



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA AGROPECUARIA DE MANABÍ  
MANUEL FÉLIX LÓPEZ**

**DIRECCIÓN DE POSGRADO Y FORMACION CONTINUA**

**INFORME DE TRABAJO DE TITULACIÓN**

**PREVIA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE MAGISTER EN AGROINDUSTRIA**

**MODALIDAD:**

**INFORME DE INVESTIGACIÓN**

**TEMA:**

**INFLUENCIA DE LA MADUREZ EN EL RENDIMIENTO Y LAS  
PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS DEL ACEITE ESENCIAL DEL  
FRUTO DE NARANJO TIPO VALENCIA**

**AUTOR:**

**ING. ZAMBRANO VELÁSQUEZ RAÚL BIENVENIDO**

**TUTOR:**

**Mg. ZAMBRANO VELÁSQUEZ DENNYS LENIN**

**CALCETA, AGOSTO DE 2019**

## **DERECHOS DE AUTORÍA**

Raúl Bienvenido Zambrano Velásquez, declaro bajo juramento que el trabajo aquí descrito es de mi autoría, que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional, y que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

A través de la presente declaración cedo los derechos de propiedad intelectual a la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual y su Reglamento.

---

Raúl Bienvenido Zambrano Velásquez

## CERTIFICACIÓN DE TUTOR

**Mg. ZAMBRANO VELÁSQUEZ DENNYS LENIN**, certifica haber tutelado el proyecto **INFLUENCIA DE LA MADUREZ EN EL RENDIMIENTO Y LAS PROPIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DEL ACEITE ESENCIAL DEL FRUTO DE NARANJO TIPO VALENCIA**, que ha sido desarrollado por el **ING. ZAMBRANO VELÁSQUEZ RAÚL BIENVENIDO**, previo a la obtención del título de Magister en Agroindustrias, de acuerdo al **REGLAMENTO PARA LA ELABORACIÓN DE TRABAJO DE TITULACIÓN** de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López.

---

Mg. ZAMBRANO VELÁSQUEZ DENNYS LENIN

## **APROBACIÓN DEL TRIBUNAL**

Los suscritos integrantes del tribunal correspondiente, declaramos que hemos **APROBADO** el trabajo de titulación **INFLUENCIA DE LA MADUREZ EN EL RENDIMIENTO Y LAS PROPIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DEL ACEITE ESENCIAL DEL FRUTO DE NARANJO TIPO VALENCIA**, que ha sido propuesto, desarrollado y sustentado por el **ING. ZAMBRANO VELÁSQUEZ RAÚL BIENVENIDO**, previa la obtención del título de Magister en Agroindustrias, de acuerdo al **REGLAMENTO PARA LA ELABORACIÓN DE TRABAJO DE TITULACIÓN** de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López.

PhD. Benito Eduardo Valarezo Valdez

**MIEMBRO**

Mg. Sofía Del Rocío Velásquez Cedeño

**MIEMBRO**

PhD. Ely Fernando Sacón Vera

**PRESIDENTE**

## **AGRADECIMIENTO**

A la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López que me dio la oportunidad de crecer como ser humano a través de una educación superior de calidad y en la cual he forjado mis conocimientos profesionales día a día;

A mis padres quienes son la guía principal y fundamental en mi formación personal y profesional.

A mis hermanos Lexy, Doris, Henry, Aracely, Karry, Lenin, Leonidas. Quienes me ayudaron con sus conocimientos, principios, dedicaciones, confianza y ejemplos a ser cada día una mejor persona y salir adelante en la vida y estudios.

A mi enamorada quien me ha apoyado en las buenas y malas, y ser pilar del esfuerzo dado día a día.

A mi tutor y hermano por haberme ayudado con sus conocimientos para que este proyecto sea posible en su ejecución.

---

**ING. ZAMBRANO VELÁSQUEZ RAÚL BIENVENIDO**

## **DEDICATORIA**

“La vida es el acuerdo al que llegamos entre lo que el ego desea hacer, lo que la experiencia nos dice que hagamos y lo que los nervios nos permiten hacer.” Este trabajo va dedicado de todo corazón primeramente al todo creador, porqué me dio la capacidad de realizarme como persona, estudiante y profesional.

Por tal motivo quiero dedicar todo este esfuerzo y empeño, a mis padres que me apoyaron en los momentos de progreso, a esas personas que me estriban a vencer toda limitación en el camino profesional y siguen acrecentando conocimientos con sus palabras invictas por decir siempre que si se puede.

Con mucha gratitud para mis compañeros a mis profesores, tutor en fin a todas las personas que me ayudaron a cumplir este sueño que para mí es mi orgullo.

---

**ING. ZAMBRANO VELÁSQUEZ RAÚL BIENVENIDO**

## CONTENIDO GENERAL

DERECHOS DE AUTORÍA .....	ii
CERTIFICACIÓN DE TUTOR .....	iii
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL .....	iv
AGRADECIMIENTO .....	v
DEDICATORIA .....	vi
CONTENIDO GENERAL.....	vii
CONTENIDO DE TABLA Y FIGURAS .....	ix
RESUMEN .....	xi
ABSTRACT.....	xii
<b>CAPITULO I. ANTECEDENTES.....</b>	<b>1</b>
1.1. Planteamiento y formulación del problema.....	1
1.2. Justificación .....	1
1.3. Objetivos .....	2
1.3.1. Objetivo general .....	2
1.3.2. Objetivos específicos .....	2
1.4. Hipótesis .....	3
<b>CAPITULO II. MARCO TEÓRICO .....</b>	<b>4</b>
2.1. Aceite esencial Ecuador .....	4
2.1.1. Obtención de aceites esenciales .....	4
2.1.2. Los cítricos .....	4
2.2. Estados de madurez .....	5
□ coloración.....	5
2.3. Aceite esencial (AE) .....	5
2.3.1. Clasificación .....	6
□ Consistencias.....	7
□ Origen .....	7
□ Naturaleza química .....	7
2.3.2. Métodos de extracción .....	8
2.3.3. Características .....	11
2.3.4. Usos y aplicaciones.....	11
2.3.5. Medición propiedades químicas .....	12
□ Cromatografía de gases .....	12
2.3.6. Medición propiedades físicas .....	12
2.3.7. Densidad.....	13
2.4. Naranja .....	13
2.4.1. Variedades de naranja .....	14
2.4.2. Características .....	15
2.4.3. Usos.....	15
2.4.4. Pérdidas y desperdicios .....	15
2.4.5. Componentes del aceite esencial de naranja .....	16

<b>CAPÍTULO III. DISEÑO METODOLÓGICO.....</b>	<b>17</b>
3.1. Ubicación de la investigación .....	18
3.2. Duración de la investigación.....	18
3.2.1. Métodos .....	18
3.2.2. Factores en estudios .....	18
3.3. Diseño experimental .....	19
3.3.1. Análisis estadísticos .....	19
3.4. Unidad experimental .....	20
3.5. Variables .....	20
3.5.1. Variable independiente.....	20
3.5.2. Variables dependientes.....	20
3.6. Manejo del experimento .....	20
3.6.1. Diagrama de proceso de extracción de ae a partir de la cáscara de naranja .....	21
3.6.2. Descripción del diagrama de proceso .....	22
3.7. Determinación de propiedades físicas.....	24
3.8. Composición química .....	24
3.8.1. Análisis del ae por cromatografía en cg-ms.....	25
3.8.2. Corrida cromatográfica en la columna no polar DB5-MASAS acoplado a espectrometría de masas .....	25
3.8.3. Identificación cualitativa y cuantitativa de los compuestos químicos del ... ae de cáscara de naranja, en la columna no polar.....	26
3.8.4. Cuantificación de los compuestos identificados mediante cromatografía de gases .....	27
<b>CAPÍTULO IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>28</b>
4.1. Propiedades físicas.....	28
4.2. Composición química AE .....	29
4.2.1. Dicotomía.....	30
<b>CAPÍTULO V CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....</b>	<b>36</b>
5.1. Conclusiones .....	36
5.2. Recomendaciones .....	36
<b>BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>37</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>44</b>



## CONTENIDO DE TABLA Y FIGURAS

### Tablas:

1 Métodos de Extracción.....	8
2 Características .....	15
3 Tratamientos .....	19
4 Espacial de color de naranjas .....	22
5 Diámetro de naranjas.....	22
6 Condiciones de operación de la columna no polar .....	25
7. Propiedades físicas del AE .....	28
8 Propiedades químicas linalool.....	30
9 Propiedades para pinene, myrcene, limonene .....	30
10 Variables en la ecuación para Sabinene .....	31
11 Variables en la ecuación para octanal.....	32
12 Variables en la ecuación para ocimene $\langle(e)-\beta-\rangle$ .....	33
13 Variables en la ecuación para decanal.....	34
14 Variables en la ecuación para carane .....	35

### Figura:

3.1. Diagrama de proceso de extracción de AE a partir de la cáscara de naranja.....	21
---	----

### ANEXOS:

1.a. Determinación del porcentaje de rendimiento .....	45
2.a. Determinación de la densidad relativa a 20 °c.....	46
3.a. Determinación del índice de refracción .....	48
4.a. Determinación de la actividad óptica específica .....	50
5.a. Determinación del índice de retención .....	53
6.a. Supuestos del adeva para propiedades físicas .....	54
7.a. Adeva para propiedades físicas .....	55
8.a. Categorización para actividad óptica.....	56
9.a. Db5-masas naranjas .....	57
10.a. Supuestos del adeva para propiedades químicas .....	58
11.a. Adeva para propiedades químicas .....	59
12.a. Categorización para linalool .....	60
13.a. Adeva de kruskal-wallis para pinene, myrcene, limonene .....	61
14.a. Dicotomía propiedades químicas resumen del modelo para sabinene ....	62
14.b. Dicotomía propiedades químicas prueba de hosmer y lemeshow para sabinene.....	62
14.c. Dicotomía propiedades químicas clasificación para sabinene .....	62
15.a. Dicotomía propiedades químicas resumen del modelo para octanal .....	63
15.b. Dicotomía propiedades químicas prueba de hosmer y lemeshow para octanal.....	63
15.c. Dicotomía propiedades químicas clasificación para octanal .....	63

16.a. Dicotomía propiedades químicas resumen del modelo para ocimene <(e)-β-> .....	64
16.b. Dicotomía propiedades químicas prueba de hosmer y lemeshow para ocimene <(e)-β-> .....	64
16.c. Dicotomía propiedades químicas clasificación para ocimene <(e)-β-> ....	64
18.a. Dicotomía propiedades químicas resumen del modelo para decanal .....	65
17.b. Dicotomía propiedades químicas prueba de hosmer y lemeshow para decanal .....	65
17.c. Dicotomía propiedades químicas clasificación para decanal .....	65
18.a. Dicotomía propiedades químicas resumen del modelo para carane .....	66
18.b. Dicotomía propiedades químicas prueba de hosmer y lemeshow para carane .....	66
18.c. Dicotomía propiedades químicas clasificación para carane .....	66
19.a. Materia prima .....	67
20.a. Recpcion y clasificacion de materia prima .....	68
21.a. Pesado .....	69
22.a. Pelado .....	70
23.a. Evaporacion .....	71
24.a. Destilacion .....	72
25.a. Decantacion .....	73
26.a. Filtrado .....	74
27.a. Envasado .....	75
28.a. Muestras para laboratorio .....	76
29.a. Resultados indice de fracción .....	77
30.a. Resultados actividad optica .....	78

## RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del estado de madurez de la naranja sobre el rendimiento y las características físicas-químicas del aceite esencial (AE) extraído de la cáscara. Como variante se emplearon tres estados de madurez (verde, pintona, madura), definidos por análisis de colorimetría. El ensayo se condujo con un DCA y tres réplicas, mientras que la unidad experimental estuvo constituida por 30 naranjas que pesaron aproximadamente 5 kg, de acuerdo al requerimiento del evaporador, que se utilizó para la extracción de los AE, mediante el método de arrastre. Al AE extraído se evaluó el rendimiento y las propiedades físicas: densidad, actividad óptica e índice de refracción. La composición química del AE se determinó mediante un cromatógrafo de gases acoplado a espectrometría de masas CG/EM. El rendimiento de AE resultó no significativo, los valores oscilaron entre 0,34-0,57%, al igual que densidad 0,84 mL/g e índice de refracción 1,47, en la actividad óptica compartieron categoría estadística los estados de madurez verde y madura con promedios de 113,59°, respectivamente. En composición química el componente mayoritario fue limonene con 96%, independientemente del estado de madurez. La proporción restante correspondió, en cantidades mínimas, a los siguientes componentes; el linalool que resultó mejor en naranjas verdes; el pinene y myrcene donde no incidió el estado de madurez; para sabinene, octanal, ocinene, decanal y carane los tratamientos no explican la presencia de estos compuestos, según el análisis de dicotomía. Se concluye que es posible extraer el AE indiferentemente al estado de madurez.

**Palabras claves:** *Citrus sinensis*, cromatografía de gases, actividad óptica.

## ABSTRACT

The aim of this research was to evaluate the effect of the state of maturity of the orange on the yield and the physical-chemical characteristics of the essential oil (AE) extracted from the peel. As a variant, three maturity stages were used (green, pintona, mature), defined by colorimetric analysis. The test was conducted with one DCA and three replications, while the experimental unit consisted of 30 oranges weighing approximately 5 kg, according to the evaporator requirement, which was used for the extraction of the EA, by means of the entrainment method. The extracted PE was evaluated for performance and physical properties: density, optical activity and refractive index. The chemical composition of the EA was determined by a gas chromatograph coupled to CG/MS mass spectrometry. The performance of AE was not significant, the values oscillated between 0.34-0.57%, as well as density 0.84 mL/ g refractive index 1.47, in the optical activity they shared statistical category the states of green maturity and matures with averages of 113.59°, respectively. In chemical composition, the majority component was limonene with 96%, regardless of the state of maturity. The remaining proportion corresponded, in minimum quantities, to the following components; the linalool that turned out better in green oranges; the pinene and myrcene where the state of maturity did not affect; for sabinene, octanal, ocinene, decanal and carane the treatments do not explain the presence of these compounds, according to the dichotomy analysis. It is concluded that it is possible to extract the AE indifentemente to the state of maturity.

**Keywords:** Citrus sinensis, gas chromatography, optical activity.

## **CAPITULO I. ANTECEDENTES**

### **1.1. PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA**

La producción nacional de naranja en el año 2015 fue de 116.809 toneladas (Ministerio De Agricultura Y Ganaderia, 2016). La provincia que más aporta a esta producción es Manabí, cantones cómo Flavio Alfaro, Chone, El Carmen, Bolívar son productores (La Hora, 2013). El cantón Bolívar cuenta con dos parroquias rurales Quiroga y Membrillo, siendo Membrillo la que abastece principalmente el mercado (Moreira & Intriago, 2014).

En la poscosecha los fenómenos fisiológicos que se producen, crean espacios en la búsqueda de alternativas de conservación (Cusme, Gallo, Cedeño, García, & Villavicencio, 2016). Basillo (2008) en su investigación reporta que existe 47,68% de desperdicio en la naranja. Estos residuos son de origen natural y pueden generar problemas adicionales a su transporte y manipulación, como por ejemplo la generación de malos olores y/o la propagación de microorganismos perjudiciales (Escalante, Santos, Rojas, & Lárez, 2012).

Es por ello que, esta investigación propone la determinación del rendimiento, las propiedades físicas, caracterización química del aceite esencial (AE) de la cáscara de naranja en tres estados de madurez.

Por lo antes expuesto, se plantea la pregunta de investigación ¿El estado de madurez de la naranja provocará diferentes rendimientos y características físico-químicas del aceite esencial?

### **1.2. JUSTIFICACIÓN**

Una de las causas de las pérdidas y el desperdicio de alimentos en países con bajos ingresos, están relacionadas con las limitaciones económicas, gestión y técnicas de aprovechamiento (Gustavsson, Cederberg, Sonesson, Van Otterdijk, & Meybeck, 2012). Para mitigar este problema se puede aprovechar la cáscara de naranja la misma que está constituida, Según Ayala *et al.* (2016) por 16,90%

de azúcar; 3,75% almidón; 9,21% celulosa; 10,50% hemicelulosa; 0,85% lignina; 42,50% pectinas; 3,50% cenizas; 6,50% de proteína y 4,80% de aceite esencial.

