



**Benemérita
Universidad Autónoma de Puebla**

FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA

**“EFECTO DE LA TEMPERATURA DE SECADO Y
TIEMPO DE MACERACIÓN SOBRE LA CAPACIDAD
ANTIOXIDANTE Y EL CONTENIDO DE FENOLES
TOTALES EN LICOR DE TORONJIL (*Dracocephalum
moldavica* L.)”**

TESIS PROFESIONAL

Que para obtener el Título de:

Licenciatura en Ingeniería en Alimentos

Presenta:

Brenda Mayté Montiel Martínez

Director de Tesis:

M.E.S. Madai Gizeh Sánchez Arzubide

Co-Director de tesis:

Dr. Diego Ibarra Cantún

Puebla, Pue. Agosto 2020



BUAP.

Oficio No. FIQ/AC/147/2020

Asunto: Prórroga de Registro de Tema de Tesis

**C. BRENDA MAYTÉ MONTIEL MARTÍNEZ
PASANTE DE LA LICENCIATURA
EN INGENIERÍA EN ALIMENTOS
P R E S E N T E:**

Por medio del presente me permito informarle, de la aprobación de la prórroga de Registro de Tema de Tesis de la Licenciatura en Ingeniería en Alimentos cuyo título es el siguiente:

“EFECTO DE LA TEMPERATURA DE SECADO Y TIEMPO DE MACERACIÓN SOBRE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y EL CONTENIDO DE FENOLES TOTALES EN LICOR DE TORONJIL(DRACOCEPHALUM MOLDAVICA L.)”

Con el siguiente contenido:

INTRODUCCIÓN

CAPÍTULO 1	ANTECEDENTES
CAPÍTULO 2	METODOLOGÍA
CAPÍTULO 3	RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**CONCLUSIONES
BIBLIOGRAFÍA**

Director de Tesis: M.E.S. Madai Gizeh Sánchez Arzubide
Co-Director de Tesis: Dr. Diego Ibarra Cantún

Lo cuál me permito comunicarle para su conocimiento y fines consiguientes aclarando que la vigencia de este tema será **ÚNICAMENTE POR TRES MESES A PARTIR DEL 18 DE FEBRERO DEL 2020 AL 18 DE MAYO DEL 2020.**

A T E N T A M E N T E
“Pensar Bien, Para Vivir Mejor”
H. Puebla de Z., 18 de Febrero del 2020


M.I.C MA. GPE. TITA VAZQUEZ E. DE LOS MONTEROS
SECRETARIA ACADEMICA



C.c.p. Director de Tesis: M.E.S. Madai Gizeh Sánchez Arzubide
C.c.p. Co-Director de Tesis: Dr. Diego Ibarra Cantún
C.c.p. Archivo.

Facultad
de Ingeniería
Química

Av. San Claudio s/n, Col. San
Manuel, Ciudad Universitaria,
Puebla, Pue. C.P. 72590
01 (222) 229 55 00
Exts. 7250 y 7251

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar quiero agradecer a mis padres Elia y Eduardo porque son la base de todo, por siempre estar conmigo, alentarme a seguir mis metas y apoyarme en el proceso.

A mi hermana Gaby, por su apoyo, complicidad, consejos y paciencia.

A Miguel por todos sus consejos.

A mis hermanitas Mari, Chayito y Dul por estar conmigo siempre a pesar de la distancia y el tiempo.

Muchas gracias a Rubí, Nalle, Sandy, Caty, Sibel y Sujey por ser cómplices en este viaje y por su amistad.

A don Ángel, doña Luisa y Rene porque conocerlos fue una de las experiencias más agradables que he tenido y porque de forma desinteresada me acogieron como una más de su familia.

Gracias a todas las personas que estuvieron presentes durante este proceso. A mis tutores de tesis: M.E.S. Madai Gizeh y Dr. Diego Ibarra por brindarme la confianza y oportunidad de trabajar con ustedes, sobre todo gracias por su tiempo y paciencias.

ÍNDICE

Introducción	1
Objetivos.....	3
Objetivo general	3
Objetivos específicos	3
Hipótesis.....	4
Capítulo 1: Antecedentes.....	5
1.1 Historia de los licores	5
1.2 Métodos para la elaboración de licores	6
1.3 Los beneficios del consumo moderado de bebidas alcohólicas.....	8
1.4 Toronjil (<i>Dracocephalum moldavica</i> L.)	9
1.5 Compuestos fenólicos	10
1.6 Antioxidantes.....	14
Capítulo 2: Metodología.....	18
2.1 Diagrama general.....	18
2.2 Obtención y caracterización de materia prima.....	19
2.3 Secado de hoja de toronjil	20
2.4 Elaboración de licor de toronjil.....	22
2.4.1 Maceración	22
2.4.2 Elaboración de jarabe	24
2.4.3 Formulación de licor.....	25
2.5 Medición de características fisicoquímicas	26
2.5.1 Determinación del porcentaje de alcohol	26
2.5.2 Medición de sólidos solubles totales	27
2.5.3 Determinación de sacarosa	27
2.5.4 Determinación de acidez volátil.....	29
2.5.5 Determinación de turbidez	30
2.5.6 Medición de color	31
2.6 Determinación de compuestos fenólicos totales	33
2.7 Medición capacidad antioxidante.....	34
2.7.1 Método DPPH.....	34
2.7.2 Método ABTS	35

2.8 Análisis sensorial.....	35
2.9 Análisis Estadístico	37
Capítulo 3: Resultados y discusión	38
3.1 Obtención y caracterización de materia prima.....	38
3.2 Secado de toronjil.....	38
3.3 Elaboración de licor de toronjil.....	39
3.3.1 Maceración	39
3.3.2 Elaboración de jarabe	40
3.3.3 Formulación de licor.....	40
3.4 Medición de características fisicoquímicas	42
3.4.1 Determinación del porcentaje de alcohol	43
3.4.2 Medición de sólidos solubles totales	44
3.4.3 Determinación de sacarosa	46
3.4.4 Determinación de acidez volátil.....	47
3.4.5 Medición de turbidez.....	49
3.4.6 Medición de color	50
3.5 Determinación de compuestos fenólicos totales	52
3.6 Medición de capacidad antioxidante.....	55
3.6.1 Método DPPH.....	56
3.6.2 Método ABTS	59
3.7 Análisis de correlación.....	63
3.8 Análisis sensorial.....	64
Conclusiones	72
Sugerencias.....	73
Bibliografía.....	74
Anexos	85
Anexo 1. Hoja de evaluación para prueba de nivel de agrado.....	85
Anexo 2. Hoja de evolución para la prueba de preferencia.....	86
Anexo 3. Certificado de la identificación taxonómica de (<i>Dracocephalum moldavica</i> L.).	87
Anexo 4. Curva de calibración de ácido gálico para la determinación de compuestos fenólicos totales por el método de Folin-Ciocalteu.....	88
Anexo 5. Curva de calibración de Trolox para la determinación de la concentración media inhibitoria (CI ₅₀) por el método DPPH.	89

Anexo 6. Curva de calibración de Trolox para la determinación de la concentración media inhibitoria (CI ₅₀) por el método ABTS.	90
Anexo 7. Correlación entre propiedades fisicoquímicas en licor de toronjil (<i>Dracocephalum moldavica</i> L.).....	91
Anexo 8. Correlacion entre contenido de fenoles totales y actividad antioxidante en licor de toronjil (<i>Dracocephalum moldavica</i> L.).....	92
Anexo 9. Tablas para determinar los niveles de significancia de la prueba de preferencia.	93

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.4.1. Toronjil (<i>Dracocephalum moldavica</i> L.)	10
Figura 1.5.1. Estructura química del fenol.....	11
Figura 1.5.2. Mecanismo de acción del reactivo Folin-Ciocalteu	14
Figura. 1.6.1. Reacción del radical DPPH con un compuesto antioxidante	17
Figura. 1.6.2. Estructura química del ABTS.	17
Figura. 2.1.1. Diagrama de proceso para la elaboración de licor de toronjil (<i>Dracocephalum moldavica</i> L.)	18
Figura. 2.2.1. Localización de junta auxiliar de San Luis Tehuiloyocan en el Municipio de San Andrés Cholula, Puebla.	19
Figura. 2.2.2. Ejemplar de toronjil (<i>Dracocephalum moldavica</i> L.) para su identificación taxonómica..	20
Figura. 2.3.1. Secado de la hierba de toronjil.....	21
Figura. 2.3.2. Determinación del porcentaje de humedad de la materia prima deshidratada.	21
Figura. 2.3.3. Determinación de la actividad de agua (a_w).....	22
Figura. 2.4.1.1. Agitación de macerado	23
Figura. 2.4.1.2. Almacenamiento de macerados.....	24
Figura. 2.4.1.3. Filtración del macerado.....	24
Figura. 2.4.2.1. Elaboración de jarabe	25
Figura. 2.4.2.2. Filtrado de jarabe	25
Figura. 2.4.3.1. Elaboración de licor de toronjil	26
Figura. 2.5.2.1. Determinación de sólidos solubles totales.....	27
Figura. 2.5.3.1. Proceso de inversión de los azúcares en el licor de toronjil.....	28
Figura. 2.5.3.2. Medición del ángulo de rotación para la determinación de sacarosa.....	29
Figura. 2.5.4.2. Titulación de las muestras de licor de toronjil para la determinación de acidez volátil	30
Figura. 2.5.5.1. Medición de turbidez en el licor de toronjil.....	31
Figura. 2.5.6.1. Determinación de color	32
Figura. 2.5.6.2. Localización de L^* y C^* en el espacio CIELAB	33
Figura. 2.5.6.3 Tonos de color del ángulo de matiz (h°)	33
Figura 2.8.1. Aplicación de la prueba de nivel de agrado y preferencia de los distintos licores de toronjil	36
Figura. 3.3.1.1. Macerados elaborados: (A) con toronjil deshidratado a 20 ° macerado por 0 días, (B) toronjil deshidratado a 37 °C macerado por 0 días, (C) toronjil deshidratado a 20 °C	

macerado por 15 días, (D) toronjil deshidratado a 37 °C macerado por 15 días, (E) toronjil deshidratado a 20 °C macerado por 30 días y (F) toronjil deshidratado a 37 °C y macerado por 30 días.....	40
Figura. 3.3.3.1. Licores elaborados con: (A) macerado de toronjil deshidratado a 20 °C por 0 días, (B) macerado de toronjil deshidratado a 37 °C por 0 día, (C) macerado de toronjil deshidratado a 20 °C por 15 días, (D) macerado de toronjil deshidratado a 37 °C por 15 días, (E) macerado de toronjil deshidratado a 20 °C por 30 días y (F) macerado de toronjil deshidratado a 27 °C por 30 días	42
Figura. 3.8.1. Evaluación del perfil de color de los licores de toronjil.....	65
Figura. 3.8.2. Representación porcentual de la evaluación del perfil de color del licor T15-20.	65
Figura. 3.8.3. Representación porcentual de la evaluación del perfil de color del licor T15-37.	66
Figura. 3.8.4. Representación porcentual de la evaluación del perfil de color del licor T30-20.	66
Figura. 3.8.5. Representación porcentual de la evaluación del perfil de color del licor T30-37.	66
Figura. 3.8.6. Evaluación del perfil de olor de los licores de toronjil.	67
Figura. 3.8.7. Representación porcentual de la evaluación del perfil de olor del licor T15-20.	67
Figura. 3.8.8. Representación porcentual de la evaluación del perfil de olor del licor T15-37.	68
Figura. 3.8.9. Representación porcentual de la evaluación del perfil de olor del licor T30-20.	68
Figura. 3.8.10. Representación porcentual de la evaluación del perfil de olor del licor T30-37.	69
Figura. 3.8.11. Evaluación del perfil de sabor de los licores de toronjil.	69
Figura. 3.8.12. Representación porcentual de la evaluación del perfil de sabor del licor T15-20.	69
Figura. 3.8.13. Representación porcentual de la evaluación del perfil de sabor del licor T15-37.	70
Figura. 3.8.14. Representación porcentual de la evaluación del perfil de sabor del licor T30-20.	70
Figura. 3.8.15. Representación porcentual de la evaluación del perfil de sabor del licor T30-37.	71

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.5.1. Clasificación de compuestos fenólicos según su estructura química, propuesta por Harborne y Simmons.	12
Tabla 1.6.1. Clasificación de los métodos utilizados para la determinación de capacidad antioxidante.	16
Tabla 2.4.1.1. Códigos de los licores realizados.	23
Tabla 2.4.3.1. Distribución de los licores elaborados en cada lote.	26
Tabla 2.5.6.1 Parámetros del color.	32
Tabla 2.8.1. Códigos de las muestras de licor de toronjil para la prueba de nivel de agrado	36
Tabla 2.8.2. Codificación de las muestras de licor de toronjil para la prueba de preferencia.	36
Tabla 3.3.3.1. Comparación de los valores de % de alcohol, sólidos solubles totales y sacarosa del licor de toronjil con los valores permisibles en la NOM-199-SCFI-2017, Norma técnica artesana de los licores de hierbas y frutas y NC-725: 2009.	41
Tabla 3.4.1. Medias, coeficiente de variación y cuadrados medios de las propiedades fisicoquímicas del licor de toronjil (<i>Dracocephalum moldavica</i> L.).....	43
Tabla 3.4.1.1. Valores de las medias aritméticas del % de alcohol en licor de toronjil (<i>Dracocephalum moldavica</i> L.).	44
Tabla 3.4.2.1. Valores de las medias aritméticas de los sólidos solubles totales en licor de toronjil (<i>Dracocephalum moldavica</i> L.).	46
Tabla 3.4.3.1. Valores de las medias aritméticas de sacarosa en licor de toronjil (<i>Dracocephalum moldavica</i> L.).	47
Tabla 3.4.4.1. Valores de las medias aritméticas de la acidez volátil en licor de toronjil (<i>Dracocephalum moldavica</i> L.).	48
Tabla 3.4.5.1. Valores de las medias aritméticas de la turbidez en licor de toronjil (<i>Dracocephalum moldavica</i> L.).	50
Tabla 3.4.6.1. Valores de las medias aritméticas de los parámetros de color en licor de toronjil (<i>Dracocephalum moldavica</i> L.).	52
Tabla 3.5.1. Medias, coeficiente de variación y cuadrados medios del contenido de compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante en licor de toronjil (<i>Dracocephalum moldavica</i> L.).	53
Tabla 3.5.2. Valores de las medias aritméticas de los compuestos fenólicos totales en licor de toronjil (<i>Dracocephalum moldavica</i> L.).	54
Tabla 3.6.1.1. Valores de las medias aritméticas de % Inhibición, CI_{50} y TEAC por el método DPPH en licor de toronjil (<i>Dracocephalum moldavica</i> L.).	58

Tabla 3.6.2.1. Valores de las medias aritméticas de % Inhibición, CI_{50} y TEAC por el método ABTS en licor de toronjil (<i>Dracocephalum moldavica</i> L.).....	63
Tabla 3.8.1. Resultados de la prueba sensorial de preferencia para los licores de toronjil.	71

ÍNDICE DE ECUACIONES

Ecuación porcentaje de humedad.....	22
Ecuación contenido de sacarosa.	28
Ecuación acidez volátil.....	29
Ecuación porcentaje de inhibición de radical DPPH.....	34
Ecuación TEAC (capacidad antioxidante equivalente de Trolox).	35

Introducción

La producción de licores artesanales es una fuente importante de ingresos económicos en varias comunidades de México, su elaboración llega a ser parte de la identidad cultural y social (Barrera *et al.*, 2015). Sin embargo, su consumo no presenta cifras significativas pues este se limita al interior de dichas comunidades o municipios cercanos, ya que estos son elaborados con frutas o hierbas producidas por los pobladores. En el estado de Puebla se ha registrado la elaboración de licores como, acajul (licor de cereza silvestre), chamiate (capulín) y huikimo (capulines maduros) desde épocas coloniales (García, 1991). A este tipo de bebidas se les ha atribuido una serie de propiedades medicinales dentro de la medicina tradicional mexicana, las cuales están relacionadas a algunos metabolitos secundarios presentes en los productos vegetales (Prior & Cao, 2000; García *et al.*, 1999; Joseph *et al.*, 1999; Bravo, 1998). En el caso de la hierba de toronjil se ha identificado la presencia de ácido rosmarínico y sus derivados, los cuales le confieren una significativa actividad antioxidante (Carnat *et al.*, 1998).

Existen algunos licores producidos a una escala semi-industrial como es el caso del licor de naranja que se produce en el estado de Toluca (Barrera *et al.*, 2015), pero la mayoría de estos licores son desconocidos al exterior de las comunidades productoras. Por lo tanto, es necesario promover un consumo moderado de este tipo de bebidas a través de estudios científicos que demuestren propiedades adicionales a los fines recreativos, principalmente los beneficios a la salud ya que se ha observado que estos beneficios están relacionados a los compuestos antioxidantes presentes en las frutas o hierbas que se añaden a estas bebidas y se espera que durante la producción de dichas bebidas algunos compuestos antioxidantes, primordialmente los compuestos fenólicos permanezcan activos (Mrvacic *et al.*, 2012).

México es un gran mercado para la industria de bebidas alcohólicas, según la Encuesta Nacional de Consumo de Drogas, Alcohol y Tabaco; el 71.3 % de la población adulta ha consumido alcohol alguna vez en su vida, teniendo como bebidas predilectas la cerveza con 40.8 % y los destilados con un 19.1 % (Instituto Nacional de Salud Pública, 2016). Sin embargo, el consumo de licores herbales o frutales es mínimo (Saragoza *et al.*, 2012). La

importancia de fomentar el consumo de este tipo de bebidas radica principalmente en el impacto que se genera en las comunidades productoras, debido a que su producción forma parte importante de la actividad económica de dichas regiones, además de ser parte fundamental de la identidad cultural y social de sus habitantes (Barrera *et al.*, 2015).

Numerosos estudios demuestran la presencia de compuestos fenólicos en licores herbales y frutales que están relacionados con su capacidad antioxidante (Alamprese *et al.*, 2005; Vacca *et al.*, 2003; Imark *et al.*, 2000) Sin embargo, no existen estudios detallados sobre las condiciones óptimas de elaboración que permitan conservar la mayoría de los compuestos antioxidantes en licores herbales. Por lo tanto, en el presente trabajo se evaluará el efecto de la temperatura de secado y tiempo de maceración de la hierba de toronjil sobre el contenido y la capacidad antioxidante en el licor de toronjil.

Objetivos

Objetivo general

Elaborar un licor artesanal de toronjil (*Dracocephalum moldavica* L.) evaluando dos temperaturas de secado y dos tiempos de maceración para comparar el efecto de estas variables sobre las propiedades fisicoquímicas, el contenido de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante.

Objetivos específicos

- Deshidratar la parte aérea de la planta de toronjil (tallos, hojas y flores) por convección forzada a 20 y 37 °C.
- Realizar un macerado de las partes aéreas del toronjil seco en alcohol de panela por 0,15 y 30 días.
- Determinar las propiedades fisicoquímicas (% de alcohol, sólidos solubles totales, sacarosa, acidez volátil, turbidez y color) de los distintos licores de toronjil.
- Cuantificar la presencia de fenoles totales en los licores de toronjil por el método de Folin-Ciocalteu.
- Determinar la capacidad antioxidante por los métodos de radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH) y ácido 2,2-azinobis (3-etilbenzotiazolin)-6-sulfónico (ABTS) en los licores de toronjil.
- Evaluar sensorialmente los productos finales por medio de una escala hedónica de 5 puntos y una prueba de preferencia.

Hipótesis

En el proceso de elaboración del licor artesanal de toronjil, la temperatura de deshidratación de la planta de toronjil y el tiempo de maceración afecta las propiedades fisicoquímicas, la presencia de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante del licor.

Capítulo 1: Antecedentes

1.1 Historia de los licores

El licor es una bebida alcohólica que generalmente lleva azúcar y productos aromáticos, como extractos de frutas, se pueden elaborar macerados de hojas, frutos, tallos, raíces, cascara, jugos de frutas y aceites esenciales, donde la concentración mínima de etanol es de 15 % en volumen (Egea *et al.*, 2015; George, 2002). Algunos licores se elaboran a partir de alcoholes neutros procedentes de orujo, vino o cereales; otros están elaborados con Coñac, vodka o aguardientes (La cerca, 2004).

La producción y consumo de licores existe desde tiempos remotos, civilizaciones elaboraban licores medicinales ligados a cultos y ceremonias; la combinación de vinos añejos y miel, especias aromáticas y plantas medicinales eran de uso común en distintas celebraciones de la antigüedad (Aristizábal, 2004). Otros autores mencionan el uso de bebidas alcohólicas obtenidas de extractos herbales utilizados en la farmacia clásica desde el siglo I D.C en Italia (Egea *et al.*, 2015). Posteriormente, durante la Edad Media se popularizó el consumo de licores variados obtenidos a partir del mosto de uva, en el que se hacían macerar plantas aromáticas y medicinales; a los cuales llamaban vinos de hierbas y se empleaban frecuentemente como remedios medicinales (Reyes *et al.*, 2011).

La elaboración de licores derivados del aguardiente de vino inició mucho tiempo después de que se admitiera como posible la destilación de los vinos. El primero de todos los licores a base de alcohol fue obtenido por Arnaud de Villeneuve y Raymond de Lulle (Reyes *et al.*, 2011). Inicialmente se componía de aguardiente y azúcar, después se le añadieron limón, rosas, azahar y otros ingredientes para darle olores, sabores y colores. En algunos casos le incorporaban partículas de oro, metal que se consideraba como remedio contra todos los males (Delgado, 1987).

Actualmente la producción y consumo de licores frutales y herbales en algunos países ha incrementado atribuyéndoles propiedades medicinales por ejemplo:

El licor de limón o también llamado limoncello ha ganado gran popularidad por su digestibilidad, dulzor e incomparable aroma. En los últimos años se ha incrementado su demanda en el mercado internacional, estimándose una producción total de 15 millones de litros por año (Naviglio *et al.*, 2005; Douglas, 2000). Sin embargo, en México la producción de licores frutales artesanales ha presentado una disminución; un claro ejemplo es la comunidad de Tenancingo, Estado de México, donde licores “La Paz”, hace 30 años producía 37500 litros mensuales y actualmente producen 500 litros por mes (Avitia & Ramírez, 2016).

1.2 Métodos para la elaboración de licores

La elaboración de licores puede llevarse a cabo por distintos métodos, pero existen dos métodos básicos y ampliamente utilizados: El primero consiste en la adición de esencias y el segundo por maceración. Para ambos casos debe emplearse alcohol apto para consumo humano y se recomienda usar aquellos alcoholes casi insípidos (Zurdo & Gutiérrez, 2004).

Esencias: Las esencias utilizadas pueden ser de hierbas y frutas o una combinación de distintas esencias. Se añaden directamente al alcohol antes de mezclar con el jarabe (Zurdo & Gutiérrez, 2004).

Maceración: En la elaboración de licores, este proceso consiste en dejar en reposo en alcohol, flores, hierbas o frutas durante un periodo de tiempo variable y a temperatura ambiente, para aportarle sabor al licor (Zurdo & Gutiérrez, 2004). Este método también puede entenderse como un proceso de extracción sólido-líquido por difusión y ósmosis. En dicho fenómeno se realiza una transferencia de masa en la que se alcanza un punto de equilibrio entre los componentes. La finalidad de esta técnica es separar uno o más componentes contenidos en una fase sólida, por medio de la utilización de una fase líquida (disolvente). Mediante este proceso se extraen principalmente compuestos hidrogenados, entre otros compuestos como polisacáridos, minerales, nitrogenados, aromáticos, etc. (Ibarz & Barbosa-Cánovas, 2005).

El proceso de maceración puede verse afectado por algunos factores como los que se describen a continuación:

- **Área de interfase:** El tamaño de partícula toma importancia en esta etapa ya que puede favorecer la extracción de compuestos. Se sabe que la velocidad de extracción es directamente proporcional al área de exposición, de este modo al reducir el tamaño de las partículas aumenta la superficie de contacto entre la fase sólida y el solvente provocando una mayor velocidad de transferencia. Sin embargo una reducción de tamaño excesiva podría provocar la migración de componentes que afectan la calidad del producto final, como las pectinas, las cuales provocan problemas de turbidez en los licores (Armento, 2008; Geankoplis, 2006; George, 2002; Brennan *et al.*, 1998).
- **Tiempo de maceración:** El tiempo de maceración resulta ser un factor importante durante la elaboración de licores, debido a que la extracción de compuestos como; compuestos fenólicos, antocianinas y taninos presentes en las hierbas o frutos utilizados se ve favorecida conforme transcurren los días de maceración y de la matriz sólida (Reyes *et al.*, 2011; Ide *et al.*, 1993).

Si el tiempo de maceración es demasiado corto no se logra extraer los compuestos presentes en la matriz. Además, de que el licor podría presentar características sensoriales indeseables para los consumidores y se debe considerar que esta solución alcanza un equilibrio entre la matriz sólida y el solvente, por lo que tampoco se recomiendan tiempos de maceración demasiado prolongados superiores a los 40 días (Locatelli *et al.*, 2012; Reyes *et al.*, 2011; Armento, 2008; Crupi *et al.*, 2007).

