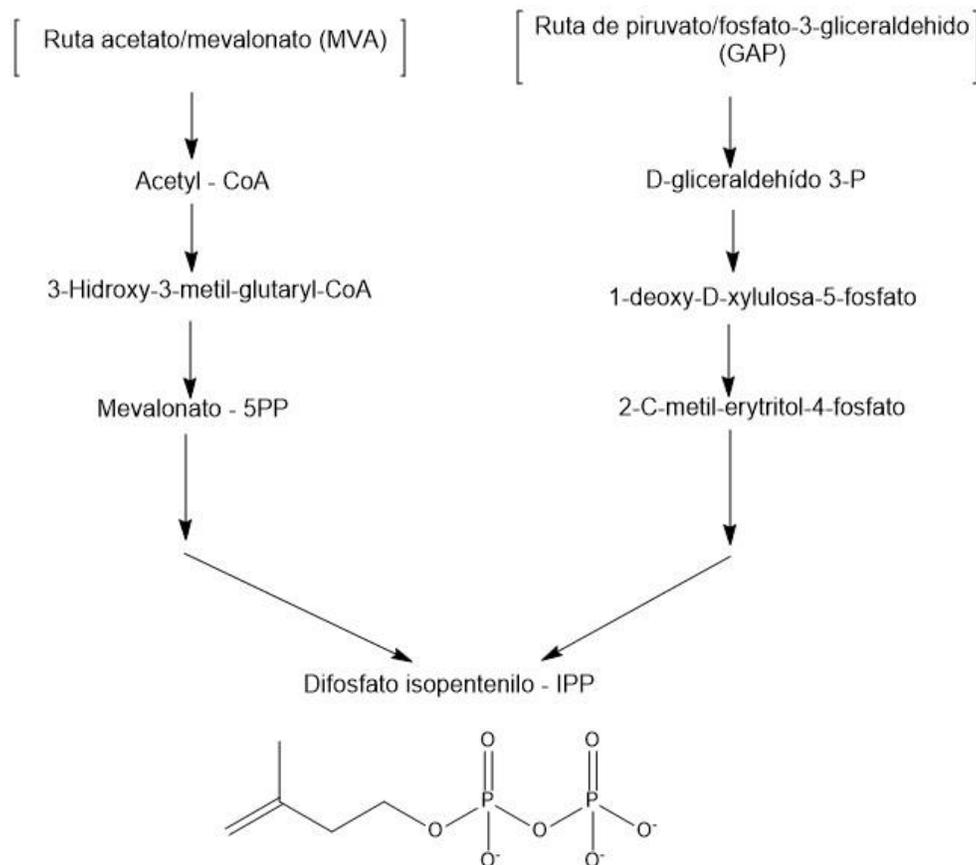
Formación del IPP

La primera etapa es la formación del precursor central de cinco carbonos del metabolismo de los isoprenoides, el difosfato isopentenilo o IPP por sus siglas en inglés. El IPP puede ser producido por dos vías distintas en dos estructuras celulares diferentes; en el compartimiento citosólico a través de la ruta acetato/mevalonato y en los plastidos, donde se emplea la ruta de piruvato/fosfato-3-gliceraldehido (GAP) (Naoumkina *et al.*, 2010). En estudios realizados en *Mentha piperita* y *Mentha pulegium* empleando nutrientes radiomarcados para determinar rutas metabólicas se determinó que compuestos como mentona y pulegona **se sintetizan preferiblemente a partir de IPP formado en los plastidos a través de la ruta piruvato/GAP** (El-Kashoury *et al.*, 2012).

La etapa inicial de la ruta piruvato/GAP consiste en la condensación de piruvato y GAP a través de una enzima transcetolasa produciendo 1-deoxy-D-xilulosa-5-fosfato. Posteriormente, este compuesto sufre un rearrreglo y reducción generando

2-C-metil-erytritol-4-fosfato, catalizado por la enzima DXP reductoisomerasa (Fig. 6). Las etapas subsecuentes para la obtención del IPP no han sido confirmadas totalmente, pero probablemente involucran dos etapas más de reducción y deshidratación y una etapa final de fosforilación (Vanhercke *et al.*, 2017).

Fig. 6 Esquema general de la primera etapa de síntesis de terpenos en el género *Mentha*. Adaptado de (Tholl, 2015)

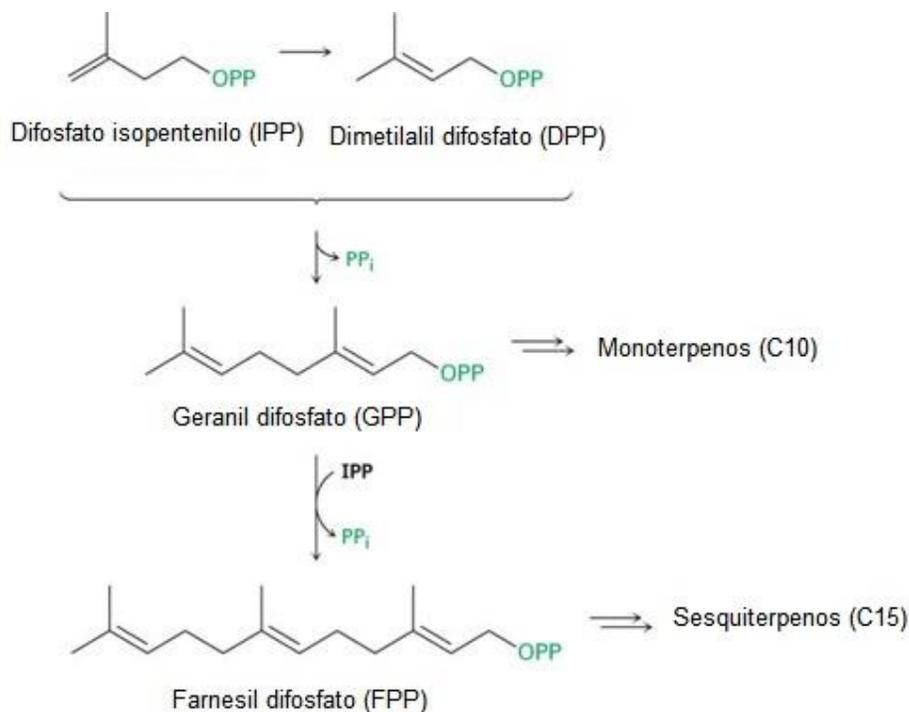


Isomerización del IPP

La segunda etapa comienza con la isomerización del IPP formando dimetilalil difosfato (DPP) a través de isopentil difosfato isomerasa (Fig. 7) . El DPP es altamente reactivo y tiende a oligomerizarse agregando subsecuentemente una, dos o tres moléculas de IPP para formar geranil difosfato (GPP), farnesil difosfato (FPP) o geranil-geranil difosfato (GGPP) (Lange & Ahkami, 2013). El geranil

difosfato es el precursor de los monoterpenos a través de la acción de la GPP sintasa, que es una enzima específica preniltransferasa abundante en plantas productoras de monoterpenos como las empleadas para la obtención de aceites esenciales (F. Chen *et al.*, 2011).

Fig. 7 Esquema general de la segunda etapa de síntesis de terpenos en el género *Mentha*. Adaptado de (F. Chen *et al.*, 2011)



Generación de las estructuras básicas

La ciclización del GPP ocurre en la tercera etapa de síntesis y genera las distintas estructuras base de diversas clases de monoterpenos gracias a la acción de enzimas ciclasas y sintasas, que se encargan de la ionización secuencial e isomerización del GPP a pirofosfato linalil (LPP) y su posterior cierre como se puede observar en la Fig. 9. Las distintas enzimas generan rutas propias para la síntesis de distintos compuestos, diferenciándose unas de las otras en pequeños detalles y se han identificado cerca de 50 enzimas en esta etapa. La fase de isomerización en esta tercera etapa de síntesis juega un papel clave en la posterior ciclización de las

estructuras debido a la presencia de un doble enlace trans-2-3 en el GPP que previene la ciclización directa (Oldfield & Lin, 2012).

La etapa inicial de ciclización es la generación del catión α -terpenil en todas las enzimas, y a partir de aquí difieren los mecanismos de producción dependiendo de cada enzima. Se ha reportado que algunas de las enzimas identificadas son capaces de producir varias estructuras como en el caso de la limoneno sintasa, que aparte del limoneno, produce pequeñas cantidades de α - pineno, β -pineno y mirceno (Maffei, 2010).

Una característica del género *Mentha* es la producción de monoterpenos acíclicos, que no son tan comunes en otras especies de plantas aromáticas (Mendoza-Poudereux *et al.*, 2014). Entre los monoterpenos acíclicos se pueden citar geraniol, nerol y linalool, así como el mirceno y los ocimenos (Fig. 8), aunque solo algunas especies y subespecies los acumulan hasta significar más del 30% del aceite esencial de dichas plantas (Schewe *et al.*, 2011). La presencia de estos compuestos puede deberse a una limitada capacidad de procesamiento por parte de las enzimas responsables de la ciclización, que hace que el GPP excedente se hidrolice, metabolizando el geraniol a través de conjugación o reducción. El nerol se produce probablemente a través del citral a través de una transformación redox, además, se han identificado enzimas capaces de catalizar la isomerización de geraniol fosfato y geranil fosfato a nerol y neril fosfato (Zebec *et al.*, 2016).

Fig. 8. Estructura de algunos monoterpenos acíclicos encontrados en el género *Mentha*