El aceite de naranja posee propiedades terapéuticas como antiespasmódico, antiinflamatorio, antiséptico, sobre el sistema nervioso y circulatorio. En su investigación León, Fortich, Del Rosario, & Martínez (2015) reporta los compuestos, 0,38%  $\alpha$ -pineno; 0,20% Sabinene; 1,13%  $\beta$ -Mirceno; 89,68% limoneno; 0,59% Linalool; 0,4% Terpinoleno; 100% Monoterpenos; 0% Sesquiterpenos; 0% otros; con un 92,38% de compuestos identificados. El limoneno es un componente mayoritario y presenta actividad antibacteriana (Matiz, Osorio, Camacho, Atencia, & Herazo, 2012).

Ygueravide (2017). En su investigación reporta que el estado de madurez en gábulos de *juniperus oxycedrus L* mostraron diferencias con respecto al rendimiento en composición química, a lo que Barón, Villa, & Peláez (2012) también reportan diferencias en el contenido de AE, al variar el estado de madurez. Con lo expuesto anteriormente, se plantea evaluar si el estado de madurez de la naranja afectará el rendimiento y características fisicoquímicas del AE.

### **1.3. OBJETIVOS**

#### **1.3.1. OBJETIVO GENERAL**

- Evaluar el efecto del estado de madurez sobre el rendimiento y las características físicas-químicas del aceite esencial de naranja *Citrus Sinensis L. Osbeck*.

#### **1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Determinar el rendimiento del aceite esencial de tres estados madurez de la naranja.

- Determinar el efecto del estado de madurez sobre las propiedades físicas del aceite esencial.
- Determinar el efecto del estado de madurez sobre la composición química del aceite esencial.

#### **1.4. HIPÓTESIS**

Al menos uno de los estados de madurez tiene efectos sobre el rendimiento y propiedades físico-químicas del aceite esencial.

## CAPITULO II. MARCO TEÓRICO

### 2.1. ACEITE ESENCIAL ECUADOR

Una investigación en la provincia del Guayas, formuló un plan de negocios para la extracción de aceites esenciales de plantas aromáticas de ciclo corto, para la exportación a la industria farmacéutica y de cuidado personal. Tomando los siguientes datos: las importaciones mundiales de aceites esenciales ascendieron a 4,6 miles de millones de dólares, los principales países con demanda internacional fueron Estados Unidos, Alemania, Reino Unido, Países Bajos, China, Francia, España, Japón y Canadá, juntos concentran el 65,36 % del total de la demanda internacional. La empresa Young Living estimó ventas 3'403.074,53; considerando una tasa de oportunidad del 14,9 %; el valor actual neto de US\$ 91.706,27 y una tasa interna de retorno del 30,9% (H. Hernández & Camacho, 2017).

#### 2.1.1. OBTENCIÓN DE ACEITES ESENCIALES

En la conferencia de Ginebra, los AE fueron definidos como: "El producto exclusivo de la extracción de los principios aromáticos volátiles contenidos en las plantas de las cuales llevan su nombre" (Montoya, 2010). Según Paredes & Quinatoa (2010) estos AE brindan inspiración y motivación para vivir gracias a que estos ionizan nuestro aire y mejoran nuestro medio ambiente.

**2.1.2. LOS CÍTRICOS** Se caracterizan fundamentalmente por sus frutos grandes que contienen grandes cantidades de ácido cítrico, el cual tiene su fórmula química  $C_3H_4OH(COOH)_3$ , la misma que les proporciona el característico sabor ácido. Además todos los miembros del género *Citrus* contienen varios componentes que les otorgan aromas muy profundos. De la naranja, no solamente se aprovecha la pulpa para hacer jugos alimentarios, sino que también, de la cáscara de la naranja se obtienen aceites que pueden ser utilizados como aromatizantes en diferentes industrias. Este aceite esencial es considerado uno de los ingredientes básicos en las industrias de perfumería, alimentos, agronómica y farmacéutica (Yáñez, Lugo, & Parada, 2007).



## **2.2. ESTADOS DE MADUREZ**

El estado de madurez de los frutos cítricos es una de las características que se consideran en todas las normas, obligatorias o advertidas, que se han elaborado para garantizar que los frutos cítricos satisfagan las exigencias del consumidor con lo que a calidad se refiere (Quinza & Lopez, 1978).

La madurez de las naranjas se define de acuerdo con los siguientes parámetros: Coloración; Contenido mínimo de zumo (jugo) calculado en relación al peso total del fruto y después de la extracción del zumo (jugo) por medio de una prensa manual.

- **COLORACIÓN**

El grado de coloración deberá ser tal, que después de un desarrollo normal, las naranjas tengan el color habitual de la variedad en su punto de destino, teniendo en cuenta el tiempo de recolección, el área de producción y la duración del transporte. La coloración deberá ser la típica de la variedad. Se admiten frutos con coloración verde clara, siempre que no supere un quinto de la superficie total del fruto.

Las naranjas producidas en áreas donde prevalecen condiciones de temperatura y humedad relativamente alta durante el período de desarrollo, pueden tener una coloración verde, que exceda un quinto de la superficie total del fruto (Codex Stan 245, 2004). En otra investigación realizada en Colombia, determinaron el estado de madurez según el color de la cáscara (Del Pilar, Fischer, & Corredor, 2007).

## **2.3. ACEITE ESENCIAL (AE)**

Los AE son mezclas complejas de metabolitos secundarios volátiles lipofílicos,

los mismos que son obtenidos a partir de fracciones volátiles de las plantas las cuales fueron sometidas a procesos de destilación a vapor (Vélez , Campos, & Sánchez, 2014).

Los AE son considerados metabolitos secundarios de las plantas, estos son fracciones líquidas volátiles que proporcionan aromas y sabores característicos a las plantas, están constituidos por mezclas complejas de hidrocarburos, compuestos oxigenados y residuos no volátiles (M. Torrenegra, Granados, Osorio, & León, 2015).

Los AE se componen, principalmente, de terpenos, de terpenoides y de algunos otros componentes aromáticos y alifáticos, que suelen tener un fuerte olor y bajo peso molecular (Granados, Santafé, & Acevedo, 2015). De los cuales, al menos 3000 se han identificado y 300 están comercialmente disponibles para diversos usos como: la fabricación de perfumes, cosméticos, productos de limpieza, insecticidas, conservantes y aditivos de alimentos (Velandia, Flechas, Stashenko, & Ocazonez, 2016).

En los AE se tiene una amplia diversidad con respecto al rendimiento y composición química, entre los factores que influyen en la composición y concentración de los constituyentes tenemos: condiciones climáticas como la duración del día, la irradiación solar, la temperatura y el abastecimiento de agua, el lugar de crecimiento de la planta y la época de cosecha; así como los factores intrínsecos a la planta como la edad y el estado de desarrollo. La composición del aceite esencial también varía de acuerdo al órgano o parte de la planta del cual ha sido extraída (Scalvenzi, Yaguache, Cabrera, & Guerrini, 2016a).

### **2.3.1. CLASIFICACIÓN**

Los aceites esenciales se clasifican con base en diferentes criterios: consistencia, origen y naturaleza química de los componentes mayoritarios (A. Martínez, 1996).

- **CONSISTENCIAS**

Las esencias fluidas son líquidos volátiles a temperatura ambiente. Los bálsamos son de consistencia más espesa, poco volátiles y propensos a sufrir reacciones de polimerización, son ejemplos, el bálsamo de copaiba, el bálsamo del Perú, bálsamo de Tolú, Estoraque, etc.

Las oleorresinas tienen el aroma de las plantas en forma concentrada y son típicamente líquidos muy viscosos o sustancias semisólidas (caucho, gutapercha, chicle, oleorresina de paprika, de pimienta negra, de clavo, etc.) (Álvarez, Meléndez, & Cosío, 2012).

- **ORIGEN**

Pueden ser de origen natural, artificial o sintético. Los naturales se obtienen directamente de la planta y no sufren modificaciones físicas ni químicas posteriores, debido a su rendimiento tan bajo son muy costosas. Los artificiales se obtienen a través de procesos de enriquecimiento de la misma esencia con uno o varios de sus componentes, por ejemplo: la mezcla de esencias de rosa, geranio y jazmín enriquecida con linalol o la esencia de anís enriquecida con anetol.

Los aceites esenciales sintéticos como su nombre lo indica, son los producidos por la combinación de sus componentes, los cuales la mayoría de las veces, se producen por procesos de síntesis química. Estos son más económicos y por lo tanto son mucho más utilizados como aromatizantes y saborizantes (esencias de vainilla, limón, frutilla, etc.) (Albarracín & Gallo, 2003).

- **NATURALEZA QUÍMICA**

Se clasifican por la naturaleza los compuestos mayoritarios: Monoterpenoides, Sesquiterpenoides, Compuestos oxigenados (Á. González, 2004). Los monoterpenos y en general todos los compuestos terpenoides naturales se biosintetizan por la ruta de la acetilcoenzima, a través de un intermedio común

que es el ácido mevalónico. Sin embargo, recientemente se ha propuesto que algunos terpenoides no se originan por esta ruta, sino por una ruta alterna que puede involucrar piruvato, gliceraldehído-3-fosfato y un intermedio de 5 átomos de carbono: 1-desoxi-xilulosa-5-fosfato (A. M. Martínez, 2001).

Los sesquiterpenoides se caracterizan por poseer 15 átomos de carbono y por tanto tres unidades de isopreno. Aunque por regla general, la mayoría de ellos presentan una unión regular “cabeza-cola”, existen algunos que son el resultado de transposiciones en esta estructura.

Aparecen ampliamente distribuidos en la naturaleza, se encuentran en los aceites esenciales, al igual que los monoterpenos, pero con mayor frecuencia que estos en: hongos, plantas no vasculares e incluso en algunas bacterias como *Streptomyces*. Este grupo presenta gran variabilidad natural pudiendo encontrar hidrocarburos, alcoholes, cetonas y sus derivados, ésteres, glicósidos y alcaloides sesquiterpénicos (Palá, Pérez, & Velasco, 2002).

### 2.3.2. MÉTODOS DE EXTRACCIÓN

**Tabla 1** Métodos de Extracción

Tipo de método	Procedimiento	Productos obtenidos
Métodos directos	Extracción	Aceites esenciales cítricos
	Exudación	Gomas, resinas, bálsamos
Destilación	Directa	
	Arrastre con vapor de agua Destilación = maceración (liberación enzimática de agliconas en agua caliente )	Aceites esenciales y aguas aromáticas
Extracción con solventes	Solventes volátiles	Infusiones y resinoides alcohólicas Concretos absolutos
	Solventes fijos (grasas y aceites) Extracción con fluidos en estado supercrítico	Absolutos de pomadas Absolutos de enfiorados

Fuente: (Servicio Nacional De Aprendizaje, s.f)

La mayoría de los aceites esenciales son extraídos por la industria por métodos económicos como prensado en frío o destilación con vapor de agua (Navarrete,

Gil, Durango, & Garcia, 2010). A medida que el agua se calienta y se evapora, los componentes volátiles se vaporizan (F. González & Mondragón, 2007).

- **MÉTODOS DIRECTOS**

Los métodos directos se aplican principalmente a los cítricos, porque sus aceites están presentes en la corteza de la fruta, y el calor de los métodos de destilación puede alterar su composición. El aceite de los cítricos está contenido en numerosas celdas del epicarpio. Al exprimir la corteza, tales celdas se rompen y liberan el aceite, el cual se recoge inmediatamente para evitar que sea absorbido por la corteza esponjosa que resulta después de este tipo de procesos.

Los fenómenos que ocurren durante la extracción del aceite se clasifican en varias etapas, laceración de epidermis y de las celdas que contienen la esencia. Generación en la cáscara de áreas con presión mayor que sus circundantes a través de las cuales, el aceite fluye al exterior. Abrasión de la cáscara, con formación de pequeñas partículas de la raspadura.

Raspado en algunos de los equipos en los que se realiza este procedimiento, sale la esencia ya liberada, mientras que en otros se obtienen raspaduras las cuales son comprimidas. La exudación, éste procedimiento se utiliza básicamente para aislar las gomorresinas de árboles y arbustos (Lzro, s.f).

- **DESTILACIÓN CON ARRASTRE CON VAPOR DE AGUA**

Es una de las técnicas más comunes que permite la separación de sustancias ligeramente volátiles e inmiscibles en agua por medio de una destilación a baja temperatura. Es particularmente útil, cuando la sustancia hierve a una temperatura superior a los 100°C y se descompone por debajo de su punto de ebullición o cuando se quiere separar una cantidad relativamente pequeña de una sustancia que se encuentra mezclada con gran cantidad de sólidos o productos alquitranosos y donde la destilación, filtración y extracción son difíciles o impracticables. Se usa generalmente en el aislamiento de productos naturales y de productos de reacción, que están impurificados con productos resinosos.

Este proceso consiste, en una vaporización a temperaturas inferiores a las de ebullición de cada uno de los componentes volátiles por efecto de una corriente directa de vapor de agua, el cual ejerce las funciones de calentar la mezcla hasta su punto de ebullición y disminuir la temperatura de ebullición, por adición de la tensión del vapor que se inyecta a la de los componentes volátiles de los aceites esenciales. Los vapores que salen del destilador se enfrían en un refrigerante donde regresan a la fase líquida, agua y aceite esencial, y finalmente se separan en un decantador o vaso florentino (García, 2015).

- **EXTRACCIÓN CON SOLVENTES**

La extracción por solventes es un proceso que implica la extracción de aceite de los materiales que lo contienen mediante el tratamiento con disolventes, en comparación con la extracción de los aceites por métodos mecánicos de presión, como expulsores o prensas hidráulicas. Con el método de extracción con disolventes se recupera casi todo el aceite, dejando tras de sí solo del 0,5- 0,7% de aceite residual en la materia prima. En el caso de la presión mecánica del aceite residual que queda en la torta de aceite puede estar entre el 6% al 14%.

El método de extracción con solventes se puede aplicar directamente a los materiales de bajo contenido en aceite crudo. También puede utilizarse para sacar el aceite de tortas obtenidas de los materiales con alto contenido y que han sido prensados previamente. Debido al alto porcentaje de aceite recuperado, la extracción con solventes se ha convertido en el método más popular de extracción.

La grasa es uno de los componentes esenciales de la dieta humana, por lo tanto la demanda de aceites y grasas incrementa con el aumento de la población y los niveles de vida, y grandes cantidades de tortas de aceite, como el maní, semilla de algodón, ricino linaza, neem, copra o girasol se emplean para la extracción en la actualidad. También se utiliza la extracción directa de salvado de arroz y soja (Henan Kingman Mechanical & Electrical Complete Plant Co, s.f).

### 2.3.3. CARACTERÍSTICAS

La caracterización de un aceite esencial inicia con la designación de la fuente vegetal, planta, de la cual fue aislado y la parte de la planta utilizada (flores, hojas, frutos, rizomas, raíces, etc.). Es importante suministrar, junto con el nombre vulgar (*vernáculo*) de la planta, por ejemplo, romero, su nombre botánico (identificación taxonómica), que consta de los nombres del género y de la especie, en este caso, *Rosmarinus* (género) *officinalis* (especie) de la familia Labiatae y, si existe la subespecie o la variedad de la planta, es importante agregarla. Es necesario también especificar, si hay, el *quimiotipo* de la planta, que recibe a menudo su nombre por el compuesto mayoritario o distintivo, presente en el aceite esencial (Stashenko, 2009).

La identificación botánica, se da a través del nombre científico de la planta, esto para evitar confusiones. Por ejemplo, bajo el nombre vulgar de “manzanilla” pueden figurar distintas especies, con aceites esenciales de composición y propiedades bien diferentes, la manzanilla alemana es *Matricaria recutita* (*Matricaria chamomilla*) y la manzanilla romana es *Anthemis nobilis*; ambas pertenecen a la familia Asteraceae (Compositae) y ambas se llaman comúnmente “manzanilla”.

Junto con la identificación botánica, se deben indicar la procedencia de la planta, o sea, en dónde estaba cultivada (país, región) y cuál fue el método de extracción de su aceite esencial (arrastre con vapor o hidrodestilación) (Stashenko, 2009).

### 2.3.4. USOS Y APLICACIONES

Entre los usos más comunes tenemos: En las industrias alimenticias, farmacéuticas, cosméticos, productos de uso veterinario, desodorantes industriales, tabaqueras, y biocidas e insecticidas (Upm (Universida Politécnica De Madrid), 2010), también para el control de hongos fitopatógenos, los mismos que ocasionan relevantes pérdidas de los cultivos agrícolas (Scalvenzi, Yaguache, Cabrera, & Guerrini, 2016b).