- **Agitación:** El proceso de maceración se ve favorecido al aumentar la velocidad y turbulencia del disolvente, puesto que se evita la saturación de la solución en las zonas cercanas a la materia sólida. Por otro lado, la agitación también podría ocasionar dificultades durante la etapa de filtración, pues esta puede provocar la desintegración de la materia seca sobre todo en licores de frutas (Armento, 2008; Naviglio *et al.*, 2005).

- **Temperatura:** Otro aspecto importante durante el proceso de maceración es la temperatura, ya que temperaturas superiores a la temperatura ambiente durante la maceración ayuda a acelerar la velocidad de extracción debido a que aumenta la permeabilidad de la materia vegetal lo que facilita la difusión de los compuestos a extraer. No obstante, utilizar temperaturas altas también puede provocar la degradación y desnaturalización de dichos compuestos los cuales son sensibles al calor; por tal motivo el proceso de maceración se suele realizar frecuentemente a temperatura ambiente (Armento, 2008; Naviglio *et al.*, 2005; Andrich *et al.*, 2005).

1.3 Los beneficios del consumo moderado de bebidas alcohólicas

Los beneficios a la salud de los vinos elaborados a partir de extractos herbales han sido ampliamente reconocidos en países asiáticos (Shahidi *et al.*, 2010). Dos de las bebidas más populares utilizadas en la medicina tradicional ayurvedica con fines digestivos son: El vino arishtas obtenido partir de la cocción de hierbas y el asavas el cual se obtiene de extractos herbales que posteriormente son fermentados con la adición de azúcares (Sekar & Mariappan, 2008).

Al licor de nuez "nocino" se le han atribuido propiedades digestivas debido a su elevado contenido de compuestos fenólicos (ácido gálico, catequina y ácido siríngico) (Stampar *et al.*, 2006). Otro claro ejemplo es el licor de arándano azul y licor de cornejo macho, los cuales han ido utilizados en la medicina europea para el tratamiento de inflamaciones, infecciones en vías urinarias y escorbuto; su eficiencia en el tratamiento de estos padecimientos se basa en la presencia de antocianinas y polifenoles en su composición (Nour *et al.*, 2015). En la mayoría de las investigaciones enfocadas en el análisis de los compuestos terapéuticos presentes en licores frutales y herbales se observa la presencia de compuestos antioxidantes, los cuales presentan una actividad inhibitoria sobre los radicales libres (Nour *et al.*, 2015; Stampar *et al.*, 2006). También se conoce que el consumo moderado de bebidas alcohólicas reduce la mortalidad por enfermedad coronaria (Criqui, 1996; Kannel & Ellison, 1996).

1.4 Toronjil (*Dracocephalum moldavica* L.)

Dracocephalum moldavica L. (Fig. 1.4.1) es una planta aromática anual que pertenece a la familia Lamiaceae y puede alcanzar una altura de hasta 80 cm. Esta planta es originaria de Siberia y Asia central, también se puede encontrar en Egipto, China, Mongolia a altitudes 2700-3100 m sobre el nivel del mar. En estas regiones ha sido usada por años en la medicina tradicional para tratar padecimientos del corazón, presión arterial, aterosclerosis, neuralgia, migraña, dolor de cabeza y dolor de dientes (Weremczuk *et al.*, 2013; Dastmalchi *et al.*, 2007). Además, estudios han reportado que los extractos de *Dracocephalum moldavica* L. poseen actividad sedante y analgésica, esto se lo atribuyen a la presencia de geraniol y citral, conocidos por sus propiedades tranquilizantes (Holm *et al.*, 1988).

En México, la planta *Dracocephalum moldavica* L. ha sido adaptada a la región centro del país y es cultivada durante todo el año. En la medicina tradicional mexicana es conocida como toronjil chino, toronjil extranjero o toronjil azul y es usada comúnmente para tratar trastornos estomacales, hepáticos y dolor de cabeza. Estudios le han atribuido propiedades sedantes, analgésicas, cicatrizantes y antioxidantes debido a su contenido de compuestos como: flavonoides (luteolina, luteolina 7-O-glucósido, apigenina) y ácidos hidroxicinámicos (ácidos cafeico, ferúlico y rosmarínico) (Popova *et al.*, 2008; Sultan *et al.*, 2008; Dastmalchi *et al.*, 2007; Kakasy *et al.* 2006).

México cuenta con 12 especies de la familia Lamiaceae: de las cuales las más utilizadas son *Agastache mexicana* ssp. *mexicana* y *Agastache mexicana* ssp. *xolocotziana*; conocidos comúnmente como toronjil morado y toronjil blanco respectivamente. En algunas poblaciones del país ambas plantas son utilizadas para tratar algunos padecimientos, como dolor de estómago, bilis, tos y vomito. Además, se conoce el consumo de una infusión llamada “los tres toronjiles”, elaborada por estas plantas y la adición de *Dracocephalum moldavica* L., la cual es comúnmente usada para el tratamiento de enfermedades gastrointestinales, nerviosas y cardiovasculares (Martínez *et al.*, 2012).



Figura 1.4.1. Toronjil (*Dracocephalum moldavica* L.). Fuente: CONABIO.

1.5 Compuestos fenólicos

Los fenoles son compuestos químicos que tienen su origen en el mundo vegetal ya que se encuentran ampliamente distribuidos en las frutas y vegetales formando parte de sus principales metabolitos secundarios que participan en la defensa de las plantas contra microorganismos patógenos, insectos y protección del ADN frente a la radiación solar (Ricco *et al.*, 2015). Estos compuestos presentan diferentes estructuras químicas y actividades metabólicas, englobando a más de 8000 compuestos distintos (Creus, 2004; Shahidi & Nazk, 1995).

Químicamente los compuestos fenólicos se pueden definir como aquellas sustancias que poseen varias funciones fenol (hidroxibenceno) unidas a estructuras aromáticas o alifáticas, o como sustancias que poseen un anillo aromático con uno o más grupos hidroxilo, incluyendo a sus derivados funcionales (Creus, 2004; Shahidi & Nazk, 1995). Para comprender mejor este concepto es importante definir su molécula básica: el fenol (Fig. 1.5.1), que se conforma de un anillo aromático (fenil) unido a un grupo hidroxilo (OH), el cual tiene un papel importante en las propiedades antioxidantes de estos compuestos (Peñarrieta *et al.*, 2014; Vermerris & Nicholson, 2008).

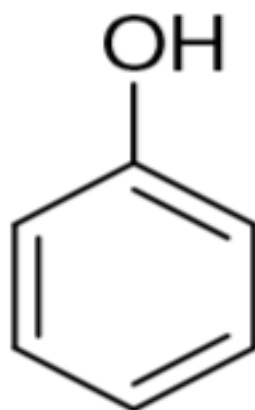


Figura 1.5.1. Estructura química del fenol. Fuente: Peñarrieta *et al.*, 2014.

Los fenoles pueden clasificarse de distintas maneras debido a su gran complejidad y variedad entre sus estructuras. Sin embargo, hay tres grupos en los que se pueden dividir los compuestos fenólicos, los cuales son: flavonoides, ácidos fenólicos y polifenoles (Porrás & López, 2009). Otra clasificación es la propuesta por Harborne y Simmonds en 1964, la cual clasifica a estos compuestos en grupos basándose en el número de carbonos presentes en la molécula (Tabla 1.5.1).

Tabla 1.5.1. Clasificación de compuestos fenólicos según su estructura química, propuesta por Harborne y Simmons.

Estructura	Grupo
C ₆	Fenoles simples
C ₆ -C ₁	Ácidos fenólicos y compuestos relacionados
C ₆ -C ₂	Acetofenonas y ácidos fenilacéticos
C ₆ -C ₃	Ácidos cinámicos, cinamil aldehídos, cinamil alcoholes
C ₆ -C ₃	Cumarinas, isocumarinas y cromonas
C ₁₅	Chalconas, auronas, dihidrochalconas
C ₁₅	Flavanos
C ₁₅	Flavonas
C ₁₅	Flavanonas
C ₁₅	Flavanonoles
C ₁₅	Antocianidinas
C ₁₅	Antocianinas
C ₃₀	Biflavonilos
C ₆ -C ₁ -C ₆ , C ₆ -C ₂ -C ₆	Benzofenonas, xantonas, estilbenos
C ₆ , C ₁₀ , C ₁₄	Quinonas
C ₁₈	Betacianinas
Lignanós, neolignanós	Dímeros u oligómeros
Lignina	Polímeros
Taninos	Oligómeros o polímeros
flobafenos	Polímeros

Fuente: Harborne & Simmonds, 1964.

Como ya se ha mencionado, los compuestos fenólicos están presentes en los distintos grupos de alimentos y son responsables de algunas de sus características, por ejemplo; los flavonoides son los responsables de aportar el color a los alimentos, mientras que las flavononas aportan sabor amargo en los cítricos, el ácido clorogénico es responsable del sabor amargo de la cerveza, el vino y la sidra; así como los ácidos hidroxicinámicos y sus derivados son responsables del sabor amargo de los arándanos (Martínez, *et al.*, 2000).

Además de aportarles propiedades importantes a los alimentos estos compuestos también desempeñan un papel importante en la prevención de enfermedades crónicas. Estudios epidemiológicos han demostrado que una dieta alta en flavonoides se correlaciona con un menor riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares, también se han asociado a la disminución de los niveles de colesterol y de LDL oxidada debido a sus propiedades antioxidantes e hipolipidémica (Creus, 2004). Otros trabajos mencionan que los compuestos fenólicos pueden interferir en distintas etapas que conducen al desarrollo de tumores malignos ya que estos compuestos protegen al ADN del daño oxidativo (Porras & López, 2009).

En la actualidad existen diversas técnicas para la determinación de compuestos fenólicos totales en alimentos, no obstante, los ensayos más utilizados son: el método de Folin-Ciocalteu y el ensayo de vainillina. El método de Folin-Ciocalteu (Fig. 1.5.2) consiste en la cuantificación del poder reductor de los compuestos fenólicos sobre el reactivo de Folin-Ciocalteu, este reactivo contiene una mezcla de ácido fosfotúngstico ($H_3PW_{12}O_{40}$) y ácido fosfomolibdico ($H_3PMo_{12}O_{40}$) que reacciona con los compuestos fenólicos presentes en la muestra. El ácido fosfomolibdotúngstico (formado por las dos sales en el medio ácido) de color amarillo, al ser reducido por los grupos fenólicos da lugar a un complejo de color azul intenso formado por tungsteno (W_8O_{23}) y molibdeno (Mo_8O_{23}), el cual se lee a 725 nm (Rebolo, 2007). El principio del ensayo de vainillina radica en la reacción de un aldehído aromático, la vainillina, con el anillo A de los flavan-3-ol (flavanes) ocasionando un aducto de color rojo y se emplea para determinar compuestos flavan-3-ol, dihidrochalconas y procianidinas que tienen una unión simple en la posición 2,3 y que poseen grupos hidroxilos en la posición meta del anillo B (Ricco *et al.*, 2015; Martínez *et al.*, 2000).

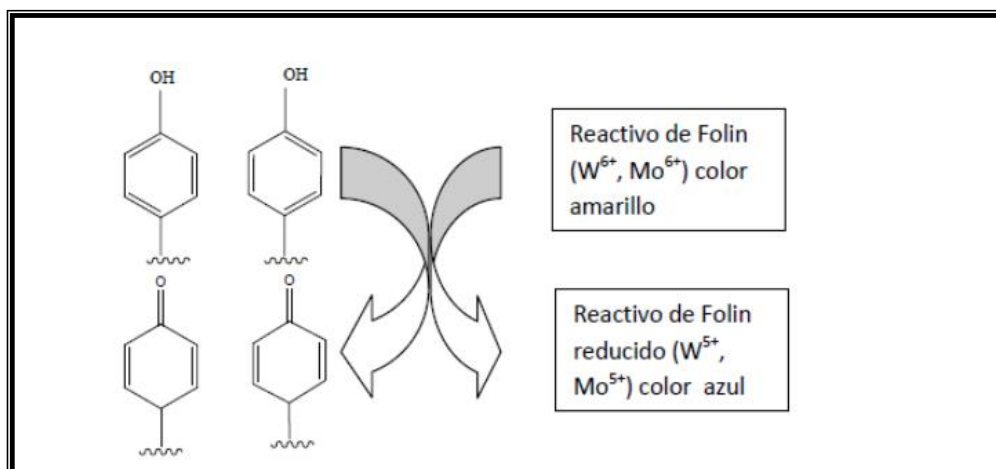


Figura 1.5.2. Mecanismo de acción del reactivo Folin-Ciocalteu. Fuente: García *et al.*, 2015.

1.6 Antioxidantes

El término antioxidantes se refiere a cualquier sustancia que tiene la capacidad de aplazar, retardar o prevenir el estrés oxidativo en el organismo (Coronado *et al.*, 2015; Pokorny *et al.*, 2001). El cual tiene como precursor a la oxidación, que es un proceso bioquímico esencial para la vida, ya que se presenta durante la obtención de energía celular y conlleva a la formación de radicales libres que se utilizan en diversos procesos fisiológicos como un mecanismo de defensa contra agentes infecciosos. Pero cuando se presenta un aumento en la concentración de radicales libres, provoca un desbalance entre la velocidad de formación y su neutralización por el sistema antioxidante endógeno en el organismo, produciendo el llamado estrés oxidativo; capaz de producir daño celular que a su vez está asociado con diversas enfermedades crónico degenerativas, como: Alzheimer, Parkinson, distrofia muscular, esclerosis múltiple, cáncer, artritis reumatoide, diabetes mellitus, síndrome metabólico, anomalías cardiovasculares, hipertensión, enfisema pulmonar, infarto, artritis reumatoide, anemia y envejecimiento (Delgado *et al.*, 2010; Zorrilla, 2002; Elejalde, 2001).

Estos compuestos pueden dividirse en dos grupos: antioxidantes primarios o inhibidores de la reacción en cadena y antioxidantes secundarios o inhibidores preventivos. Los antioxidantes primarios son capaces de atrapar los radicales libres, interrumpiendo la iniciación y propagación de las reacciones de oxidación. Por otro lado, los antioxidantes

secundarios desactivan las especies activas y los posibles precursores de los radicales libres, impidiendo el inicio de nuevas reacciones en cadena (Armenteros *et al.*, 2012; Pokorny *et al.*, 2001).

Estos compuestos se han empleado desde antes de la primera guerra mundial con el objetivo de preservar los alimentos. Los primeros en ser utilizados fueron sustancias naturales, las cuales fueron sustituidas rápidamente por sustancias sintéticas, que por consiguiente son más baratas, de pureza controlada y poseedoras de una capacidad antioxidante más uniforme (Pokorny *et al.*, 2001). Sin embargo, actualmente se está cuestionando el uso de algunos de estos antioxidantes, debido a que algunos datos toxicológicos recientes aconsejan mantener cierta precaución a su uso prolongado (Thompson & Moldéus, 1988).

Los antioxidantes naturales están presentes y pueden ser extraídos de prácticamente todas las plantas y animales (Rahman, 2007). Estas sustancias son sintetizadas durante el desarrollo normal de las plantas (Naczk & Shahidi, 2004), se tratan de metabolitos secundarios y son mayormente representados por flavonoides y ácidos fenólicos (Pokorny *et al.*, 2001).

Actualmente el interés por estas sustancias ha aumentado debido a que estudios epidemiológicos han mostrado que el incluir derivados de plantas en la dieta diaria previene algunas enfermedades como cáncer en el tracto gastrointestinal, enfermedades cardiovasculares y diabetes (Bazzano *et al.*, 2008; WHO, 2003; Lui *et al.*, 2000).

Se ha demostrado que existe una relación entre el estrés oxidativo y el desarrollo de una serie de enfermedades degenerativas en los seres humanos como el cáncer, la esclerosis múltiple, las enfermedades autoinmunes y la enfermedad de Parkinson (Thériault *et al.*, 2006). Por este motivo es que estudios sugieren ingerir una dieta abundante en compuestos fenólicos que ayudan a disminuir los daños provocados por las especies reactivas al oxígeno.

Las propiedades antioxidantes de los compuestos fenólicos se deben principalmente a sus propiedades redox, que les permiten actuar como agentes reductores, donantes de

hidrógeno y supresores de la formación de especies activas de oxígeno (Rice-Evans *et al.*, 1997).

El creciente interés por los antioxidantes y sus beneficios a la salud ha ocasionado que muchos investigadores desarrollen varias metodologías para poder determinar la capacidad antioxidante en los alimentos. Estos distintos métodos se pueden dividirse en dos categorías tomando como base las reacciones involucradas (Tabla 1.6.1). Los ensayos basados en la transferencia de un átomo de hidrógeno (TAH) y los ensayos basados en la transferencia de electrones (TE). Los métodos de TAH se fundamentan de reacciones en las cuales el antioxidante y el sustrato compiten por el radical libre sintético, una molécula oxidable y un antioxidante. Mientras que los ensayos de TE implican reacciones de oxidación con el antioxidante que es un indicador del punto final de la misma (Leyva, 2009; Huang *et al.*, 2005).

Tabla 1.6.1. Clasificación de los métodos utilizados para la determinación de capacidad antioxidante.

Mecanismo	Método
Transferencia de átomo de hidrógeno	TRAP (Trapping Antioxidant Parameter)
	ORAC (Oxigen Radical Absorbance Capacity)
	Inhibición de la oxidación de las LDL (Low Density Lipoprotein)
Transferencia de un electrón	TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity)
	ABTS (2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-o sulfuric acid))
	FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)
	DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)

Fuente: Huang *et al.*, 2005.

Los métodos que se utilizaron para este trabajo experimental pertenecen a la categoría de ensayos por transferencia de un electrón y a continuación se describen más a detalle.

El ensayo 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) disuelto en metanol, es una técnica propuesta por Brand-Williams (1995) y se basa en medir la captación del radical libre DPPH por parte de una estructura antioxidante. Este radical estable en disolución presenta un color violeta

oscuro; una vez mezclado el radical y sustancia antioxidante se observara que a una mayor captación del radical libre por parte del antioxidante habrá una mayor disminución de la absorbancia inicial del radical DPPH, lo que conlleva una decoloración del color violeta inicial (Fig.1.6.1). Esta diferencia de absorbancia indica la capacidad antioxidante del alimento o extracto en estudio el cual presenta una coloración violeta la cual absorbe radiación a 517 nm. Como referencia se utiliza un antioxidante sintético y el más utilizado es el ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico (Trolox). (Guija *et al.*, 2015).

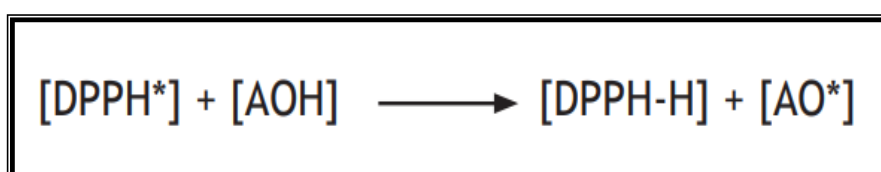


Figura. 1.6.1. Reacción del radical DPPH con un compuesto antioxidante. Fuente: Guija *et al.* 2015.

Otra técnica utilizada es 2,2-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfónico) (ABTS), planteada por Miller (1993), la cual se fundamenta en la capacidad de un antioxidante para estabilizar el radical catión coloreado ABTS, el cual es formado previamente por la oxidación del ABTS (2,2-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfónico)) por metamioglobina y peróxido de hidrógeno (Fig. 1.6.2).

El radial catiónico ABTS es un cromóforo que absorbe a una longitud de onda de 734 nm. Los resultados son expresados como equivalentes de Trolox o TEAC (por su nombre en inglés, Trolox Equivalent Antioxidant Capacity).

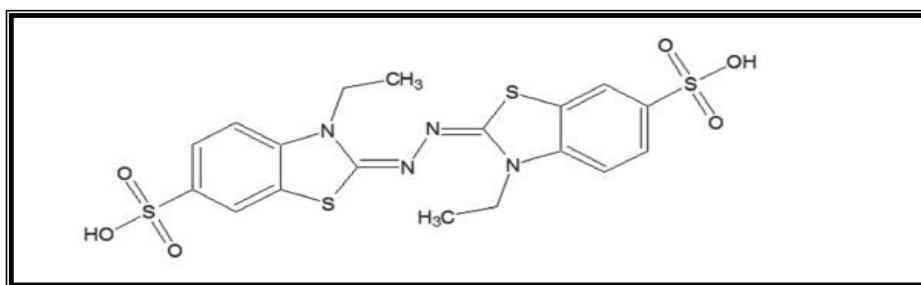


Figura. 1.6.2. Estructura química del ABTS. Fuente: Londoño, 2012.

Capítulo 2: Metodología

2.1 Diagrama general

Para el presente trabajo experimental se realizó la siguiente metodología.

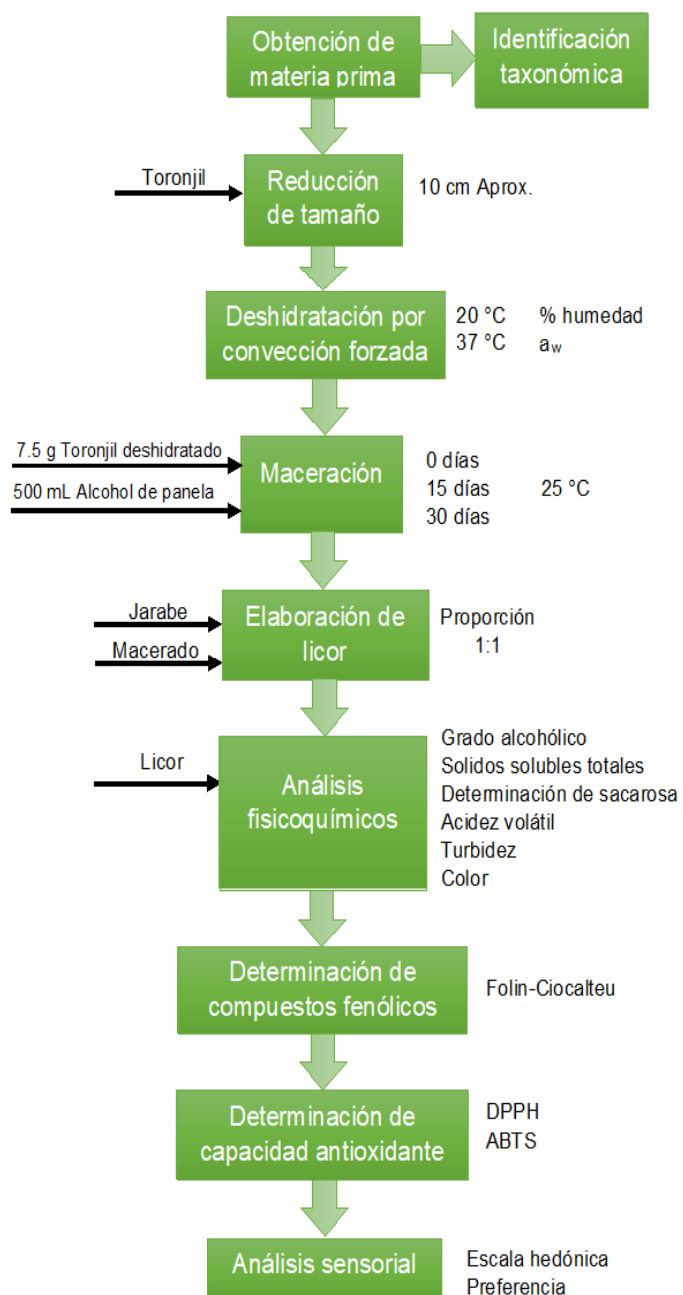


Figura. 2.1.1. Diagrama de proceso para la elaboración de licor de toronjil (*Dracocephalum moldavica* L.).

2.2 Obtención y caracterización de materia prima

La planta de toronjil (*Dracocephalum moldavica* L.) se adquirió en el Mercado José María Morelos y Pavón localizado en la zona nororiental de la ciudad de Puebla, procedente de la Junta Auxiliar de San Luis Tehuiloyocan perteneciente al municipio de San Andrés Cholula, Puebla (Fig.2.2.1).

