

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

Determinación del efecto de la variación en la concentración de macronutrientes de cultivos hidropónicos en la biosíntesis de metabolitos en *Mentha piperita* L. por cromatografía de gases

Claudia Vanessa Castellanos Herrera

Química Farmacéutica

Guatemala, septiembre de 2014

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

Determinación del efecto de la variación en la concentración de macronutrientes de cultivos hidropónicos en la biosíntesis de metabolitos en *Mentha piperita* L. por cromatografía de gases

Informe de tesis

Presentado por

Claudia Vanessa Castellanos Herrera

Para optar al título de
Química Farmacéutica

Guatemala, septiembre de 2014

JUNTA DIRECTIVA

Oscar Manuel Cóbar Pinto, Ph.	Decano
Lic. Pablo Ernesto Oliva Soto, M.A.	Secretario
Licda. Liliana Vides de Urizar	Vocal I
Dr. Sergio Alejandro Melgar Valladares	Vocal II
Lic. Rodrigo José Vargas Rosales	Vocal III
Br. Lourdes Virginia Nuñez Portales	Vocal IV
Br. Julio Alberto Ramos Paz	Vocal V

AGRADECIMIENTOS

A mi Alma máter: Universidad de San Carlos de Guatemala.

A la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.

A mis padres:

Luis Eduardo Castellanos Portillo

Marta de Jesús Herrera Ruano

A mis abuelos:

Eduardo Castellanos

María Catalina Portillo Figueroa

A mis hermanos

Luis Eduardo Castellanos Herrera

Allan Rodrigo Castellanos Herrera

A mi asesor y amigo Erick Estrada, por todo tu apoyo.

A Edna José Vallejos Aguilar por su contribución para la realización de la fase experimental, sin tu ayuda esta investigación no hubiera sido posible.

A la familia Mazariegos López por su apoyo durante la realización de mi EPS, por su amistad y cariño.

A Evelin Calderón, Luz de María Carranza, Sandra Castillo, Ana Lucía Hernández, Ligia Mazariegos, María José Orantes, Sidney Romero, Elizabeth Solórzano, por estar siempre presentes.

ACTO QUE DEDICO

A mis padres:

Luis Eduardo Castellanos Portillo

Marta de Jesús Herrera Ruano

A mis abuelos:

Eduardo Castellanos, sin usted nada de esto fuera posible.

María Catalina Portillo Figueroa

Medardo Herrera Estrada

María del Socorro Ruano Roca

A Luz de María Carranza Revolorio, mi ángel.

A mi ahijado Sebastián.

A mis amigas y amigos, sin ustedes la vida no tendría tantas risas.

“Lo más terrible se aprende enseguida, lo más hermoso nos cuesta la vida”

ÍNDICE

	Página
I. Resumen	1
II. Introducción	2
III. Antecedentes	3
IV. Justificación	28
V. Objetivos	29
VI. Hipótesis	30
VII. Materiales y métodos	31
VIII. Resultados	39
IX. Discusión de resultados	46
X. Conclusiones	52
XI. Recomendaciones	54
XII. Referencias	55
XIII. Anexos	58

I. RESUMEN

Para determinar el efecto de la variación en la concentración de macronutrientes de cultivos hidropónicos en la biosíntesis de metabolitos en *Menta piperita* L. por cromatografía de gases, se llevó a cabo un estudio de tipo descriptivo de la influencia de nitrógeno, fósforo y potasio para la producción de los principales metabolitos secundarios presentes en mayor cantidad en las plantas de menta en dichos cultivos. Se realizaron cultivos hidropónicos dividiendo en grupos de tres series dentro de las cuales se omitió un macronutriente (nitrógeno, fósforo o potasio) y se variaron los porcentajes de los mismos a partir de las concentraciones ideales (N= 750 mg/L, P= 150 mg/L y K = 500 mg/L) con la finalidad de establecer el efecto en la síntesis de metabolitos secundarios de acuerdo a la variación realizada, así mismo se realizó un cultivo tradicional (en tierra abonada) como grupo control. Se llevó a cabo la detección de metabolitos en el aceite esencial obtenido por destilación por arrastre de vapor de agua, utilizando cromatografía de gases con detector FID.

Para menta cultivada tradicionalmente, se extrajo el aceite esencial por medio de Neoclevenger, se identificó y cuantificó en cromatografía de gases con detector de espectrómetro de masas (CG-MS). Se compararon los resultados contra la cromatografía de gases con detector FID (CG-FID) para determinar la presencia o ausencia de los metabolitos secundarios con mayor porcentaje de área en menta cultivada de forma hidropónica para los distintos tratamientos y variaciones de macronutrientes asignadas y cultivo tradicional. Se identificó diez metabolitos secundarios en mayor porcentaje de área, siendo estos: β -Mirceno, Limoneno, Eucaliptol, β -Ocimeno, Dihidrocarveol, Dihidrocarvona, Carveol, Carvona, B-Cariofileno, Germacreno D, compuestos ampliamente utilizados en industria farmacéutica, cosmética y alimenticia.

II. INTRODUCCIÓN

El ser humano, ante la actual problemática del abuso de la tierra, ha tenido la necesidad de desarrollar nuevos métodos que permitan cosechar todo tipo de cultivos, así como de mejorar características en la calidad y cantidad producida de los mismos. Dentro de estos métodos se encuentra la hidroponía, que si bien es un método descubierto el siglo pasado, ha sido utilizado hasta en la actualidad, permitiendo cultivar sin necesidad de la utilización de tierra, únicamente agregando soluciones para la nutrición de las plantas, aportándose además el beneficio de mantener reguladas las diversas condiciones a las que son expuestas dichos cultivos. Los principales macronutrientes necesarios para el crecimiento y realización de procesos de las plantas son nitrógeno, fósforo y potasio (Cogua, 2007).

La menta (*Mentha piperita* L.), es una de las principales plantas de uso farmacéutico, cosmético e industrial. Se propaga por estolón y puede crecer entre 40 y 80 cm. de alto y el tamaño de las hojas varía de 4 a 8 cm. de largo. Se adapta a cualquier condición climática, pero la mayoría de mentas prefieren climas templados. El aceite esencial se obtiene por medio de destilación de las hojas oreadas y principalmente está compuesto de mentol libre (26-50%), mentona (12-30%), β -felandreno (4-8%), acetato de mentilo (3-7%), mentofurano (2-6%), metiléster (20%) y terpenos. El aceite esencial tiene un potente olor a menta, balsámico y persistente; se usa como saborizante de alimentos, bebidas y licores. El aceite esencial es antiséptico, carminativo y espasmolítico.

Por sus propiedades y amplio uso en la industria cosmética, farmacéutica y de alimentos, se decidió evaluar la influencia de la omisión y/o variación de macronutrientes en la producción de metabolitos secundarios en *Mentha piperita* L. utilizando cultivos hidropónicos a través de cromatografía de gases con detector de ionización de llama (CG-FID) y comparación con cromatografía de gases acoplada a espectrómetro de masas (CG-MS) en cultivo tradicional para identificación de los compuestos presentes con mayor porcentaje de área.

III. ANTECEDENTES

A. Generalidades de la planta de menta (*Mentha piperita* L.) (Ver imagen Anexo No. 1)

1. Clasificación taxonómica:

Reino: Plantae

División: Spermatophyta

Subdivisión: Angiospermae

Clase: Dicotyledoneae

Orden: Tubuliflorae

Familia: Labiales (Lamiaceae)

Género: *Mentha*

Especie: *Mentha piperita* L. (Linnaeus)

Sinónimos: Hierbabuena de Menta, Piperita.

Partes utilizadas: hojas (Cáceres, 2006, p. 151; Cáceres, 1999. P.265; Osorio, 2009; Rojas, 1976, 1255).

2. Obtención

Se cultiva en forma casera y comercial. Requiere suelo medio a ligero, profundo, rico en humus, húmedo pero bien drenado, luminosidad. Se propaga por estolón o guía. Cultivo poco exigente, se recomienda fertilizar orgánica y químicamente; coleccionar la planta en floración. Se obtienen dos productos: hojas secas, haciendo dos cortes al año y secando a la sombra; y hojas oreadas, que al secarse en 1-2 días pierden un 30% de agua y se destilan para obtener aceite esencial (Cáceres, 2006, p. 151; Cáceres, 1999, p. 265).

3. Descripción botánica

Es una hierba perenne, se propaga rápidamente por sus estolones subterráneos aéreos, tallos de 40 a 80 cm de alto, cuadrados sin ramificaciones en la parte inferior

pero muy ramificado en la parte superior. Hojas variables de acuerdo a las razas, oblongas o lanceoladas, 4-8 cm de largo. Verde o rojizas, márgenes profundamente dentados. Flores de 8 mm de largo, corola rojo-rosadas, en las axilas de las brácteas (Cáceres, 1999, p. 265).

4. Hábitat

Crecen bien en varias condiciones climáticas, lluvia regular en época de crecimiento, soleado en la época de corte, la mayoría de las mentas prefieren climas templados hasta 1500 msnm, pero algunas variedades pueden crecer en clima subtropical con máximo crecimiento a 1000 msnm. En Guatemala se cultiva en terrenos húmedos y sombreados del altiplano central (Cáceres, 2006, p. 151; Cáceres 1999, p. 265, p. 265; Anleu, 1998).

5. Historia

Mentha piperita L. es una planta híbrida (*Mentha aquatica* x *Mentha spicata*). Si bien es una planta muy conocida desde la antigüedad (su uso data de aproximadamente 1.000 años antes de Cristo), fue hasta el año 1696 que se clasifica por el botánico Ray al encontrar una especie de menta con sabor a pimienta en Inglaterra. La llamó *Mentha piperita* (debido al sabor picante de su esencia parecido al de la pimienta = *piper*). Otros la llamaron *palustris* debido a la errónea creencia de que esta planta crecía en sitios palustres o pantanosos. El nombre genérico *Mentha* deriva de *Mintha*, una ninfa griega enamorada de Zeus, a quien los celos de la diosa Perséfone hicieron que se convirtiera en planta. Durante mucho tiempo constituyó una especia ofrecida como valor de cambio. Se consideran aproximadamente 30 las especies de menta conocidas, aunque en la antigüedad se utilizaban todas de la misma manera (menta, poleo, hierbabuena, mentastro, etc.). A tal punto llegaba esta confusión que un escrito de Willafried de Strabo en el S. XII decía: "... Si alguien es capaz de relacionar todas las propiedades de la menta, sin duda sabrá también cuantos peces nadan en el océano Índico". En 1730 fue

incorporada en la farmacopea inglesa y hoy figura en casi todas las farmacopeas mundiales (Cáceres, 1999, p. 265).

6. Agricultura

Se cultiva en forma casera y comercialmente. Requiere suelo medio a ligero, profundo, rico en humus, húmedo pero bien drenado, pH 6.0-7.5, abundante luminosidad. Se propaga por estolón o guía, sembrar en surcos delgados de 7-10 cm de profundidad y 40-80 cm entre filas: se requieren 400 kg de estolones/ha. Es un cultivo poco exigente, se recomienda fertilizar con 100-120 kg N/ha; las principales enfermedades son roya (*Puccinia menthae*), pulgón verde, altisas y nematodos fitófagos (*Meloydogyne* sp., *Pratylencoides* sp.); coleccionar la planta en floración. Pueden obtenerse dos productos, hojas secas, haciendo dos cortes al año y secando a la sombra y hojas oreadas, las que al dejarse secar 1-2 días pierden un 30% de agua y luego se destilan para obtener aceite esencial. (Cáceres, 1999, p. 265)

7. Usos medicinales atribuidos

La infusión de hojas se usa oralmente para tratar afecciones gastrointestinales (atonía del estómago e intestino, dolor de estómago, flatulencia, indigestión, ictericia, cálculos biliares, náusea), respiratorias (fiebre, resfrío, tos) y nerviosas (dolor de cabeza, insomnio, jaqueca, nerviosismo, tensión, vértigo), anemia y afecciones cardíacas; el alcoholato se usa para mejorar la digestión. El jugo con vinagre se usa para mejorar la sangre, matar las lombrices y mitigar el dolor de cabeza (Cáceres, 1999, p. 265).

Tópicamente se aplica en inhalaciones para resfríos, infecciones de la garganta y heridas; el ungüento se aplica como galactóforo, la cataplasma para el prurito de la piel y la infusión en vino para halitosis. Se le atribuye propiedad analgésica, antiparasitaria, aromática, carminativa, colagoga, espasmolítica, estimulante digestiva, eupéptica y tónica (Cáceres, 1999, p. 266).

Otros usos populares es el de las hojas frescas utilizadas para condimentar ensaladas y sopas, preparación de salsas y en la fabricación de licores y jarabes; el aceite esencial se usa en la industria de alimentos, caramelos, tabacaleras y gomas de mascar (Cáceres, 1999, p. 266).

8. Farmacología

Experimentalmente, estudios biocidas demuestran que el extracto etanólico de hojas tiene actividad insecticida; el extracto y aceite esencial tiene actividad contra hongos fitopatógenos (*Altenaria tenuis*, *Botrytis allii*, *Cladosporium fulvum*, *Curvularia penniseti*, *Helminthosporium* sp.), insectos (*Leptinotarsa decemlineata*) y virus (herpes, Newcastle) (Cáceres, 1999, p. 266).

Estudios farmacológicos demuestran que el extracto metanólico tiene buena actividad antiinflamatoria del edema de la oreja del ratón inducido por acetato de tetradecanoilforbol, lo que podría correlacionarse con la inhibición de promotores tumorales (Cáceres, 1999, p. 266).

El extracto hidroalcohólico concentrado 1:10 del volumen inicial presenta actividad analgésica en ratón únicamente con la técnica de la contorsión (1000 mg/kg); no presenta actividad por la técnica del golpe de cola (Cáceres, 1999, p. 266).

9. Composición química

Las hojas contienen flavonoides (apigenol, luteol, eriodictiol-7-O-rutósido), monoterpenoides (mentol, mentona), diterpenoides (β -betulenol, (-)-bicycloelemeno, principio amargo, ácidos fenólicos, triterpenos y taninos. El aceite esencial contiene mentol, carvona, cineol, timol, pineno, limoneno, ácido acético e isovalérico (Cáceres, 1999, p. 266).

En peso seco contiene un total de aminoácidos libres de 23.8 mmol/kg, constituidos por ácido γ -aminobutírico (6.0 mmol/kg), arginina (0.2 mmol/kg), glicina (1.8 mmol/kg), alanina (5.2 mmol/kg), asparagina (0.6 mmol/kg) y triptófano (0.1 mmol/kg) (Cáceres, 2006, p. 152; Cáceres, 1999, p. 266).

10. Farmacognosia

La materia médica son hojas y tallos frescos o secos, olor fuertemente aromático y característico, sabor picante y sensación de enfriamiento. Macroscópicamente son cortes de 1-2 cm de largo, flores pequeñas moradas en espigas terminales con cáliz tubular de 5 dientes. Microscópicamente la epidermis superior de la hoja está compuesta de células grandes, paredes delgadas, marcadamente sinuosas, engrosadas en los ángulos; las células de la capa inferior son más pequeñas; contiene numerosos estomas diácticos; tricomas glandulares y de cobertura presentes en ambas epidermis; la hoja es dorsi-ventral con una sola capa de células en empalizada. Cenizas totales no mayor de 12.5%, insolubles en ácido no más de 2%, materia extraña no más de 2 % (Cáceres, 1999, p. 266).

El aceite esencial (0.5-3.0%) está compuesto de mentol libre (26-50%), mentona (12-30%) [Ver Anexo No. 2] β -felandreno (4-8%), acetato de mentilo (3-7%), mentofurano (2-6%), metiléster (20%) y terpenos. El aceite esencial tiene un potente olor a menta, balsámico y persistente; densidad 0.900-0.927, índice de refracción 1.460-1.471; rotación óptica de -35° a 5° , soluble en alcohol (3-4 al 70%); se usa como saborizante de alimentos, bebidas y licores. El aceite es antiséptico, carminativo y espasmolítico (Cáceres, 1999, p. 267).

La esencia y los flavonoides le confieren acción aromatizante, antiséptica y analgésica. La planta contiene importantes cantidades de ácido rosmarínico (3.0% del peso) y derivados dihidroxicinámicos totales (6.1% de peso seco), los cuales son responsables de su actividad antioxidante ($EC_{50}=22 \mu\text{g/mL}$) (Cáceres, 2006, p. 152; Cáceres, 1999, p. 267).

Se comercializan productos fitofarmacéuticos alopáticos y homeopáticos de la planta completa, tales como infusión, jarabe, tintura, esencia, extracto seco nebulizado, linimento y otros preparados que contienen derivados como aceite esencial, mentol y mentona. En Europa se comercializan cápsulas con cubierta entérica para la irritación intestinal (Cáceres, 2006, p. 152; Cáceres, 1999, p. 267).

11. Toxicidad

El aceite esencial es tóxico si se ingiere, puede causar dermatitis; el mentol puede causar reacciones alérgicas. Los extractos acuoso y etanólico de hojas no son mutagénicos a *S. typhimurium* TA98, son moderadamente mutagénicos a TA102 y su CL50 es 185 µg/mL. El mentol tiene una DL50 por vía oral en ratas de 3180 mg/kg. (Cáceres, 2006, p. 152; Cáceres, 1999, p. 267).

12. Indicaciones terapéuticas

Por su acción antiemética, carminativa, diaforética y espasmolítica esta indicado su uso oral en el tratamiento de cólico intestinal, dispepsia flatulenta, dismenorrea, inapetencia, jaqueca, resfrío común y náusea del embarazo. Se recomienda administrar tres veces al día 2-4 g/taza en infusión; 0.25-1.0 ml de agua concentrada BP, 0-05-0.2 ml del aceite, 3-5 ml de tintura 1:10 en etanol 35%, 15-20 gotas de extracto fluido, 20-100 g/día de jarabe y 0.3-1.0 g/día de extracto seco nebulizado. Por su acción antiséptica y antiprurítica su aplicación tópica está indicada como compresas y lavados en el tratamiento de llagas, heridas, afecciones reumáticas, neuralgia, dermatomycosis, resfrío, bronquitis y sinusitis (Cáceres, 2006, p. 152; Cáceres, 1999, p. 266; Chiereghin, 2000, pp. 172-178; Arteche, 1998, pp. 323-324).

B. Hidroponía

Literalmente la palabra Hidroponía significa trabajo en agua. Se deriva del griego *Hydro* (agua) y *ponos* (labor, trabajo). Sin embargo el concepto es más amplio, e involucra todos los sistemas de cultivo que no utilizan el suelo como medio de cultivo,

en su lugar se utiliza agua o sustratos sólidos inertes como arena, piedra volcánica, cascarilla de arroz y carbón vegetal, entre otros. La nutrición se obtiene por medio de una solución nutritiva aplicada a través del riego, la cual contiene todos los elementos esenciales para el crecimiento y producción de los cultivos (Jiménez, 1998, p. 13; Marulanda, 1995, p. 7; Soto, 2002, p. 11).

Los sistemas hidropónicos pueden clasificarse de varias formas. Las dos más comunes son:

1. Por el manejo de la solución nutritiva:

- a) Sistemas abiertos: la solución nutritiva se drena libremente no reciclándose la solución sobrante. Usado principalmente cuando se usan sustratos inertes.
- b) Sistemas cerrados: La solución nutritiva se mantiene en contacto con las raíces cambiándose o ajustándose periódicamente usando en los cultivos en soluciones nutritivas o sustratos (Miranda, 1997, p. 12).

2. Por tipo de medio de cultivo en que se establecen las plantas, existen dos modalidades de cultivos hidropónicos:

- a) Modalidad en sustrato sólido: en la cual el cultivo se establece en un medio sólido como cascarilla de arroz, arena, tiestos molidos, piedra volcánica o mezcla de algunos de ellos.
- b) Modalidad de raíz en agua: en este caso el medio de cultivo es agua con los nutrientes necesarios para la planta. Algunos de los sistemas más utilizados en esta modalidad son los siguientes:
 - i. Raíz flotante: las raíces están sumergidas en solución nutritiva y las plantas están soportadas por una lámina de un material liviano.
 - ii. NFT (Nutrient Film Technique): técnica de cultivo de flujo laminar en nutrientes. Las raíces tienen láminas muy delgadas de solución nutritiva, varias veces al día o continuamente.

- iii. Aeroponía: las raíces de las plantas se encuentran suspendidas en el aire y son nutridas a través de un sistema de riego por nebulización (Jiménez, 1998, p.15; Miranda, 1997, pp. 12-13).

3. Sistemas de cultivo en sustrato sólido

- a) Cultivo en recipientes individuales: este sistema de producción se refiere básicamente al cultivo en hileras tales como albahaca y menta.
- b) El contenedor: los maceteros plásticos y bolsas negras de polietileno son los recipientes más utilizados, aunque también se pueden utilizar recipientes plásticos desechables como galones, cubetas de pintura o cajas de helados. De acuerdo al cultivo se debe tomar en cuenta las siguientes características:
 - i. El tamaño del recipiente: depende del cultivo a sembrar. El fondo del recipiente debe tener perforaciones o agujeros para permitir el drenaje (la salida del exceso del agua aplicada con el riego de lavado).
 - ii. Calibre y color: para evitar roturas durante el manipuleo de las bolsas de cultivo, se requiere un calibre mayor de 6 milésimas de pulgada. Dependiendo del clima se prefiere el negro o blanco/negro que absorben calor para las zonas frías, y blanco o plata que reflejan la luz y absorben menos calor para lugares calientes. Además es importante que no pase la luz para evitar el desarrollo y proliferación de algas (Valenzuela, 2008).

4. Sustratos hidropónicos

Sustrato se aplica en horticultura a todo material sólido distinto del suelo *in situ*; natural o de síntesis, mineral u orgánico que colocado en un contenedor, en forma pura o en mezcla, permite el anclaje del sistema radical desempeñando la función de soporte para la planta (Valenzuela, 2008).

- a) Características de un buen sustrato para hidroponía: los sustratos para utilizar en hidroponía deben reunir una serie de características que lo hagan apto para el

cultivo. Muchas veces un solo sustrato no reúne todas las características deseables por lo que hay que recurrir a las mezclas.

i. Retener humedad: la retención está en función a la granulometría del sustrato (tamaño del grano) y de la porosidad de las partículas que lo componen. La aireación de la mezcla, en las raíces es la siguiente: 30% materiales y 70% espacio libre o vacío, el cual será ocupado en partes iguales por aire y agua. De esta forma entre más elevada la capacidad de retención de agua del sustrato, menos frecuentes serán los riegos.

Para obtener una porosidad óptima se puede mezclar los materiales compactos con otros porosos y gránulos gruesos.

Los sustratos pueden retener humedad de dos formas: interior de los poros y superficie de las partículas. Además es importante saber el recorrido que el agua debe hacer de llegar a las raíces y salir por el drenaje. Cuando el sustrato es muy fino o el recipiente no tiene drenaje de salida, los espacios vacíos se llenan de agua, desplazando el aire e impidiendo la adecuada oxigenación de las raíces. Al poco tiempo las raíces se vuelven de color carmelita y luego mueren.

ii. Aireación: El sustrato debe permitir la normal respiración de las raíces. Hay que distinguir entre la aireación del sustrato y la aireación de la solución nutritiva. La aireación del sustrato se da a través de los poros del mismo y el espacio entre las partículas. La aireación de las partículas puede ser por aire a presión, agitadores y reciclaje.

iii. Estabilidad física: se determina a través del tiempo si se mantiene una porosidad correcta. Depende de la velocidad de disgregación y descomposición del sustrato (resistencia al desgaste). Entre más lento ocurre este proceso, más durabilidad tendrá el sustrato.

iv. Químicamente inerte: el sustrato debe ser químicamente inactivo. Ni aportar, ni absorber ningún elemento nutritivo que altere la solución nutritiva. Hay

ciertos sustratos como el aserrín, viruta de ciertas maderas, que puedan segregar ciertos taninos, los cuales son tóxicos para las plantas.

- v. Biológicamente inerte: el sustrato no debe ser portador de ninguna forma viva de macro o microorganismos, para disminuir los riesgos de propagar enfermedades y plagas a las plantas, a las personas o animales que las van a consumir. Al inicio del cultivo el sustrato debe estar libre de plagas y enfermedades.
- vi. Drenaje: tanto el recipiente como el sustrato deben permitir un buen drenaje. Existen algunas formas de aportar drenaje en los cultivos hidropónicos: drenaje por inclinación del recipiente; orificios interiores: botes, bolsas o sacos, columnas verticales; a través de mangueras delgadas: cajas forradas con plástico
- vii. Capilaridad: esta característica consiste en la capacidad de absorber agua a través de los microporos y transportarla en todas direcciones. Esta característica es esencial cuando se utiliza el sistema de riego por goteo. Cuando el sustrato carece de capilaridad el movimiento del agua es vertical a través del perfil mismo, llegando muy rápido al drenaje final y dejando zonas sin humedecer.
- viii. Liviano: el peso es importante para determinar la estructura a construir. El más liviano de los sustratos es la cascarilla de arroz.
- ix. Disponibilidad: tener dicho recurso en la zona.
- x. Bajo costo: este factor determina antes que otras condiciones, el sustrato a utilizar.
- xi. Color: se prefieren coloraciones oscuras.
- xii. Libre de residuos: que no contengan residuos industriales o humanos (Jiménez, 1998, pp. 44-46).

b) Clasificación de las materias primas utilizadas como sustratos

- i. Inorgánicos o de origen mineral: naturales como arenas, piedras volcánicas, gravas y piedra pómez; transformados o tratados se llama a los que se obtienen a través de procesos industriales, tales como perlita, vermiculita, arcilla expandida y lana de roca; residuos de la industria como el carbón mineral, teja o ladrillo molido, desecho molido, entre otros.
- ii. Orgánicos: naturales como materiales biodegradables tal es el caso de la turba (peatmos); residuos industriales o subproductos de actividades agrícolas o industriales, como cascarilla de arroz, fibra de coco, cascarilla de macadamia, aserrín, residuos de corcho y cortezas de árboles; sintéticos son polímeros orgánicos no biodegradables obtenidos por síntesis química, como la espuma de poliuretano (esponja) y poliestireno expandido (estereofón) (Soto, 2002, p. 21).

5. Características de algunos sustratos orgánicos:

- a) Cascarilla de arroz: es un subproducto del descascarado del arroz y posee características deseables tales como baja tasa de descomposición, es liviano, de buen drenaje y de bajo costo. Sin embargo, cuando se utiliza fresco y seco presenta una baja retención de humedad, y contiene residuos de cosecha como granos enteros, puntilla de arroz, semolina y semillas de malezas que al fermentar producen alcoholes y ácidos que afectan las raíces del cultivo. Por esta razón, es necesario un tratamiento previo de humedecimiento, fermentación y lavado, con el objetivo de que estas impurezas se degraden antes de usarlo. Además, este material puede aportar hongos, bacterias y residuos de herbicidas.
- b) Arena de Río o Tajo: presenta una buena estabilidad física y una excelente aireación, no debe contener tierra ya que fija el fósforo.
- c) Gravas o quintilla: compuesta de roca triturada, tiene buen drenaje pero baja capilaridad, por lo cual se recomienda para cultivos en bancales. Por lo afilado e irregular de las partículas puede causar deformación en los cultivos a nivel de tallo y en el bulbo o raíz.

- d) Piedrilla volcánica: puede ser de color rojo o negro y tiene una buena porosidad interna que le permite retener humedad.
- e) Piedra pómez: es un material color blanco, poroso, físicamente estable y liviano.
- f) Ladrillos y tejas quebradas: tiene una excelente porosidad y es de bajo costo. No obstante tiende a disgregarse físicamente a través del tiempo y si la forma de las partículas es muy irregular presenta los mismos problemas que la grava (Soto, 2002, pp. 26-27).