### **2.3.5. MEDICIÓN PROPIEDADES QUÍMICAS**

Para las propiedades químicas, las técnicas cromatográficas son las más utilizadas, sin embargo, permiten el análisis simultáneo de varios componentes y presentan mayor precisión, exactitud y especificidad comparado con el resto de metodologías. Dentro de las técnicas cromatográficas, encontramos la cromatografía en capa fina, cromatografía de gases y cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) (López, Segovia, & Martínez, 2017).

- **CROMATOGRAFÍA DE GASES**

La cromatografía es un método físico de separación para la caracterización de mezclas complejas, la cual tiene aplicación en todas las ramas de la ciencia y la física. Es un conjunto de técnicas basadas en el principio de retención selectiva, cuyo objetivo es separar los distintos componentes de una mezcla, permitiendo identificar y determinar las cantidades de dichos componentes (Parrales, Vera, & Tobar, 2012).

En cromatografía de gases (GC), la muestra se volatiliza y se inyecta en la cabeza de una columna cromatográfica. La elución se produce por el flujo de una fase móvil de un gas inerte, y a diferencia de la mayoría de los tipos de cromatografía, la fase móvil no interacciona con las moléculas del analito, su única función es la de transportar el analito a través de la columna.

Existen dos tipos de cromatografía de gases: la cromatografía gas-sólido (GSC) y la cromatografía gas-líquido (GLC). La cromatografía gas-líquido tiene gran aplicación en todos los campos de la ciencia y su denominación se abrevia normalmente como cromatografía de gases (GC) (Gomis, 2008).

### **2.3.6. MEDICIÓN DE PROPIEDADES FÍSICAS**

Propiedad física de una sustancia es aquella que se puede medir y observar sin modificar la composición de la sustancia ejemplo: el color, el punto de fusión, y la densidad. Las propiedades fisicoquímicas identifican las sustancias orgánicas



e inorgánicas entre ellas densidad, estructura cristalina, punto de fusión, punto de ebullición, calor específico, calor de combustión, calor latente de vaporización, viscosidad, tensión superficial, peso molecular y solubilidad entre otras ("Propiedades físicoquímicas que miden o identifican la materia. ", s.f).

Las principales propiedades físicas de los AE son su olor pronunciado y penetrante; el sabor cáustico, irritante y concentrado, a veces dulce o amargo, o el sabor aromático y sensación de fármaco; su densidad suele ser inferior a la del agua, salvo los de canela, clavo de olor y sasafrás, con una densidad superior a la unidad, además son ópticamente activos; de peso específico de 0,8 a 2,0 a temperatura de 15 °C; con punto de ebullición de 150 a 300 °C; índice de refracción de 1,45 a 1,5. Además, se alteran fácilmente bajo la acción de la luz, tornándose oscuros y modificando su perfume (Montolla, 2010).

### **2.3.7. DENSIDAD**

La densidad, de un cuerpo se define como la masa por unidad de volumen. Similarmente el peso específico se define como el peso por unidad de volumen. Para un cuerpo homogéneo (es decir, aquel para el cual sus propiedades son iguales en todas sus partes), la densidad es una característica de la sustancia de la que el mismo está compuesto.

La densidad es una típica magnitud intensiva, es decir, una magnitud que no depende de la cantidad de materia que compone al cuerpo, sino sólo de su composición. Otros ejemplos de magnitudes intensivas son la temperatura, la presión, etc. A diferencia de las magnitudes intensivas, las magnitudes extensivas son aquellas que varían en forma proporcional a la cantidad de materia que constituyen el cuerpo. A esta última categoría corresponden la masa, el peso, el volumen, el número de moléculas, etc (Gil & Rodríguez, 2001).

## **2.4. NARANJA**

Los cítricos son una especie que pertenece a la clase Angiospermae, subclase dicotiledónea, a la orden rutae, a la familia rutaceae y al género citrus. Existen

145 especies de cítricos y entre ellos la naranja. La variedad de naranja se diferencia según el uso que se le vaya a dar, es decir si es para consumo fresco o para congelar. De esta manera se pueden determinar tres grupos: Navel, blancas y sanguinas (Centro para la Formación Empresarial, 2004).

Las primeras semillas llegaron a América con el segundo viaje de Cristóbal Colón, específicamente a Haití, pasando luego a Cuba, Florida y California, desde estas áreas, comienza a difundirse por todo el Caribe y América del Sur; En Ecuador, las blancas son las más comunes, conocidas también como valencia (Orejuela & Pardo, 2014).

Siendo una fruta con grandes propiedades nutricionales, en Ecuador hay apenas 19.486 hectáreas plantadas que producen no más de 42.000 toneladas cada año (El Productor, 2015). Mientras que en otra investigación señala que en Ecuador produce 149.380 TM, y la superficie cultivada de naranja es de 39.860 ha (Anuarios Estadísticos de la FAO, 2013 citado por (Guamingo & Viviana, 2013).

Los cítricos tienen un alto valor nutritivo y medicinal, además cuentan con su agradable sabor, a la facilidad en la industrialización y a la cantidad de productos y subproductos que a partir de ellos se obtiene. Los cítricos especialmente la naranja contiene los cinco elementos esenciales de la nutrición, vitaminas, proteínas, minerales, carbohidratos y grasas (Guamingo & Viviana, 2013).

Los aceites de cáscara de cítricos son grandes e importantes recursos aromáticos y materiales naturales de uso comercial, debido a su sabor deseable en especial el de naranja que es el más populares y aceptable para los consumidores en todo el mundo (Shaghaleh, Xu, Al Azem, & Alhaj, 2018).

#### **2.4.1. VARIEDADES DE NARANJA**

Existen tres tipos de naranjas: naval, blanca y sanguinas, las mismas que se subdividen en 21 variedades que se diferencian por el sabor, la presencia de semillas, el tamaño y la rugosidad de la piel (Orejuela & Pardo, 2014). Entre las variedades de naranja que se cultivan en la región costa son: Valencia tardía,

Valencia común, Valencia delta, Thompson, Washington, Naranja lima, Naranja agria y Naranja pomelo. La más consumida es la variedad Valencia común por su aceptabilidad entre los consumidores y su alto contenido en azúcares (Armas & Costa, 2012).

La naranja variedad Valencia *Citrus sinensis* (L.) Osbeck, especie vegetal con la mayor importancia económica alrededor del mundo (A. J. D. Hernández, 2014). Una investigación realizada en México en donde se midió la calidad de los frutos del árbol de naranjo, reporta que la calidad de la fruta de este árbol es poco conocida durante la cosecha (Ariza *et al.*, 2010).

#### 2.4.2. CARACTERÍSTICAS

Tabla 2 Características

Características	Peso (g)	Diámetro (mm)	Grados de color	Grosor de la cáscara	Concentración de sólidos totales	
Polinizada con abejas	195,32	24,12	2,92	3,37	9,85	(Dane (Departamento Administrativo Nacional De Estadística), 2016)
Sin polinización dirigida	162,21	22,3	2,18	3,19	9,85	

Fuente: (DANE (Departamento Administrativo Nacional de Estadística), 2016)

#### 2.4.3. USOS

Un estudio realizado en el 2015 en México de AE de naranja reporta que presenta buenos resultados en pruebas de inhibición del crecimiento microbiológico (Bernal, Alpírez, Gochev, Bautista, & León, 2015). Sobre los hongos *Colletotrichum gloeosporioides*, *Penicillium indicum*, *Fusarium solani*, *Rhizopus stolonifer* y *Aspergillus flavus*, en medio de cultivo Papa Dextrosa Agar (PDA) (Guédez *et al.*, 2014).

#### 2.4.4. PÉRDIDAS Y DESPERDICIOS

Las causas de las pérdidas y el desperdicio de alimentos en los países de ingresos bajos están principalmente relacionadas con las limitaciones económicas, técnicas y de gestión de las técnicas de aprovechamiento, las

instalaciones para el almacenamiento y la refrigeración en condiciones climáticas difíciles, la infraestructura, el envasado y los sistemas de comercialización (Gustavsson *et al.*, 2012).

Basillo (2008) en su investigación determinó el siguiente rendimiento, tomando 80 kilogramos de naranja obtuvo 20 kilogramos de cáscara, 18 kilogramos de bagazo y 0,15 kilogramos de semilla, aproximadamente; De los 20 kilogramos de cáscara de naranja se obtuvieron 38,15 mililitros de aceites esenciales, con un índice de refracción de 1,4725; un color Lovibond de 0,0R y 0,2Y; y menor de 0,1% de impurezas; Los fenólicos antioxidantes mostraron valores promedio de 135,35 miligramos equivalentes de ácido clorogénico por cada 100 gramos de muestra de semillas.

La investigación realizada por Ayala *et al.* (2016) reporta la siguiente composición de la cáscara de naranja: 16,90% de azúcar; 3,75% almidón; 9,21% celulosa; 10,50% hemicelulosa; 0,85% lignina; 42,50% pectinas; 3,50% cenizas; 6,50% de proteína y 4,80% de aceite esencial

El aceite de naranja posee propiedades terapéuticas como antiespasmódico, antiinflamatorio, antiséptico, y sobre el sistema nervioso y circulatorio. El d-limoneno es su componente mayoritario y presenta una notable actividad antibacteriana (Matiz *et al.*, 2012).

#### **2.4.5. COMPONENTES DEL ACEITE ESENCIAL DE NARANJA**

- **SABINENE**

El Sabinene es un tujeno que es un monoterpeno bicíclico aislado de los aceites esenciales de varias especies de plantas (Pubchem Cid 18818, 2005). Tiene un papel como metabolito vegetal el mismo que puede utilizarse como saborizante, aditivos para perfumes, químicos finos y biocombustibles Cao *et al.* (2018) además podría ser utilizado como antioxidante en la conservación de semillas (Quiroga, Asensio, & Nepote, 2015).

- **OCTANAL**

Para Dou, Liu, Xu, Ouyang, & Tao (2017) el Octanal podría utilizarse en la poscosecha en los cítricos como una alternativa a los fungicidas químicos, teniendo efectos positivos sobre la no germinación del *Penicillium digitatum* causante de la podredumbre. ES uno de los causantes de potencian el olor fresco típico de los AE de los cítricos (Truong, Weger, Stahl, & Mouhib, 2017).

- **OCIMENE <(E)-B->**

Para Peng, Byers, & Bradshaw Jr (2017) el Ocimene <(E)-β-> un monoterpeno producido por *ocimene synthase*, causante de atraer a los polinizadores a las plantas por su aroma floral. Las plantas lo producen como defensa contra insectos (Farré, Filella, Llusà, & Peñuelas, 2017). Thakre, Mulange, Kodgire, Zore, & Karuppayil (2016) se puede aplicar para ayudar como defensa, una investigación en tomates demuestra que este componente se podría utilizar el control de plagas agrícolas (Cascone *et al.*, 2015).

- **DECANAL**

Decanal es un componente de los cítricos, se produce naturalmente y se utiliza en fragancias y aromas (Pubchem Cid 8175, 2019).

- **CARANE**

Un estudio realizado por Koziół *et al.* (2018) con carane preservado, da un amplio espectro en actividades biológicas entre ellas insecticidas, aplicaciones farmacológicas entre otras.

## CAPITULO III. DESARROLLO METODOLÓGICO

### 3.1. UBICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

El desarrollo de esta investigación se realizó en las ciudades Loja Capital de Loja y Calceta cantón Bolívar. La materia prima (Anexo 19) se obtuvo en la finca de los hermanos Delgado, ubicada en las Delicias sus coordenadas  $0^{\circ}51'25.8''S$   $80^{\circ}11'14.6''W$ , mientras que la fase experimental se ejecutó en la Universidad Particular de Loja, la misma que está ubicada en San Cayetano Alto, Loja y sus coordenadas  $3^{\circ}59'12''S$  y  $79^{\circ}11'56''O$ .

### 3.2. DURACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

La investigación se realizó desde noviembre de 2018 hasta marzo de 2019, con una duración 5 meses.

#### 3.2.1. MÉTODOS

**Bibliográfico:** Este trabajo de investigación permitió realizar la recopilación de citas bibliográficas extraídas de artículos científicos y temas de diversas fuentes como lo son internet, libros y revistas relacionados con el tema de investigación.

**Extracción:** La extracción del AE se realizó en el laboratorio de Operaciones Unitarias de la sección Departamento Ingeniería de Procesos.

**Experimental:** En la que se estudió una variable independiente para observar su efecto en el rendimiento y propiedades físicoquímica, mediante la aplicación de un diseño experimental de un factor y se utilizó un análisis de varianza con sus respectivas pruebas DMS.

#### 3.2.2. FACTOR EN ESTUDIO

El factor de estudio que se evaluó en el presente trabajo de investigación fue el siguiente:

**Factor a:** Estados de madurez de la cáscara de naranja

- **NIVELES**

Para el factor estados de madurez de la cáscara de naranja se utilizaron (verde-pintona- madura).

a1: estado de madurez verde.

a2: estado de madurez pintona.

a3: estado de madurez madura

- **TRATAMIENTOS**

Se manipularon tres estados de madurez (verde – pintona - madura) con lo que se obtuvieron 3 tratamientos (Tabla 3).

**Tabla 3** Tratamientos

TRATAMIENTOS	Nomenclatura	Descripción
1	a1	Verde
2	a2	Pintona
3	a3	Madura

### 3.3. DISEÑO EXPERIMENTAL

Se empleó un diseño completamente al azar con 3 tratamientos y 3 repeticiones, lo cual dió como resultado un total de 9 unidades experimentales

#### 3.3.1. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Para el análisis estadístico de las variables en estudio se realizaron las siguientes pruebas:

- Supuestos del análisis de la varianza (ADEVA). (normalidad, homogeneidad homocedasticidad).
- ADEVA: Para determinar la existencia de diferencia estadística entre tratamientos.

- Prueba de Tukey: Permitió determinar la magnitud de las diferencias entre tratamientos. Se analizó al 5% de significancia, de acuerdo a los grados de libertad (GL) del error.
- Kruskal Wallis. Determinó la diferencia estadística de los tratamientos.
- Dicotomía. Determinó la incidencia de presencia de un compuesto.

### **3.4. UNIDAD EXPERIMENTAL**

La unidad experimental estuvo constituida por 30 naranjas lo que cumplía con la característica del equipo, el mismo que pudo procesar 4-7 kg de cáscaras de naranja, con el cual se obtuvo el AE, donde se evaluaron las características fisicoquímicas del mismo.