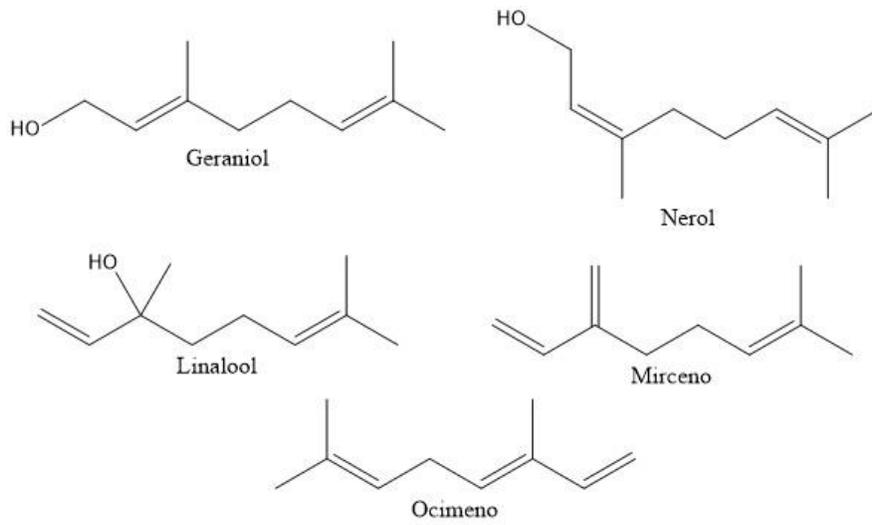
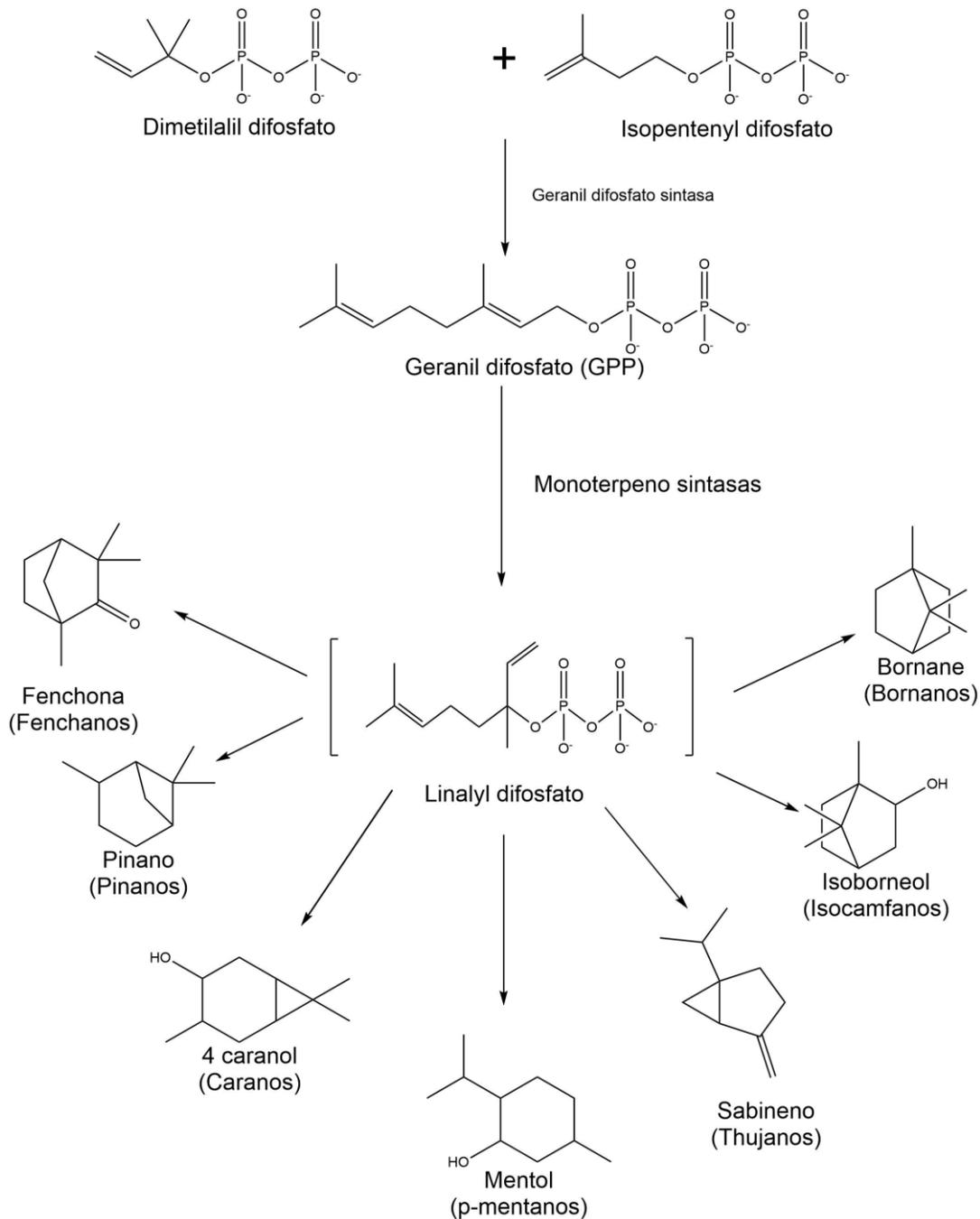


Fig. 9. Esquema de la biosíntesis de la tercera etapa de síntesis de terpenos. Adaptado de (Markus Lange & Turner, 2013)



Síntesis de estructuras finales

Las transformaciones secundarias de los compuestos generados en la tercera etapa son englobadas en la última etapa de biosíntesis, aunque sus mecanismos son muy diversos. Entre los mecanismos reportados se pueden encontrar hidroxilaciones, reacciones redox, migraciones de doble enlace y conjugaciones como glicosilaciones y acilaciones (Lussier *et al.*, 2012).

La biosíntesis del *p*-mentano es uno de los mecanismos más estudiados en el género *Mentha*. Los aceites esenciales obtenidos de plantas de este género se pueden distinguir por la posición de la oxigenación en el anillo del mentano y subsecuentemente, de sus derivados como (-)-carvona, (-)-mentona y (-)-mentol (Du *et al.*, 2014). A su vez, el (-)-4*s*-limoneno es hidroxilado en la posición del tercer carbono para producir (-)-trans-isopiperitenol y algunas especies producen casi exclusivamente monoterpenos con un grupo oxígeno en el tercer carbono como (-)-mentol. Otro caso interesante es la hidroxilación en el C₆ para generar (-)-trans-carveol y derivados oxigenados de este como (-)-carvona, que es el compuesto responsable de las características sensoriales únicas de la hierbabuena (*Mentha spicata*) (Almeida *et al.*, 2012).

Las anteriores transformaciones se deben a la acción de enzimas oxigenasas regio y estereoespecíficas del citocromo p450, que también se encuentran en otras especies siendo responsables de productos altamente específicos de una o varias especies de un mismo género como en los casos del alcohol perillílico y la familia de los derivados del thujano (1-isopropyl-4-methylbicyclo[3.1.0] hexane) (Bascope & Alejo, 2010).

La presencia de las enzimas (-)-limoneo-6-hidroxilasa o (-)-limoneo-3-hidroxilasa es un factor crítico para los aceites esenciales de las especies del género *Mentha*, ya que determinan si el extracto obtenido es de tipo menta tradicional o hierbabuena, debido al patrón de oxigenación ocasionado por alguna de las enzimas en el *p*-mentano determina el metabolismo subsecuente de este sustrato. Por ejemplo, en

Mentha spicata, el (-)-*trans*-carveol se oxida a (-)-carvona, el principal monoterpeno producido por esta especie, a su vez generando pequeñas cantidades de dihidrocarvonas y dihidrocarveoles (Chauhan *et al.*, 2010).

El amplio número de enzimas que actúan en esta etapa generan un gran número de rutas metabólicas que se solapan y contraponen entre si según los sustratos disponibles, lo cual ha sido comprobado inoculando intermediarios en cultivos de tejidos vegetales de este género (K. Yang *et al.*, 2015). A pesar de esto, la mayoría de las enzimas identificadas en el género *Mentha* comparten estructuras similares y, por lo tanto, mecanismos similares de acción, al igual de cinéticas de reacción parecidas, las cuales se ha encontrado que no afectan de manera sustancial la producción de algún compuesto en la planta (Amiri *et al.*, 2016).

Obtención de aceites esenciales y extractos del género *Mentha*

El aceite esencial de las diferentes especies de *Mentha* se obtienen a través de destilación con arrastre de vapor. Esta es una técnica para la obtención de compuestos volátiles a partir de materias primas ricas en ellos, y el producto condensado de estos volátiles recibe el nombre de aceite esencial (Gavahian & Chu, 2018). Esta técnica se ha empleado desde hace varios siglos para la obtención de diferentes aceites esenciales, desde el aceite esencial de rosa, hasta el aceite esencial de canela, rico en cinamaldehído y ácido cinámico.

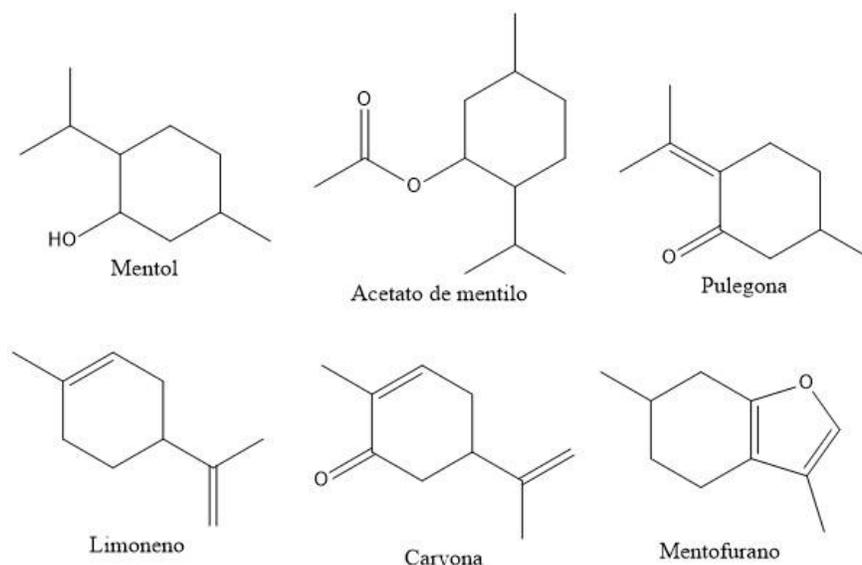
El funcionamiento de la extracción con arrastre con vapor consiste en hacer pasar vapor a través del material de interés, el cual arrastra las moléculas de los compuestos volátiles, posteriormente la mezcla vapor-volátiles es conducida a un condensador donde tanto el vapor de agua como los volátiles pasan a estado líquido. Debido a que los componentes del aceite esencial son en su mayoría hidrófobos, la mezcla que se obtiene del condensador se separa en dos fases, generalmente esta mezcla es recibida en un recipiente diseñado para la fácil separación de estas dos fases, la fase orgánica es el aceite esencial, mientras que la fase líquida recibe el nombre de hidrosol, ya que es mayoritariamente agua con algunos compuestos polares obtenidos y pequeñas cantidades de compuestos orgánicos (Mulvaney, 2012).

Este hidrosol es de interés en algunas industrias debido a sus características sensoriales y la presencia de algunos compuestos que son minoritarios en el aceite esencial, pero su concentración es mayor en el hidrosol (Verma *et al.*, 2016).

Se ha reportado que el contenido de aceite esencial en especies como *M. arvensis* es mayor en la etapa de floración (Tiwari, 2016). Si el objetivo es la obtención de mentol cristalino, el aceite esencial se somete a una destilación fraccionada donde se obtiene una fracción rica en terpenos, de interés para la industria cosmética, y una fracción libre de terpenos, que se somete a enfriamiento y centrifugación para la separación de los cristales de mentol. La fracción restante se comercializa para diversas aplicaciones y los cristales de mentol se secan y se comercializan (Muhammad *et al.*, 2010).

La composición química de las especies de menta generalmente comprende más de 200 compuestos diferentes, que también dependen de factores externos como las condiciones climáticas y de cultivo, ubicación geográfica (Upadhyay *et al.*, 2014), así como el método de obtención del extracto o aceite esencial. Entre los compuestos encontrados más comúnmente reportados están mentol, neo-mentol, acetato de mentilo, limoneno, carvona, mentona, isomentona, piperitona, p-cimeno, decanol, oxido de piperitona, linalool, acetato de linalilo, pulegona, mentofurano entre otros. Algunos de estos compuestos se emplean como marcadores químicos de algunas especies de *Mentha* (Bean *et al.*, 2015).