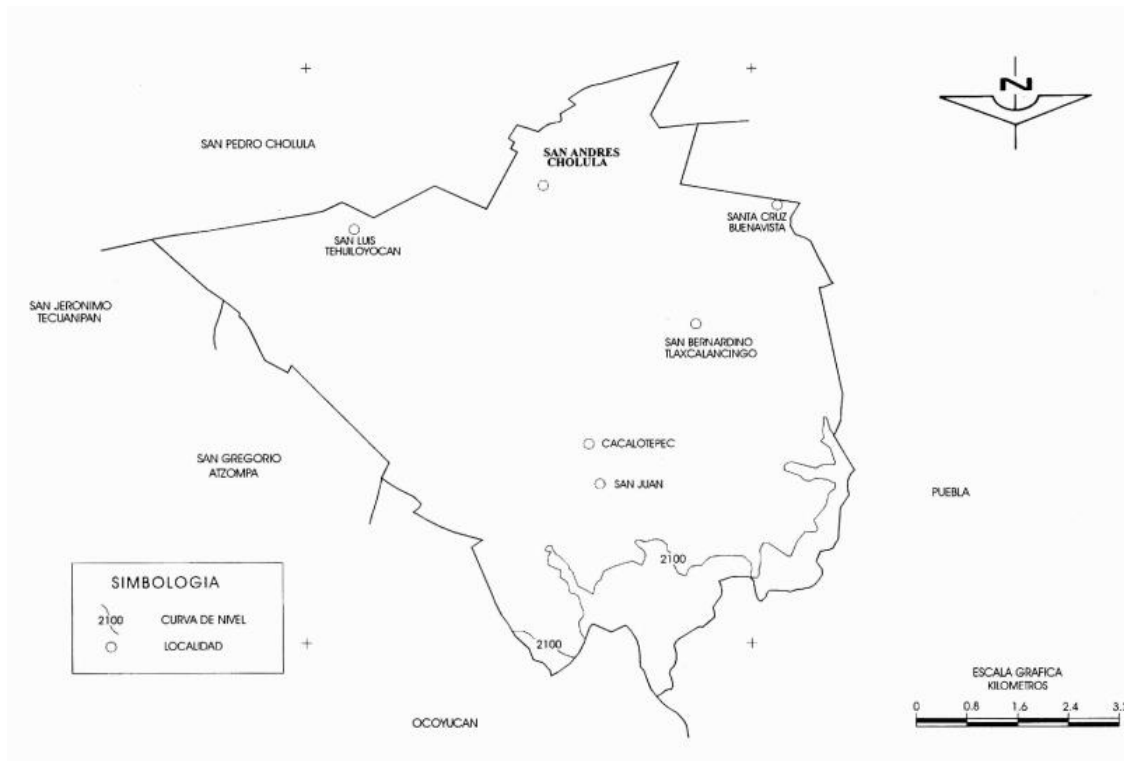


Figura. 2.2.1. Localización de junta auxiliar de San Luis Tehuiloyocan en el Municipio de San Andrés Cholula, Puebla. Fuente: INEGI.

Posterior a la obtención de la materia prima, esta se sometió a una identificación taxonómica en el jardín botánico de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (fig. 2.2.2).



Figura. 2.2.2. Ejemplar de toronjil (*Dracocephalum moldavica* L.) para su identificación taxonómica. Fuente: propia.

2.3 Secado de hoja de toronjil

Para el trabajo experimental se hizo uso de la parte aérea de la planta de toronjil (tallos, hojas y flores). Pevio al proceso de secado se realizó una reducción de tamaño de la materia prima, se hicieron cortes en el tallo de la planta de aproximadamente 10 cm, dejando intactas hojas y flores.

Posteriormente se realizó la deshidratación de la materia prima por convección forzada (Fig. 2.3.1) en un horno de secado (Marc. Terlab mod. TE-H80DM) a 20 °C y 37 °C. Las temperaturas de secado se establecieron debido a los estudios realizados por Echeverría *et al.* (2016) y Capecka *et al.* (2005) a especies de la familia Lamiaceae, a la cual también pertenece *Dracocephalum moldavica* L.



Figura. 2.3.1. Secado de la hierba de toronjil. Fuente: propia.

Por último, se determinó el porcentaje de humedad (% humedad) y la actividad de agua (a_w) por triplicado para ambas condiciones de secado. El porcentaje de humedad (Fig. 2.3.2) se determinó con base a lo establecido en la norma NOM-116-SSA1-1994 (determinación de humedad en alimentos por tratamiento térmico, basada en el método por arena o gasa), se colocaron capsulas de aluminio en una estufa de vacío (Marc. Termo Scientific, mod. ELED 3618) durante 24 horas, se sacaron de la estufa, se introdujeron a un desecador para disminuir su temperatura y se pesaron (masa M1). A continuación, se colocaron 2 g de muestra en cada capsula, se pesaron nuevamente (masa M2) y se metieron a la estufa de vacío a 90 °C por 24 horas. Finalmente se retiraron las capsulas de la estufa, se colocaron en un desecador mientras reducían su temperatura para poder pesar la capsula (masa M3). Para calcular el % de humedad se utilizó la ecuación 1.



Figura. 2.3.2. Determinación del porcentaje de humedad de la materia prima deshidratada. Fuente: propia.

$$\% \text{ humedad} = \frac{M2-M3}{M2-M1} \times 100 \quad (1)$$

Ecuación utilizada para determinar el porcentaje de humedad.

En donde:

M1= peso de la cápsula (g).

M2= peso de la capsula más muestra húmeda (g).

M3= Peso de la capsula más muestra seca (g).

En cuanto a la determinación de a_w se realizó según la norma AOAC 978.19B, con un higrómetro Aqualab (serie 3TE), se tomaron aproximadamente 2 g de planta triturada, se colocó en la cápsula y se realizó la lectura (Fig. 2.3.3).



Figura. 2.3.3. Determinación de la actividad de agua (a_w). Fuente: propia.

El resto de materia prima deshidratada fue almacenada en bolsas plásticas herméticas a temperatura ambiente y protegidas de la luz, hasta su utilización.

2.4 Elaboración de licor de toronjil

2.4.1 Maceración

A partir de la materia prima secada a 20 °C y 37 °C se realizaron maceraciones por triplicado para cada tiempo de maceración, de esta manera se obtuvieron 18 macerados a los siguientes tiempos: 0, 15 y 30 días, tomando como control de estudio la maceración al

tiempo 0 días (la maceración se produjo solo por 30 minutos). En la tabla 2.4.1.1 se muestran los códigos de los macerados realizados y sus respectivos triplicados.

Tabla 2.4.1.1. Códigos de los licores realizados.

Temperatura de secado de toronjil (°C)	Tiempo de maceración de toronjil (día)	Código de licor
20	0	T0-20
37	0	T0-37
20	15	T15-20
37	15	T15-37
20	30	T30-20
37	30	T30-37

Para la elaboración de los macerados se pesaron 7.5 g de toronjil seco (tallos, hojas y flores), previamente deshidratado a 20 °C y 37 °C, los cuales se sumergieron en 500 mL de alcohol de panela y se dejaron reposar en envases de vidrio perfectamente cerrados durante 15 y 30 días en un lugar fresco (25 °C), seco y protegido de la luz. Durante el transcurso de la maceración los frascos que contenían los macerados fueron agitados diariamente una vez al día; transcurrido el tiempo de maceración, se filtró el macerado para el licor.



Figura. 2.4.1.1. Agitación de macerado. Fuente: propia.



Figura. 2.4.1.2. Almacenamiento de macerados. Fuente: propia.



Figura. 2.4.1.3. Filtración del macerado. Fuente: propia.

2.4.2 Elaboración de jarabe

Para la elaboración del jarabe se utilizó sacarosa y agua purificada. Se calentó el agua antes de llegar a ebullición y posteriormente se le añadió la sacarosa; la mezcla se movió continuamente hasta disolver completamente la sacarosa. La proporción de agua y azúcar para el jarabe fue de 2:1 respectivamente. Por último, el jarabe se filtró y se reservó a temperatura ambiente para disminuir su temperatura.



Figura. 2.4.2.1. Elaboración de jarabe. Fuente: propia.



Figura. 2.4.2.2. Filtrado de jarabe. Fuente: propia.

2.4.3 Formulación de licor

La elaboración del licor de toronjil consistió en realizar una mezcla del macerado obtenido y el jarabe elaborado en una proporción 1:1; de esta manera se colocaron 375 mL de macerado y 375 mL del jarabe para obtener botellas de licor con un volumen de 750 mL (Fig. 2.4.3.1). Los licores se realizaron inmediatamente después haber transcurrido los tiempos de maceración establecidos previamente, por lo tanto se realizaron 3 lotes (Tabla

2.4.3.1); cada lote correspondía a un tiempo de maceración para ambos tratamientos de secado de la planta. De esta manera se obtuvo un total de 18 botellas de licores de toronjil.

Tabla 2.4.3.1. Distribución de los licores elaborados en cada lote.

Lote	Código de licor
1	T0-20
	T0-37
2	T15-20
	T15-37
3	T30-20
	T30/37



Figura. 2.4.3.1. Elaboración de licor de toronjil. Fuente: propia.

2.5 Medición de características fisicoquímicas

Todas las determinaciones de las propiedades fisicoquímicas se realizaron por triplicado para cada uno de los licores obtenidos.

2.5.1 Determinación del porcentaje de alcohol

El porcentaje de alcohol (% de alcohol) de los licores de toronjil se efectuó por medio de un refractómetro de mano marca Grand index, modelo RHW-25/Brix/ATC con una escala de 0-25 % de alcohol. Para realizar la lectura del % de alcohol se colocaron tres gotas del licor en el prisma del refractómetro previamente calibrado con agua destilada.

2.5.2 Medición de sólidos solubles totales

La medición de los sólidos solubles totales en el licor de toronjil se realizó con un refractómetro de mano (Grand index, RHW-25/Brix/ATC) con una escala de 0-40 °Brix (°Bx). La lectura se realizó calibrando el refractómetro con agua destilada y posterior se colocaron tres gotas de licor, se situó el refractómetro hacia la luz y se realizó la lectura de acuerdo a la Norma Mexicana NMX-FF-015-1982 (Fig.2.5.2.1).



Figura. 2.5.2.1. Determinación de sólidos solubles totales. Fuente: propia.

2.5.3 Determinación de sacarosa

La determinación de sacarosa se realizó por medio de un método polarimétrico descrito por Matiseek *et al.* (1992), esta técnica consiste en la capacidad que tienen algunas sustancias para hacer girar el plano de un haz de luz polarizada (ángulo de rotación) dependiendo de su concentración. La medición del ángulo de rotación de las muestras de licor se realizó antes y después de la inversión de la sacarosa; para la medición antes de la inversión se tomaron 10 g de muestra, los cuales se colocaron en un matraz aforado de 100 mL, posteriormente se añadieron 50 mL de agua destilada caliente, 0.5 mL de acetato de plomo ($\text{Pb}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2$) al 5 % y se aforo con agua destilada. Finalmente se filtró, desechando los primeros 10 mL, el resto de la solución se ajustó a una temperatura de 20 °C antes de colocarla en el tubo polarimétrico y se realizó la lectura. Para la segunda lectura se llevó a cabo la hidrólisis ácida de 25 mL de la solución obtenida para la primera medición, a la cual se le adicionaron 50 mL de agua destilada, se calentó en un baño maría y se agregaron 5 mL de ácido clorhídrico (HCL) al 32 % (Fig. 2.5.3.1). Después de alcanzar una temperatura

de 67 °C, se mantuvo a esa temperatura y en agitación constante por 5 minutos; transcurridos los 5 minutos se enfrió rápidamente hasta alcanzar una temperatura de 20 °C, se le colocaron 3 gotas de fenolftaleína y se neutralizó la muestra con hidróxido de sodio (NaOH) al 20 %. Por último la solución se aforo y se realizó la medición del ángulo de rotación en un polarímetro marca Atago (Mod. Polax-2L) (Fig. 2.5.3.2).

El contenido de sacarosa en el licor de toronjil se calculó con la siguiente ecuación:

$$Cs \left[\frac{g}{100 \text{ mL}} \right] = (\alpha_v - 4\alpha_n) \times 0.567 \quad (2)$$

Ecuación utilizada para calcular el contenido de sacarosa.

En dónde:

α_v = ángulo de rotación de la muestra antes de la inversión en grados de ángulo.

α_n = ángulo de rotación de la muestra después de la inversión en grados.

4= factor de dilución, porque solo se utilizan 50 mL del filtrado para realizar la inversión.



Figura. 2.5.3.1. Proceso de inversión de los azúcares en el licor de toronjil. Fuente: propia.



Figura. 2.5.3.2. Medición del ángulo de rotación para la determinación de sacarosa. Fuente: propia.

2.5.4 Determinación de acidez volátil

La determinación de acidez volátil en el licor de toronjil se realizó según lo establecido en la NMX-V-026-1986. Bebidas alcohólicas destiladas. Determinación de acidez volátil, con algunas modificaciones. Como primer paso se realizó la separación de los ácidos volátiles (Fig. 2.5.4.1); se vertieron 10 mL de licor de toronjil en crisoles a peso constante, los cuales posteriormente se colocaron a baño maría, una vez que el contenido de los crisoles se redujo a la mitad se le agregaron 5 mL de agua destilada (este procedimiento se realizó tres veces), a continuación se transfirió el resto de la muestra a matraces de 25 mL y se procedió a su titulación con hidróxido de sodio (NaOH) 0.01 N (Fig. 2.5.4.2). Por último, para el cálculo de la acidez volátil se empleó la ecuación 3.

$$A=V_1 \times N_1 \times 0.06 \times 40 \quad (3)$$

Ecuación utilizada para calcular la acidez volátil.

Donde:

A= acidez volátil (g de ácido acético/L).

V₁= volumen de NaOH utilizado en la titulación.

N₁= normalidad de la disolución de NaOH.



Figura 2.5.4.1. Separación de los ácidos volátiles. Fuente: propia.

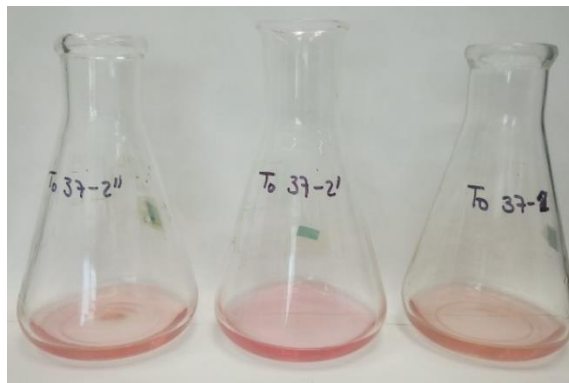


Figura. 2.5.4.2. Titulación de las muestras de licor de toronjil para la determinación de acidez volátil. Fuente: propia.

2.5.5 Determinación de turbidez

Para la determinación de turbidez se utilizó un turbidímetro (Marc. HACH, mod. 2100N IS) (Fig. 2.5.5.1), el cual se calibró con anterioridad con cinco soluciones estándar de turbiedad de 0.1 NTU, 20 NTU, 200 NTU, 1000 NTU y 4000 NTU. Después se vertió el licor de toronjil en una cubeta de vidrio hasta el volumen indicado (aproximadamente 30 mL), se limpió la cubeta de las muestras con un paño suave para eliminar el agua y huellas para evitar errores de lectura, por último se colocó la cubeta en el soporte de viales, se cerró la cubierta y se registró la lectura expresada en NTU (Unidades Nefelométricas de Turbidez).



Figura. 2.5.5.1. Medición de turbidez en el licor de toronjil. Fuente: propia.

2.5.6 Medición de color

La evaluación de color se realizó mediante técnicas instrumentales, las cuales se basan en la medición de reflectancia y transmitancia de las muestras (Delmoro *et al.*, 2010). Para la medición de los parámetros de color L^* (luminosidad), C^* (croma) y h° (hue), se empleó un colorímetro marca Hunter lab modelo colorflex EZ (Fig. 2.5.6.1). El cual hace uso del sistema CIE (Commission International de l'Éclairage), este sistema hace uso de tres coordenadas para ubicar el color en un espacio de color (Tabla 2.5.6.1). Dentro de estos espacios se encuentra el CIE $L^*C^*h^\circ$, donde la L^* (luminosidad) se refiere al grado de claridad ($L^*= 0$ para negro, $L^*= 100$ para blancos), C^* (chroma) describe lo llamativo o lo apagado de un color o en otras palabras que tan cercano está el color al gris y h° (hue) denota el Angulo en una medición polar (Rite, 2002) como se muestran en las figuras 2.5.6.2 y 2.5.6.3.

Tabla 2.5.6.1 Parámetros del color.

Atributo	Descripción	Ejemplo
Matiz	Tono, tinte, color “hue”. Es caracterizado por la longitud de onda de la radiación y hace diferente un color de otro. Representa un espacio en el diagrama de cromaticidad.	Rojo – amarillo ○ Verde - amarillo
Cromaticidad	Saturación, intensidad, pureza. “chroma”. Define la intensidad o pureza espectral del color que va desde los tonos grisees, pálidos apagados a los más fuertes y vivos. Es el grado de color (incolore, brillo, palidez).	Brillante rojo – amarillo ○ Pálido rojo - amarillo
Luminosidad	Brillante, brillo, “brightness”. Es dado por el contenido total de energía. Da lugar a los colores claros y oscuros. Es el grado entre la oscuridad y el brillo máximo.	Rojo brillante - amarillo ○ Rojo oscuro - amarillo

Fuente: Mathias-Retting & Ah-Hen, 2014.

Previo a la realización de las mediciones de las muestras el instrumento fue calibrado con los estándares blanco y negro. Después se colocaron aproximadamente 3 mL de muestra, se cubrió el lente y se procedió a la lectura de los parámetros de color.



Figura. 2.5.6.1. Determinación de color. Fuente: propia.

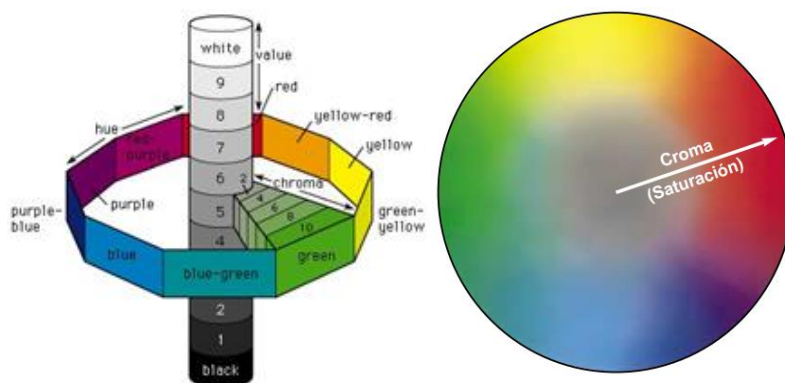


Figura. 2.5.6.2. Localización de L^* y C^* en el espacio CIELAB. Fuente: Rite, 2002.

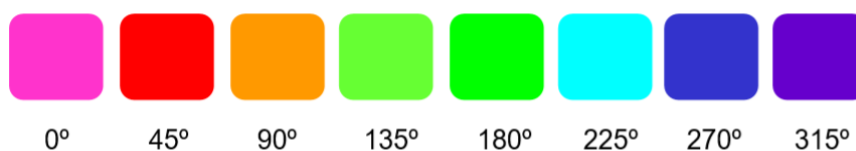


Figura. 2.5.6.3 Tonos de color del ángulo de matiz (h°). Fuente: Leyva, 2009

2.6 Determinación de compuestos fenólicos totales

El contenido de compuestos fenólicos totales en licor de toronjil se determinó por medio de la técnica de Folin-Ciocalteu por triplicado para cada licor, según lo descrito Singleton y Rossi. (1965) con algunas modificaciones. Se tomaron 50 μL de muestra y se le añadieron 250 μL del reactivo Folin-Ciocalteu al 50 %, la mezcla se agito y se dejó reposar por 8 minutos. Después se neutralizo la reacción con 1250 μL de carbonato de sodio (Na_2CO_3) al 5 % y se dejó en la oscuridad por 30 minutos. En un inicio la mezcla presento un color amarillo, pero en presencia de compuestos fenólicos la mezcla viro a azul; por último se realizó la lectura de la absorbancia de la solución, la cual se hizo en un espectrofotómetro UV-VIS (Marc. Jenway, mod. 7305) a una longitud de onda de 725 nm.

2.7 Medición capacidad antioxidante

La medición de la capacidad antioxidante por los métodos DPPH y ABTS se realizó por triplicado para cada uno de los licores obtenidos.

2.7.1 Método DPPH

Se evaluó la capacidad antioxidante mediante el método descrito por Brand-Williams *et al.* (1995). Se mezclaron 100 μ L de muestra con 900 μ L del reactivo DPPH preparado previamente a una concentración de 0.1 mM en metanol y se dejó reaccionar a temperatura ambiente por 30 minutos en la oscuridad. Transcurrido el tiempo se procedió a medir la absorbancia de la mezcla a una longitud de onda de 517 nM en un espectrofotómetro UV-VIS (Marc. Jenway, mod. 7305). Los resultados fueron expresados en porcentaje de inhibición del radical DPPH y se calculó con la ecuación 4.

$$\% I = \frac{Ab-As}{Ab} \times 100 \quad (4)$$

Ecuación utilizada para calcular el porcentaje de inhibición de radical DPPH.

En donde:

% I= porcentaje de inhibición.

Ab= absorbancia inicial.

As= absorbancia final.

La capacidad antioxidante también fue expresada como la concentración media inhibitoria (CI_{50}) y TEAC (por sus siglas en ingles de capacidad antioxidante equivalente de Trolox); para expresar los resultados de CI_{50} se inició tomando los porcentajes de inhibición superiores al 50 %, para después realizar diluciones con % de inhibición por debajo, cercanos y superiores al 50 %. Por ultimo para reportar los resultados como TEAC se utilizó la ecuación 5 (Conde *et al.*, 2012).

$$TEAC = \frac{CI50_t}{CI50_m} \quad (5)$$

Ecuación utilizada para calcular TEAC (capacidad antioxidante equivalente de Trolox).

En donde:

TEAC= Capacidad antioxidante equivalente de Trolox.

CI50t= Concentración media inhibitoria de Trolox.

CI50m= Concentración media inhibitoria de la muestra.

2.7.2 Método ABTS

La capacidad antioxidante del licor toronjil también se determinó por la técnica de ABTS propuesta por Miller *et al.* (1993), la cual consistió en preparar el radical ABTS con 16 horas de antelación; pesando 0.003 de persulfato potásico y 0.0194 g de reactivo ABTS en 5 mL de agua destilada, se resguardo a temperatura ambiente y protegido de la luz. Posteriormente al radical ABTS se le añadió etanol (C₂H₅OH) hasta obtener una absorbancia de 0.7 nm. Posteriormente se tomaron 3920 µL del radical ABTS y 80 µL de muestra, la reacción se dejó transcurrir por 7 minutos para después proceder a la lectura de la absorbancia en un espectrofotómetro UV-VIS (Marc. Jenway, mod. 7305) a una longitud de onda de 754 nm.

2.8 Análisis sensorial

Las pruebas sensoriales aplicadas se realizaron bajo condiciones neutras que no influyeran en la respuesta de los evaluadores, además se consideró la codificación y aleatorización de las muestras.

Se realizaron dos pruebas sensoriales; la primera consistió en una evaluación de nivel de agrado de los distintos licores de toronjil utilizando una escala hedónica de cinco puntos como lo mencionan Pedrero & Pangborn (1989) (Fig. 2.8.1). Los parámetros que se evaluaron fueron: color, olor y sabor (Anexo 1). El panel de jurados estuvo conformado por 30 individuos no entrenados, de los cuales 21 eran mujeres y 9 hombres con edades entre

20 y 52 años. Los códigos de las muestras para esta prueba se muestran a continuación (Tabla 2.8.1).

Tabla 2.8.1. Códigos de las muestras de licor de toronjil para la prueba de nivel de agrado.

Tiempo de maceración (días)	Temperatura de secado (°C)	Código de las muestras
15	20	482
15	37	027
30	20	921
30	37	685

También se realizó una prueba de preferencia (Pedrero & Pangborn, 1989) entre los licores preparados con el macerado a 30 días, ya que literatura reporta que el tiempo óptimo de maceración es de 30 días (Miranda & Tula, 2014) (anexo 2). La prueba se le realizó a un total de 31 jueces no entrenados (19 mujeres y 11 hombres) con edades entre 20 y 35 años. En la tabla 2.8.2 se presentan los códigos de las muestras para esta prueba.

Tabla 2.8.2. Codificación de las muestras de licor de toronjil para la prueba de preferencia.

Tiempo de maceración (días)	Temperatura de secado (°C)	Código de muestras
30	20	419
30	37	163



Figura 2.8.1. Aplicación de la prueba de nivel de agrado y preferencia de los distintos licores de toronjil. Fuente: propia.

2.9 Análisis Estadístico

Se elaboró un análisis de varianza (ANOVA) y prueba de medias por el método de Tukey con un intervalo de confianza de 95 % utilizando el software SAS (Statistical Analysis Software) versión 9.0. Se realizó la prueba de correlación de Pearson con un nivel de confianza de 0.05 entre las variables fisicoquímicas y la actividad antioxidante de los licores

Capítulo 3: Resultados y discusión

3.1 Obtención y caracterización de materia prima

El peso total de la materia prima recolectada fue de 1773.3 g, de los cuales 956 g se destinaron al proceso de secado a 37 °C y 817.3 g para la deshidratación a 20 °C.