### **3.5. VARIABLES**

#### **3.5.1. VARIABLE INDEPENDIENTE**

- Estado de madurez de la naranja

#### **3.5.2. VARIABLES DEPENDIENTES**

- Rendimiento del aceite (%)
- Propiedades físicas (densidad, índice de refracción, actividad óptica)
- Composición química

### **3.6. MANEJO DEL EXPERIMENTO**

Se valoraron las características físico-químicas del AE, con el siguiente diagrama de flujo (Figura 1)



### 3.6.1. DIAGRAMA DE PROCESO DE EXTRACCIÓN DE AE A PARTIR DE LA CÁSCARA DE NARANJA

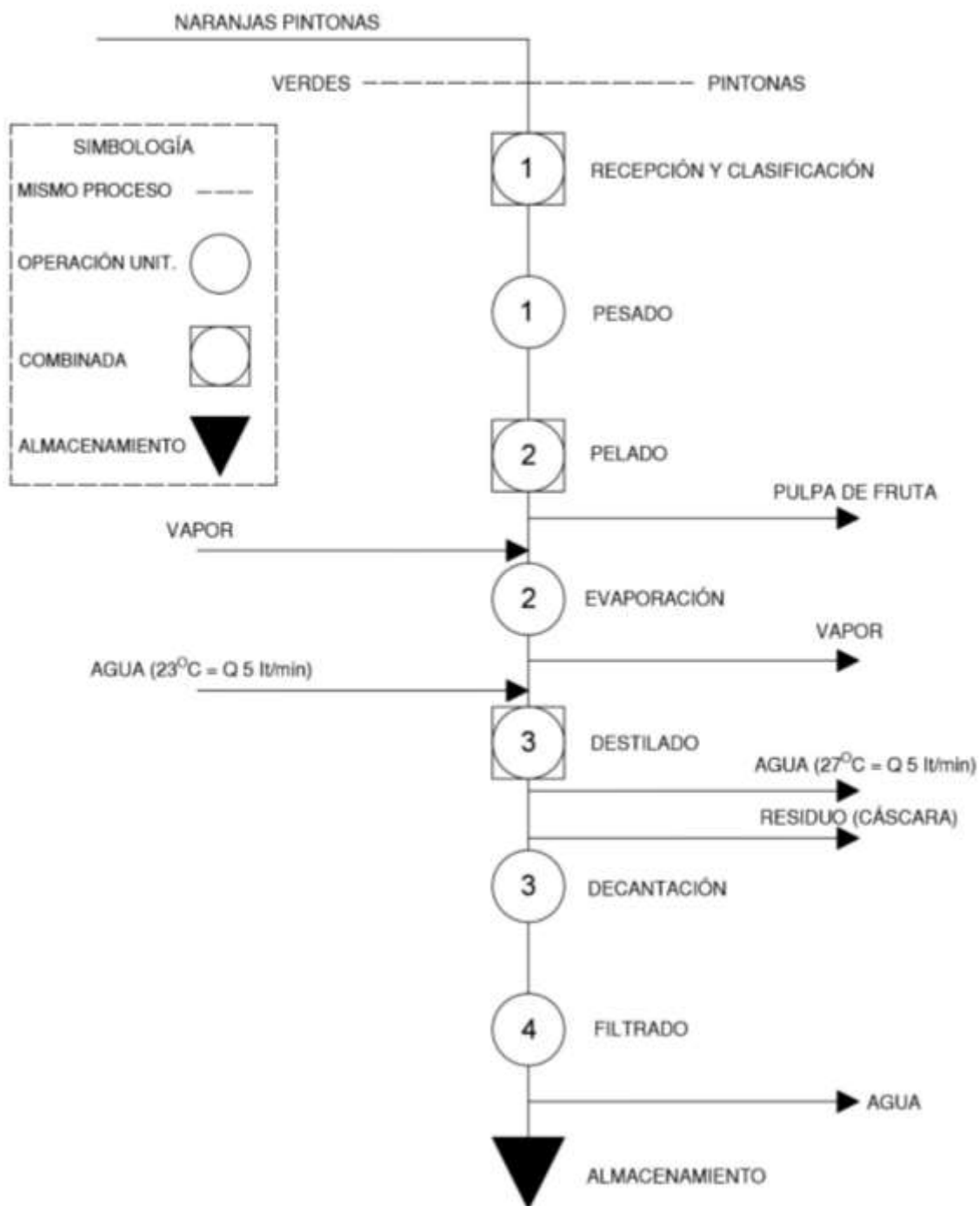


Figura 3.1. Diagrama de proceso de extracción de AE a partir de la cáscara de naranja.

### 3.6.2. DESCRIPCIÓN DEL DIAGRAMA DE PROCESO

- **RECEPCIÓN Y CLASIFICACIÓN**

Se procedió a realizar la recepción, limpieza de las frutas y clasificación (Anexo 20) de la materia prima (Tabla 4), la cual consistió en determinar el estado de madurez de la fruta por colorimetría (colorímetro), para esto se tomó 60 naranjas al azar para cada tratamiento a1 (Verdes), a2 (Pintonas), a3 (Maduras) las que fueron distribuidas de la siguiente manera. 20 para cada una de las réplicas al azar, con lo que se obtuvo un promedio en el espacial de color para los tratamientos a1 ( $L^* 42,52$  ;  $a^* -10,60$  ;  $b^* 23,63$  ), a2 ( $L^* 52,14$  ;  $a^* -3,24$  ;  $b^* 40,22$ ), a3 ( $L^* 55,13$  ;  $a^* 14,99$  ;  $b^* 43,73$ ).

**Tabla 4** Espacial de color de naranjas

Espacial color	Tratamiento a1			Tratamiento a2			Tratamiento a3		
	L*	a*	b*	L*	a*	b*	L*	a*	b*
Suma	2551,3	-635,9	1416,6	3128,1	-194,6	2412,9	3363	914,6	2667,3
Promedio	42,52	-10,60	23,61	52,14	-3,24	40,22	55,13	14,99	43,73
Desviación	3,7	3,7	5,0	5,2	3,4	5,4	4,7	3,7	5,8

L\*= luminosidad, a\*+= Rojo a\*-=Verde, b\*+= Amarillo b\*-= Azul

Consecuentemente, se determinó el diámetro (Tabla 5), para lograr este paso se recurrió al muestreo simple, seleccionando 20 naranjas al azar para cada tratamiento, con los siguientes promedios a1 (71,65 mm), a2 (65,9 mm), a3 (73,1 mm), se realizó este procedimiento para tener una homogeneidad de los tratamientos.

**Tabla 5** Diámetro de naranjas

	Tratamiento a1	Tratamiento a2	Tratamiento a3
Suma	1433	1318	1462
Promedio (mm)	71,65	65,9	73,1
Desviación	4,0	4,3	4,1

- **PESADO**

Una vez obtenida la clasificación por color se determinó el peso del material experimental (Anexo 21).

- **PELADO**

Se procedió a retirar la cáscara de las naranjas (anexo 22), las naranjas fueron cortadas en cuatro partes para luego retirar la corteza manualmente, teniendo mucho cuidado de no desgarrar las cáscaras, con esto se logró obtener un mayor rendimiento del AE.

- **EVAPORACIÓN**

Luego de tener las cáscaras se procedió a ubicar en el evaporador (Anexo 23), el cual trabajó con una presión de 1 atmósfera y con una temperatura de 93.5°C ebullición.

- **DESTILACIÓN**

El proceso de condensación (Anexo 24), el mismo que actuó con agua con una Temperatura ( $T^{\circ}$  inicial de 23°C y  $T^{\circ}$  de salida de 27°C) y su caudal (agua) fue 5 litros por minutos.

- **DECANTACIÓN**

En este proceso se recolectó por decantación (Anexo 25) el AE junto con vapor de agua, misma que fue arrastrada.

- **FILTRADO**

Luego se procedió a realizar la filtración o separación (Anexo 26) de cualquier partícula, esto con el fin de que no haya sido arrastrada en el proceso, para obtener un AE puro.

- **RENDIMIENTO**

Para determinar la cantidad de AE se procedió a acopiar en probetas, las cuales primero se les realizó una homogenización (limpieza con el vapor de agua arrastrada), para evitar una posible contaminación cruzada; con las cantidades de AE obtenidos en mL se procedió a calcular el rendimiento (anexo 1).

- **ENVASADO**

Una vez obtenido el AE se procedió a embazar en botellas color ámbar (Anexo 27), para evitar un posible cambio en alguna propiedad.

- **ALMACENADO**

El almacenado se realizó a temperatura de refrigeración, esto durante el proceso de la investigación, luego fueron trasladadas al laboratorio (Anexo 28).

### **3.7. DETERMINACIÓN DE PROPIEDADES FÍSICAS**

- Rendimiento: se relacionó el volumen obtenido del aceite en la destilación vs el peso de la materia vegetal empleada (anexo 1).
- Densidad relativa: La densidad relativa se determinó según la norma AFNOR NF T 75-111 (ISO 279:1998) (anexo 2)
- Índice de refracción (Anexo 29): Se determinó el índice de refracción según la norma AFNOR NF T 75-112 (ISO 280: 1998) (anexo 3).
- Actividad óptica (Anexo 30): Para determinar la actividad óptica específica se utilizó la norma ISO 592-1998 (anexo 4 )

### **3.8. COMPOSICIÓN QUÍMICA**

Para determinación de la composición química del aceite esencial de la cáscara de naranja, se utilizó un cromatógrafo de gases acoplado a espectrometría de masas, las corridas cromatográficas se hicieron en la columna no polar DB5-MASAS, con el propósito de llevar a cabo el análisis cualitativo y cuantitativo respectivamente.

Con la finalidad de realizar un análisis cualitativo y cuantitativo, se realizó una corrida cromatográfica de la mezcla de hidrocarburos de C10 a C25 (0.5 ul) y

luego de las muestras de aceite esencial (990ul de diclorometano + 10 ul de aceite), empleando la técnica de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas GC-MS, utilizando la columnas DB5-MASAS. Para esta investigación se tomó en referencia la técnica de la Universidad Particular de Loja citada por Ludeña (2017).

### 3.8.1. ANÁLISIS DEL AE POR CROMATOGRAFÍA EN CG-MS

El equipo utilizado para determinar los análisis, fue un cromatógrafo de gases Agilent serie 6890N, acoplada a un espectrómetro de masas Agilent serie 5973 Inert; este equipo dispone de un sistema de datos “MSD-Chemstation D.01.00 SP1”, que cuenta con un inyector automático Split/splitless serie 7683 y. Es así, que con la ayuda de este equipo se identificó los componentes químicos del aceite esencial de la cáscara de naranja y la obtención de los espectros de cada compuesto individual. Las respectivas inyecciones se efectuaron en las columnas capilares DB5-MASAS.

El tamaño de las columnas es de 30 mx 0, 25 mm x 0,25 µm. La columna no polar está recubierta internamente de 5%-Fenil-metilpolisiloxano. La temperatura límite para la columna DB5-MASAS es de 325°C.

### 3.8.2. CORRIDA CROMATOGRÁFICA EN LA COLUMNA NO POLAR DB5-MASAS ACOPLADO A ESPECTROMETRÍA DE MASAS

Para las respectivas corridas cromatográficas se usó algunas medidas, además las cuales se inyectaron las muestras del aceite esencial de cáscara de naranja. Además, se realizó la inyección de una muestra de hidrocarburos de C10 (decano) a C25 (pentacosano), este conjunto de hidrocarburos comercialmente es conocido como TPH- RPM de CHEM SERVICE.

**Tabla 6** Condiciones de operación de la columna no polar

Sistema de inyección	Horno	Columna (DB5-MASAS)	Detector
Modo Split	Temperatura inicial 50°C	Temperatura máxima 350°C	Temperatura 250 °C
Radio de partición 50:1	Tiempo inicia 3 min	Modo de flujo constante	
Temperatura Inicial 250°C	Rampa 3°C/Min	Flujo inicial 0,9 mL/min	
Tipo De Gas Helio	Temperatura Final 230°C	Presión inicial nominal 6,50 psi	
		Velocidad promedio 35 cm/seg	

### 3.8.3. IDENTIFICACIÓN CUALITATIVA Y CUANTITATIVA DE LOS COMPUESTOS QUÍMICOS DEL AE DE CÁSCARA DE NARANJA, EN LA COLUMNA NO POLAR

Como resultado final de la corrida cromatográfica, los compuestos se observaron en un cromatograma, figura que representó la señal producida por el detector en función del tiempo de elución o volumen de eluyente añadido. La identificación de los componentes de la muestra se llevó a cabo a partir de la posición de los distintos picos respecto al eje del tiempo, mientras que el área de cada uno, proporcional a la concentración del compuesto, permitió el análisis cuantitativo.

La identificación se integró para que fuese más precisa y confiable, mediante el sistema de integración Chemstation Integrator-autoint, que es propio del equipo de cromatografía de gases, permitiendo así tener una determinada cantidad de compuestos en cada una de las muestras analizadas, para trabajar con los picos integrados.

Con los cromatogramas obtenidos, se procedió a calcular los índices de Kovats (IK) de los picos integrados, para ello se comparó el tiempo retención de los hidrocarburos con el tiempo de retención de los componentes del aceite esencial, aplicando la siguiente fórmula (3.1):

$$IK = 100n + 100 * tRX - tRntRN - tRn \quad (3.1)$$

Dónde:

IK: Índice de retención de Kovats

**n**: Número de átomos de carbono en n-alcanos.

**tRX**: Tiempo de retención del compuesto analizado, que eluye en el centro de n-alcanos.

**tRn**: Tiempo de retención n-alcanos que eluye antes del compuesto analizado;

**tRN**: Tiempo de retención de n-alcanos que eluye después del compuesto analizado.

Luego se calculó el índice de Kovats (IK) de cada compuesto, que fue determinado experimentalmente en las corridas cromatográficas en la columna no polar, estos valores se compararon con bases de datos electrónicas como Nist (National Institute of Standards & Technology), en revistas como Taylor & Francis (revistas en línea de tres de las principales editoriales del mundo: Taylor & Francis, Prensa Routledge y Psicología), de modo que la diferencia entre el IK calculado y el leído sea menor a 20 unidades. También, se tomó en cuenta parámetros como el número de CAS, que presentó cada compuesto, de tal modo que facilitó la búsqueda y la identificación de los IK de los constituyentes químicos del aceite esencial de *Citrus sinensis*.

#### **3.8.4. CUANTIFICACIÓN DE LOS COMPUESTOS IDENTIFICADOS MEDIANTE CROMATOGRAFÍA DE GASES**

Una vez eluidos los compuestos, se procedió a la cuantificación de los mismos. Los datos de hidrocarburos obtenidos en masas se utilizaron para desarrollar la ecuación de la recta, con la cual se calculó los tiempos de retención de cada compuesto. Estos tiempos de retención calculados, se compararon con los tiempos de retención detectados de cada muestra; los tiempos de retención se fueron ajustando de acuerdo a los compuestos encontrados en cada columna, no polar (anexo 5)

## CAPÍTULO IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. PROPIEDADES FÍSICAS DEL AE

Para analizar las propiedades físicas del AE se procedió a realizar los supuestos del ADEVA, los datos se comportaron normales y homogéneos (anexo 6); En el ADEVA (anexo 7) se pudo identificar el p-valor para tratamientos; teniendo una  $\text{sig} < 0,05$  para Actividad Óptica; mientras que para las demás variables no fue significativo.

**Tabla 7.** Propiedades físicas del AE

Tratamiento	Rendimiento (%)	Densidad (g/cm <sup>3</sup> )	Actividad óptica (A°)	Índice refracción
a1	0,36	0,84	113,58 a	1,47
a2	0,34	0,84	111,98 b	1,47
a3	0,57	0,83	113,58 a	1,47
p-valor	> 0,05	> 0,05	< 0,05	> 0,05

Letras iguales en una misma columna no difieren estadísticamente según Tukey al 5% de probabilidades.

En rendimiento (Tabla 7) los valores oscilaron entre 0,34-0,57%, los cuales se pueden comparar por los obtenidos por León *et al.* (2015) probablemente no presentó variación, por razones tipificadas por Torrenegra *et al.* (2016), las cuales podrían ser métodos de cultivo, condiciones geobotánicas: clima, altitud, tipo de suelo, luminosidad, pluviosidad, temperatura; época de recolección y edad de las plantas; ya que todo el material experimental tuvo el mismo trato.

Mientras que para densidad 0,83-0,84 g/cm<sup>3</sup> e índice de refracción 1,47 (Tabla 7) no tuvieron variación, los valores se asemejan con los obtenidos por León *et al.* (2015); si se presentase un valor menor se relaciona con la cantidad de fenoles (Monzón & Cama, 2017).

- **ACTIVIDAD ÓPTICA**

Categorización de la variable actividad óptica (Tabla 7) según la prueba discriminativa de Tukey (anexo 8), la misma que arrojó una categoría, por lo que se procedió a utilizar una prueba más estricta (Duncan), la misma que dio dos



categorías (a - b); teniendo a las naranjas verdes y maduras con mejor categoría con valores de 113,58-113,59°, comparados con la investigación de Borja & Delgado (2018), la cual tuvo una rotación de 94°.

## 4.2. COMPOSICIÓN QUÍMICA AE

A los compuestos que se pudieron identificar en todos sus tratamientos y las repeticiones se les trató con estadística paramétrica y no paramétrica; mientras que para los compuestos que no se pudo identificar en algún tratamiento o repetición se les trató dicotomizando los datos dando valor para ausencia =0 presencia =1.

En total, se pudo identificar ocho compuestos (anexo 9), de los cuales siete son constantes en las tres variantes en estudio; teniendo como mayoritario el limonene 96,08 (a1); 95,92 (a2) y 96,28% (a3), esta información se complementa con Cerón & Cardona (2011) identificaron 9 compuestos mayoritarios, siendo estos monoterpenos de 10 carbonos (C-10), y sesquiterpenos (C-15), entre ellos destacan limoneno (90,967),  $\beta$ - mirceno (1,753),  $\alpha$ -pineno (0,532); Barón *et al.* (2012) reporta variación en limonene pero indica que la misma no se debe al estado de madurez, le atribuye la variación a características del suelo; Además Espina, Condón, Pagán, & García (2014) en su investigación, utilizaron el limonene en la pasteurización del zumo de naranja teniendo una buena aceptación sensorial y eficaz con el control de *E. Coli*. Por otra parte, Castañeda *et al.* (2018) quien identificó 6 compuestos, teniendo al D-limoneno en 85,93%, al que atribuyen propiedades quimiopreventivas y quimioterapéuticas.