Fig. 10. Estructura de algunos compuestos comúnmente reportados en especies del género *Mentha*



Los principales usos de los aceites esenciales obtenidos del género *Mentha* son el cosmético y farmacéutico, debido a sus propiedades refrescantes, antiinflamatorios y calmantes. Se emplea como saborizante en productos de aseo oral y las fracciones de aceite libres de mentol se emplean en la confección de dulces y gomas de mascar (Lubbe & Verpoorte, 2011). También se emplea como ingrediente en productos como shampoo, perfumes y cremas. En medicina se emplea como parte de cremas especializadas para dolores musculares y ungüentos para controlar la piquiña producida por picaduras de insectos y quemaduras, y en infusiones para mejorar el movimiento intestinal y estimular la producción de bilis (Barata *et al.*, 2016).

Usos más específicos incluye su empleo como insecticida para el control de plagas que afectan a granos almacenados y vectores responsables de la transmisión de diversas enfermedades, así como efectos citotóxicos en células cancerígenas (Sharma *et al.*, 2014). El mentol derivado de los aceites esenciales se emplea como agente quirál auxiliar en síntesis orgánica y además se pueden refinar otros compuestos de valor agregado como cis-3-hexenol, 3-octanol, L-limoneno, de interés particular en la industria química (Božović *et al.*, 2015).

También es posible obtener otros extractos a partir de especies del género *Mentha*, como extractos alcohólicos, concretos (extractos alcohólicos a los cuales se les ha retirado el solvente), extractos por *enfleurage*, aceites vírgenes por presión, entre otros. Sin embargo, el contenido significativo de aceite esencial de la mayoría de las especies del género *Mentha* hace que el uso de estas técnicas de extracción a nivel industrial poco atractivo y se emplean mayoritariamente en aplicaciones específicas o a nivel laboratorio con propósitos investigativos (Alexa *et al.*, 2018).

En la actualidad, buscando disminuir el impacto de la aplicación de altas temperaturas en algunos compuestos termosensibles que pueden ser obtenidos, se utilizan técnicas de extracción alternativas como la destilación con arrastre con vapor a presión reducida, extracción con microondas, infrarrojo, fluidos a alta presión y supercríticos entre otros (Moraes *et al.*, 2013). Estas técnicas pueden mejorar tanto el rendimiento de extracción como el perfil de los extractos obtenidos,

pero, debido a limitaciones prácticas, así como su costo de implementación a escala industrial, hacen que el uso de estas técnicas modernas se limite al laboratorio y a la obtención de compuestos de alto valor, por lo tanto, la técnica de extracción con arrastre de vapor sigue siendo la más empleada a nivel industrial para la obtención de aceites esenciales.

Uso como antioxidante de extractos del género *Mentha*

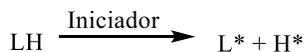
La oxidación es un fenómeno presente en muchos sistemas químicos y biológicos y activando procesos degradativos que alteran las propiedades de dichos sistemas. La oxidación afecta diversos sistemas desde polímeros hasta matrices alimenticias, pasando por sistemas biológicos, lo que demuestra que es un problema inherente a muchos campos de la ciencia y la industria (Sies, 2015). A pesar de que los efectos pueden depender del tipo de sistema analizado, los mecanismos involucrados son similares en todos los casos.

La oxidación inicia con la generación de radicales libres en el sistema, que pueden ser causados por agentes externos o internos del sistema como por ejemplo radiación ultravioleta, estrés térmico, compuestos químicos entre otros.

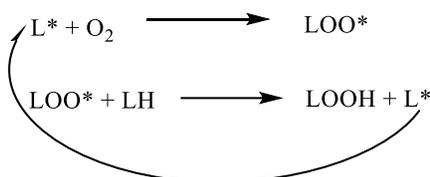
Posteriormente, los radicales libres generados atacan otras sustancias susceptibles de oxidación, generando otros radicales libres en una reacción en cadena, lo que involucra una gran cantidad de reacciones entre los sustratos y los radicales libres. Finalmente, a medida que el sustrato disponible se agota, los radicales libres reaccionan entre sí generando especies no reactivas, finalizando el proceso de oxidación (Bekhit *et al.*, 2013).

Fig. 11. Esquema general del proceso de oxidación. Adaptado de (Ortiz-Rojas, 2016)

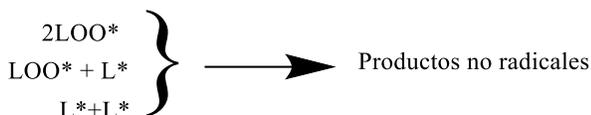
Iniciación:



Propagación:



Terminación:



Los efectos de la oxidación son variados, por ejemplo, en el caso de polímeros, estos pierden propiedades mecánicas, tornándose quebradizos y frágiles. En alimentos pueden desencadenar la generación de sabores y olores indeseados, pérdida de calidad nutricional, alteración de propiedades fisicoquímicas e inclusive la generación de compuestos tóxicos (Barriuso *et al.*, 2013). En el caso de sistemas biológicos, se puede observar la degradación de células y tejidos, aparición de enfermedades degenerativas entre otros.

Es necesario tener en cuenta que, a pesar de los efectos adversos de los radicales libres, estos compuestos son vitales para la vida, ya que hacen parte de los procesos de respiración celular, responsables de la generación de moléculas de ATP necesarios para otros procesos biológicos, por lo tanto, tienen un papel fundamental para el desarrollo de la vida como la conocemos.

Clasificación de antioxidantes

Existen diversas maneras de clasificar a las sustancias con actividad antioxidante. Una clasificación se basa en el mecanismo de defensa observado en el antioxidante, lo que genera tres clases de antioxidantes (Papuc *et al.*, 2017). La

primera clase son los inhibidores o cazadores de radicales libres, entre los cuales se pueden mencionar compuestos como BHA (Butil hidroxianisol), BHT (Butil Hidroxitolueno), TBHQ (tertbutil hidroquinona) entre otros. Los compuestos mencionados son los antioxidantes sintéticos más empleados a nivel industrial en la actualidad.

La segunda clase de antioxidantes según esta clasificación son los inhibidores de oxígeno, cuyos radicales libres son altamente reactivos y se forman rápidamente en diferentes sistemas. Entre los compuestos de esta clase se pueden encontrar al ácido ascórbico, ácido eritórbico, sales del ácido ascórbico, sulfitos, bisulfitos entre otros.

Por último, se encuentran los llamados agentes quelantes, que se emplean para eliminar los iones metálicos que actúan como catalizadores en la generación de radicales libres. Algunos agentes quelantes empleados en diferentes industrias son ácido cítrico, EDTA (ácido etilendiaminotetra-acético) y fosfatos.

Los aceites esenciales y extractos de plantas aromáticas pueden ser clasificados en la primera clase de antioxidantes debido a la presencia de diferentes familias de compuestos que son capaces de donar un átomo de hidrógeno para estabilizar los radicales libres sin perder su estabilidad (Hay *et al.*, 2018).

Métodos de obtención de aceites esenciales y extractos

Al ser uno de los géneros más empleados desde tiempos ancestrales, el género *Mentha* ha sido ampliamente investigado con el fin de determinar sus propiedades y posibles aplicaciones en campos como química fina, industria de alimentos y cosméticos y el área de la salud.

Se han atribuido muchas propiedades y aplicaciones a los extractos y aceites esenciales de este género gracias a estudios *in vitro* e *in vivo*. Entre las principales aplicaciones se pueden enumerar su actividad antioxidante en diversos sistemas, actividad antibacteriana, antivírica y antialérgica, de interés para la industria de cosméticos y aseo personal, actividad antitumoral e inmunomodulativa, útil para

combatir diversos tipos de cáncer y tratar condiciones del sistema inmune, entre muchos otros (Hay et al., 2018).

Todos los estudios analizados coinciden que existen diferentes factores que impactan de manera positiva o negativa a las diferentes propiedades y capacidades de los extractos. Algunos ya han sido mencionados como por ejemplo los factores medio ambientales, que influyen sobre la composición y rendimiento de los extractos obtenidos, generando un efecto directo sobre la posible actividad de dichos extractos.

Un método utilizado tanto en investigación como en la industria es la extracción con solventes. Dependiendo de las características de polaridad y solubilidad de un solvente, es posible obtener extractos diferenciados a partir de una misma matriz. Para el uso de dichos extractos en productos para el consumo humano y animal, es necesario que el solvente a emplear sea GRAS (Generally Recognized as Safe) para que su empleo no implique riesgos para el consumidor final.

Esta técnica tiene como ventaja que es capaz de obtener extractos ricos en compuestos sensibles a la temperatura y de peso molecular moderadamente alto, como antocianinas, flavonoides y polifenoles, los cuales tienen actividad antioxidante comprobada. La principal desventaja de esta técnica de extracción es el costo asociado al solvente a emplear y su recuperación, ya que el solvente debe cumplir con características técnicas específicas para su empleo en industrias como alimentos, cosméticos y farmacéutica, lo que eleva su costo (Fatiha *et al.*, 2012).

Un método de extracción que aún es considerado novedoso pero que se emplea cada vez más en laboratorio e industria es el uso de fluidos supercríticos o a alta presión (Andri Cahyo & Masitah, 2012). Un fluido supercrítico es una sustancia que se encuentra a condiciones de presión y temperatura más allá de su punto crítico, un ejemplo clásico es el dióxido de carbono, cuyo punto crítico es 73.8 bar y 31°C, lo que lo hace ideal como solvente para esta técnica.

Esta técnica es recomendable para la obtención de extracto a partir de muestras sensibles a la temperatura, su rendimiento es bueno en comparación a técnicas tradicionales y es capaz de obtener extractos ricos en compuestos como flavonoides, polifenoles y carotenoides. Debido a la descompresión del gas, no queda ningún rastro de solvente en el extracto, una gran ventaja si se compara con la extracción con solventes (Fornari *et al.*, 2012).

La principal desventaja es el costo inicial de los equipos necesarios para esta técnica, ya que se necesitan extractores, válvulas y líneas que puedan soportar las presiones empleadas. Igualmente es necesario el uso de una bomba de membrana para la inyección y presión del fluido hasta las condiciones requeridas por la extracción. El costo de una instalación de extracción con fluidos supercríticos se amortiza a lo largo de un periodo de tiempo considerablemente largo, pero su vida útil generalmente es mayor que dicho tiempo, haciendo que la inversión sea rentable a mediano – largo plazo (Shariaty-Niassar *et al.*, 2009).

Desde un punto de vista químico, la principal desventaja de esta técnica es la obtención de extractos con una gran cantidad de compuestos, los cuales pueden generar un efecto prooxidante indeseado. Se ha determinado que la presencia de clorofilas en extractos obtenidos con fluidos supercríticos es capaz de promover la oxidación de sustratos como lípidos en condiciones de almacenamiento. Para controlar la presencia de la clorofilas es necesario determinar el conjunto de variables presión – temperatura – tiempo de extracción ideal que minimice su presencia, al igual que un constante control de calidad de los extractos obtenidos (Sovová & Stateva, 2011).

