

**UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ DE ELCHE**  
**ESCUELA POLITÉCNICA SUPERIOR DE ORIHUELA**  
**GRADO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS**



**IDENTIFICACIÓN DE COMPUESTOS VOLÁTILES  
CARACTERÍSTICOS DEL HERBERO DE LA SIERRA DE  
MARIOLA**

**TRABAJO FIN DE GRADO**

**Septiembre-2017**

Autor: José Miguel García Garví

Tutor/es: Ángel Antonio Carbonell Barrachina

Luis Noguera Artiaga



## IDENTIFICACIÓN DE COMPUESTOS VOLÁTILES CARACTERÍSTICOS DEL HERBERO DE LA SIERRA DE MARIOLA

El Herbero de la Sierra de Mariola es una bebida espirituosa elaborada con semillas o extractos de anís, mediante maceración y/o destilación de hasta un máximo de 15 y un mínimo de 3 plantas, seleccionadas y procedentes de la Sierra de Mariola. El objetivo principal de este Trabajo Fin de Grado fue caracterizar la composición volátil del Herbero de la Sierra de Mariola, realizando un análisis individualizado de los compuestos volátiles presentes en cada una de las hierbas por las que puede estar elaborado. Tras el análisis de las muestras se determinaron un total de 140 compuestos aromáticos, de los cuales 17 resultaron claves a la hora de identificar la presencia de cada una de las plantas con las que se elabora este producto.

**Palabras clave:** SPME; GC-MS; Compuestos aromáticos; Anís; Terpenos.

## IDENTIFICATION OF CHARACTERISTIC VOLATILE COMPOUNDS OF *HERBERO DE LA SIERRA DE MARIOLA*

*"Herbero de la Sierra de Mariola"* is a spirit drink made of seeds or extracts of anise, by maceration and / or distillation and it can include up to a maximum of 15 and a minimum of 3 plants, selected and growing in the *sierra de Mariola*. The main objective of this work was to determine the volatile composition of the *"Herbero de la Sierra de Mariola"*, performing an individualized analysis of the volatile compounds present in each of the herbs contained the liquor. The results showed a total of 140 aromatic compounds, of which 17 were key compounds in identifying the presence of each of the plants included in the liquor.

**Keywords:** SPME; GC-MS; Aromatic compounds; Anise; Terpenes.

**GRACIAS A MIS TUTORES ÁNGEL CARBONELL**  
**Y LUIS NOGUERA POR SU TIEMPO Y**  
**DEDICACIÓN, Y A MI FAMILIA Y NOVIA POR EL**  
**APOYO INCONDICIONAL.**

# Índice

<b>I. INTRODUCCIÓN</b> .....	6
1.1. DEFINICIÓN.....	7
1.2. MATERIAL VEGETAL .....	7
1.3. DESTILACIÓN .....	16
1.4. MACERACIÓN .....	17
1.5. PRODUCCIÓN E IMPORTANCIA ECONÓMICA .....	17
<b>II. OBJETIVOS</b> .....	20
<b>III. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	22
3.1. MUESTRAS.....	23
3.2. EXTRACCIÓN DE COMPUESTOS AROMÁTICOS VOLÁTILES. ....	24
3.3. ANÁLISIS DE COMPUESTOS VOLÁTILES.....	25
3.4. CARACTERIZACIÓN DE COMPUESTOS.....	26
3.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	26
<b>IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	27
4.1. LICORES DE HIERBAS INDIVIDUALES .....	28
4.2. COMPOSICIÓN DE LOS HERBEROS COMERCIALES .....	44
4.3. PREDICCIÓN DE LA COMPOSICIÓN DE LOS HERBEROS COMERCIALES.....	51
<b>V. CONCLUSIONES</b> .....	58
<b>VI. REFERENCIAS</b> .....	60

# I. INTRODUCCIÓN



Barranc del Cint, Sierra de Mariola

## 1. INTRODUCCIÓN

### 1.1. DEFINICIÓN

Los Herberos de la Sierra de Mariola son una bebida espirituosa con semillas o extractos de anís, elaborados en la provincia de Alicante mediante maceración y/o destilación de plantas recolectadas en la Sierra de Mariola, al Norte de la provincia de Alicante, con alcohol de origen agrícola. En el caso de la destilación, el contenido mínimo del destilado en el producto final es el 20 %, con un grado final de alcohol entre el 22 y el 40 % (Consejo Regulador de Bebidas Espirituosas Tradicionales de Alicante, 2008).

Una de las principales diferencias respecto al resto de los denominados “licores de hierbas” reside en el elevado número de especias empleadas.

Este tipo de bebida siempre debe ser elaborada por empresas establecidas en la provincia de Alicante y puede obtenerse a través de dos métodos (Consejo Regulador de Bebidas Espirituosas Tradicionales de Alicante, 2008):

#### 1. Mediante destilación:

- a. Destilación directa del alcohol, las plantas y el grano de anís, o con una previa maceración, en disolución hidroalcohólica de 60 % en volumen, durante 10 días. Se realiza la separación de cabezas y colas de destilado
- b. El alcoholato obtenido se podrá usar directamente, o con adición de alcohol, agua, y extracto de anís en la proporción deseada, previo a un reposo de dos meses y con un contenido mínimo de destilado del 20 %.

#### 2. Mediante maceración:

- a. Las plantas son introducidas durante 10 días en una disolución hidroalcohólica del 60 % en volumen mínimo,
- b. seguido de una mezcla con extractos de anís, agua y alcohol, para obtener la graduación final deseada, permaneciendo en reposo dos meses previos al embotellado.

### 1.2. MATERIAL VEGETAL

Para la elaboración de los Herberos pueden ser empleadas hasta 15 plantas distintas, procedentes de la Sierra de Mariola, de las cuales se deben emplear un mínimo

de 3 en el mismo producto. Se trata de las siguientes:

- Salvia (*Salvia officinalis*) (**Imagen 1**): Pertenece a la familia *Lamiaceae*. Se trata de una planta perenne de floración primaveral y estival, con inflorescencias de colores azulados-violáceos. En su composición, el 3 % está formado por aceites esenciales, en los cuales destaca la presencia de  $\alpha$  y  $\beta$ -tujona, con cantidades que se encuentran entre el 10 y el 60 %, además de 1,8-cineol, alcanfor y ácido rosmarínico, de sabor amargo (Altindal y Altindal, 2016). Cuenta con una larga tradición de usos tanto culinarios, empleada en fresco o desecada como



**Imagen 1.** Salvia.

Fuente: AUSMAUCO BIOTECH. CO.

acompañamiento de carnes grasas y embutidos, quesos y pescados grasos, como en medicina tradicional, empleada en infusiones, pócimas o aceites esenciales, para tratar y aliviar los síntomas de las bronquitis y amigdalitis (Elicriso.it, 2017).



**Imagen 2.** Manzanilla dulce.

Fuente: TEX Board

- Manzanilla dulce (*Matricaria chamomilla*) (**Imagen 2**): Pertenece a la familia *Asteraceae*. Se trata de una hierba de floración primaveral y estival, de flores compuestas amarillas de pétalos blancos. Es una planta tradicionalmente empleada por sus efectos sedantes, analgésicos antipiréticos y antiespasmódicos, pudiendo llegar a generar una mejora de la memoria en cerebros con elevados daños oxidativos (Alibabaei, Rabiei, Rahnama, Mokhtari, y Rafieian-kopaei, 2014). En su composición destacan la presencia de flavonoides y

cumarinas (Elicriso.it, 2017).



- Menta piperita (*Mentha piperita*) (**Imagen 3**): pertenece a la familia *Laminaceae*. Se trata de una planta perenne, presenta una inflorescencia integrada en la axila foliar, similar a una espiga. En esta planta el compuesto más característico es el mentol, seguido de la mentona. Los aceites esenciales se encuentran fundamentalmente en las hojas, donde ocupan valores cercanos al 1 %. Se emplea de diversas formas, aunque la forma más común es la infusión. El mentol tiene propiedades anestésicas (Elicriso.it, 2017).



**Imagen 3:** Menta piperita.  
Fuente: TEX Board



**Imagen 4:** Poleo.  
Fuente: TEX Board

- Poleo (*Mentha pulegium*) (**Imagen 4**): Pertenece a la familia *Laminaceae*. Se trata de una planta perenne de floración otoñal, presentando flores de color lila-rosado con un olor penetrante agrupadas en verticilos, cuyo hábitat se encuentra en zonas calcáreas y con baja humedad. Los compuestos principales del poleo, incluidos en los aceites esenciales, son la pulegona e isopulegona, seguido de la mentona, piperotonina y carvacrol. Tradicionalmente se han empleado infusiones de esta hierba para prevenir o aliviar enfermedades digestivas,

como las estomacales al mejorar la digestión, así como afecciones del aparato respiratorio (Elicriso.it, 2017).

- Hierba luisa (*Lipia Triphylla*) (**Imagen 5**): pertenece a la familia *Verbenaceae*. Se trata de un arbusto de hoja caduca, de floración estival, con flores pálidas agrupadas en forma de racimo. Tradicionalmente se ha empleado como infusión, facilitando la digestión, reduciendo el ardor estomacal y gracias al borneol y el limoneno posee propiedades antivomitivas. En la tecnología culinaria se emplea gracias al aporte de matices exóticos, tanto en platos principales como en sorbetes y bebidas frías. Se pueden emplear tanto las flores, recogidas en verano, como las hojas, recogidas antes de la floración (Botanical-Online SL, 2017).



**Imagen 5:** Hierba luisa.  
Fuente: Encyclopædia Britannica



**Imagen 6:** Cardo santo.  
Fuente: Américo Duarte Paixão

- Raíz de cardo santo (*Centaurea benedicta*) (**Imagen 6**): pertenece a la familia *Asteraceae*. Se trata de una planta anual de floración en primavera-verano, momento en el que se recolectan. Las flores son tubulares de color amarillo protegidas por una serie de espinas. Su empleo ha residido tradicionalmente por sus efectos digestivos, aumento del apetito y mejora del movimiento gastrointestinal, empleando toda la planta a excepción de la raíz. Se puede emplear como infusión o como compresa, aprovechando de esta forma las propiedades antiinflamatorias y antibióticas, por lo que es muy empleada para curar heridas (Enciclopedia Colaborativa Cubana, 2010).

- Rabo de gato (*Sideritis leucantha*) (**Imagen 7**):

Pertenece a la familia *Laminaceae*, y se trata de un endemismo alicantino, cuyo hábitat se encuentra en las laderas pedregosas y eriales montañosos. Florece principalmente en primavera y se recolecta durante la floración. Las flores son de un color amarillo intenso y presentan un anillo veloso en el interior. Su empleo se realiza de tres formas distintas: por infusión, como extracto fluido y como tintura, en función del objetivo a aliviar, como gastritis, gripe o conjuntivitis. Los principales



**Imagen 7:** Rabo de gato.  
Fuente: TEX Board

compuestos en relación a estas funciones son los flavonoides, triterpenos y lactonas (Ministerio de Agricultura y Pesca Alimentación y Medio Ambiente, 2017).



**Imagen 8:** Hinojo.  
Fuente: TEX Board

- Hinojo (*Foeniculum piperitum* o *vulgare*) (**Imagen 8**):

Pertenece a la familia *Apiaceae*, y se trata de una planta bianual de tallos altos e inflorescencias amarillas en forma de umbela en verano y otoño. Abunda en ribazos y márgenes de caminos y carreteras. La recolección varía para cada parte de la planta, siendo recogidas las hojas y flores en verano, los frutos previamente a su maduración y las raíces en otoño. En la composición del aceite esencial del hinojo destaca la presencia de anetol, estragol y fenchona. Ha sido empleado desde el antiguo

Egipto, tanto por su interés culinario por su aportación aromática, como medicinal en forma de infusiones para favorecer la digestión, o como colirios para tratar afecciones oculares (Botanical-Online SL, 2017).

- Anís (*Pimpinella anisum*) (**Imagen 9**): pertenece a la familia *Apiaceae*. Se trata de una planta anual, con florecimiento en primavera, apareciendo flores blancas reunidas en umbrelas, con largos pedúnculos y 5 pétalos. La parte empleada de la planta es el fruto, que se recolecta en verano antes de que alcance la madurez fisiológica. Para ello se corta la planta entera y se deja secar, tras lo cual se recogen los frutos. El principal compuesto del anís es el anetol, seguido del estragol. Se ha empleado desde la antigüedad para reducir el mal aliento



**Imagen 9:** Anís.  
Fuente: TEX Board

y para favorecer el sueño. El método de empleo más extendido es mediante infusiones, aunque también es muy extendido su uso como saborizante de destilados alcohólicos. Respecto a las aptitudes culinarias, se trata de una especia muy aromática y edulcorante (Botanical-Online SL, 2017).



**Imagen 10:** Melisa.  
Fuente: TES Board

- Melisa (*Melissa officinalis*) (**Imagen 10**): pertenece a la familia *Lamiaceae*. Se trata de una planta perenne de floración estival, presentando flores blancas o rosadas formando verticilos de hasta 10 flores. El momento de la recolección, tanto de las hojas como de las flores que son las partes de interés de esta planta, es durante la floración. Al igual que el resto de la familia, el compuesto aromático más importante es el timol, acompañado del geranial y neral. Esta planta ha sido empleada desde la antigüedad en forma de infusión por

los efectos tranquilizantes y por la mejora de la digestión (Botanical-Online SL, 2017).

- Agrimonia o hierba de San Guillermo (*Agrimonia eupatoria*) (**Imagen 11**): Pertenece a la familia *Rosaceae*. Se trata de una planta herbácea con floración de mayo a agosto, periodo en el que se recolecta, con flores amarillas de 5 pétalos en forma de espiga. suele encontrarse en bosques húmedos y umbríos. También conocida como serverola. Desde la antigüedad se ha empleado como desinfectante y cicatrizante, empleando las hojas frescas, y mediante infusión alivia los síntomas de afecciones hepáticas. El compuesto mayoritario en esta planta es el estragol (Botanical-Online SL, 2017).