Con anterioridad se reservó la muestra destinada al análisis taxonómico realizado en el jardín botánico de la BUAP (anexo 3), el documento entregado menciona que la identificación taxonómica realizada por el curador M. Phill Allen J. Coombes correspondió a la especie *Dracocephalum moldavica* L. familia Lamiaceae.

3.2 Secado de toronjil

Del peso total obtenido de toronjil 956 g se sometieron a un proceso de secado a 37 °C, obteniendo un peso final 216.32 g de toronjil seco, mientras que 817.3 g se destinaron a un secado a 20 °C obteniendo un peso seco de 244.5 g.

La humedad del toronjil después de su deshidratación a 20 °C fue de 21.699 ± 6.342 % de humedad, mientras que el % de humedad para el toronjil tratado a 37 °C fue de 11.934 ± 0.348 %. Lo que nos indica que para ambas temperaturas de secado el toronjil no alcanzó el % de humedad óptimo (10 %) según Fretes y Mendoza (2010), lo que pudo haber provocado la descomposición de la materia prima a causa del crecimiento de microorganismos, debido a que los microorganismos dejan de ser activos cuando el contenido de agua se reduce por debajo del 10 % de humedad (Geankoplis, 1995). Sin embargo, los resultados obtenidos de la actividad de agua para el secado a 20 °C fue de 0.390 ± 0.050 y para el secado a 37 °C 0.516 ± 0.039 lo que indicó que se encuentra en una zona de estabilidad alta, es decir que no cuenta con agua disponible (agua libre) para el crecimiento microbiano o que influya en reacciones químicas y enzimáticas que puedan afectar sus propiedades físicas (Badui, 2006). Además, se sabe que el contenido de agua por sí solo no determina la estabilidad de un alimento, dicha estabilidad se predice mejor con la a_w ; ya que, el % de humedad se refiere a el agua total que contiene un alimento,

mientras que la actividad de agua refleja el grado de interacción de la fracción de agua denominada “libre” con los demás constituyentes, con lo cual se puede predecir la estabilidad y vida útil de un producto (Badui, 2006). También se observó una mayor actividad de agua en el toronjil secado a 37 °C, probablemente por la formación de una capa superficial dura e impermeable, este fenómeno es conocido como acortezamiento y puede manifestarse debido a temperaturas de secado elevadas, provocando una reducción de la velocidad de secado y un producto aparentemente seco en su superficie y húmedo en su interior (Fellows, 1994).

3.3 Elaboración de licor de toronjil

3.3.1 Maceración

Como resultado de los distintos tratamientos de secado de toronjil y tiempo de maceración, se obtuvieron un total de 18 macerados (Tabla 2.4.1.1). En la figura 3.3.1.1 se presentan los macerados elaborados y sus respectivos triplicados.



Figura. 3.3.1.1. Macerados elaborados: (A) con toronjil deshidratado a 20 ° macerado por 0 días, (B) toronjil deshidratado a 37 °C macerado por 0 días, (C) toronjil deshidratado a 20 °C macerado por 15 días, (D) toronjil deshidratado a 37 °C macerado por 15 días, (E) toronjil deshidratado a 20 °C macerado por 30 días y (F) toronjil deshidratado a 37 °C y macerado por 30 días. Fuente: propia.

3.3.2 Elaboración de jarabe

Al jarabe elaborado en un proporción 2:1 agua-sacarosa se le realizó lo medición de solidos solubles obteniendo como promedio 33.966 ± 0.115 °Bx.

3.3.3 Formulación de licor

Se procesaron 18 botellas de licor de toronjil (Fig. 3.3.3.1), la elaboración de estos licores consistió en la mezcla de macerado y alcohol en una proporción 1:1. Los resultados del % de alcohol y el contenido de sacarosa fueron comparados con lo establecido en la Norma

Oficial Mexicana NOM-199-SCFI-2017 (Bebidas alcohólicas-Denominación, especificaciones fisicoquímicas, comerciales y métodos de prueba.) del apartado 6.3 (Denominaciones y especificaciones de bebidas alcohólicas-licores o cremas). Sin embargo, esta norma presenta características muy generales para los licores. Por lo tanto, se decidió apoyarse en la norma española del gobierno de Navarra (Norma técnica artesana de los licores de hierbas y frutas) y la Norma Cubana (NC-725: 2009. Licores. Especificaciones.), las cuales presentan especificaciones más concretas para este tipo de bebidas (Tabla 3.3.3.1).

Tabla 3.3.3.1. Comparación de los valores de % de alcohol, solidos solubles totales y sacarosa del licor de toronjil con los valores permisibles en la NOM-199-SCFI-2017, Norma técnica artesana de los licores de hierbas y frutas y NC-725: 2009.

	% Alcohol	Solidos solubles totales (°Bx)	Sacarosa (g/L)
Licor de toronjil.	14.764 ± 0.220 *	24.821 ± 0.317 *	10.688 ± 1.053 *
NOM-199-SCFI-2017.	13.5-55	-	>10
Norma Técnica Artesana de los Licores de Hierbas y Frutas.	Min. 15	-	5-30
Norma Cubana-725: 2009.	10-50	1-51	-

*Valor promedio ± desviación estándar

De esta manera se concluyó que el contenido de alcohol de 14.764 % obtenido en los licores de toronjil cumplen con el grado de alcohol señalado tanto por la Norma Oficial Mexicana, la Norma del Gobierno de Navarra y la Norma de Cuba-725; la primera señala un intervalo de 13.5 a 55 % de alcohol, mientras que la segunda establece un porcentaje de alcohol mínimo del 15 % para los licores herbales y la Norma Cubana presenta un rango de 10 a 50 % de alcohol. En cuanto al contenido de sacarosa, en los licores de toronjil se obtuvo un promedio de 10.688 g/L de sacarosa, que al comparar este resultado con las normas antes mencionadas se observó que cumplen con la Norma Oficial Mexicana, la cual menciona que el contenido de azúcares debe ser mayor al 1 % m/v (10 g/L) de sacarosa, y con la Norma del Gobierno de Navarra que permite de 5 a 30 g/L de sacarosa en licores de herbales. Mientras que para el contenido de solidos solubles totales obtenido (24.821 °Bx) solo se comparó con la Norma Cubana, ya que de las normas utilizadas es la única que establece el contenido de solidos solubles totales en un intervalo permisible de 1 a 51 °Bx.

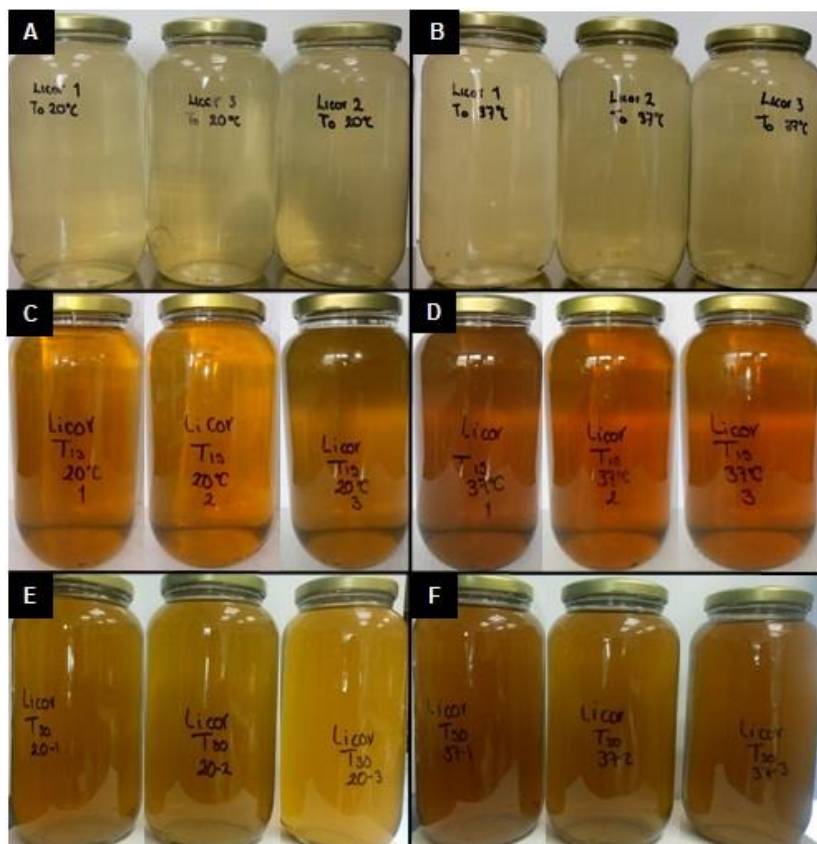


Figura. 3.3.3.1. Licores elaborados con: (A) macerado de toronjil deshidratado a 20 °C por 0 días, (B) macerado de toronjil deshidratado a 37 °C por 0 día, (C) macerado de toronjil deshidratado a 20 °C por 15 días, (D) macerado de toronjil deshidratado a 37 °C por 15 días, (E) macerado de toronjil deshidratado a 20 °C por 30 días y (F) macerado de toronjil deshidratado a 27 °C por 30 días. Fuente: propia.

3.4 Medición de características fisicoquímicas

Los datos de las propiedades fisicoquímicas evaluadas en los distintos licores de toronjil se presentan en la tabla 3.4.1, en la cual se puede observar que en el factor de temperatura de secado los valores de turbidez, sacarosa, acidez volátil y h° mostraron diferencia estadística significativa, sin embargo turbidez fue la única propiedad que presentó una significancia estadística alta. Para la interacción de temperatura de secado y tiempo de maceración los valores de acidez volátil y turbidez presentaron significancia estadística alta y una significancia estadística baja para % alcohol, °Brix, sacarosa, C* y h°. La única

propiedad fisicoquímica evaluada que no presentó variación para ningún factor fue la luminosidad.

Tabla 3.4.1. Medias, coeficiente de variación y cuadrados medios de las propiedades fisicoquímicas del licor de toronjil (*Dracocephalum moldavica* L.).

Variable	Media	CV	Cuadrados medios		Error
			Temperatura de secado	Temperatura de secado * Tiempo de maceración	
% Alcohol	14.764	0.9236	0.0048 ^{NS}	0.1502 [*]	0.0185
°Brix	24.821	0.7882	0.0061 ^{NS}	0.3110 [*]	0.0382
Turbidez (NTU)	17.751	4.2661	19.222 ^{***}	53.2894 ^{***}	0.5735
Sacarosa (g/l)	10.688	5.2137	3.6198 [*]	2.8818 [*]	0.3105
Acidez volátil (g ácido acético/l)	0.018	18.0815	0.0001 [*]	0.0006 ^{***}	0.00001
L*	3.233	43.5765	2.4222 ^{NS}	5.0051 ^{NS}	1.9855
C*	1.030	33.4443	0.0435 ^{NS}	0.4425 [*]	0.1187
h°	226.059	9.1647	4784.8098 [*]	3463.1013 [*]	429.2233

CV: coeficiente de variación; *** $P \leq 0.0001$ altamente significativo, ** $P \leq 0.001$ muy significativo, * $P \leq 0.05$ significativo; NS; No significativo.

3.4.1 Determinación del porcentaje de alcohol

Los datos del % de alcohol para los distintos licores de toronjil elaborados se muestran en la tabla 3.4.1.1; en la cual se puede observar que estos valores oscilaron en un intervalo de 14.510 ± 0.077 a 15.023 ± 0.166 ; y que estos valores no presentaron diferencia significativa entre los licores pertenecientes al mismo lote pero si se apreció diferencia entre el lote 2 y el lote 3, donde, se observó un porcentaje de alcohol mayor en el licor T15-37 comparado con el licor T30-37. La diferencia del % de alcohol entre estos licores pudo presentarse

debido a que la elaboración de los mismos se realizó de manera artesanal y esto concuerda con los datos obtenidos por Leyva (2009), donde se menciona que la variación en las propiedades fisicoquímicas de licores puede ser mayor en los procesos artesanales al compararlos con procesos industrializados. No obstante a las diferencias en las mediciones del % de alcohol, los valores de los licores se encontraron dentro de las concentraciones mencionadas por la NOM-199-SCFI-2017 (13.5 a 55 % de alcohol) y la Norma de Cuba-725 (10 a 50 % de alcohol) y se aproximaron al 15 % de alcohol que es el porcentaje mínimo de alcohol aceptado en la Norma Técnica de Licores Artesanales de Navarra. Es importante mencionar que actualmente no existe una Norma Oficial Mexicana específica para licores artesanales que establezca las propiedades fisicoquímicas que estos deben cumplir, es por eso que se tomaron como apoyo las normas antes mencionadas de otros países donde se comercializan este tipo de bebidas.

Tabla 3.4.1.1. Valores de las medias aritméticas del % de alcohol en licor de toronjil (*Dracocephalum moldavica* L.).

Temperatura de secado (°C)	Tiempo de maceración (días)	Código de licor	% Alcohol
20	0	T0-20	14.711 ± 0.192 ^{ACB}
20	15	T15-20	14.988 ± 0.050 ^{AB}
20	30	T30-20	14.644 ± 0.192 ^{BC}
37	0	T0-37	14.711 ± 0.038 ^{ABC}
37	15	T15-37	15.023 ± 0.166 ^A
37	30	T30-37	14.510 ± 0.077 ^C
		DMS	0.374

Los valores indican la media ± desviación estándar; Medias con la misma letra no son significativamente diferentes; DMS: diferencia mínima significativa.

3.4.2 Medición de sólidos solubles totales

La concentración de sólidos solubles totales presentes en los licores elaborados se reportaron en °Bx. Este concepto se basa en la escala desarrollada por el científico alemán Adolf F. Brix, la cual consiste en una representación numérica que equivale al porcentaje de azúcar (sacarosa) y otros sólidos disueltos en una solución, en la mayoría de los casos se supone que todo el soluto disuelto es azúcar, por lo tanto, una solución de 25 °Bx tiene

25 g de azúcar (y otros solutos) y 75 g de agua por 100g de solución (Ball, 2006). Los datos obtenidos para el contenido de sólidos solubles totales fueron de 24.444 ± 0.192 a 25.211 ± 0.258 °Bx (Tabla 3.4.2.1). Como se mencionó anteriormente, la medición de los sólidos solubles totales permite conocer el porcentaje de azúcar presente en los licores de toronjil y según su definición se puede afirmar que el contenido de sacarosa en los licores de toronjil fueron de 244.44 ± 0.192 a 252.110 ± 0.258 g/L, por lo que al comparar estos valores con la NOM-199-SCFI-2017, la cual presenta una clasificación de acuerdo al contenido de azúcar (Tabla 3.4.2.2), se observó que el licor de toronjil se clasifica como un aperitivo debido a que supera el contenido de azúcar permitido de 1 a 10.1 % que equivale a 10 a 100 g/L y por la presencia de principios amargo, mientras que de acuerdo a los contenidos de sacarosa permisibles por la Norma Técnica de Navarra para Licores Artesanales, el licor de toronjil no cumplió con la clasificación de licor de hierbas (5 a 30 g/L), por último y conforme a la clasificación de la Norma Cubana-725, el licor elaborado presentó un contenido de sólidos solubles totales permitido para ser clasificado como licor crema fino. Como se observó con anterioridad el contenido de sacarosa permisible y las clasificaciones de los licores en las distintas normas presentadas son muy diferentes por lo que se decidió comparar estos resultados con trabajos similares, como el elaborado por Paqui (2019), quien reporta contenidos de sólidos solubles totales de 24.2 a 25.7 °Bx en licor de begonia, los cuales coinciden con los valores de sólidos solubles obtenidos. Además, se pudo ver que al igual que los datos de % de alcohol, las concentraciones de sólidos solubles totales mostraron diferencia significativa entre licores que fueron elaborados en días distintos con extractos macerados por el mismo periodo de tiempo de maceración pero distinta temperatura de secado (mismo lote), esta diferencia se debe probablemente a la misma causa que se mencionó en la determinación de % de alcohol (Tabla 3.4.1.1).

Tabla 3.4.2.1. Valores de las medias aritméticas de los sólidos solubles totales en licor de toronjil (*Dracocephalum moldavica* L.).

Temperatura de secado (°C)	Tiempo de maceración (días)	Código de licor	°Bx
20	0	T0-20	24.766 ± 0.233 ^{ABC}
20	15	T15-20	25.110 ± 0.038 ^{AB}
20	30	T30-20	24.644 ± 0.252 ^{AC}
37	0	T0-37	24.755 ± 0.077 ^{ABC}
37	15	T15-37	25.211 ± 0.258 ^A
37	30	T30-37	24.444 ± 0.192 ^C
DMS			0.536

Los valores indican la media ± desviación estándar; Medias con la misma letra no son significativamente diferentes; DMS: diferencia mínima significativa.

3.4.3 Determinación de sacarosa

Como se mencionó anteriormente la Norma Técnica de Navarra menciona que la cantidad de azúcar presente en los licores de hierbas debe de ser de 5 a 30 g/L; lo cual indica que los licores cumple con este parámetro, ya que los datos del contenido de sacarosa variaron de 9.821 ± 0.943 a 12.678 ± 0.943 g/L de sacarosa (Tabla 3.4.3.1). Dentro de este intervalo de datos se puede observar que solo el licor T0-20 presentó diferencia significativa y esto puede deberse a que la determinación de sacarosa en estos licores se realizó un día distinto al resto de los licores.

Por otro lado, se sabe que la determinación de sólidos solubles se emplea para conocer la concentración de azúcar en varios productos alimenticios, ya que guarda una alta correlación positiva con el contenido de azúcares (Montaño & Méndez, 2009), sin embargo se observó que los datos de °Brix y el contenido de sacarosa no coinciden, esto puede deberse a que los °Brix también dependen de otros azúcares, sales y ácidos (Hernández, 2010; Moreno, 2003) que no interfieren en la determinación de sacarosa.

Tabla 3.4.3.1. Valores de las medias aritméticas de sacarosa en licor de toronjil (*Dracocephalum moldavica* L.).

Temperatura de secado (°C)	Tiempo de maceración (días)	Código de licor	Sacarosa (g/L)
20	0	T0-20	12.678 ± 0.943 ^A
20	15	T15-20	10.366 ± 0.000 ^B
20	30	T30-20	10.366 ± 0.000 ^B
37	0	T0-37	9.821 ± 0.943 ^B
37	15	T15-37	10.366 ± 0.000 ^B
37	30	T30-37	10.532 ± 0.288 ^B
		DMS	1.528

Los valores indican la media ± desviación estándar; Medias con la misma letra no son significativamente diferentes; DMS: diferencia mínima significativa.

3.4.4 Determinación de acidez volátil

La acidez volátil es un parámetro que se asocia principalmente con el contenido de ácido acético, el cual se produce durante el proceso de fermentación. Y es un factor de calidad de suma importancia en la producción de vinos, debido a que valores de acidez volátil elevados indican que este ha sufrido la acción de microorganismos, principalmente por *Acetobacter* (Barceló, 1990). En este trabajo de investigación al no tratarse de un productor fermentado, se consideró esta variable, debido a que expresa una relación entre las condiciones de maceración y la extracción de ácidos orgánicos diferentes al ácido acético (Bruni *et al.*, 2002), los cuales producen aromas agradables y por ende inciden en la calidad organoléptica, ya que el contenido de estos compuestos puede estar relacionada con la percepción del sabor del licor, como lo menciona Fernández *et al.* (2012), quien asocia la acidez volátil con la fracción aromática, lo que puede modificar la percepción del sabor (Palacios *et al.*, 2006).

Los datos encontrados en esta investigación se observan en la tabla 3.4.4.1 los cuales oscilaron entre 0.005 ± 0.000 y 0.035 ± 0.005 . Los licores T15-20 y T15-37 destacaron por tener una mayor acidez volátil, lo cual indicó que estos licores presentaron una mayor presencia de ácidos orgánicos que pudieron influir en sus características organolépticas,

además, otros trabajos han reportado propiedades antioxidantes y/o sinérgicas con otros antioxidantes presentes en estos compuestos, por ejemplo, Maestro & Borja (1994) mencionan que el ácido cítrico es un antioxidante muy eficaz por su capacidad para inactivar trazas metálicas, el ácido málico y fumárico retardan la degradación oxidativa de los lípidos.

Por otra parte, se observó que los valores de acidez volátil no excedieron el 1.3 g de ácido orgánico/L permitido por la Norma Oficial Mexicana, por lo tanto, fue posible afirmar que los licores estudiados cumplen con la concentración de acidez volátil permisible para vinos generosos que según su definición en la norma antes mencionada presentan similitudes durante el proceso de elaboración como son: el uso de destilados neutros y sacarosa. No obstante, es importante resaltar la importancia del balance de la concentración y del tipo de ácidos orgánicos, ya que su usencia puede afectar la brillantes, aroma y la estabilidad microbiológica de los licores tal y como suele ocurrir en los vinos (Palacios *et al.*, 2006).

Tabla 3.4.4.1. Valores de las medias aritméticas de la acidez volátil en licor de toronjil (*Dracocephalum moldavica* L.).

Temperatura de secado (°C)	Tiempo de maceración (días)	Código de licor	Acidez volátil (g ácido acético/L)
20	0	T0-20	0.008 ± 0.001 ^C
20	15	T15-20	0.033 ± 0.005 ^A
20	30	T30-20	0.021 ± 0.001 ^B
37	0	T0-37	0.008 ± 0.002 ^C
37	15	T15-37	0.035 ± 0.005 ^A
37	30	T30-37	0.005 ± 0.000 ^C
		DMS	0.009

Los valores indican la media ± desviación estándar; Medias con la misma letra no son significativamente diferentes; DMS: diferencia mínima significativa.

3.4.5 Medición de turbidez

La turbidez es un factor relevante en licores macerados pues determina la calidad en este tipo de productos. Este parámetro en licores de frutas se asocia principalmente a la presencia de pectinas que precipitan a causa de su baja solubilidad en presencia de alcohol, por lo que sus consumidores buscan productos de muy baja turbidez (Pérez, 2011; Armento, 2008; Moreno *et al.*, 2002). Los valores de turbidez que se obtuvieron se muestran en la tabla 3.4.5.1 y se presentaron en un intervalo de 11.411 ± 0.316 a 22.522 ± 0.258 NTU; dentro de este intervalos se observó que las mediciones para los licores elaborados con extractos macerados durante el mismo tiempo pero a distintas temperaturas de secado no presentaron diferencia significativa, sin embargo, si existió una diferencia significativa entre los lotes (distinto tiempo de maceración y misma temperatura de secado); además, los licores macerados por 15 días (T15-20 y T15-37) fueron los que mostraron una mayor presencia de partículas suspendidas, esto pueden asociarse a algunas interferencias que pueden presentarse en la lectura de medición, como pueden ser: la presencia de residuos flotantes por una deficiente filtración o la coloración de la muestra a analizar (MetAs & metrólogos asociados, 2010). Otra posible causa de una mayor turbidez en los licores T15-20 y T15-37 puede deberse a la presencia de compuestos polifenólicos oxidados; ya que se ha observado que varias bebidas que contienen altos niveles de estos compuestos polifenólicos derivados de plantas y que han sufrido un proceso oxidativo tienden a presentar mayor turbidez durante su almacenamiento como lo menciona Rødtjer (2010); quien observo que en este tipo de bebidas la formación de turbidez implica una oxidación inicial de compuestos polifenólicos que genera polifenoles oxidados, formando finalmente complejos macromoleculares entre otros polifenoles o con proteínas.

Tabla 3.4.5.1. Valores de las medias aritméticas de la turbidez en licor de toronjil (*Dracocephalum moldavica* L.).

Temperatura de secado (°C)	Tiempo de maceración (días)	Código de licor	Turbidez (NTU)
20	0	T0-20	15.455 ± 1.651 ^C
20	15	T15-20	22.522 ± 0.258 ^A
20	30	T30-20	18.377 ± 0.267 ^B
37	0	T0-37	11.411 ± 0.316 ^C
37	15	T15-37	20.710 ± 0.604 ^A
37	30	T30-37	18.033 ± 0.328 ^B
DMS			2.076

Los valores indican la media ± desviación estándar; Medias con la misma letra no son significativamente diferentes; DMS: diferencia mínima significativa.