Pero no solo las clorofilas pueden representar un problema para la aplicación de los extractos obtenidos, la extracción involuntaria de pesticidas, herbicidas y fitotoxinas es un factor para tener en cuenta al momento de elegir esta técnica como método para la obtención de extractos destinados a ser empleados en productos de consumo.

También es posible la extracción de metales pesados que a través del metabolismo de la planta se acumularon en sus tejidos, aumentando de manera exponencial su peligrosidad al estar en una mayor concentración (Andri Cahyo & Masitah, 2012).

Otro método de extracción empleado para la obtención de extractos de diversas especies del género *Mentha* es la extracción asistida con microondas, que consiste en el uso de este tipo de radiación para el calentamiento de la muestra y la obtención del extracto. En diferentes estudios se ha demostrado que, en comparación a técnicas tradicionales como destilación o hidrodestilación, la extracción asistida con microondas tiene un rendimiento mayor, al igual que un menor tiempo de procesamiento y mayor selectividad (Filly *et al.*, 2014).

Se han desarrollado muchas variantes de esta técnica de extracción, creándose técnicas híbridas entre esta técnica y métodos tradicionales como la extracción con solventes o la destilación a baja presión, aumentando su eficiencia. Su principal ventaja es el calentamiento casi instantáneo y homogéneo de la muestra, lo que evita la aparición de puntos calientes que degraden la materia prima y afecte la calidad del extracto y una menor cantidad de solvente en caso de ser empleado en comparación a una extracción con solvente tradicional. Además, es considerada una técnica mucho más sencilla, económica y de fácil operación si se compara con la extracción con fluidos supercríticos (Cardoso-Ugarte *et al.*, 2013).

Su principal desventaja radica en la limitación de la aplicación de radiación microondas a grandes volúmenes de materia prima, pues el costo de los magnetrones responsables de la generación de las microondas aumenta de manera exponencial al aumentar su tamaño. Además, es necesario tener en cuenta medidas de seguridad para el uso de este tipo de radiación, ya que pueden afectar el funcionamiento de equipos electrónicos como marcapasos, lo que supone un riesgo para los operarios (Olalere *et al.*, 2018).

Siguiendo en la línea de la extracción asistida con microondas, está la extracción asistida por ultrasonido. Esta técnica se basa en el efecto de ondas de sonido a alta frecuencia en la estructura celular, donde, al ser aplicadas se generan burbujas que

aumentan de tamaño y eventualmente colapsan, en un proceso llamado cavitación, lo que daña la estructura celular y libera los metabolitos que se encuentran en ella.

Rara vez se ha empleado la extracción asistida con ultrasonido como única técnica de extracción, y se ha empleado más a modo de pretratamiento para aumentar la eficiencia de otras técnicas de extracción. Sin embargo, sus ventajas como el uso de poco solvente o ninguno, calentamiento mínimo de la muestra y nulo efecto sobre la estructura de los compuestos de interés hacen de esta técnica una alternativa interesante (Sukor *et al.*, 2018).

Su principal desventaja es el alto costo de la implementación de esta técnica para su uso a nivel más allá del laboratorio. Los equipos necesarios para la generación de ultrasonido tienen un costo elevado y no se fabrican en grandes dimensiones ya que tienen pocos usos industriales. Aun como pretratamiento, la limitación que representa su costo es fuerte para una industria que desee mejorar el rendimiento de sus extracciones.

Actividad antioxidante en especies del género *Mentha*

La actividad antioxidante de aceites esenciales y extractos de diferentes especies del género *Mentha* depende de los compuestos presentes en dichos extractos. Existen familias de compuestos que se encuentran de manera casi exclusiva en un extracto y no en el aceite esencial y viceversa, por esta razón, la actividad antioxidante y sus posibles usos depende del tipo de extracto a emplear (Pasca *et al.*, 2016).

En muestras obtenidas con métodos como extracción con solventes se pueden encontrar varias familias de compuestos no volátiles con actividad antioxidante. En todas las especies pertenecientes al género *Mentha* es posible encontrar vitaminas en cantidades cercanas a 6 mg/ml dependiendo de la especie analizada. Entre las principales vitaminas determinadas se pueden mencionar al ácido ascórbico (vitamina C), determinado por métodos volumétricos en muestras de *M. spicata*. También se ha reportado la presencia de diversos carotenoides (provitamina A y

vitamina e) (Martinez-Damian *et al.*, 2013). Estos compuestos tienen actividad antioxidante comprobada como componente único, así como en mezclas con otros antioxidantes (Vrolijk *et al.*, 2015).

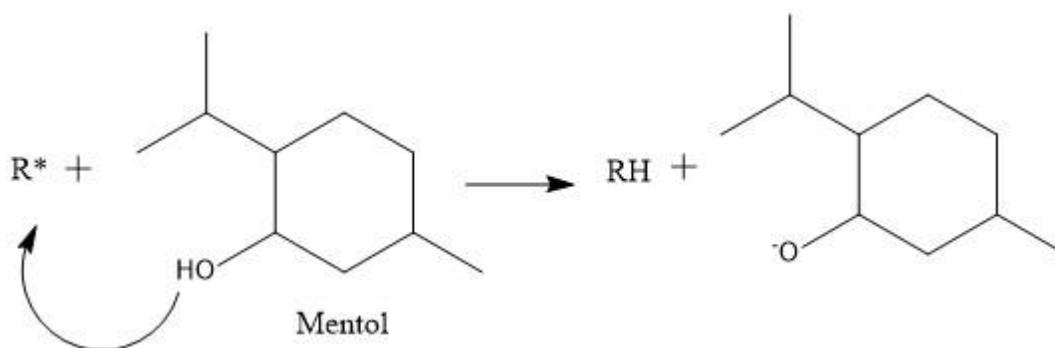
Otra amplia familia de compuestos no volátiles reportados en el género *Mentha* son los polifenoles. Dichos compuestos han sido ampliamente estudiados debido a sus múltiples propiedades, entre ellas, como antioxidantes. Un gran porcentaje de compuestos fenólicos corresponden a los flavonoides, seguido de lejos por los derivados del ácido cafeico (Tabaraki & Sadeghinejad, 2014). En algunas especies se han identificado cerca de 40 compuestos de tipo polifenol, donde el 53% corresponde a flavonoides, el 42% a ácidos fenólicos y otras clases de compuestos como estilbenos y lignanos completan el cuadro.

En lo referente a compuestos individuales, se ha encontrado una alta variabilidad en la concentración de compuestos individuales en diferentes especies del género, inclusive la variabilidad afecta a una misma especie bajo el efecto de la ubicación geográfica del lugar del cultivo origen de la muestra. Un ejemplo es la concentración del ácido rosmarínico, que puede ser uno de los compuestos mayoritarios del extracto a no ser detectado. En un estudio realizado en *M. piperita* se han identificado 6 nuevos compuestos fenólicos llamados ácido prolithospermico, ácido salvianolico y sus isómeros estructurales, ácido isosalvianolico, medioresinol y su sal de sulfato (Kapp *et al.*, 2013).

Una limitante en el uso de compuestos fenólicos como antioxidantes es su solubilidad limitada en medios como el agua. Se han obtenido extractos solubles, ligeramente solubles e insolubles de *M. spicata* y se ha ensayado su actividad antioxidante empleando diferentes métodos como ORAC (Oxygen radical absorbance capacity), capacidad de inhibición de radicales hidroxilo y DPPH, mostrando buenos resultados en los ensayos *in vitro* para todos los extractos, aunque con mejor desempeño en los extractos ligeramente solubles e insolubles (Lv *et al.*, 2012).

La actividad antioxidante de las diversas familias de compuestos fenólicos ha sido estudiada desde hace varias décadas, encontrándose que dichos compuestos tienen varios mecanismos de acción, por ejemplo la inhibición de los radicales libres a través de la donación de un protón para estabilizar su estructura; interrumpiendo las reacciones en cadena que suceden en la segunda etapa de oxidación; lo que finaliza la reacción global de oxidación estabilizando los productos finales de esta (Oh *et al.*, 2013).

Fig. 12. Mecanismo de acción del mentol como antioxidante. Fuente: autor



Los anteriores mecanismos se pueden observar en diferentes sistemas químicos susceptibles a la oxidación, pero en sistemas *In vivo* también se ha observado que la presencia y metabolización de compuestos fenólicos estimula la producción de otros compuestos con actividad antioxidante por parte de los organelos celulares, potenciando su efecto sobre la inhibición y prevención de la oxidación (Amorati *et al.*, 2013).

A diferencia de los extractos, los componentes de un aceite esencial corresponden a compuestos volátiles. En todas las especies del género *Mentha* y en general en las llamadas plantas aromáticas, el aceite esencial puede contener más de 300 compuestos diferentes, que, al igual que los encontrados en extractos acuosos y en otros solventes, pueden variar en función de los factores ya listados (M. Z. Chen *et al.*, 2011).

La familia de los terpenos son la especie química con mayor presencia en los aceites esenciales, abarcando cerca del 52% de la totalidad de compuestos

identificados en aceites esenciales de diversas especies del género *Mentha*, siendo mayoritariamente monoterpenos. Otras especies que se encuentran son aldehídos con aproximadamente 9%, hidrocarburos aromáticos con 8% aproximadamente, lactonas y alcoholes con un 6% y el porcentaje restante se clasifican como compuestos misceláneos (Tsai *et al.*, 2013).

La actividad antioxidante de los terpenos se basa en su capacidad de inhibir de manera directa las especies reactivas del oxígeno (ROS por sus siglas en inglés), previniendo el inicio del proceso de oxidación, interrumpiendo las reacciones en cadena de la segunda etapa de oxidación y/o estabilizando los radicales libres productos de la oxidación en la tercera etapa (Gonzalez-Burgos & Gomez-Serranillos, 2012). Se cree que los terpenos hacen parte de un complejo mecanismo de control desarrollado por diferentes géneros de plantas para mantener un equilibrio en el metabolismo, evitando un exceso de radicales libres que puedan desencadenar reacciones adversas al interior de las células (Li *et al.*, 2012).

En estudios sobre terpenos individuales se ha encontrado que los monoterpenos alifáticos tienen una capacidad antioxidante pobre, mientras que compuestos como terpinoleno, α – terpineno y γ – terpineno tienen una actividad antioxidante similar al α – tocoferol (Fancello *et al.*, 2017). Por otro lado, los terpenos insaturados con estructura ciclohexadieno pueden autooxidarse para estabilizar un radical libre, actuando principalmente en la primera etapa de oxidación (Amorati *et al.*, 2013).