**Imagen 11:** Agrimonia.  
Fuente: TEX Board



**Imagen 12:** Ajedrea. Fuente: TEX Board

- Ajedrea (*Satureja montana*) (**Imagen 12**): pertenece a la familia *Lamiaceae*. Se trata de una planta perenne, de floración estival, con flores de color rosa pálido, formando una inflorescencia en forma de ramillete. Las principales partes de la planta con interés alimentario son las hojas y flores, recogidas durante la floración. Tradicionalmente se ha empleado como analgésico y antibiótico natural, gracias al timol, y por las propiedades digestivas del carvacrol, los compuestos mayoritarios, por lo que su consumo se realiza generalmente como infusión (Botanical-Online SL, 2017).

- Tomillo (*Thymus vulgaris*) (**Imagen 13**):

Pertenece a la familia *Laminaceae*. Se trata de una planta perenne con varias floraciones anuales, desde marzo en primera floración hasta otoño con la segunda floración, con flores rosadas y blancas que se puede encontrar desde el nivel del mar hasta los 1000 metros de altitud. El momento de la recolección de las partes útiles de la planta, las flores y hojas, es durante la primavera. Tradicionalmente se ha empleado en la tecnología culinaria como ingrediente aromático en las cocciones, mientras que



**Imagen 13:** Tomillo.  
Fuente: TEX Board

medicinalmente se ha empleado como antibiótico, gracias a la presencia de timol y carvacrol, dos de los compuestos más importantes tanto en las flores como en las hojas, seguidos de *p*-cimeno y linalol (Botanical-Online SL, 2017).



**Imagen 14:** Zamarrilla.  
Fuente: TEX Board

- Zamarrilla (*Teocrium polium*) (**Imagen 14**):

Pertenece a la familia *Laminaceae*. Se trata de una planta perenne de floración primaveral y estival, con flores pequeñas que pueden ser blancas o amarillas, y las hojas son pequeñas, con pequeños peciolo formando racimos. El mejor momento de recolección es durante la floración, momento en el que la concentración de compuestos volátiles es mayor, tras lo cual se secan al sol para preservar adecuada y efectivamente sus cualidades.

Tradicionalmente se ha utilizado como planta medicinal en infusiones para el tratamiento de disfunciones gastrointestinales como la diarrea o el dolor de estómago (Enciclopedia Colaborativa Cubana, 2010).

- Cantueso (*Lavandula stoechas*) (**Imagen 15**):

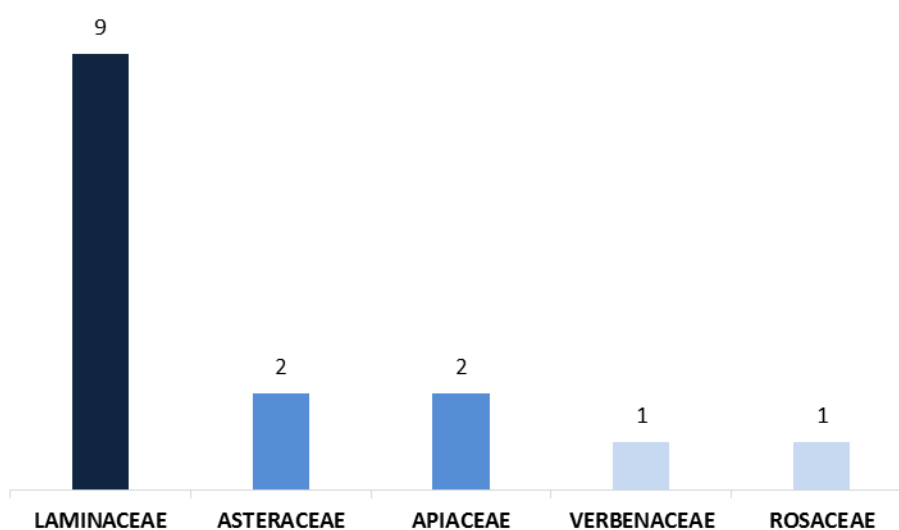
Pertenece a la familia *Laminaceae*. Se trata de una planta con una elevada cantidad de ramificaciones erguidas y recubiertas de hojas lanceoladas de color verde pálido. La floración sucede durante los meses de marzo a mayo, en forma de inflorescencias formando racimos, siendo las flores bilabiadas y de color morado, que cuentan con un olor intenso y característico. Se recoge durante la floración, debido a que principalmente se emplean las flores. El aceite esencial está compuesto



**Imagen 15:** Cantueso. Fuente: TEX Board

principalmente por cineol, borneol y alcanfor. Tradicionalmente se ha aplicado de forma directa para la limpieza de llagas y heridas al tener compuestos antisépticos (Enciclopedia Colaborativa Cubana, 2010).

De todo el material vegetal que puede formar parte de la composición de los Herberos de la Sierra de Mariola la familia *Laminaceae* es la mayoritaria, ya que a esta pertenecen 9 de las 15 plantas que pueden ser empleadas (**Gráfico 1**).



**Gráfico 1:** Clasificación del material vegetal empleado según familia taxonómica.

### 1.3. DESTILACIÓN

La destilación es un proceso físico de separación y extracción de componentes de una mezcla de compuestos líquidos miscibles gracias a la diferente volatilidad de los mismos. La volatilidad es una característica propia de cada compuesto. Para ello, se somete la mezcla a ebullición, para posteriormente condensar y recoger los vapores, siendo los compuestos más volátiles los que primero se recogen en la fracción de destilado, mientras que en la mezcla remanente se encuentran los compuestos menos volátiles. En la industria alimentaria, la mayoría de destiladores son de cobre o acero inoxidable, debido a que soportan las elevadas temperaturas y no son reactivos con los alimentos.

La volatilidad depende de dos factores principalmente: (i) la presión y (ii) la temperatura. El aumento de presión en la mezcla sometida a ebullición implica un necesario aumento en la temperatura para producir la volatilización de un mismo compuesto, según la Ley de Gases propuesta por Gay-Lussac en 1808, que se ajusta a la fórmula  $P = K \times T$ , para el caso en el que el volumen de la mezcla permanezca constante, como es en este caso. La temperatura es el factor clave del proceso, ya que aporta la energía necesaria a las moléculas para que se volatilicen. Como cada compuesto es volátil a una temperatura determinada es posible la separación y extracción selectiva de compuestos. En este caso, uno de los compuestos que se desea retirar es el metanol, un alcohol primario. Este compuesto es tóxico para el organismo, afectando al sistema nervioso central y al sistema visual principalmente, incluso a dosis relativamente bajas, y a elevadas dosis puede provocar el coma e incluso la muerte (Alina González-Quevedo, 2002). Para ello, y puesto que la temperatura de ebullición del metanol se encuentra próxima a los 67 °C (Hajavi, Kasiri, y Ivakpour, 2016), todo el destilado obtenido a temperaturas inferiores es susceptible de contener cantidades importantes de metanol, por lo que se debe retirar de la producción para evitar intoxicaciones. Una vez se ha superado la temperatura del metanol y retirados los posibles restos de metanol del circuito de condensación, se comienza a obtener el etanol, junto con otros componentes deseados que arrastran al evaporarse, como el timol, el carvacrol o el anetol. Estos compuestos están presentes en las hierbas empleadas en la fabricación de los Herberos de la Sierra de Mariola cuando son incorporadas antes de la destilación, mientras que si



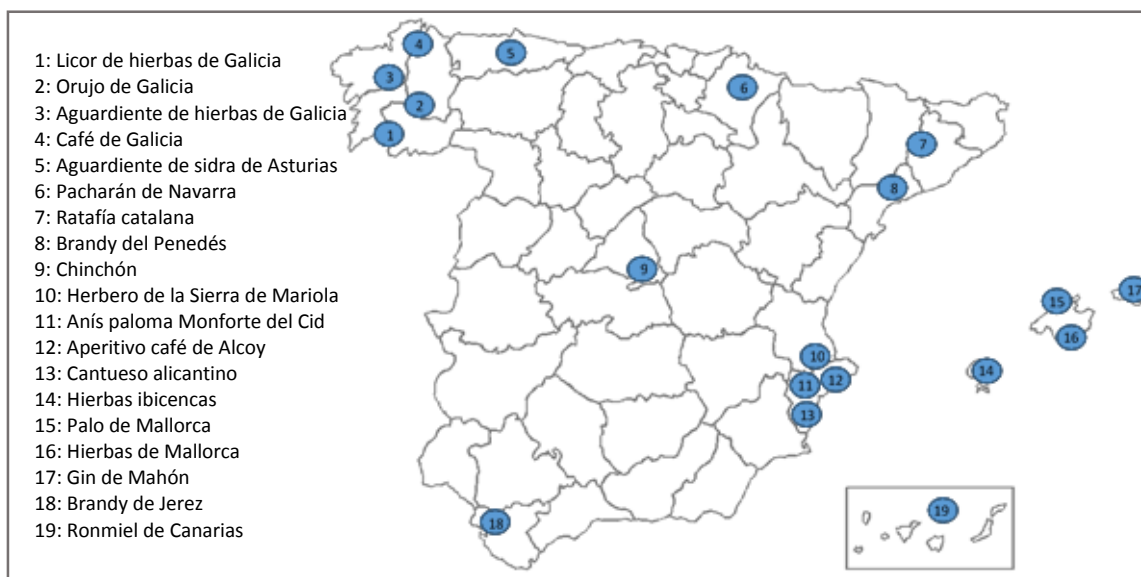
son incorporadas después de la destilación pasan al medio mediante la extracción en solución hidroalcohólica. El principal problema reside en la proximidad de los puntos de ebullición de los alcoholes con el agua, ya que el etanol tiene un punto de ebullición de 78,3 °C (Panse y Kandlikar, 2017).

#### 1.4. MACERACIÓN

La maceración es un proceso en el cual se mantienen en contacto un líquido con otros componentes sólidos de los cuales se desean extraer diversos componentes. En este caso, el medio líquido está compuesto por una disolución hidroalcohólica con un contenido en alcohol del 60 % para favorecer la solubilización y extracción de los compuestos deseados. Tras 10 días de maceración, tiempo establecido como suficiente para la extracción de los compuestos deseados, se añade una mezcla de alcohol de origen agrícola, anís y agua con el fin de ajustar la graduación alcohólica dentro de los parámetros establecidos en el Pliego de Condiciones del Consejo Regulador. Este proceso se realiza en recipientes de acero inoxidable provistos de cierre hermético, para evitar la pérdida por evaporación tanto del alcohol como de los compuestos aromáticos de las hierbas empleadas. Este sistema es uno de los más empleados para la elaboración de los licores, debido a que se requiere una menor inversión inicial y al no aplicar calor el consumo energético es menor.

#### 1.5. PRODUCCIÓN E IMPORTANCIA ECONÓMICA

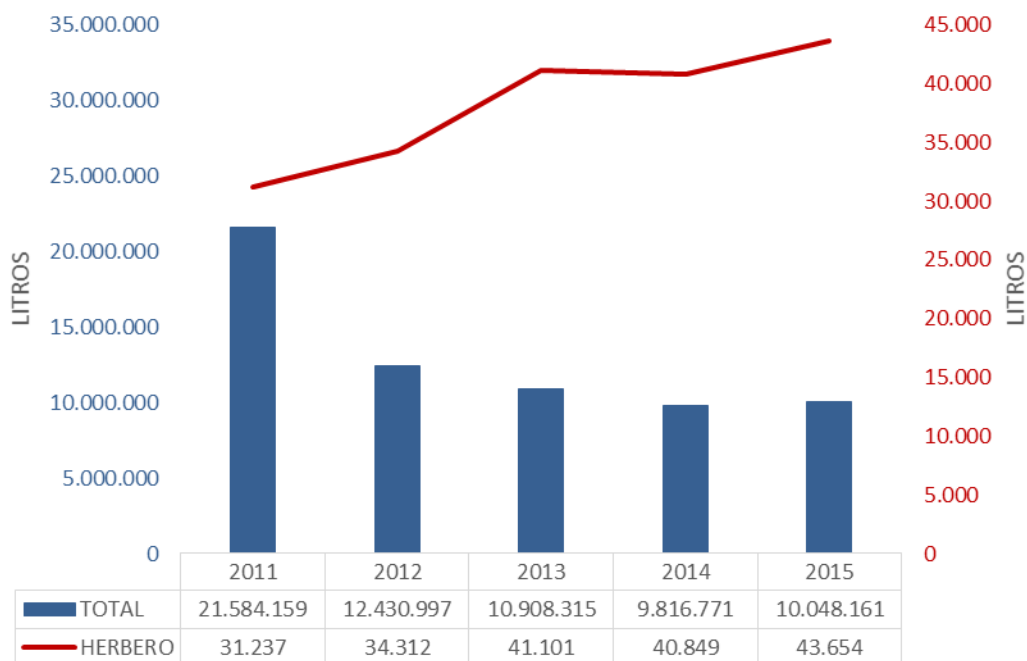
Los licores de hierbas se encuentran dentro del grupo de bebidas alcohólicas denominadas espirituosas, entre las que se encuentran otras bebidas como el aguardiente de frutas o el brandy. En España existen 19 Indicaciones Geográficas Protegidas (IGP) (**Imagen 16**) de las cuales 10 cuentan con Consejos Reguladores propios entre los que podemos destacar en la provincia de Alicante el Herbero de la Sierra de Mariola, el Café aperitivo de Alcoy, el Anís paloma de Monforte del Cid y el Cantueso alicantino.



**Imagen 16:** Mapa de la distribución de IGP de Bebidas Espirituosas en España.

La producción total en 2015 de las bebidas espirituosas en España alcanzó los 18.330.449 L, de los cuales la producción del Herbero del estudio representa el 0,24 % del total, 43.654 litros repartidos entre sus cinco productores reconocidos bajo la IGP.