Por otra parte es importante mencionar que los valores de turbidez en los licores de toronjil son similares a los reportados para otros licores; los valores de turbidez reportados por Barrera *et al.* (2015) para licor de manzana fueron de 72.266 NTU mientras que Coto (2014) para licor de cas, limón y hierba buena reporto valores de 95.000 NTU. Por lo tanto, podemos afirmar que el licor de toronjil obtenido en el presente trabajo tuvo una buena solubilidad, cuya característica lo hace más atractivo para su consumo. Sin embargo, es importante realizar y estudiar un mejor proceso de filtración para este tipo de productos, como la ultrafiltración y la microfiltración las cuales son capaces de retener desde sólidos en suspensión hasta microorganismos (Moreno *et al.*, 2002; Armento, 2008; Pérez, 2011)

3.4.6 Medición de color

En la tabla 3.4.6.1 se presentan las mediciones de los parámetros de color (L^* , C^* y h°). Los parámetros de L^* y C^* no presentaron diferencia significativa entre los distintos licores. Sin embargo, se observó que para los licores hechos con toronjil deshidratado a 20 °C, L^* presentó una disminución al día 15 de maceración y aumentó en el licor al tiempo de maceración de 30 días, en cambio la luminosidad para los licores elaborados con toronjil secado a 37 °C al tiempo 0 y 15 días de maceración se mantuvieron prácticamente constantes y disminuyeron para el día 30 de maceración. Al comparar los resultados de L^* con la figura 3.4.6.1 se observó que estos valores se acercaron al extremo $L^* = 0$ por lo que los

colores de los licores se clasificaron como oscuros (Rite, 2002). Mientras que para la variables Croma se pudo observar que los valores de los licores de los extractos macerados por 15 días, tanto para el toronjil secado a 20 °C y 37 °C muestran valores superiores al resto de los licores; y considerando que Croma representa la saturación e intensidad del color que va desde los tonos grises, pálidos, apagados ($C^*=0$) a los más fuertes que normalmente no pasan de $C^*=150$, aunque pueden llegar a superar valores de $C^*=1000$ (Mathias-Retting & Ah-Hen, 2014) (Fig. 3.4.6.1). Los resultados de C^* obtenidos indican poco intensidad de color.

Los valores de h° para los licores de toronjil oscilaron entre 180.453 ± 22.630 y 281.900 ± 16.146 ; tomando en cuenta que el ángulo hue varía entre 0 y 360° con colores rojo-purpura a los 0°, amarillo a los 90°, azulado-verde a los 180° y azul a los 270° (Mathias-Retting & Ah-Hen, 2014; Marete *et al*, 2009) y observando la figura 3.4.6.2 se pudo afirmar que los datos obtenidos se encuentra entre los matices verdes y azules; los valores para los licores elaborados con el toronjil secado a 20 °C no presentaron diferencia significativa, no obstante se percibió que la maceración a los 15 días presento una disminución de h° , es decir paso de un matiz azul a uno verde y para el día 30 de maceración el matiz del licor fue similar al del tiempo 0, en cambio para los licores de toronjil tratado a 37 °C, el licor T15-37 mostró diferencia significativa con el licor T30-37 y a pesar de que los valores del ángulo hue para el tiempo 0 (matiz azul) y 15 (matiz verde) de maceración no presentaron diferencia significativa, estos si pertenecían a matices distintos. En cuanto a h° se concluyó que los licores elaborados con extractos macerados por un lapso de 15 días presentaron valores de h° que se encontraron en los matices verdes que según Argyropoulos y Müller (2014) son los preferidos por los consumidores de productos provenientes plantas medicinales o herbales, puesto que estos prefieren que este tipo de productos tengan una apariencia natural y con colores semejantes a la planta original. . Los cambios en h° puede ser consecuencia del proceso de secado debido a la degradación de los pigmentos de clorofila a feofitina que se acompaña de un pardeamiento en las hojas (Argyropoulos & Müller, 2014). Además Mendoza y Borges (2015) mencionan que el incremento en el tiempo de extracción puede contribuir a la formación de feofitina, proporcionando una pigmentación más oscura a los extractos. Otra posible causa de los cambios en el parámetro de matiz puede deberse a que las plantas que pertenecen a la familia Lamiaceae contienen

concentraciones significativas de compuestos fenólicos como flavonoides y ácidos fenólicos, que pueden actuar como sustrato para la enzima polifenol oxidasa; una metalproteína que produce la oxidación de compuestos fenólicos en quinonas y en consecuencia forman pigmentos marrones en los tejidos de los hojas (Lin *et al.*, 2012; Queiroz *et al.*, 2008; Fecka & Turek, 2007).

A pesar de esto, los datos reportados por Marete *et al.* (2009) para infusiones de *Tanacetum parthenium* deshidratada a 20, 60 y 70 °C para h° (346 ± 3, 351 ± 3, 347 ± 3) y C* (1.0 ± 0.1, 1.1 ± 0.1, 1.2 ± 0.1) se acercan a los valores obtenidos para los licores de toronjil realizados en el presente trabajo; por lo tanto podemos afirmar que el licor de toronjil cumple con las características de color reportadas para productos herbales.

Tabla 3.4.6.1. Valores de las medias aritméticas de los parámetros de color en licor de toronjil (*Dracocephalum moldavica* L.).

Temperatura de secado (°C)	Tiempo de maceración (días)	Código de licor	L*	C*	h°
20	T200	T0-20	4.559 ± 1.308 ^A	0.907 ± 0.266 ^A	215.813 ± 20.706 ^{BC}
20	15	T15-20	1.986 ± 1.488 ^A	1.363 ± 0.557 ^A	180.453 ± 22.630 ^C
20	30	T30-20	4.255 ± 1.088 ^A	0.673 ± 0.155 ^A	232.999 ± 35.908 ^{ABC}
37	0	T0-37	3.865 ± 1.575 ^A	1.152 ± 0.493 ^A	243.054 ± 6.355 ^{AB}
37	15	T15-37	3.149 ± 2.064 ^A	1.453 ± 0.235 ^A	202.136 ± 6.491 ^{BC}
37	30	T30-37	1.585 ± 0.979 ^A	0.633 ± 0.083 ^A	281.900 ± 16.146 ^A
		DMS	3.864	0.945	56.818

Los valores indican la media ±: desviación estándar; Medias con la misma letra no son significativamente diferentes; DMS: diferencia mínima significativa.

3.5 Determinación de compuestos fenólicos totales

El cálculo del contenido de compuestos fenólicos totales se determinó por medio de una regresión lineal a partir de una curva de calibración (Anexo 4) [Abs725nm=2.7905x+0.0561 (r²=0.9897)] construida con cinco concentraciones de ácido gálico entre 0 - 0.25 mg /mL y los resultados se reportaron en mg equivalentes de ácido gálico por mililitro (mg EAG/mL).

Los resultados de compuesto fenólicos totales (Tabla 3.5.1) en el licor de toronjil mostraron una diferencia significativa alta con respecto a la temperatura de secado de la planta, al igual que la interacción de temperatura de secado y tiempo de maceración.

Tabla 3.5.1. Medias, coeficiente de variación y cuadrados medios del contenido de compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante en licor de toronjil (*Dracocephalum moldavica* L.).

Variable	Media	CV	Cuadrados medios		Error
			Temperatura de secado	Temperatura de secado * tiempo de maceración	
Compuestos fenólicos totales (mg AG/mL)	11.557	16.551	183.584 ***	348.032 ***	3.659
% Inhibición DPPH	69.085	1.778	2.987 NS	3262.037 ***	1.510
Cl ₅₀ DPPH (mg/mL)	1.659	18.787	0.858 *	2.769 **	0.097
TEAC DPPH (µM TEAC/L)	43.833	68.234	0.001 NS	0.002 NS	0.000
% Inhibición ABTS	66.274	15.478	4700.560 ***	6302.323 ***	105.236
Cl ₅₀ ABTS (mg/mL)	3.714	10.338	12.628 ***	4.391 **	0.147
TEAC ABTS (µm TEAC/L)	52.416	15.786	0.003 ***	0.001 **	0.000

CV: coeficiente de variación; *** $P \leq 0.0001$ altamente significativo, ** $P \leq 0.001$ muy significativo, * $P \leq 0.05$ significativo; NS; No significativo.

Como se puede observar en la tabla 3.5.2 el contenido de compuestos fenólicos totales en los licores de toronjil oscilaron en un intervalo de 0.471 ± 0.191 a 27.946 ± 3.110 mg EAG/mL. Para ambas temperaturas de secado se pudo observar que el tiempo de maceración de 15 días obtuvo los licores (T15-20 y T15-37) con un contenido mayor de compuestos fenólicos; siendo el licor T15-37, el que presentó una mayor cantidad de estos

compuestos. Este licor también mostro una diferencia significativa al ser comparados con el resto de los licores elaborados. Por otra parte se observó que para las dos temperaturas de secado, el tiempo de maceración de 30 días mostró una disminución de fenoles totales en los licores, sin embargo, esta disminución en el contenido de fenoles solo es significativamente diferente en los licores del tratamiento de secado a 37 °C (T15-37 y T30-37). La disminución de la presencia de compuestos fenólicos en los licores elaborados con los extractos macerados por 30 días para ambos tratamientos de secado, se asemeja a lo acontecido en trabajos similares donde se afirma que la disminución en los compuestos fenólicos en vinos tintos durante el proceso de añejamiento se presentó por varios factores como: la oxidación, hidrolisis o formación de compuestos poliméricos (Espitia, 2011; Arnous *et al.*, 2001). Por otra parte, otros autores mencionan que esta disminución en el contenido de fenoles se debe a que en un inicio el proceso de extracción presenta una transferencia de masa acelerada que posteriormente decrece hasta llegar al equilibrio (Armento, 2008; Geankoplis, 2006; Brennan *et al.*, 1998).

Tabla 3.5.2. Valores de las medias aritméticas de los compuestos fenólicos totales en licor de toronjil (*Dracocephalum moldavica* L.).

Temperatura de secado (°C)	Tiempo de maceración (días)	Código de licor	Fenoles totales (mg EAG/mL)
20	0	T0-20	0.471 ± 0.191 ^C
20	15	T15-20	14.346 ± 3.057 ^B
20	30	T30-20	10.273 ± 0.434 ^B
37	0	T0-37	1.041 ± 0.717 ^C
37	15	T15-37	27.946 ± 3.110 ^A
37	30	T30-37	15.265 ± 1.480 ^B
DMS			5.246

Los valores indican la media ± desviación estándar; Medias con la misma letra no son significativamente diferentes; DMS: diferencia mínima significativa.

Al comparar los resultados del contenido de fenoles totales en los licores de toronjil con los reportados por Jiménez (2016) y Leyva (2009) se pudo apreciar que estos los superan; ya que el primero afirma que el contenido de compuestos fenólicos en extractos etanolicos de *Dracocephalum moldavica* L. es de 0.518 mg EAG/mL, mientras que Leyva obtuvo valores

que oscilan entre 0.477 y 0.884 mg EAG/mL en diversos licores de moras, por lo que se puede afirmar que el licor de toronjil presenta una mayor cantidad de compuestos fenólicos comparado con otros licores de moras y del propio extracto de toronjil a excepción del licor T0-20.

Con estos resultados se pudo concluir que el mejor tratamiento fue el secado a 37 °C y 15 días de maceración, ya que esto favorece la extracción de compuestos fenólicos presentes en la planta de toronjil. Estos resultados difieren a lo señalado por Fretes y Mendoza (2010), el cual afirma que las temperaturas de secado superiores al 27 °C pueden generar la pérdida de compuestos activos presentes en las plantas y que el tiempo de maceración en el que se alcanza una mayor extracción de estas sustancias es a los 15 días. Sin embargo el estudio realizado por Capecka *et al.* (2005) demuestra que específicamente para la planta de *Melissa officinalis* (Lamiaceae) un secado de 25 a 32 °C no presentó diferencia significativa en el contenido de fenoles al ser comparado con la planta fresca.

3.6 Medición de capacidad antioxidante

Los valores obtenidos para la capacidad antioxidante (Tabla 3.5.1) por el método de ABTS con respecto a la temperatura de secado de la planta mostraron una diferencia significativa alta. Sin embargo, los valores de capacidad antioxidante por medio de DPPH no mostraron significancia estadística, con excepción de los datos de Cl_{50} que mostraron un nivel de significancia bajo.

Por otra parte, la interacción de temperatura de secado y tiempo de maceración mostro diferencia altamente significativa para los datos % de inhibición por ambos métodos, una muy significativa diferencia para Cl_{50} por los dos métodos y TEAC por ABTS; lo cual indica que la interacción de temperatura de secado y tiempo de maceración influyen en la capacidad antioxidante de los licores elaborados. Algunos autores establecen que el tiempo de maceración depende de la matriz sólida que se utilice, debido a que este parámetro influye en la extracción de compuestos fenólicos, aceites esenciales y componentes responsables del color, sabor y aromas (Reyes *et al.*, 2011; Ide *et al.*, 1993).

3.6.1 Método DPPH

Para reportar los resultados de la capacidad antioxidante del licor de toronjil como capacidad antioxidante equivalente Trolox (TEAC) se emplearon los datos de la concentración media inhibitoria (CI_{50}) obtenidos. Se utilizó una curva de calibración (Anexo 5) [$Abs_{517nm}=0.2344x+0.6827$ ($r^2=0.9979$)] con tres concentraciones entre 20 y 400 μ M/mL de Trolox (ácido-6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico).

En la tabla 3.6.1.1 se presentan los datos obtenidos para la capacidad antioxidante determinada por el método DPPH expresada en % de inhibición, CI_{50} y μ M TEAC/mL. Los datos para la capacidad antioxidante expresada en CI_{50} y TEAC/mL no presentaron datos en el día cero de maceración, ya que para realizar el cálculo fue necesario un % de inhibición superiores al 50 %. La posible causa de valores inferiores al 50 % de inhibición de los licores elaborados con extractos macerados por cero días pudo deberse al poco tiempo de remojo de estos macerados, puesto que Senica y Mikulic-Petkovsek (2019) mencionan que los compuestos fenólicos extraídos con etanol necesitan más tiempo para transferirse de la materia seca al solvente en comparación con metanol, alcanzando valores más altos después de 14 a 21 días.

El comportamiento de la capacidad antioxidante se presentó de manera similar al contenido de fenoles totales, puesto que los licores de los extractos macerados por 15 días para ambas temperaturas de secado presentaron mayor capacidad antioxidante expresada en % de inhibición, capacidad al 50 % y TEAC, mientras que los licores de los macerados por 30 días presentaron una tendencia a descender su capacidad antioxidante. Aunque este comportamiento no presenta una diferencia significativa para los licores T15-20 y T30-20 (ambos licores elaborados con toronjil secado a 20 °C).

Los valores del % de inhibición de los licores de toronjil oscilaron en un intervalo de 27.067 ± 2.225 a 90.164 ± 0.204 , siendo los licores T15-20 y T30-20 (hechos con toronjil deshidratado a 20 °C) quienes presentaron un mayor % de inhibición del radical DPPH, destacando el licor T15-20. Aunque entre estos dos licores no existió diferencia significativa, se observó una tendencia a descender el % de inhibición para el licor T30-20. Por otro lado,

los % de inhibición más altos para los licores elaborados con toronjil secado a 37 °C se presentaron en los licores T15-37 y T30-37, de los cuales T15-37 mostró un % de inhibición superior y significativamente diferente al licor T30-37. Los resultados del % inhibición fueron comparados con otros trabajos y se observó que los valores reportados por Jiménez (2016) para el extracto de *Dracocephalum moldavica* (88.687 % de inhibición) coincidieron con los licores hechos a base de los extractos macerados por 15 y 30 días para ambas temperaturas de secado de la planta de toronjil y superaron los presentados por Espitia (2011), quien estudio la capacidad antioxidante en vinos tintos y obtuvo valores dentro del intervalo de 84.23 a 71.09 % de inhibición de DPPH.

EL CI_{50} es otro parámetro para reportar la capacidad antioxidante, el cual se define como la concentración requerida para alcanzar el 50 % de inhibición (Zarena & Sankar, 2009). Además de que este valor es inversamente proporcional a la capacidad antioxidante, es decir que a menor valor de CI_{50} mayor es la capacidad antioxidante (Huang *et al.*, 2005). Los resultados de CI_{50} obtenidos se encontraron en un intervalo entre 2.713 ± 0.095 y 0.840 ± 0.427 mg/mL para ambos tratamientos de secado. Los licores con el mismo tiempo de maceración del toronjil y distinta temperatura de secado, no presentaron una diferencia significativa, sin embargo las bebidas si presentaron diferencia significativa entre los licores con distintos tiempos de maceración del toronjil y deshidratado a la misma temperatura; siendo los licores T15-20 y T15-37 los que presentaron una mayor actividad antioxidante, no obstante el licor T15-37 presento un valor de CI_{50} menor al licor T15-20 y por ende una mayor capacidad antioxidante; de esta manera se puede observar que el tiempo de maceración influye notoriamente en la actividad antioxidante del licor de toronjil. Por lo tanto se concluyó que el tiempo de maceración que requiere una menor cantidad de licor para inhibir el 50 % del radical DPPH son los del día 15, estos resultados coinciden con los resultados del % inhibición que indicaron que los licores con extractos de toronjil macerados por 15 días fueron los que presentan una mayor capacidad antioxidante. Al comparar los valores de CI_{50} obtenidos con otros trabajos de investigación realizados a otros productos, como la fracción etanólica de un vino producido a partir de la variedad de uva prokupac, el cual según Menković *et al.* (2013) presenta un CI_{50} de 0.0034 mg/mL, por otro lado Fraternali *et al.* (2009) reportó valores de CI_{50} de 0.160 mg/mL para jugo de endrino (*Prunus spinosa* L.) y Mamadaliyeva *et al.* (2011) obtuvo valores de CI_{50} para extracto metanólico de *Scutellaria immaculata* (Lamiaceae) de 0.00641 mg/mL. Los datos para CI_{50}

de los productos antes mencionados mostraron valores superiores a los obtenidos en este trabajo.

La capacidad antioxidante equivalente Trolox (TEAC) es una unidad de concentración e indica la habilidad de la muestra de atrapar radicales DPPH, en relación con una solución estándar de Trolox como de referencia (Roginsky & Lissi, 2005; Re *et al.*, 1999), es decir, a mayor $\mu\text{M TEAC/L}$ mayor es la capacidad antioxidante. Los valores de TEAC obtenidos para este trabajo oscilaron entre 19.499 ± 0.723 y $86.638 \pm 65.170 \mu\text{M TEAC/mL}$ y no mostraron diferencia significativa entre ellos, no obstante, se observó que los licores T15-20 y T15-37 tienden a presentar mayor capacidad antioxidante, mientras que los licores de los macerados por 30 días presentaron una tendencia a descender su capacidad antioxidante. Además, los resultados de los licores de los macerados por 15 días mostraron ser superiores a la capacidad antioxidante presente en vinos europeos de Merlot, los cuales oscilaron entre 2.3 a $11.1 \mu\text{MTEAC/mL}$ (Majkić *et al.* 2019) y del licor de cereza corneliana (*Cornus mas L.*) que tuvo valores de 10 a $19 \mu\text{MTEAC/mL}$ (Kucharska *et al.*, 2007). No obstante, los datos de los licores de toronjil no sobrepasan a obtenidos por Leyva (2009) para licores de moras, los cuales rondan entre entre 110510 y $304470 \mu\text{M TEAC/mL}$ $\mu\text{M TEAC/mL}$.

Los resultados obtenidos por el ensayo DPPH y el contenido de compuestos fenólicos fueron comparados debido a que este tipo de bebidas tienen un contenido variable de compuestos fenólicos que pueden estar relacionados con su capacidad antioxidante (Vicente *et al.*, 2011), de esta manera se pudo concluir que el tiempo de maceración influye considerablemente para una mejor extracción de compuestos fenólicos y una mayor capacidad antioxidante, puesto que los licores elaborados con extractos macerados por 15 días presentaron valores de capacidad antioxidantes más altos, sin embargo los valores obtenidos en este ensayo también indicaron que las temperaturas de secado empleadas en este trabajo experimental no influyeron de manera importante en la capacidad antioxidante de los licores en comparación con el ensayo de Folin-Ciocalteu, en el cual el licor T15-37 hecho con toronjil deshidratado a 37°C presentó un contenido de fenoles más alto y significativamente diferente al resto de los licores.

Tabla 3.6.1.1. Valores de las medias aritméticas de % Inhibición, CI_{50} y TEAC por el método DPPH en licor de toronjil (*Dracocephalum moldavica L.*).

Temperatura de secado (°C)	Tiempo de maceración (días)	Código de licor	DPPH (% Inhibición)	DPPH mg/mL (CI ₅₀)	DPPH (µM TEAC/mL)
20	0	T0-20	27.067 ± 2.225 ^D	-	-
20	15	T15-20	90.164 ± 0.204 ^A	1.140 ± 0.232 ^{BC}	48.015 ± 9.338 ^A
20	30	T30-20	88.803 ± 0.651 ^A	2.713 ± 0.095 ^A	19.499 ± 0.723 ^A
37	0	T0-37	35.400 ± 1.398 ^C	-	-
37	15	T15-37	88.512 ± 1.129 ^A	0.840 ± 0.427 ^C	86.638 ± 65.170 ^A
37	30	T30-37	84.566 ± 0.643 ^B	1.943 ± 0.377 ^{BA}	28.915 ± 5.385 ^A
DMS			3.370	0.815	78.000

Los valores indican la media ± desviación estándar; Medias con la misma letra no son significativamente diferentes; DMS: diferencia mínima significativa.

3.6.2 Método ABTS

Al igual que el método de DPPH los resultados para el ensayo de ABTS se expresaron en % de inhibición, concentración media inhibitoria (CI₅₀) y capacidad antioxidante equivalente Trolox (TEAC). El cálculo para los distintos parámetros de la capacidad antioxidante se realizaron utilizando la misma metodología que en la técnica de DPPH, la curva de calibración de Trolox fue la siguiente (Anexo 6) [$Abs_{754nm}=0.0716x+2.1739$ ($r^2=0.9998$)].

Los valores de la capacidad antioxidante del licor de toronjil determinada por el método ABTS y expresados como % de inhibición, CI₅₀ y µM TEAC/mL se presentan en la tabla 3.6.2.1, en la cual se pudo observar que para los licores con un tiempo de maceración de cero días no presentaron valores para CI₅₀ y µM TEAC/mL, debido a que para realizar su cálculo es necesario que las muestras presenten un % de inhibición superior al 50 %. La posible razón de que los licores T0-20 y T0-37 no superaron el % de inhibición requerido pudo deberse al corto tiempo de maceración (cero días) ya que estudios señalan que la extracción de compuestos fenólicos con etanol necesitan más tiempo para transferirse de la materia seca al solvente, alcanzando valores altos después de 14 o 21 días (Senica & Mikulic-Petkovsek 2019).

Los resultados del ensayo de ABTS para % de inhibición oscilaron entre 20.321 ± 0.641 y 95.516 ± 0.613 (tabla 3.6.2.1), estos valores presentaron un comportamiento similar al contenido de fenoles totales y al ensayo de DPPH para los valores del % Inhibición, CI_{50} y μM TEAC/mL, es decir, los licores para ambas temperaturas de secado mostraron una tendencia a aumentar su capacidad antioxidante en los licores con toronjil macerado por 15 días y a disminuir en los licores con toronjil macerado por maceración de 30 días. La reducción de la capacidad antioxidante en los licores hechos con extractos de toronjil macerados por 30 días puede ser explicado con lo mencionado por Spigno *et al.* (2007), quién afirma que los procesos de extracción prolongados pueden dar lugar a la oxidación de compuestos fenólicos, por la luz, exposición de oxígeno y a la degradación de los mismo.

Los licores elaborados con extractos macerados por cero días (T0-20 y T0-37) tuvieron los % de inhibición más bajos y no mostraron diferencia significativa entre ellos al igual que los licores hechos con extractos macerados por 30 días (T30-20 y T30-37). Los valores de % de inhibición más altos para las distintas temperaturas de secado fueron T15-20 y T15-37 (elaborados con extractos macerados por 15 días), pero el licor T15-37 fue superior y diferente significativamente al licor T15-20, estos datos coinciden con los valores de contenido de compuestos fenólicos totales ya que estos mismos licores tuvieron un mayor contenido de estos compuestos y T15-37 mostró mayor capacidad antioxidante y fue significativamente diferente a el licor T15-20. Estas similitudes en los resultados del contenido de compuestos fenólicos y la técnica de ABTS pudieron presentarse por lo mencionado por Singleton *et al.* (1999), quien mencionó que el ensayo de Folin-Ciocalteu no es un método selectivo, similar a la prueba ABTS, ya que determinan tanto los polifenoles como los monofenoles Al comparar los resultados del % de inhibición obtenidos con estudios reportados para vino tinto y extractos de *Dracocephalum moldavica* se concluyó que los % de inhibición se asemejan al de bebidas conocidas como el vino, conocida por un elevado contenido de antioxidantes; Muñoz (2007) reportó 10.59 a 86.06 % inhibición del radical ABTS en vinos producidos en Perú. Por otro lado, Jiménez (2016) presentó 98.00 % de inhibición del radical ABTS para extractos de *Dracocephalum moldavica*, el cual resulta ser un porcentaje mayor a los obtenidos para el licor de toronjil.