- **ANÁLISIS DE NORMALIDAD**

Para analizar las propiedades químicas del AE se procedió a realizar los supuestos del ADEVA, los datos se comportaron normales y homogéneos (anexo 10) para el compuesto linalool, no así para las otras propiedades; En el ADEVA (anexo 11) se pudo identificar el p-valor para tratamientos; teniendo una  $\text{sig} < 0,05$  para linalool.

- **CATEGORÍA PARA LINALOOL**

Según la prueba discriminativa de Tukey (anexo 12), la misma que arrojó dos categorías (a-b): teniendo a las naranjas pintonas con categoría (a) y las verdes comparten categoría (a-b) con mayor concentración de este compuesto (Tabla 8) 0,99%, este valor se lo podría comparar con los obtenidos por Torres *et al.* (2017), Kirbaslar & Kirbaslar (2003) de 0,33-0,46-0,65%; Para Mondello, Cotroneo, D'alcontres, & Dugo (1997) las diferencias en concentración de linalool es normal.

**Tabla 8 Propiedades químicas linalool**

Tratamiento	Linalool %
a1	0,760 ab
a2	0,995 a
a3	0,543 b
p-valor	P< 0,05

Letras iguales en una misma columna no difieren estadísticamente según Tukey al 5% de probabilidades.

- **PRUEBA DE KRUSKAL-WALLIS**

El resumen de prueba de hipótesis de Kruskal- Wallis (anexo 13) de muestras independientes indica la siguiente puntuación, de acuerdo para los tratamientos (con una probabilidad  $p > 0,05$  para las categoría de pinene, myrcene, limonene), la cual indica que la distribución es la misma para los tratamientos (Tabla 9).

**Tabla 9 Propiedades para pinene, myrcene, limonene**

Tratamiento	Pinene %	Myrcene %	Limonene %
a1	0,59	1,54	96,08
a2	0,59	1,51	95,92
a3	0,61	1,61	96,28
p-valor	1,000	0,193	0,113

#### 4.2.1. DICOTOMÍA

Se procedió a realizar la dicotomía de indicadores de la variable propiedades químicas a los compuestos que no pudieron ser identificados, ya sea en una repetición o en todo el tratamiento con respecto a los demás; para esto se realizó una búsqueda bibliográfica para poder determinar si la presencia de estos

compuestos (Sabinene, octanal, ocimene  $\alpha$ - $\beta$ -, decanal, carane) son benéficos o perjudiciales para el AE.

- **SABINENE**

El compuesto Sabinene resultó favorable según lo descrito por Pubchem Cid 18818 (2005), además puede utilizarse como saborizante, aditivos para perfumes, químicos finos y biocombustibles Cao *et al.* (2018); por otra parte, podría ser utilizado como antioxidante en la conservación de semillas (Quiroga *et al.*, 2015).

Con lo antes mencionado, se pondera la presencia de este compuesto como buena. Por lo tanto, se procedió a realizar la dicotomía, la cual revela en su primera prueba el resumen de modelo (anexo 14.A) con el valor de R cuadrado de Nagelkerke, este formula que el modelo propuesto manifiesta el 29,1% de la varianza de la variable dependiente.

La prueba de Hosmer y Lemeshow (anexo 14.B) indica que la varianza no es significativa  $p > 0,05$  en el modelo. En la clasificación (anexo 14.C) indica que en el 77,8% de las probabilidades de acierto de la variable dependiente se podría encontrar este componente.

Las variables de la ecuación (Tabla 10) el tratamiento verde, no explica la presencia de sabinene  $\text{sig} > 0,05$ , a mayor uso de este tratamiento, es menor la probabilidad que se encuentre este componente. El tratamiento pintona, no explica la presencia de sabinene  $\text{sig} > 0,05$ , a mayor uso de este tratamiento, menor será la probabilidad que se encuentre este componente. Se podría concluir con los datos analizados que, la presencia de este componente no se debe a los estados de madurez de la fruta sino alguna otra variable.

**Tabla 10 Variables en la ecuación para Sabinene**

	B	E.T.	Wald	Gl	Sig.	Exp(B)	
Paso 1 <sup>a</sup>	a1(1)	-20,510	23205,423	,000	1	,999	,000
	a2(1)	,000	1,732	,000	1	1,000	1,000
	Constante	21,203	23205,423	,000	1	,999	1615474924,363

a. Variable(s) introducida(s) en el paso 1: a1, a2.

- **OCTANAL**

Para Dou *et al.* (2017) en su investigación reporta que el octanal podría utilizarse en la poscosecha en los cítricos, teniendo efectos positivos sobre la no germinación del *Penicillium digitatum* causante de la podredumbre. Además, es uno de los causantes de potenciar el olor fresco, típico de los AE de los cítricos (Truong *et al.*, 2017).

Con lo antes mencionado se pondera la presencia de este compuesto como buena. Por lo que, se procedió a realizar la dicotomía, la cual demuestra en su primera prueba el resumen de modelo (anexo 15.A) con el valor de R cuadrado de Nagelkerke, este indica que el modelo propuesto explica el 47,6% de la varianza de la variable dependiente.

La prueba de Hosmer y Lemeshow (anexo 15.B) indica que la varianza no es significativa  $p > 0,05$  en el modelo. En la clasificación (anexo 15.C) prueba que en el 88,9% de las probabilidades de acierto de la variable dependiente se podría encontrar este componente.

Las variables de la ecuación (Tabla 11) el tratamiento verde, no aclara la presencia de octanal ( $\text{sig} > 0,05$ ), a mayor uso de este tratamiento, es menor la probabilidad de que se encuentre este componente.

El tratamiento pintona, no explica la presencia de octanal  $\text{sig} > 0,05$ , aunque el programa sugiere a mayor uso de este tratamiento, será mayor la probabilidad que se encuentre este componente. Se podría concluir con los datos analizados que, la presencia de este componente no se debe a los estados de madurez de la fruta sino alguna otra variable.

**Tabla 11 Variables en la ecuación para octanal**

	B	E.T.	Wald	Gl	Sig.	Exp(B)	
Paso 1 <sup>a</sup>	a1(1)	,000	32817,424	,000	1	1,000	1,000
	a2(1)	20,510	23205,423	,000	1	,999	807737432,194
	Constante	,693	32817,424	,000	1	1,000	2,000

a. Variable(s) introducida(s) en el paso 1: a1, a2.

- **OCIMENE <(E)-β->**

Para Peng *et al.* (2017) el Ocimene <(E)-β-> un monoterpeno, causante de atraer a los polinizadores a las plantas por su aroma floral. Las plantas lo producen como defensa contra los insectos (Farré *et al.*, 2017). Thakre *et al.* (2016) comenta que, se puede aplicar para ayudar como defensa; por otra parte, una investigación en tomates demuestra que este componente se podría utilizar en el control de plagas agrícolas (Cascone *et al.*, 2015).

Con lo señalado anteriormente, se estima que la presencia de este compuesto es buena. Es así, que se procedió a realizar la dicotomía, la misma exterioriza en su primera prueba el resumen de modelo (anexo 16.A) con el valor de R cuadrado de Nagelkerke, el presente denota que el modelo propuesto expone el 82,1% de la varianza de la variable dependiente.

La prueba de Hosmer y Lemeshow (anexo 16.B) describe que la varianza no es significativa  $p > 0,05$  en el modelo. En la clasificación (anexo 16.C) señala que el 88,9% de las probabilidades de acierto de la variable dependiente se podría hallar este componente.

Las variables de la ecuación (Tabla 12) el tratamiento verde, no esclarece la presencia de ocimene ( $\text{sig} > 0,05$ ), aunque el programa propone que, a mayor uso la probabilidad aumenta en que se encuentre este componente. El tratamiento pintona, no dilucida la presencia de ocimene  $\text{sig} > 0,05$ , aunque el programa sugiere que a mayor uso, la probabilidad de que se encuentre este componente subiría. Se podría finiquitar con los datos analizados que, la presencia de este componente no se debe a los estados de madurez de la fruta sino alguna otra variable.

**Tabla 12 Variables en la ecuación para ocimene <(e)-β->**

	B	E.T.	Wald	gl	Sig.	Exp(B)	
Paso 1 <sup>a</sup>	a1(1)	42,406	32817,424	,000	1	,999	26097590510202 40900,000
	a2(1)	20,510	23205,423	,000	1	,999	807737436,382
	Constante	-41,713	32817,424	,000	1	,999	,000

a. Variable(s) introducida(s) en el paso 1: a1, a2..

- **DECANAL**

Decanal componente de los cítricos, se produce naturalmente y se utiliza en fragancias y aromas (Pubchem Cid 8175, 2019).

Con lo antes referido se pondera la presencia de este compuesto como buena. Entonces, se procedió a realizar la dicotomía, esta indica en su primera prueba el resumen de modelo (anexo 17.A) con el valor de R cuadrado de Nagelkerke, la cual apunta que el modelo propuesto revela el 47,6% de la varianza de la variable dependiente.

La prueba de Hosmer y Lemeshow (anexo 17.B) indica que la varianza no representa valor alguno en el modelo, ya que no presentó variabilidad en los resultados. En la clasificación (anexo 17.C) señala que el 88,9% de las probabilidades de acierto de la variable dependiente se podría encontrar este componente.

Las variables de la ecuación (Tabla 13) el tratamiento verde, no explica la presencia de decanal ( $\text{sig} > 0,05$ ), a mayor uso de este tratamiento el programa plantea que será mayor la probabilidad que se encuentre este componente. El tratamiento pintona, no aclara la presencia de decanal  $\text{sig} > 0,05$ , es así que, a mayor uso de este tratamiento, menor será la probabilidad de que se encuentre este componente. Con los datos analizados la presencia de este componente no se debe a los estados de madurez de la fruta sino alguna otra variable.

**Tabla 13 Variables en la ecuación para decanal**

	B	E.T.	Wald	gl	Sig.	Exp(B)
Paso 1 <sup>a</sup>						
a1(1)	20,510	23205,422	,000	1	,999	807737432,189
a2(1)	,000	32817,421	,000	1	1,000	1,000
Constante	,693	32817,421	,000	1	1,000	2,000

a. Variable(s) introducida(s) en el paso 1: a1, a2..

- **CARANE**

Un estudio realizado por Koziol *et al.* (2018) con carane preservado, da un amplio espectro en actividades biológicas entre ellas insecticidas, aplicaciones

farmacológicas entre otras. Con lo antes nombrado se pondera la presencia de este compuesto como buena. Por lo tanto, se procedió a realizar la dicotomía, la cual indica en su primera prueba el resumen de modelo (anexo 18.A) con el valor de R cuadrado de Nagelkerke, esta demuestra que el modelo propuesto explica el 72% de la varianza de la variable dependiente.

La prueba de Hosmer y Lemeshow (anexo 18.B) revela que la varianza no es significativa  $p > 0,05$  en el modelo. La clasificación (anexo 18.C) indica que el 88,9% de las probabilidades de acierto de la variable dependiente se podría encontrar este componente.

Las variables de la ecuación (Tabla 14) para el tratamiento verde, no explica la presencia de carane  $\text{sig} > 0,05$ , así que, a mayor uso de este tratamiento el programa advierte más probabilidad en que se encuentre este componente. El tratamiento pintona, no explica la presencia de carane ( $\text{sig} > 0,05$ ), a mayor uso de este tratamiento, menor podría ser la probabilidad que se encuentre este componente. Se podría determinar, con los datos analizados que la presencia de este componente no se debe a los estados de madurez de la fruta sino alguna otra variable.

**Tabla 14 Variables en la ecuación para carane**

		B	E.T.	Wald	gl	Sig.	Exp(B)
	a1	21,896	23205,421	,000	1	,999	3230949684,916
Paso 1 <sup>a</sup>	a2	,000	32817,422	,000	1	1,000	1,000
	Constante	-21,203	23205,421	,000	1	,999	,000

a. Variable(s) introducida(s) en el paso 1: a1, a2..

## CAPÍTULO V CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 5.1. CONCLUSIONES

- El estado de madurez de las naranjas no afectó estadísticamente el rendimiento del aceite esencial.
- El efecto del estado de madurez con respecto a las propiedades físicas del aceite esencial, resultó significativo en actividad óptica, demostrando que las naranjas verdes y maduras fueron mejores tratamientos.
- El componente mayoritario limonene no se vio afectado por el estado de madurez, mientras linalool resultó mejor con naranjas verdes y pintonas.
- La prueba de regresión binaria demostró que los componentes (Sabinene, octanal, ocimene  $\alpha$ - $\beta$ -, decanal y carane) no se vieron afectados por los tratamientos y que la ausencia no se debe a los estados de madurez del fruto.

### 5.2. RECOMENDACIONES

- Con respecto al limonene que es el componente mayoritario del aceite esencial de las cáscaras de naranja de preferencia se debe extraer en cualquier estado de madurez del fruto, sin que el componente se vea afectado.
- Aprovechar el aceite esencial de naranja por su alto contenido en limonene determinando el perfil del aceite esencial con respecto al limonene.



## BIBLIOGRAFÍA

- Adams, R. P. (2017). *Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry, ed. 4.1* (Vol. 456): Allured publishing corporation Carol Stream, IL.
- Albarracín, G. C. M., & Gallo, S. G. P. (2003). *Comparación de dos métodos de extracción de aceite esencial utilizando Piper aduncum (Cordoncillo) procedente de la zona cafetera*. Universidad Nacional de Colombia-Sede Manizales.
- Álvarez, M. R., Meléndez, L. A., & Cosío, S. M. R. (2012). Procedimientos para la extracción de aceites esenciales en plantas aromáticas. *Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste*, 15-17.
- Ariza, F. R., Tejacal, I. A., Beltrán, M. N., Ambriz, C. R., Lugo, A. A., Barrios, A. A., & Barbosa, M. F. (2010). Calidad de los frutos de naranja'Valencia'en Morelos, México. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 11(2).
- Armas, A., & Costa, A. M. (2012). Diseño de una Planta Modular para la Elaboración de Licor de Naranja en el Cantón Caluma.
- Ayala, J., Montero, G., Campbell, H., Sagaste, C., León, J., Coronado Ortega, M., . . . Torres, R. (2016). *Aprovechamiento de los residuos de cáscara de naranja para la obtención de azúcares*.
- Barón, R. D., Villa, A. L., & Peláez, C. M. (2012). Aceite esencial obtenido de cáscaras de naranja en diferentes estados de madurez de dos cultivos en el municipio de chimichagua, colombia. *Alimentos Hoy*, 21(26), 60-71.
- Basillo, J. (2008). *Determinación de la calidad de compuestos orgánicos en residuos de naranja*.
- Bernal, C. A. S., Alpírez, G. M., Gochev, V., Bautista, J. R. A., & León, J. Á. (2015). Evaluación de la actividad inhibitoria del aceite esencial de naranja contra *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*.
- Borja, E. D. P., & Delgado, G. D. E. (2018). *Evaluación del rendimiento, calidad y actividad antioxidante del aceite esencial de cáscara de naranja fresca de la especie Citrus maxima (Burm.) Merr. Familia Rutaceae, obtenido por dos métodos de extracción*. Quito: UCE.
- Cao, Y., Zhang, H., Liu, H., Liu, W., Zhang, R., Xian, M., & Liu, H. (2018). Biosynthesis and production of sabinene: current state and perspectives. *Applied microbiology and biotechnology*, 102(4), 1535-1544.
- Cascone, P., Iodice, L., Maffei, M. E., Bossi, S., Arimura, G.-i., & Guerrieri, E. (2015). Tobacco overexpressing  $\beta$ -ocimene induces direct and indirect

responses against aphids in receiver tomato plants. *Journal of plant physiology*, 173, 28-32.

Castañeda, A. D., Rivera, T. A., Choy, F. E., Munguía, P. R., Portillo, R. R., & Muñoz, J. (2018). Actividad antimicrobiana del aceite de naranja residual. *UNED Research Journal/Cuadernos de Investigación UNED*, 10(2), 469-474.

Cerón, S. I., & Cardona, A. C. (2011). Evaluación del proceso integral para la obtención de aceite esencial y pectina a partir de la cáscara de naranja. *Ingeniería y ciencia*, 7(13), 65-86.