El comercio nacional representa el 54 % del total de la producción de este tipo de bebidas, siendo el principal producto comercializado en territorio nacional el Pacharán navarro con un 31.52 % de la cuota de mercado, seguido del Brandy de Jerez con un 30.20 %. Entre los años 2011 y 2015 la comercialización de bebidas espirituosas en España se redujo a la mitad, descendiendo desde unos 21.000.000 L en 2011 hasta unos 10.000.000 L en el año 2015. Durante este mismo periodo, la comercialización nacional del Herbero de la Sierra de Mariola tuvo un incremento de casi un 40 % situándose en un total de 43.654 L (**Gráfico 2**). El Herbero de la Sierra de Mariola destina la totalidad de su producción al mercado nacional debido, principalmente, a la poca producción que tiene el producto y la fuerte localización de su consumo (fundamentalmente por tradición) en el sureste español.



**Gráfico 2:** Evolución del comercio nacional. Fuente: MAAMA 2016

El comercio exterior de las bebidas espirituosas españolas representa el 46 % del total producido, siendo el Brandy de Jerez la bebida más exportada (91.95 % del total exportado). En este tipo de mercados las bebidas espirituosas mantienen una tendencia estable (aunque comienza a ser decreciente), exportándose en el año 2015 el 24,5 % a países europeos (2.110.000 L) y el 75,5 % restante a países de fuera de la Unión Europea (6.500.987 L).

Según el Informe de Datos de las bebidas espirituosas con indicación geográfica del Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente (Ministerio de Agricultura, 2016), el Herbero de la Sierra de Mariola se encuentra dentro del grupo denominado como “otras bebidas espirituosas”, junto al Aperitivo Café de Alcoy, el Ronmiel de Canarias y el Aguardiente de hierbas de Galicia. Dentro de este grupo representa el 7,91 % del total del comercio. En lo relativo a unidades monetarias, la comercialización de esta bebida generó en el año 2015 un valor de 347.049 €.

## II. OBJETIVOS



## 2. OBJETIVOS

El objetivo principal de este Trabajo Fin de Grado es analizar y caracterizar la composición volátil de los Herberos de la Sierra de Mariola.

Para la consecución de este fin, se ha realizado un análisis individualizado de los compuestos volátiles presentes en cada una de las hierbas por las que puede estar compuesto este producto. Además, se ha llevado a cabo un análisis de Herberos de la Sierra de Mariola (productos comerciales) con el fin de establecer relaciones entre la composición volátil de estos y la de cada una de las hierbas por las que se compone, para de esta forma, utilizar la técnica de cromatografía de gases como herramienta de control de calidad del producto.



### III. MATERIALES Y MÉTODOS



### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. MUESTRAS.

Las muestras empleadas para este trabajo fueron 12 licores de hierbas (Imagen 17) elaborados con cada una de las hierbas autorizadas en el pliego de condiciones del Consejo Regulador de Bebidas Espirituosas Tradicionales de Alicante, a los que denominaremos **Licores** seguido del nombre de cada una de las hierbas por la que está compuesto. Además, se han empleado para este estudio 5 productos comerciales (Herberos de la Sierra de Mariola), identificados como **Herberos Comerciales** y descritos como **HC 1-5**, con el fin de preservar la confidencialidad de las empresas elaboradoras.

En este estudio solo se analizaron 12 de las 15 hierbas presentes en el Pliego de Condiciones y descritas anteriormente. El anís no se estudió debido a que ya forma parte de la composición de todos los Herberos (tal y como exige su normativa regulatoria), y cantueso y zamarrilla no se pudieron analizar por falta de disponibilidad de los mismos a la hora de realizar la preparación de las muestras.

Todas las muestras fueron elaboradas en mayo del año 2016 y se mantuvieron almacenadas a temperatura ambiente, en un lugar seco y protegidas de la luz hasta la realización de las determinaciones analíticas.

Las muestras empleadas en este TFG fueron proporcionadas por el Consejo Regulador de Bebidas Espirituosas Tradicionales de Alicante y las maceraciones individuales de cada una de las hierbas aromáticas fueron proporcionadas por Destilerías Tenis (Limiñana y Botella S.L.).

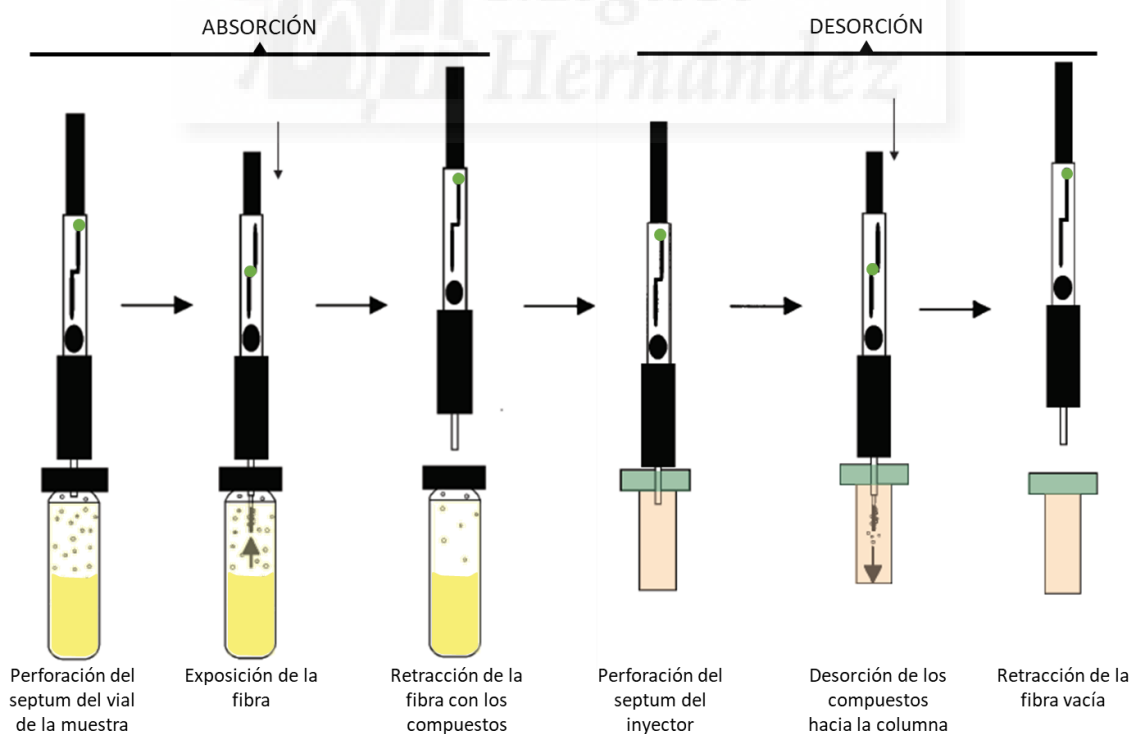


Imagen 17: Licores de hierbas analizados

### 3.2. EXTRACCIÓN DE COMPUESTOS AROMÁTICOS VOLÁTILES.

La extracción de los compuestos volátiles presentes en cada una de las muestras, se llevó a cabo mediante el método de micro-extracción en fase sólida en espacio de cabeza (HS-SPME, por sus siglas en inglés) (**Imagen 18**).

Al tratarse de muestras líquidas la extracción se realizó en un vial de 40 mL, cerrado herméticamente, con un septum de silicona en el tapón. En este se adicionaron 5 mL de muestra y 10 mL de agua destilada (con el fin de diluirla y evitar saturaciones en el detector). Además, se adicionó 1  $\mu$ L de  $\beta$ -pineno (1000 mg/L) como patrón interno para una posterior semi-cuantificación de los compuestos detectados. Este compuesto fue elegido ya que no se encuentra presente en ninguna de las muestras analizadas en el experimento (para comprobarlo se realizaron mediciones iniciales sin la adición del mismo). Por último, se adicionó un 10 % de NaCl con el fin de mejorar la volatilidad de los compuestos (Girones-Vilaplana, Calin-Sanchez, Moreno, Carbonell-Barrachina, y Garcia-Viguera, 2015).



**Imagen 18:** Esquema del método HS-SPME



Una vez preparadas las muestras se sometieron a una suave agitación (30-40 rpm) empleando un agitador magnético y un imán, con el fin de homogeneizar la muestra y favorecer la salida de los compuestos volátiles al disminuir la tensión superficial del líquido. Para la absorción de los compuestos volátiles se empleó una fibra de SPME 50/30 mm DVB/CAR/PDMS (Supelco), que se mantuvo en el vial de análisis durante 50 min a una temperatura de 40 °C, para asegurar la total liberación de los compuestos. Una vez transcurridos los 50 minutos se llevó a cabo el análisis de los compuestos extraídos.

### 3.3. ANÁLISIS DE COMPUESTOS VOLÁTILES.

El análisis de los compuestos volátiles se llevó a cabo mediante un cromatógrafo de gases Shimadzu GC-17A acoplado a un espectrómetro de masas Shimadzu QP-5050A (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japón) (**Imagen 19**). Para la correcta separación de los compuestos, se empleó una columna Rxi-1301Sil MS (Restek Corporation, Bellefonte, USA), con una longitud de 30 metros, un espesor de 1  $\mu\text{m}$  y un diámetro de 0,25 mm. Como gas portador se empleó una corriente de helio, con un flujo en columna de 0,6  $\text{mL s}^{-1}$  y una velocidad lineal de 28,1  $\text{cm s}^{-1}$ , obteniendo un flujo total de 4  $\text{mL min}^{-1}$ . La temperatura del inyector se fijó en 230 °C y la temperatura de detección en 300 °C. La desorción de los compuestos volátiles en el inyector se realizó durante un tiempo de 3 min con el fin de asegurar la total transferencia de todos los compuestos a la columna de análisis. La temperatura inicial del horno fue de 80 °C y se incrementó hasta 210 °C con una rampa de 3 °C  $\text{min}^{-1}$ . Tras 1 min de estabilización, se sometió a una rampa de 25 °C  $\text{min}^{-1}$  hasta los 300 °C que se mantuvieron durante 5 min más. Los resultados del análisis se obtuvieron en forma de cromatograma, en el que se reflejan los tiempos de retención, las áreas de cada compuesto y la altura de los mismos, datos que sirven para su identificación y cuantificación.



**Imagen 19:** Cromatógrafo de gases acoplado a un espectrómetro de masas Shimadzu GC-17A

### 3.4. CARACTERIZACIÓN DE COMPUESTOS

Una vez obtenidos los cromatogramas de las muestras se analizaron los picos de forma independiente y manualmente, mediante el software informático GCMS Postrun Analysis (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japón). Posteriormente, una vez integrados todos los picos significativos, se procedió a la identificación de los compuestos mediante 3 métodos: (i) las librerías de masas Wiley 229 y NIST14; (ii) los índices de retención o Kovats obtenidos mediante la inyección de patrones lineales (n-alcenos) y la fórmula  $100 * \left( \frac{Rt - Rt_0}{Rt_1 - Rt_0} \right) + N$ , donde RT es el tiempo de retención del compuesto,  $Rt_0$  el tiempo de retención inmediatamente inferior,  $Rt_1$  el tiempo de retención inmediatamente superior y N el número de carbonos del patrón cuyo tiempo de retención es inmediatamente inferior al generado por el compuesto problema (Goodner, 2008); y (iii) los espectros de retención de los compuestos químicos puros. Una vez identificados todos los compuestos, se corroboró dicha identificación contrastando los índices obtenidos con los índices publicados en la página web del *National Institute of Standards and Technology*, cuyas siglas son NIST (*U.S. Secretary of Commerce on behalf of the United States of America*, 2017).

### 3.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados de los análisis realizados en este TFG, fueron procesados mediante un análisis de varianza (ANOVA) y mediante la prueba de rangos múltiples de Tukey. Se utilizó el software StatGraphicsPlus 5.0 Software (Manugistics, Inc., Rockville, Maryland, Estados Unidos). La diferencia significativa fue definida como  $p < 0,05$ . Todas las determinaciones llevadas a cabo en este TFG fueron realizadas en triplicado.

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN



## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. LICORES DE HIERBAS INDIVIDUALES

Una vez analizados los compuestos volátiles de los licores, procedemos a describir los resultados obtenidos mostrando la composición volátil de cada una de las muestras estudiadas. Como se ha comentado previamente en este TFG, estos licores están elaborados con base anisada, por lo que el compuesto mayoritario obtenido en cada uno de estos licores es el anetol (isómeros *cis* y *trans*), por lo que, en adelante se estudiará la composición volátil de las muestras obviando este compuesto.

Tras el estudio de la muestra de **licor de agrimonia** se obtuvieron un total de 40 compuestos volátiles aromáticos, como se puede apreciar en la **Tabla 1**. El compuesto mayoritario fue estragol con una concentración de 0,301 mg/L, seguido por isomentona (0,038 mg/L), etil octanoato (0,037 mg/L) y carvona con 0,037 mg/L. Estos resultados difieren con los obtenidos por Feng *et al.* (2013), que realizó análisis de composición volátil de agrimonia mediante cromatografía de gases con espectrometría de masas y empleando la técnica de resolución multivariable de curvas para resolver los picos pequeños. Comparó resultados de diferentes partes de la planta (secadas y posteriormente diluidas en agua) y detectó cedrol,  $\alpha$ -pineno y linalol como compuestos mayoritarios. Estas diferencias encontradas, en cuanto a los diferentes compuestos mayoritarios, estarían fundadas en el empleo de métodos distintos de extracción (diferentes temperaturas).