En cuanto a los valores de CI_{50} , estos oscilaron en un rango de 5.680 ± 0.087 a 0.723 ± 0.090 mg/mL, siendo los licores con toronjil secado a 37 °C (T15-37 y T30-37) los que

requieren una menor cantidad de muestra para inhibir el 50 % de ABTS, lo cual indico que mostraron una mayor capacidad antioxidante en comparación con los licores hechos con toronjil sometido a una temperatura de 20 °C. Cabe resaltar que el licor T15-37 fue el que reporto una mayor capacidad antioxidante y es significativamente diferente al resto de los licores. Una capacidad antioxidante mayor en los licores hechos con toronjil secado a 37 °C puede deberse por un mayor % de humedad en el toronjil deshidratado a 20 °C que pudo haber influido en la activación de enzima que oxidan compuestos fenólicos afectando la capacidad antioxidante o en el contenido de fenoles totales del producto final como lo menciona Hossain *et al.* (2010). Los resultados de CI_{50} obtenidos por el método ABTS también fueron comparados con otros productos similares como: la fracción etanolica de vino elaborado con uva prokupac, jugo de endrino (*Prunus spinosa* L.) y extracto metanolico de *Scutellaria immaculata* (Lamiaceae); para el primer producto Menković *et al.* (2013) presentó un CI_{50} de 0.0034 mg/mL, por otro lado Fraternali *et al.* (2009) reportó valores de CI_{50} de 0.160 mg/mL para jugo de endrino y por ultimo Mamadaliyeva *et al.* (2009) obtuvo valores de CI_{50} para extracto metanolico de *Scutellaria immaculata* (Lamiaceae) de 0.00641 mg/mL, los cuales fueron superiores a los valores obtenidos en el presente trabajo.

Los valores de TEAC para los licores de toronjil por el método ABTS oscilaron en un intervalo de 29.517 ± 0.498 a 92.105 ± 14.352 μ M TEAC/mL. Al igual que los resultados de % de inhibición y CI_{50} , los licores T15-37 y T30-37 mostraron una mayor capacidad antioxidante, siendo el licor T15-37 el que reporto un valor de TEAC superior y fue significativamente diferente ante el licor T30-37; mientras que los licores elaborados con toronjil sometido a un secado a 20 °C no presentaron diferencia significativa. Sin embargo el licor T30-20 mostro una tendencia a disminuir su capacidad antioxidante. Autores han analizado la capacidad antioxidante por el método ABTS en bebidas similares como: licor de cereza corneliana (*Cornus mas* L.), obteniendo valores de 16 a 31 μ MTEAC/mL (Kucharska *et al.*, 2007) y en infusiones herbales con valores de 0.52 a 4.9 μ MTEAC/mL (Muñoz *et al.*, 2012). Pero no superaron los valores de TEAC reportados para licores de moras, los cuales oscilan entre 110510 y 304470 μ M TEAC/mL (Leyva, 2009), por lo que se concluyó que los licores de toronjil desarrollados presentaron una capacidad de inhibir el radical ABTS mayor al licor de cereza corneliana e infusiones herbales comerciales.

Al analizar los valores de capacidad antioxidante por el método ABTS y DPPH se observó que en ambos métodos se obtuvieron valores mayores de capacidad antioxidante para licores elaborados con extractos de toronjil macerado por 15 días, lo que confirma lo afirmado por Santos *et al.* (2014) que *Melissa officinalis* obtienen el mayor contenido fenólico después de 14 días de maceración, dicha planta es muy similar a *Dracocephalum moldavica* L. pues pertenecen a la misma familia, además también mencionó que no es necesario macerar por más de 21 días cualquier licor de hierbas. El método DPPH a diferencia del método ABTS no presentó diferencia significativa entre estos licores (T15-20 y T15-37), no obstante los resultados de ABTS y fenoles totales mostraron que la temperatura de secado a 37 °C influyo positivamente en el contenido de compuestos fenólicos y en la capacidad antioxidante, lo cual difiere a lo mencionado por Fretes y Mendoza (2010), quien afirmo que las temperaturas de secado superiores al 27 °C pueden generar la pérdida de compuestos activos presentes en las plantas.

Tabla 3.6.2.1. Valores de las medias aritméticas de % Inhibición, CI₅₀ y TEAC por el método ABTS en licor de toronjil (*Dracocephalum moldavica* L.).

Temperatura de secado (°C)	Tiempo de maceración (días)	Código de licor	ABTS (% Inhibición)	ABTS mg/mL (CI ₅₀)	ABTS (µM TEAC/mL)
20	0	T0-20	20.321 ± 0.641 ^D	-	-
20	15	T15-20	73.753 ± 7.431 ^B	3.800 ± 0.132 ^B	44.271 ± 1.525 ^B
20	30	T30-20	56.269 ± 0.813 ^C	5.680 ± 0.087 ^A	29.5173 ± 0.498 ^B
37	0	T0-37	24.073 ± 0.982 ^D	-	-
37	15	T15-37	95.516 ± 0.613 ^A	0.723 ± 0.090 ^C	92.105 ± 14.352 ^A
37	30	T30-37	81.533 ± 8.118 ^B	3.450 ± 0.681 ^B	49.860 ± 9.349 ^B
		DMS	8.114	1.004	22.000

Los valores indican la media ± desviación estándar; Medias con la misma letra no son significativamente diferentes; DMS: diferencia mínima significativa.

3.7 Análisis de correlación

Las correlaciones de Pearson entre propiedades fisicoquímicas se presentan en el anexo 7 y fueron las siguientes: la acidez volátil mostro correlaciones positivas con los sólidos solubles totales (°Bx) (0.86084*) y el porcentaje de alcohol (0.87939*), los sólidos solubles totales tuvieron correlación positiva con croma (0.94204*) y correlación negativa con hue (-0.89179*), el porcentaje de alcohol presentó correlaciones con los valores de croma (0.93843*) y hue (-0.89749*), estas correlaciones entre propiedades fisicoquímicas no fueron muy significativas a comparación de la que se presentó entre los sólidos solubles y el porcentaje de alcohol (0.99741***), la cual fue altamente significativa debido a que el instrumento de medición empleado para ambas determinaciones utiliza una escala que emplea el contenido de solidos solubles totales para determinar el % de alcohol (Togores, 2011).

En el anexo 8 se muestra el análisis de correlación de Pearson entre los valores de capacidad antioxidante y el contenido de fenoles totales, en el cual se pudo observar que los datos de TEAC ABTS y porcentaje de inhibición ABTS (0.99947**) presentaron una

correlación positiva muy significativa. También se presentaron correlaciones positivas entre fenoles totales con el porcentaje de inhibición DPPH (0.81322*), TEAC ABTS (0.99915**) y el porcentaje de inhibición ABTS (0.99615***); siendo esta última la más significativa; estos resultados se asemejan a lo mencionado por Santos *et al.* (2014), el cual afirmó que el ensayo ABTS proporciona una mejor estimación de la capacidad antioxidante en licores que el ensayo DPPH, ya que él obtuvo un coeficiente de correlación débil entre los valores de DPPH y el contenido total de compuestos fenólicos en comparación con el método ABTS; esto puede estar relacionado con la facilidad de reacción de los radicales ABTS y DPPH, ya que son radicales no fisiológicos, además de que este último es sensible a algunas bases de Lewis y tipos de solventes, así como al oxígeno (Floegel *et al.*, 2011, Ancerewicz *et al.*, 1998). Otros autores mencionan que aunque en el uso de los radicales ABTS y DPPH tienen el mismo principio, los modelos basados en ABTS son más versátiles ya que las muestras polares y no polares pueden ser evaluadas, este radical tiene la propiedad de reaccionar rápidamente con la mayoría de los antioxidantes y puede aplicarse en un amplio rango de pH (Re *et al.*, 1999). Por el contrario, las interacciones entre antioxidantes y DPPH son más lentas, además de que suele tener menor sensibilidad que el ensayo ABTS y se disuelve solo en matrices polares (Martysiak-Zurowska & Wenta, 2012; Prior *et al.*, 2005).

3.8 Análisis sensorial

Los resultados de la evaluación sensorial para los parámetros de color, olor y sabor se presentan en las figuras 3.8.1, 3.8.6 y 3.8.11 respectivamente. En la evaluación del color los datos obtenidos mostraron que ningún jurado mencionó haberles disgustado mucho el color de alguno de los licores evaluados (fig. 3.8.1), pero el licor T15-20 presentó un mayor número de jurados que lo calificaron como que les disgustó poco, con un porcentaje de 13 % (fig. 3.8.2); como resultado de la evolución de color, también se observó que el licor T30-37 fue el que presentó valores favorables, ya que, el 40 % mencionó que les gustó mucho, sin embargo este mismo porcentaje de panelistas dijeron que les gustó poco (fig. 3.8.5).

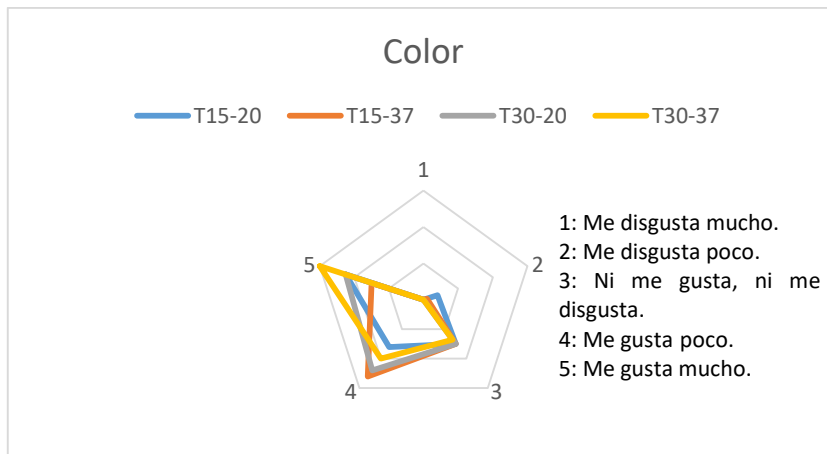


Figura. 3.8.1. Evaluación del perfil de color de los licores de toronjil.

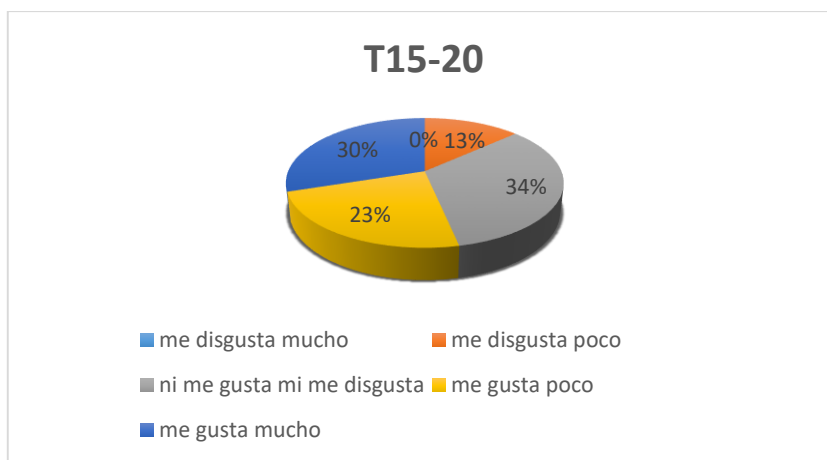


Figura. 3.8.2. Representación porcentual de la evaluación del perfil de color del licor T15-20.

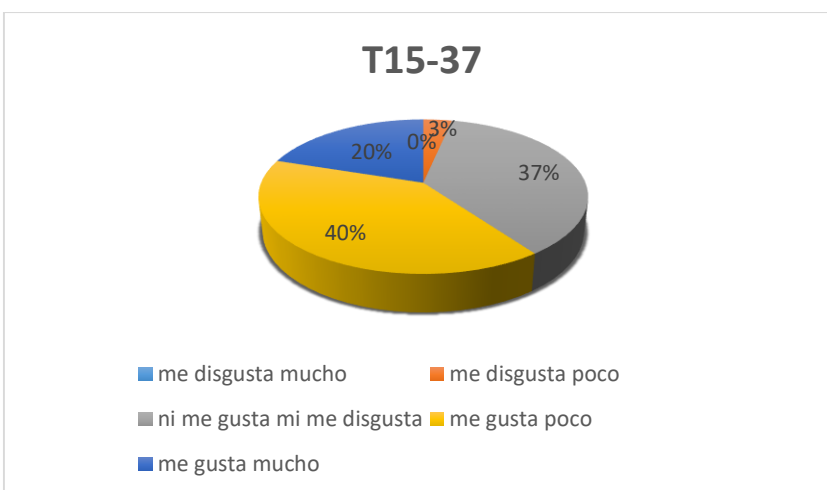


Figura. 3.8.3. Representación porcentual de la evaluación del perfil de color del licor T15-37.

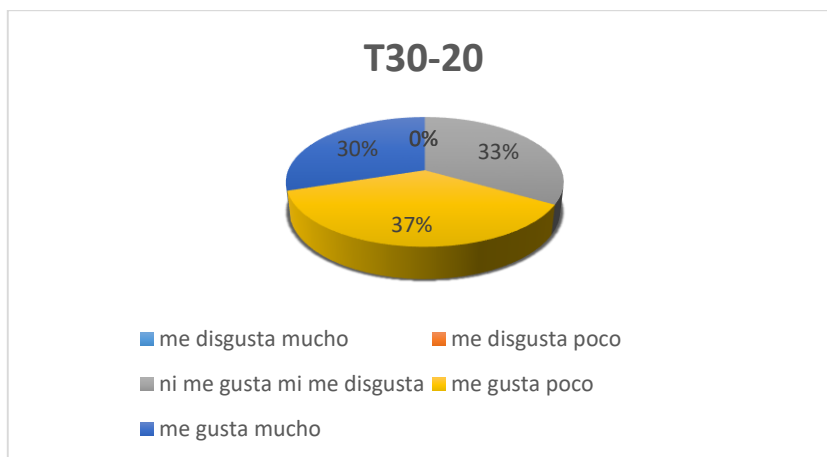


Figura. 3.8.4. Representación porcentual de la evaluación del perfil de color del licor T30-20.

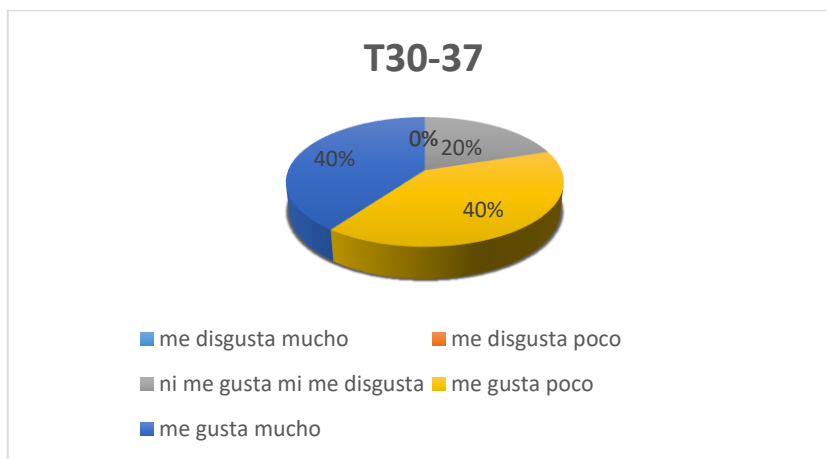


Figura. 3.8.5. Representación porcentual de la evaluación del perfil de color del licor T30-37.

En cuanto a los resultados obtenidos para el parámetro de olor, ninguno de los panelistas proporciono la menor calificación (me disgusta mucho), sin embargo en la figura 3.8.6 se puede apreciar que el licor T15-37 destaca por disgustar poco al jurado; 40% de los panelistas le proporcionaron esta evaluación (fig. 3.8.8). En cambio el licor T15-20 fue el que presentó la mejor evaluación en comparación con el resto de los licores (fig. 3.8.6), ya que el 23 % lo evaluó como “me gusta mucho”, pero este mismo licor reportó que el 40 % del jurado dijeron que les gusto poco (fig. 3.8.7). El licor que también recibió una evaluación

favorable fue el licor T30-20, pues el 43 % de los panelistas afirmaron que le “gusto poco” (3.8.9).

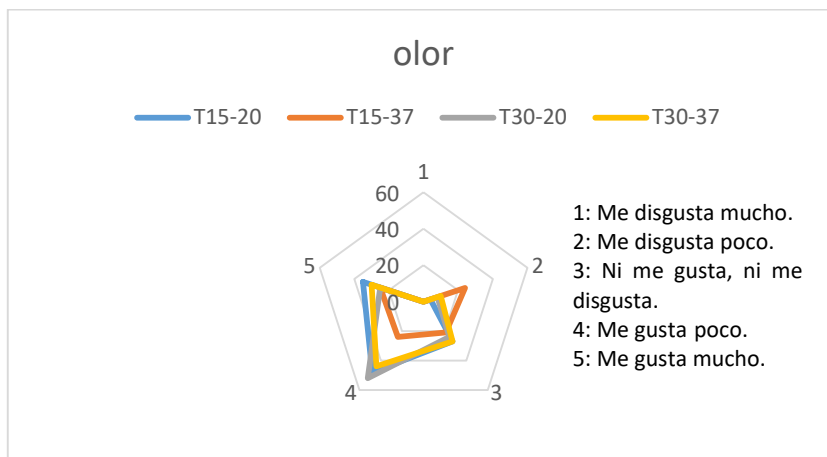


Figura. 3.8.6. Evaluación del perfil de olor de los licores de toronjil.

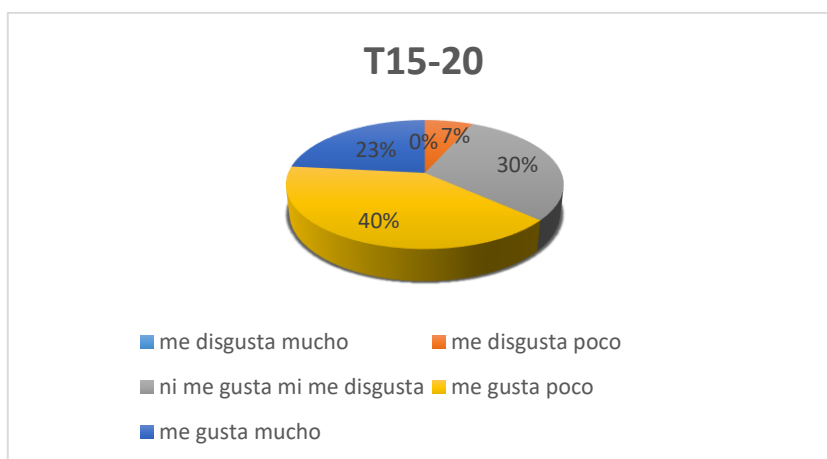


Figura. 3.8.7. Representación porcentual de la evaluación del perfil de olor del licor T15-20.

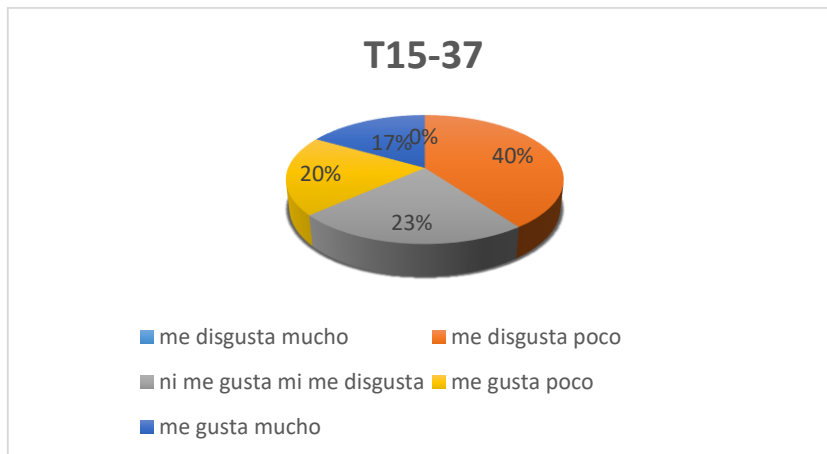


Figura. 3.8.8. Representación porcentual de la evaluación del perfil de olor del licor T15-37.

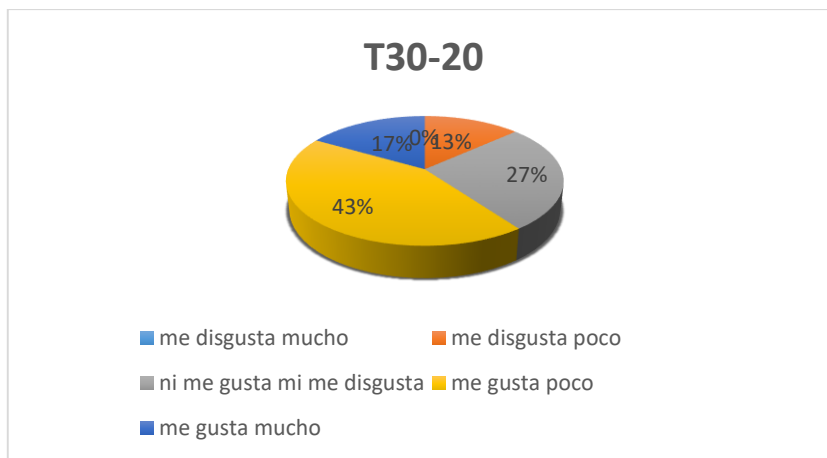


Figura. 3.8.9. Representación porcentual de la evaluación del perfil de olor del licor T30-20.

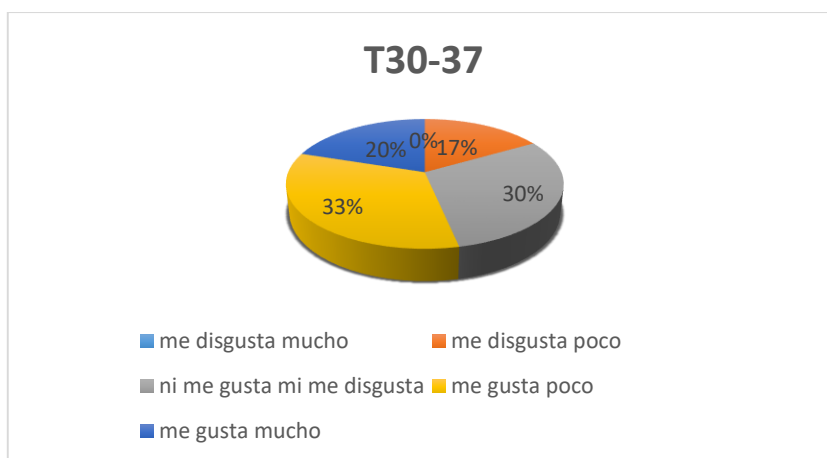


Figura. 3.8.10. Representación porcentual de la evaluación del perfil de olor del licor T30-37.

Los valores obtenidos de la evaluación de sabor de los distintos licores, mostró que el licor T15-37, presentó el mayor porcentaje (6 %) de personas que indicaron que les disgustó mucho (fig. 3.8.13). Además se pudo observar que el T30-37 fue el licor que presentó una mayor preferencia por los panelistas según su sabor (fig. 3.8.11), ya que el 50 % de las personas afirmó que les gustó mucho (fig. 3.8.15).

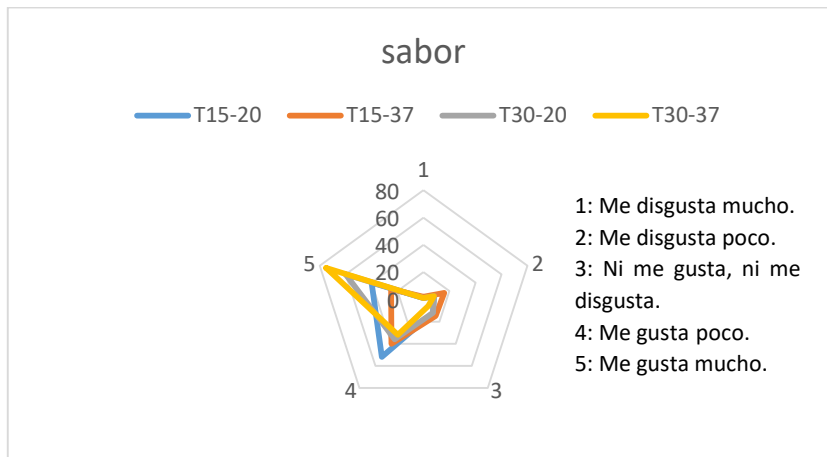


Figura. 3.8.11. Evaluación del perfil de sabor de los licores de toronjil.

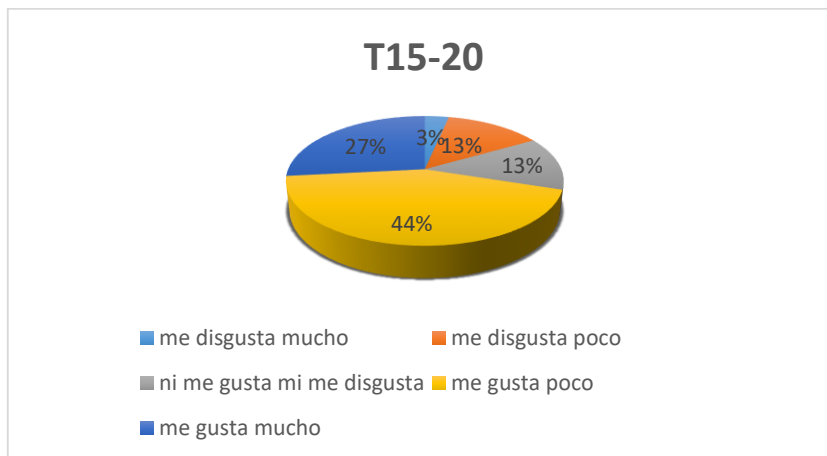


Figura. 3.8.12. Representación porcentual de la evaluación del perfil de sabor del licor T15-20.