CODEX STAN 245. (2004). Norma para la naranja. Retrieved 10-Ago-2018 [http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/fr/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252FStandards%252FCODEX%2B245-2004%252FCXS\\_245s.pdf](http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/fr/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252FStandards%252FCODEX%2B245-2004%252FCXS_245s.pdf)

Cusme, R. K. L., Gallo, F. W. M., Cedeño, Á. d. J. P., García, M. A. M., & Villavicencio, C. M. M. (2016). Evaluación postcosecha de naranjas almacenadas con agentes de recubrimiento. *Revista Espamciencia*, 7(1).

DANE (Departamento Administrativo Nacional de Estadística). (2016). El cultivo de la naranja Valencia (*Citrus sinensis* [L.] Osbeck) y su producción como respuesta a la aplicación de correctivos y fertilizantes y al efecto de la polinización dirigida con abeja *Apis mellifera*. Retrieved 16-Nov-2018 [https://www.dane.gov.co/files/investigaciones/agropecuaria/sipsa/Bol\\_Ins\\_umos\\_oct\\_2016.pdf](https://www.dane.gov.co/files/investigaciones/agropecuaria/sipsa/Bol_Ins_umos_oct_2016.pdf)

Del Pilar, P. I. M., Fischer, G., & Corredor, G. (2007). Determinación de los estados de madurez del fruto de la gulupa (*Passiflora edulis* Sims.). *Agromía Colombiana*, 25(1), 83-95.

Dou, S., Liu, S., Xu, X., OuYang, Q., & Tao, N. (2017). Octanal inhibits spore germination of *Penicillium digitatum* involving membrane peroxidation. *Protoplasma*, 254(4), 1539-1545.

El Productor. (2015). Ecuador: Un agrario futuro es el que se vislumbra para las naranjas. *Expreso*. Retrieved from <http://elproductor.com/noticias/ecuador-un-agrario-futuro-es-el-que-se-vislumbra-para-las-naranjas/>

Escalante, M., Santos, I., Rojas, L. B., & Lárez, C. (2012). Aprovechamiento de desechos orgánicos: 1. Extracción y caracterización del aceite de semillas de naranja colectadas en expendios ambulantes de jugos. *Avances en Química*, 7(3).

Espina, L., Condón, S., Pagán, R., & García, G. D. (2014). Synergistic effect of orange essential oil or (+)-limonene with heat treatments to inactivate *Escherichia coli* O157: H7 in orange juice at lower intensities while

maintaining hedonic acceptability. *Food and bioprocess technology*, 7(2), 471-481.

- Farré, A. G., Filella, I., Llusà, J., & Peñuelas, J. (2017).  $\beta$ -ocimene, a key floral and foliar volatile involved in multiple interactions between plants and other organisms. *Molecules*, 22(7), 1148.
- García, R. T. (2015). *Obtención de aceite esencial de citronela (Cymbopogon winterianus) extraído por arrastre con vapor a escala piloto: estudio de la influencia de variables en el rendimiento y la calidad del aceite*.
- Gil, S., & Rodríguez, E. (2001). *Física re-creativa*: Prentice Hall Buenos Aires.
- Gomis, Y. V. (2008). Tema 3. Cromatografía de gases. *Técnicas Instrumentales en el Análisis Industrial*.
- González, Á. (2004). *Obtención de aceites esenciales y extractos etanólicos de plantas del Amazonas*. Universidad Nacional de Colombia-Sede Manizales.
- González, F., & Mondragón, B. V. (2007). Planta de extracción de aceites esenciales. *Informador Técnico*, 71, 25-29.
- Granados, C., Santafé, G. G., & Acevedo, D. (2015). Composición química y evaluación de la actividad antioxidante del aceite esencial foliar de *Eucalyptus camaldulensis* de norte de santander (Colombia). *Revista UDCA Actualidad & Divulgación Científica*, 18(1).
- Guamingo, M., & Viviana, M. (2013). *Caracterización del jugo de naranja que se comercializa en Caluma, propuesta de conservación para aumentar su vida útil*. Universidad de Guayaquil. Facultad de Ingeniería Química.
- Guédez, C., Cañizalez, L., Avendaño, L., Scorza, J., Castillo, C., Olivar, R., . . . Sánchez, L. (2014). Actividad antifúngica del aceite esencial de naranja (*Citrus sinensis* L.) sobre hongos postcosecha en frutos de lechosa (*Carica papaya* L.). *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 34(2), 81-87.
- Gustavsson, J., Cederberg, C., Sonesson, U., Van Otterdijk, R., & Meybeck, A. (2012). Pérdidas y desperdicio de alimentos en el mundo.
- Henan Kingman Mechanical, & Electrical Complete Plant Co. (s.f). Extracción con solventes. Retrieved 27 de octubre de 2018 <http://www.plantasaceiteras.com/perfil-de-compania.html>
- Hernández, A. J. D. (2014). *Crecimiento y producción de naranja cv. Valencia citrus sinensis (L.) Osbeck, como respuesta a la aplicación de correctivos y fertilizante*. Universidad Nacional de Colombia, Medellín.

- Hernández, H., & Camacho, M. J. (2017). Plan de negocios para producción y exportación de aceites esenciales extraídos de plantas aromáticas de ciclo corto. *Observatorio de la Economía Latinoamericana*(233).
- Kirbaslar, F. G., & Kirbaslar, S. I. (2003). Composition of Cold-Pressed Bitter Orange Peel Oil from Turkey. *Journal of Essential Oil Research*, 15(1), 6-9. doi:10.1080/10412905.2003.9712247
- Koziół, A., Frątczak, J., Grela, E., Szczepanik, M., Gabryś, B., Dancewicz, K., & Lochyński, S. (2018). Synthesis and biological activity of new derivatives with the preserved carane system. *Natural product research*, 1-5.
- La Hora. (2013). Procesadora de cítricos casi lista. <https://lahora.com.ec/noticia/1101486629/procesadora-de--cc3adtricos-casi-lista->
- León, G., Fortich, O., Del Rosario, M., & Martínez, S. R. (2015). Comparación de dos métodos de extracción del aceite esencial de *Citrus Sinensis* L. *Revista Cubana de Farmacia*, 49(4), 742-750.
- López, A. F., Segovia, I. F., & Martínez, E. M. G. (2017). Determinación de aminas biógenas mediante cromatografía líquida de alta resolución (hplc).
- Ludeña, G. J. I. (2017). *Determinación de las propiedades físicas, composición química, evaluación de la actividad biológica y antioxidante del aceite esencial de la especie Annona cherimola (chirimoya) del cantón Cariamanga de la provincia de Loja*. UTPL. Retrieved from <http://dspace.utpl.edu.ec/handle/123456789/17508>
- Lzro, M. (s.f). Métodos de extracción de aceites esenciales. Retrieved 27 de octubre de 2018 <https://es.scribd.com/document/243147851/METODOS-DE-EXTRACCION-DE-ACEITES-ESENCIALES-docx>
- Martínez, A. (1996). Aceites esenciales. *J. Nat. Prod*, 59(1), 77-79.
- Martínez, A. M. (2001). Aceites Esenciales. *Facultad de Química Farmacéutica. Medellín. Universidad de Antioquia*, 1-12.
- Matiz, G., Osorio, M. R., Camacho, F., Atencia, M., & Herazo, J. (2012). Diseño y evaluación in vivo de formulaciones para acné basadas en aceites esenciales de naranja (*Citrus sinensis*), albahaca (*Ocimum basilicum* L) y ácido acético. *Biomédica*, 32(1), 125-133.
- Ministerio de Agricultura y Ganadería. (2016). *Boletín situacional de naranja 2016*. Sistema de Información Pública Agropecuaria.
- Mondello, L., Cotroneo, A., d'Alcontres, I. S., & Dugo, G. (1997). Italian Citrus Petitgrain Oils. Part III. Composition of Sweet Orange Petitgrain Oil. *Journal of Essential Oil Research*, 9(4), 379-392. doi:10.1080/10412905.1997.9700737

- Montolla, G. (2010). Aceites esenciales: una alternativa de diversificación para el eje cafetero.
- Montoya, G. (2010). Aceites esenciales una alternativa de diversificación para el eje cafetero. *Universidad Nacional de Colombia*.
- Monzón, L. A. T., & Cama, D. M. N. (2017). Estudio de la composición química del aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare spp.*) de Tacna. *Ingeniería Industrial*(35), 195-205.
- Moreira, G., & Intriago, V. (2014). *Evaluación de pérdidas poscosecha de naranja (Citrus Sinensis) producidas en la parroquia Membrillo y comercializadas en el mercado del cantón Bolívar*. (Ingeniería), Espam, Calceta.
- Navarrete, C., Gil, J., Durango, D., & Garcia, C. (2010). Extracción y caracterización del aceite esencial de manadarina obtenido de residuos agroindustriales. *Dyna*, 77(162), 85-92.
- Orejuela, C. Y. D., & Pardo, B. M. L. (2014). Estudio de la producción de los cítricos en las parroquias de Lita y La Carolina (Corredor Ibarra–San Lorenzo) en el periodo 2009-2012 y propuestas de medidas de mejoramiento.
- Palá, P. J., Pérez, A. M. J., & Velasco, N. A. (2002). Contribución al conocimiento de los aceites esenciales del género “*Eryngium*” L, en la península ibérica. *Escuela de Ciencias Biológicas. Universidad Complutense de Madrid*, 276.
- Paredes, D., & Quinatoa, F. (2010). Desarrollo de un sistema de extracción de aceites esenciales. *Escuela Superior Politécnica de Chimborazo-Facultad de Mecánica-Escuela de Ingeniería Mecánica. Ec.*
- Parrales, A., Vera, M., & Tobar, W. (2012). *Cromatografía del Gas Natural*. Escuela superior politécnica del litoral Retrieved from <https://www.dspace.espol.edu.ec/retrieve/91597/D-68860.pdf>
- Peng, F., Byers, K. J., & Bradshaw Jr, H. D. (2017). Less is more: Independent loss-of-function OCIMENE SYNTHASE alleles parallel pollination syndrome diversification in monkeyflowers (*Mimulus*). *American journal of botany*, 104(7), 1055-1059.
- Propiedades físicoquímicas que miden o identifican la materia. . (s.f). Retrieved 28 de octubre de 2018 [https://www.serina.es/empresas/cede\\_muestra/203/TEMA%20MUESTRA.pdf](https://www.serina.es/empresas/cede_muestra/203/TEMA%20MUESTRA.pdf)
- PubChem CID 8175. (2019). Decanal.
- PubChem CID 18818. (2005). Sabinene. *PUBCHEM*.

- Quinza, g. e., & Lopez, m. m. t. (1978). Indices de madurez de frutos citricos. Retrieved 16-Non-2018  
[https://www.mapa.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/hojas/hd\\_1978\\_25.pdf](https://www.mapa.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/hojas/hd_1978_25.pdf)
- Quiroga, P. R., Asensio, C. M., & Nepote, V. (2015). Antioxidant effects of the monoterpenes carvacrol, thymol and sabinene hydrate on chemical and sensory stability of roasted sunflower seeds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(3), 471-479.
- Scalvenzi, L., Yaguache, B., Cabrera, P., & Guerrini, A. (2016a). Actividad antifúngica in vitro de aceites esenciales de *Ocotea quixos* (Lam.) *Kosterm.* y *Piper aduncum* L. *Bioagro*, 28(1), 039-046.
- Scalvenzi, L., Yaguache, C., Cabrera, M., & Guerrini, A. (2016b). Actividad antifúngica in vitro de aceites esenciales de *Ocotea quixos* (Lam.) *Kosterm.* y *Piper aduncum* L. *Bioagro*, 28(1), 039-046.
- Servicio Nacional de Aprendizaje. (s.f). *Introducción a la Industria de los Aceites Esenciales extraídos de Plantas Medicinales y Aromáticas.*
- Shaghaleh, H., Xu, X., Al Azem, M., & Alhaj, H. Y. (2018). Investigation on the Utilization Possibility of Orange (*Citrus sinensis* var. Valencia) Oil Extracted by Microwave Pretreatment-Improved Steam Distillation as Natural Flavoring Agent Based on its Characteristics Analysis. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 1-19.
- Stashenko, E. E. (2009). *Aceites esenciales*: Universidad Industrial de Santander.
- Thakre, A. D., Mulange, S. V., Kodgire, S. S., Zore, G. B., & Karuppayil, S. M. (2016). Effects of Cinnamaldehyde, Ocimene, Camphene, Curcumin and Farnesene on *Candida albicans*. *Advances in Microbiology*, 6(09), 627.
- Torrenegra, Granados, C.-C., Durán, L.-M., León, M.-G., Yáñez, R.-X., Martínez, C., & Pájaro, C.-N. (2016). Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial de *Minthostachys mollis*. *Orinoquia*, 20(1), 69-74.
- Torrenegra, M., Granados, C., Osorio, M. R., & León, G. (2015). Comparación de la Hidro-destilación Asistida por Radiación de Microondas (MWHD) con Hidro-destilación Convencional (HD) en la Extracción de Aceite Esencial de *Minthostachys mollis*. *Información tecnológica*, 26(1), 117-122.
- Torres, A. C., Núñez, G. A., Rodríguez, J., Castillo, S., Leos, R. C., & Báez, G. J. G. (2017). Chemical composition, antimicrobial, and antioxidant activities of orange essential oil and its concentrated oils. *CyTA - Journal of Food*, 15(1), 129-135. doi:10.1080/19476337.2016.1220021

- Truong, K. N., Weger, L. B., Stahl, W., & Mouhib, H. (2017). Favored Conformations of Carbonyl Compounds: A Structural Study of n-Octanal. *ChemPhysChem*, 18(19), 2631-2636.
- UPM (Universida Politécnica de Madrid). (2010). Uso industrial de plantas aromáticas y medicinales. Retrieved 27 de octubre de 2018 <http://ocw.upm.es/ingenieria-agroforestal/uso-industrial-de-plantas-aromaticas-y-medicinales/contenidos/material-de-clase/tema7.pdf>
- Velandia, S. A., Flechas, M. C., Stashenko, E. E., & Ocazonez, R. E. (2016). Propuesta para seleccionar aceites esenciales de plantas de colombia para investigación con base en su citotoxicidad. *Vitae*, 23(1), 18-29.
- Vélez , T. M., Campos, G. R., & Sánchez, G. H. (2014). Uso de metabolitos secundarios de las plantas para reducir la metanogénesis ruminal. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 17(3), 489-499.
- Yáñez, R. X., Lugo, M. L., & Parada, P. D. (2007). Estudio del aceite esencial de la cáscara de la naranja dulce (*Citrus sinensis*, variedad Valenciana) cultivada en Labateca (Norte de Santander, Colombia). *Bistua: Revista de la facultad de Ciencias Básicas*, 5(1).
- Ygueravide, B. (2017). *Influencia del grado de maduración en el rendimiento y composición del aceite esencial extraído de los gálbulos de Juniperus oxycedrus L.*

# **ANEXOS**



## ANEXO 1

### 1.A. DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE RENDIMIENTO

Para calcular el porcentaje de rendimiento del aceite esencial, se correlacionó el volumen de aceite esencial obtenido en cada destilación con la cantidad de materia vegetal.

**Cálculo:**

$$\% R = \frac{V \text{ (mL)}}{P \text{ (g)}} * 100$$

**Dónde:**

**% R:** porcentaje de rendimiento;

**V:** volumen del aceite esencial extraído (mL);

**P:** peso de la materia vegetal empleada en la destilación (g).

## ANEXO 2

### 2.A. DETERMINACIÓN DE LA DENSIDAD RELATIVA A 20 °C

Según la norma AFNOR NF T 75-111 (ISO 279:1998)

#### Fundamento:

La densidad relativa a 20 °C de un aceite se define como la masa de un determinado volumen de aceite esencial a 20 °C sobre la masa de un volumen igual de agua destilada a 20°C.

#### Nota:

- Si es necesario, operar a una temperatura diferente debido a la naturaleza del aceite, indicar la norma referente al aceite esencial. La corrección para 20 °C es de 0,007 a 0,0008 por grado centígrado.
- La masa volumétrica a 20 °C de un aceite esencial se reporta como la masa de un cierto volumen de aceite esencial a 20°C.