**Tabla 1:** Composición Volátil Licor de Agrimonia.

	Compuesto	Tiempo de retención (min)	Área (% del área total)	Concentración (mg/L)
1	1,1-Dietoxi-2-metilpropano	8,027	0,185	0,003
2	Etil 2-metilbutirato	8,109	0,446	0,007
3	Etil isovalerato	8,233	0,135	0,002
4	$\alpha$ -Pineno	10,988	0,518	0,008
5	1,1-Dietoxi-3-metil-butano	11,512	0,284	0,004
6	Benzaldehído	14,109	1,936	0,029
7	<i>cis</i> -Ocimeno	14,352	0,750	0,011
8	6-Metil-5-hepten-2-ona	14,506	0,442	0,007
9	3-Octanol	14,766	0,117	0,002
10	Limoneno	15,273	0,410	0,006
11	<i>p</i> -Cimeno	15,431	1,157	0,017

12	1,8-Cineol	15,871	0,927	0,014
13	3,8- <i>p</i> -Mentadieno	17,275	0,183	0,003
14	Etil heptanoato	18,933	0,238	0,004
15	2-Metilbutil 2-metilbutirato	19,327	0,321	0,005
16	Linalol	19,966	1,856	0,027
17	Nonanal	20,169	0,666	0,010
18	Verbenil etil éter	23,078	0,410	0,006
19	Isomentona	23,513	2,583	0,038
20	Etil octanoato	23,991	2,529	0,037
21	4-Terpineol	24,229	1,219	0,018
22	Mentol	24,436	1,078	0,016
23	Estragol	24,938	20,363	0,301
24	Decanal	25,374	0,605	0,009
25	Pulegona	27,929	1,909	0,028
26	Carvona	28,397	2,481	0,037
27	Etil palmitato	29,018	0,894	0,013
28	Etil salicilato	29,234	0,511	0,008
29	Mentil acetato	29,419	0,355	0,005
30	Bornil acetato	29,451	0,501	0,007
31	<i>trans</i> -Anetol	29,763	46,514	0,687
32	Nerol	30,801	0,271	0,004
33	Timol	31,402	0,252	0,004
34	Etil decanoato	33,879	0,702	0,010
35	Etil geranato	34,107	0,305	0,005
36	Neril acetona	37,628	2,298	0,034
37	Curcumeno	38,028	0,264	0,004
38	$\beta$ -Ionona	39,942	0,486	0,007
39	<i>cis</i> -Calameno	40,318	1,312	0,019
40	Etil laurato	42,963	1,587	0,023

En el análisis de la composición volátil de la muestra de **Licor de Ajedrea** se obtuvieron un total de 43 compuestos (**Tabla 2**). Los principales compuestos en base a su concentración fueron 1-borneol, con un total de 5,046 mg/L, bornil acetato con 3,378 mg/L, carvacrol con 2,503 mg/L y linalol, con una concentración de 2,113 mg/L. Estos compuestos también fueron observados como mayoritarios por Wesołowska, Grzeszczuk, y Jadczak (2014) en su estudio sobre el efecto que el momento de la cosecha tiene sobre la composición de los aceites de diversas plantas aromáticas (entre ellas la ajedrea).

**Tabla 2:** Composición Volátil Licor de Ajedrea.

	Compuesto	Tiempo de retención (min)	Área (% del área total)	Concentración (mg/L)
1	Canfeno	11,933	0,06	0,012
2	Verbeneno	12,173	0,13	0,026
3	Benzaldehído	14,212	0,13	0,025
4	$\alpha$ -Felandreno	14,313	0,12	0,024
5	3-Octanol	14,864	0,18	0,037
6	Limoneno	15,383	0,06	0,012
7	<i>p</i> -Cimeno	15,533	0,30	0,060
8	1,8-Cineol	15,971	0,18	0,036
9	<i>trans</i> -Óxido de linalol	18,687	0,14	0,028
10	<i>o</i> -Aliltolueno	19,007	0,22	0,043
11	Linalol (isómero)	20,113	10,62	2,113
12	Nonanal	20,274	0,14	0,028
13	Hotrienol	20,587	0,13	0,025
14	Linalol (isómero)	22,009	0,87	0,173
15	<i>trans</i> -Pinocarveol	22,842	0,19	0,037
16	Verbenil etil éter	23,169	1,35	0,268
17	Isomentona	23,583	1,69	0,337
18	Etil benzoato	23,980	0,66	0,132
19	4-Terpineol	24,351	1,84	0,367
20	1-Borneol	24,870	25,36	5,046
21	<i>p</i> -Alilanisol	25,062	2,05	0,408
22	Linalil propionato	25,421	2,09	0,417
23	$\alpha$ -Terpineol	26,732	0,43	0,085
24	Carvacrol metil éter	26,901	2,28	0,454
25	Geraniol	28,127	0,63	0,126
26	1-Decanol	28,877	0,20	0,039
27	Etil salicilato	29,231	0,11	0,022
28	Mentil acetato	29,418	0,08	0,016
29	Bornil acetato	29,596	16,97	3,378
30	<i>trans</i> -Anetol	29,851	9,37	1,864
31	Timol	31,848	1,36	0,271
32	Carvacrol	32,549	12,58	2,503
33	Isobornil propionato	33,946	0,30	0,061
34	Eugenol	34,082	0,42	0,084
35	<i>trans</i> - $\beta$ -Damascenona	34,976	0,19	0,037
36	Butirato de borneol	35,756	0,20	0,041
37	Neril acetato	37,657	0,20	0,040
38	Germacreno	39,655	0,13	0,027
39	<i>cis</i> -Calameno	40,353	0,23	0,046
40	1-Bourbonanol	41,264	0,23	0,046
41	Óxido de cariofileno (isómero)	40,601	0,52	0,103

42	Espatulenol	44,378	3,51	0,698
43	Óxido de cariofileno (isómero)	44,693	1,53	0,305

Los datos obtenidos tras el análisis de la muestra de **licor de cardo santo** se han agrupado en la **Tabla 3**, en la que como se puede apreciar se han determinado un total de 25 compuestos volátiles, entre los que destacaron estragol con una concentración de 0,183 mg/L, pulegona con una concentración de 0,139 mg/L, etil laurato con 0,067 mg/L y pentadeceno con 0,065 mg/L.

**Tabla 3:** Composición Volátil Licor de Cardo santo.

	Compuesto	Tiempo de retención (min)	Área (% del área total)	Concentración (mg/L)
1	Hexanal	6,941	0,59	0,011
2	Dietil acetal valeraldehído	11,399	0,57	0,011
3	Etil hexanoato	14,010	2,59	0,049
4	1,1-Dietoxihexano	17,883	0,76	0,014
5	Etil heptanoato	18,865	0,97	0,018
6	Linalol	19,894	0,48	0,009
7	Nonanal	20,093	1,64	0,031
8	Isomentona	23,450	0,98	0,018
9	Etil octanoato	23,934	1,72	0,032
10	Mentol	24,371	0,62	0,012
11	Estragol	24,868	9,75	0,183
12	Decanal	25,313	1,09	0,020
13	Pulegona	27,878	7,42	0,139
14	Carvona	28,358	2,90	0,054
15	Etil palmitato	28,977	2,55	0,048
16	<i>trans</i> -Anetol	29,712	52,41	0,984
17	1,1-Dietoxi-2-feniletano	30,765	0,84	0,016
18	Carvacrol	31,758	0,78	0,015
19	Etil decanoato	33,851	1,67	0,031
20	Pentadeceno	37,434	3,45	0,065
21	$\beta$ -Selineno	38,847	0,62	0,012
22	2-Tridecanona	39,526	0,44	0,008
23	$\beta$ -Ionona	39,933	0,56	0,010
24	Etil laurato	42,946	3,56	0,067
25	Óxido de cariofileno	44,827	1,03	0,019

Respecto al análisis de la muestra **Hierba luisa**, se determinaron 33 compuestos aromáticos volátiles, como se refleja en la **Tabla 4**. El compuesto mayoritario en dicha hierba fue 1,8-cineol con una concentración de 0,556 mg/L, seguido por espatulenol (0,250 mg/L), etil generato, con una concentración de 0,150 mg/L y geranil acetato, con 0,150 mg/L. Estos compuestos ya fueron determinados por Oukerrou et al. (2017) en su estudio sobre la composición química y efecto antibacteriano de esta especie, en el que analizó muestras de diversas zonas de Marruecos: Marrakech, Beni Mellal, Agadir y los montes de Berkane y Demnate.

**Tabla 4:** Composición Volátil Licor de Hierba luisa.

	Compuesto	Tiempo de retención (min)	Área (% del área total)	Concentración (mg/L)
1	Dietil acetal valeraldehído	11,525	0,59	0,020
2	7-Octen-4-ol	14,144	2,75	0,094
3	6-Metil-5-hepten-2-ona	14,467	2,20	0,075
4	3-Octanol	14,787	0,34	0,012
5	Limoneno	15,291	3,24	0,111
6	<i>p</i> -Cimeno	15,449	1,90	0,065
7	1,8-Cineol	15,899	16,27	0,556
8	$\gamma$ -Terpineno	16,628	0,44	0,015
9	Linalol	19,986	0,97	0,033
10	Nonanal	20,192	0,42	0,014
11	Neral	20,946	0,74	0,025
12	Verbenil etil éter	23,108	1,71	0,058
13	Isomentona	23,549	0,46	0,016
14	Etil benzoato	23,908	1,77	0,061
15	4-Terpineol (isómero)	24,279	2,16	0,074
16	4-Terpineol (isómero)	24,721	1,91	0,065
17	Estragol	24,952	3,17	0,108
18	$\alpha$ -Terpineol	25,332	1,70	0,058
19	Geraniol	26,915	1,57	0,054
20	Carvona	28,441	1,80	0,062
21	Bornil acetato	29,475	0,59	0,020
22	<i>trans</i> -Anetol	29,795	30,63	1,046
23	$\alpha$ -Copaene	32,992	0,62	0,021
24	Geranil acetato	33,456	4,39	0,150
25	$\beta$ -Bourboneno	33,643	0,82	0,028
26	Etil geranato	34,141	4,40	0,150
27	Aromadendreno	37,497	0,85	0,029
28	Curcumeno	38,083	1,13	0,039
29	Germacreno	39,682	0,50	0,017



<b>30</b>	$\beta$ -Ionona	40,023	0,49	0,017
<b>31</b>	Nerolidol	42,414	0,67	0,023
<b>32</b>	Espatulenol	44,390	7,32	0,250
<b>33</b>	Óxido de cariofileno	44,701	1,46	0,050

Los 32 compuestos aromáticos volátiles de la muestra **Hinojo** obtenidos tras su análisis se muestran en la **Tabla 5**, en la que se puede observar que el compuesto mayoritario fue limoneno, con una concentración de 2,270 mg/L, seguido por linalool (1,899 mg/L), fenchil acetato (0,816 mg/L) y etil decanoato, con 0,510 mg/L. Estos compuestos mayoritarios coincidieron con los descritos anteriormente por Diao, Hu, Zhang, y Xu (2014) en estudios para comprobar la función microbiológica que los aceites esenciales de esta hierba tienen sobre microorganismos patógenos como *Staphylococcus albus* o *Salmonella typhimurium*.

**Tabla 5:** Composición Volátil licor de Hinojo.

	Compuesto	Tiempo de retención (min)	Área (% del área total)	Concentración (mg/L)
<b>1</b>	Hexanal	7,072	0,01	0,007
<b>2</b>	1,1-Dietoxi-2-metilpropano	8,027	0,03	0,017
<b>3</b>	$\alpha$ -Pino	10,984	0,43	0,237
<b>4</b>	1,1-Dietoxi-3-metil-butano	11,515	0,21	0,113
<b>5</b>	Canfeno	11,842	0,05	0,029
<b>6</b>	Benzaldehído	14,111	0,06	0,031
<b>7</b>	$\alpha$ -Felandreno	14,225	0,04	0,024
<b>8</b>	Limoneno	15,302	4,95	2,720
<b>9</b>	<i>p</i> -Cimeno	15,45	0,88	0,481
<b>10</b>	1,8-Cineol	15,879	0,83	0,455
<b>11</b>	$\gamma$ -Terpineno	16,618	0,02	0,012
<b>12</b>	Isoamil-2-metil butirato	19,131	0,04	0,020
<b>13</b>	Isopentil isopentanoato	19,417	0,07	0,040
<b>14</b>	Linalol	20,052	3,46	1,899
<b>15</b>	Fenchol	21,749	0,10	0,055
<b>16</b>	Verbenil etil éter	23,122	0,12	0,068
<b>17</b>	Canfor	23,539	0,10	0,057
<b>18</b>	4-Tujanol	24,309	0,46	0,254
<b>19</b>	<i>cis</i> -Anetol	25,202	78,64	43,173
<b>20</b>	Fenchil acetato	26,941	1,49	0,816
<b>21</b>	Carvona	28,468	0,15	0,080

22	Etil palmitato	29,075	0,05	0,026
23	Etil salicilato	29,286	0,03	0,017
24	Bornil acetato	29,515	0,12	0,069
25	<i>trans</i> -Anetol	29,836	6,37	3,498
26	Undecanal	30,536	0,07	0,039
27	Etil decanoato	33,887	0,93	0,510
28	Dodecanal	35,449	0,07	0,037
29	Neril acetona	37,618	0,03	0,018
30	Elemol	42,779	0,03	0,016
31	Etil laurato	42,973	0,10	0,055
32	Espatulenol	44,341	0,05	0,026

El análisis de la composición volátil de la muestra **Manzanilla dulce** arrojó un total de 33 compuestos, recogidos en la **Tabla 6**, entre los que destacan los compuestos etildecanoato, con una concentración de 4,036 mg/L, seguido de ácido benzoico, con 1,590 mg/L, etil hexanoato (0,417 mg/L) y hepta-1,5-dien-4-ona, cuya concentración es de 0,344 mg/L. Según la bibliografía (Orav et al., 2010; Rubiolo et al., 2006) los compuestos mayoritarios de la manzanilla son bisabolol y bisabolona, por lo que no se corresponden con los resultados obtenidos. Esto es debido a que la estructura molecular de los mismos hace que su tiempo de retención sea muy elevado, impidiendo una correcta identificación en las condiciones en las que se planteó este estudio.