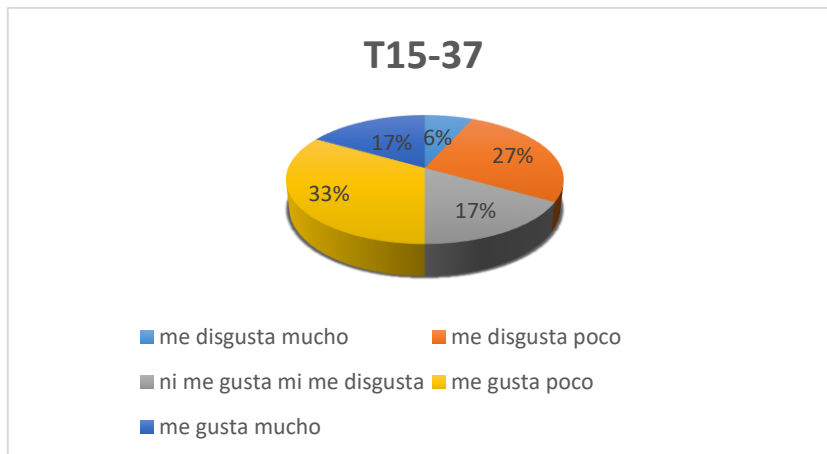


Figura. 3.8.13. Representación porcentual de la evaluación del perfil de sabor del licor T15-37.

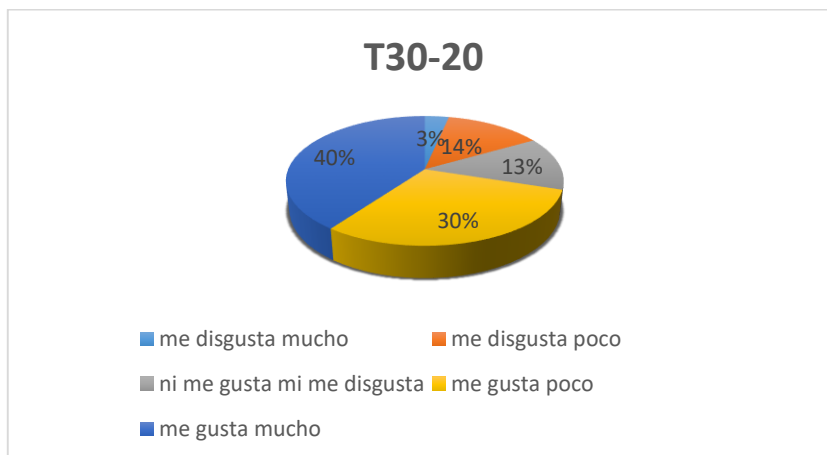


Figura. 3.8.14. Representación porcentual de la evaluación del perfil de sabor del licor T30-20.

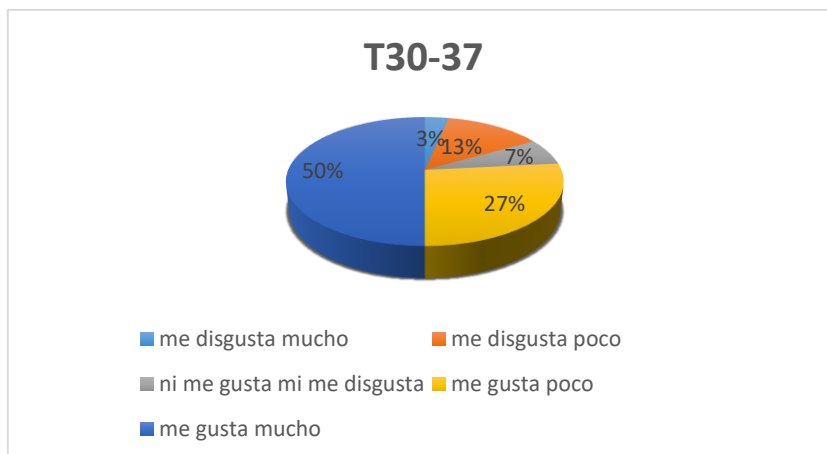


Figura. 3.8.15. Representación porcentual de la evaluación del perfil de sabor del licor T30-37.

Por último, los valores de la prueba de preferencia que se presentan en la tabla 3.8.1, se pudo observar que los panelistas no mostraron preferencia para ninguno de los licores evaluados, debido a que estos resultados no presentaron una diferencia significativa según lo reportado por Pedrero y Pangborn (1989), quien indica que para establecer una diferencia significativa en una prueba de preferencia para un panel de 30 jurados, el número mínimo de fallos debe ser de 21 (nivel de probabilidad de 0.05) (anexo 8).

Tabla 3.8.1. Resultados de la prueba sensorial de preferencia para los licores de toronjil.

Licor	Código de muestra	Preferencia
T30-20	419	12
T30-37	163	18

Conclusiones

Considerando los resultados obtenidos de los distintos análisis fisicoquímicos realizados en el presente trabajo experimental, se pudo concluir que el licor de toronjil (*Dracocephalum moldavica* L.) elaborado cumplió con los estándares de calidad descritos en las normas NOM-199-SCFI-2017, Norma de Cuba-725 y Norma Técnica de Licores Artesanales de Navarra. Por lo tanto, se considera importante la actualización de la Norma Mexicana que establezca las especificaciones para la producción de este tipo de bebidas alcohólicas en el país.

Por medio de la determinación de compuestos fenólicos y de la capacidad antioxidante se observó que la temperatura de secado del toronjil más adecuada para la elaboración del licor es a 37 °C, ya que los resultados del ensayo de Folin-Ciocalteu y ABTS mostraron una mayor presencia de estos compuestos y mayor capacidad antioxidante en licores elaborados con toronjil deshidratado a esta temperatura, además de que el tiempo requerido para secar el toronjil a esta temperatura es menor en comparación con el tiempo requerido por la temperatura a 20 °C. De igual manera los valores de contenido de fenoles totales y capacidad antioxidante por los métodos DPPH y ABTS coincidieron que el tiempo de maceración necesario para una mejor extracción de compuestos fenólicos y por lo tanto de una mayor capacidad antioxidante se observó al día 15, debido a que, tiempos de maceración prolongados favorece a la oxidación de compuestos antioxidantes.

Según los datos del contenido de fenoles totales y capacidad antioxidante; el licor T15-37 fue el que presentó una mejor capacidad antioxidante, sin embargo, los resultados de la evaluación sensorial mostraron que el color y sabor del licor T30-37 presentó un mayor nivel de agrado, mientras que el licor T15-20 fue el mejor evaluado en cuanto a su olor.

Sugerencias

- Actualizar la Norma Mexicana que establezca de manera particular las especificaciones que se deben cumplir para la producción de este tipo de bebidas, ya que es una práctica muy común en varias regiones del país.
- Analizar otras variables para una mejor extracción de compuestos fenólicos; como tamaño de partícula, tipo de solvente a utilizar, concentración del solvente, etc.
- Evaluar algún método de filtración que favorezcan la apariencia de los licores que presentan mayor capacidad antioxidante.
- Estudiar la estabilidad de los antioxidantes presentes en los licores durante su almacenamiento.

Bibliografía

Alamprese, C., Pompei, C. & Scaramuzzi, F. (2005). Characterization and antioxidant activity of nocino liqueur. *Food Chemistry*, 90(4), 495–502.

Ancerewicz J., Miglavaca E., Carrupt P., Testa B., Bree F., Zinin R., Tillement J., Labidelle P., Goyot S., Chauvet-Monges A., Crevent A. & Le Ridant A. (1998). Structure property relationship of trimetadizine derivatives and model compounds as potential antioxidants. *Free Radical Biology & Medicine*, 25, 113–120.

Andrich, G., Zinniai, A., Venturi, F. & Fiorentini, R. (2005). A tentative mathematical model to describe the evolution of the phenolic compounds during the maceration of Sangiovese and Merlot grapes. *Italian Journal of Food Science*, 17(1), 45-58.

AOAC International. Official Methods of Analysis of Association of Official Agricultural Chemists (AOAC) International. 16th edition. Virginia, USA: Helrich, K(Ed); 1998.

Aristizábal D. (2004). Secretos de los licores caseros.1ra. Edición. Buenos Aires, Argentina: Editorial Albatros.

Argyropoulos, D., & Müller, J. (2014). Kinetics of change in colour and rosmarinic acid equivalents during convective drying of lemon balm (*Melissa officinalis* L.). *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 1(1), 15-22.

Armenteros, M., Ventanas, S., Morcuende, D., Estévez, M., & Ventanas, J. (2012). Empleo de antioxidantes naturales en productos cárnicos. *Eurocarne*, 207, 63-73.

Armento, F. (2008). Desarrollo de un licor tipo limoncello a partir de lima persa (*Citrus latifolia* Tanaka). (Tesis de licenciatura) Escuela de Tecnología de Alimentos. Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica.

Arnous, A., Makris, D., & Kefalas, P. (2001). Effect of principal polyphenolic components in relation to antioxidant characteristics of aged red wines. *Journal of agricultural and food chemistry*, 49(12), 5736-5742.

Avitia, J. & Ramírez, J. (2016). “El consumidor de licores de Tenancingo: Análisis de la disminución de consumo”. 21° Encuentro Nacional sobre Desarrollo Regional en México. Asociación Mexicana para el Desarrollo Regional, Mérida, México.

Ball, D. (2006). Concentration scales for sugar solutions. *Journal of chemical education*, 83(10), 1489.

Barceló, J. (1990). Técnicas analíticas para vinos. 1ra. Edición. Barcelona, España: Editorial GAB.

- Barrera, V., Viesca, F., Quintero, B., Dublán, O., Sánchez, J., & Díaz, G. (2015).** Caracterización olfatométrica y sensorial de los compuestos responsables de aroma en el licor de manzana de Tenango del Valle. (Proyecto de investigación) Universidad Autónoma del Estado de México. Estado de México, México.
- Badui, S. (2006).** Química de los alimentos. 4ta Edición. D.F., México: Editorial Pearson Educación.
- Bazzano, L., Li, T., Joshipura, K. & Hu, F. (2008).** Intake of fruit, vegetables, and fruit juices and risk of diabetes in women. *Diabetes Care*, 31(7), 1311–1317.
- Brand-Williams W, Cuvelier M. & Berset C. (1995).** Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *Lebens. Wiss. u. Technol*, 28:25-30.
- Bravo, L. (1998).** Polyphenols: chemistry, dietary source, metabolism, and nutritional significance. *Nutritional Review*, 56(11), 317-333.
- Brennan, J., Butters, J. & Cowell, N. (1998).** Las operaciones en la ingeniería de los alimentos. 3ra. Edición. España: Editorial Acribia S.A.
- Bruni, R., Medici, A., Guerrini A., Scalia, S., Poli, F. Romagnoli, C., Muzzoli, M., Sacchetti, G., (2002).** Tocopherol, fatty acids and sterol distributions in wild Ecuadorian *Theobroma subincanum* (*Sterculiaceae*) seeds. *Food Chemistry*, 77(3), 337–341.
- Capecka, E., Mareczek, A., & Leja, M. (2005).** Antioxidant activity of fresh and dry herbs of some *Lamiaceae* species. *Food Chemistry*, 93(2), 223-226.
- Carnat, A., Carnat, A., Fraisse, D., & Lamaison, J. (1998).** The aromatic and polyphenolic composition of lemon balm (*Melissa officinalis* L. subsp. *officinalis*) tea. *Pharmaceutica Acta Helveticae*, 72(5), 301-305.
- Conde, C., Rueda, X., & Patiño, G. (2012).** Evaluación de la actividad antioxidante del aceite esencial foliar de *Calycolpus moritzianus* y *Minthostachys mollis* de Norte de Santander. *Bistua: Revista de la Facultad de Ciencias Básicas*, 10(1), 12-23.
- Coronado, M., Vega y León, S., Gutiérrez, R., Vázquez, M., & Radilla, C. (2015).** Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana. *Revista chilena de nutrición*, 42(2), 206-212.
- Coto, C. (2014).** Desarrollo de dos licores a partir de la mezcla de frutas mediante el método de maceración. (Tesis de licenciatura). Facultad de ciencias agroalimentarias. Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica.
- Creus, E. (2004).** Compuestos fenólicos. *Offarm*, 23(6).
- Criqui, M. H. (1996).** Alcohol and coronary heart disease: consistent relationship and public health implications. *Clinica Chimica Acta*, 246(1-2), 51-57.

- Crupi, M., Costa, R., Dugo, P., Dugo, G. & Mondello. (2007).** A comprehensive study on the chemical composition and aromatic characteristics of lemon liquor. *Food Chemistry*, 105(2):771-783.
- Dastmalchi, K., Dorman, H., Koşar, M., & Hiltunen, R. (2007).** Chemical composition and in vitro antioxidant evaluation of a water-soluble Moldavian balm (*Dracocephalum moldavica* L.) extract. *LWT-Food Science and Technology*, 40(2), 239-248.
- Delgado, C., (1987).** El libro de los aguardientes y licores. Madrid, España: Editorial Alianza.
- Delmoro, J., Muñoz, D., Nadal, V., Clementz, A., & Pranzetti, V. (2010).** El color en los alimentos: determinación de color en mieles. *Invenio: Revista de investigación académica*, (25), 145-152.
- Douglas, D. (2000).** L'exploit del limoncello. *Linea Diretta*, 5, 9-12.
- Echavarria, A., Regnault, H., Lisbeth, N., Matute, L., Jaramillo, C., De Astudillo, L., & Egea, T., Signorini, M., Bruschi, P., Rivera, D., Obón, C., Alcaraz, F., & Palazón, J. (2015).** Spirits and liqueurs in European traditional medicine: Their history and ethnobotany in Tuscany and Bologna (Italy). *Journal of Ethnopharmacology*, 175, 241-255.
- Elejalde, J. (2001).** Estrés oxidativo, enfermedades y tratamientos antioxidantes. *Anales de Medicina Interna*, 18(6), 50-59.
- Espitia, J. (2011).** Efecto de la temperatura de añejamiento sobre el perfil de aromas y la capacidad antioxidante del vino tinto ruby cabernet. (Tesis de maestría). Universidad autónoma metropolitana. D.F., México.
- Fecka, I. & Turek, S. (2007).** Determination of water-soluble polyphenolic compounds in commercial herbal teas from *Lamiaceae*: peppermint, Melissa, and Sage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 10908-10917.
- Fellows, P. (1994).** Tecnología del procesado de los alimentos. Teoría y Práctica. España: Editorial Acribia S.A.
- Fernández, R., Gallo, F., Cedeño, Á., Galeas, M., Quinteros, H., Ferrín, L., & Morante, P. (2012).** Efecto del tipo y tiempo de fermentación en la calidad física y química del cacao (*Theobroma cacao* L.) tipo nacional. *Revista Ciencia y Tecnología*, 5(1), 7-12.
- Floegel, A., Kim, D., Chung, S., Koo, S. & Chun, O. (2011).** Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. *Journal of Food composition and Analysis*, 24, 1043-1048.
- Fraternal, D., Giamperi, L., Bucchini, A., & Ricci, D. (2009).** Antioxidant activity of *Prunus spinosa* L. fruit juice. *Italy Journal Food Sciences*, 21, 337-346.

- Fretes, F., & Mendoza, C. (2010).** Plantas medicinales y aromáticas: una alternativa de producción comercial. Paraguay: Agencia del Gobierno de los Estados Unidos para el Desarrollo Internacional (USAID).
- García, E., Fernández, I., & Fuentes, A. (2015).** Determinación de polifenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu. Universitat Politècnica de València. (Artículo docente).Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica y del Medio Natural.
- García, H. (1991).** Cocina prehispánica mexicana: la comida de los antiguos mexicanos. D.F., México: Editorial Panorama.
- García, R., Gonzalez, C., Agudo, A., & Riboli, E. (1999).** Intake of specific carotenoids and flavonoids and the risk of gastric cancer in Spain. *Cancer Causes & Control*, 10(1), 71-75.
- Geankoplis, C. (1995).** Procesos de transporte y operaciones unitarias. 2da. Edición. D.F., México: Editorial continental.
- Geankoplis, C. (2006).** Procesos de transporte y principios de separación. 4ta. Edición, D.F., México: Editorial patria.
- George, H. (2002).** Elaboración artesanal de licores. España: Editorial Acribia S.A.
- Guija E., Inocente, M., Ponce, J., & Zarzosa, N. (2015).** Evaluación de la técnica 2, 2-Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH) para determinar capacidad antioxidante. *Horizonte Médico*, 15(1), 57-60.
- Harborne, J. & Simmons, N. (1964).** Biochemistry of Phenolic Compounds. Londres, Reino Unido: Editorial Academic Press.
- Hernández, A. (2010).** Tratado de nutrición: Composición Y Calidad Nutritiva De Los Alimentos (Vol. 2). D.F., México: Editorial Médica Panamericana.
- Holm, Y., Galambosi, B. & Hiltunen, R., (1988).** Variation of the main terpenes in dragonhrad (*Dracocephalum Moldavia* L.) during growth. *Flavour and Fragrance Journal* 3,113-115.
- Hossain, M., Barry-Ryan, C., Martin-Diana, A., & Brunton, N. (2010).** Effect of drying method on the antioxidant capacity of six Lamiaceae herbs. *Food Chemistry*, 123(1), 85-91.
- Huang, D., Ou, B. & Prior R. (2005).** The chemistry behind capacity assays. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 53:1841-1856.
- Ibarz, A., & Barbosa-Canovas, G. (2005).** Operaciones unitarias en la Ingeniería de Alimentos. Madrid, España: Editorial Mundi-Prensa.
- Ide, G., Rizzon, L. & Daudi, C. (1993).** Influência do maceração do vino Isabel e Merlot. *Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 27(2):88-95.

Imark, C., Kneubühl, M., & Bodmer, S. (2000). Occurrence and activity of natural antioxidants in herbal spirits. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 1(4), 239-243.

Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz, Instituto Nacional de Salud Pública, Comisión Nacional Contra las Adicciones, Secretaria de Salud. Encuesta Nacional de Consumo de Drogas, Alcohol y Tabaco 2016-2017: Reporte de alcohol. Recuperado de: <https://www.gob.mx/salud%7Cconadic/acciones-y-programas/encuesta-nacional-de-consumo-de-drogas-alcohol-y-tabaco-encodat-2016-2017-136758> (Fecha de consulta: 10/ 12/18).

Jiménez, M., (2016). Producción de extractos de *Draccocephalu moldavica* L. y *Agastache mexicana* ssp. mexicana y evaluación de la actividad antidepresiva. (Tesis de maestría). Unidad profesional interdisciplinaria de biotecnología. Instituto Politécnico Nacional. México.

Joseph, J., Shukitt-Hale, B., Denisova, N., Bielinski, D., Martin, A., McEwen, J., & Bickford, P. (1999). Reversals of age-related declines in neuronal signal transduction, cognitive, and motor behavioral deficits with blueberry, spinach, or strawberry dietary supplementation. *Journal of Neuroscience*, 19(18), 8114-8121.

Kakasy, A., Füzfai, Z., Kursinszki, L., Molnár-Perl, I., & Lemberkovics, É. (2006). Analysis of non-volatile constituents in *Dracocephalum* species by HPLC and GC-MS. *Chromatographia*, 63(13), S17-S22.

Kannel, W., & Ellison, R. (1996). Alcohol and coronary heart disease: the evidence for a protective effect. *Clinica Chimica Acta*, 246(1-2), 59-76.

Kucharska, A., Sokół-Łętowska, A., Hudko, J., & Nawirska, A. (2007). Influence of the preparation procedure on the antioxidant activity and colour of liqueurs from Cornelian cherry (*Cornus mas* L.). *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 57(4B), 343-347.

La Cerca, A., (2004). Licores de América. Buenos Aires, Argentina: Editorial Albatros.

Leyva, D. (2009). Determinación de antocianinas, fenoles totales y actividad antioxidante en licores y fruto de mora. (Tesis de licenciatura) Universidad Tecnológica de la Mixteca. Huajuapán de León, Oaxaca, México.

Lin, L., Chen, Y., Lee, Y., Rolis, C., Chen, F. & Yang, D. (2012). Antioxidant, anti-proliferative and cyclooxygenase-2 inhibitory activities of ethanolic extracts from lemon balm (*Melissa officinalis* L.) leaves. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie*, 49, 1-7.

- Liu, S., Manson, J., Lee, I., Cole, S., Hennekens, C., Willet, W., & Buring, J. (2000).** Fruit and vegetable intake and risk of cardiovascular disease: the Women's Health Study. *American Journal of Clinical Nutrition*, 72(4), 922–928.
- Locatelli, M., Carlucci, G., Genovesse, S. & Epifano, F. (2012).** Analytical methods and phytochemistry of the typical Italian liquor Limoncello: A Review. *Phytochemicals—A Global Perspective of their Role in Nutrition and Health. Rjeka, InTech*, 93-106
- Londoño, J. (2012).** Antioxidantes: importancia biológica y métodos para medir su actividad. *In Desarrollo y Transversalidad serie Lasallista Investigación y Ciencia*. Corporación Universitaria Lasallista.
- Maestro, R. & Borja, R. (1994).** Actividad antioxidante de esteroides y ácidos orgánicos naturales. *Grasas y aceites*, 44(3), 208-212.
- Majkić, T., Torović, L., Lesjak, M., Četojević-Simin, D., & Beara, I. (2019).** Activity profiling of Serbian and some other European Merlot wines in inflammation and oxidation processes. *Food research international*, 121, 151-160.
- Mamadaliyeva, N., Herrmann, F., El-Readi, M., Tahrani, A., Hamoud, R., Egamberdieva, D., & Wink, M. (2011).** Flavonoids in *Scutellaria immaculata* and *S. ramosissima* (Lamiaceae) and their biological activity. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 63(10), 1346-1357.
- Marete, E., Jacquier, J., & O'Riordan, D. (2009).** Effects of extraction temperature on the phenolic and parthenolide contents, and colour of aqueous feverfew (*Tanacetum parthenium*) extracts. *Food chemistry*, 117(2), 226-231.
- Mathias-Rettig, K., & Ah-Hen, K. (2014).** El color en los alimentos un criterio de calidad medible. *Agro sur*, 42(2), 57-66.
- Martínez I., Periago, M. & Ros, G. (2000).** Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. 50(1):1-19.
- Martínez, M., Estrada, R., Martínez, A., López, C. & Heinze, G. (2012).** Neuropharmacological study of *Dracocephalum moldavica* L. (Lamiaceae) in mice: Sedative effect and chemical analysis of an aqueous extract. *Journal of Ethnopharmacology*, 141(3), 908-917.
- Matissek, R., Schnepel, F. & Steiner, G. (1992).** Análisis de los alimentos: fundamentos, métodos, aplicaciones. 2da Edición. Zaragoza, España: Editorial Acribia, S.A.
- Martysiak-Zurowska, D. & Wenta, W. (2012).** A comparison of abts and dpph methods for assessing the total antioxidant capacity of human milk. *Acta Scientiarum Polonorum Technology Alimentary*, 11 (1), 83-89

- Mendoza, Z., & Borges, P. (2015).** Análisis colorimétrico del extracto acuoso de hojas de teca1. *Revista Árvore*, 39(5), 953-961.
- Menković, N., Zivkovic, J., Savikin, K., Godevac, D., & Zdunic, G. (2013).** Phenolic composition and free radical scavenging activity of wine produced from the Serbian autochthonous grape variety Prokupac-A model approach. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 79(1), 11-24.
- MetAs & Metrólogos Asociados (2010).** La guía MetAs: medición de turbidez en la calidad del agua. Recuperado de: www.metas.com.mx/guiametas/La-Guia-MetAs-10-01-Turbidez.pdf (Fecha de consulta: 22/11/19)
- Miller, N., Diplock, A., Rice-Evans, C, Davies, M., Gopinathan, V. & Milner, A. (1993).** A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clinical Science*, 84:407-12.
- Miranda, J., Tula, J. (2014).** Optimización de la tecnología para la formulación de macerado de aguaymanto (*Physalis peruviana*). (Tesis de licenciatura). Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa. Arequipa, Perú.
- Montaño Mata, N., & Méndez Natera, J. (2009).** Effect of growth regulators on the epicarp, mesocarp and total soluble solids of muskmelon (*Cucumis melo* L.) fruit cv. Edisto 47. *Revista Científica Universidad de Oriente Agrícola*, 9(2), 295-303.
- Moreno, D. (2003).** Guía de procesos para la elaboración de néctares, mermeladas, uvas pasas y vinos. (No. 115) .Convenio Andrés Bello, Ciencia y Tecnología.
- Moreno, M., Gutiérrez, G., Graterol, A. & Belén, D. (2002).** Evaluación de un licor dulce acondicionado con cascara de mandarina. *Revista científica FCV-LUZ*, 12(4):271-277.
- Muñoz, A., Fernández, A., Ramos, F., & Alvarado-Ortiz, C. (2007).** Evaluación de la actividad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos en vinos producidos en Perú. *Revista de la sociedad química del Perú*, 73(1), 30-40.
- Muñoz, E., Rivas, K., Loarca, M. Mendoza, S., Reynoso, C. & Ramos M. (2012).** Comparación del contenido fenólico, capacidad antioxidante y actividad antiinflamatoria de infusiones herbales comerciales. *Revista Mexicana de Ciencias agrícolas*, 3(3), 481-495.
- Mrvic, J., Posavec, S., Kazazic, S., Stanzer, D., Pesa, A., & Stehlik-Tomas, V. (2012).** Spirit drinks: a source of dietary polyphenols. *Croatian journal of food science and technology*, 4(2), 102-111.
- Nacz, M. & Shahidi, F. (2004).** Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A*, 1054, 95–111.