6. Desinfección del sustrato

Es el punto de partida en la prevención de plagas y enfermedades. Microorganismos tales como hongos, bacterias, virus, nemátodos e insectos pueden diseminarse a través del sustrato. Por tanto, es necesaria su desinfección antes de usarlo. Los métodos pueden ser:

- a) Solarización: el sustrato se humedece, luego se extiende en una altura de veinte centímetros dentro de bolsas plásticas transparentes bien amarradas y se dejan expuestas al sol durante 15 a 22 días mínimo. Las altas temperaturas que se generan durante el día y las bajas durante la noche hacen que se dé un proceso de pasteurización natural, que permite eliminar semillas, insectos, hongos y bacterias.
- b) Vapor de agua: el tratamiento con calor entre 70 y 80° C ha demostrado ser uno de los métodos más efectivos para desinfectar sustratos, puesto que la mayoría de microorganismos patógenos son destruidos a temperaturas alrededor de 75°C. Además a estas temperaturas sobreviven otros organismos benéficos.
- c) Agua hirviendo: se aplica saturando bien el sustrato, luego se cubre y se deja enfriar para la siembra.
- d) Métodos químicos: cloro de uso doméstico (3.5 a 4% Hipoclorito de sodio) se diluye de 4 a 10% (40 a 100 mL por litro de agua), en la cual se sumerge los sacos de sustratos por 20 a 30 minutos. Posteriormente se saca y se deja drenar, luego

se coloca en la cama de cultivo por unos dos días para que el cloro se evapore o se lave para poder sembrar (Soto, 2002, pp. 27-28).

7. Nutrición del cultivo

Existen 16 elementos considerados esenciales para el crecimiento normal de las plantas. De éstos, 13 son elementos minerales. La falta de uno de ellos puede disminuir los rendimientos del cultivo y se manifiestan con síntomas de deficiencia que se identifican relacionando la función y la movilidad del nutriente. Esta se refiere a la velocidad con que se mueven los nutrientes dentro de la planta, una vez que son absorbidos, desde las partes viejas hacia los brotes en crecimiento (Soto, 2002, p. 30).

Los elementos minerales se han clasificado de acuerdo a la cantidad en que los absorben las plantas de la siguiente forma:

- a) Macronutrientes o elementos mayores: las plantas los requieren en cantidades más altas y dentro de estos están los primarios: nitrógeno, fósforo, y potasio; e intermedios o secundarios: azufre, calcio y magnesio.
- b) Micronutrientes o elementos menores: se requieren en cantidades muy pequeñas, como el cobre, manganeso, zinc, hierro, boro, molibdeno y cloro.
- c) No indispensables: silicio, vanadio, selenio y sodio (Soto, 2002, p.30).

Todos estos pueden ser aportados por la solución nutritiva, mientras que carbono, hidrógeno y oxígeno son obtenidos del aire y agua. Los nutrientes minerales disueltos en la solución nutritiva son absorbidos a través de las raíces y luego distribuidos a los diferentes órganos de la planta donde cumplen funciones específicas. Para una óptima nutrición es necesario aplicar los nutrientes en las cantidades requeridas y en la proporción adecuada. La falta o el exceso de uno de ellos pueden causar deficiencia o toxicidad (Soto, 2002, p. 30).

8. Funciones de los macronutrientes dentro de las plantas

- a) Nitrógeno: es considerado como el cuarto elemento más abundante en vegetales después del carbono, hidrógeno y oxígeno. Como componente de proteínas, coenzimas, nucleótidos y clorofila está implicado en todos los procesos de crecimiento y desarrollo vegetal. Su principal síntoma de carencia, la clorosis, se debe a una inhibición de la síntesis de clorofila. Las plantas pueden absorber el nitrógeno en forma catiónica como ión amonio, o en forma aniónica como ión nitrato. A menos que el medio de cultivo esté tamponado, la absorción de amonio tiende a disminuir el pH mientras que la absorción de nitrato tiene efectos contrarios. En la mayoría de los suelos bien aireados, los nitratos son la forma principal de reserva nitrogenada. La absorción de amonio suele provocar en las plantas una gran demanda de carbohidratos, ya que al poder ser utilizado inmediatamente en la síntesis de aminoácidos se requiere un suministro adecuado de esqueletos carbonados que por aminación se transformarán en aminoácidos. La absorción de nitratos no provoca este efecto ya que tiene que ser primeramente reducido y, por ello, la demanda de carbohidratos es menor. El ión amonio puede actuar como activador de varios enzimas, generalmente los mismos para los que el potasio actúa como catión activador.
- b) Fósforo: gran parte del fósforo del suelo se encuentra en forma inorgánica, especialmente en forma de iones fosfato. La cantidad de una y otra forma depende del pH de modo que a pH bajo se favorece la forma HPO_3 y a pH elevado, la forma HPO . Fundamentalmente es absorbido en la forma ácida. Al contrario que otros elementos tomados también en forma aniónica, nitrato y sulfato, el fosfato, no necesita ser reducido en el interior de la célula antes de ser incorporado en compuestos orgánicos. Forma parte de los ácidos nucleicos, adenosin-fosfatos (AMP, ADP, ATP) piridin nucleótidos (NAD, NADP) por lo que participa en todas las reacciones energéticas del metabolismo, procesos anabólicos y transferencia de las características hereditarias. Su deficiencia, por tanto, provoca severas alteraciones del metabolismo y desarrollo vegetal. El

fósforo forma parte también de otros componentes de las plantas como el piridoxal fosfato, que actúa como coenzima de los sistemas de transaminación, y ácido fítico, principal forma de reserva de fósforo en las semillas.

- c) Potasio: este elemento es el único catión monovalente que es esencial no solamente para los vegetales, sino también para todos los seres vivos, con la excepción de algunos microorganismos en los que puede ser sustituido por el rubidio. Aunque la mayoría de las plantas requieren cantidades relativamente grandes de potasio, no ha sido aislado ningún metabolito vegetal que contenga este elemento. El principal papel del potasio es el de actuar como activador de numerosas enzimas entre las que se puede citar: acético tiokinasa, aldolasa, piruvato kinasa, succinil-CoA sintetasa, ATPasas, etc. No está aún aclarado el porqué para una acción simplemente catalítica como es la de actuar como activador enzimático requieren las plantas concentraciones relativamente elevadas de potasio. Se ha sugerido por algunos investigadores que el potasio mantiene un ambiente iónico apropiado para preservar la estructura tridimensional necesaria en orden, también parece desempeñar un papel importante en el transporte de azúcares por el floema, y de hecho el potasio está implicado en la teoría electro-osmótica de transporte de solutos por el floema. También durante los últimos años ha ido ganando cada vez más aceptación el papel del potasio en los mecanismos reguladores de la abertura y cierre de estomas (Cogua, 2007).

9. Solución de nutrientes

Es una preparación de la mezcla nutritiva que se aplica cada día a los cultivos hidropónicos. Se aplican entre dos a tres litros de solución preparada por cada metro cuadrado de cultivo. Variaciones relacionadas con la concentración de la solución, la cantidad que se debe aplicar y otros detalles que tienen que ver con una buena nutrición se van aprendiendo en la medida en que se adquiere experiencia y destreza en el manejo de cultivos. Si el sustrato se seca durante el día conviene

hacer riegos adicionales, pero sin mezclar nutrientes. Es indispensable este humedecimiento adicional porque si el sustrato se seca la planta deja de comer aunque hay nutrientes dentro de él (Valenzuela, 2008).

Los nutrientes se deben aplicar diariamente y en algunos casos, según el clima, la planta cultivada y el sustrato, se pueden rociar un día de por medio. La hora más apropiada para poner el nutriente es entre las 7 y 8 de la mañana. En regiones muy soleadas y de intenso calor durante el día, se recomienda aplicarlos al amanecer para evitar quemaduras a las hojas. Estas también se pueden evitar si después de aplicar la solución nutritiva, se riega adicionalmente una pequeña cantidad de agua sola para lavar los excesos que hayan podido quedar sobre la planta (Valenzuela, 2008).

Un día a la semana no se aplica nutriente, pero se riega con una cantidad de agua mayor (2 veces la cantidad que normalmente se ha estado aplicando cada día) con el fin de lavar las sales que se puedan haber acumulado en el sustrato ya que si éstas se dejan podrían producir intoxicaciones o retrasos al cultivo (Miranda, 1997).

10. Almacigos hidropónicos

El área de semillero es un espacio destinado para brindarle a las plántulas los máximos cuidados desde la siembra de la semilla hasta el transplante (Anexo No. 3). El espacio puede estar al aire libre o protegido. No obstante los almacigos hidropónicos bajo invernadero crecen, más vigorosos, sanos y de crecimiento uniforme. Cada cultivo tiene su momento óptimo de transplante, aplicando diferentes criterios, como el número de hojas, altura de la plántula, edad de la planta, y un adecuado desarrollo de raíces (Soto, 2002, p. 41).

11. Factores que deben tomarse en cuenta al establecer una huerta hidropónica:

a) Espacio disponible: es posible cultivar en menos de un metro cuadrado hasta el área del patio más grande de una casa de habitación.

En la mayoría de unidades a pequeña escala, el área varía entre 10 y 30 metros cuadrados, hasta áreas de 200 a 300 metros cuadrados. Los invernaderos comerciales normalmente superan los 200 metros cuadrados, lo que permite comercializar los productos obtenidos y utilizar mano de obra contratada. Existen diferentes lugares donde se puede ubicar la huerta, tales como patios traseros, terrazas, azoteas, techos, patios de luz, cerca de ventanas y lotes comunales. El lugar debe estar protegido de animales, personas ajenas, vientos fuertes y altas precipitaciones, con el fin de evitar daños a las plantas. Si es necesario usar tapavientos con barreras de plantas, sacos u otro material que no limite la ventilación (Jiménez, 1998, p.86; Soto, 2002, p. 21). Además de esto deberá contar con agua limpia (potable), electricidad, y todo aquello que facilite las labores a ser llevadas a cabo.

b) Sistema de cultivo bajo condiciones hidropónicas: inicialmente el tipo de sistema que se quiera establecer limita el tamaño inicial de la Unidad Hidropónica, ya sea por el espacio que ocupa, la inversión inicial y la adquisición de los componentes del sistema de cultivo.

c) Tipo de recipiente: en cuanto al tipo de recipiente algunos son fáciles de construir o conseguir por lo que puede influir con el espacio o tamaño inicial de la unidad hidropónica.

d) Tipo de sustrato: Algunas veces el tipo de sustrato o mezcla que se selecciona no son propios de la zona o región, lo que dificulta su adquisición y encarece su costo, limitando la expansión del sistema.

e) Condiciones técnicas: la falta de capacitación o instrucción puede influir en el capital con que se cuenta con la mala inversión de los recursos generados (Jiménez, 1998, p. 20).

f) Factores ambientales: los factores ambientales de mayor significación para el desarrollo de las plantas son:

i. Temperatura: ésta es producto de la radiación infrarroja absorbida por objetos oscuros y liberada en forma de calor. Influye en la fotosíntesis, la respiración, las actividades enzimáticas de las células, capacidad de absorción de las raíces, además de la disponibilidad de nutrientes. Al aumentar la temperatura de 0 a 35 °C, la fotosíntesis sigue la regla de Van Hoff, es decir, cada 10 °C dicha función se incrementa 2-3 veces. Con el aumento de la temperatura sobre un cierto límite la fotosíntesis disminuye su intensidad o la interrumpe por completo. (Miranda, 1997, p. 5) En términos generales, la temperatura interna debe estar en el rango de 22 a 25 grados centígrados en el día y evitar que baje bruscamente en la noche (Soto, 2002, p. 21).

Con el descenso de la temperatura por debajo de la temperatura óptima, la actividad vital se debilita paulatinamente; disminuye la intensidad de la fotosíntesis, la respiración, la extracción de agua y de sustancias nutritivas.

ii. Luz: es el factor ambiental que más influye sobre el crecimiento, floración y producción de las plantas. Mediante la limitación de este factor, la productividad de la fotosíntesis se reduce, así como también la cantidad de las sustancias orgánicas de la síntesis y, por consiguiente, la calidad y cantidad de la producción. La fotosíntesis más intensa ocurre en la clorofila mediante la absorción de los rayos anaranjados y rojos, porque estos tienen la mayor cantidad de energía radiante. Los rayos azul-violeta muestran menor actividad fotosintética, apenas 14 % de la actividad de los rayos rojos. La luz directa así como la luz difusa es igualmente aprovechada productivamente por las hojas; en algunos casos la luz directa puede causar quemaduras en los órganos de las plantas. En algunas especies el máximo de fotosíntesis se realiza mediante la menor intensidad de la luz, y en otras absolutamente al contrario.

iii. Agua: las diferentes especies contienen de 65 a 95 % de agua. Ayuda a la formación de los distintos órganos de las plantas. Las plantas sembradas en condiciones de insuficiencia de humedad del suelo y del aire son de menor tamaño, menos jugosas y de menor calidad. En caso de exceso de humedad el

contenido de agua de los órganos se aumenta, la cantidad de materia seca se disminuye, así como las cantidades de azúcar, ácidos y de otros componentes. Para su germinación normal, las semillas de todas las especies necesitan humedad suficiente. En las primeras etapas de desarrollo, cuando el sistema de raíces todavía es débil, las plantas generalmente son más exigentes en humedad. Más importante aún es la fase en que se diferencian y forman los órganos reproductivos. En cuanto a la humedad relativa, que es el porcentaje de saturación de vapor de agua que un volumen de aire puede contener, ésta se encuentra directamente relacionada con el clima, debe tenerse cuidado con el clima cálido, ya que si la humedad interna aumenta dentro del invernadero, favorecerá el ataque de plagas y enfermedades.

El gasto de agua también depende del viento, de la insolación, la temperatura, y la humedad del aire, etc. El consumo de agua siempre es mayor en presencia de fuertes vientos, de una mayor intensidad de luz, de elevadas temperaturas y de baja humedad del aire. En caso de escasez de agua las plantas detienen su crecimiento. La sequía contribuye a la disminución de la capacidad de absorción del sistema de raíces, puesto que las raíces se cubren de una capa de cutícula más gruesa y algunas de las más activas mueren. La sequía apresura el envejecimiento de las plantas.

- iv. Aire: por medio de la energía de la luz los órganos de la planta fijan el carbono del CO₂. Para la realización de los procesos energéticos dentro de la planta, esta se ve necesitada también en presencia de oxígeno. Las plantas pueden comenzar a mostrar síntomas de intoxicación cuando la concentración del CO₂ del aire contenido en el suelo alcance el 1%.

En la regulación de la acción de los gases está establecido que mediante el aumento excesivo del contenido de CO₂ en el aire disminuyen considerablemente los rendimientos (Miranda, 1997, pp. 5-11).

Un invernadero hidropónico se define como una instalación rural o urbana, que cubre o protege un área determinada para el establecimiento, desarrollo y producción de cultivos seleccionados. Como condición principal el techo debe permitir la entrada de luz solar. El objetivo principal de este tipo de instalaciones es proteger los cultivos de lluvias fuertes, vientos, plagas, enfermedades. Debe de cubrir las necesidades descritas anteriormente (Jiménez, 1998, p. 19).

12. Tipos de Invernadero (ver ilustración en Anexo No. 4)

- a) Tipo capilla o dos aguas: con techo en dos vertientes en sentido contrario.
- b) Diente de sierra: estructura diseñada de tal forma que la cubierta o techo tienen el mismo sentido hasta 4 o más aguas. Son ideales para laderas aunque requiere mayor cantidad de materiales.
- c) Tipo arco: el techo tiene forma de arco que inicia desde el suelo. La temperatura interior suele ser demasiado alta por lo que requiere sistemas de ventilación, sin embargo, tiene la ventaja de ser más barato y permite un buen aprovechamiento de la luz solar.
- d) Tipo semiarco: el techo es cilíndrico y las paredes son verticales (Jiménez, 1998, p.25-26).

13. Ubicación del Invernadero: en la ubicación de un invernadero se deben tomar en cuenta varios aspectos básicos como son:

- a) Tipo de suelo: con buen drenaje para evitar encharcamientos.
- b) Topografía del terreno: seleccionar lugares con poca pendiente, reduciendo la exposición directa a vientos fuertes.
- c) Dirección de los vientos: para considerar la construcción de barreras rompevientos.
- d) Disponibilidad de riego: distancia a la fuente de suministro y calidad del agua para riego (Jiménez, 1998, p. 20).

e) La orientación del invernadero: se refiere a la disposición del largo del invernadero con respecto al movimiento del sol y dirección del viento. Con respecto al sol, se debe procurar que el largo de los techos quede directamente expuesto a los rayos del sol, con el fin de captar la mayor cantidad de horas luz. En cultivos en hileras, por nuestra ubicación geográfica en el trópico, se debe orientar de este a oeste, para una mayor captación de luz solar y una mayor fotosíntesis (Marulanda, 1995, p.8).

C. Cromatografía de gases

Existen dos tipos de cromatografía de gases: la cromatografía gas-líquido (CGL) y la cromatografía gas-sólido (CGS). La primera tiene gran aplicación en todos los campos de la ciencia; su denominación se suele abreviar cromatografía de gases (CG). La segunda se basa en una fase estacionaria sólida en que la retención de los analitos ocurre porque hay adsorción. Su aplicación es limitada debido a la retención semipermeable de las moléculas activas o polares y a la obtención de picos de elución con colas muy notables. La formación de las colas es resultado de la naturaleza no lineal del proceso de adsorción. Por tanto, esta técnica no ha encontrado una gran aplicación excepto para la separación de ciertas especies gaseosas de bajo peso molecular (Skoog, 2008, p. 582).

En la cromatografía gas-líquido el analito se divide entre una fase móvil gaseosa y una fase líquida inmovilizada sobre la superficie de un relleno sólido inerte o en las paredes de un tubo capilar. El concepto de cromatografía gas-líquido fue enunciado por primera vez por Martin y Synge, sin embargo tuvo que pasar más de una década antes de que la importancia de la cromatografía gas-líquido se demostrara en forma experimental y la técnica se empezara a utilizar en forma rutinaria como herramienta de laboratorio (Skoog, 2008, p. 582).

En cromatografía de gases, la muestra se inyecta en la fase móvil, la cual es un gas inerte (generalmente He). En esta fase, los distintos componentes de la muestra pasan a través de la fase estacionaria que se encuentra fijada en una columna. Actualmente, las más empleadas son las columnas capilares. La columna se encuentra dentro de un horno con programación de temperatura. La velocidad de migración de cada componente (y en consecuencia su tiempo de retención en la columna) será función de su distribución entre la fase móvil y la fase estacionaria. Cada soluto presente en la muestra tiene una diferente afinidad hacia la fase estacionaria, lo que permite su separación: los componentes fuertemente retenidos por esta fase se moverán lentamente en la fase móvil, mientras que los débilmente retenidos lo harán rápidamente. Un factor clave en este equilibrio es la presión de vapor de los compuestos (en general, a mayor presión de vapor, menor tiempo de retención en la columna). Como consecuencia de esta diferencia de movilidad, los diversos componentes de la muestra se separan en bandas que pueden analizarse tanto cualitativa como cuantitativamente mediante el empleo de los detectores seleccionados. Existen tres técnicas básicas de inyección de muestras (líquidas o gaseosas) en columnas capilares: split, split-less y on column. Las dos primeras consisten en inyectar y vaporizar la muestra en una cámara de vaporización. El sistema split desvía la mayor parte de la muestra fuera del sistema cromatográfico y envía sólo una pequeña fracción a la columna. El método split-less dirige toda la muestra a la columna, por lo que resulta más adecuado para el análisis de trazas o de componentes muy volátiles. La inyección on column se lleva a cabo en frío, eliminando la etapa de vaporización que podría producir la descomposición de los compuestos termolábiles. En ocasiones, por ejemplo en el caso de muestras de tejidos, se desean analizar los componentes volátiles contenidos en muestras sólidas. En tal caso, es necesario efectuar una extracción previa con un disolvente adecuado e inyectar el extracto en la columna. La extracción de espacio en cabeza (HS: "head-space") es una alternativa más rápida a la extracción en Soxhlet, que además evita la pérdida de los componentes más volátiles. En este método, la muestra sólida se coloca en un vial sellado con un septum

y se calienta durante un tiempo determinado a la temperatura fijada. Durante esta operación, la mayor parte de los compuestos volátiles se transfieren al aire del vial, denominado espacio de cabeza. Se calienta el tiempo suficiente para que se alcance el equilibrio. Seguidamente, con una jeringa se toma una alícuota del aire del vial y se inyecta en el cromatógrafo. La aguja de la jeringa debe calentarse a la misma temperatura que la muestra para evitar condensaciones sobre la misma (Gutiérrez, 2002).

1. Aplicaciones de la Cromatografía de Gases

Para evaluar la importancia de la cromatografía de gases (GC) es necesario distinguir entre los dos papeles que desempeña la técnica. Primero, la cromatografía de gases es una herramienta para efectuar separaciones. En este sentido los métodos de la GC son inmejorables cuando se aplican a muestras orgánicas complejas, a organometálicos y a sistemas bioquímicos conformados por especies volátiles o por especies que pueden someterse a un proceso para producir sustancias volátiles. El segundo papel que desempeña la GC es en la terminación de un análisis. En este caso se emplean los tiempos o volúmenes de retención para la identificación de cualitativa y las alturas de los picos o sus áreas dan información cuantitativa. Desde el punto de vista cualitativo, la GC es una técnica mucho más limitada que la mayoría de los otros métodos espectroscópicos. Por eso una tendencia importante en este campo ha sido en la dirección de combinar las notables cualidades para la separación que tiene la GC con las propiedades de identificación que poseen instrumentos como los espectrómetros de masas, de infrarrojo y de resonancia magnética nuclear (Skoog, 2008, p. 761).

2. Análisis Cuantitativo

La altura del pico o área bajo el pico de un producto de elución de una columna cromatográfica se utilizan ampliamente en los análisis cuantitativos o semicuantitativos. En condiciones muy bien controladas se puede alcanzar una

exactitud (relativa) de 1% con el método del patrón externo o interno. Como con la mayoría de las técnicas analíticas, la confiabilidad se relaciona directamente con el control de las variables; la exactitud también depende en parte de la naturaleza de la muestra. El estudio general del análisis cromatográfico cuantitativo se aplica tanto a la cromatografía de gases como a los otros tipos (Skoog, 2008, p. 761).

D. Terpenos

Los vegetales producen terpenoides, también conocidos como terpenos. (Gutiérrez, 2002) Los terpenos son una familia muy diversa de compuestos. Estos se forman al unirse subunidades de isopreno de cinco carbonos. Las unidades de isopreno forman tres acetatos mediante una serie de reacciones. Los acetatos inician la reacción ligados a una gran molécula denominada Coenzima A (CoA) (Nabors, 2006, pp. 185-186).

Muchos se aíslan de los aceites esenciales de las plantas. Los aceites esenciales son mezclas, a veces muy complejas, de diversos compuestos, y se usaron durante siglos como perfumes, saborizantes y medicinas, antes de que la química pudiera aislar e identificar por lo menos a sus componentes mayoritarios (Bruneton, 2001, p. 176; Kuklinski, 2000, pp. 136-137; Slowing, 1999, p. 89).

En Guatemala no se han realizado estudios en los cuales se haya investigado la variación de metabolitos secundarios en *Mentha piperita* hidropónica. Sin embargo se han realizado otras investigaciones dentro de la Universidad de San Carlos de Guatemala en las cuales la hidroponía, *Mentha piperita* o su principio activo han sido objeto de estudio:

1. 2007. Castillo, B. Validación farmacológica de la actividad sedante e hipnótica de las infusiones acuosas de las hojas de *Mentha piperita* (Menta), hojas de *Ternstroemia tepezapote* (trompillo), y bulbo de *Allium cepa* (cebolla) en ratones machos albinos; concluyéndose que, las infusiones acuosas de Menta a dosis de 750 y 100 mg/kg, no poseen actividad sedante e hipnótica.

2. 2004. Barrera, D. Evaluación de cinco variedades de lechuga *Lactuca sativa* L. con la técnica hidropónica solución nutritiva recirculante (NFT); donde se demuestran las ventajas de esta técnica y sus resultados en el cultivo de lechuga, en donde la variedad Romana obtuvo mayor rentabilidad.
3. 2003. Estrada, R. Caracterización de sustratos orgánicos e inorgánicos a nivel de región en Guatemala y su efecto en el rendimiento de hortalizas en cultivo hidropónico. Concluyendo que la principal característica química de los sustratos es que éstos deben ser completamente inertes.
4. 1999. Dieguez, K. Comparación del contenido de nutrientes de rábano (*Raphanus sativus*) y acelga (*Beta vulgaris* var. Cicla) cultivados en huertos hidropónicos populares y sustrato natural (suelo). Se realizó análisis químico y cuantificación por digestión con análisis ICP (Inductively Couple Plasma); encontrándose diferencias significativas entre el cultivo hidropónico y el del suelo, concluyendo que para rábano los macronutrientes son mayores al cultivarse en sustrato natural y para acelga éstos son variables.
5. 1993. Campos, L. Evaluación de la calidad de algunas plantas medicinales comúnmente distribuidas en Guatemala: *Illium venum* Hook (anís estrellado), *Rosmarinus officinalis* L. (romero), *Mentha spp* (menta), *Eucaliptus spp* (eucalipto), *Cinchona spp* (quina). Donde se demuestra que más del 50% de las muestras vegetales colectadas en centros naturistas no cumplen con los requisitos de calidad adecuados para su comercialización.
6. 1972. Castillo, R. Factibilidad para producir mentol y aceite de menta en Guatemala. El cual constituye una guía para poder establecer una planta de producción de mentol extraído de *Mentha piperita* en Guatemala.

IV. JUSTIFICACIÓN

Existen varios factores del suelo (sustrato natural) en los cultivos tradicionales que influyen en el crecimiento de las plantas, tales como: concentración de oxígeno, temperatura, agua, pH, disponibilidad de nutrimentos (deficiencia, desbalance y toxicidad) acumulación de sales, drenaje, presencia de capas compactadas y actividad microbiológica, grado de inclinación y altitud. Además cabe mencionar otros factores ajenos al suelo, siendo éstos los siguientes: luminosidad, temperatura, humedad relativa, vientos, plagas y malezas, precipitación pluvial, etc. Las plantas cultivadas tradicionalmente están en mayor riesgo de contaminación por heces y pesticidas. En la mayoría de los casos, las plantas se ven afectadas negativamente, no por un factor, sino por la asociación e interacción de varios.

Con la utilización de cultivos hidropónicos todos estos factores pueden ser estrictamente controlados, llevando así a la obtención de plantas con mayor calidad, ya que se minimizan los riesgos de contaminación por bacterias y hongos, por lo que se estimó la eficiencia del método para determinar si la cantidad de metabolitos secundarios presentes es mayor con cultivos hidropónicos que en las plantas cultivadas en tierra abonada (cultivo tradicional), determinando su influencia y variabilidad en la producción de metabolitos de acuerdo a la variación de concentración de macronutrientes, como materia prima de mayor calidad y confiabilidad para la industria farmacéutica, cosmética y alimenticia.

V. OBJETIVOS

A. Objetivo general:

Determinar el efecto de la variación de las concentraciones de macronutrientes en cultivos hidropónicos, respecto de la biosíntesis de metabolitos secundarios obtenidos de la planta *Mentha piperita* L.

B. Objetivos específicos:

1. Comparar el tamaño de hojas y tallo entre cultivos hidropónicos y cultivo tradicional.
2. Obtener los diferentes extractos de *Mentha piperita* L. por medio del método por arrastre con vapor de agua.
3. Comparar presencia de metabolitos secundarios de cultivos hidropónicos con los obtenidos en condiciones de cultivo tradicional.
4. Determinar los metabolitos presentes en *Mentha piperita* L. para las diferentes variaciones de tratamiento asignadas.

VI. HIPÓTESIS

La variación de macronutrientes en el cultivo hidropónico de *Mentha piperita* L. no influye en la biosíntesis de metabolitos secundarios.

VII. MATERIALES Y MÉTODOS

A. Universo:

Hojas de *Mentha piperita* L. (Menta).

B. Muestra:

Aceite esencial extraído por arrastre de vapor de las hojas de menta obtenidas de los diversos métodos de cultivo (cultivo tradicional y cultivo hidropónico), utilizando variación en la concentración de nitrógeno, fósforo y potasio.