**Tabla 6:** Composición Volátil licor de Manzanilla dulce

	Compuesto	Tiempo de retención (min)	Área (% del área total)	Concentración (mg/L)
1	Hexanal	7,094	0,24	0,021
2	1,1-Dietoxi-2-metilpropano	8,059	0,20	0,017
3	Etil 2-metilbutirato	8,131	0,33	0,029
4	Etilisovalerato	8,249	0,35	0,031
5	Etil hexanoato	14,161	4,75	0,417
6	3-Octanol	14,809	0,21	0,018
7	<i>p</i> -Cimeno	15,479	1,10	0,096
8	1,8-Cineol	15,926	1,38	0,121
9	Hepta-1,5-dien-4-ona	17,551	3,92	0,344
10	1,1-Dietoxihexano	18,005	0,33	0,029
11	Etil heptanoato	18,968	0,43	0,038
12	Linalol	20,006	0,17	0,015
13	Nonanal	20,209	0,30	0,026

14	Isomentona	23,534	2,15	0,189
15	Ácido benzoico	23,942	18,08	1,590
16	Mentol	24,465	0,54	0,048
17	1-Borneol	24,668	0,69	0,061
18	Estragol	24,947	1,07	0,094
19	<i>cis</i> -3-Hexenil isovalerato	26,144	0,75	0,066
20	<i>trans</i> -2-Hexenil valerato	26,433	0,39	0,034
21	Etil fenil acetato	27,634	1,06	0,093
22	Carvona	28,411	0,88	0,077
23	Etil palmitato	29,008	2,63	0,231
24	Mentil acetato	29,418	0,77	0,068
25	<i>trans</i> -Anetol	29,753	3,99	0,351
26	1,1-dietoxi-2-feniletano	30,822	0,24	0,021
27	Carvacrol	31,816	0,47	0,041
28	Etil decanoato	33,993	45,90	4,036
29	Bencil isovalerato	34,974	0,48	0,042
30	Aromadendreno	37,497	0,47	0,042
31	<i>trans</i> -Cariofileno	37,63	0,29	0,025
32	Etil laurato	42,965	2,21	0,194
33	Espatulenol	44,328	3,26	0,286

El análisis de la muestra **Melisa** ha arrojado un total de 27 compuestos, recogidos en la **Tabla 7**. De todos los compuestos determinados, el compuesto mayoritario fue metil citronelato, (0,083 mg/L),  $\beta$ -citroneolol (0,037 mg/L), metil geranato, con una concentración de 0,028 mg/L y linalool, con una concentración de 0,021 mg/L. Estos datos corroboran los obtenidos por Rehman et al. (2017) que comparó dos técnicas de análisis de compuestos volátiles: hidrodestilación y *HS-SPME*. En este estudio se observó que los compuestos derivados de la citronela eran los mayoritarios en la composición volátil de Melisa, así como que la diferencia entre ambos métodos de análisis fue significativa tanto cualitativa como cuantitativamente.

**Tabla 7:** Composición Volátil Licor de Melisa.

	Compuesto	Tiempo de retención (min)	Área (% del área total)	Concentración (mg/L)
1	1,1-Dietoxi-2-metilpropano	8,029	0,48	0,003
2	$\alpha$ -Pinoeno	10,992	0,58	0,003
3	1,1-Dietoxi-3-metil-butano	11,534	1,35	0,008
4	Canfeno	11,849	0,73	0,004
5	Limoneno	15,302	0,59	0,003

6	<i>p</i> -Cimeno	15,447	1,39	0,008
7	1,8-Cineol	15,895	1,33	0,007
8	Linalol	19,908	3,80	0,021
9	Nonanal	20,195	1,89	0,011
10	<i>trans</i> -Pinocarveol	22,865	3,28	0,018
11	Isomentona	23,547	1,77	0,010
12	Etil benzoato	23,917	2,81	0,016
13	Etil octanoate	24,011	1,18	0,007
14	Mentol	24,463	2,84	0,016
15	Estragol	24,951	1,93	0,011
16	Decanal	25,395	1,59	0,009
17	$\beta$ -Citronelol	26,837	6,67	0,037
18	Metil citronelato	27,342	14,88	0,083
19	Pulegona	27,960	2,75	0,015
20	Geraniol	28,148	2,28	0,013
21	Etil salicilato	29,273	1,86	0,010
22	Mentil acetato	29,438	3,54	0,020
23	<i>trans</i> -Anetol	29,775	31,62	0,176
24	Metil geranato	30,762	4,99	0,028
25	Geranil acetato	33,449	0,88	0,005
26	Etil decanoato	33,908	0,87	0,005
27	Óxido de cariofileno (isómero)	44,678	2,12	0,012

En el análisis de los compuestos aromáticos volátiles presentes en la muestra **Menta** se han obtenido un total de 30 compuestos, como se refleja en la **Tabla 8**, de los cuales el compuesto con mayor presencia fue mentol con una concentración de 18,275 mg/L, seguido de mentona con una concentración de 15,222 mg/L, isomentol (2,734 mg/L) y mentil acetato, con 1,998 mg/L, coincidiendo con los resultados obtenidos por Saharkhiz et al. (2012) en los que se analizó la composición volátil del aceite esencial de la menta para determinar su actividad antibiótica frente a diversas especies de *Candida* y *Aspergillus*, siendo los compuestos principales presentes en dicho aceite idénticos a los aquí encontrados.

**Tabla 8:** Composición Volátil Licor de Menta.

	Compuesto	Tiempo de retención (min)	Área (% del área total)	Concentración (mg/L)
1	Etil isovalerato	8,291	0,07	0,039
2	$\alpha$ -Pinoeno	11,068	0,05	0,027
3	1,1-Dietoxi-3-metil-butano	11,620	0,24	0,137
4	Benzaldehído	14,243	0,31	0,173
5	3-Octanol	14,903	0,27	0,150
6	Limoneno	15,402	0,10	0,059
7	<i>p</i> -Cimeno	15,570	1,55	0,869
8	1,8-Cineol	16,022	3,56	1,995
9	<i>cis</i> -Sabineno hidratado	16,748	0,02	0,011
10	<i>o</i> -Aliltolueno	19,046	0,06	0,034
11	Isoamil-2-metil butirato	19,256	0,04	0,020
12	2-Metilbutil-2-metilbutirato	19,471	0,22	0,124
13	Amil isovalerato	19,695	0,09	0,049
14	Linalol	20,117	0,20	0,113
15	<i>cis-p</i> -Menta-2,8-dien-1-ol	23,226	0,75	0,421
16	Mentona	23,934	27,17	15,222
17	Isomentol	24,164	4,88	2,734
18	Mentol	24,433	32,62	18,275
19	Neomentol	25,179	1,42	0,793
20	$\alpha$ -Terpineol	25,499	0,35	0,198
21	Pulegona	28,070	0,15	0,085
22	Isopulegil acetato	28,628	0,24	0,132
23	<i>trans</i> -Anetol	29,976	21,09	11,816
24	Mentil acetato	30,692	3,57	1,998
25	Timol	31,931	0,13	0,073
26	$\beta$ -Bourboneno	33,749	0,06	0,035
27	Eugenol	34,157	0,07	0,037
28	Ledeno	38,752	0,22	0,123
29	Espatulenol	44,445	0,33	0,187
30	Óxido de cariofileno	44,763	0,17	0,095

Tras analizar la muestra denominada **licor de poleo** se obtuvieron un total de 19 compuestos volátiles, como se puede apreciar en la **Tabla 9**. El compuesto mayoritario fue pulegona con una concentración de 17,163 mg/L, seguido muy de lejos de eugenol con 2,243 mg/L, timol (1,622 mg/L) y carvacrol (1,156 mg/L). En previas investigaciones, Díaz-Maroto, Castillo, Castro-Vázquez, González-Viñas, y Pérez-Coello (2007) obtuvieron

datos similares al relacionar los compuestos de poleo con su aroma característico mediante cromatografía de gases y técnicas olfatométricas.

**Tabla 9:** Composición Volátil licor de Poleo.

	Compuesto	Tiempo de retención (min)	Área (% del área total)	Concentración (mg/L)
1	3-Metil ciclohexanona	13,815	0,73	0,202
2	3-Octanol	14,868	1,42	0,393
3	<i>p</i> -Cimeno	15,515	0,20	0,056
4	1,8-Cineol	15,963	0,35	0,096
5	3,8- <i>p</i> -Mentadieno	17,371	2,06	0,570
6	$\alpha$ -Terpineno	18,278	0,40	0,111
7	Isomentona	23,615	0,92	0,254
8	<i>trans</i> -Isopulegona	25,137	2,68	0,740
9	Timil metil éter	26,110	0,42	0,115
10	2-Isopropil-2,5-dimetil-ciclohexanona	27,269	0,30	0,084
11	Cuminal	27,456	0,33	0,091
12	Pulegona	28,228	62,14	17,163
13	<i>trans</i> -Anetol	29,841	6,04	1,667
14	Timol	31,912	5,87	1,622
15	Carvacrol	32,550	4,18	1,156
16	Eugenol	34,064	8,12	2,243
17	Miristiceno	41,290	1,53	0,422
18	Óxido de cariofileno (isómero)	43,586	0,51	0,141
19	Óxido de cariofileno (isómero)	44,700	1,06	0,294

Los datos obtenidos del análisis de la muestra de **licor de rabo de gato** se muestran en la **Tabla 10**. Se pudo apreciar que el número total de compuestos determinados ascendió a 39, de los cuales destacaron por su concentración el 1,8-cineol (1,133 mg/L), *p*-cimeno (0,607 mg/L), 4-terpineol (0,536 mg/L) y 4-tujanol, con una concentración de 0,324 mg/L.

**Tabla 10:** Composición Volátil licor de Rabo de gato.

	Compuesto	Tiempo de retención (min)	Área (% del área total)	Concentración (mg/L)
1	Hexanal	7,032	0,10	0,005
2	$\alpha$ -Pinoeno	10,940	3,15	0,176
3	1,1-Dietoxi-3-metil-butano	11,486	0,15	0,008
4	Verbeneno	12,038	0,23	0,013

5	Benzaldehído	14,100	0,30	0,017
6	$\alpha$ -Felandreno	14,166	0,57	0,032
7	$\alpha$ -Terpineno	14,748	0,26	0,015
8	Limoneno	15,246	0,42	0,023
9	<i>p</i> -Cimeno	15,416	10,84	0,607
10	$\beta$ -Felandreno	15,561	0,83	0,046
11	1,8-Cineol	15,866	20,25	1,133
12	<i>o</i> -Aliltolueno	18,885	0,44	0,024
13	Linalol	19,952	1,04	0,058
14	Nonanal	20,156	0,57	0,032
15	Fenchol	21,724	0,14	0,008
16	Verbenil etil éter	23,072	2,47	0,138
17	Isomentona	23,499	0,43	0,024
18	Etil benzoato	23,879	1,52	0,085
19	4-Terpineol	24,250	9,58	0,536
20	Isomentol	24,432	0,35	0,019
21	4-Tujanol	24,697	5,78	0,324
22	Estragol	24,921	1,51	0,084
23	Linalil propionato	25,309	5,30	0,297
24	$\alpha$ -Terpineol	26,815	1,99	0,112
25	Pulegona	27,922	1,11	0,062
26	1-Decanol	28,877	0,44	0,025
27	Etil salicilato	29,231	0,48	0,027
28	Bornil acetato	29,449	0,40	0,022
29	<i>trans</i> -Anetol	29,746	11,01	0,616
30	$\alpha$ -Terpinenil acetato	31,802	0,30	0,017
31	Carvacrol	32,331	4,96	0,278
32	Eugenol	34,036	0,70	0,039
33	Curcumeno	36,241	0,32	0,018
34	$\alpha$ -Amorfeno	37,783	0,27	0,015
35	1-Dodecanol	38,543	1,18	0,066
36	Germacreno	39,659	0,64	0,036
37	Isocitronellol	39,984	5,72	0,320
38	Óxido de cariofileno	43,426	1,60	0,089
39	Espatulenol	44,351	2,68	0,150

Los resultados obtenidos tras el análisis de la muestra de **licor de salvia** se muestran en la **Tabla 11**. Se determinaron un total de 40 compuestos, entre los cuales destacaron 1,8-cineol con una concentración de 6,130 mg/L, canfor con 5,010 mg/L, bornil acetato con 2,502 mg/L y 1-borneol (1,460 mg/L). Estos datos se correlacionan con los obtenidos

por Chalchat\_et\_al- (1998) que estudiaron la composición química de salvia procedente de diversos países como Francia, Hungría, Portugal Grecia y República Checa, observando claras diferencias de composición entre unas regiones y otras, sobre todo en los compuestos  $\alpha$ - y  $\beta$ -tujona, 1,8-cineol y canfor.