Compuestos como timol y carvacrol han sido clasificados como los monoterpenos oxigenados más activos con capacidad antioxidante comparable al α – tocoferol, seguidos por alcoholes alílicos como nerol, alcohol perillílico, geraniol y verbenol, completando la lista cetonas y monoterpenos aldehídicos como el citronelol (Nickavar & Jabbareh, 2018). Sesquiterpenos oxigenados, en especial los alcoholes como germacrona y farnesol muestran una buena actividad antioxidante.

Sin embargo, en un aceite esencial los compuestos se encuentran mezclados y puede generarse efectos sinérgicos y/o antagónicos entre ellos en lo referente a actividad antioxidante. Esto se evidencia cuando se analizan algunos estudios que

muestran resultados dispares con respecto a la actividad antioxidante de compuestos individuales, mezclas de algunos compuestos y aceites esenciales completos, mostrando que la actividad antioxidante de un aceite esencial no se puede estimar solamente con base a sus constituyentes y su concentración, sino que existen mecanismos que aumentan o disminuyen dicha actividad (Amorati et al., 2013).

La variabilidad en los resultados observados en pruebas *in vitro* dificulta dar una respuesta cierta sobre los mecanismos involucrados en la actividad antioxidante de los aceites esenciales provenientes del género *Mentha*, situación que se repite al intentar explicar la relación entre la actividad antioxidante de extractos en comparación al aceite esencial de las mismas especies, mostrando que los mecanismos involucrados son altamente complejos.

Aplicaciones de la actividad antioxidante de extractos y aceites esenciales

Como se ha mencionado anteriormente, la oxidación es un proceso químico que puede afectar a diferentes sistemas químicos, biológicos o no, sin embargo, la oxidación de lípidos es uno de los mecanismos de oxidación que llaman más la atención de investigadores alrededor del mundo debido a su impacto en campos como alimentos, medicina y cosmética.

Los aceites esenciales y extractos de diversos géneros de plantas aromáticas y especies han sido utilizados en el área de los alimentos desde hace centurias, sin embargo, hasta hace un par de décadas comenzaron a realizarse estudios sobre los efectos del uso de dichos extractos y aceites en los alimentos más allá del punto de vista organoléptico. Esta tendencia ha sido impulsada por el deseo por parte de la industria de alimentos de emplear métodos e ingredientes “verdes”, presionados por la opinión de los consumidores que cada vez más rechazan el uso de sustancias provenientes de otras industrias como la petroquímica en alimentos (Nagy *et al.*, 2014).

Un ejemplo claro es el rechazo que generan en el consumidor antioxidantes sintéticos como BHA, BHQ, TBHQ entre otros, los cuales han sido relacionados con la aparición y predisposición a diversas enfermedades y condiciones clínicas como distintos tipos de cáncer, diabetes, alzhéimer, obesidad mórbida entre otros, aunque dichas relaciones aún no han sido totalmente comprobadas y siguen siendo punto de discusión entre investigadores (Wang & Kannan, 2019).

Por esta razón una de las primeras industrias en explorar la posibilidad de emplear aceites esenciales y extractos como alternativa a los antioxidantes sintéticos ha sido la industria de alimentos en sus múltiples ramas.

Los aceites comestibles son de vital importancia tanto como materia prima para otros productos como para su consumo directo por el consumidor final. En el proceso de extracción y refinado de aceites comestibles de fuentes como palma, girasol, canola entre otros, los antioxidantes que dichos aceites tienen de manera natural son eliminados de manera accidental (Lafka *et al.*, 2013). Para mantener la calidad de los aceites es necesario emplear antioxidantes que evitan el desarrollo de malos olores y sabores, así como la pérdida de calidad nutricional y organoléptica.

Se han realizado varios estudios para emplear aceites esenciales como alternativa en aceites comestibles, como por ejemplo el realizado por Inan y colaboradores, donde ensayaron los aceites esenciales de *M. spicata*, *Laurus nobilis* y *Myrtis communis* L como aditivos antioxidantes en aceites comestibles extraídos de granada, amapola, uva y linaza, de alto valor económico por sus propiedades, pero muy susceptibles a la oxidación. Se midieron parámetros como la acidez libre, valor de peróxido y viscosidad, que son de interés en la industria de aceites, hallando que los aceites esenciales ensayados empleados en concentraciones de 0.01% y 0.05% son capaces de mantener la viscosidad en comparación a una muestra de control, además de disminuir la producción de peróxidos y ácidos libres en los aceites comestibles ensayados, siendo estos valores indicadores directos del proceso de oxidación en aceites (Inan *et al.*, 2012).

El aceite de girasol es uno de los aceites comestibles más consumidos en todo el mundo. Extractos de *Mentha piperita* fueron ensayados empleando una metodología de oxidación acelerada en estufa en aceite de girasol, buscando encontrar los valores óptimos de concentración para una máxima protección en comparación de antioxidantes comerciales (Asefi, 2017). Los resultados mostraron que, en una concentración de 500 ppm, el desempeño de los extractos es similar a la de dos antioxidantes sintéticos a una concentración de 100 ppm.

En la industria de la galletería es vital mantener la oxidación de lípidos controlada especialmente durante el tiempo de almacenamiento. Un ensayo de almacenamiento empleando galletas modelo, donde se probaron aceite esencial de *Mentha spicata*, mentol obtenido del aceite esencial y la planta seca y pulverizada como antioxidante demostró que tanto el aceite esencial como el polvo de la planta tienen un rendimiento similar a un antioxidante comercial como el BHT en un periodo de almacenamiento de 5 meses en empaques plásticos (Bajaj *et al.*, 2016). En el mismo estudio, los análisis sensoriales arrojaron que el empleo de mentol a bajas concentraciones aumentaba las características sensoriales de las galletas sin llegar a alterarlas, lo cual se puede constituir como un punto de decisión a favor del uso de alternativas naturales como antioxidantes en esta industria.

Una de las industrias de alimentos que ha puesto un interés especial en el uso de aceites esenciales y extractos como antioxidantes es la industria cárnica. Los procesos de oxidación son un punto neurálgico al momento de considerar el tiempo de almacenamiento de un producto cárnico. Los aceites esenciales pueden brindar una protección frente a la oxidación de los lípidos presentes en la carne, además de exhibir actividad antimicrobiana, actuando sobre dos factores importantes de degradación de productos cárnicos.

Un estudio realizado sobre carne vacuna molida para evaluar el potencial del aceite esencial de *Mentha piperita* como aditivo antioxidante concluyó que este tiene un buen potencial como agente antioxidante en comparación a controles sin ningún tipo de antioxidante (Raeisi *et al.*, 2018), sin embargo, no se evaluó frente a antioxidantes comerciales, dejando interrogantes sobre su desempeño frente a las

alternativas tradicionales en este sustrato en específico y en las condiciones del estudio. El efecto de la adición de aceite esencial de *Mentha piperita* en condiciones de refrigeración en cortes de cordero logró aumentar su vida útil de almacenamiento al disminuir la concentración de compuestos volátiles generados en los procesos de oxidación (Djenane *et al.*, 2012).

También se ha ensayado el reemplazo parcial o total de conservantes con actividad antioxidante como son las sales de nitrito empleadas en preparaciones de tipo embutido (Latoch & Stasiak, 2015; Moarefian *et al.*, 2012). El reemplazo parcial de dichas sales con aceite esencial de *Mentha piperita* mostró que era posible disminuir la dosis de sales a cerca de 80% menos que en formulaciones tradicionales con un desempeño similar al control. El uso como agentes antioxidantes de extractos acuosos, aceite esencial y menta seca y molida en salchichas de cerdo fue evaluado con resultados satisfactorios para el aceite esencial, pero con desempeños pobres para las otras alternativas evaluadas.

Investigadores del área de conservación de pescados y otros productos marinos también han buscado en los aceites esenciales y extractos de especies del género *Mentha* alternativas a los métodos tradicionales. Un ejemplo es el desarrollo de varios ensayos en la conservación de caballa (*Scomber scombrus*) empleando como un factor la adición de aceite esencial de *Mentha arvensis* en conjugación a modificaciones en los protocolos de refrigeración, manipulación del producto y tiempo de almacenamiento (Pankyamma Viji *et al.*, 2015; P. Viji *et al.*, 2016). El uso de aceite esencial demostró tener efecto sobre la generación de compuestos secundarios del proceso de oxidación como peróxidos volátiles, lo que indica actividad antioxidante, y también mostró un efecto positivo al disminuir la cantidad de compuestos nitrogenados volátiles detectados en las muestras, que es un indicador de calidad en productos pesqueros.

Las aplicaciones de los extractos y aceites esenciales de especies del género *Mentha* como antioxidantes en los campos de la cosmética y la salud se ven determinados por las investigaciones sobre condiciones degenerativas y en el empeño de retrasar el proceso de envejecimiento. El empleo de extractos de

Mentha suaveolens en condiciones cutáneas como la aparición de fibroblastos dérmicos ha sido investigado obteniéndose resultados positivos en la disminución de radicales libres en las células, así como la inhibición de enzimas asociadas a procesos de oxidación y envejecimiento celular, confirmando la utilidad de esta y otras especies del género *Mentha* en cosmética dérmica, propuesta por estudios anteriores (Son *et al.*, 2018).

Otro campo de interés es el uso de extractos y aceites esenciales como agentes antiinflamatorios, ya que la inflamación de un tejido generalmente va asociado al aumento de la concentración de radicales libres. Extractos y aceites esenciales de *Mentha arvensis*, *Mentha pulegium*, *Mentha piperita* y *Mentha spicata* han sido evaluados en ensayos *in vivo* como agentes para disminuir la inflamación, y en todos los casos, también se observó efectos antioxidantes de dichos extractos en los tejidos analizados (Biswas *et al.*, 2015; Chraibi *et al.*, 2016; Kizil *et al.*, 2010)

Una aplicación que ha sido estudiada de manera limitada en las últimas décadas pero que es de interés es el uso de extractos y aceites esenciales como elementos radio protectores para pacientes sometidos a radioterapia y persona expuestas de manera constante a fuentes de radiación como técnicos de rayos X. extractos acuosos y aceites esenciales de especies como *Mentha piperita* y *Mentha arvensis*, así como de otra plantas aromáticas de diferentes géneros, han sido ensayados a modo de sustancias radioprotectoras en ratas de laboratorio sometidas a radiación gamma (Baliga & Rao, 2010; Samarth *et al.*, 2017)

Los resultados de los estudios mostraron que los extractos y aceites esenciales eran capaces de disminuir la cantidad de radicales libres liberados por las células en respuesta al estrés inducido por la radiación, pero, además de lo anterior, disminuía los efectos inflamatorios debido a la radioexposición, así como de proteger de manera selectiva órganos que se ven más impactados por quimioterapias como hígado, páncreas, intestino y baso. Igualmente, se detectó que algunos polifenoles eran capaces de ayudar a la reparación de fibras de DNA dañadas por la radiación, disminuyendo la mortalidad de células sanas asociadas al tratamiento con radiación.

Conclusiones

La actividad antioxidante de los aceites esenciales y extractos de especies del género *Mentha* ha sido de interés por parte de industria e investigadores. En los últimos 10 años se han realizado investigaciones desde diversos frentes para comprender, estimular y evaluar la actividad antioxidante de este género.