C. Recursos:

1) Recursos Humanos:

- a) Autora: Claudia Vanessa Castellanos Herrera.
- b) Asesor: Lic. Erick Estrada.
- c) Revisora: Licda. Julia Amparo García Bolaños.

D. Equipo

Cromatógrafo de gases marca Thermo, detector FID

- Columna: HP-5, 30m x 0,32 mm x 0,25 μ m (5% - fenilmetilpolisiloxano)
- Temperatura del inyector: 200 °C
- Temperatura del detector (FID): 300 °C
- Temperatura del horno: 110 °C constante por 10 minutos (Molina, 2006)

Cromatógrafo de gases acoplado a espectrómetro de masas

- Metodología del laboratorio externo.

Bomba para recircular agua utilizada en extracción por arrastre de vapor.

Monitor de temperatura y humedad TempTale 4 Sensitech.

E. Materiales

- Esquejes enraizados de *Mentha piperita* L. de una misma planta madre.
- Sustrato: Cascarilla de arroz/arena (50:50)
- Bolsas plásticas de 2 Lbs. para siembra
- Envases plásticos cilíndricos con capacidad de 1 L
- Jeringas plásticas de 5 mL de agua potable
- Tierra abonada
- Manguera con aspersor
- Hielo

F. Cristalería:

- Beacker (10, 25, 100 y 1000 mL)
- Balón aforado (500 mL)
- Probeta (10 mL)
- Varilla de agitación
- Ampolla de decantación
- Mechero
- Pinzas
- Manguera
- Recipientes de 25 mL con tapón de rosca

G. Reactivos

- Macronutrientes:
 - Nitrato de sodio
 - Fosfato cálcico
 - Sulfato de Potasio

- Micronutrientes
 - Sulfato de magnesio
 - Sulfato de cobre
 - Sulfato de manganeso
 - Sulfato de zinc
 - Molibdato de sodio
 - Ácido bórico
 - Sulfato ferroso
 - Fe-EDTA
- Otros
 - ✓ Éter dietílico
 - ✓ Alcohol etílico al 50%
 - ✓ Hexano

Tabla No. 1

Esquema general de variación de concentraciones de macronutrientes utilizadas para el cultivo hidropónico de *Mentha piperita* L.

VARIACIÓN DE NITRÓGENO

		I GRUPO Todos los Macronutrientes			II GRUPO Omisión de Potasio		III GRUPO Omisión de Fósforo	
		N	P	K	N	P	N	K
SERIE A	1	744	150	500	744	150	744	500
	2	747	150	500	747	150	747	500
	3	750	150	500	750	150	750	500
	4	753	150	500	753	150	753	500
	5	756	150	500	756	150	756	500

VARIACIÓN DE FÓSFORO

		IV GRUPO Todos los Macronutrientes			V GRUPO Omisión de Potasio		VI GRUPO Omisión de Nitrógeno	
		N	P	K	N	P	P	K
SERIE B	1	750	144	500	750	144	144	500
	2	750	147	500	750	147	147	500
	3	750	150	500	750	150	150	500
	4	750	153	500	750	153	153	500
	5	750	156	500	750	156	156	500

VARIACIÓN DE POTASIO

		VII GRUPO Todos los Macronutrientes			VIII GRUPO Omisión de Fósforo		IX GRUPO Omisión de Nitrógeno	
		N	P	K	N	K	P	K
SERIE C	1	750	150	494	750	494	150	494
	2	750	150	497	750	497	150	497
	3	750	150	500	750	500	150	500
	4	750	150	503	750	503	150	503
	5	750	150	506	750	506	150	506

Concentraciones ideales de nitrógeno, fósforo y potasio en mg/L. Fuente: Haber, 2005.

Tabla No. 2

Concentraciones de macro y micronutrientes utilizadas para preparar soluciones nutritivas para el cultivo de *Mentha piperita* L. hidropónica propuesta por Furlani

NUTRIENTES	CONCENTRACIÓN IDEAL UTILIZADA (mg/L)
Nitrato de sodio	750
Fosfato cálcico	150
Sulfato de potasio	500
Sulfato de magnesio	400
Sulfato de cobre	0.15
Sulfato de zinc	0.50
Sulfato de manganeso	1.50
Ácido bórico	1.50
Molibdato de sodio	0.15
Fe-EDTA	500 mL

Fuente: Haber, 2005.

H. Métodos

1. Siembra y cosecha de *Mentha piperita* L.

- Se trasplantaron hacia el sustrato cascarilla de arroz/arena los esquejes enraizados de *Mentha piperita* L. en cada uno de los sistemas hidropónicos (N, P, K) asignándose totalmente al azar, y realizando tres réplicas para cada una de las concentraciones y en cada uno de los tratamientos.
- En el primer tratamiento (SERIE A) se varió la concentración de nitrógeno y se mantuvieron las concentraciones ideales de potasio y fósforo, según Tabla No. 1. Por lo que se obtuvieron 5 muestras (tomando en cuenta la concentración ideal y sus diferentes variaciones) con las siguientes

concentraciones: 744, 747, 750, 753 y 756 mg/L, cada una de ellas con tres réplicas.

- Para el segundo tratamiento (SERIE B) se varió la concentración de potasio y se mantuvieron las concentraciones ideales de nitrógeno y fósforo, según Tabla No. 1. Por lo que se obtuvieron 5 muestras (tomando en cuenta la concentración ideal y sus diferentes variaciones) con las siguientes concentraciones: 144, 146, 150, 153 y 156 mg/L, cada una de ellas con tres réplicas.
- Para el tercer tratamiento (SERIE C) se varió la concentración de fósforo y se mantuvieron las concentraciones ideales de nitrógeno y potasio, según Tabla No. 1. Por lo que se obtuvieron 5 muestras (tomando en cuenta la concentración ideal y sus diferentes variaciones) con las siguientes concentraciones: 494, 497, 500, 503 y 506 mg/L, cada una de ellas con tres réplicas.
- Cada planta recibió diariamente la solución de micronutrientes en la que se encuentran todos los elementos necesarios (ver tabla No. 2) para el desarrollo de la misma así como el macronutriente asignado, manteniendo todas las plantas bajo las mismas condiciones ambientales a las cuales están sometidas y monitoreando temperatura y humedad.
- Al mismo tiempo, se sembró en cultivo tradicional (suelo abonado) la misma cantidad de réplicas (3) utilizando riego normal de agua potable según requerimiento de la planta, la cual se utilizó como planta control.
- Se cosechó la planta a las doce semanas de haberse trasplantado (tiempo en el cual alcanza la madurez).

2. Extracción de aceites esenciales utilizando arrastre por vapor:

- Se armaron 5 equipos de destilación por arrastre de vapor en línea continua de flujo de agua. Con ayuda de una bomba se recirculó el agua con la cual se reinyectaba la entrada al sistema.

- Se colocaron 20 gramos de hojas de Menta ligeramente cortada en cada uno, con 300 mL de agua como líquido de arrastre en el balón y núcleos de ebullición.
- Se calentó cuidadosamente y mantuvo el calor sin interrupción por 3 horas.
- La emulsión obtenida al destilar se trató con 20 mL de éter dietílico.
- Se transfirió a la ampolla de separación y se lavó el recipiente en que se recibió el destilado con otra porción igual de éter.
- Se agregó el lavado etéreo a la ampolla. Agitando y dejando separar.
- La capa acuosa se separó y desechó.
- Se evaporó la capa etérea a temperatura ambiente, hasta que no se percibe olor a éter.
- Se almacenaron las muestras bajo refrigeración. (European pharmacopoeia, 2005)

3. Determinación de metabolitos en aceite esencial de *Mentha piperita* L.

Se inyectó 1 µL de aceite esencial extraído de cada una de las plantas, en el equipo de cromatografía de gases con detector FID. Para esto se utilizaron las siguientes condiciones del equipo:

- Columna: HP-5, 30m x 0,32 mm x 0,25 µm (5% - fenilmetilpolisiloxano)
- Temperatura del inyector: 200 °C
- Temperatura del detector (FID): 300 °C
- Temperatura del horno: 110 °C constante por 10 minutos. (Molina, 2006)

4. Comparación de resultados para cromatografía de gases con detector FID (CG-FID) y cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas (CG-MS): Se realizó un extracción por medio de arrastre de vapor utilizando Neoclevenger, de la muestra control (cultivo tradicional) a la cual se identificaron y cuantificaron los componentes presentes en la misma. A través de los resultados y gráficas obtenidas se realizó una comparación de los picos de área y porcentajes de los diez

principales compuestos obtenidos observados en mayor porcentaje en CG-MS con los resultados obtenidos por CG-FID.

I. Diseño de la investigación:

Se realizó un análisis descriptivo de la investigación a través de un estudio comparativo. Por conveniencia se realizaron tres réplicas de cada muestra por tratamiento hidropónico asignado para el análisis de tendencia central de la variable tamaño de hoja y tallo.

Se identificó los metabolitos secundarios en la planta madre de *Mentha piperita* L., y comparó la influencia de la variación de macronutrientes para la determinación de los diez compuestos identificados con mayor porcentaje de área (presencia o ausencia).

VIII. RESULTADOS

Por medio de cromatografía de gases con detector de espectrometría de masas, se determinó la presencia de los siguientes metabolitos secundarios en aceite esencial de *Mentha piperita* L. obtenido por extracción por arrastre con vapor para un cultivo tradicional de la planta madre:

Tabla No. 3

Compuestos presentes en aceite esencial de menta en cultivo tradicional identificados por medio de cromatógrafo de gases acoplado a espectrómetro de masas

Tiempo de retención	Compuesto	% Área
11.74	A- pineno	0.16
13.72	Sabineno	0.19
13.85	B- pineno	0.32
14.64	Mirceno	1.10
14.87	Octanol	0.20
16.50	D-Limoneno	5.79
16.61	Eucaliptol	1.29
17.03	B-ocimeno	1.18
20.16	A-ocimeno	0.34
23.42	Borneol	0.18
24.83	Dihidrocarveol	1.77
24.92	Dihidrocarvona	1.53
26.65	L-carveol	0.84
26.88	Hexenil isovalerato	0.43
27.31	D-carvona	69.34
31.02	Neodihidrocarveol	0.36
32.53	Carveol	0.60
33.53	B-bourboneno	0.50
34.59	A-gurjuneno	0.27
35.01	Cariofileno	1.87
36.12	Biciclosesquifelandreno	0.33
36.50	Beta farnese	0.78
36.82	Cubebeno	0.62
37.58	Germacreno D	7.45
38.21	Biciclogermacreno	0.66
39.17	Calameneno	0.42
40.72	A-amorfeno	0.32
41.67	1, 4 cadinadieno	0.34
42.49	Biciclo	0.34
43.20	Muuroleno	0.31
TOTAL DE ÁREA IDENTIFICADA		99.83

Fuente: resultados experimentales obtenidos por laboratorio externo, Universidad Mariano Gálvez.

Por medio de análisis comparativo entre CG- FID y CG-MS se determinó la presencia de metabolitos secundarios presentes en cultivos hidropónicos de acuerdo al tratamiento asignado para cada una de las plantas, así como para cultivo tradicional observando la influencia de los mismos y variaciones, como se muestran en la tabla 1-4 presentadas a continuación:

Tabla No. 4

Identificación de compuestos presentes en cultivo tradicional y cultivos hidropónicos de *Mentha piperita* L. a través de comparación de CG-FID contra CG-MS para tratamiento con variación en concentración de nitrógeno

No.	N (mg/L)	P (mg/L)	K (mg/L)	Mirceno	Limoneno	Eucaliptol	B-ocimeno	Dihidrocarveol	Dihidrocarvona	L-carveol	D-carvona	Cariofileno	Germacreno
Todos los macronutrientes													
1	744	150	500		x			x	x	x	x	x	x
2	747	150	500						x	x	x		x
3	750	150	500	x	x			x	x	x	x	x	x
4	753	150	500	x		x	x	x	x	x	x	x	
5	756	150	500								x	x	
Omisión de potasio													
6	744	150	-					x	x			x	x
7	747	150	-	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
8	750	150	-	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
9	753	150	-					x	x	x	x		
10	756	150	-					x	x	x	x	x	x
Omisión de fósforo													
11	744	-	500					x	x	x	x	x	x
12	747	-	500					x	x	x	x	x	x
13	750	-	500					x	x	x	x	x	x
14	753	-	500					x	x	x	x	x	x
15	756	-	500			x	x	x	x	x	x	x	x
Control (Cultivo tradicional)						x	x	x	x	x	x	x	x

Fuente: resultados experimentales (x = presencia del compuesto)

Tabla No. 5

Identificación de compuestos presentes en cultivo tradicional y cultivos hidropónicos de *Mentha piperita* L. a través de comparación de CG-FID contra CG-MS para tratamiento con variación en concentración de fósforo

		No.	N (mg/L)	P (mg/L)	K (mg/L)	Mirceno	Limoneno	Eucaiptol	B-ocimeno	Dihidrocarveol	Dihidrocarvona	L-carveol	D-carvona	Cariofileno	Germacreno		
CULTIVO HIDROPÓNICO	SERIE B VARIACIÓN DE FÓSFORO	Todos los macronutrientes															
		1	750	144	500						x	x	x	x	x	x	
		2	750	147	500						x	x	x	x	x		
		3	750	150	500						x	x	x	x	x	x	
		4	750	153	500	x		x	x		x	x	x	x	x	x	
		5	750	156	500						x	x	x	x	x	x	
		Omisión de potasio															
		6	750	144	-										x		
		7	750	147	-										x	x	x
		8	750	150	-	x	x	x	x		x	x	x	x	x	x	x
		9	750	153	-	x	x	x	x		x	x	x	x	x	x	x
		10	750	156	-									x	x	x	x
		Omisión de nitrógeno															
		11	-	144	500			x	x		x	x	x	x	x	x	
		12	-	147	500		x				x	x					
13	-	150	500											x	x		
14	-	153	500			x	x		x	x	x	x	x	x	x		
15	-	156	500			x	x		x	x	x	x	x	x	x		
Control (Cultivo tradicional)								x	x	x	x	x	x	x	x		

Fuente: resultados experimentales (x = presencia del compuesto)

Tabla No. 6

Identificación de compuestos presentes en cultivo tradicional y cultivos hidropónicos de *Mentha piperita* L. a través de comparación de CG-FID contra CG-MS para tratamiento con variación en concentración de potasio

		No.	N (mg/L)	P (mg/L)	K (mg/L)	Mirceno	Limoneno	Eucaiptol	B-ocimeno	Dihidrocarveol	Dihidrocarvona	L-carveol	D-carvona	Cariofileno	Germacreno		
CULTIVO HIDROPÓNICO	SERIE C VARIACIÓN DE POTASIO	Todos los macronutrientes															
		1	750	150	494								x	x	x	x	
		2	750	150	497								x		x		
		3	750	150	500						x	x	x	x	x	x	
		4	750	150	503		x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	
		5	750	150	506	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	
		Omisión de fósforo															
		6	750	-	494						x	x				x	x
		7	750	-	497	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
		8	750	-	500						x	x	x	x	x	x	x
		9	750	-	503		x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
		10	750	-	506	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
		Omisión de nitrógeno															
		11	-	150	494				x					x		x	x
		12	-	150	497									x		x	x
13	-	150	500											x	x		
14	-	150	503									x		x	x		
15	-	150	506							x	x	x		x	x		
Control (Cultivo tradicional)								x	x	x	x	x	x	x	x		

Fuente: resultados experimentales (x = presencia del compuesto)

Se evaluó el crecimiento en hojas y tallo para los grupos en cultivo hidropónico y cultivo tradicional. Los resultados se muestran en la tabla No. 7 y No. 8, respectivamente, presentadas a continuación:

Tabla No. 7

Crecimiento de hojas y tallo para *Mentha piperita* L. en cultivo hidropónico con variación de nitrógeno comparado con cultivo tradicional

No.	Concentración de macronutrientes (mg/mL)			Tamaño de hoja (cm)					Tamaño de tallo (cm)				
	N	P	K	1	2	3	Media	Desviación estándar	1	2	3	Media	Desviación estándar
Todos los macronutrientes													
1	744	150	500	2.9	3.1	3.0	3.0	0.1	44.1	44.8	46.0	45.0	1.0
2	747	150	500	4.7	4.1	4.6	4.5	0.3	37.4	37.9	37.5	37.6	0.3
3	750	150	500	3.8	3.9	4.2	4.0	0.2	46.0	46.0	45.5	45.8	0.3
4	753	150	500	2.4	2.5	2.7	2.5	0.2	41.0	42.0	42.0	41.7	0.6
5	756	150	500	3.0	2.9	3.1	3.0	0.1	36.6	35.9	38.8	37.1	1.5
Omisión de potasio													
6	744	150	-	3.6	3.2	3.6	3.5	0.2	45.5	45.9	46.9	46.1	0.7
7	747	150	-	3.0	3.0	3.0	3.0	0.0	47.4	44.6	47.2	46.4	1.6
8	750	150	-	3.0	3.0	2.9	3.0	0.1	46.5	46.8	47.3	46.9	0.4
9	753	150	-	3.0	3.0	3.0	3.0	0.0	42.8	44.5	44.1	43.8	0.9
10	756	150	-	3.5	3.4	3.6	3.5	0.1	47.3	47.2	47.1	47.2	0.1
Omisión de fósforo													
11	744	-	500	3.5	3.5	3.4	3.5	0.1	48.5	48.7	49.2	48.8	0.4
12	747	-	500	4.0	3.8	4.1	4.0	0.2	44.3	45.3	46.9	45.5	1.3
13	750	-	500	3.5	3.5	3.6	3.5	0.1	55.1	55.2	55.0	55.1	0.1
14	753	-	500	3.4	3.4	3.6	3.5	0.1	52.6	52.9	53.1	52.9	0.3
15	756	-	500	3.0	3.0	2.9	3.0	0.1	48.2	48.8	49.2	48.7	0.5
Control (Cultivo tradicional)				1.0	4.5	2.0	2.5	1.8	36.4	34.7	35.9	35.7	0.9

Fuente: resultados experimentales

Tabla No. 8

Crecimiento de hojas y tallo para *Mentha piperita* L. en cultivo hidropónico con variación de fósforo comparado con cultivo tradicional

No.	Concentración de macronutrientes (mg/mL)			Tamaño de hoja (cm)					Tamaño de tallo (cm)				
	N	P	K	1	2	3	Media	Desviación estándar	1	2	3	Media	Desviación estándar
Todos los macronutrientes													
1	750	144	500	2.9	2.9	3.1	3.0	0.1	40.5	40.5	41.0	40.7	0.3
2	750	147	500	4.0	4.0	4.1	4.0	0.1	46.1	45.2	45.0	45.4	0.6
3	750	150	500	3.9	4.0	4.0	4.0	0.1	40.6	40.4	40.6	40.5	0.1
4	750	153	500	2.7	2.9	3.4	3.0	0.4	51.0	51.0	50.0	50.7	0.6
5	750	156	500	3.0	3.3	2.8	3.0	0.3	55.9	55.6	56.4	56.0	0.4
Omisión de potasio													
6	750	144	-	3.0	3.0	3.0	3.0	0.0	51.0	49.9	53.0	51.3	1.6
7	750	147	-	2.5	2.6	2.5	2.5	0.1	46.5	46.9	49.1	47.5	1.4
8	750	150	-	2.9	2.8	3.2	3.0	0.2	77.0	79.0	78.6	78.2	1.1
9	750	153	-	2.5	2.6	2.5	2.5	0.1	55.2	55.3	55.9	55.5	0.4
10	750	156	-	3.9	3.9	4.1	4.0	0.1	46.8	46.6	46.0	46.5	0.4
Omisión de nitrógeno													
11	-	144	500	3.3	3.4	3.7	3.5	0.2	56.8	56.9	57.3	57.0	0.3
12	-	147	500	5.1	5.0	5.0	5.0	0.1	37.1	36.2	36.0	36.4	0.6
13	-	150	500	3.8	4.1	4.1	4.0	0.2	54.5	54.6	55.3	54.8	0.4
14	-	153	500	3.4	3.6	3.4	3.5	0.1	40.8	40.7	40.9	40.8	0.1
15	-	156	500	3.5	3.5	3.6	3.5	0.1	56.8	57.1	57.3	57.1	0.3
Control (Cultivo tradicional)				1.0	4.5	2.0	2.5	1.8	36.4	34.7	35.9	35.7	0.9

Fuente: resultados experimentales

Tabla No. 9

Crecimiento de hojas y tallo para *Mentha piperita* L. en cultivo hidropónico con variación de potasio comparado con cultivo tradicional

No.	Concentración de macronutrientes (mg/mL)			Tamaño de hoja (cm)					Tamaño de tallo (cm)				
	N	P	K	1	2	3	Media	Desviación estándar	1	2	3	Media	Desviación estándar
Todos los macronutrientes													
1	750	150	494	3.4	3.4	3.6	3.5	0.1	39.2	38.7	39.1	39.0	0.3
2	750	150	497	3.7	3.6	3.9	3.7	0.2	49.1	49.2	49.0	49.1	0.1
3	750	150	500	3.5	3.5	3.5	3.5	0.0	53.1	53.0	52.9	53.0	0.1
4	750	150	503	2.7	2.9	3.3	3.0	0.3	47.8	48.3	47.9	48.0	0.3
5	750	150	506	2.9	2.9	3.1	3.0	0.1	50.5	51.2	51.3	51.0	0.4
Omisión de fósforo													
6	750	-	494	3.8	3.8	3.7	3.8	0.1	44.3	44.9	45.1	44.8	0.4
7	750	-	497	3.7	3.8	3.8	3.8	0.1	38.2	38.1	38.1	38.1	0.1
8	750	-	500	3.5	3.3	3.6	3.5	0.2	34.6	34.8	35.1	34.8	0.3
9	750	-	503	3.7	3.8	3	3.5	0.4	42.2	42.1	42.0	42.1	0.1
10	750	-	506	3.9	3.9	4.2	4.0	0.2	34.9	35.1	35.1	35.0	0.1
Omisión de nitrógeno													
11	-	150	494	3.3	3.5	3.6	3.5	0.2	29.8	29.9	29.8	29.8	0.1
12	-	150	497	2.9	3.3	2.9	3.0	0.2	29.9	29.8	30.0	29.9	0.1
13	-	150	500	4.0	3.8	4.3	4.0	0.3	42.1	42.3	42.0	42.1	0.2
14	-	150	503	3.6	4.1	4.2	4.0	0.3	39.1	39.2	39.1	39.1	0.1
15	-	150	506	3.5	3.6	3.4	3.5	0.1	45.4	45.4	45.3	45.4	0.1
Control (Cultivo tradicional)				1.0	4.5	2.0	2.5	1.8	36.4	34.7	35.9	35.7	0.9

Fuente: resultados experimentales

IX. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Para la determinación del efecto e influencia de la concentración de macronutrientes de cultivos hidropónicos en la biosíntesis de metabolitos en *Mentha piperita* L. por cromatografía de gases utilizando cultivos hidropónicos con variación en la concentración de macronutrientes, se inició con la elección e identificación botánica de la planta madre de menta por el Departamento de Botánica de la Escuela de Biología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala, a partir de la cual se obtuvieron todos los esquejes que serían utilizados para la siembra y a la cual se asignarían cada uno de los tratamientos de omisión y/o variación de algún macronutriente: nitrógeno, fósforo o potasio.

Como sustrato para la siembra de los esquejes se escogió una mezcla en partes iguales de arena con cascarilla de arroz debido a que éste es un producto de desecho industrial de bajo costo y fácilmente accesible, que debido a sus propiedades brinda un buen drenaje del agua lo cual permite expansión de las raíces. La desinfección de la cascarilla de arroz se realizó con una mezcla de los métodos de solarización y el método químico, utilizando alcohol etílico al 50% aplicado por microriego a dicho sustrato que se extendió y dejó evaporar por aproximadamente un día y medio en exposición directa al sol y medio ambiente. Dado que el porcentaje de retención de agua para cascarilla de arroz no es lo suficientemente alta, se decidió colocar arena, previamente desinfectada por solarización, lo que permite, no solo mayor retención de líquido, factor importante para la contención de las soluciones nutritivas agregadas, sino mayor aireación de las raíces (Soto, 2002, pp. 26-27), complementándose entre sí para brindar las características ideales de un buen sustrato para cultivos hidropónicos, siendo éstas: retención de humedad, aireación, estabilidad física, química y biológicamente inerte, buen drenaje, liviano, de bajo costo y libre de residuos. Durante el crecimiento de las plantas no se observó crecimiento de hongos o moho debido a la concentración constante de potasio el cual posee efecto fungicida.

Para el montaje de la huerta hidropónica casera, se ubicó en un área que principalmente cubriera los factores de mayor significación de desarrollo de las plantas,

siendo estos: temperatura, luz, aire y agua. Durante todo el proceso de crecimiento de las plantas se registraron las condiciones de temperatura y humedad utilizando un monitor de ambiente electrónico (marca Temptale) programado para tomar lecturas cada dos horas. Se colocaron las plantas a una distancia de aproximadamente 30 centímetros del suelo, evitando encharcamientos al realizar el riego con agua potable y a una distancia de 2.5 metros del techo permitiendo la entrada de luz solar. Se realizó la siembra en época de verano en que la luminosidad aumenta y permite a los cultivos de menta producir plantas ricas en metabolitos. La temperatura osciló entre 17.2 y 35.7 °C, con una media de 21.9 °C durante el período de crecimiento de los cultivos hidropónicos y humedad entre 30.1 a 98.9 % con una media de 78.2 % (ver gráfica en anexo No. 5). Se sabe que las altas temperaturas pueden disminuir el rendimiento de aceite esencial, por lo que dicho factor puede estar relacionado con la baja identificación de mentol en los cultivos hidropónicos, entre otros factores mencionados posteriormente.

La adición de las soluciones nutritivas se llevó a cabo en un sistema abierto con la modalidad de sustrato sólido, utilizando bolsas plásticas para siembra con capacidad de 2 libras. Diariamente se adicionaron cada una de las concentraciones mencionadas según tratamiento asignado (Tabla No. 2). Estas soluciones nutritivas fueron seleccionadas en base a los requerimientos óptimos para el crecimiento de *Mentha piperita* L. (Haber, 2005) y variaron 3 y 6 mg/L en cada una de las concentraciones para evaluar el efecto de dicha modificación. La adición de las soluciones en un sustrato de alta retención permite a la raíz obtener directamente todos los requerimientos nutritivos necesarios de minerales, micro y macronutrientes, contrario a un cultivo tradicional del cual se desconoce la cantidad de nutrientes presentes en la tierra abonada en la cual las raíces deben buscarlos utilizando energía para la síntesis de metabolitos.

Se pudo determinar que las hojas de plantas de menta que recibieron soluciones nutritivas poseen mayor tamaño de hoja que los cultivos tradicionales, debido a que la

planta recibe todos los micro y macronutrientes necesarios para su crecimiento, contrario al cultivo en tierra donde se desconocen las concentraciones de las mismas.

De los tratamientos asignados, el que reporta mayor tamaño de hoja, en promedio, es el grupo al cual se varió la concentración de fósforo con omisión de nitrógeno (ver tabla No. 8, experimento 12). Así mismo, en el grupo que mayor altura de la planta generó se variaron las concentraciones de fósforo con omisión de potasio (Ver tabla No. 8, experimento No. 8). Dentro de las funciones del fósforo en los cultivos se encuentra la formación y crecimiento de raíces, acelerar la maduración (ver anexo No. 7) y debido a que dicho nutriente está presente en los cultivos con mayor índice de crecimiento, se atribuye que es el responsable del aumento en tamaño de las plantas.

La cosecha de todos los cultivos de menta se realizó a los tres meses de siembra. Se realizaron los extractos de aceite esencial de las hojas oreadas utilizando el método de arrastre por vapor, tomando como base el estudio realizado en 2006 por Milic S. Et. Al, donde se comparó entre diferentes métodos extractivos para aceite esencial de menta concluyendo que se obtiene mayor porcentaje de los metabolitos secundarios principales utilizando destilación por arrastre de vapor que los sometidos a extracción por Soxhlet y a extracción por fluidos supercríticos. Se colocó cinco sistemas para extracción por arrastre de vapor conectados por un flujo continuo de agua (recirculación), impulsada por una bomba contenida en un recipiente con hielo, evitando así el desperdicio de dicho líquido que es una de las desventajas de utilizar ese método extractivo (Ver anexo No. 6).