**Tabla 11:** Composición Volátil Licor de Salvia.

	Compuesto	Tiempo de retención (min)	Área (% del área total)	Concentración (mg/L)
1	$\alpha$ -Pinoeno	10,967	0,40%	0,106
2	Canfeno	11,839	2,96%	0,786
3	Verbeneno	12,073	0,13%	0,034
5	Mirceno	13,204	0,09%	0,023
6	Limoneno	15,298	1,10%	0,294
7	<i>p</i> -Cimeno	15,468	3,05%	0,811
8	1,8-Cineol	15,999	23,07%	6,130
9	<i>o</i> -Aliltolueno	18,916	0,28%	0,076
10	Linalol (isómero)	20,007	2,39%	0,636
11	Linalol (isómero)	21,968	1,49%	0,397
12	<i>cis</i> -Sabinol	22,885	1,56%	0,414
13	Verbenil etil éter	23,205	1,60%	0,425
14	Canfor	23,655	18,85%	5,010
15	Etil benzoato	23,926	0,50%	0,132
16	4-Terpineol	24,291	1,98%	0,527
17	1-Borneol	24,726	5,49%	1,460
18	$\alpha$ -Terpineol	25,353	2,30%	0,610
19	Hexil isovalerato	26,351	0,12%	0,031
20	$\beta$ -Terpineol	26,872	3,63%	0,966
21	Clorononano	27,650	0,15%	0,040
22	Geraniol	28,149	1,91%	0,507
23	Carvona	28,442	0,29%	0,076
24	Etil salicilato	29,282	0,13%	0,034
25	Bornil acetato	29,541	9,41%	2,502
26	<i>trans</i> -Anetol	29,808	2,19%	0,581
27	Nerol	30,790	0,15%	0,041
28	$\alpha$ -Terpinenil acetato	32,388	3,69%	0,981
29	Geranil acetato	33,454	0,36%	0,097
30	Isobornil propionato	33,935	4,58%	1,217
31	Neril acetato	37,652	1,73%	0,458
32	Bornil butirato	38,166	0,07%	0,018
33	Ledeno	38,680	0,21%	0,055
34	Geranil butirato	39,352	0,36%	0,095
35	Fenil etil isovalerato	39,626	0,09%	0,024
36	Isocitronelleno	39,975	0,12%	0,032



37	Geranil butirato (isómero)	41,524	0,18%	0,047
38	Óxido de cariofileno (isómero)	43,591	0,73%	0,194
39	Espatulenol	44,382	1,65%	0,439
40	Óxido de cariofileno (isómero)	44,697	0,27%	0,072

El análisis de los compuestos volátiles en la muestra de **licor de tomillo** queda reflejado en la **Tabla 12**. Se encontraron un total de 34 compuestos de los cuales el compuesto mayoritario fue 1,8-cineol, con una concentración de 6,095 mg/L, seguido de canfor con 2,665 mg/L, 1-borneol (1,838 mg/L) y timol (1,583 mg/L). Estos resultados están en concordancia con los resultados obtenidos por Tohidi, Rahimmalek, y Arzani (2017) durante el estudio de la actividad antioxidante y la composición del aceite esencial de diversas especies de tomillo en Irán, apreciando en todos ellos como compuesto mayoritario timol, aunque presentaron variaciones significativas en la producción de aceite esencial y su contenido en flavonoides y actividad antioxidante en función de la especie estudiada.

**Tabla 12:** Composición Volátil Licor de Tomillo.

	Compuesto	Tiempo de retención (min)	Área (% del área total)	Concentración (mg/L)
1	$\alpha$ -Pino	11,073	0,58%	0,156
2	Canfeno	11,942	3,64%	0,981
3	Verbeneno	12,169	0,31%	0,085
5	Mirceno	13,293	0,14%	0,039
6	<i>cis</i> -Ocimeno	14,304	0,37%	0,100
7	Limoneno	15,392	0,43%	0,117
8	<i>p</i> -Cimeno	15,574	5,22%	1,406
9	1,8-Cineol	16,130	22,63%	6,095
10	<i>o</i> -Aliltolueno	18,991	0,24%	0,064
11	Linalol	20,091	4,85%	1,307
12	<i>trans</i> -Pinocarveol	22,835	0,12%	0,032
13	Verbenil etil éter	23,202	2,76%	0,743
14	Canfor	23,617	9,90%	2,665
15	4-Terpineol (isómero)	24,338	2,92%	0,787
16	1-Borneol	24,774	6,83%	1,838
17	Estragol	24,994	0,42%	0,114
18	$\alpha$ -Terpineol	25,405	3,39%	0,913
19	Carvacrol metil éter	26,718	0,52%	0,141
20	Geraniol	28,136	0,88%	0,236

21	Bornil acetato	29,516	0,28%	0,077
22	<i>trans</i> -Anetol	29,825	4,74%	1,276
23	Timol	31,892	5,88%	1,583
24	$\alpha$ -Terpinil acetato	32,429	5,03%	1,354
25	Isobornil propionato	33,937	1,17%	0,315
26	Eugenol	34,061	0,30%	0,081
27	Bornil butirato	38,189	3,62%	0,974
28	Geranil isobutirato	39,359	0,24%	0,066
29	Isobornil 3-metilbutanoato	40,054	1,14%	0,307
30	1-Bourbonanol	41,266	0,08%	0,021
31	Geranil butirato (isómero)	41,549	0,63%	0,170
32	Elemol	42,816	3,10%	0,834
33	Óxido de cariofileno (isómero)	43,582	1,01%	0,272
34	Espatulenol	44,414	5,10%	1,373
35	Óxido de cariofileno (isómero)	44,713	1,53%	0,412

Tras el análisis de todos los licores estudiados en este Trabajo Fin de Grado, **se han aislado, identificado y cuantificado un total de 140 compuestos aromáticos distintos**. Para poder estudiar de manera resumida los principales resultados obtenidos, se agruparon los 5 compuestos mayoritarios de cada uno de los licores en la **Tabla 13**, obteniendo un total de 39 compuestos “esenciales” diferentes.

**Tabla 13:** Compuestos mayoritarios en los licores (x = presencia del compuesto).

Compuesto	Agrimonia	Ajedrea	Cardo Santo	Hierba luisa	Hinojo	Manzanilla	Melisa	Menta	Poleo	Rabo de gato	Salvia	Tomillo
Etil hexanoato						X						
Limoneno				X	X		X					
<i>p</i> -Cimeno					X		X			X		X
1,8-Cineol				X				X		X	X	X
Hepta-1,5-dien-4-ona						X						
Linalol		X			X		X					
Isomentona	X											
Canfor											X	X
Mentona								X				
Ácido benzoico						X						
Etil octanoato	X											
Isomentol								X				
4-Terpineol										X		
Mentol								X				
4-Tujanol										X		
1-Borneol											X	X
Estragol	X		X									
1-Borneol		X										
<i>trans</i> -Isopulegona									X			
Fenchil acetato					X		X					
Pulegona			X						X			
Carvona	X		X									
Bornil acetato		X									X	
Mentil acetato								X				
Timol									X			X
Carvacrol		X							X			
Geranil acetato				X								
Etil decanoato					X		X					
Isobornil propionato											X	
Etil decanoato						X						
Eugenol									X			
Etil geranato				X								
Pentadeceno			X									
Neril acetona	X											
Isocitronellol										X		
Etil laurato			X									
Espatulanol		X		X		X						

## 4.2. COMPOSICIÓN DE LOS HERBEROS COMERCIALES

Una vez analizada la composición volátil de cada una de las hierbas aromáticas de manera individual, se llevó a cabo el análisis de 5 muestras comerciales de **Herbero de la Sierra de Mariola**.

Al igual que los licores analizados previamente, como bien ha quedado descrito a lo largo de este trabajo, este tipo de producto está elaborado empleando una base anisada por lo que el compuesto mayoritario obtenido en cada uno de estos licores es el anetol, tanto su forma *cis*- como *trans*-, por lo que, aunque se reflejó su concentración en las tablas de resultados no se tuvo en cuenta a la hora de discutir los mismos. A continuación, se muestran de manera individualizada los resultados obtenidos para cada una de las muestras comerciales bajo a estudio.

En la primera de las muestras, **Herbero Comercial HC1**, se encontraron 41 compuestos aromáticos volátiles (**Tabla 14**). De entre destacaron por su mayor concentración 1,8-cineol con 1,860 mg/L, pulegona con 0,714 mg/L, isomentona, con una concentración de 0,588 mg/L y limoneno, con 0,396 mg/L.

**Tabla 14:** Composición Volátiles Herbero Comercial HC1.

	Compuesto	Tiempo de retención (min)	Área (% del área total)	Concentración (mg/L)
1	$\alpha$ -Pinoeno	10,940	0,17	0,040
2	1,1-Dietoxi-3-metil-butano	11,486	0,04	0,010
3	Canfeno	11,839	0,23	0,055
4	Sabineno	12,434	0,01	0,003
5	6-Metil-5-hepten-2-ona	14,467	0,02	0,006
6	$\alpha$ -Terpineno	14,748	0,07	0,016
7	3-Octanol	14,787	0,00	0,001
8	Limoneno	15,246	1,68	0,396
9	$\beta$ -Felandreno	15,561	0,04	0,009
10	1,8-Cineol	15,866	7,86	1,860
11	$\gamma$ -Terpineno	16,628	0,08	0,019
12	$\alpha$ -Terpinoleno	17,467	0,02	0,005
13	Hepta-1,5-dien-4-ona	17,551	0,01	0,003
14	$\beta$ -Terpineno	18,278	0,01	0,003
15	<i>o</i> -Aliltolueno	18,885	0,03	0,006
16	Linalol	19,894	0,31	0,074
17	Nonanal	20,093	0,02	0,004

18	Neral	20,946	0,04	0,008
19	<i>trans</i> -Pinocarveol	22,835	0,03	0,006
20	Verbenil etil éter	23,072	0,16	0,039
21	Isomentona	23,499	2,49	0,588
22	Canfor	23,617	0,13	0,031
23	Etil benzoato	23,879	0,41	0,096
24	4-Terpineol	24,250	0,14	0,034
25	Mentol	24,371	0,62	0,147
26	1-Borneol	24,668	0,12	0,027
27	4-Terpineol (isómero)	24,721	0,35	0,083
28	Estragol	24,921	0,36	0,085
29	$\alpha$ -Terpineol	25,405	0,09	0,022
30	<i>cis</i> -3-Hexenil isovalerato	26,144	0,19	0,046
31	$\beta$ -Terpineol	26,872	0,10	0,023
32	Pulegona	27,922	3,02	0,714
33	Mentil acetato	29,418	0,09	0,022
34	<i>trans</i> -Anetol	29,746	79,26	18,746
35	<i>trans</i> -Cariofileno	37,63	0,19	0,044
36	$\alpha$ -Amorfenol	37,783	0,12	0,028
37	Curcumeno	38,083	0,04	0,010
38	Nerolidol	42,414	0,05	0,013
39	Óxido de cariofileno (isómero)	43,426	0,62	0,147
40	Espatuleno	44,445	0,60	0,143
41	Óxido de cariofileno (isómero)	44,697	0,17	0,039

Respecto a la composición volátil del **Herbero Comercial HC2** se obtuvieron un total de 32 compuestos, recogidos en la **Tabla 15**; siendo el compuesto mayoritario la pulegona con 2,330 mg/L, seguido de 1,8-cineol (1,057 mg/L), canfor (0,841 mg/L) y mentol (0,630 mg/L).

**Tabla 15:** Composición Volátiles Herbero Comercial HC2.

	Compuesto	Tiempo de retención (min)	Área (% del área total)	Concentración (mg/L)
1	$\alpha$ -Pino	10,940	0,12	0,060
2	Canfeno	11,839	0,15	0,078
3	Etil hexanoato	14,161	0,02	0,012
4	Limoneno	15,246	0,28	0,143
5	<i>p</i> -Cimeno	15,416	0,38	0,194
6	1,8-Cineol	15,866	2,08	1,057
7	$\gamma$ -Terpineno	16,628	0,03	0,016

8	3,8- <i>p</i> -Mentadieno	17,371	0,08	0,039
9	$\alpha$ -Terpinolene	17,467	0,02	0,009
10	Hepta-1,5-dien-4-ona	17,551	0,02	0,012
11	Linalol	19,894	0,85	0,433
12	Nonanal	20,093	0,03	0,016
13	$\beta$ -Cariofileno	20,883	0,32	0,162
14	Verbenil etil éter	23,072	0,16	0,081
15	Canfor	23,617	1,65	0,841
16	Mentona	23,934	0,33	0,166
17	4-Terpineol	24,250	0,15	0,077
18	Mentol	24,371	1,24	0,630
19	1-Borneol	24,668	0,20	0,101
20	4-Tujanol	24,697	0,29	0,146
21	Estragol	24,868	0,51	0,261
22	Fenchil acetato	25,114	0,69	0,349
23	$\alpha$ -Terpineol	25,405	0,10	0,051
24	Pulegona	27,922	4,58	2,330
25	Mentil acetato	29,418	0,05	0,025
26	Bornil acetato	29,516	0,63	0,320
27	<i>trans</i> -Anetol	29,746	82,95	42,197
28	Timol	31,848	0,33	0,169
29	1-Dodecanol	38,543	0,13	0,064
30	Elemol	42,779	0,32	0,165
31	Espatulenol	44,445	0,40	0,202
32	Óxido de cariofileno (isómero)	44,697	0,92	0,466

Tras realizar el análisis correspondiente a la muestra **Herbero Comercial HC3** se aislaron un total de 27 compuestos volátiles (**Tabla 16**); siendo los compuestos principales pulegona con 1,639 mg/L, 1,8-cineol con 0,675 mg/L, mentona con 0,659 mg/L e isomentona con una concentración de 0,607 mg/L

**Tabla 16:** Composición Volátiles Herbero Comercial HC3.

	Compuesto	Tiempo de retención (min)	Área (% del área total)	Concentración (mg/L)
1	$\alpha$ -Pino	10,940	0,06	0,022
2	3-Metil ciclohexanona	13,815	0,04	0,016
3	7-Octen-4-ol	14,144	0,07	0,026
4	$\alpha$ -Felandreno	14,166	0,03	0,009
5	6-Metil-5-hepten-2-ona	14,467	0,08	0,027
6	$\alpha$ -Terpineno	14,748	0,05	0,017

7	Limoneno	15,246	1,31	0,462
8	<i>p</i> -Cimeno	15,416	0,08	0,027
9	$\beta$ -Felandreno	15,561	0,02	0,006
10	1,8-Cineol	15,866	1,92	0,675
11	Linalol	19,894	0,17	0,061
12	Nonanal	20,093	0,04	0,015
13	Verbenil etil éter	23,072	0,20	0,070
14	Isomentona	23,499	1,72	0,607
15	Mentona	23,934	1,87	0,659
16	Isomentol	24,164	0,57	0,202
17	1-Borneol	24,668	0,37	0,131
18	$\alpha$ -Terpineol	25,405	0,20	0,070
19	Pulegona	27,922	4,65	1,639
20	Bornil acetato	29,516	0,17	0,058
21	<i>trans</i> -Anetol	29,746	83,14	29,273
22	Neril acetato	37,652	0,16	0,056
23	Curcumeno	38,083	0,58	0,204
24	Butil hidroxil tolueno	38,973	0,31	0,110
25	Nerolidol	42,414	0,34	0,121
26	Espatulenol	44,445	0,74	0,260
27	Óxido de cariofileno (isómero)	44,697	1,10	0,387

En el caso de la muestra **Herbero Comercial HC4**, una vez realizado el análisis de los compuestos volátiles, se obtuvieron un total de 27 compuestos que quedan reflejados en la **Tabla 17**. El compuesto que aparece con una mayor concentración fue canfor (0,741 mg/L), seguido de 1,8-cineol (0,638 mg/L), carvacrol (0,290 mg/L), y bornil acetato (0,290 mg/L).