Naviglio, D., Pizzolongo, F., Mazza, A., Montuoni, P., & Triassi, M. (2005). Individuazione di carica microbica responsabile della torbidità del limoncello: Studio chimico-fisico dell'estratto alcolico del flavedo e dell'olio essenziale di limone. *Industrie delle Bevande*, (199), 424-430.

Norma cubana NC-725:2009. "Licores. Especificaciones". Oficina Nacional de Normalización.

Norma Mexicana NMX-FF-015-1982. "Productos alimenticios no industrializados, para uso humano. Fruta fresca. Determinación de sólidos solubles totales". Dirección General de Normas. Sociedad Mexicana de Normalización y Certificación.

Norma Mexicana NMX-V-026-1986. "Bebidas alcohólicas destiladas. Determinación de acidez volátil". Dirección General de Normas. Sociedad Mexicana de Normalización y Certificación.

Norma Oficial Mexicana NOM-116-SSA1-1994. "Determinación de humedad en alimentos por tratamiento térmico. Mediante método por arena o gasa". Diario Oficial de la Federación México.

Norma Oficial Mexicana NOM-199-SCFI-2017. "Bebidas alcohólicas-Denominación, especificaciones fisicoquímicas, información comercial y métodos de prueba". ". Diario Oficial de la Federación México.

Norma Técnica de Navarra "Norma técnica artesana de los licores de hierbas y frutas". Departamento de desarrollo rural, medio ambiente y administración local.

Nour, V., Trandafir, I., & Cosmulescu, S. (2015). Central Composite Design Applied to Optimize the Hydroalcoholic Extraction of Bilberry (*Vaccinium Myrtillus* L.) fruits. *Journal of Food Biochemistry*, 39(2), 179-188.

Olivares, L. Betanzos, G. & Sumaya, M. (2010). Importancia de los antioxidantes dietarios en la disminución del estrés oxidativo. *Investigación y Ciencia: Universidad Autónoma de Aguascalientes*, 18(50), 10-15.

Palacios, A., Suárez, C., & Heras J. (2006). Manejo de la acidez del vino base cava desde el punto de vista organoléptico. *ACE: Revista de enología*, (66),3.

Paqui, N. (2019). Elaboración de licores artesanales a base de flores: rosas, begonias, malvas olorosas y violetas. (Tesis de licenciatura). Universidad Técnica Particular de Loja. Loja, Ecuador.

Peñarrieta, J., Tejeda, L., Mollinedo, P., Vila, J. & Bravo, J. (2014). Compuestos fenólicos y su presencia en alimentos. *Revista Boliviana de Química*, 31(2), 68-81.

- Pedrero, D. & Pangborn, R. (1989).** Evaluación sensorial de los alimentos: Métodos analíticos. 1ra. Edición. D.F., México: Editorial Alhambra.
- Peréz, A. (2011).** Implementación de la técnica de ultrafiltración en la elaboración de licor de Menbrillo. (Tesis de licenciatura) Universidad Michoacána de San Nicolás de Hidalgo. Michoacán, México.
- Pokorny, J., Yanishlieva, N., & Gordon, M. (2001).** Antioxidantes de los alimentos. Zaragoza, España: Editorial Acribia. SA.
- Popova, O., Nikitina, A., & Markova, O. (2008).** Studies of iridoids from *Dracocephalum moldavica* cultivated in the Stavropol region. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 42(6), 351-353.
- Porrás, A. & López, A. (2009).** Importancia de los grupos fenólicos en los alimentos. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*. 3(1):121-134.
- Prior, R., & Cao, G. (2000).** Antioxidant phytochemicals in fruits and vegetables: diet and health implications. *HortScience*, 35(4), 588-592.
- Prior, R., Wu, X., Schaich K. (2005).** Standardized methods for determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(10), 4290-4302.
- Puras, P., Rosales, A., Ortega, A., Añíguez, M., & Orive, R. (1995).** Estudio de color de los vinos tintos de la DOC Rioja. *Zubía*, (7), 167-186.
- Queiroz, C., Mendes, M., Fialho, E. & Valente-Mesquita, V. (2008).** Polyphenol oxidase: characteristics and mechanisms of browning control. *Food Reviews International*, 24, 361-375.
- Rahman, M. (2007).** Handbook of food preservation. New York, Estados Unidos: Editorial CRC press.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. & Rice, C. (1999).** Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26: 1231-1237.
- Rebolo, S. (2007).** Estudio de la composición polifenólica de vinos tintos gallegos con DO: Ribeiro, Valdeorras y Ribeira Sacra. (Tesis de doctorado) España: Universidad Santiago de Compostela. Galicia, España.
- Reyes, A., Pino, J., & Moreira, V. (2011).** Aspectos generales sobre la elaboración del licor de limón. *ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar*, 45(1), 13-19.
- Ricco, A., Agudelo, I., & Wagner, M. (2015).** Métodos empleados en el análisis de los polifenoles en un laboratorio de baja complejidad. *Lilloa*, 52(2), 161-174.

- Rice-Evans, C., Miller, N. & Paganga, G. (1997).** Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in Plant Science*, 2(4), 152-159.
- Rite, X. (2002).** Guía para entender la comunicación del color. (https://www.mcolorcontrol.com/archivos/L10-001_Understand_Color_es.pdf) (Fecha de consulta: 13 /09/19)
- Roginsky, V. & Lissi, E. (2005).** Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. *Food Chemistry*, 92(2), 235-254.
- Rødtjer, A., Skibsted, L., & Andersen, M. (2010).** The role of phenolic compounds during formation of turbidity in an aromatic bitter. *Food chemistry*, 123(4), 1035-1039.
- Santos, C., Botelho, G., Caldeira, I., Torres, A., & Ferreira, F. (2014).** Antioxidant activity assessment in fruit liquors and spirits: methods comparison. *Ciência e Técnica Vitivinícola*, 29(1), 28-34.
- Saragoza, A., Ambrosi, A. & Zárate S. (2012).** Mexico Today: An Encyclopedia of Life in the Republic (Vol. 1). California, Estados Unidos: Editorial ABC-CLIO.
- Sekar, S., & Mariappan, S. (2008).** Traditionally fermented biomedicines, arishtas and asavas from Ayurveda. *Indian Journal of Traditional Knowledge*, 7(4), 548-556.
- Senica, M. & Milkulic-Petkovsek, M. (2019).** Changes in beneficial bioactive compounds in eight traditional herbal liqueurs during a one-month maceration process. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 100(1), 345-353.
- Shahidi, F. & Naczek, M. (1995).** Food phenolics sources, chemistry, effects, applications. *Tochnomic Publishing Company EE.UU.* 106 p.
- Shahidi, F., Shi, J., & Ho, C. (2010).** Functional foods of the east. New York, EUA: Editorial CRC Press.
- Singleton, V., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. (1999).** Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin–Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299, 152–178.
- Singleton, V. & Rossi, J. (1965).** Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture* 16: 144-158.
- Spigno, G., Tramelli, L. y De Faveri, D. (2007).** Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. *Journal Food Engineering*. 81(1), 200-208.
- Stampar, F., Solar, A., Hudina, M., Veberic, R., & Colaric, M. (2006).** Traditional walnut liqueur-cocktail phenolics. *Food Chemistry*, 95(4), 627-631.

- Sultan, A., Aisa, H., & Eshbakova, K. (2008).** Flavonoids from *Dracocephalum moldavica*. *Chemistry of Natural Compounds*, 44(3), 366-367.
- Thériault, M., Caillet, S., Kermasha, S., & Lacroix, M. (2006).** Antioxidant, antiradical and antimutagenic activities of phenolic compounds present in maple products. *Food Chemistry*, 98(3), 490-501.
- Thompson, D., & Moldéus, P. (1988).** Cytotoxicity of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene in isolated rat hepatocytes. *Biochemical Pharmacology*, 37(11), 2201-2207.
- Togores, J. (2011).** Tratado de enología. 2da. Edición. Madrid, España: Ediciones Mundi-prensa.
- Vacca, V., Piga, A., Del Caro, A., Fenu, P., & Agabbio, M. (2003).** Changes in phenolic compounds, colour and antioxidant activity in industrial red myrtle liqueurs during storage. *Food/Nahrung*, 47(6), 442-447.
- Vermerris, W., & Nicholson, R. (2008).** Phenolic compound biochemistry. Estados Unidos: Editorial Springer Science & Business Media.
- Vicente, C., De Abreu, F., Goulart, M., & De Vasconcelos, J. (2011).** Phenolic constituents, furfuraldehyde and antioxidant capacity of sugar cane spirit aged in woods casks. *American Journal of Food Technology*, 6(8), 631-646.
- WHO (World Health Organization) (2003).** http://www.who.int/hpr/NPH/fruit_and_vegetables/fruit_and_vegetable_report.pdf (fecha de consulta: 12/08/18).
- Weremczuk, I., Grzegorzcyk, I., Frydrych, B., Królicka, A., & Wysokińska, H. (2013).** Hairy roots of *Dracocephalum moldavica*: rosmarinic acid content and antioxidant potential. *Acta Physiologiae Plantarum*, 35(7), 2095-2103.
- Zarena, A., & Sankar, K. (2009).** A study of antioxidant properties from *Garcinia mangostana* L. pericarp extract. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 8(1), 23-34.
- Zorrilla, A. (2002).** El envejecimiento y el estrés oxidativo. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 21(3), 178-185.
- Zurdo, D., & Gutiérrez, Á. (2004).** El libro de los licores de España. Barcelona, España: Editorial Robinbook.

Anexos

Anexo 1. Hoja de evaluación para prueba de nivel de agrado.

Frente a usted tiene 4 muestras codificadas, pruébelas de izquierda a derecha y coloque una X en el nivel de agrado que usted considere en cuanto a olor (O), color (C), y sabor (s) de cada una de las muestras.

	482			027			921			685		
	O	C	S	O	C	S	O	C	S	O	C	S
Me gusta mucho.												
Me gusta poco.												
Ni me gusta ni me disgusta.												
Me disgusta poco.												
Me disgusta mucho.												

Anexo 2. Hoja de evolución para la prueba de preferencia.

Nombre: _____ Sexo _____ Edad:

Frente a usted tiene 2 muestras de licor, pruébelas y encierre en un círculo el código de la muestra de su preferencia.

419

163

Comentarios: _____

Anexo 3. Certificado de la identificación taxonómica de (*Dracocephalum moldavica* L.).



MES. Madai Gizeh Sánchez Arzubide
Docente – Investigador
FIQ – BUAP
PRESENTE

Por este medio reciba un cordial saludo y así mismo aprovecho la presente para entregarle la identificación de la planta solicitada, que hizo el curador M.Phill Allen J. Coombes, siendo la siguiente:

Nombre Científico	Familia
<i>Dracocephalum moldavica</i> L.	LAMIACEAE

Sin más por el momento me despido de usted.

ATENTAMENTE

PENSAR BIEN PARA VIVIR MEJOR
Puebla, Pue. a 09 de Enero 2019

Dra. Maricela Rodríguez Acosta
Directora del Herbario y Jardín Botánico BUAP

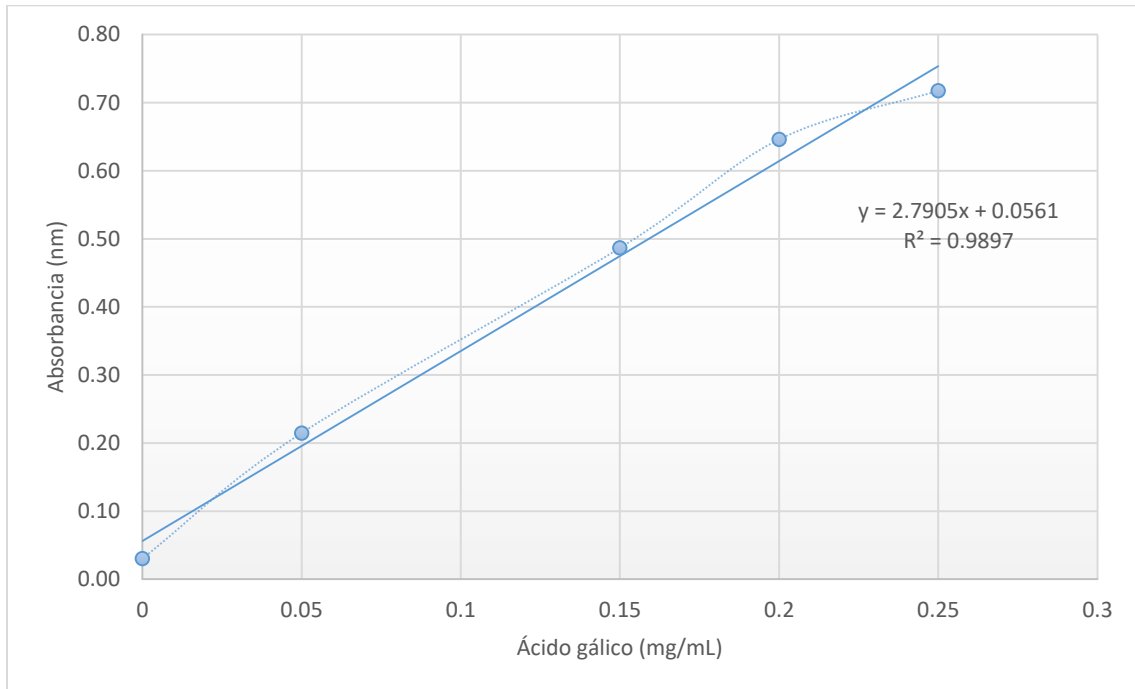
c.c.p. Archivo



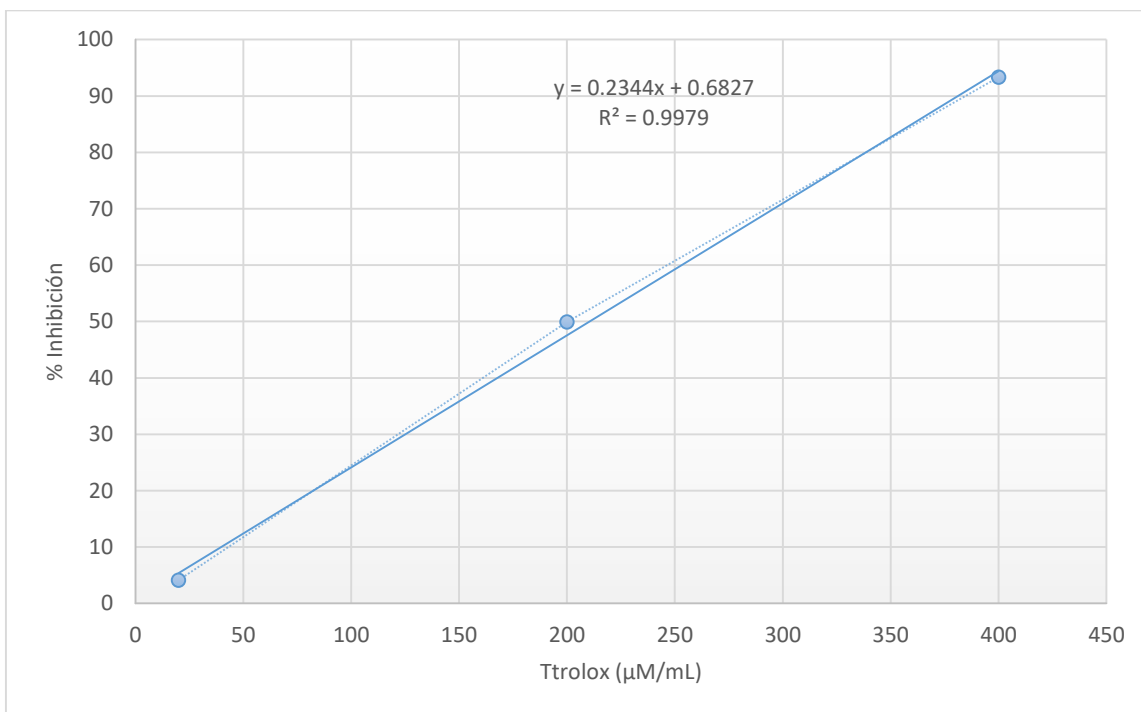
Jardín Botánico
Universitario

Prolongación 24 Sur y Av. San Claudio,
Edif. HJB1, Ciudad Universitaria,
Col. San Manuel, Puebla, Pue. C.P. 72570
01 (222) 229 55 00 Ext. 7030 y 7031

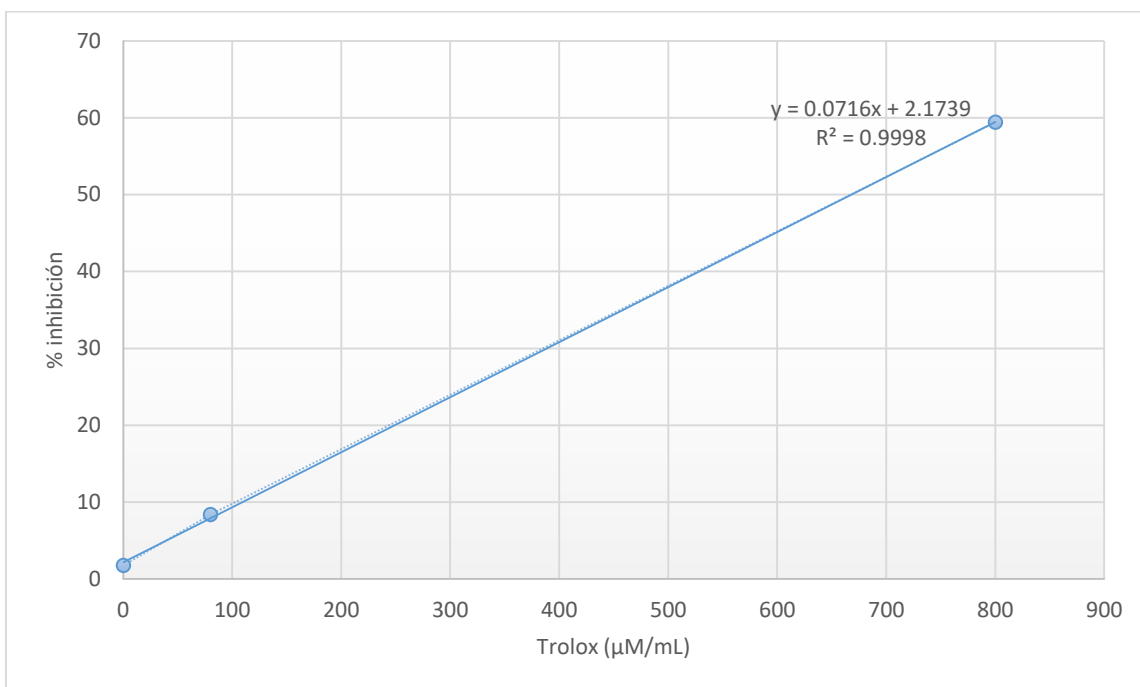
Anexo 4. Curva de calibración de ácido gálico para la determinación de compuestos fenólicos totales por el método de Folin-Ciocalteu.



Anexo 5. Curva de calibración de Trolox para la determinación de la concentración media inhibitoria (CI₅₀) por el método DPPH.



Anexo 6. Curva de calibración de Trolox para la determinación de la concentración media inhibitoria (CI₅₀) por el método ABTS.



Anexo 7. Correlación entre propiedades fisicoquímicas en licor de toronjil (*Dracocephalum moldavica* L.).

	Acidez Volátil (g ácido acético/L)	Turbidez (NTU)	Sacarosa (g/L)	° Brix	% Alcohol	L*	C*	h°
Acidez Volátil (g ácido acético/L)	1	0.78578 ^{NS}	-0.2967 ^{NS}	0.86084*	0.87939*	-0.18168 ^{NS}	0.70215 ^{NS}	-0.79636 ^{NS}
Turbidez (NTU)		1	-0.09153 ^{NS}	0.50352 ^{NS}	0.54376 ^{NS}	-0.54307 ^{NS}	0.2942 ^{NS}	-0.50818 ^{NS}
Sacarosa (g/L)			1	-0.107 ^{NS}	-0.13611 ^{NS}	0.39831 ^{NS}	- 0.23856 ^{NS}	-0.13351 ^{NS}
° Brix				1	0.99741***	-0.0382 ^{NS}	0.94204*	-0.89179*
% Alcohol					1	-0.09015 ^{NS}	0.93843*	-0.89749*
L*						1	- 0.11633 ^{NS}	-0.1341 ^{NS}
C*							1	-0.76047 ^{NS}
h°								1

Anexo 8. Correlacion entre contenido de fenoles totales y actividad antioxidante en licor de toronjil (*Dracocephalum moldavica* L.).

	DPPH (% I)	DPPH (μ M TEAC/L)	ABTS (% I)	DPPH (CI ₅₀)	ABTS (CI ₅₀)	ABTS (μ M TEAC/L)	Fenoles Totales (mg/mL)
DPPH (% I)	1	0.31593 ^{NS}	0.76136 ^{NS}	-0.2747 ^{NS}	0.15768 ^{NS}	-0.0315 ^{NS}	0.81322*
DPPH (μ M TEAC/L)		1	0.92814 ^{NS}	-0.89803 ^{NS}	-0.86417 ^{NS}	0.93024 ^{NS}	0.94134 ^{NS}
ABTS (% I)			1	-0.76546 ^{NS}	-0.91906 ^{NS}	0.99947**	0.99615***
DPPH (CI ₅₀)				1	0.87586 ^{NS}	-0.78124 ^{NS}	-0.78519 ^{NS}
ABTS (CI ₅₀)					1	-0.93124 ^{NS}	-0.92103 ^{NS}
ABTS (μ M TEAC/L)						1	0.99915**
Fenoles Totales (mg/mL)							1

Anexo 9. Tablas para determinar los niveles de significancia de la prueba de preferencia.

Número mínimo de juicios correctos para establecer significancia a varios niveles de probabilidad para pruebas de preferencia por pares (dos colas, $\rho=1/2$)*.

Numero de ensayos (n)	Niveles de probabilidad						
	0.5	0.04	0.03	0.02	0.01	0.005	0.001
7	7	7	7	7			
8	8	8	8	8	8		
9	8	8	9	9	9	9	
10	9	9	9	10	10	10	
11	10	10	10	10	11	11	11
12	10	10	11	11	11	12	12
13	11	11	11	12	12	12	13
14	12	12	12	12	13	13	14
15	12	12	13	13	13	14	14
16	13	13	13	14	14	14	15
17	13	14	14	14	15	15	16
18	14	14	15	15	15	16	17
19	15	15	15	15	16	16	17
20	15	16	16	16	17	17	18
21	16	16	16	17	17	18	19
22	17	17	17	17	18	18	19
23	17	17	18	18	19	19	20
24	18	18	18	19	19	20	21
25	18	19	19	19	20	20	21
26	19	19	19	20	20	21	22
27	20	20	20	20	21	22	23
28	20	20	21	21	22	22	23
29	21	21	21	22	22	23	24
30	21	22	22	22	23	24	25
31	22	22	22	23	24	24	25
32	23	23	23	23	24	25	26
33	23	23	24	24	25	25	27
34	24	24	24	25	25	26	27
35	24	25	25	25	26	27	28
36	25	25	25	26	27	27	29
37	25	26	26	26	27	28	29
38	26	26	27	27	28	29	30
39	27	27	27	28	28	29	31
40	27	27	28	28	29	30	31
41	28	28	28	29	30	30	32
42	28	29	29	29	30	31	32
43	29	29	30	30	31	32	33
44	29	30	30	30	31	32	34

45	30	30	31	31	32	33	34
46	31	31	31	32	33	33	35
47	31	31	32	32	33	34	36
48	32	32	32	33	34	35	36
49	32	33	33	34	34	35	37
50	33	33	34	34	35	36	37
60	39	39	39	40	41	42	44
70	44	45	45	46	47	48	50
80	50	50	51	51	52	53	56
90	55	56	56	57	58	59	61
100	61	61	62	63	64	65	67