Los extractos se pudieron observar de color amarillento a blanquecino y olor característico del aceite de menta. Posterior a realizados se mantuvo bajo refrigeración para evitar la fácil volatilización de los metabolitos secundarios, de acuerdo a la monografía de la Farmacopea Europea.

Para realizar la detección y análisis de aceite esencial de mentol en los extractos de cultivos hidropónicos se utilizó un cromatógrafo de gases con detector de ionización de llama (CG-FID) y para realizar la comparación se utilizó cromatógrafo de gases con espectrometría de masas (CG-MS) del extracto obtenido por hidrodestilación de la

planta madre de *Mentha piperita* L., de la cual se obtuvo porcentaje de rendimiento de 1.03 % (rendimiento teórico 0.5 – 3.0 %). A partir de la misma se compararon los metabolitos obtenidos por cromatografía de gases-FID tomando en como base el estudio realizado por Dimandja, J. et, al (2000), para dos variedades de menta bajo el principio de que los compuestos eluyen en orden, a cierta temperatura y de acuerdo a sus propiedades y estructuras químicas (ver anexo 8). En dicha comparación se determinó la presencia de compuestos importantes y de amplio uso en la industria farmacéutica, siendo los más representativos y con mayor porcentaje de área: mirceno, limoneno, eucaliptol, B-ocimeno, dihidrocarveol, dihidrocarvona, L- carneol, D-carvona, cariofileno y germacreno, según su orden de elución (ver anexos No. 8 y 9).

En las tablas No. 4 a No. 6 se observa que en los diversos tratamientos hidropónicos asignados no se obtienen resultados distintos para la biosíntesis de dihidrocarveol, dihidrocarvona, L- carneol, D-carvona, cariofileno y germacreno ya que en su mayoría se encuentran presentes a pesar de las variaciones y omisiones de macronutrientes presentadas, contrario a mirceno, limoneno, eucaliptol y B-ocimeno, los cuales se determinaron en los cultivos al agregar solución nutritiva con variación de nitrógeno y omisión de potasio (747 y 750 mg/L; tabla No. 4, tratamiento 7 y 8), variación de fósforo y omisión de potasio (150 y 153 mg/L; tabla No. 5, tratamiento 8 y 9).

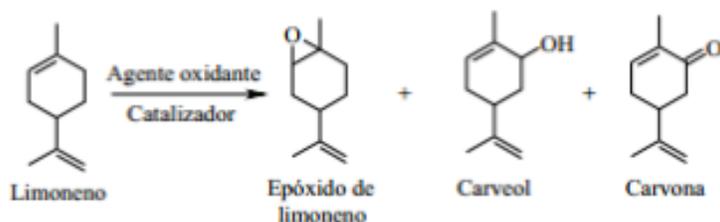
Para los tratamientos del 1 al 5 de la tabla No. 6, a los cuales se realizó variación en la cantidad de potasio y administrando todos los macronutrientes con concentración ideal de nitrógeno y fósforo, se observa mayor presencia de metabolitos a medida que se genera un incremento de potasio, lo que sugiere en base a lo anteriormente mencionado la influencia de nitrógeno y potasio en concentraciones ideales o cercanas a ella y el aumento de potasio para la detección y biosíntesis de todos los metabolitos secundarios presentes en aceite esencial de menta.

En la siembra de cultivos hidropónicos de *Mentha piperita* L. no se recomienda la omisión o variación de nitrógeno ya que, como se menciona anteriormente, influye directamente en la biosíntesis de metabolitos secundarios, como se observa en los

tratamientos del 11 al 15 de la tabla No. 6, ya que influye directamente en la ausencia de mirceno, limoneno, eucaliptol, B-ocimeno, dihidrocarveol, dihidrocarvona y carvona. Tanto para cultivos hidropónicos como para cultivo tradicional en suelo, no se registró presencia de mentol y mentona (compuestos principales en extractos de aceite esencial de menta), así como se encuentra descrito para otros estudios del género *Menta* (Raluca, A, 2011; Waigber, G, 1983), lo cual puede deberse a que dicha molécula es un alcohol de bajo peso molecular lo que facilita la evaporación de la misma por la temperatura empleada durante la extracción lo que puede ocasionar modificación en su estructura dificultando la detección por medio de CG-FID y CG-MS.

Estudios para otras especies del género *Menta*, hacen referencia al factor de disponibilidad de nutrientes en solución pueden inducir actividad enzimática de constituyentes del aceite y su calidad y se ha determinado que existe una relación directa entre sustancias fotosintetizadoras en la biosíntesis de terpenos.

En la planta control cultivada tradicionalmente no se identificó la presencia de mirceno y limoneno, por lo que para su extracción y aislamiento, los cultivos hidropónicos constituyen la opción ideal para la síntesis natural de dichas materias primas. El mirceno es utilizado como intermediario en la manufactura de perfumes y limoneno se utiliza como solvente, en manufactura de resinas, agente humectante y dispersante (Usos de metabolitos secundarios: Anexo No. 8). A través del análisis de los resultados presentados en las tablas No. 4 a la tabla No. 6 se puede determinar que las variaciones en concentración de macronutrientes y diferentes tratamientos asignados a los cultivos hidropónicos no generan cambios en la biosíntesis de cariofileno y germacreno, sesquiterpenos de cadena cerrada más frecuentemente obtenidos, que se encuentran presentes en su mayoría independientemente de concentración y presencia del mismo. Así mismo, cabe mencionar que los compuestos dihidrocarveol, dihidrocarvona, L-carveol y D-carvona, cuya síntesis puede observarse en la siguiente reacción:



Dicha síntesis se lleva a cabo a partir de la molécula de limoneno lo que sugiere que al no presentarse limoneno en ciertos tratamientos asignados a los cultivos hidropónicos, este ha sufrido una biotransformación a través de un catalizador y agente oxidante en dichos monoterpenos cuya utilización a nivel industrial no difiere de los reportados para limoneno como materia prima. Como puede observarse en el anexo No. 8 las estructuras de Mirceno, Limoneno, Eucaliptol y B-ocimeno, son similares por lo que son metabolizados y fotosintetizados a través de la misma ruta metabólica (ver anexo No. 10) lo que está directamente relacionado con su presencia o ausencia en las identificaciones realizadas.

X. CONCLUSIONES

- A. Cascarilla de arroz y arena de río en una proporción de 50:50, constituyeron un buen sustrato para el crecimiento de menta en cultivo hidropónico.
- B. Los cultivos hidropónicos generaron mayor tamaño de planta y de hoja en comparación con cultivos tradicionales: variaciones en la concentración de fósforo con omisión de nitrógeno generaron mayor tamaño de hoja, variaciones en las concentraciones de fósforo con omisión de potasio generaron mayor altura de la planta.
- C. Los compuestos presentes en mayor porcentaje de área en aceite esencial de menta son: mirceno, limoneno, eucaliptol, B-ocimeno, dihidrocarveol, dihidrocarvona, L- carneol, D-carvona, cariofileno y germacreno.
- D. Los cultivos hidropónicos de *Mentha piperita* L. permiten la biosíntesis de todos los metabolitos secundarios al realizar variaciones en la concentración de macronutrientes.
- E. Los cultivos hidropónicos y la realización de variaciones de macronutrientes permiten la síntesis de mirceno y limoneno, las cuales no se encuentran presentes en cultivo tradicional.
- F. Los sesquiterpenos cariofileno y germacreno se encuentran presentes en la mayoría de tratamientos independientemente de concentración y presencia de cualquier macronutriente.
- G. Mirceno, limoneno, eucaliptol y B-ocimeno, son identificados al realizar las siguientes variaciones a la solución nutritiva: variación de nitrógeno (747 y 750 mg/L), variación de fósforo (150 y 153 mg/L) con omisión de potasio.
- H. La omisión de potasio con utilización de concentraciones ideales o cercanas a ésta de nitrógeno y fósforo no generaron cambio en la presencia de los metabolitos, así como variaciones en la cantidad de potasio y utilización de concentración ideal de nitrógeno y potasio, generaron mayor presencia de metabolitos a medida que se genera un incremento de potasio u omisión de fósforo, así como la omisión o

variación de nitrógeno generaron cultivos con poca síntesis de metabolitos secundarios en menta hidropónica.

XI. RECOMENDACIONES

- A. Se recomienda no omitir nitrógeno ni la variación de este elemento en cultivos hidropónicos debido a que se generó una disminución de metabolitos secundarios en la biosíntesis.
- B. Emplear cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas para cuantificar metabolitos en todos los tratamientos realizados a las plantas.
- C. Emplear métodos alternos para extracción de aceites esenciales tales como extracción por microondas.
- D. Realizar análisis cuantitativo de macro y micronutrientes en la tierra utilizada para los cultivos tradicionales.
- E. Realizar la siembra de *Mentha piperita* L. en otra temporada del año, para evaluar el efecto de variación de temperatura y humedad en la producción de metabolitos secundarios.
- F. Utilizar otras plantas de uso farmacéutico para evaluar la cuantificación de compuestos desarrollados a través de cultivos hidropónicos.
- G. Identificar y cuantificar macronutrientes presentes en tierra abonada para cultivos tradicionales.

XII. REFERENCIAS

- Anleu, L. (1998) *La flora silvestre en Guatemala*. Volumen 6. Guatemala: Editorial Universitaria, USAC.
- Arteche, A. (1998) *Fitoterapia, Vademecum prescripción de plantas medicinales*. 3ª edición. Editorial Masson. España. (pp. 323-324)
- Bruneton, J. (2001) *Farmacognosia*. Segunda edición. España: Editorial Acribia.
- Cáceres, A. (1999). *Plantas de uso medicinal en Guatemala*. Guatemala: Editorial Universitaria, Universidad de San Carlos de Guatemala. (pp. 265-267)
- Cáceres, A. et. al. (2006) *Vademecum nacional de plantas medicinales*. MSPAS-USAC. Guatemala: Editorial Universitaria. (pp. 151-152)
- Chiereghin, P. (2000) *Farmacia verde, manual práctico de herbostería*. 1ª Edición. Madrid, España: Mundi Prensa Libros. (pp. 172-178)
- Cogua, J. (2007) *La nutrición de la planta*. Universidad Nacional de Colombia. Disponible en: http://www.virtual.unal.edu.co/cursos/ciencias/2000051/lecciones/cap03/01_09.htm
- Compendio de Normas Oficiales. USP 29/ NF 24. Farmacopea de los Estados Unidos de América - Formulario nacional. The United States Pharmacopeial Convention, EEUU. Toronto, Canadá. (pp. 3690, 1502-1503, 288, 2296)
- Dimandja, J. (2000). *Application of comprehensive two-dimensional gas chromatography (GC6GC) to the qualitative analysis of essential oils*. Centers for Disease Control and Prevention, National Center for Environmental Health, Division of Laboratory Sciences. Atlanta, USA.
- Domínguez, A. (1985) *Métodos de investigación fitoquímica*. México: Editorial Limusa.
- Gutiérrez, MC. Et al. (2002) *La cromatografía de gases y la espectrometría de masas, Identificación de compuestos causantes de mal olor*. Consultado el: 18 de octubre de 2010. [Revista electrónica] Disponible en: <http://upcommons.upc.edu/revistes/bitstream/2099/2733/1/5CROMGASES.pdf>
- Haber, L. et. al. (2005) *Diferentes concentraciones de solución nutritiva para el cultivo de Mentha piperita y Melissa officinalis*. Revista Horticultura Bras.. Vol. 23, N. 4. (pp

1006-1009). [Revista electrónica] Consultado el: 18 de octubre de 2010. Disponible en: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S010205362005000400029&lng=es&nrm=iso&tlng=pt.

- Jiménez, B. (1998) *Hidroponía*. San José, Costa Rica: Instituto Nacional de Aprendizaje.
- Kuklinski, C. (2000) *Farmacognosia*. Barcelona, España: Ediciones Omega. (pp 136-137)
- Marulanda, C. (1995) *Hidroponía popular: cultivo sin tierra, guía técnica*. Managua, Nicaragua: PNUD-INIFOM.
- Milic, S. (2006) *Comparison of mentha extracts obtained by different extraction methods*. Universidad de Novi Sad. Facultad de tecnología, departamento de biotecnología e Ingeniería farmacéutica. Serbia.
- Miranda, I. (1997) *Apuntes de hidroponía*. Universidad Autónoma de Chapingo. Chapingo, México: Serie de Publicaciones, AGRIBOT.
- Molina, M. (2006) *Análisis cuantitativo de mentol en aceite esencial de menta*. Perú: Pontificia Universidad Católica del Perú, Departamento de Ciencias, Sección Química. Disponible en: http://old.iupac.org/publications/cd/medicinal_chemistry/Practica-VI-4.pdf
- Nabors, M. (2006) *Introducción a la botánica*. Madrid: Pearson education. (pp 185-186)
- Osorio, E. (2009) *Aspectos básicos de Farmacognosia*. Antioquia, Colombia. Disponible en: <http://farmacia.udea.edu.co/~ff/Farmacognosia.pdf>
- Raluca, A. (2011) *Studies concerning the Histo-anatomy and biochemistry of Mentha Longifolia (L) Huds. During vegetative phenophase*. Faculty of Horticulture. University of Agronomical Sciences and Veterinary Medicine Bucharest. Romania.
- Rojas, U. (1976) *Elementos de botánica general*. Guatemala. (p. 1255)
- Skoog, D. Et. Al. (2008) *Principios de análisis instrumental*. Sexta Edición. México: Cernage Learning Editores. (pp. 582, 761)
- Slowing, I. et. al. (1999) *Un texto básico de orgánica, Parte II*. Departamento de Química Orgánica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. USAC. Guatemala: Ediciones de los geógrafos.
- Soto, F. Ramírez, M. (2002) *Hidroponía*. San José, Costa Rica: Editorial INA.

The Index Merck, an encyclopedia of chemicals, drugs, and biologicals. Fourteenth edition.
Merck &c Co. INC. Whitehouse Station, NJ, USA. 2006.

Valenzuela, O. (2008) *Sustratos hidropónicos*. Consultada el: 18 de Octubre de 2010.
Disponible en: http://www.inta.gov.ar/sanpedro/info/doc/2009/ov_0901.htm.

Waingner, G. (1983). *Evaluación de la calidad de Mentha sp.* Universidad de Costa Rica.
Costa Rica.

9. ANEXOS

Anexo No. 1

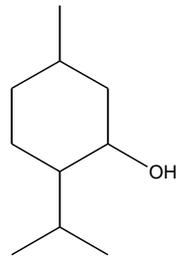
Planta de *Mentha piperita* L.

PLATE VII.—*Mentha piperita*. The source of *Oleum Menthae Piperitae* (peppermint oil). (From Jackson: *Experimental Pharmacology and Materia Medica*.)

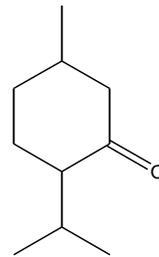
Anexo No. 2

Molécula de Mentol y Mentona

(Principales componentes del aceite esencial de *Mentha piperita* L.)



mentol



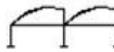
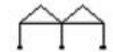
mentona

Anexo No. 3

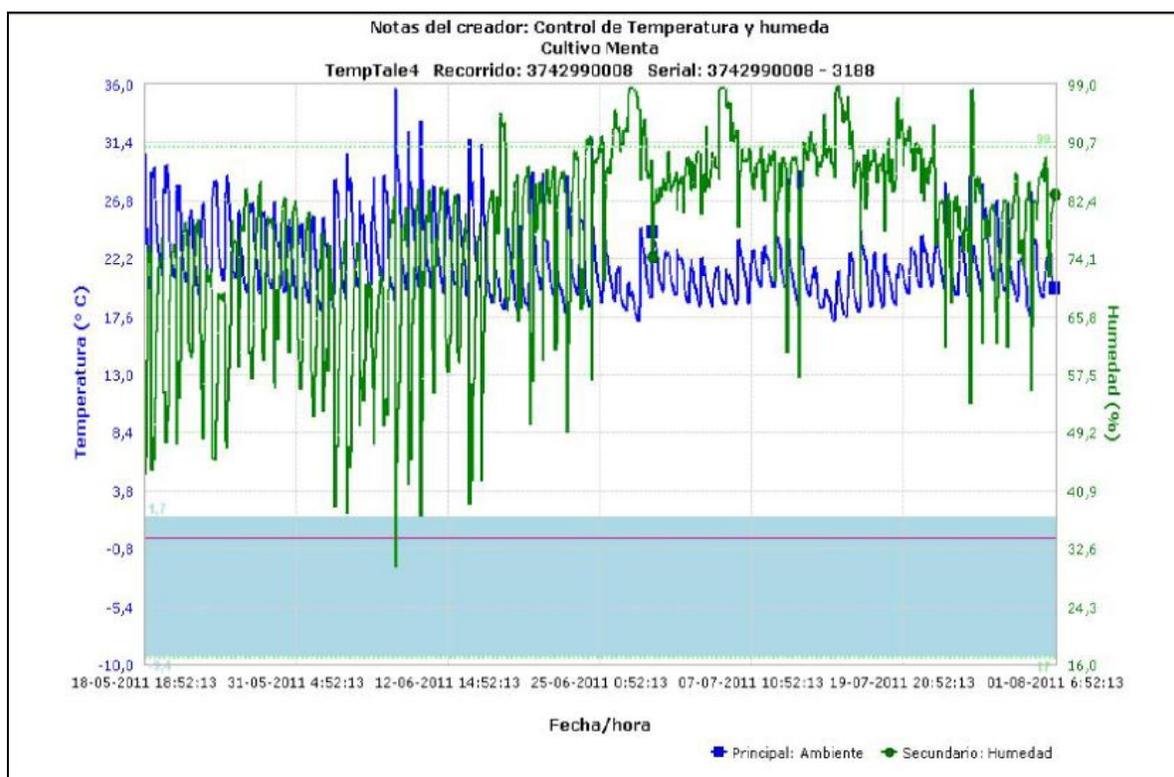
Ejemplificación de la obtención de esquejes



Anexo No. 4 Tipos de Invernadero

								
UNITUNEL (túnel unitario)	MULTITUNEL (túnel múltiple)	UNITUNEL VENTILA CENITAL FIJA	MULTITUNEL VENTILAS CENITAL FIJA	MULTITUNEL DIENTE DE SIERRA VENTILAS FIJA	MULTITUNEL VENTILA(S) CENITAL MOVIL	UNITUNEL CAPILLA	MULTITUNEL CAPILLA	MODULAR TIPO PARRAL

Anexo No. 5 Gráfica de las mediciones de temperatura y humedad durante cultivo hidropónico de *Mentha piperita* L.



TempTale4 Recorrido: 3742990008 Serial: 3742990008 - 3188

Grabado

Primer punto: 18-05-2011 18:52:13
Hora de detención: 01-08-2011 8:42:52
Número de puntos: 895
Extensión del recorrido: 74 días 15 hrs. 50 min.

Zoom

Primer punto:
Último punto:
Número de puntos:

Configuración del monitor

Retardo de inicio: 9 hrs.
Intervalo: 2 hrs.

Principal - Ambiente

Extrema baja: 17,2 ° C @ 28-06-2011 4:52:13
Extrema alta: 35,7 ° C @ 08-06-2011 8:52:13
Desviación estándar media aproximada: 21,9 ° C ± 2,9 ° C
Temperatura cinética media: 22,4 ° C

Secundario - Humedad

Extrema baja: 30,1 % @ 09-06-2011 8:52:13
Extrema alta: 98,9 % @ 14-07-2011 14:52:13
Desviación estándar media aproximada: 78,2 % ± 12,8 %

Anexo No. 6
Equipo de destilación por arrastre con vapor



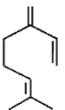
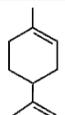
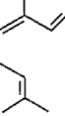
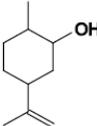
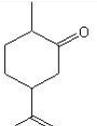
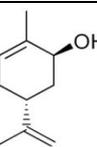
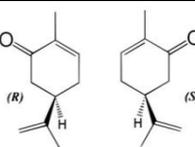
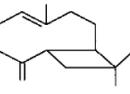
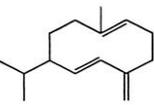
Anexo No. 7
Principales funciones y deficiencias de macronutrientes en las plantas

Macronutriente	Función	Deficiencia
Nitrógeno	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Dar color verde intenso a las plantas. ▪ Rápido crecimiento ▪ Aumenta contenido de proteínas 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Amarillamiento inicial de las hojas más viejas ▪ Poco desarrollo
Fósforo	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Formación y crecimiento de raíces ▪ Acelera la maduración y estimula la coloración de los frutos ▪ Formación de semillas 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Aparición de hojas y tallo de color púrpura ▪ Aspecto raquítico de la planta ▪ Bajo rendimiento de frutos y semillas
Potasio	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Resistencia contra enfermedades ▪ Ayuda en producción de proteína ▪ Mejor calidad de los frutos ▪ Mejor balance de agua en la planta 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Quema de hojas en los bordes y puntas ▪ Pobre desarrollo de las raíces

(Jiménez, 1998)

Anexo No. 8

Propiedades y estructuras de los principales compuestos encontrados en *Mentha piperita* L. por medio de cromatografía de gases con detector de masas

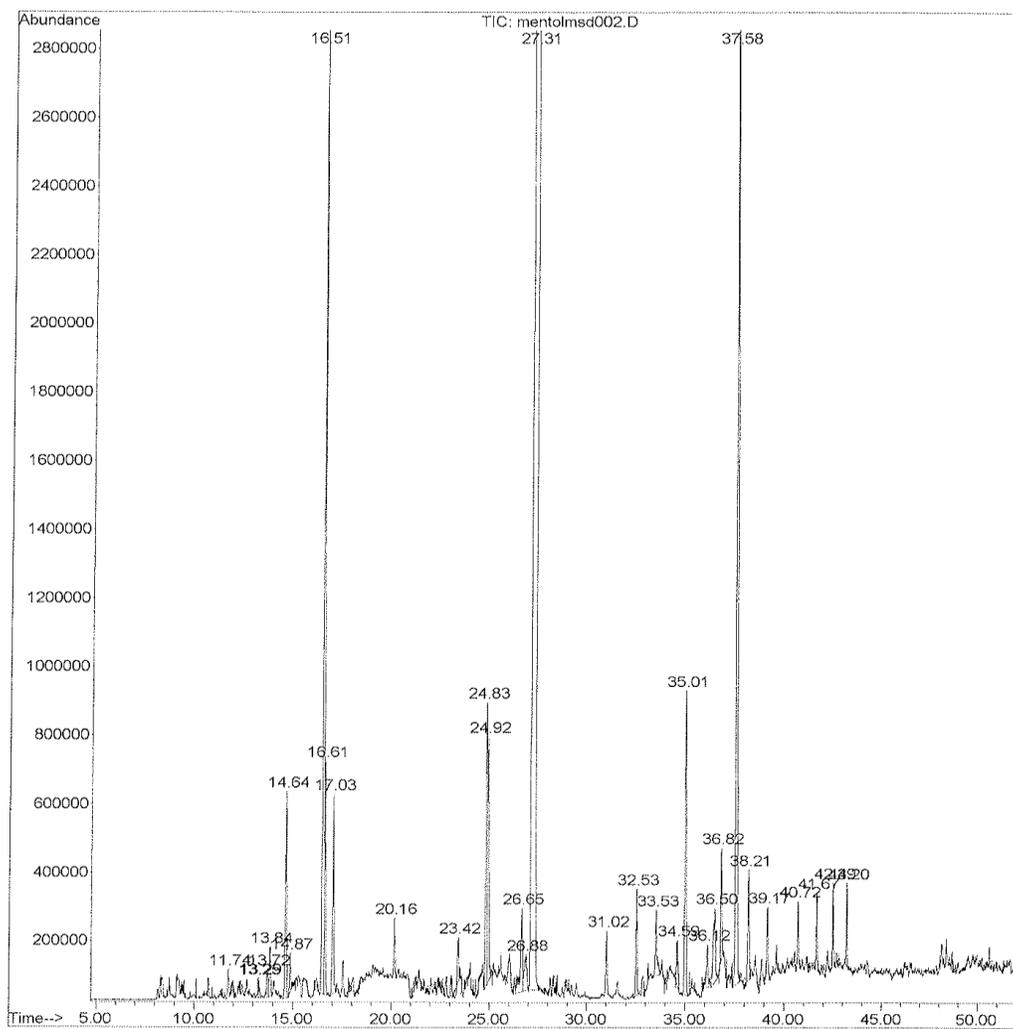
Compuesto	Estructura	Punto de ebullición (°C)	Usos
β -Mirceno		44	Usado como intermediario en la manufactura de perfumes químicos.
Limoneno		175.5-176.5	Solvente, manufactura de resinas, agente humectante y dispersante.
Eucaliptol		176-177	Saborizante de uso farmacéutico
β -Ocimeno		100	Usado en perfumería.
Dihidrocarveol		224-225	Saborizante y uso en fragancias.
Dihidrocarvona		220-222	Como saborizante y en fragancias
Carveol		226-227	Como aditivo de sabor en la industria de alimentos. Como fragancia en industria de cosméticos.
Carvona		230-231	Como saborizante de licores. En perfumería y jabones.
B-Cariofileno		262-264	En perfumería
Germacreno D		236.4	Propiedades antimicrobianas e insecticidas.