**Tabla 17:** Composición Volátiles Herbero Comercial HC4.

	Compuesto	Tiempo de retención (min)	Área (% del área total)	Concentración (mg/L)
1	7-Octen-4-ol	14,144	0,04	0,012
2	3-Octanol	14,787	0,02	0,007
3	Limoneno	15,246	0,09	0,029
4	<i>p</i> -Cimeno	15,416	0,13	0,043
5	1,8-Cineol	15,866	1,86	0,638
6	Linalol (isómero)	19,894	0,22	0,076
7	Nonanal	20,093	0,03	0,010
8	Linalol (isómero)	21,968	0,04	0,013

9	<i>cis</i> -Sabinol	22,885	0,06	0,021
10	Verbenil etil éter	23,072	0,06	0,022
11	Canfor	23,617	2,16	0,741
12	Mentona	23,934	0,14	0,049
13	Estragol	24,868	0,16	0,054
14	$\alpha$ -Terpineol	25,405	0,14	0,047
15	Carvacrol metil éter	26,718	0,06	0,019
16	$\beta$ -Terpineol	26,872	0,09	0,030
17	Geraniol	28,136	0,20	0,068
18	Bornil acetato	29,516	0,84	0,290
19	<i>trans</i> -Anetol	29,746	91,81	31,482
20	Timol	31,848	0,24	0,082
21	Carvacrol	32,549	0,85	0,290
22	Etil decanoato	33,851	0,20	0,067
23	Aromadendreno	37,497	0,09	0,029
24	Curcumeno	38,083	0,04	0,013
25	Nerolidol	42,414	0,07	0,023
26	Espatuleno	44,445	0,34	0,116
27	Óxido de cariofileno (isómero)	44,697	0,06	0,021

Por último, en la muestra **Herbero Comercial HC5** se analizaron y determinaron un total de 25 compuestos volátiles (**Tabla 18**). El compuesto con mayor presencia fue estragol (6,601 mg/L), siendo los compuestos 1,8-cineol (2,609 mg/L), canfor, con 1,967 mg/L y bornil acetato con 1,419 mg/L, los siguientes en orden de concentración.

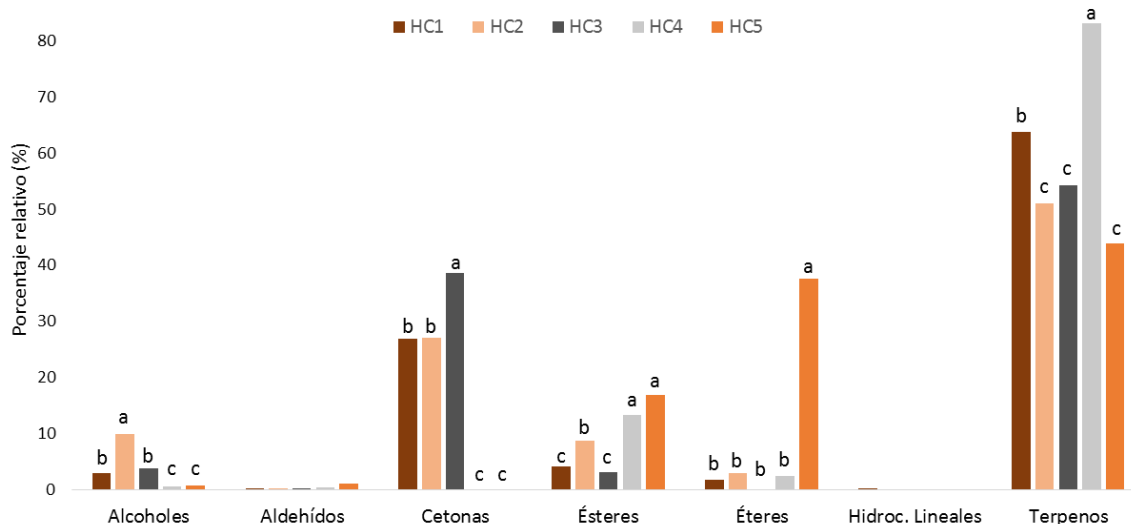
**Tabla 18:** Composición Volátiles Herbero Comercial HC5.

	Compuesto	Tiempo de retención (min)	Área (% del área total)	Concentración (mg/L)
1	Limoneno	15,246	0,02	0,038
2	<i>p</i> -Cimeno	15,416	0,01	0,030
3	1,8-Cineol	15,866	1,18	2,609
4	Linalol (isómero)	19,894	0,15	0,328
5	Nonanal	20,093	0,03	0,057
6	Linalol (isómero)	21,968	0,02	0,042
7	<i>cis</i> -Sabinol	22,885	0,03	0,074
8	Verbenil etil éter	23,072	0,04	0,093
9	Canfor	23,617	0,89	1,967
10	4-Terpineol	24,250	0,03	0,069
11	Mentol	24,371	0,06	0,132
12	1-Borneol	24,668	0,08	0,181



13	Estragol	24,868	2,98	6,601
14	Fenchil acetato	25,114	0,23	0,519
15	$\alpha$ -Terpineol	25,405	0,09	0,203
16	Geraniol	28,136	0,07	0,150
17	Bornil acetato	29,516	0,64	1,419
18	<i>trans</i> -Anetol	29,746	92,08	203,936
19	Timol	31,848	0,11	0,251
20	Geranil acetato	33,454	0,11	0,254
21	Etil decanoato	33,851	0,21	0,472
22	Dodecanal	35,449	0,05	0,102
23	Neril acetato	37,652	0,09	0,207
24	Espatulenol	44,445	0,23	0,508
25	Óxido de cariofileno (isómero)	44,697	0,56	1,245

Si agrupamos todos estos compuestos en base a su familia química obtenemos que la familia mayoritaria fue la de los terpenos (**Gráfico 3**). La muestra HC4 fue la que mayor concentración relativa de estos compuestos presentó (83,1 %) seguida de la muestra HC1 (63,8 %) y por último, por las muestras HC2, HC3 y HC5 que estadísticamente presentaron igual concentración relativa (51,0, 54,2 y 43,8 respectivamente). La siguiente de las familias en cuanto a concentración relativa fueron los éteres, en los que la muestra HC5 obtuvo un valor de 37,5 % frente al 2 % (aproximadamente) que presentaron el resto de las muestras (HC1, HC2, HC3 y HC4). La siguiente familia mayoritaria fueron las cetonas y la muestra HC3 obtuvo la mayor concentración relativa (38,6 %), seguida por las muestras HC1 y HC2 (26,8 y 27,1 respectivamente), y por último por las muestras HC4 y HC5 que no presentaron ningún compuesto de esta familia (0 %). Los alcoholes fueron el siguiente grupo encontrado en función de la concentración relativa de los compuestos. La muestra HC2 fue la mayoritaria con 9,9 %, seguida por las muestras HC1 y HC3 con un 3,0 y 3,3 % respectivamente, y por último por las muestras HC4 y HC5 con un 0,6 y 0,8 % respectivamente. Por último, se obtuvieron compuestos de la familia de los aldehídos e hidrocarburos lineales no encontrándose ninguna diferencia estadísticamente significativa entre las muestras sometidas a estudio.



**Gráfico 3:** Clasificación de los compuestos según sus familias químicas. Valores seguidos por la misma letra, dentro de la misma familia aromática, no son estadísticamente diferentes ( $p \leq 0,05$ ; test de rangos múltiples de Tukey).

Tras el análisis de las muestras de Herberos de la Sierra de Mariola **se han aislado, identificado y cuantificado un total de 64 compuestos aromáticos diferentes**. Para poder visualizar de manera global y sencilla las diferencias y/o similitudes existentes, se han agrupado los 5 compuestos mayoritarios de cada muestra (**Tabla 19**). Como podemos observar, el 1,8-cineol es el compuesto que mayor presencia tiene (presente en todas las muestras analizadas), seguido de canfor, pulegona y cariofileno que están presentes en 3 de las 5 muestras.

**Tabla 19:** Presencia de los compuestos mayoritarios en las muestras estudiadas de Herberos Comerciales.

	HC1	HC2	HC3	HC4	HC5
1 Limoneno	X		X		
2 1,8-Cineol	X	X	X	X	X
3 Isomentona	X		X		
4 Canfor		X		X	X
5 Mentona			X		
6 Mentol		X			
7 Estragol					X
8 Pulegona	X	X	X		
9 Bornil acetato				X	X
10 Carvacrol				X	
11 Óxido de cariofileno	X	X			X
12 Espatuleno				X	

#### 4.3. PREDICCIÓN DE LA COMPOSICIÓN DE LOS HERBEROS COMERCIALES.

El objetivo principal de este Trabajo Fin de Grado es caracterizar los compuestos aromáticos presentes en los Herberos de la Sierra de Mariola e identificar las hierbas aromáticas por las que están compuestos. Para poder interpretar todos los resultados obtenidos y poder llevar a cabo la propuesta inicial de una manera sencilla, se han agrupado en la **Tabla 20** los compuestos mayoritarios encontrados en los licores (elaborados con una de las hierbas), así como los compuestos mayoritarios encontrados en los Herberos comerciales.



Tabla 20: Compuestos comunes entre Licores y Herberos Comerciales.

	Agrimonia	Ajedrea	Cardo Santo	Hierba Luisa	Hinojo	Manzanilla	Melisa	Menta	Poleo	Rabo de gato	Salvia	Tomillo	Total	HC1	HC2	HC3	HC4	HC5	Total
$\alpha$ -Pino	X				X		X	X		X	X	X	7	X	X	X			3
1,1-Dietoxi-3-metil-butano	X				X		X	X		X			5	X					1
Canfeno		X			X		X				X	X	5	X	X				2
Sabineno													0	X					1
3-Metil ciclohexanona									X				1			X			1
7-Octen-4-ol				X									1			X	X		2
Etil hexanoato			X			X							2		X				1
$\alpha$ -Felandreno		X			X					X			3			X			1
6-Metil-5-hepten-2-one	X			X									2	X		X			2
$\alpha$ -Terpineno										X			1	X		X			2
3-Octanol	X	X		X		X		X	X				6	X			X		2
Limoneno	X	X		X	X		X	X		X	X	X	9	X	X	X	X	X	5
<i>p</i> -Cimeno	X	X		X	X	X	X	X	X	X	X	X	11		X	X	X	X	4
$\beta$ -Felandreno										X			1	X		X			2
1,8-Cineol	X	X		X	X	X	X	X	X	X	X	X	11	X	X	X	X	X	5
$\gamma$ -Terpineno				X	X								2	X	X				2
3,8- <i>p</i> -Mentadieno	X								X				2		X				1
$\alpha$ -Terpinolene													0	X	X				2
Hepta-1,5-dien-4-ona						X							1	X	X				2
$\beta$ -Terpineno									X				1	X					1

<b><i>o</i>-Aliltolueno</b>		X						X		X	X	X	5	X					1
<b>Linalol (isómero)</b>	X	X	X	X	X	X	X	X		X	X	X	11	X	X	X	X	X	5
<b>Nonanal</b>	X	X	X	X		X	X			X			7	X	X	X	X	X	5
<b><math>\beta</math>-Cariofileno</b>													0		X				1
<b>Neral</b>				X									1	X					1
<b>Linalol (isómero)</b>		X									X		2				X	X	2
<b><i>t</i>-Pinocarveol</b>		X					X					X	3	X					1
<b><i>c</i>-Sabinol</b>											X		1				X	X	2
<b>Verbenil etil éter</b>	X	X		X	X					X	X	X	7	X	X	X	X	X	5
<b>Isomentona</b>	X	X	X	X		X	X		X	X			8	X		X			2
<b>Canfor</b>					X						X	X	3	X	X		X	X	4
<b>Etil benzoato</b>		X		X			X			X	X		5	X					1
<b>Mentona</b>								X					1		X	X	X		3
<b>Isomentol</b>								X		X			2			X			1
<b>4-Terpineol (isómero)</b>	X	X		X						X	X	X	6	X	X			X	3
<b>Mentol</b>	X		X			X	X	X					5	X	X			X	3
<b>1-Borneol</b>		X				X					X	X	4	X	X	X		X	4
<b><i>t</i>-Sabineno hidratado</b>					X						X		2		X				1
<b>4-Terpineol (isómero)</b>				X									1	X					1
<b>Estragol</b>	X		X	X		X	X			X		X	7	X	X		X	X	4
<b>Fenчил acetato</b>													0	X	X			X	3
<b><math>\alpha</math>-Terpineol</b>		X		X				X		X	X	X	6		X	X	X	X	4
<b><i>c</i>-3-Hexenil isovalerato</b>						X							1	X					1
<b>Carvacrol metil éter</b>		X										X	2				X		1
<b><math>\beta</math>-Terpineol</b>											X		1	X			X		2
<b>Pulegona</b>	X		X				X	X	X	X			6	X	X	X			3
<b>Geraniol</b>		X		X			X				X	X	5				X	X	2