Se ha avanzado en la comprensión de los mecanismos y rutas metabólicas responsables de la producción de metabolitos secundarios, algunos de los cuales se han identificado como moléculas con potencial para ser empleados como antioxidantes, lo que ha permitido desarrollar estrategias que estimulan la producción de compuestos específicos de interés.

A pesar del uso de avanzadas técnicas en el campo de la biología molecular, aún existe incertidumbre sobre las últimas etapas de biosíntesis de muchos compuestos en el género *Mentha*, lo que permite vislumbrar un amplio campo de investigación aún por explorar.

El efecto de las condiciones de cultivo y ubicación geográfica en la composición de extractos y aceites esenciales de especies del género *Mentha* ha sido ampliamente comprobado, mostrando que es un género altamente adaptable al cambio, pero esta variabilidad debe tenerse en cuenta al proponerse una aplicación para sus subproductos.

La composición química de los extractos y aceites esenciales de este género es variada, pero incluye un buen porcentaje de familias de compuestos con probada actividad antioxidante como por ejemplo flavonoides, polifenoles, derivados del ácido cafeico, terpenos, entre otros. Tanto la acción individual como efectos

sinérgicos entre distintos compuestos son responsables de las características antioxidantes encontradas en estas especies.

El método de obtención de los aceites esenciales y extractos influye de manera decisiva en su actividad antioxidante. Algunas técnicas obtienen extractos ricos en compuestos de tipo polifenol, mientras que otras dan como resultados con mayor presencia de terpenos. Cada familia de compuestos tiene un mecanismo diferente para controlar la oxidación, y, por lo tanto, es ideal para una posible aplicación determinada.

Entre los posibles campos de aplicación como antioxidante de los extractos y aceites esenciales del género *Mentha* se encuentran la industria de alimentos en varias de sus ramas, donde se han obtenido resultados prometedores en productos de panadería, cárnicos y pescados. La industria cosmética también ha encontrado usos potenciales como retardante del proceso de envejecimiento celular y en el campo de la medicina como agente protector frente a los efectos de la radiación y deterioro celular.

En Colombia el cultivo y explotación de plantas aromáticas se encuentran limitados por razones técnicas y económicas. Es necesario establecer una cadena de producción estable para poder alimentar a una industria de extracción y aprovechamiento de manera regular y constante, con estándares de producción y calidad constantes y así poder desarrollar productos que aprovechen la capacidad antioxidante de los extractos y aceites esenciales de las especies del género *Mentha* que se cultivan en el país.

Recomendaciones

Ampliar y profundizar el desarrollo de estudios monográficos en otros géneros de plantas aromáticas producidas en Colombia para generar una línea base de investigación en compuestos naturales provenientes de esta clase de plantas.

Proponer y realizar proyectos de investigación a nivel pregrado y posgrado para la elucidación de las etapas finales de biosíntesis de terpenos en el género *Mentha* para tener herramientas de decisión para futuros desarrollos de ingeniería metabólica.

Aumentar las bases de datos disponibles para el desarrollo tanto de monografías como de estados del arte para proyectos de investigación con el fin de estar al día con las investigaciones y resultados publicados por autores en diferentes campos del conocimiento.

Realizar un estudio demográfico y económico actualizado del cultivo de especies del género *Mentha* en Colombia para conocer el potencial productivo del país y establecer metodologías para estandarizar y mejorar la cadena productiva de estas plantas aromáticas.

Referencias bibliográficas

- Ahkami, A., Johnson, Sean R., Srividya, N., & Lange, Bernd M. (2015). Multiple Levels of Regulation Determine Monoterpenoid Essential Oil Compositional Variation in the Mint Family. *Molecular Plant*, 8(1), 188-191. doi:<https://doi.org/10.1016/j.molp.2014.11.009>
- Akbulut, S., & Bayramoglu, M. M. (2013). The trade and use of some medical and aromatic herbs in Turkey. *Studies on Ethno-Medicine*, 7(2), 67-77.
- Alexa, E., Danciu, C., Radulov, I., Obistoiu, D., Sumalan, R. M., Morar, A., & Dehelean, C. A. (2018). Phytochemical screening and Biological activity of menthax piperita L. and lavandula angustifolia mill. extracts. *Analytical Cellular Pathology*, 2018.
- Ali, B., Al-Wabel, N. A., Shams, S., Ahamad, A., Khan, S. A., & Anwar, F. (2015). Essential oils used in aromatherapy: A systemic review. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 5(8), 601-611. doi:<https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2015.05.007>
- Almeida, P. P., Mezzomo, N., & Ferreira, S. R. (2012). Extraction of Mentha spicata L. volatile compounds: evaluation of process parameters and extract composition. *Food and bioprocess technology*, 5(2), 548-559.
- Amiri, P., Shahpiri, A., Asadollahi, M. A., Momenbeik, F., & Partow, S. (2016). Metabolic engineering of Saccharomyces cerevisiae for linalool production. *Biotechnology letters*, 38(3), 503-508.
- Amorati, R., Foti, M. C., & Valgimigli, L. (2013). Antioxidant activity of essential oils. *Journal of agricultural and food chemistry*, 61(46), 10835-10847.
- Andri Cahyo, K., & Masitah, H. (2012). EXTRACTION OF HERBAL COMPONENTS – THE CASE FOR SUPERCRITICAL FLUID EXTRACTION. *Teknik Fakultas Teknik Universitas Diponegoro*, 29(3), 180-183. doi:10.14710/teknik.v29i3.1945
- Asefi, N. (2017). Stabilization of sunflower oil by pennyroyal (Mentha piperita) extracts during accelerated storage. *International Journal of Food Properties*, 20(1), 30-40. doi:10.1080/10942912.2015.1099548

- Bajaj, S., Urooj, A., & Prabhasankar, P. (2016). Antioxidative properties of mint (*Mentha spicata* L.) and its application in biscuits. *Curr Res Nutr Food Sci Current Research in Nutrition and Food Science Journal*, 4(3), 209-216.
- Baliga, M., & Rao, S. (2010). Radioprotective potential of mint. *Journal of Cancer Research and Therapeutics*, 6(3), 255-262. doi:10.4103/0973-1482.73336
- Barata, A. M., Rocha, F., Lopes, V., & Carvalho, A. M. (2016). Conservation and sustainable uses of medicinal and aromatic plants genetic resources on the worldwide for human welfare. *Industrial Crops and Products*, 88, 8-11.
- Barriuso, B., Astiasarán, I., & Ansorena, D. (2013). A review of analytical methods measuring lipid oxidation status in foods: A challenging task. *European Food Research and Technology*, 236(1), 1-15. doi:10.1007/s00217-012-1866-9
- Bascope, M., & Alejo, L. (2010). Main components of the essential oil of *Mentha* native. *Revista Boliviana de Química*, 27(2), 104-106.
- Bean, H. D., Hill, J. E., & Dimandja, J.-M. D. (2015). Improving the quality of biomarker candidates in untargeted metabolomics via peak table-based alignment of comprehensive two-dimensional gas chromatography–mass spectrometry data. *Journal of Chromatography A*, 1394, 111-117.
- Bekhit, A. E. D. A., Hopkins, D. L., Fahri, F. T., & Ponnampalam, E. N. (2013). Oxidative processes in muscle systems and fresh meat: Sources, markers, and remedies. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 12(5), 565-597. doi:10.1111/1541-4337.12027
- Bhattacharya, S. (2016). Chapter 3 - Cultivation of Essential Oils. In V. R. Preedy (Ed.), *Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety* (pp. 19-29). San Diego: Academic Press.
- Bishr, M. M., & Salama, O. M. (2018). Inter and intra GC-MS differential analysis of the essential oils of three *Mentha* species growing in Egypt. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, 4(1), 53-56. doi:<https://doi.org/10.1016/j.fjps.2017.08.003>
- Biswas, N. N., Saha, S., & Ali, M. K. (2015). Antioxidant, antimicrobial, cytotoxic and analgesic activities of ethanolic extract of *Mentha arvensis* L. *APJTB Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*.
- Božović, M., Pirolli, A., & Ragno, R. (2015). *Mentha suaveolens* Ehrh. (Lamiaceae) essential oil and its main constituent piperitenone oxide: biological activities and chemistry. *Molecules*, 20(5), 8605-8633.
- Cardoso-Ugarte, G. A., Juárez-Becerra, G. P., Sosa-Morales, M. E., & López-Malo, A. (2013). Microwave-assisted extraction of essential oils from herbs. *The*

- Journal of Microwave Power and Electromagnetic Energy*, 47(1), 63-72.
doi:10.1080/08327823.2013.11689846
- Caspi, R., Billington, R., Ferrer, L., Foerster, H., Fulcher, C. A., Keseler, I. M., . . . Karp, P. D. (2015). The MetaCyc database of metabolic pathways and enzymes and the BioCyc collection of pathway/genome databases. *Nucleic Acids Research*, 44(D1), D471-D480. doi:10.1093/nar/gkv1164
- Chauhan, R., Nautiyal, M., & Tava, A. (2010). Essential Oil Composition from Aerial Parts of *Mentha spicata* L. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 13(3), 353-356.
- Chen, F., Tholl, D., Bohlmann, J., & Pichersky, E. (2011). The family of terpene synthases in plants: a mid-size family of genes for specialized metabolism that is highly diversified throughout the kingdom. *The Plant Journal*, 66(1), 212-229.
- Chen, M. Z., Trinnaman, L., Bardsley, K., St Hilaire, C. J., & Da Costa, N. C. (2011). Volatile Compounds and Sensory Analysis of Both Harvests of Double-Cut Yakima Peppermint (*Mentha piperita* L.). *Journal Of Food Science*, 76(7), C1032-C1038.
- Chermahini, S. H., Majid, F. A. A., & Sarmidi, M. R. (2011). Cosmeceutical value of herbal extracts as natural ingredients and novel technologies in anti-aging. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(14), 3074-3077.
- Chraïbi, M., Benbrahim, K. F., Ou-Yahya, D., Balouiri, M., & Farah, A. (2016). Radical scavenging and disinfectant effect of essential oil from moroccan *Mentha pulegium*. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 8(9), 116-119. doi:10.22159/ijpps.2016.v8i9.12434
- Cook, C. M., & Lanaras, T. (2016). Essential Oils: Isolation, Production and Uses. In B. Caballero, P. M. Finglas, & F. Toldrá (Eds.), *Encyclopedia of Food and Health* (pp. 552-557). Oxford: Academic Press.
- Cruz, V. M. V. (2016). *Industrial crops* (Vol. 9). New York: Springer-Verlag New York.
- Cseke, L. J., Kirakosyan, A., Kaufman, P. B., Warber, S., Duke, J. A., & Brielmann, H. L. (2016). *Natural products from plants*: CRC press.
- Djenane, D., Aïder, M., Yangüela, J., Idir, L., Gómez, D., & Roncalés, P. (2012). Antioxidant and antibacterial effects of *Lavandula* and *Mentha* essential oils in minced beef inoculated with *E. coli* O157:H7 and *S. aureus* during storage at abuse refrigeration temperature. *Meat Science*, 92(4), 667-674. doi:<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.06.019>