(Merck, 2006)

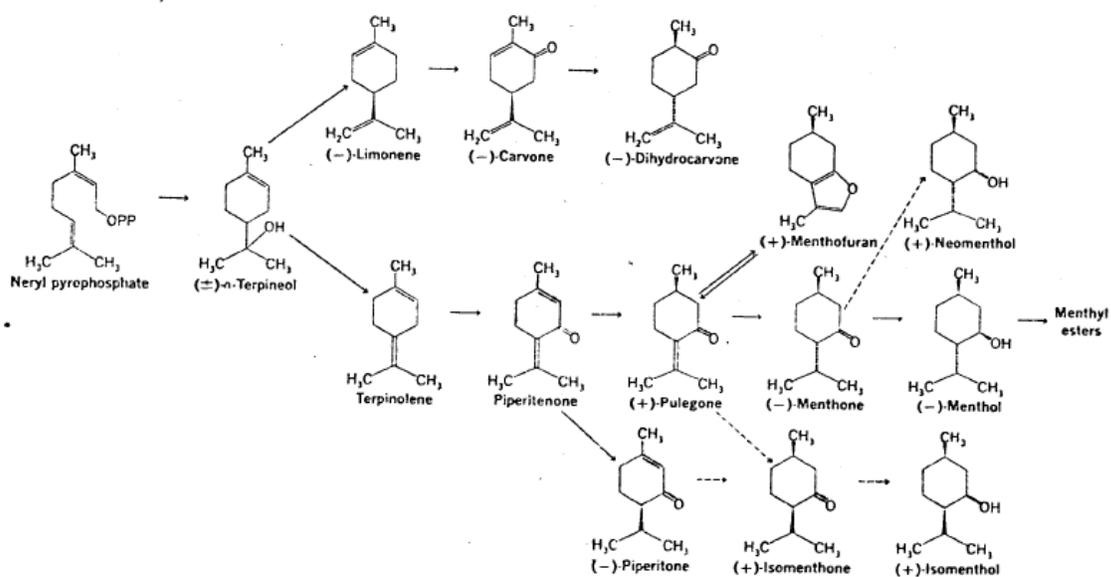
Anexo No. 9

Cromatograma de aceite esencial de menta en cultivo tradicional analizado con
cromatógrafo de gases acoplado a espectrómetro de masas

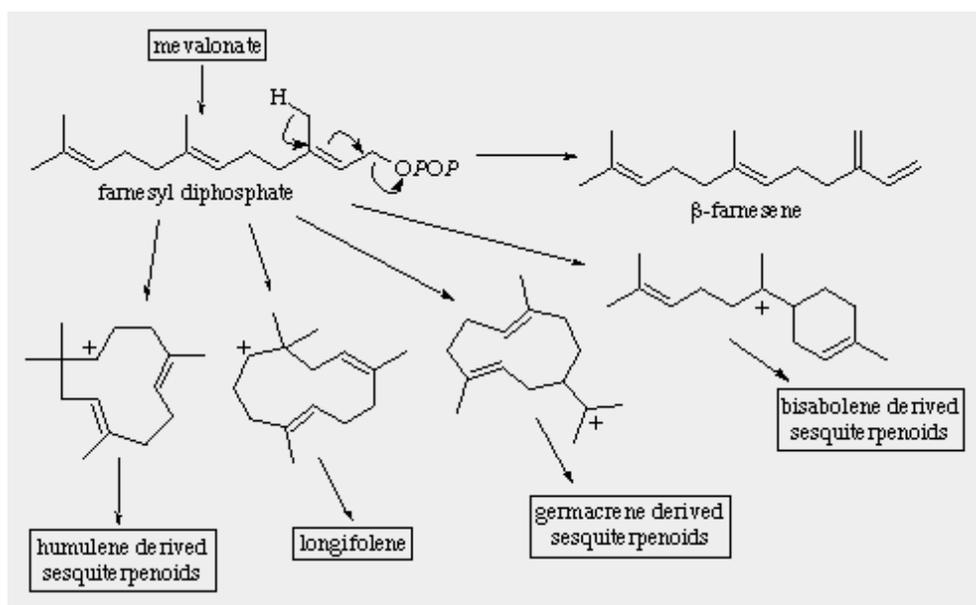
File :D:\MSDCHEM\1\DATA\Vanesa Castellanos\mentolmsd002.D
Operator : WQ umg
Acquired : 25 Feb 2013 16:33 using AcqMethod ACEITES10HE.M
Instrument : GC6890-MSD5973 Inert
Sample Name: Aceite esencial, Extracto de Menta (dil en et
Misc Info : 0130130225010201, Vial 6614
Vial Number: 1



Anexo No. 10 Biosíntesis de monoterpenos



Anexo No. 11 Biosíntesis de sesquiterpenos

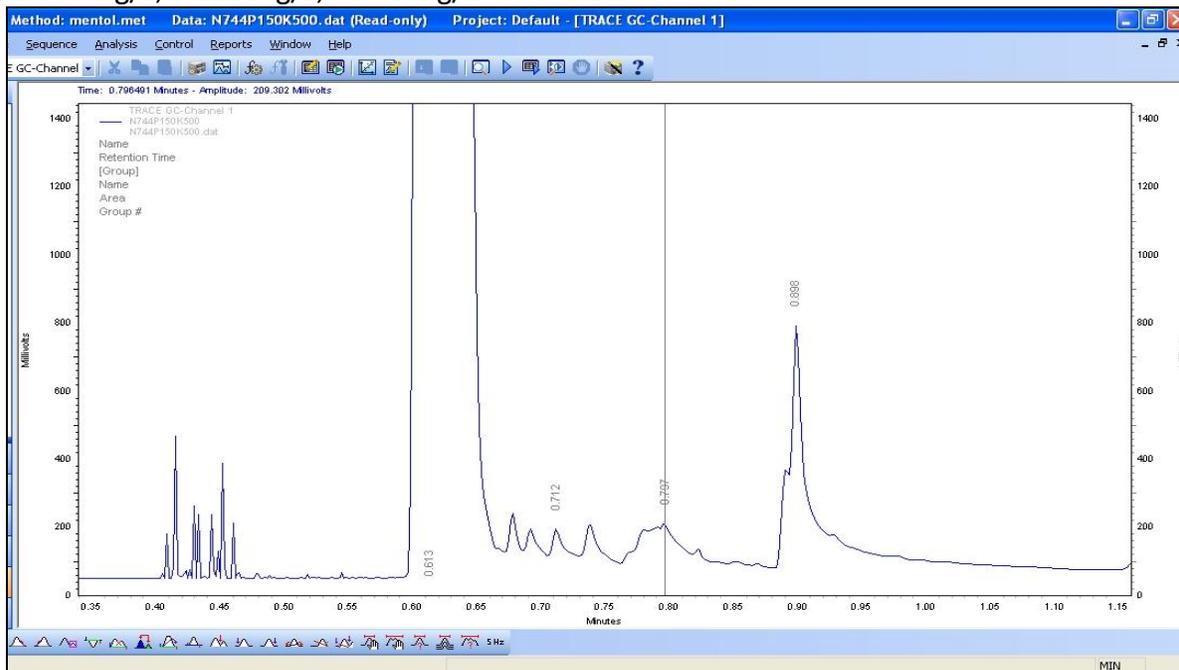


Anexo No. 12
Cromatogramas para aceite esencial de cultivos hidropónicos de menta por cromatografía
de gases con detector FID