Mentil acetato	X	X				X	X	X					5	X	X							2
Bornil acetato	X	X		X	X					X	X	X	7		X	X	X	X				4
<i>t</i> -Anetol	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	12	X	X	X	X	X				5
Timol	X	X						X	X			X	5		X		X	X				3
Carvacrol		X	X			X			X	X			5				X					1
Geranil acetato				X			X				X		3						X			1
Etil decanoato	X		X		X	X	X						5				X	X				2
Dodecanal					X								1						X			1
Aromadendreno				X		X							2				X					1
<i>t</i> -Cariofileno						X							1	X								1
Neril acetato		X									X		2			X			X			2
$\alpha$ -Amorfeno										X			1	X								1
Curcumeno	X			X									2	X		X	X					3
1-Dodecanol										X			1		X							1
Butil hidroxil tolueno													0			X						1
Nerolidol				X									1	X		X	X					3
Elemol					X							X	2		X							1
Óxido de cariofileno (isómero)		X							X	X	X	X	5	X								1
Epatulenol		X		X	X	X		X		X	X	X	8	X	X	X	X	X				5
Óxido de cariofileno (isómero)		X	X	X			X	X	X		X	X	8	X	X	X	X	X				5

Gracias a la información recogida en la **Tabla 20** se pueden “deducir” las plantas que pueden formar parte de los Herberos Comerciales, ya que, debido a la intención de preservar la confidencialidad de la combinación de hierbas de cada Herbero, no conocemos con exactitud la receta empleada. Por ello, no se pudo afirmar la presencia o ausencia de las mismas, pero sí aportar un grado de probabilidad de presencia o ausencia de las mismas con un nivel de seguridad en función de la cantidad de veces que aparezca un compuesto en los licores ya analizados

Para ello se tomaron en consideración sólo aquellos compuestos que solo se encontraban presentes en tres o menos hierbas para realizar la **Tabla 21**. En dicha tabla se ha señalado con una “X” que pueden encontrarse dentro de la formulación de cada Herbero. Para ello se han creado tres grados de probabilidad:

- “seguro”;
- “muy probable”, y
- “probable”.

El grado “seguro” contabiliza las veces que un compuesto aparece solo en 1 licor estudiado a la vez que en el Herbero Comercial. Mientras que el grado “muy probable” es el recuento de los compuestos que aparecen en 2 ó 3 licores y en el Herbero comercial. Finalmente, el grado “probable” recoge los compuestos que aparecen en 4 ó 5 licores estudiados.

La decisión de tomar los compuestos que aparezcan en un máximo de cinco licores simultáneamente se ha realizado con la intención de reducir la incertidumbre respecto a la presencia de una hierba en particular, dificultando así el modelo de previsión. Además, algunos de los compuestos que aparecen en un elevado número de licores pueden haber sido aportados en gran medida por el anís utilizado en la elaboración de los mismos, por lo que podría inducir a error en el caso de tenerlos en consideración.

**Tabla 21:** Probabilidad de presencia en los Herberos Comerciales.

		Agrimonia	Ajedrea	Cardo Santo	Hierba luisa	Hinojo	Manzanilla	Melisa	Menta	Poleo	Rabo de gato	Salvia	Tomillo
<b>HC1</b>	Seguro <sup>t</sup>				3		4			1	3	1	
	Muy probable	2	1		3	2		1				1	2
	Probable	3	6	1	1	2	3	5	4		4	5	4
<b>HC2</b>	Seguro						1		1		1		
	Muy probable	2		1	1	4	1			1	3	1	2
	Probable	4	4	2		1	3	4	4	1		2	4
<b>HC3</b>	Seguro				2				1	1	2		
	Muy probable	3	2		2	1			1		1	1	
	Probable		1				1					1	1
<b>HC4</b>	Seguro				2				1			2	
	Muy probable	1	2		2	1	1					2	2
	Probable	2	3	2	1	1	2	3	1	1	1	1	2
<b>HC5</b>	Seguro											1	
	Muy probable		2		1	1		1				4	2
	Probable	4	3	3	1	1	3	4	2			2	4

<sup>t</sup>Seguro= compuestos que aparecen solo en 1 licor; muy probable= compuestos que aparecen en 2 o 3 licores; probable= compuestos que aparecen en 4 o 5 licores.

De la **Tabla 21** se pueden deducir las plantas que conforman cada Herbero. También se puede apreciar una importante diferencia en cuanto a la complejidad de unos Herberos frente a otros. A continuación, se ofrece una relación de las posibles combinaciones de cada uno:

- **HC1:** Hay una elevada probabilidad de que este Herbero esté formado al menos por **hierba luisa, manzanilla y rabo de gato**, ya que hay un elevado número de compuestos diferenciadores de estas plantas presentes en el Herbero comercial, además de otros compuestos que están presentes en más hierbas, lo que aumenta dicha probabilidad. Se trata de uno de los Herberos más complejos en cuanto a su composición, ya que es el que mayor número de compuestos dentro del rango “**probable**”, lo que puede llevar a confusión al no poder identificar claramente las plantas.



- **HC2:** En este caso no hay una planta que cuente con un elevado número de compuestos diferenciadores, pero teniendo en cuenta aquellos que aparecen en 2 ó 3 plantas se puede deducir que este Herbero estaría formado por **raño de gato**, mientras que al tener en cuenta los tres grados de probabilidad, aparecen como posibles integrantes del Herbero el **tomillo** y la **ajedrea**.
- **HC3:** Se trata del Herbero con menor complejidad en lo que a presencia de múltiples plantas se refiere. Pero sin embargo es difícil de determinar las plantas que se han empleado con un elevado nivel de seguridad, ya que sólo aparece 1 compuesto diferenciador por planta, y no tiene una sustentación en los dos siguientes grados, si bien se puede destacar la **hierba luisa** y el **raño de gato**, al tener 2 diferenciadores.
- **HC4:** Se trata de una composición un poco más compleja que la anterior, tanto en la cantidad de compuestos como en la falta de compuestos diferenciadores. En este caso se pueden destacar la **hierba luisa** y la **salvia**, ya que, aunque solo aporten 2 compuestos diferenciadores están respaldados por un mayor número de compuestos en los dos siguientes grados de seguridad.
- **HC5:** Se trata del Herbero que mayores problemas presenta a la hora de identificar las plantas aromáticas de su elaboración, ya que sólo la **salvia** aporta 1 diferenciador y tiene un mayor número de compuestos en los apartados “muy probable” y “probable”.

## V. CONCLUSIONES



## 5. CONCLUSIONES

Se han aislado, identificado y cuantificado un total de 140 compuestos que forman parte de la composición volátil del Herbero de la Sierra de Mariola. De entre ellos, se han identificado un total de 17 compuestos que pueden ser claves a la hora de identificar individualmente cada una de las hierbas aromáticas por las que está compuesto este producto.

La familia química de los terpenos es la mayoritaria en los Herberos de la Sierra de Mariola. El compuesto volátil 1,8-cineol es el que mayor presencia tiene, seguido de canfor, pulegona y cariofileno.

Este Trabajo Final de Grado es el primer paso para la elaboración de un modelo matemático capaz de detectar y caracterizar la composición de la bebida espirituosa Herbero de la Sierra de Mariola mediante el análisis de su fracción volátil.



## VI. REFERENCIAS



## 1. REFERENCIAS

- Alibabaei, Z., Rabiei, Z., Rahnama, S., Mokhtari, S., y Rafieian-kopaei, M. (2014). Matricaria Chamomilla extract demonstrates antioxidant properties against elevated rat brain oxidative status induced by amnesic dose of scopolamine. *Biomedicine & Aging Pathology*, 4(4), 355-360. doi:10.1016/j.biomag.2014.07.003
- Alina González-Quevedo. (2002). Toxicidad por metanol y su efecto sobre las vías visuales.pdf. *VITAE: Academia Biomédica Digital*, 12. Obtenido de:
- Altindal, D., y Altindal, N. (2016). Chapter 81 - Sage (*Salvia officinalis*) Oils A2 - Preedy, Victor R *Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety* (pp. 715-721). San Diego: Academic Press.
- Botanical-Online SL. (2017). Botanical online. Obtenido de: <http://www.botanical-online.com>
- Chalchat\_et\_al-. (1998). Study of Clones of *Salvia officinalis* L. Yields and Chemical Composition of Essential Oil. *Flavour\_and\_Fragrance\_Journal*.
- Pliego de Condiciones Herbero Sierra de Mariola (2008).
- Diao, W.-R., Hu, Q.-P., Zhang, H., y Xu, J.-G. (2014). Chemical composition, antibacterial activity and mechanism of action of essential oil from seeds of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.). *Food Control*, 35(1), 109-116. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.06.056>
- Díaz-Maroto, M. C., Castillo, N., Castro-Vázquez, L., González-Viñas, M. Á., y Pérez-Coello, M. S. (2007). Volatile composition and olfactory profile of pennyroyal (*Mentha pulegium* L.) plants. *Flavour and Fragrance Journal*, 22(2), 114-118. doi:10.1002/ffj.1766
- Elicriso.it. (2017). Revista sobre el entorno y la naturaleza. Obtenido de: <http://www.elicriso.it>
- Enciclopedia Colaborativa Cubana. (2010). EcuRed. Obtenido de: [www.ecured.cu](http://www.ecured.cu)
- Feng, X. L., He, Y. B., Liang, Y. Z., Wang, Y. L., Huang, L. F., y Xie, J. W. (2013). Comparative Analysis of the Volatile Components of *Agrimonia eupatoria* from Leaves and Roots by Gas Chromatography-Mass Spectrometry and Multivariate Curve Resolution. *J Anal Methods Chem*, 2013, 246986. doi:10.1155/2013/246986
- Girones-Vilaplana, A., Calin-Sanchez, A., Moreno, D. A., Carbonell-Barrachina, A. A., y Garcia-Viguera, C. (2015). Novel maqui liquor using traditional pacharan processing. *Food Chem*, 173, 1228-1235. doi:10.1016/j.foodchem.2014.10.062
- Goodner, K. L. (2008). Practical retention index models of OV-101, DB-1, DB-5, and DB-Wax for flavor and fragrance compounds. *LWT - Food Science and Technology*, 41(6), 951-958. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2007.07.007>
- Hajavi, D., Kasiri, N., y Ivakpour, J. (2016). A comparative study of different arrangements for methanol distillation process. *Chinese Journal of Chemical Engineering*, 24(9), 1201-1212. doi:10.1016/j.cjche.2016.05.029
- Ministerio de Agricultura, A. y. M. A., Gobierno de España. (2016). *Datos de las bebidas espirituosas con indicación geográfica*. Boletín Oficial del Estado.
- Ministerio de Agricultura y Pesca Alimentación y Medio Ambiente. (2017). MAPAMA. Obtenido de: <http://www.mapama.gob.es>
- Orav, A., Sepp, J., Kailas, T., Müürisepp, M., Arak, E., y Raal, A. (2010). Composition of essential oil of aerial parts of *Chamomilla suaveolens* from Estonia. *Natural Product Communications*, 5(1), 133-136.
- Oukerrou, M. A., Tilaoui, M., Mouse, H. A., Leouifoudi, I., Jaafari, A., y Zyad, A. (2017). Chemical Composition and Cytotoxic and Antibacterial Activities of the Essential Oil of *Aloysia citriodora* Palau Grown in Morocco. *Advances in Pharmacological Sciences*, 2017. doi:10.1155/2017/7801924

- Panse, S. S., y Kandlikar, S. G. (2017). A thermosiphon loop for high heat flux removal using flow boiling of ethanol in OMM with taper. *International Journal of Heat and Mass Transfer*, 106, 546-557. doi:10.1016/j.ijheatmasstransfer.2016.09.020
- Rehman, S.-u., Latief, R., Bhat, K. A., Khuroo, M. A., Shawl, A. S., y Chandra, S. (2017). Comparative analysis of the aroma chemicals of *Melissa officinalis* using hydrodistillation and HS-SPME techniques. *Arabian Journal of Chemistry*, 10, S2485-S2490. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.arabjc.2013.09.015>
- Rubiolo, P., Belliardo, F., Cordero, C., Liberto, E., Sgorbini, B., y Bicchi, C. (2006). Headspace - Solid-phase microextraction fast GC in combination with principal component analysis as a tool to classify different chemotypes of chamomile flower-heads (*Matricaria recutita* L.). *Phytochemical Analysis*, 17(4), 217-225. doi:10.1002/pca.919
- Saharkhiz, M. J., Motamedi, M., Zomorodian, K., Pakshir, K., Miri, R., y Hemyari, K. (2012). Chemical Composition, Antifungal and Antibiofilm Activities of the Essential Oil of *Mentha piperita* L. *ISRN Pharm*, 2012. doi:10.5402/2012/718645
- Tohidi, B., Rahimmalek, M., y Arzani, A. (2017). Essential oil composition, total phenolic, flavonoid contents, and antioxidant activity of *Thymus* species collected from different regions of Iran. *Food Chemistry*, 220, 153-161. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.203>
- U.S. Secretary of Commerce on behalf of the United States of America. (2017). NIST. Obtenido de: <http://webbook.nist.gov/chemistry/name-ser/>
- Wesołowska, A., Grzeszczuk, M., y Jadczyk, D. (2014). Influence of Harvest Term on the Content of Carvacrol, p-Cymene,  $\gamma$ -Terpinene and  $\beta$ -Caryophyllene in the Essential Oil of *Satureja montana*. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 42(2), 392-397. doi:10.15835/nbha4229645