#### Materiales:

- Picnómetro de vidrio
- Baño termostático, mantenido a temperatura ambiente de 20 °C ± 0,2.
- Termómetro de precisión graduado de 10 a 30 °C, con una variación de 0,2 °C a 0,1 °C.
- Balanza analítica.

#### Procedimiento:

- **Preparación del picnómetro:** limpiar rigurosamente y luego enjuagar el picnómetro, lavar con etanol y luego con acetona, pasarlo por una corriente de aire seco, si es necesario secar el exterior del picnómetro con un trapo seco o con papel filtro. Cuando se equilibre la temperatura en el cuarto de balanzas, pesar el picnómetro con el tapón en su sitio con 1 mg de precisión.
- **Peso de agua destilada:** llenar el picnómetro con agua recién destilada que se encuentre a una temperatura de 20 °C. Coloque el picnómetro en el baño termostático. Durante 30 minutos ajustar el nivel de agua hasta la marca, poner el tapón del picnómetro en su sitio, secar el exterior del picnómetro con

un trapo seco o papel filtro. Cuando se equilibre la temperatura del cuarto de balanza pesar el picnómetro lleno con el tapón en su sitio con 1 mg de presión.

- **Peso del aceite esencial:** vaciar el picnómetro, luego enjuagar y secar. Efectuar las mismas operaciones, pero con aceite en lugar de agua.

### **Cálculos:**

La densidad relativa se obtiene con la siguiente fórmula:

$$d = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0}$$

**d:** densidad relativa a 20 °C, referido al agua a 20 °C;

**m<sub>0</sub>:** masa en gramos del picnómetro vacío;

**m<sub>1</sub>:** masa en gramos del picnómetro con agua;

**m<sub>2</sub>:** masa en gramos del picnómetro con aceite esencial.

## ANEXO 3

### 3.A. DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE DE REFRACCIÓN

Según la norma AFNOR NF T 75-112 (ISO 280: 1998)

#### **Fundamento:**

Según el tipo de aparato que utilice, la medida directa del ángulo de refracción o la observación del límite de refracción total. El aceite se mantendrá dentro de las condiciones de iso-tropismo y de transparencia.

#### **Definición:**

El índice de refracción de un aceite esencial es el producto entre el seno del ángulo de incidencia y el seno del ángulo de refracción de un rayo luminoso de longitud de onda determinada, que pasa desde el aire a través del aceite esencial, manteniendo la temperatura constante.

La longitud de onda específica es  $589,3 \pm 0,3$  nm, correspondiente a la radiación D1 y D2 del espectro de sodio.

La temperatura de referencia es de 20 °C, salvo para los aceites esenciales que no son líquidos a esa temperatura. En este caso se deben adoptar las temperaturas de 25°C y 30°C según el punto de fusión del aceite considerado.

#### **Materiales:**

**Refractómetro:** utilice un refractómetro clásico que permita la lectura de los índices de refracción entre 1,300 y 1,700 con una precisión de  $\pm 0,0002$ .

Ajuste el aparato de manera que a una temperatura de 20 °C se tengan los siguientes índices de refracción, según:

- 1,3330 para agua destilada
- 1,4906 para el p-cimeno
- 1,5685 para el benzoato de bencilo
- 1,6585 para el 1-bromo naftaleno

Los productos patrón deben ser puros, de calidad para refractometría, deben también ajustarse con una lámina de índice de refracción conocida, según las indicaciones de fabricación del equipo.

**Procedimiento:**

Pasar una corriente de agua en un refractómetro, a fin de mantener el aparato a la temperatura de referencia de 20 °C salvo para los aceites esenciales que no son líquidos a esa temperatura. En ese caso deben adoptarse las temperaturas de 20 °C y 30 °C, según el punto de fusión del aceite esencial considerado. Esta temperatura no debe diferir de la temperatura de referencia más de  $\pm 0,2$  °C y debe mantenerse a  $\pm 0,2$  °C.

Antes de poner la muestra en el instrumento, llevarla a una temperatura igual a la que se realizará la medida. Para efectuar la lectura esperar que la temperatura sea estable.

**Cálculos:**

$$n_D^{t'} = n_D^{20} + F(t' - 20)$$

$n_D^{t'}$ : valor de la lectura obtenida a temperatura 20 °C o aquella a la que se ha efectuado la determinación;

**F**: factor de corrección 0,0004;

$t'$ : temperatura a la que se efectuó la lectura;

**t**: temperatura a 20 °C.

**Nota:**

Expresar los resultados con cuatro cifras decimales.

La precisión de la determinación es de  $\pm 0,0002$ .

## ANEXO 4

### 4.A. DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ÓPTICA ESPECÍFICA

Según la norma ISO 592-1998

#### **Fundamento:**

Siempre que se trabaje con aceites sólidos o parcialmente sólidos, aceites de alta viscosidad en un rango de temperatura o aceites de colores fuertes, la determinación transcurre en una solución del aceite.

#### **Definiciones:**

La actividad óptica se define como un conjunto de ondas luminosas que vibran en un solo plano, mientras que en la luz no polarizada el plano de vibración varía rápidamente a razón de cien millones de veces por segundo. Es decir que la luz polarizada es aquella que ha pasado a través de un polarizador que fuerza ondas electromagnéticas aleatorias hacia un plano. Cuando esta luz polarizada en un plano pasa a través de una sustancia ópticamente activa, el plano de polarización se gira en una cantidad que es característica de la sustancia que se está examinando. Los polarímetros tienen la capacidad de detectar la posición del plano y de compararla con su posición original siendo diferenciando la rotación, la cual se expresa normalmente en grados angulares ( $A^\circ$ ). La magnitud que rota al plano varía de un compuesto activo a otro.

#### **Reactivos:**

Los reactivos deben ser de grado analítico. Usar agua destilada o de pureza equivalente.

#### **Solvente:**

Solo para aceites esenciales que necesiten ensayarse en solución. Se utilizará preferiblemente diclorometano. Es necesario considerar la rotación óptica del mismo.

#### **Aparatos:**

- **Polarímetro:** con una precisión no menor a  $\pm 0,5$  mrad ( $\pm 0,03^\circ$ ) y ajustado de  $0^\circ$  a  $180^\circ$  con agua.

- El polarímetro constará de un plato de cuarzo de rotación óptica conocida, si esto es inaccesible, con una solución acuosa con un contenido de 26 g de sacarosa anhidra pura por 100 mL de solución. La rotación óptica de esta solución es de +604 mrad en 200 mm de pasta a una temperatura de 20 °C. El instrumento deberá ser usado en la oscuridad.
- **La fuente de luz:** comprende un dispositivo a una longitud de onda de 589,3 nm  $\pm$ 0,5 nm con una lámpara de vapor de sodio.
- **Tubos polarimétricos:** usualmente de 100 mm  $\pm$  0,5 mm de longitud. Para muestras ligeramente coloreadas o de baja rotación óptica se deben usar tubos de más o menos 200 mm  $\pm$  0,5 mm, tubos de 50 mm  $\pm$  0,5 mm o 10 mm  $\pm$  0,005 mm o menos si es necesario para muestras fuertemente coloreadas. En la determinación se debe trabajar a 20 °C o anotar la temperatura específica, utilice un tubo de ensayo de pared gruesa, equipado con un termómetro, asegurar la circulación del agua a la temperatura requerida. Para la determinación de la temperatura ambiente ver el tipo de tubo de ensayo que se debe utilizar, si bien es aconsejable utilizar los descritos en la parte anterior.
- **Termómetro:** graduado en 0,2 °C o 0,1 °C permitiendo la determinación de temperaturas entre 10 °C y 30 °C.

**Procedimiento:**

Es necesario mantener la temperatura de la muestra a 20 °C  $\pm$  0,2 °C o especificar la temperatura, para la muestra que va en el tubo polarimétrico apropiado. Mantener el diclorometano que está circulando con un control termostático, mantener la temperatura especificada durante la determinación. Llenar el tubo con la muestra y asegurarse de la ausencia de burbujas. Coloque el tubo en el polarímetro y lea la dextrorrotación (+) o la levorrotación (Brand-Williams) del aceite que en la escala muestra el instrumento.

**Nota:** Como una regla, la determinación será efectuada a 20 °C a excepción de los aceites que especifiquen el rango a trabajar.

**Cálculos:**

La ecuación utilizada para obtener la rotación específica de un compuesto ópticamente activo es la siguiente:

$$[\alpha]_D = \frac{\alpha}{lc}$$

**Dónde:**

**$[\alpha]_D$** : rotación específica en ml/g dm;

**$\alpha$** : rotación óptica en grados (°);

**l**: longitud de celda en dm;

**c**: concentración en g/mL de solución.

El cambio de la temperatura tiene varios efectos sobre la rotación de una solución o un líquido. Un incremento en la temperatura aumenta la longitud del tubo y también disminuye la densidad, reduciendo así el número de moléculas involucradas causando cambios en el poder rotario de las moléculas entre sí mismas.

**Nota:** los factores de corrección deberán ser datos en las especificaciones para cada aceite.

**Precisión:** la precisión del método ensayado es de  $\pm 3$  mrad ( $\pm 0,17^\circ$ )



## ANEXO 5

### 5.A. DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE DE RETENCIÓN

Obtenido los cromatogramas, se calcula los índices de retención de los picos integrados, para ello se compara el tiempo de retención de los hidrocarburos con el tiempo de retención de los compuestos del aceite esencial, empleando la siguiente ecuación:

$$IR = 100n + 100 * \frac{tRX - tRn}{tRN - tRn}$$

**Dónde:**

**IR=** índice de retención;

**n=** número de átomos de carbono en el n-alcano;

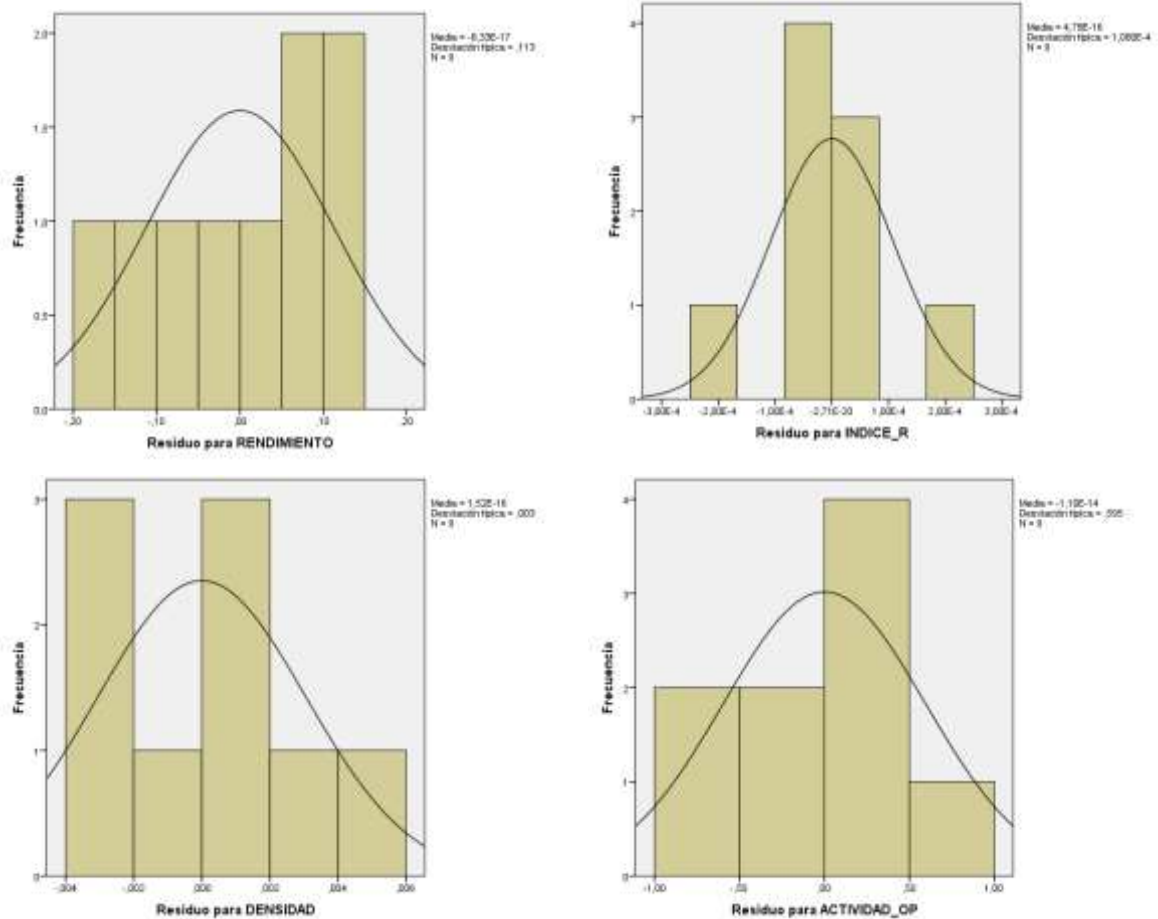
**tRx=** tiempo de retención del compuesto analizado, que eluye en el centro de n-alcanos;

**tRn=** tiempo de retención n-alcano que eluye antes del compuesto analizado;

**tRN=** tiempo de retención de n-alcano que eluye después del compuesto analizado.

## ANEXO 6

## 6.A. SUPUESTOS DEL ADEVA PARA PROPIEDADES FÍSICAS



Histograma y curva de normalidad con residuo de propiedades físicas

## Prueba de homogeneidad de la varianza

	Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
Actividad óptica	,985	2	6	,427ns
Rendimiento	1,255	2	6	,350ns
Densidad	2,480	2	6	,164ns
Índice de refracción	1,684	2	6	,263ns

## ANEXO 7

## 7.A. ADEVA PARA PROPIEDADES FÍSICAS

Tabla ADEVA de un factor

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Actividad óptica	Tratamientos	5,109	2	2,555	5,409	,045*
	Error	2,834	6	,472		
	Total	7,943	8			
Rendimiento	Tratamientos	,102	2	,051	2,992	,125 NS
	Error	,102	6	,017		
	Total	,204	8			
Densidad	Tratamientos	,000	2	,000	2,179	,194 NS
	Error	,000	6	,000		
	Total	,000	8			
Índice refracción	Tratamientos	,000	2	,000	4,357	,068 NS
	Error	,000	6	,000		
	Total	,000	8			

## ANEXO 8

## 8.A. CATEGORIZACIÓN PARA ACTIVIDAD ÓPTICA

Tabla Tukey, Duncan para Actividad Óptica

	TRATAMIENTO	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
			a	b
HSD de Tukey <sup>a</sup>	Pintona	3	111,99	
	Verde	3	113,58	
	Madura	3	113,59	
	Sig.		,065	
Duncan <sup>a</sup>	Pintona	3		111,99
	Verde	3	113,58	
	Madura	3	113,59	
	Sig.		1,000	,995

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3,000.