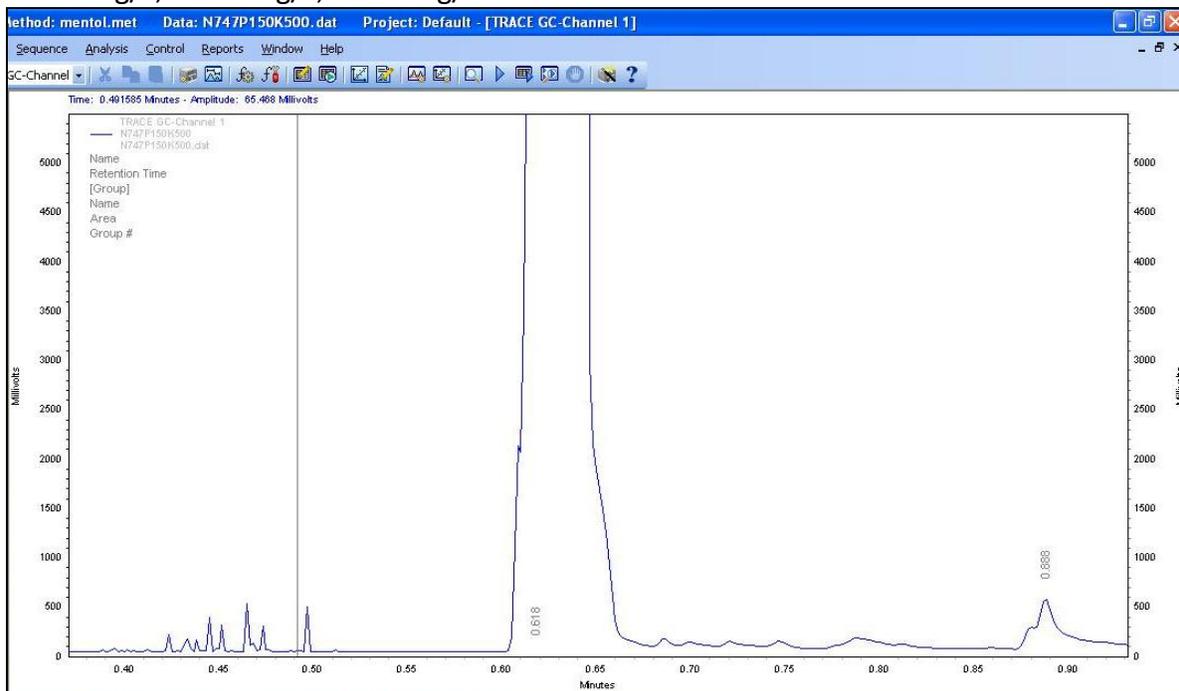
Variación de nitrógeno

Todos los macronutrientes

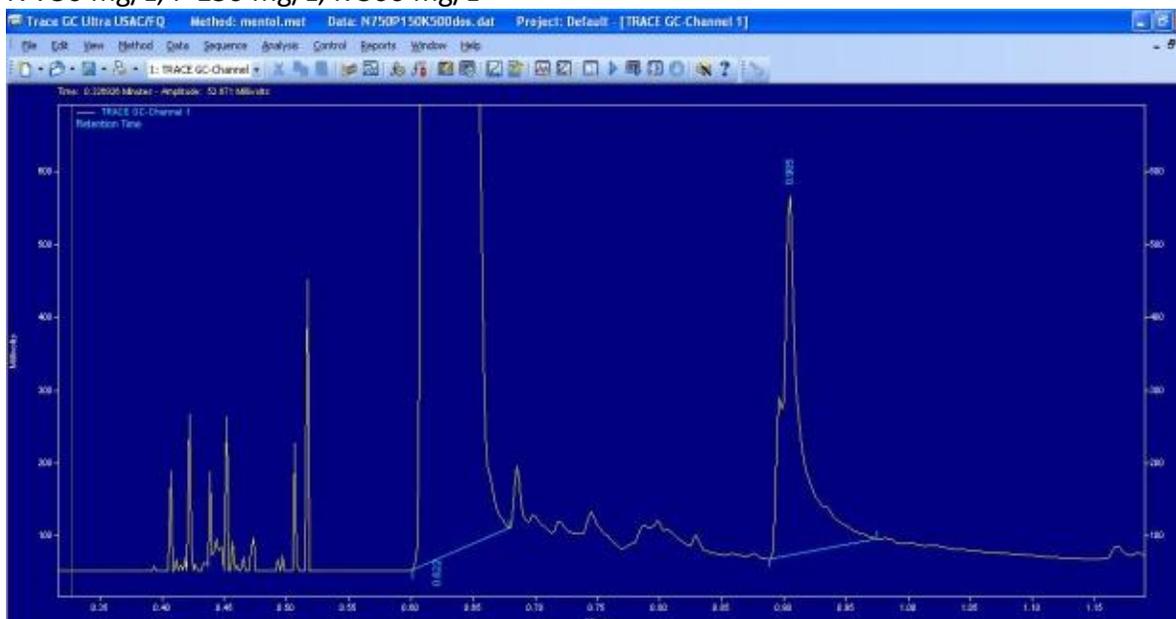
N 744 mg/L; P 150 mg/L; K 500 mg/L



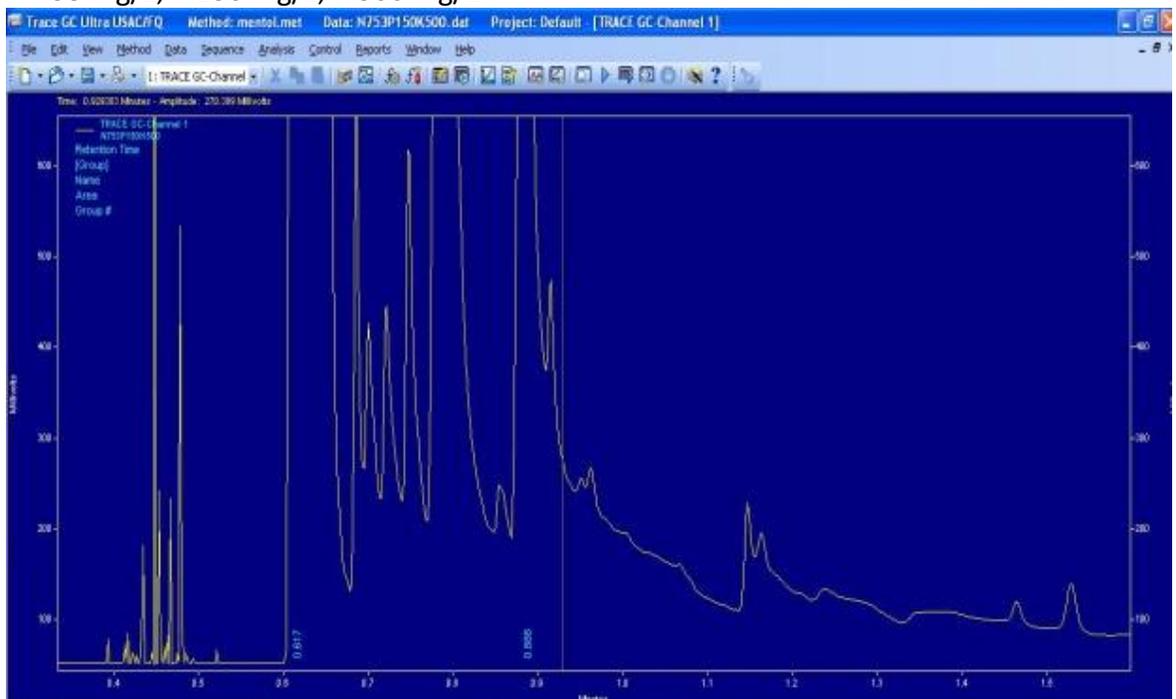
N 747 mg/L; P 150 mg/L; K 500 mg/L



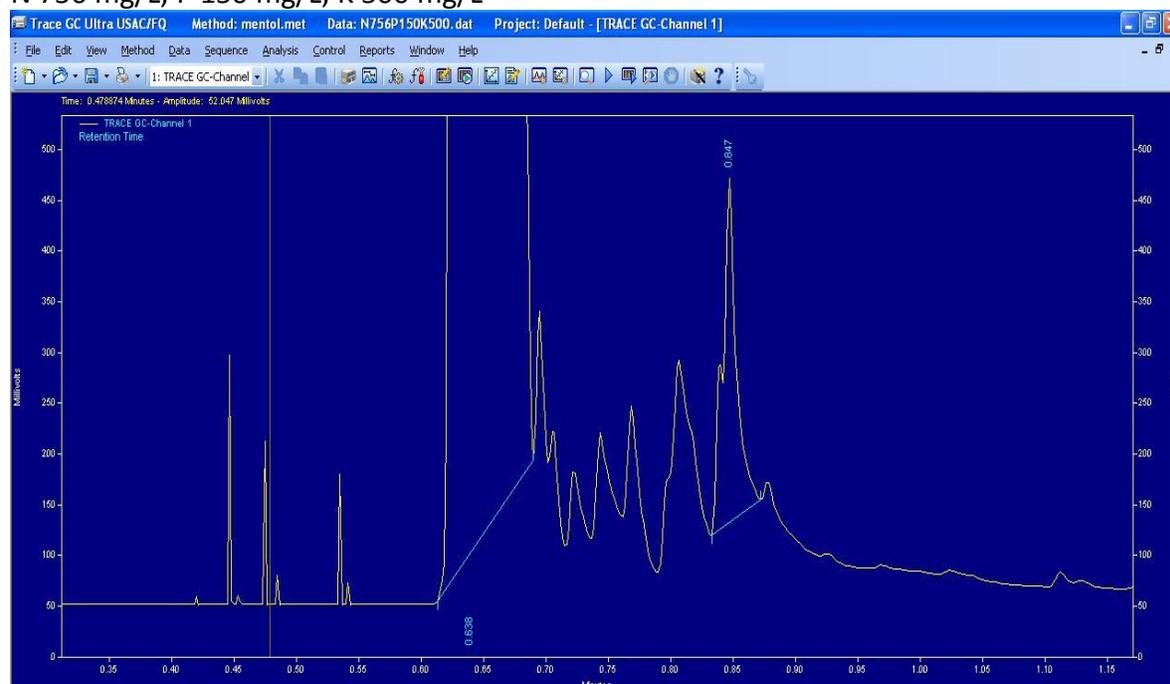
N 750 mg/L; P 150 mg/L; K 500 mg/L



N 753 mg/L; P 150 mg/L; K 500 mg/L

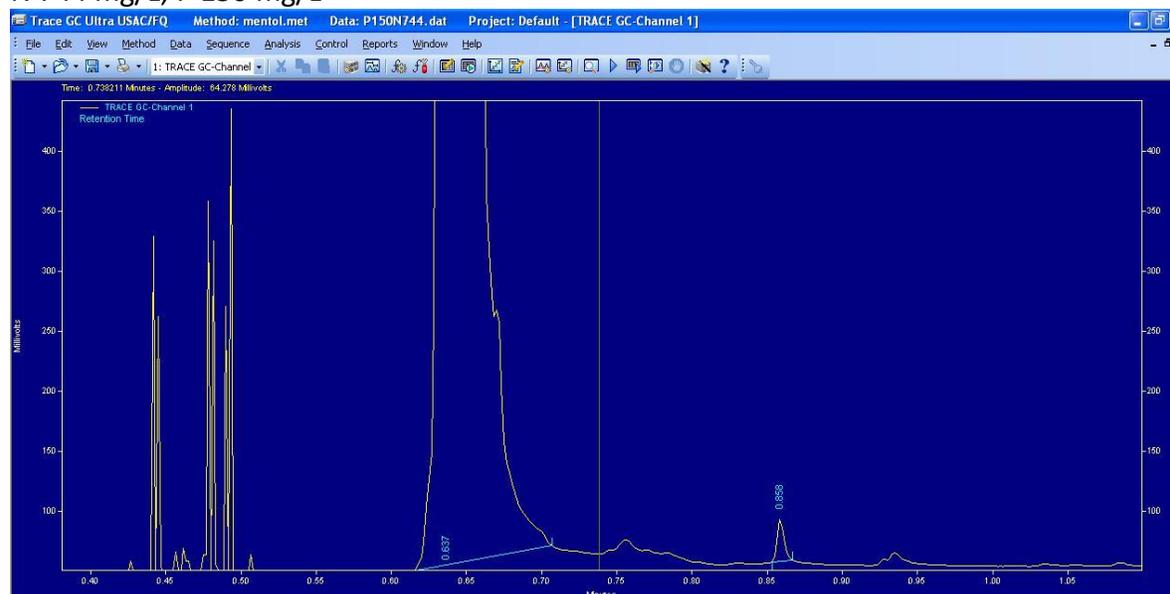


N 756 mg/L; P 150 mg/L; K 500 mg/L

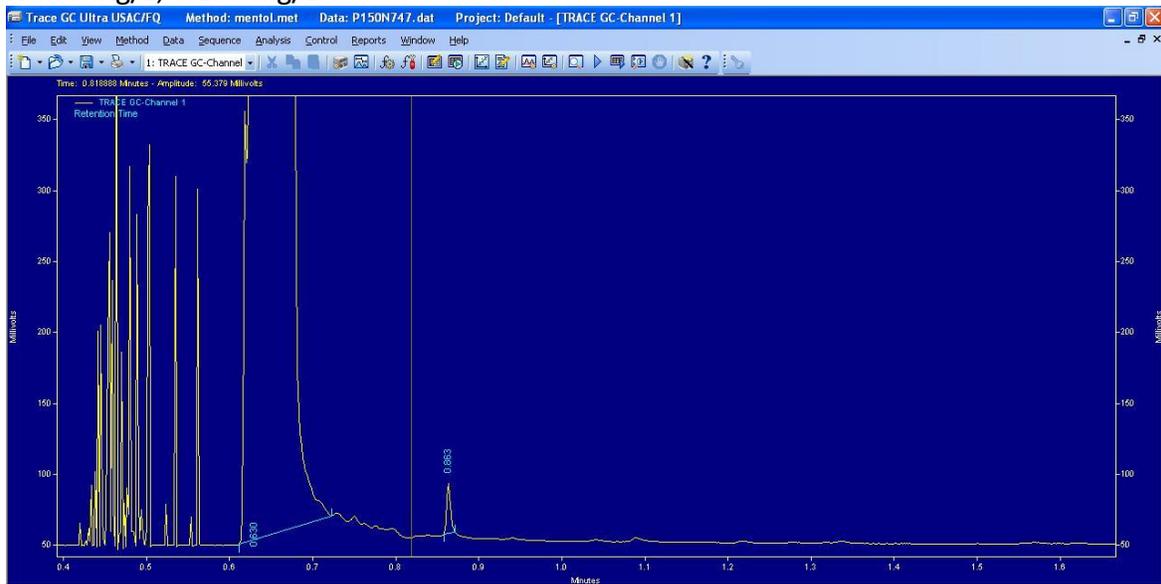


Omisión de potasio

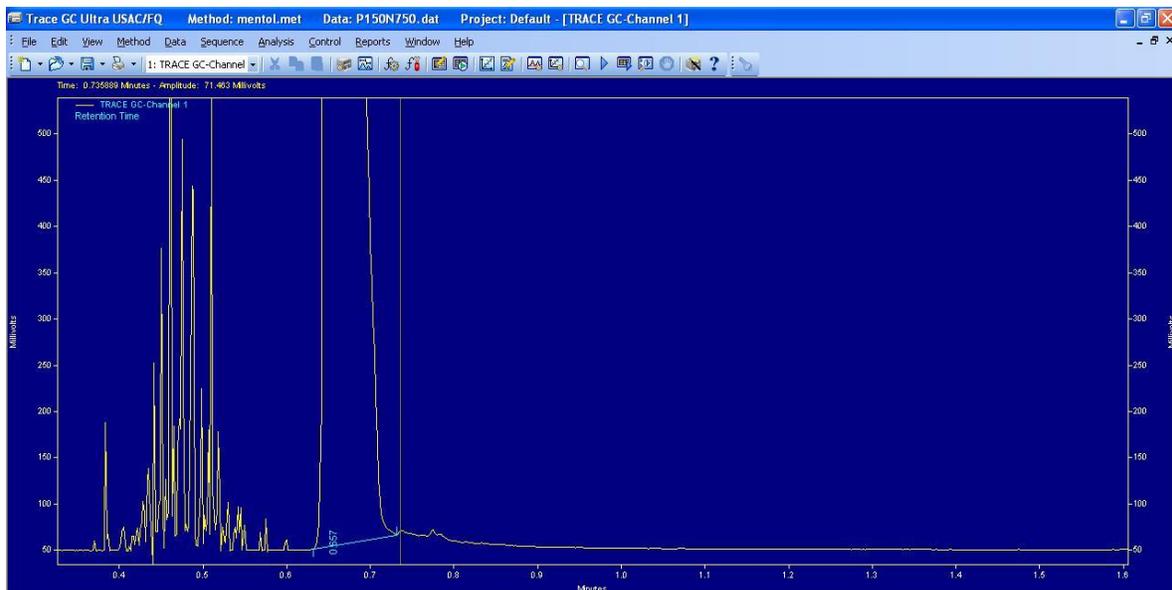
N 744 mg/L; P 150 mg/L



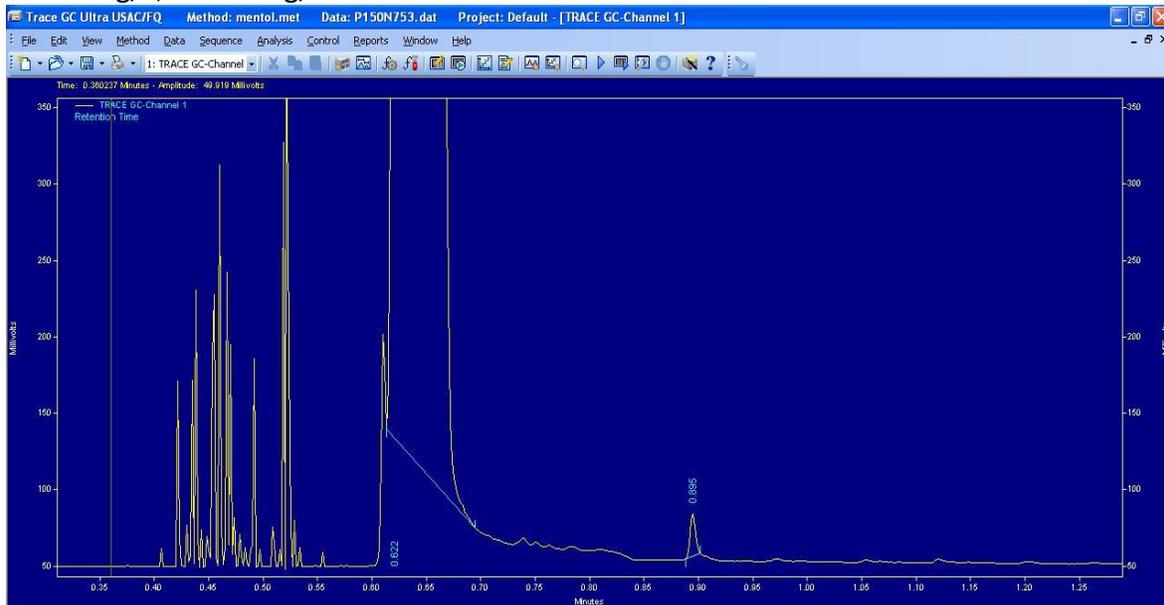
N 747 mg/L; P 150 mg/L



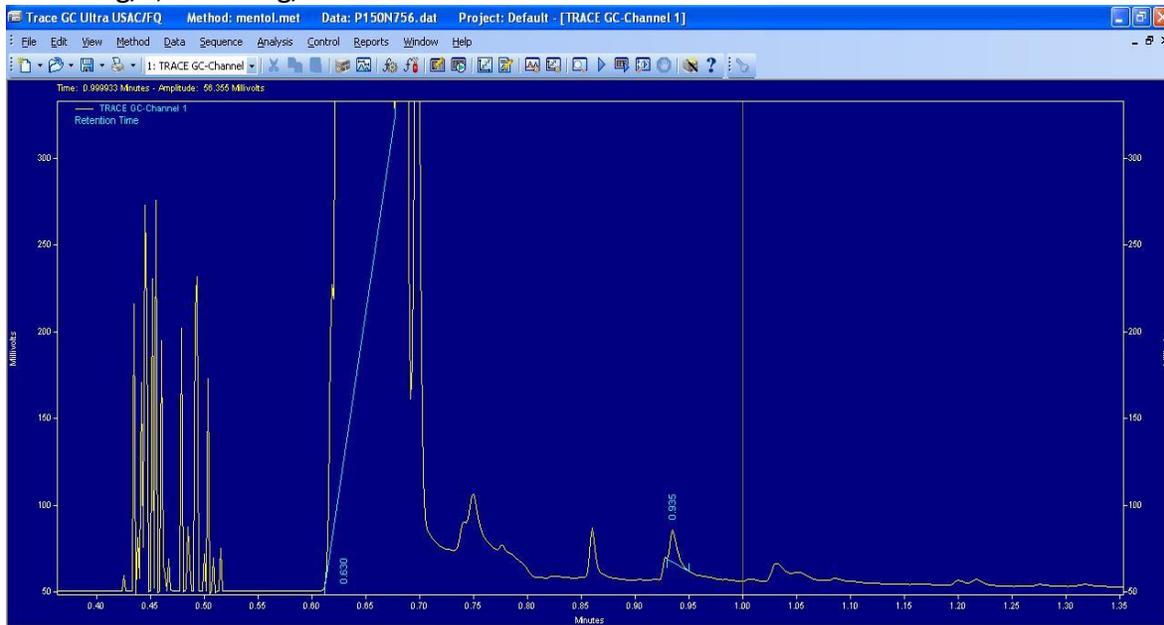
N 750 mg/L; P 150 mg/L



N 753 mg/L; P 150 mg/L

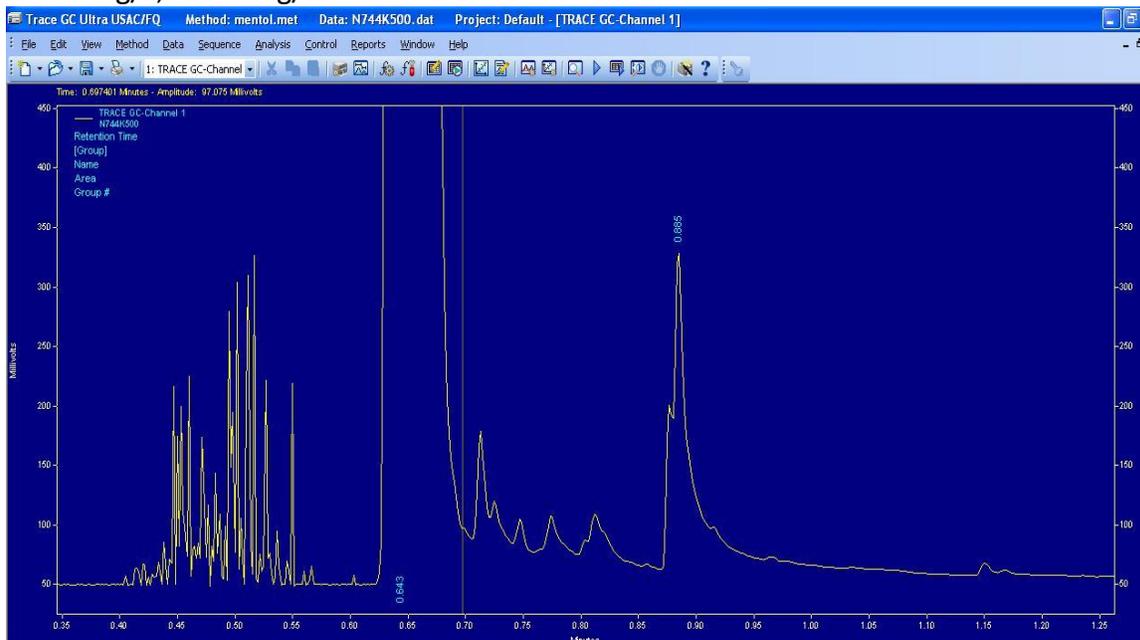


N 756 mg/L; P 150 mg/L

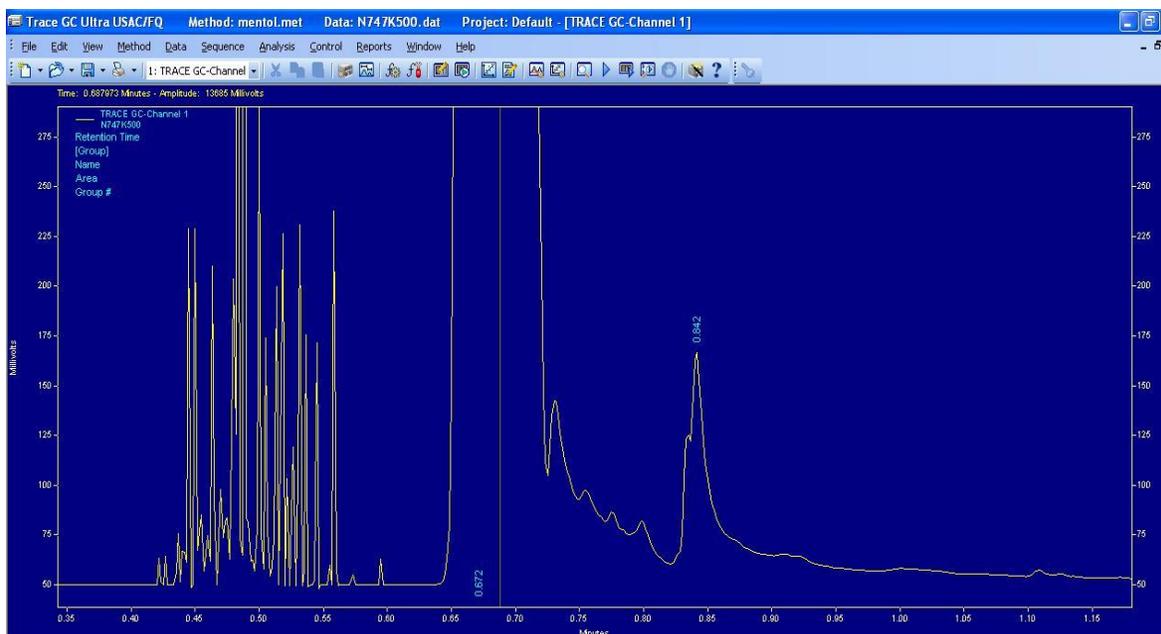


Omisi3n de f3sforo

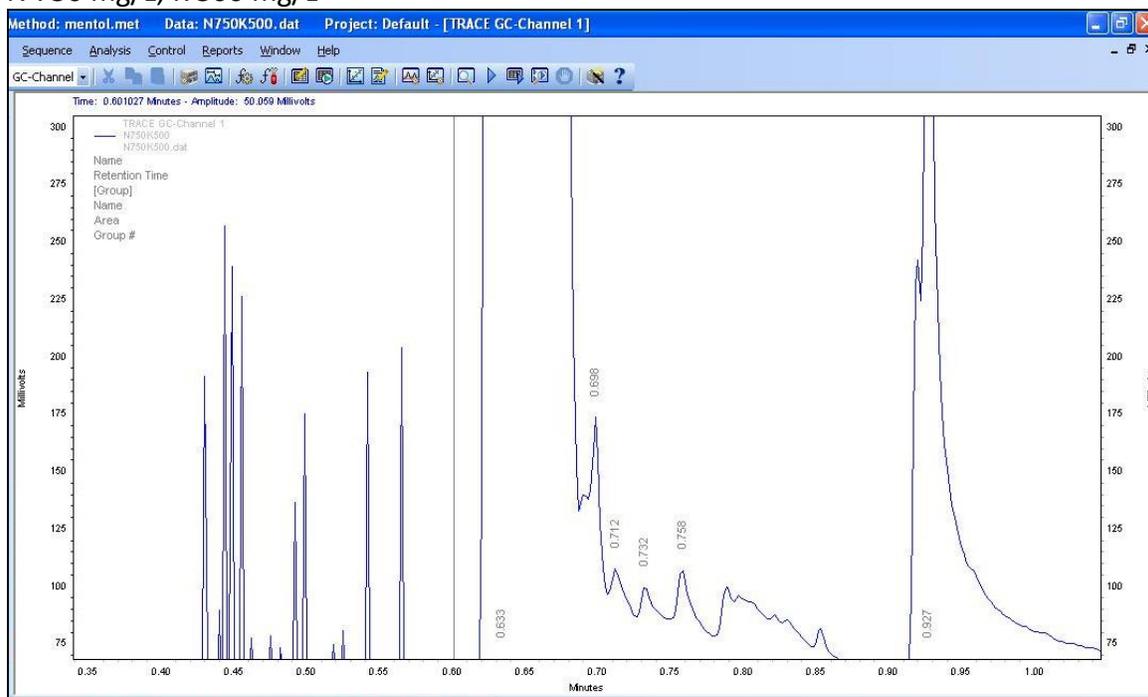
N 744 mg/L; K 500 mg/L



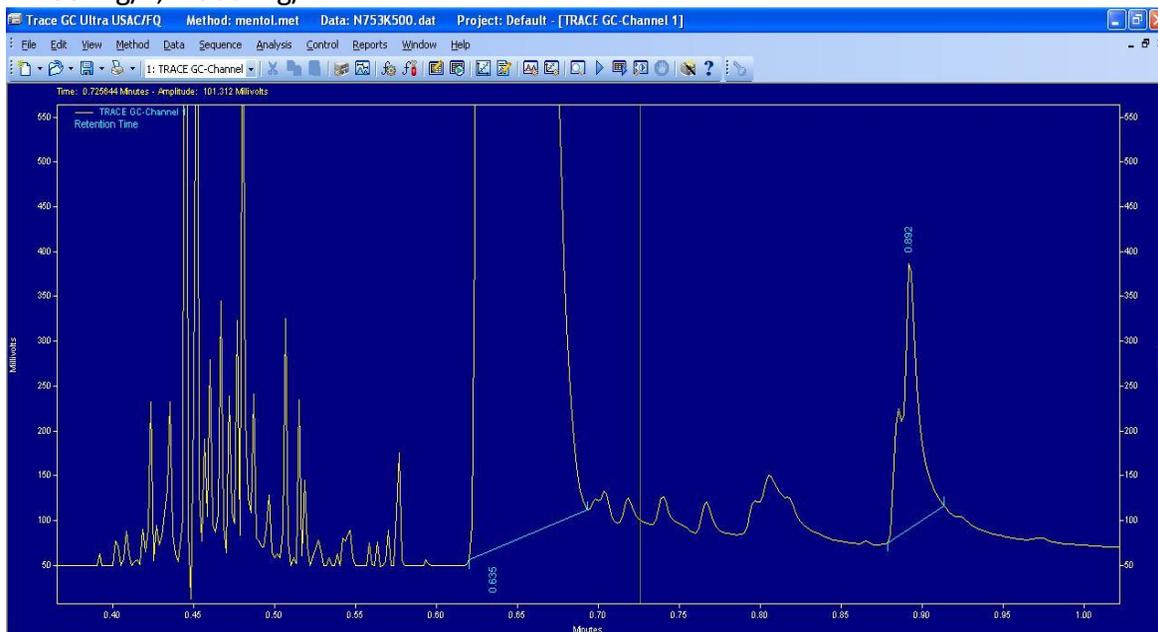
N 747 mg/L; K 500 mg/L



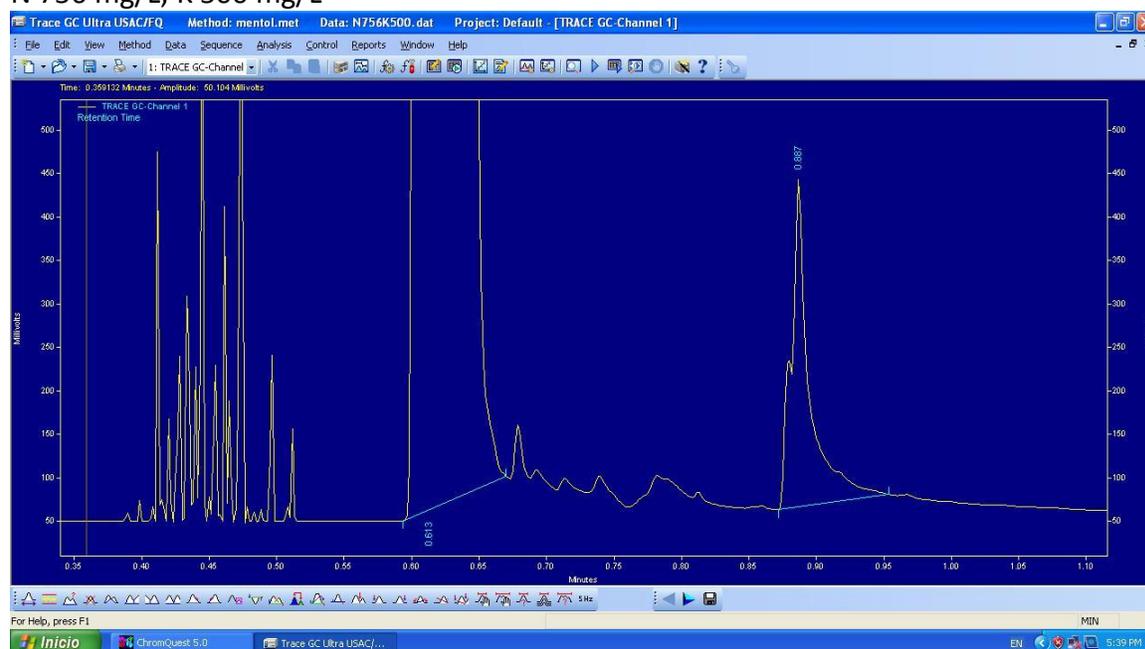
N 750 mg/L; K 500 mg/L



N 753 mg/L; K 500 mg/L



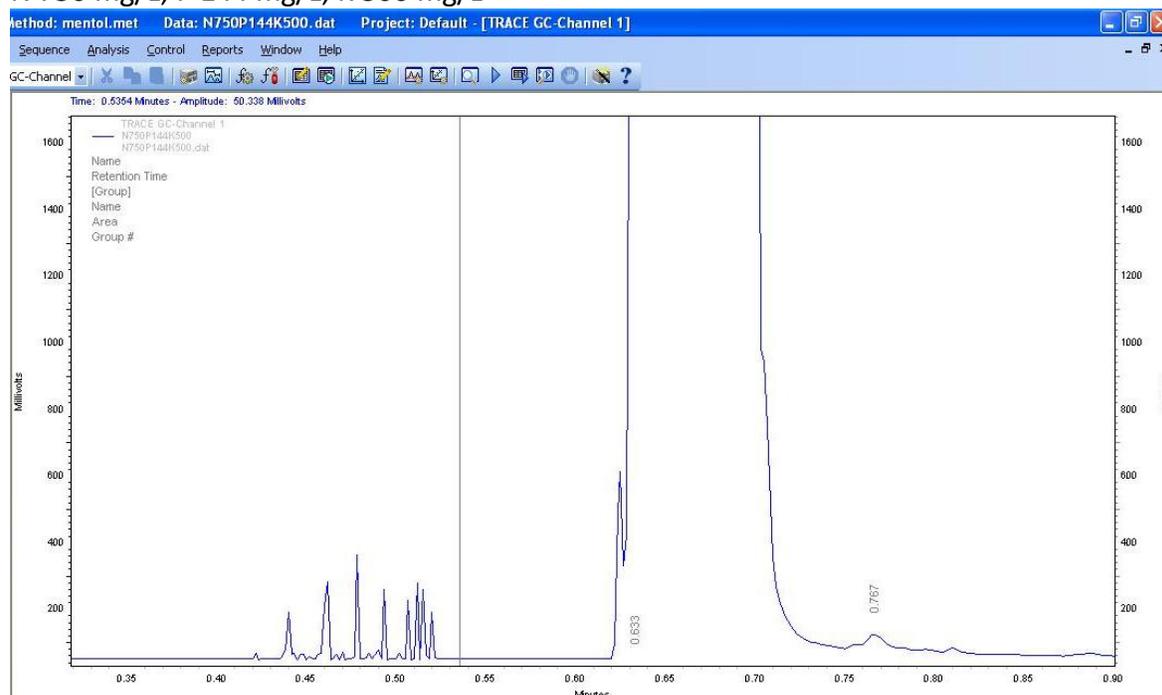
N 756 mg/L; K 500 mg/L



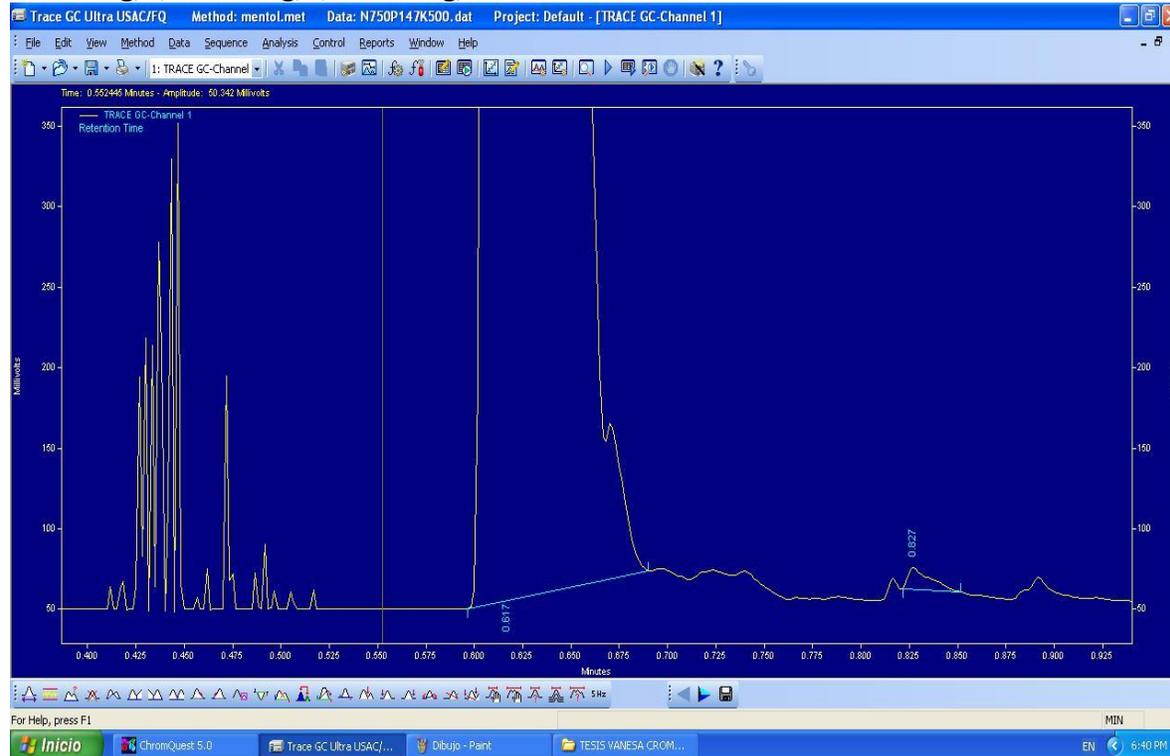
Variación de fósforo

Todos los macronutrientes

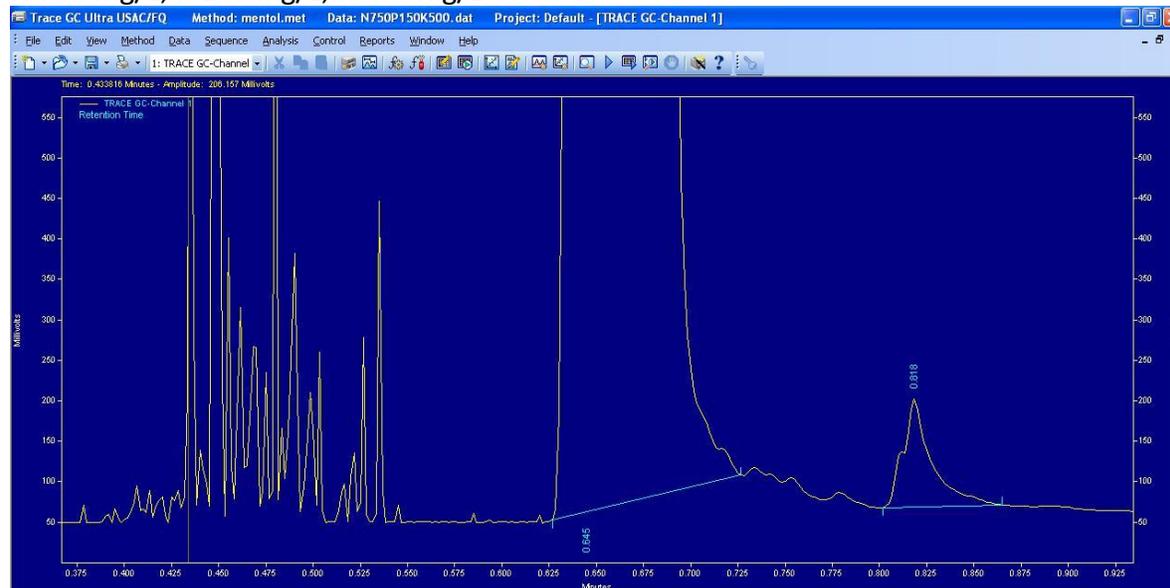
N 750 mg/L; P 144 mg/L; K 500 mg/L



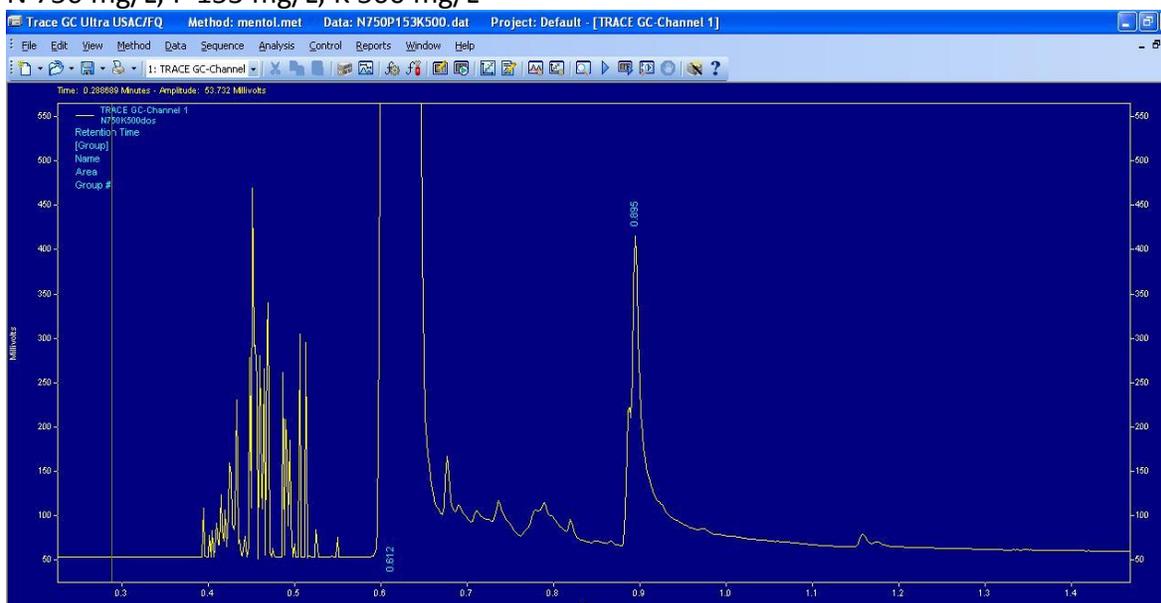
N 750 mg/L; P 147 mg/L; K 500 mg/L



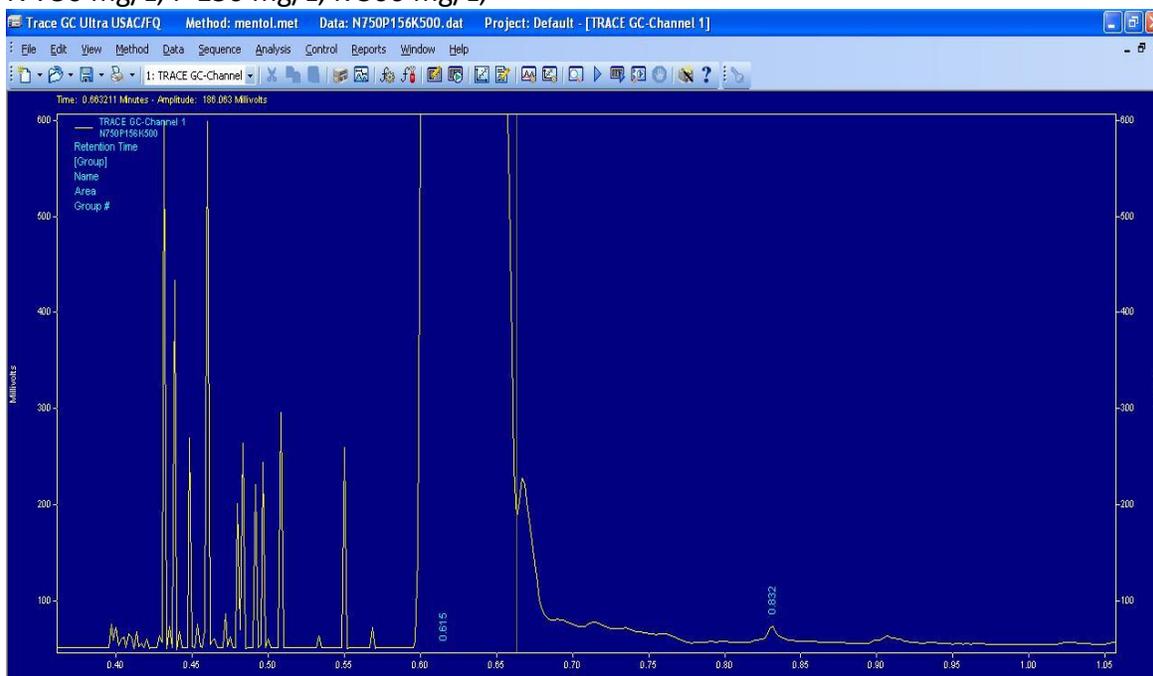
N 750 mg/L; P 150 mg/L; K 500 mg/L



N 750 mg/L; P 153 mg/L; K 500 mg/L

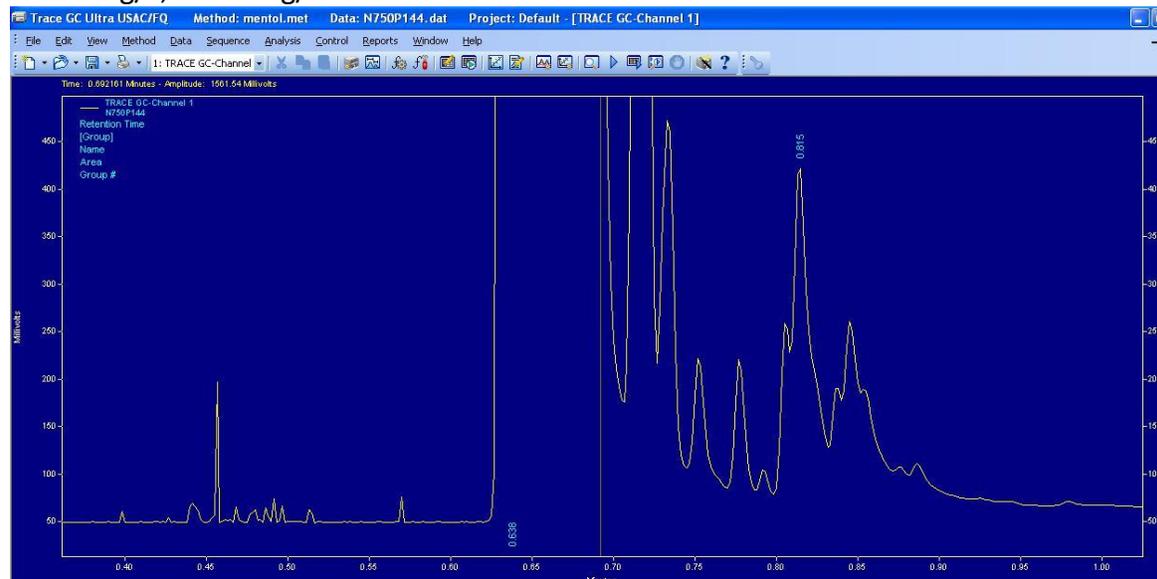


N 750 mg/L; P 156 mg/L; K 500 mg/L;