- Du, F.-L., Yu, H.-L., Xu, J.-H., & Li, C.-X. (2014). Enhanced limonene production by optimizing the expression of limonene biosynthesis and MEP pathway genes in *E. coli*. *Bioresources and Bioprocessing*, 1(1), 10.
- El-Kashoury, E.-S. A., El-Askary, H. I., Kandil, Z. A., Salem, M. A., & Sleem, A. A. (2012). Chemical composition and biological activities of the essential oil of *Mentha suaveolens* Ehrh. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 67(11-12), 571-579.
- Fancello, F., Zara, S., Petretto, G. L., Chessa, M., Addis, R., Rourke, J. P., & Pintore, G. (2017). Essential oils from three species of *Mentha* harvested in Sardinia: chemical characterization and evaluation of their biological activity. *International Journal of Food Properties*, 20, S1751-S1761. doi:10.1080/10942912.2017.1354020
- Fatiha, B., Khodir, M., Farid, D., Tiziri, R., Karima, B., Sonia, O., . . . Sushama, J. (2012). Optimisation Of Solvent Extraction Of Antioxidants (Phenolic Compounds) From Algerian Mint (*Mentha spicata* L.). *Pharmacognosy Communications*, 2(4).
- Filly, A., Chemat, F., Fernandez, X., Minuti, M., Visinoni, F., & Cravotto, G. (2014). Solvent-free microwave extraction of essential oil from aromatic herbs: From laboratory to pilot and industrial scale. *Food Chemistry*, 150, 193-198. doi:10.1016/j.foodchem.2013.10.139
- Fornari, T., Vicente, G., Vázquez, E., García-Risco, M. R., & Reglero, G. (2012). Isolation of essential oil from different plants and herbs by supercritical fluid extraction. *Journal of Chromatography A*, 1250, 34-48. doi:10.1016/j.chroma.2012.04.051
- Gavahian, M., & Chu, Y.-H. (2018). Ohmic accelerated steam distillation of essential oil from lavender in comparison with conventional steam distillation. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 50, 34-41. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ifset.2018.10.006>
- Gonzalez-Burgos, E., & Gomez-Serranillos, M. (2012). Terpene compounds in nature: a review of their potential antioxidant activity. *Current medicinal chemistry*, 19(31), 5319-5341.
- Hay, Y. O., Sequeda-Castañeda, L. G., Abril-Sierra, M. A., Raynaud, C., & Bonnafous, C. (2018). Evaluation of combinations of essential oils and essential oils with hydrosols on antimicrobial and antioxidant activities. *Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research*, 6(3), 216-230.
- İnan, Ö., Özcan, M. M., & Al Juhaimi, F. Y. (2012). Antioxidant effect of mint, laurel and myrtle leaves essential oils on pomegranate kernel, poppy, grape and linseed oils. *Journal of Cleaner Production*, 27, 151-154. doi:10.1016/j.jclepro.2012.01.003

- Jedrzejczyk, I., & Rewers, M. (2018). Genome size and ISSR markers for *Mentha* L. (Lamiaceae) genetic diversity assessment and species identification. *Industrial Crops and Products*, 120, 171-179. doi:<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.04.062>
- Johnson, S. R., Lange, I., Srividya, N., & Lange, B. M. (2017). Bioenergetics of Monoterpenoid Essential Oil Biosynthesis in Nonphotosynthetic Glandular Trichomes. *Plant Physiology*, 175(2), 681. doi:10.1104/pp.17.00551
- Joshi, M. (2015). *Textbook of field crops (As per ICAR syllabus covering two courses : Field crops I and Field crops II)*. Delhi: PHI Learning Private Limited.
- Kapp, K., Hakala, E., Orav, A., Pohjala, L., Vuorela, P., Püssa, T., . . . Raal, A. (2013). Commercial peppermint (*Mentha piperita* L.) teas: Antichlamydial effect and polyphenolic composition. *Food research international*, 53(2), 758-766.
- Kizil, S., Haşimi, N., Tolan, V., Kiliç, E., & Yüksel, U. (2010). Mineral content, essential oil components and biological activity of two mentha species (*M. piperita* L., *M. spicata* L.). *Turkish Journal of Field Crops*, 15(2), 148-153. doi:10.17557/tjfc.56629
- Lafka, T.-I., Lazou, A. E., Sinanoglou, V. J., & Lazos, E. S. (2013). Phenolic Extracts from Wild Olive Leaves and Their Potential as Edible Oils Antioxidants. *Foods*, 2(1), 18-31. doi:10.3390/foods2010018
- Lange, B. M., & Ahkami, A. (2013). Metabolic engineering of plant monoterpenes, sesquiterpenes and diterpenes—current status and future opportunities. *Plant biotechnology journal*, 11(2), 169-196.
- Latoch, A., & Stasiak, D. M. (2015). Effect of *Mentha piperita* on Oxidative Stability and Sensory Characteristics of Cooked Pork Sausage. *JFPP Journal of Food Processing and Preservation*, 39(6), 1566-1573.
- Lawrence, B. M. (2011). Progress in essential oils. *Perfumer & flavorist*, 36(11), 52-58.
- Li, J., Zhang, H., Huang, W., Qian, H., & Li, Y. (2012). TNF- α inhibitors with anti-oxidative stress activity from natural products. *Current topics in medicinal chemistry*, 12(13), 1408-1421.
- Lubbe, A., & Verpoorte, R. (2011). Cultivation of medicinal and aromatic plants for specialty industrial materials. *Industrial Crops and Products*, 34(1), 785-801.
- Lussier, F.-X., Colatriano, D., Wiltshire, Z., Page, J. E., & Martin, V. J. J. (2012). ENGINEERING MICROBES FOR PLANT POLYKETIDE BIOSYNTHESIS. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 3(4), e201210020. doi:<https://doi.org/10.5936/csbj.201210020>

- Lv, J., Huang, H., Yu, L., Whent, M., Niu, Y., Shi, H., . . . Yu, L. L. (2012). Phenolic composition and nutraceutical properties of organic and conventional cinnamon and peppermint. *Food Chemistry*, 132(3), 1442-1450. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.11.135>
- Maffei, M. E. (2010). Sites of synthesis, biochemistry and functional role of plant volatiles. *South African Journal of Botany*, 76(4), 612-631. doi:<https://doi.org/10.1016/j.sajb.2010.03.003>
- Markus Lange, B., & Turner, G. W. (2013). Terpenoid biosynthesis in trichomes—current status and future opportunities. *Plant biotechnology journal*, 11(1), 2-22.
- Martinez-Damian, M. T., Cruz-Alvarez, O., Colinas-Leon, M. T. B., Rodriguez-Perez, J. E., & Ramirez-Ramirez, S. P. (2013). Actividad enzimática y capacidad antioxidante en menta (*Mentha piperita* L.) almacenada bajo refrigeración. (Enzymatic Activity and Antioxidant Capacity in Mint [*Mentha piperita* L.] under Refrigerated Storage. With English summary.). *Agronomia Mesoamericana*, 24(1), 57-69.
- Mendoza-Poudereux, I., Muñoz-Bertomeu, J., Navarro, A., Arrillaga, I., & Segura, J. (2014). Enhanced levels of S-linalool by metabolic engineering of the terpenoid pathway in spike lavender leaves. *Metabolic Engineering*, 23, 136-144. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ymben.2014.03.003>
- Moarefian, M., Barzegar, M., Sattari, M., & Naghdi Badi, H. (2012). Production of functional cooked sausage by *Mentha piperita* essential oil as a natural antioxidant and antimicrobial material. *J. Med. Plants Journal of Medicinal Plants*, 11(41), 46-57.
- Moraes, M. N., Zobot, G. L., Prado, J. M., & Meireles, M. A. A. (2013). Obtaining antioxidants from botanic matrices applying novel extraction techniques. *Food and Public Health*, 3(4), 195-214.
- Muhammad, S. A. F. a. S., Langrish, T., Tang, P., Adi, H., Chan, H.-K., Kazarian, S. G., & Dehghani, F. (2010). A novel method for the production of crystalline micronised particles. *International journal of pharmaceuticals*, 388(1-2), 114-122.
- Mulvaney, J. (2012). Essential oils and steam distillation. *Australian Journal of Herbal Medicine*, 24(4), 140.
- Nagy, M., Tofană, M., Socaci, S., Pop, A. V., Borș, M. D., Fărcaș, A., & Moldovan, O. (2014). Total Phenolic, Flavonoids and Antioxidant Capacity of Some Medicinal and Aromatic Plants. *Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca - Food Science and Technology*, 71(2). doi:10.15835/buasvmcn-fst:10639

- Naoumkina, M. A., Zhao, Q., Gallego-Giraldo, L., Dai, X., Zhao, P. X., & Dixon, R. A. (2010). Genome-wide analysis of phenylpropanoid defence pathways. *Molecular plant pathology*, 11(6), 829-846.
- Nickavar, B., & Jabbareh, F. (2018). Analysis of the Essential Oil from *Mentha pulegium* and Identification of its Antioxidant Constituents. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 21(1), 223-229. doi:10.1080/0972060X.2018.1433073
- Oh, J., Jo, H., Cho, A. R., Kim, S.-J., & Han, J. (2013). Antioxidant and antimicrobial activities of various leafy herbal teas. *Food Control*, 31(2), 403-409. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.10.021>
- Olalere, O. A., Abdurahman, N. H., Yunus, R. b. M., Alara, O. R., & Gan, C. Y. (2018). Synergistic intermittent heating and energy intensification of scale-up parameters in an optimized microwave extraction process. *Chemical Engineering and Processing - Process Intensification*, 132, 160-168. doi:10.1016/j.cep.2018.08.011
- Oldfield, E., & Lin, F. Y. (2012). Terpene biosynthesis: modularity rules. *Angewandte Chemie International Edition*, 51(5), 1124-1137.
- Ortiz-Rojas, Y. (2016). *Aprovechamiento de la actividad antioxidante de extractos y aceites esenciales de romero (Rosmarinus officinalis L.), tomillo (Thymus vulgaris L.) y menta (Mentha spicata L.) como aditivo funcional en aceites comestibles.*
- Papuc, C., Goran, G. V., Predescu, C. N., Nicorescu, V., & Stefan, G. (2017). Plant Polyphenols as Antioxidant and Antibacterial Agents for Shelf-Life Extension of Meat and Meat Products: Classification, Structures, Sources, and Action Mechanisms. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16(6), 1243-1268. doi:10.1111/1541-4337.12298
- Pasca, C., Mărghițaș, L. A., Bobiș, O., Dezmirean, D. S., Mărgăoan, R., & Mureșan, C. I. (2016). Total Content of Polyphenols and Antioxidant Activity of Different Melliferous Plants. *Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca - Animal Science and Biotechnologies*, 73(1). doi:10.15835/buasvmcn-asb:11762
- Peter, K. V. (2012). *Handbook of herbs and spices*. Oxford; Philadelphia: Woodhead Pub.
- POWO. (2018). Plants of the World Online. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew. *Mentha L.* Retrieved from <http://www.plantsoftheworldonline.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:30016176-2>