## ANEXO 9

## 9.A. DB5-MASAS NARANJAS

Tabla DB5-MASAS NARANJAS VERDES (a1)

Compuestos	INDEX COVATS		% de Cantidad Relativa				
	IR ref	IR cal	R1	R2	R3	$\bar{X}$	$\sigma$
1 Pinene < $\alpha$ ->	932	933	0,5985	0,5817	0,5983	0,59	0,01
2 Sabinene	969	968	0,5371	0,6099	0,6028	0,58	0,04
3 Myrcene	988	984	1,5478	1,5477	1,532	1,54	0,01
4 Octanal	998	998	0,1531	0,1664	0,1632	0,16	0,01
5 Carene < $\delta$ -3->	1008	1002		0,1485	0,163	0,10	0,01
6 Limonene	1024	1024	96,0653	96,1015	96,0599	96,08	0,02
7 Linalool	1095	1094	0,824	0,7066	0,7501	0,76	0,06
8 Decanal	1201	1199	0,133		0,1307	0,09	0,00

Fuente: IR cal (Adams, 2017)

Tabla DB5-MASAS NARANJAS PINTONAS (a2)

Compuestos	INDEX COVATS		% de Cantidad Relativa				
	IR ref	IR cal	R1	R2	R3	$\bar{X}$	$\sigma$
1 Pinene < $\alpha$ ->	932	933	0,5602	0,5984	0,6185	0,59	0,03
2 Sabinene	969	968		0,3392	0,2658	0,20	0,05
3 Myrcene	988	984	1,5074	1,4983	1,5338	1,51	0,02
4 Octanal	998	998		0,1702	0,1407	0,10	0,02
5 Limonene	1024	1024	95,9569	96,0485	95,747	95,92	0,15
6 Ocimene <(E)- $\beta$ ->	1044	1040	0,2392		0,2875	0,18	0,03
7 Linalool	1095	1094	0,9331	0,8742	1,1775	0,99	0,16
8 Decanal	1201	1199	0,2796	0,2325	0,2292	0,25	0,03

Fuente: IR cal (Adams, 2017)

Tabla DB5-MASAS NARANJAS MADURAS (a3)

Compuestos	INDEX COVATS		% de Cantidad Relativa				
	IR ref	IR cal	R1	R2	R3	$\bar{X}$	$\sigma$
1 Pinene < $\alpha$ ->	932	919	0,58	0,5838	0,6775	0,61	0,06
2 Sabinene	969	969	0,23		0,2654	0,17	0,02
3 Myrcene	988	985	1,54	1,531	1,7675	1,61	0,13
4 Octanal	998	998	0,20	0,1807	0,2331	0,20	0,03
5 Limonene	1024	1024	96,38	96,4517	95,998	96,28	0,24
6 Ocimene <(E)- $\beta$ ->	1044	1040	0,16	0,1332	0,1479	0,15	0,01
7 Linalool	1095	1094	0,57	0,5501	0,507	0,54	0,03
8 Decanal	1201	1199	0,34	0,3011	0,2662	0,30	0,04

Fuente: IR cal (Adams, 2017)

## ANEXO 10

## 10.A. SUPUESTOS DEL ADEVA PARA PROPIEDADES QUÍMICAS

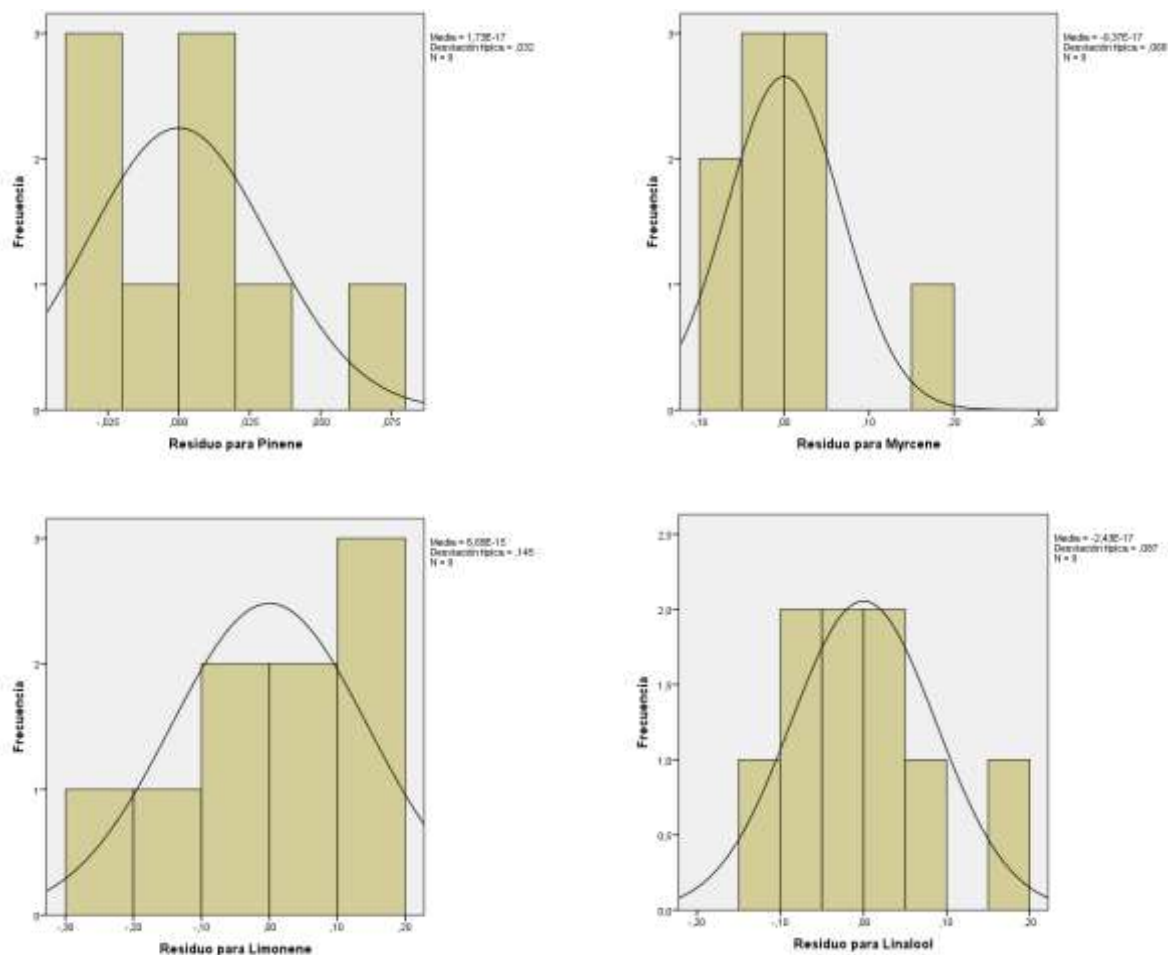


Figura Histograma de residuo de propiedades químicas

Tabla Prueba de homogeneidad de varianzas

	Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
pinene	5,220	2	6	,049*
myrcene	12,398	2	6	,007*
limonene	5,180	2	6	,049*
linalool	5,152	2	6	,050Ns

**ANEXO 11****11.A. ADEVA PARA PROPIEDADES QUÍMICAS**

Tabla ADEVA de un factor para propiedades químicas

linalool					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Tratamientos	,306	2	,153	15,056	,005**
Error	,061	6	,010		
Total	,367	8			

## ANEXO 12

## 12.A. CATEGORIZACIÓN PARA LINALOOL

Tabla Tukey para linalool

HSD de Tukey <sup>a</sup>			
trata	N	Subconjunto para sig = 0.05	
		b	a
a3	3	,5432667	
a1	3	,7602333	,7602333
a2	3		,9949333
Sig.		,086	,066

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.  
a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3,000.



## ANEXO 13

## 13.A. ADEVA DE KRUSKAL-WALLIS PARA PINENE, MYRCENE, LIMONENE

Tabla Resumen de prueba de hipótesis

	<b>Hipótesis nula</b>	<b>Test</b>	<b>Sig.</b>	<b>Decisión</b>
<b>1</b>	La distribución de pinene es la misma entre las categorías de tratamiento.	Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes	1,000	Retener la hipótesis nula.
<b>2</b>	La distribución de myrcene es la misma entre las categorías de tratamiento.	Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes	,193	Retener la hipótesis nula.
<b>3</b>	La distribución de limonene es la misma entre las categorías de tratamiento.	Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes	,113	Retener la hipótesis nula.

---

Se muestran las significancias asintóticas. El nivel de significancia es ,05.

---

## ANEXO 14

### 14.A. DICOTOMÍA PROPIEDADES QUÍMICAS RESUMEN DEL MODELO PARA SABINENE

Tabla Resumen del modelo para Sabinene

Paso	-2 log de la verosimilitud	R cuadrado de Cox y Snell	R cuadrado de Nagelkerke
1	7,638 <sup>a</sup>	,190	,291

a. La estimación ha finalizado en el número de iteración 20 porque se han alcanzado las iteraciones máximas. No se puede encontrar una solución definitiva.

### 14.B. DICOTOMÍA PROPIEDADES QUÍMICAS PRUEBA DE HOSMER Y LEMESHOW PARA SABINENE

Tabla Prueba de Hosmer y lemeshow para Sabinene

Paso	Chi cuadrado	gl	Sig.
1	,000	1	1,000

### 14.C. DICOTOMÍA PROPIEDADES QUÍMICAS CLASIFICACIÓN PARA SABINENE

Tabla Clasificación para Sabinene

	Observado	Pronosticado		
		Sabinene		Porcentaje correcto
		Ausencia	Presencia	
Paso 1	Sabinene Ausencia	0	2	,0
	Sabinene Presencia	0	7	100,0
Porcentaje global				77,8

a. El valor de corte es ,500

## ANEXO 15

### 15.A. DICOTOMÍA PROPIEDADES QUÍMICAS RESUMEN DEL MODELO PARA OCTANAL

Tabla Resumen del modelo para octanal

Paso	-2 log de la verosimilitud	R cuadrado de Cox y Snell	R cuadrado de Nagelkerke
1	3,819 <sup>a</sup>	,239	,476

a. La estimación ha finalizado en el número de iteración 20 porque se han alcanzado las iteraciones máximas. No se puede encontrar una solución definitiva.

### 15.B. DICOTOMÍA PROPIEDADES QUÍMICAS PRUEBA DE HOSMER Y LEMESHOW PARA OCTANAL

Tabla Prueba de Hosmer y lemeshow para ocatanal

Paso	Chi cuadrado	gl	Sig.
1	,000	0	.

### 15.C. DICOTOMÍA PROPIEDADES QUÍMICAS CLASIFICACIÓN PARA OCTANAL

Tabla Clasificación para ocatanal

	Observado	Pronosticado		
		Octanal		Porcentaje correcto
		Ausencia	Presencia	
Paso 1	Ausencia	0	1	,0
	Presencia	0	8	100,0
Porcentaje global				88,9

a. El valor de corte es ,500

## ANEXO 16

### 16.A. DICOTOMÍA PROPIEDADES QUÍMICAS RESUMEN DEL MODELO PARA OCIMENE <(E)-B->

Tabla resumen del modelo para ocimene <(e)-β->

Paso	-2 log de la verosimilitud	R cuadrado de Cox y Snell	R cuadrado de Nagelkerke
1	3,819 <sup>a</sup>	,613	,821

a. La estimación ha finalizado en el número de iteración 20 porque se han alcanzado las iteraciones máximas. No se puede encontrar una solución definitiva.

### 16.B. DICOTOMÍA PROPIEDADES QUÍMICAS PRUEBA DE HOSMER Y LEMESHOW PARA OCIMENE <(E)-B->

Tabla Prueba de Hosmer y lemeshow para ocimene <(e)-β->

Paso	Chi cuadrado	gl	Sig.
1	,000	1	1,000

### 16.C. DICOTOMÍA PROPIEDADES QUÍMICAS CLASIFICACIÓN PARA OCIMENE <(E)-B->

Tabla Clasificación para ocimene <(e)-β->

	Observado	Pronosticado			Porcentaje correcto
		Ocimene			
		Ausencia	Presencia		
Paso 1	Ocimene Ausencia	3	1		75,0
	Ocimene Presencia	0	5		100,0
	Porcentaje global				88,9

a. El valor de corte es ,500

## ANEXO 17

### 18.A. DICOTOMÍA PROPIEDADES QUÍMICAS RESUMEN DEL MODELO PARA DECANAL

Tabla resumen del modelo para decanal

Paso	-2 log de la verosimilitud	R cuadrado de Cox y Snell	R cuadrado de Nagelkerke
1	3,819 <sup>a</sup>	,239	,476

a. La estimación ha finalizado en el número de iteración 20 porque se han alcanzado las iteraciones máximas. No se puede encontrar una solución definitiva.

### 17.B. DICOTOMÍA PROPIEDADES QUÍMICAS PRUEBA DE HOSMER Y LEMESHOW PARA DECANAL

Tabla Prueba de Hosmer y lemeshow para decanal

Paso	Chi cuadrado	gl	Sig.
1	,000	0	.

### 17.C. DICOTOMÍA PROPIEDADES QUÍMICAS CLASIFICACIÓN PARA DECANAL

Tabla Clasificación para decanal

Observado		Pronosticado		
		Decanal		Porcentaje correcto
		Ausencia	Presencia	
Paso 1	Decanal Ausencia	0	1	,0
	Decanal Presencia	0	8	100,0
Porcentaje global				88,9

a. El valor de corte es ,500

## ANEXO 18

### 18.A. DICOTOMÍA PROPIEDADES QUÍMICAS RESUMEN DEL MODELO PARA CARANE

Tabla resumen del modelo para carane

Paso	-2 log de la verosimilitud	R cuadrado de Cox y Snell	R cuadrado de Nagelkerke
1	3,819 <sup>a</sup>	,470	,720

a. La estimación ha finalizado en el número de iteración 20 porque se han alcanzado las iteraciones máximas. No se puede encontrar una solución definitiva.

### 18.B. DICOTOMÍA PROPIEDADES QUÍMICAS PRUEBA DE HOSMER Y LEMESHOW PARA CARANE

Tabla Prueba de Hosmer y lemeshow para carane

Paso	Chi cuadrado	gl	Sig.
1	,000	1	1,000

### 18.C. DICOTOMÍA PROPIEDADES QUÍMICAS CLASIFICACIÓN PARA CARANE

Tabla Clasificación para carane

	Observado	Pronosticado			Porcentaje correcto
		CARANE		Porcentaje correcto	
		Ausencia	Presencia		
Paso 1	CARANE	Ausencia	6	1	85,7
		Presencia	0	2	100,0
		Porcentaje global			88,9

a. El valor de corte es ,500

## ANEXO 19

## 19.A. MATERIA PRIMA



ANEXO 20

20.A. RECPCION Y CLASIFICACION DE MATERIA PRIMA





## ANEXO 21

## 21.A. PESADO



ANEXO 22

22.A. PELADO



## ANEXO 23

## 23.A. EVAPORACION



## ANEXO 24

## 24.A. DESTILACION



## ANEXO 25

## 25.A. DECANTACION





## ANEXO 26

## 26.A. FILTRADO



## ANEXO 27

## 27.A. ENVASADO

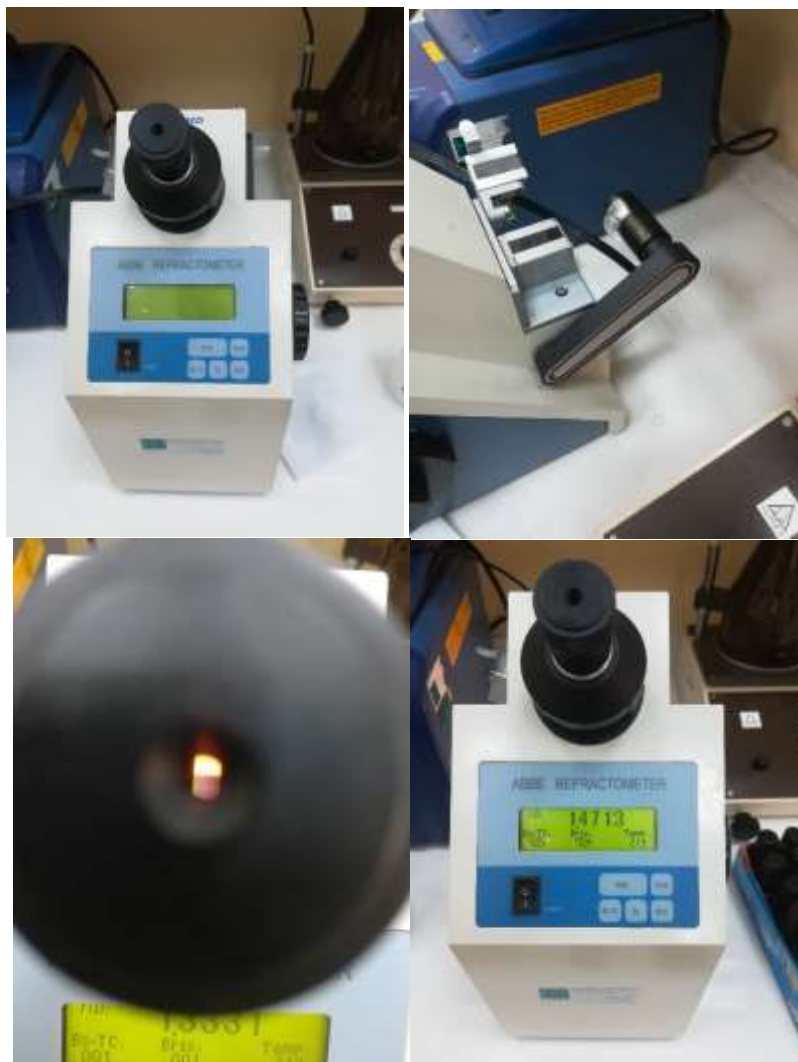


**ANEXO 28**  
**28.A. MUESTRAS PARA LABORATORIO**





**ANEXO 29**  
**29.A. RESULTADOS INDICE DE FRACCIÓN**



## ANEXO 30

## 30.A. RESULTADOS ACTIVIDAD OPTICA