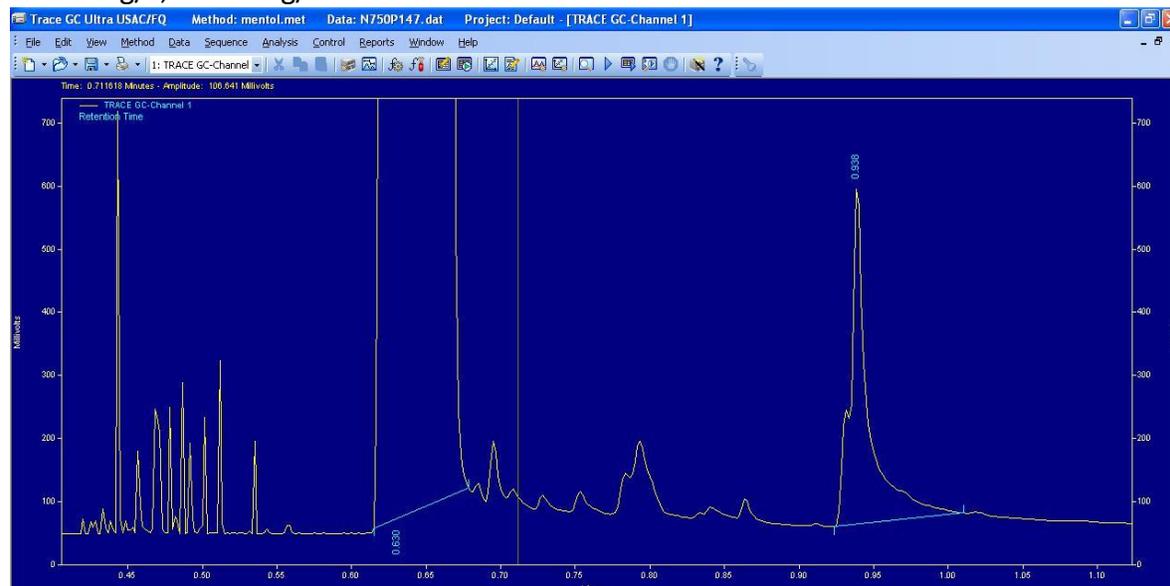


Omisión de potasio

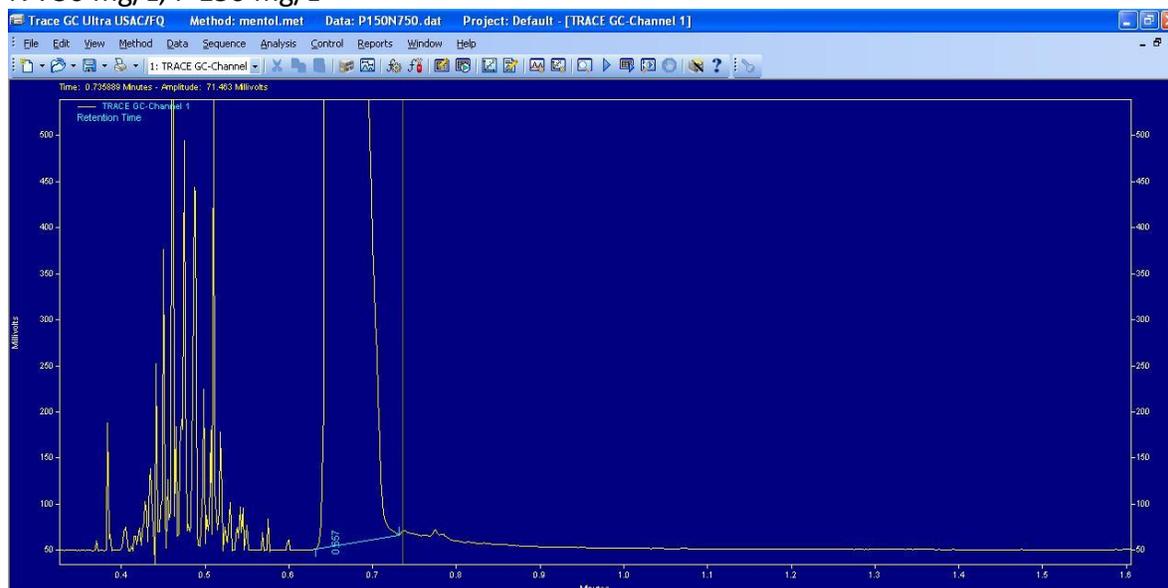
N 750 mg/L; P 144 mg/L



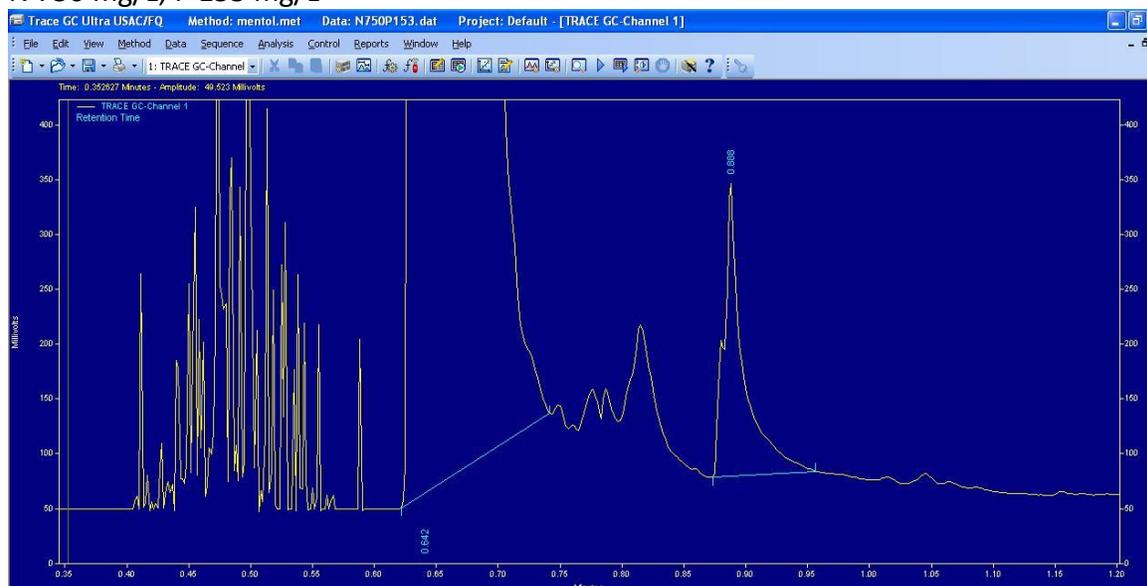
N 750 mg/L; P 147 mg/L



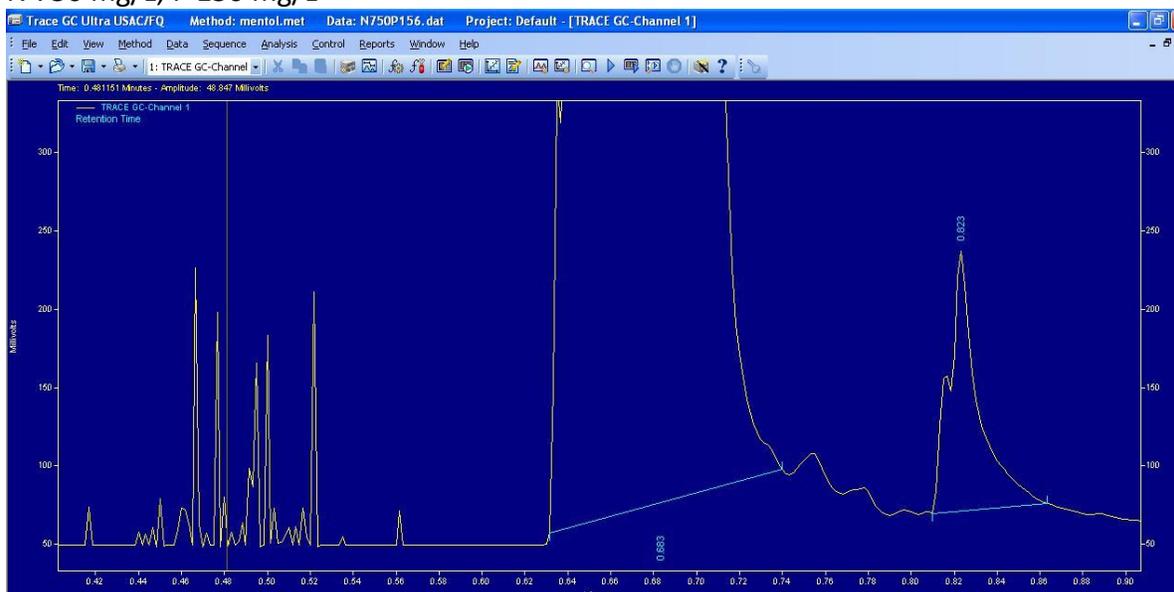
N 750 mg/L; P 150 mg/L



N 750 mg/L; P 153 mg/L

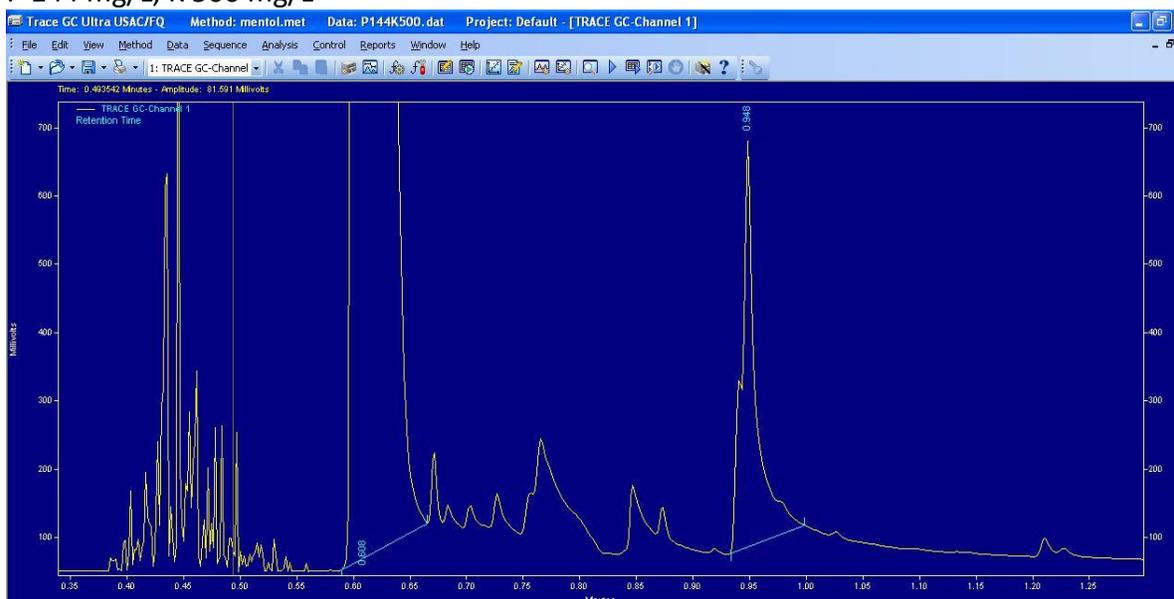


N 750 mg/L; P 156 mg/L

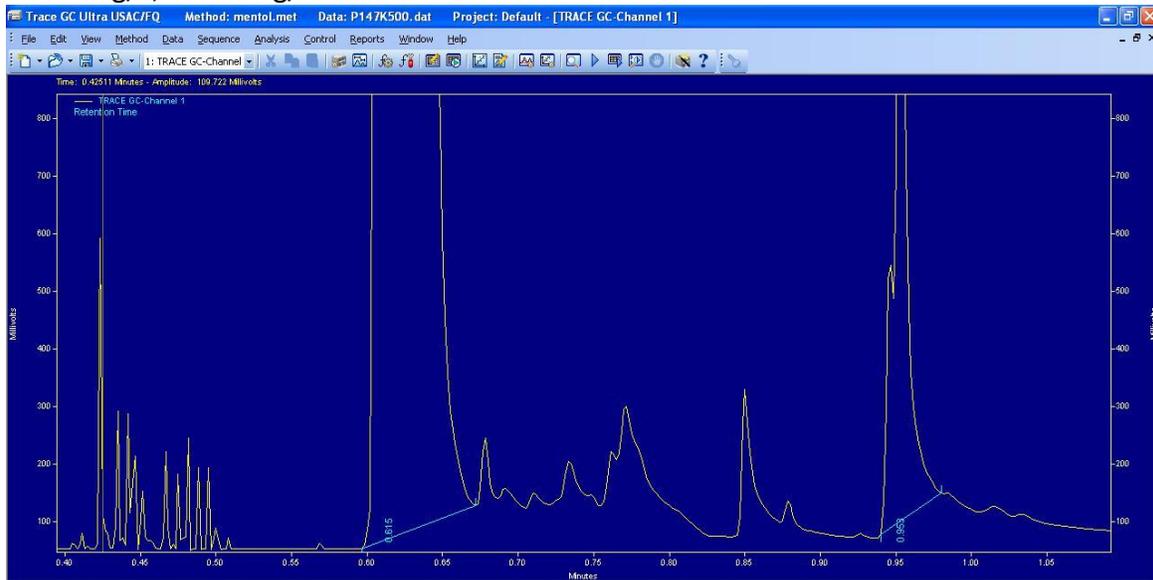


Omisión de nitrógeno

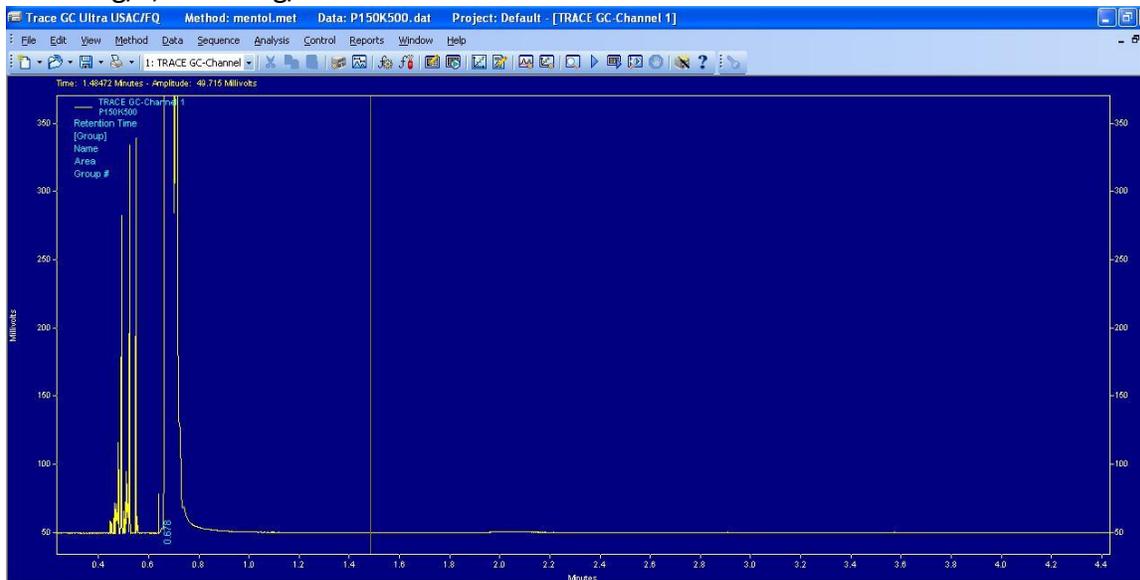
P 144 mg/L; K 500 mg/L



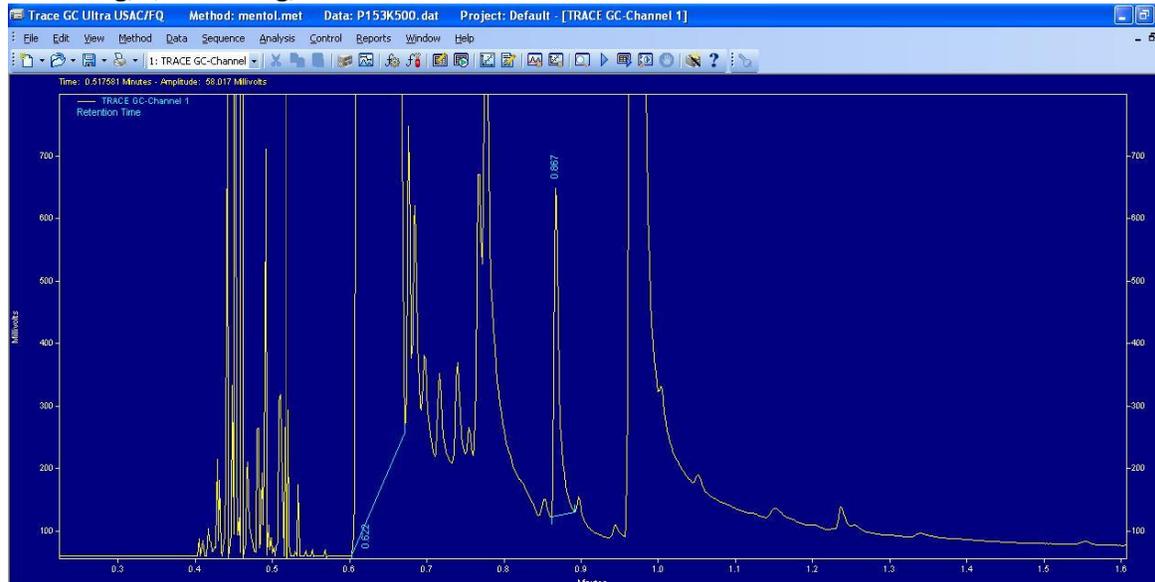
P 147 mg/L; K 500 mg/L



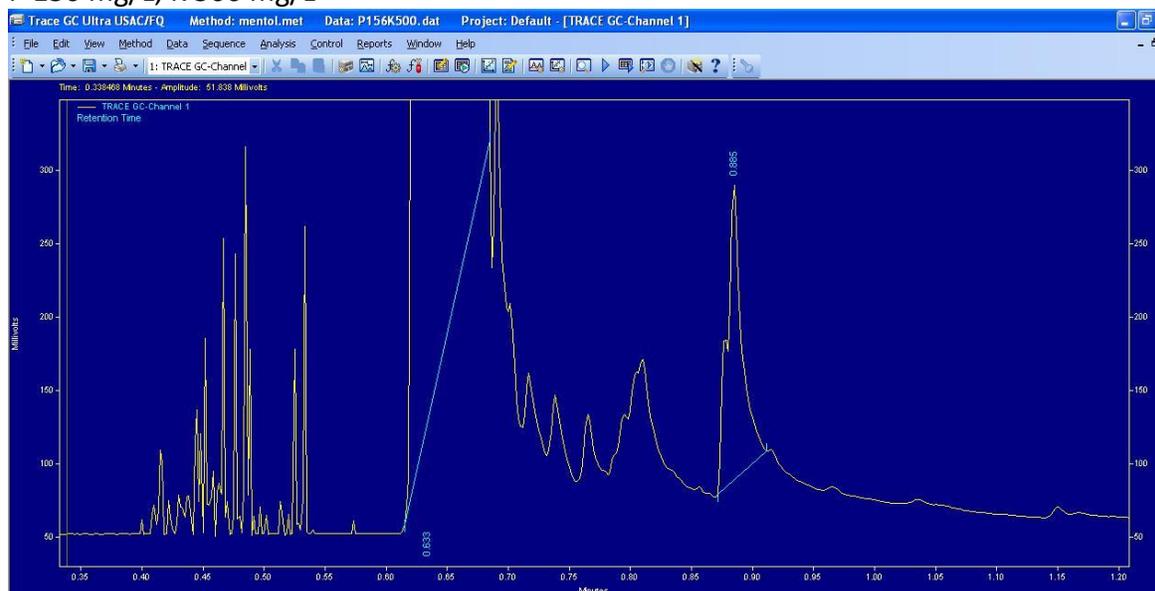
P 150 mg/L; K 500 mg/L



P 153 mg/L; K 500 mg/L



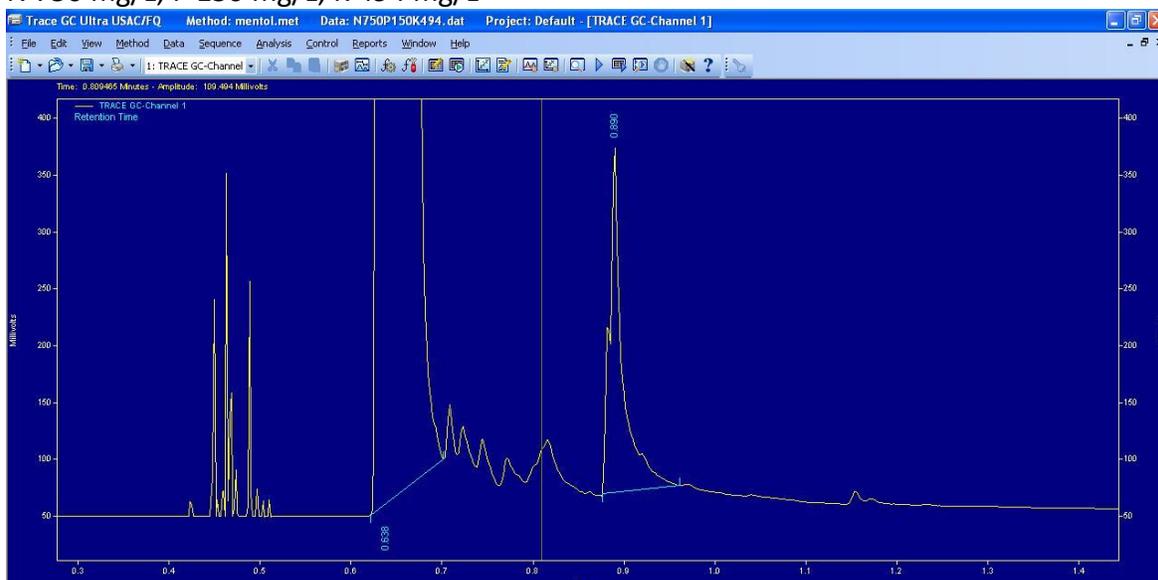
P 156 mg/L; K 500 mg/L



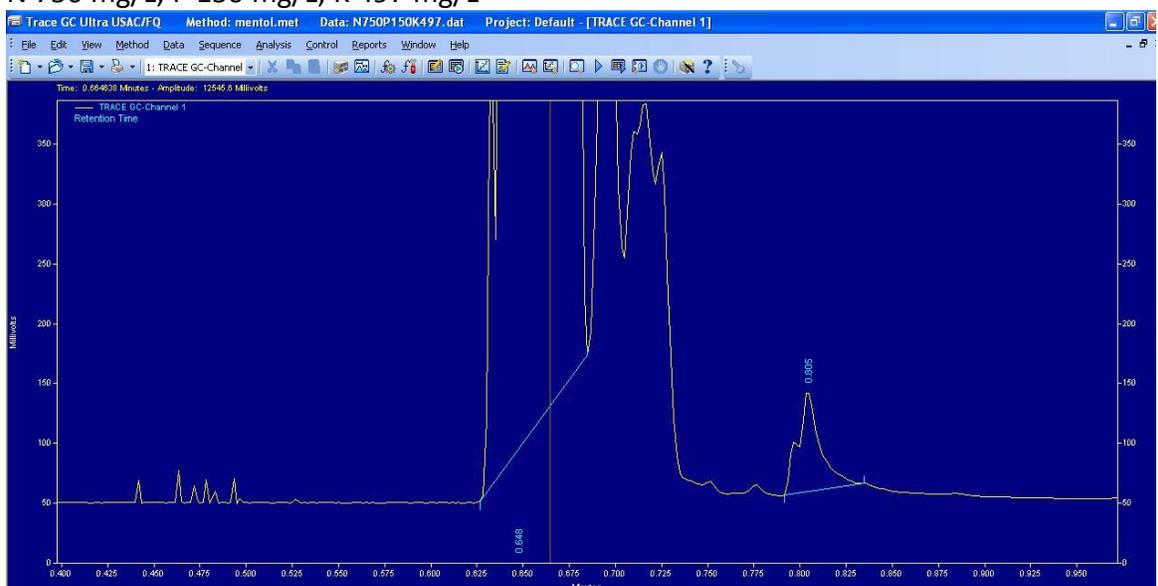
Variación de potasio

Todos los macronutrientes

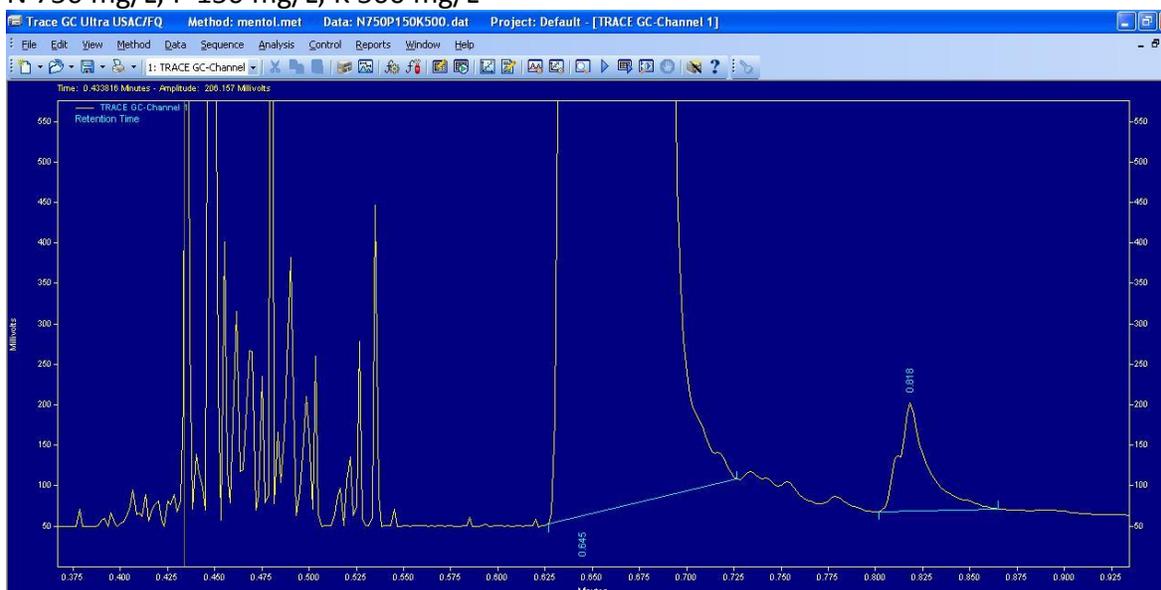
N 750 mg/L; P 150 mg/L; K 494 mg/L



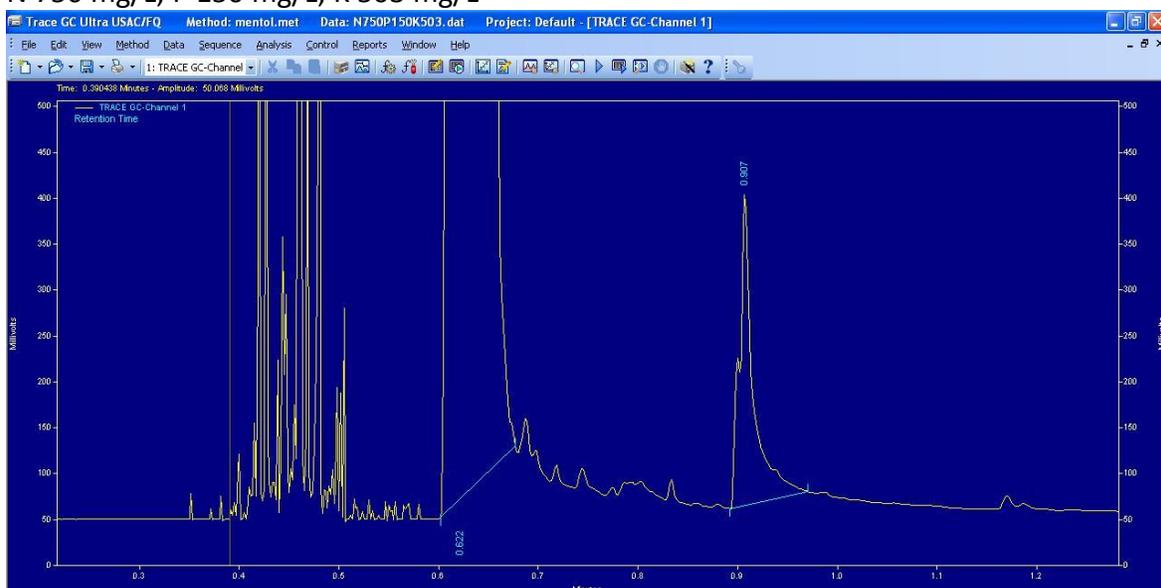
N 750 mg/L; P 150 mg/L; K 497 mg/L



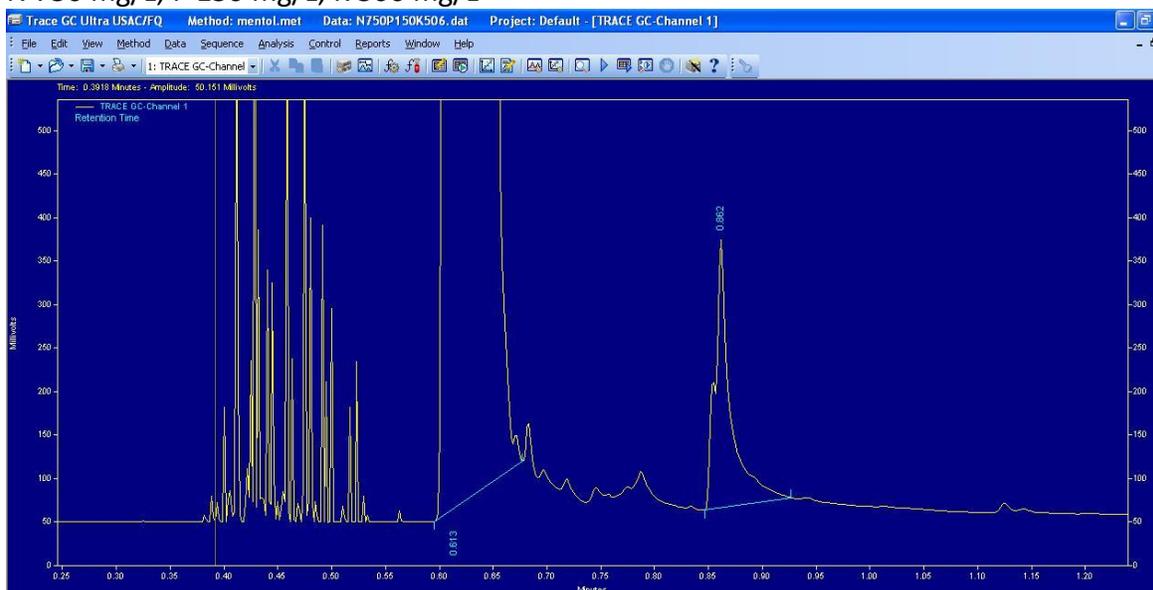
N 750 mg/L; P 150 mg/L; K 500 mg/L



N 750 mg/L; P 150 mg/L; K 503 mg/L

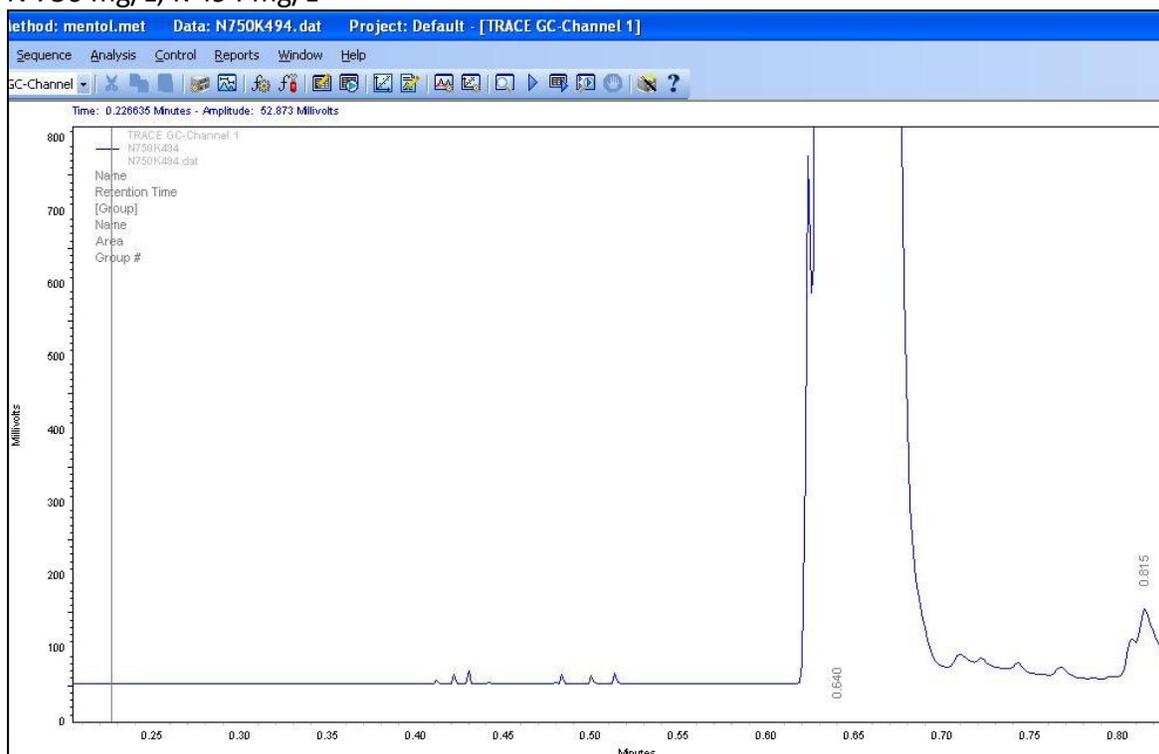


N 750 mg/L; P 150 mg/L; K 506 mg/L