- Qi, X., Fang, H., Yu, X., Xu, D., Li, L., Liang, C., . . . Chen, Z. (2018). Transcriptome Analysis of JA Signal Transduction, Transcription Factors, and Monoterpene Biosynthesis Pathway in Response to Methyl Jasmonate Elicitation in *Mentha canadensis* L. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(8). doi:10.3390/ijms19082364
- Raeisi, M., Hashemi, M., Aminzare, M., Afshari, A., Zeinali, T., & Jannat, B. (2018). An investigation of the effect of *Zataria multiflora* Boiss and *Mentha piperita* essential oils to improve the chemical stability of minced meat. *Vet World Veterinary World*, 1656-1662.
- Rodrigues, L., Póvoa, O., Teixeira, G., Figueiredo, A. C., Moldão, M., & Monteiro, A. (2013). Trichomes micromorphology and essential oil variation at different developmental stages of cultivated and wild growing *Mentha pulegium* L. populations from Portugal. *Industrial Crops and Products*, 43, 692-700.
- Sahota, T. S. (2013). Chapter 15 - Contract-Farming for Production and Procurement of Mint—Lessons from Personal Experience. In G. S. Bhullar & N. K. Bhullar (Eds.), *Agricultural Sustainability* (pp. 269-282). San Diego: Academic Press.
- Samarth, R. M., Samarth, M., & Matsumoto, Y. (2017). Medicinally important aromatic plants with radioprotective activity. *Future Science OA*, 3(4), FSO247. doi:10.4155/fsoa-2017-0061
- Šarić-Kundalić, B., Fialová, S., Dobeš, C., Ölžant, S., Tekel'ová, D., Grančai, D., . . . Saukel, J. (2009). Multivariate numerical taxonomy of *Mentha* species, hybrids, varieties and cultivars. *Scientia Pharmaceutica*, 77(4), 851-876.
- Schewe, H., Mirata, M. A., Holtmann, D., & Schrader, J. (2011). Biooxidation of monoterpenes with bacterial monooxygenases. *Process Biochemistry*, 46(10), 1885-1899. doi:<https://doi.org/10.1016/j.procbio.2011.06.010>
- Shariaty-Niassar, M., Aminzadeh, B., Azadi, P., & Soltanali, S. (2009). Economic evaluation of herb extraction using supercritical fluid. *Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly*, 15(3), 143-148. doi:10.2298/CICEQ0903143S
- Sharma, V., Hussain, S., Gupta, M., & Saxena, A. K. (2014). In vitro anticancer activity of extracts of *Mentha* spp. against human cancer cells.
- Sies, H. (2015). Oxidative stress: A concept in redox biology and medicine. *Redox Biology*, 4, 180-183. doi:10.1016/j.redox.2015.01.002
- Son, D., Kim, M., Woo, H., Park, D., & Jung, E. (2018). Anti-Thermal Skin Aging Activity of Aqueous Extracts Derived from Apple Mint (*Mentha suaveolens* Ehrh.) in Human Dermal Fibroblasts. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine eCAM*, 2018. doi:10.1155/2018/4595982

- Sovová, H., & Stateva, R. P. (2011). Supercritical fluid extraction from vegetable materials. *Reviews in Chemical Engineering*, 27(3-4), 79-156. doi:10.1515/REVCE.2011.002
- Sukor, N., Jusoh, R., Rahim, S. A., & Kamarudin, N. (2018). Ultrasound assisted methods for enhanced extraction of phenolic acids from *Quercus Infectoria* galls. *Materials Today - Proceedings*, 5(10 P2), 21990-21999. doi:10.1016/j.matpr.2018.07.060
- Tabaraki, R., & Sadeghinejad, N. (2014). Comparison of the antioxidant activity of volatile compounds of traditional herbal waters per serving cup. *Iranian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 9(1), 47-54.
- Tholl, D. (2015). Biosynthesis and biological functions of terpenoids in plants *Biotechnology of isoprenoids* (pp. 63-106): Springer.
- Tiwari, P. (2016). Recent advances and challenges in trichome research and essential oil biosynthesis in *Mentha arvensis* L. *Industrial Crops and Products*, 82, 141-148. doi:<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.11.069>
- Tsai, M.-L., Wu, C.-T., Lin, T.-F., Lin, W.-C., Huang, Y.-C., & Yang, C.-H. (2013). Chemical composition and biological properties of essential oils of two mint species. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 12(4), 577-582.
- UN. (2019). United Nations Commodity Trade Statistics Database. Retrieved from <https://comtrade.un.org/db/ce/ceSnapshot.aspx?px=H2&cc=330124>
- Upadhyay, R., Bahl, J., Verma, R., Padalia, R., Chauhan, A., & Patra, D. (2014). New source of planting material for quality cultivation of menthol–mint (*Mentha arvensis* L.). *Industrial Crops and Products*, 59, 184-188.
- Vanhercke, T., Divi, U. K., El Tahchy, A., Liu, Q., Mitchell, M., Taylor, M. C., . . . Petrie, J. R. (2017). Step changes in leaf oil accumulation via iterative metabolic engineering. *Metabolic Engineering*, 39, 237-246. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ymben.2016.12.007>
- Vega, J. P. (2018). La producción de los cultivos de plantas aromáticas y especias crecieron 21% en 2017. *La República* Retrieved from <https://www.larepublica.co/economia/la-produccion-de-los-cultivos-de-plantas-aromaticas-y-especias-crecieron-21-en-2017-2771263>
- Verma, S. K., Goswami, P., Verma, R. S., Padalia, R. C., Chauhan, A., Singh, V. R., & Darokar, M. P. (2016). Chemical composition and antimicrobial activity of bergamot-mint (*Mentha citrata* Ehrh.) essential oils isolated from the herbage and aqueous distillate using different methods. *Industrial Crops and Products*, 91, 152-160.

- Viji, P., Binsi, P. K., Visnuvinayagam, S., Bindu, J., Ravishankar, C. N., & Srinivasa Gopal, T. K. (2015). Efficacy of mint (*Mentha arvensis*) leaf and citrus (*Citrus aurantium*) peel extracts as natural preservatives for shelf life extension of chill stored Indian mackerel. *Shipin Kexue Jishu Xuebao / Journal of Food Science and Technology*, 52(10), 6278-6289. doi:10.1007/s13197-015-1788-1
- Viji, P., Binsi, P. K., Visnuvinayagam, S., Ravishankar, C. N., Venkateshwarlu, G., & Gopal, T. K. S. (2016). Modified icing system containing mint leaf and citrus peel extracts: effects on quality changes and shelf life of Indian mackerel. *Indian J. Fish. Indian Journal of Fisheries*, 63(2).
- Vrolijk, M. F., Opperhuizen, A., Jansen, E. H. J. M., Godschalk, R. W., Van Schooten, F. J., Bast, A., & Haenen, G. R. M. M. (2015). The shifting perception on antioxidants: The case of vitamin E and β -carotene. *Redox Biology*, 4, 272-278. doi:<https://doi.org/10.1016/j.redox.2014.12.017>
- Wang, W., & Kannan, K. (2019). Quantitative identification of and exposure to synthetic phenolic antioxidants, including butylated hydroxytoluene, in urine. *Environment International*, 24-29. doi:10.1016/j.envint.2019.04.028
- Yang, K., Stracquadanio, G., Luo, J., Boeke, J. D., & Bader, J. S. (2015). BioPartsBuilder: A synthetic biology tool for combinatorial assembly of biological parts. *Bioinformatics*, 32(6), 937-939.
- Yang, L., Yang, C., Li, C., Zhao, Q., Liu, L., Fang, X., & Chen, X.-Y. (2016). Recent advances in biosynthesis of bioactive compounds in traditional Chinese medicinal plants. *Science Bulletin*, 61(1), 3-17. doi:<https://doi.org/10.1007/s11434-015-0929-2>
- Yu, X., Liang, C., Fang, H., Qi, X., Li, W., & Shang, Q. (2018). Variation of trichome morphology and essential oil composition of seven *Mentha* species. *Biochemical Systematics and Ecology*, 79, 30-36. doi:<https://doi.org/10.1016/j.bse.2018.04.016>
- Zebec, Z., Wilkes, J., Jervis, A. J., Scrutton, N. S., Takano, E., & Breitling, R. (2016). Towards synthesis of monoterpenes and derivatives using synthetic biology. *Current Opinion in Chemical Biology*, 34, 37-43. doi:<https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2016.06.002>

Glosario

BHA: Butilhidroxianisol es un antioxidante que consiste en una mezcla de dos compuestos orgánicos isoméricos, 2-terc-butil-4-hidroxianisol y 3-terc-butil-4-hidroxianisol. Se prepara a partir de 4-metoxifenol e isobutileno. Es un sólido ceroso utilizado como aditivo alimentario con el número E320.

BHT: Butilhidroxitolueno, también conocido como dibutilhidroxitolueno, es un compuesto orgánico lipófilo, químicamente derivado del fenol, útil por sus propiedades antioxidantes.

Cavitación: Formación de un espacio vacío dentro de un objeto o cuerpo sólido.

Citocromo: Cualquiera de varios compuestos constituidos por un cofactor heme enlazado a una proteína. Los citocromos funcionan como agentes de transferencia de electrones en muchas vías metabólicas, especialmente en la respiración celular.

Commodity: Materia prima o producto agrícola primario que se puede comprar y vender, como el cobre o el café.

DPPH: 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo. Es un polvo cristalino de color oscuro compuesto de moléculas estables de radicales libres. El DPPH tiene dos aplicaciones principales, ambas en la investigación de laboratorio: una como monitor de reacciones químicas que involucran radicales libres, (ensayo antioxidante), y otra como estándar de la posición e intensidad de las señales de resonancia paramagnética de electrones.

EDTA: Ácido etilendiaminotetra-acético; compuesto orgánico incoloro, cristalino y ligeramente soluble utilizado en química y bioquímica inorgánica. Es un poderoso agente quelante utilizado para estabilizar el blanqueador en detergentes.

Enfleurage: Técnica de extracción de aceites esenciales y perfumes de las flores utilizando grasas animales o vegetales inodoras.

GRAS: (generally recognized as safe - generalmente reconocido como seguro) La designación de aditivos alimentarios que no causan ningún daño conocido cuando se utilizan según lo previsto.

Género: Grupo de especies que están estrechamente relacionadas a través de la descendencia común. Un género representa una de varias categorías jerárquicas llamadas taxones.

ORAC: Capacidad de absorción de radicales de oxígeno: medida de la capacidad de una sustancia, para absorber los radicales libres, utilizada para determinar los efectos antioxidantes de los alimentos.

Taxonomía: Proceso de nombrar y clasificar cosas como animales y plantas en grupos dentro de un sistema más amplio, de acuerdo con sus similitudes y diferencias.