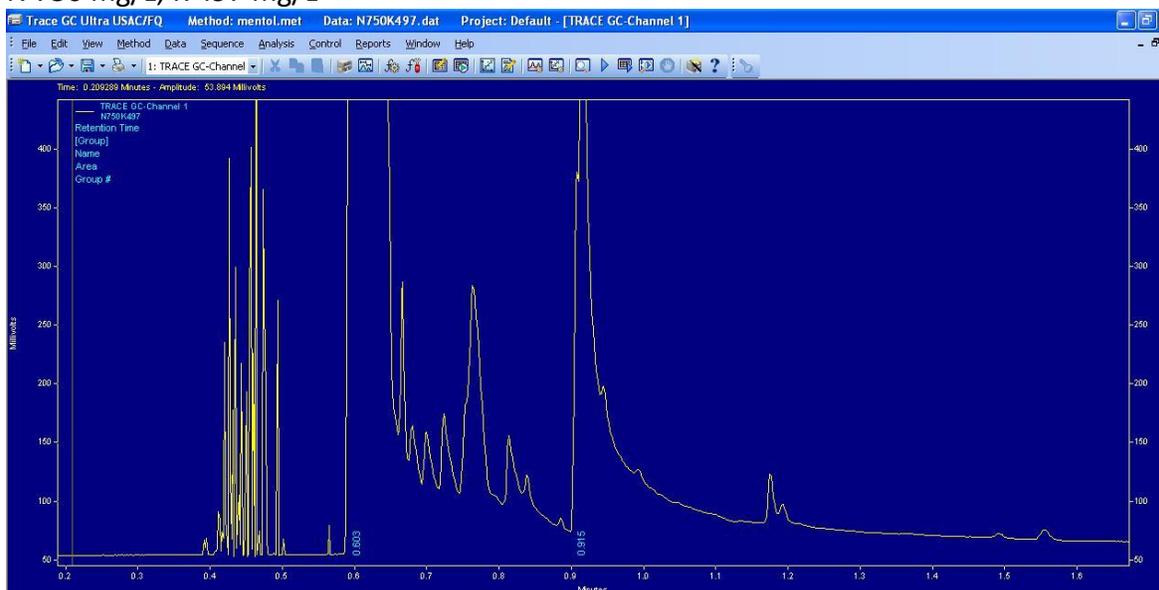


Omisión de fósforo

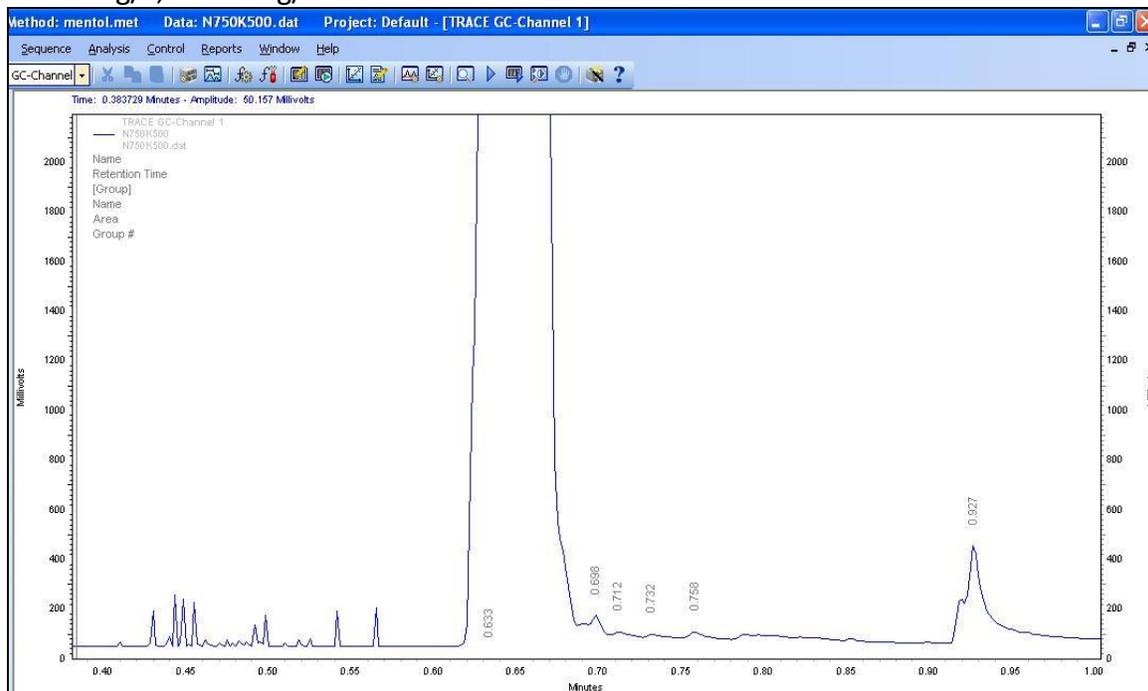
N 750 mg/L; K 494 mg/L



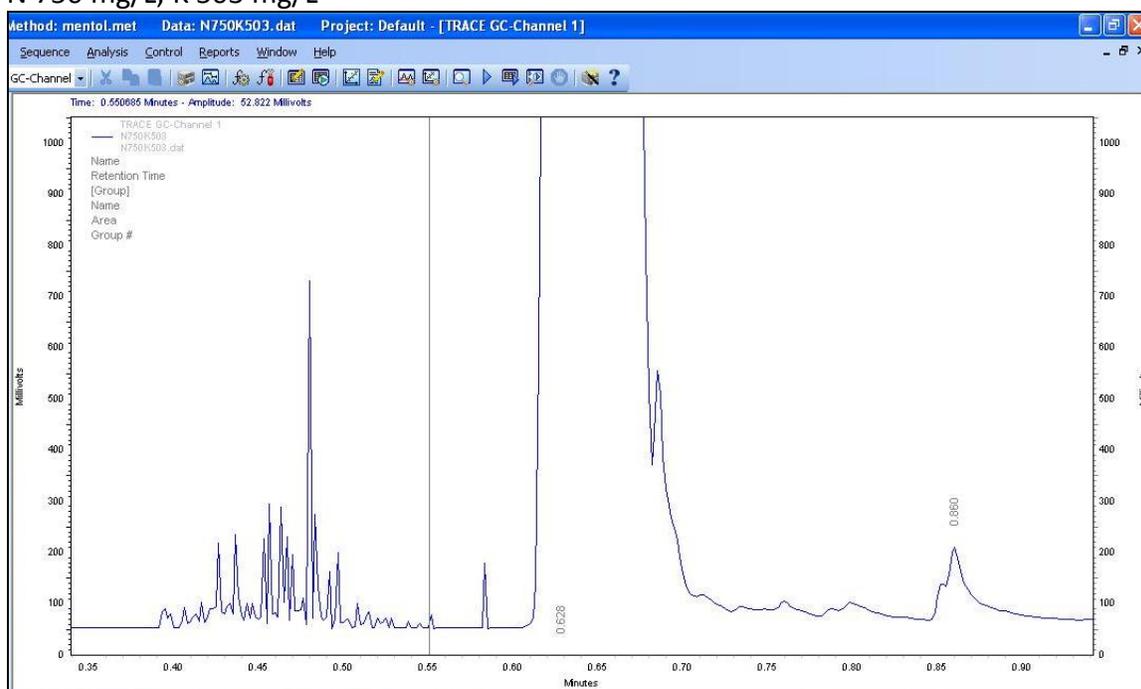
N 750 mg/L; K 497 mg/L



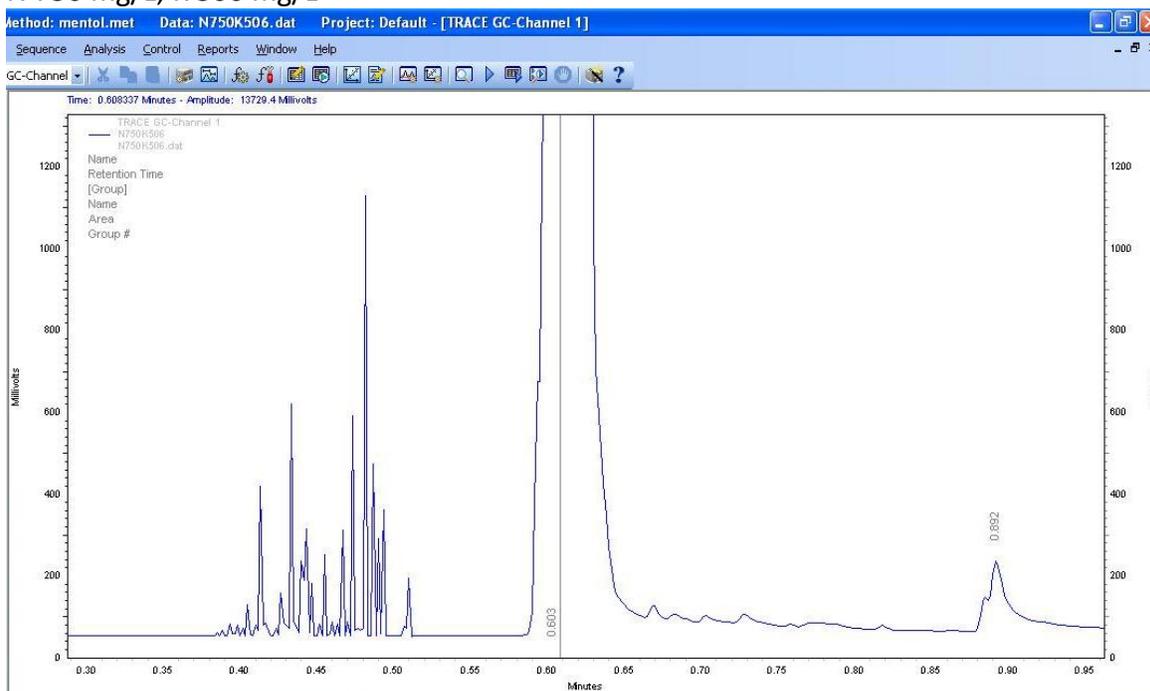
N 750 mg/L; K 500 mg/L



N 750 mg/L; K 503 mg/L

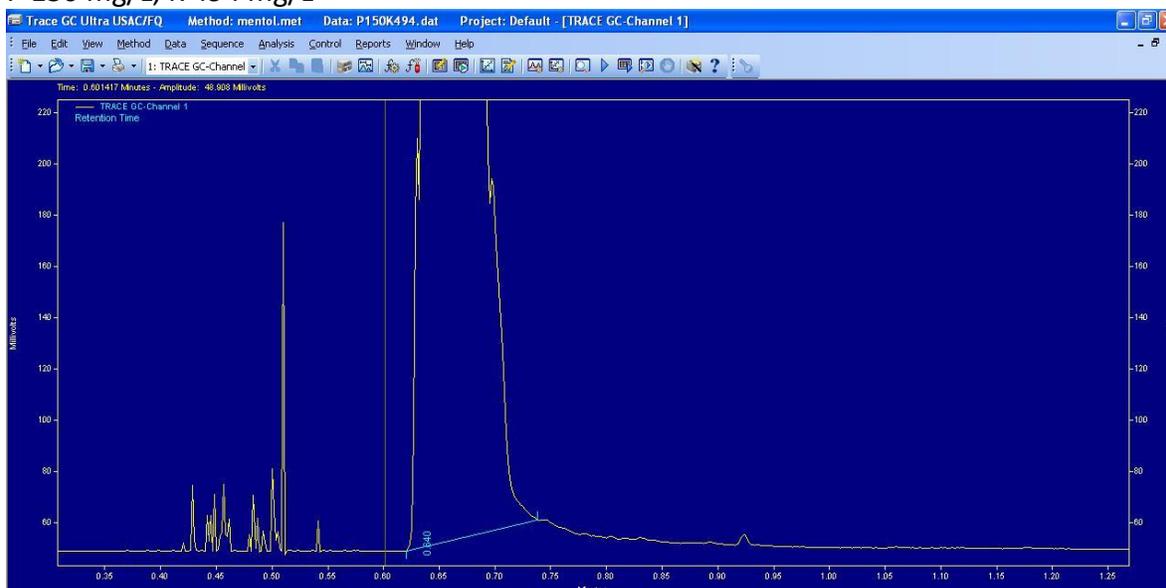


N 750 mg/L; K 506 mg/L

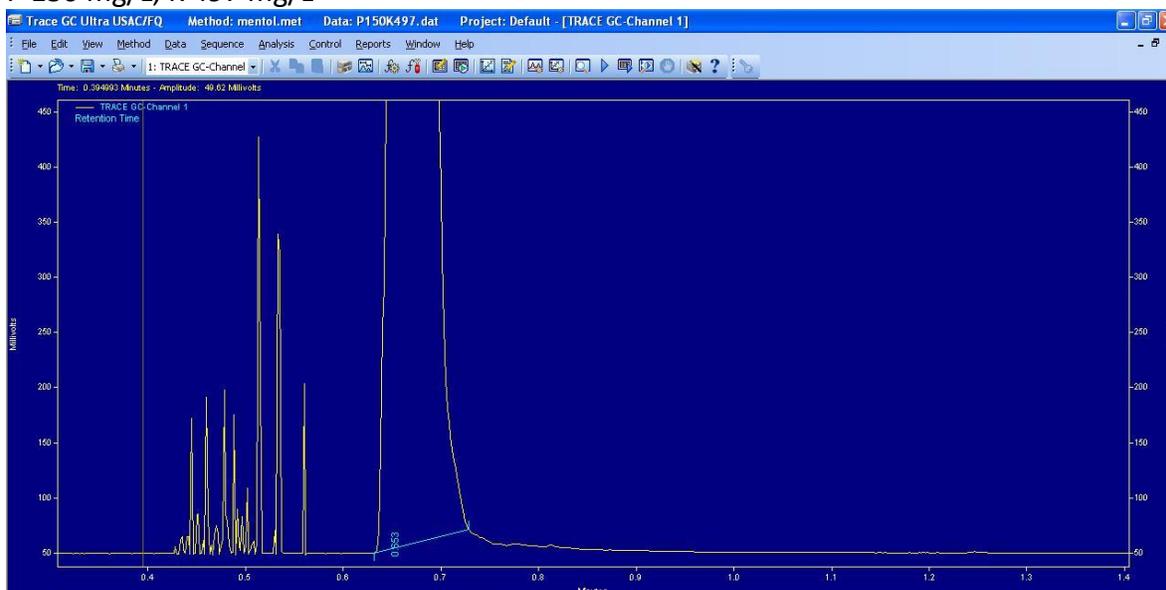


Omisión de nitrógeno

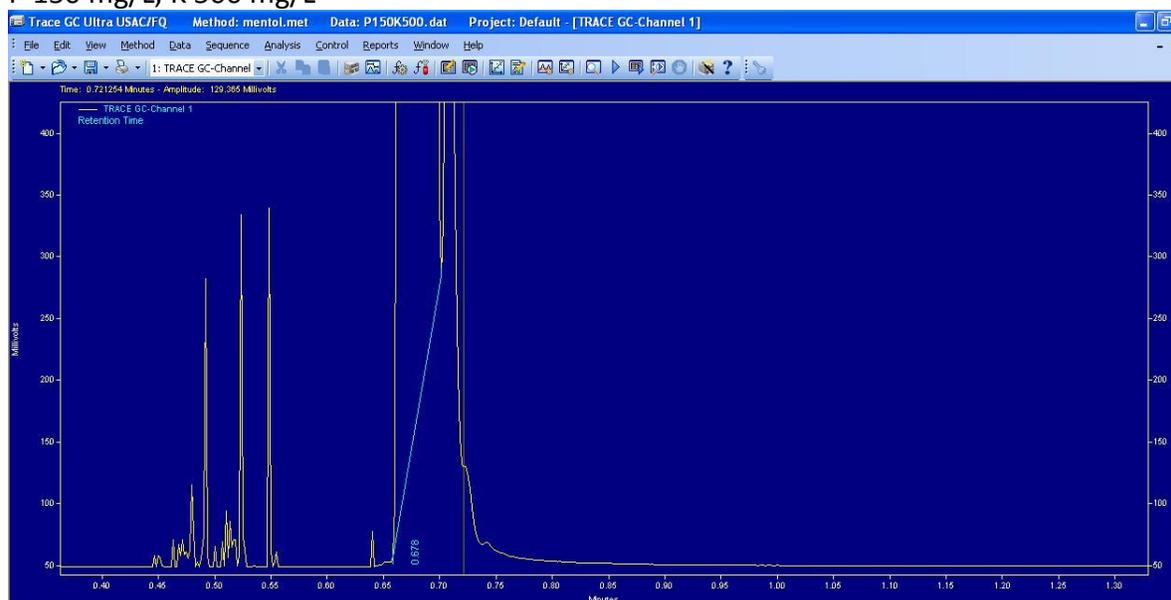
P 150 mg/L; K 494 mg/L



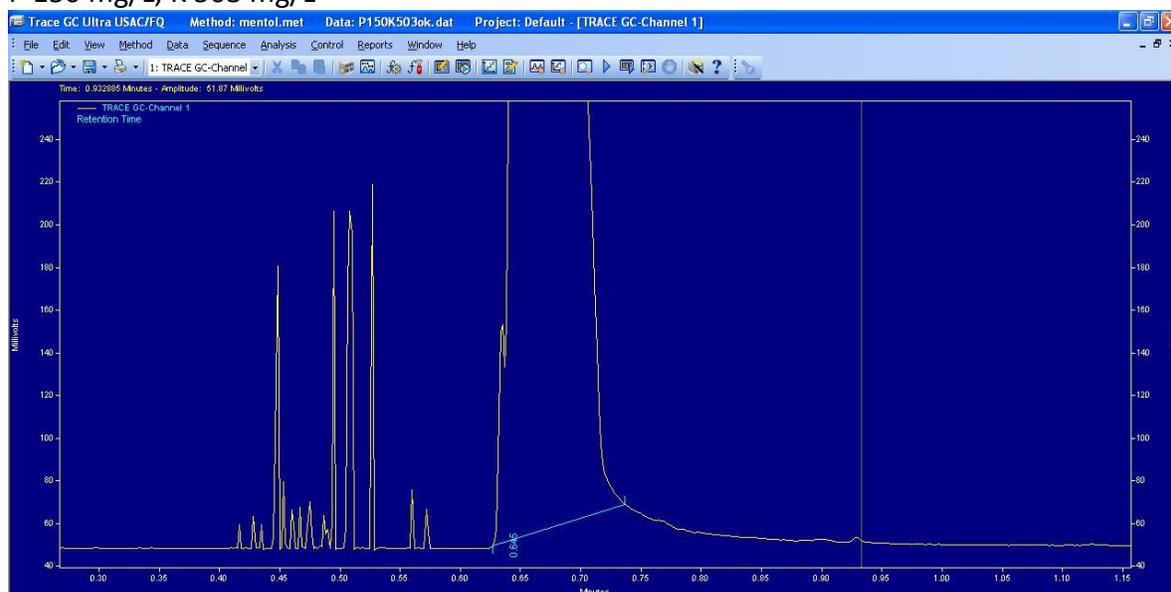
P 150 mg/L; K 497 mg/L



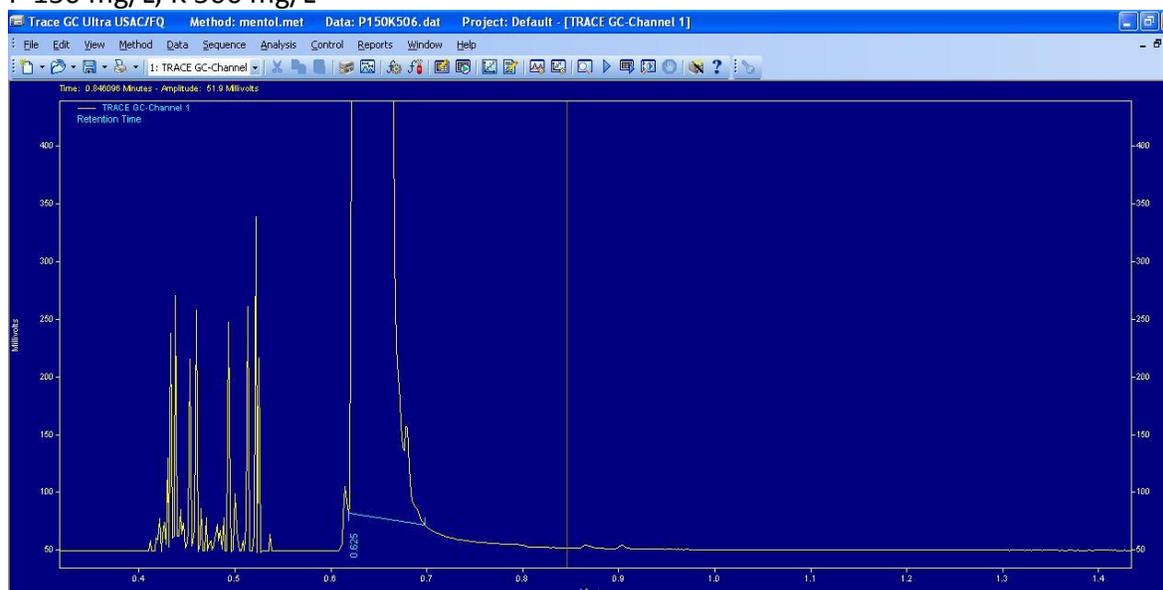
P 150 mg/L; K 500 mg/L



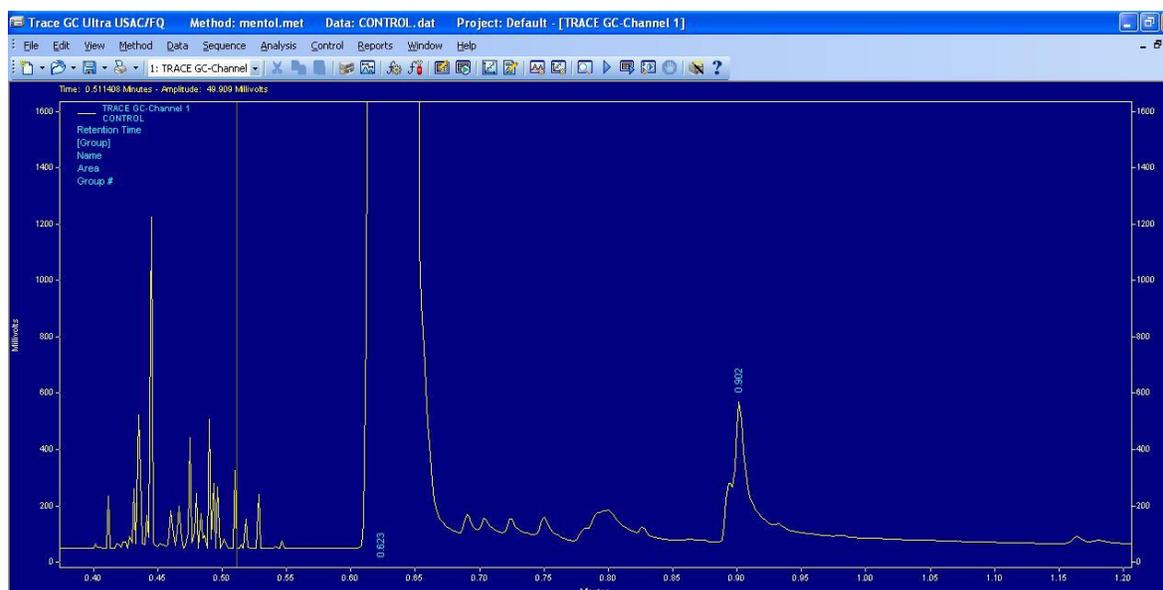
P 150 mg/L; K 503 mg/L



P 150 mg/L; K 506 mg/L

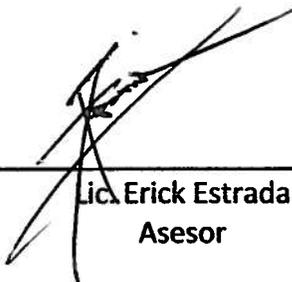


Grupo control





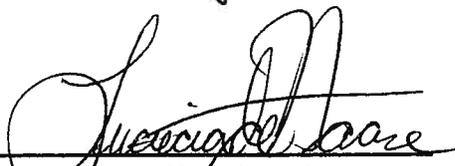
Claudia Vanessa Castellanos Herrera
Estudiante



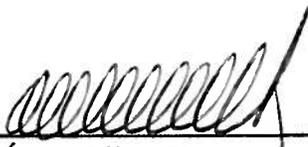
Lic. Erick Estrada
Asesor



Licda. Julia Amparo García Bolaños
Revisora



Lic. Lucrecia Martínez de Haase
Directora de Escuela Química Farmacéutica



Dr. Óscar Cobar Pinto
Decano Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia