



UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLÍVAR
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
RECURSOS NATURALES Y DEL AMBIENTE
ESCUELA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

TEMA:

“OBTENCIÓN DE ACEITES ESENCIALES DE LA CÁSCARA DE NARANJA (*Citrus sinensis*, variedad valenciana) A TRAVÉS DEL MÉTODO DE DESTILACIÓN POR ARRASTRE DE VAPOR, UTILIZANDO TRES CONCENTRACIONES DE BICARBONATO DE SODIO PARA INCREMENTAR SU RENDIMIENTO”

Tesis de Grado previo a la obtención del Título de Ingeniero Agroindustrial otorgado por la Universidad Estatal de Bolívar, a través de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, Recursos Naturales y del Ambiente Escuela de Ingeniería Agroindustrial.

AUTORES:

DIEGO MOPOSITA VÁSQUEZ

DARWIN NÚÑEZ TORRES

DIRECTOR DE TESIS

ING. EDWIN SOLÓRZANO SALTOS

GUARANDA - ECUADOR

2012

TEMA:

“OBTENCIÓN DE ACEITES ESENCIALES DE LA CÁSCARA DE NARANJA (*Citrus sinensis*, variedad valenciana) A TRAVÉS DEL MÉTODO DE DESTILACIÓN POR ARRASTRE DE VAPOR, UTILIZANDO TRES CONCENTRACIONES DE BICARBONATO DE SODIO PARA INCREMENTAR SU RENDIMIENTO”

REVISADO POR:

ING. EDWIN SOLÓRZANO SALTOS
DIRECTOR DE TESIS

ING. DANILO MONTERO
BIOMETRISTA

APROBADO POR LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN

DRA. ODERAY MERINO P. Msc.
ÁREA TÉCNICA

ING. VICENTE DOMINGUEZ N.
ÁREA DE REDACCIÓN TÉCNICA

Fecha de defensa.....

DECLARACIÓN

Nosotros: DIEGO DAVID MOPOSITA VÁSQUEZ Y DARWIN ALBERTO NÚÑEZ TORRES, autores de la tesis declaramos que el trabajo aquí descrito es de nuestra autoría; este documento no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional; y, que las referencias bibliográficas que se incluyen han sido consultadas.

La Universidad Estatal de Bolívar puede hacer uso de los derechos de publicación correspondientes a este trabajo, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su Reglamento y por la normativa institucional vigente.

MOPOSITA VÁSQUEZ DIEGO

C.I. 0201972593

NÚÑEZ TORRES DARWIN

C.I. 0201977576

DEDICATORIA

A Dios en primer lugar quien estuvo conmigo todos los días de mi vida, el que me ayudo en los momentos más difíciles de mi carrera universitaria, a mis padres, porque creyeron en mí y me sacaron adelante, dándome ejemplos dignos de superación y entrega, ya que en gran parte gracias a ustedes, hoy puedo ver alcanzada mi meta, y siempre estuvieron impulsándome en los momentos más difíciles de mi vida estudiantil y porque el orgullo que sienten por mí, fue lo que me hizo ir hasta el final. Va por ustedes, por lo que valen, porque admiro su fortaleza y por lo que han hecho de mí.

A mis hermanos, Lenin, Sara, y Loida, tíos, primos, abuelos y amigos. Gracias por haber fomentado en mí el deseo de superación y el anhelo de triunfo en la vida.

Mil palabras no bastarían para agradecerles su apoyo, su comprensión y sus consejos en los momentos difíciles.

A todos, espero no defraudarlos y contar siempre con su valioso apoyo, sincero e incondicional.

Diego David Moposita Vásquez

AGRADECIMIENTO

El presente trabajo de tesis primeramente me gustaría agradecerel a Dios por bendecirme para llegar hasta donde he llegado, porque hiciste realidad este sueño anhelado.

A la UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLÍVAR por darme la oportunidad de estudiar y ser un profesional.

A mi director de tesis, Ing. Edwin Solórzano Saltos por su esfuerzo y dedicación, quien con sus conocimientos, su experiencia, su paciencia y su motivación ha logrado en mí que pueda terminar mis estudios con éxito.

También me gustaría agradecer a mis profesores durante toda mi carrera profesional porque todos han aportado con un granito de arena en mi formación.

En especial, agradezco a una persona indispensable que estuvo durante estos cinco años de trayectoria apoyándome en todos los momentos, buenos y malos, a la Lic. Rossana Jarrin.

Diego David Moposita Vásquez

DEDICATORIA

Dedico este trabajo al ser que nos da la vida a DIOS, agradecerle por haberme permitido seguir luchando por mis objetivos y metas que tiene el ser humano en la vida, a mis Padres que me apoyaron en toda mi carrera universitaria, quienes han sembrado en mi las ganas de superación y lucha, a mis queridos hermanos quienes me impulsaron siempre por el camino correcto y me apoyaron en todo, a mis apreciados sobrinos que son una bendición de DIOS, a mis compañeros universitarios que estuvieron en las buenas y en las malas luchando por lo que uno más anhela ser un profesional en la vida. GRACIAS A TODOS.

AGRADECIMIENTO

Primeramente agradezco a DIOS, por darme las fuerzas necesarias para luchar y ganar esta batalla, quien estuvo conmigo presente en todos los momentos, darle gracias por darme vida y así cumplir con todos los sueños y anhelos que me he propuesto.

La presente Tesis es un esfuerzo en el cual, directa o indirectamente, participaron varias personas: leyendo, opinando, corrigiendo, teniéndome paciencia, dando ánimo, acompañando en los momentos de crisis y en los momentos de felicidad.

Agradezco al Ing. Edwin Solórzano Saltos, Dra. Oderay Merino, Ing. Vicente Domínguez, Ing. Danilo Montero y al Ing. Marcelo García, quienes conformaron el tribunal de tesis y por haber confiado en mí, por la paciencia y por la dirección de este trabajo.

A mis padres, Vicente Núñez Páliz y Rosa Torres del Pozo, a mis hermanos, Vicente Núñez Torres, Rosalía Núñez Torres, Shirley Núñez Torres, quienes estuvieron presentes en toda mi carrera universitaria, apoyándome incondicionalmente sobre toda adversidad, para llegar a la meta que me propuesto en esta vida.

Darwin A. Núñez Torres

ÍNDICE DE CONTENIDOS

Nº		PÁG.
I	INTRODUCCIÓN	1
II	MARCO TEÓRICO	3
2. 1	Aceites Esenciales	3
2.1.1	Teoría de la formación de aceites esenciales	4
2.1.2	Clasificación de los aceites esenciales	6
2.1.3	Origen	6
2.1.4	Composición de los aceites esenciales de la naranja	7
2.2.1	Hidrocarburos Monoterpénicos	7
2.2.2	Alcoholes	8
2.2.3	Aldehídos	9
2.2.4	Fenoles	9
2.2.5	Cetonas	10
2.2.6	Ésteres	11
2.3	Propiedades físicas y organolépticas de los aceites esenciales	14
2.3.1	Densidad	14
2.3.2	Color	14
2.3.3	Índice de refracción	15
2.4	Cromatografía de gases	15
2.4.1	Características cromatográficas	16
2.4.2	Cromatografía en fase gaseosa acoplada a espectrometría de masas	16
2.5	Usos de los aceites esenciales	18
2.5.1	Industria alimentaria	18
2.5.2	Industria farmacéutica	19

N°		PÁG
2.5.3	Industria de cosméticos	19
2.5.4	Industria de productos de uso veterinario	19
2.5.5	Desodorantes industriales	19
2.6	Naranja	20
2.6 .1	Capa externa	21
2.6.2	Capa interna	22
2.6.3	Composición química de la naranja	22
2.6.4	Índice de madurez	23
2.6.5	Corteza o cáscara de naranja	24
2.6.6	Beneficios de la cáscara de naranja	25
2.7	Reactivos	26
2.7.1	Bicarbonato	26
2.7.2	Descripción	26
2.7.3	Especificaciones del producto	26
2.7.4	Propiedades	27
2.7.5	Información ecológica	27
2.7.6	Método de destilación por arrastre con vapor para la obtención de aceites esenciales	27
2.7.7	Arrastre con vapor	29
2.8	Maceración	30
2.9	Harinas	31
2.9.1	Análisis para harinas de origen vegetal	32
2.9.2	Humedad	32
2.9.3	Porcentaje de cenizas	32
III	MATERIALES Y MÉTODOS	33
3.1	Localización del experimento	33

N°		PÁG.
3.2	Ubicación del experimento	33
3.3	Situación geográfica y climática	33
3.4	Materiales	34
3.4.1	Material experimental	34
3.4.2	Materiales de campo	34
3.4.3	Material de oficina	34
3.4.4	Materiales de planta	35
3.4.5	Materiales de laboratorio	35
3.4.6	Recursos institucionales	36
3.4.7	Fuente de información	36
3.4.7.1	Primaria	36
3.4.7.2	Secundaria	36
3.5	Factores en estudio	37
3.6	Características del experimento	37
3.6.1	Descripción del diseño	37
3.6.2	Tipo de diseño experimental	38
3.6.3	Análisis estadístico y funcional	38
3.7	Métodos de evaluación y datos a evaluarse	39
3.7.1	En la materia prima	39
3.7.1.1	Índice de madurez	39
3.7.2	El producto terminado (Aceite esencial a partir de la cáscara de naranja)	40
3.7.2.1	Densidad relativa 25/25°C	40
3.7.2.2	Acidez	41
3.7.2.3	Humedad	41
3.7.2.4	Índice de refracción	42
3.7.2.5	Análisis organoléptico sensorial del aceite esencial	42

N°		PÁG
3.7.3.1	Humedad	42
3.7.3.2	Cenizas	43
3.7.3.3	Ph	44
3.7.3.4	Mohos y levaduras	44
3.7.3.5	Echerichia-coli	45
3.7.3.6	Análisis organoléptico sensorial de la harina	46
3.7.4	Análisis en el mejor tratamiento	46
3.7.4.1	Análisis cromatográfico	47
3.7.4.2	Análisis de relación costo /beneficio	48
3.8	Manejo experimental	48
3.9	Proceso para elaboración de harina	50
3.10	Diagrama de flujo para la elaboración de aceite esenciales a partir de cáscara de naranja	51
3.11	Diagrama de flujo para la elaboración de harina a partir de cáscara de naranja	52
IV	RESULTADOS Y DISCUSIONES	54
4.1	Análisis en la materia prima	54
4.1.1	Índice de madurez	54
4.2	Análisis en el producto terminado (Aceite Esencial)	54
4.2.1	Densidad relativa 25/25°C	54
4.2.2	Acidez	56
4.2.3	Humedad	58
4.2.4	Índice de refracción	60
4.2.5	Rendimiento en el aceite esencial	62

N°		PÁG.
4.2.6	Análisis organoléptico del aceite esencial	64
4.3	Análisis realizados en la harina	73
4.3.1	Humedad	73
4.3.2	Cenizas	73
4.3.3	pH	74
4.3.4	Acidez titulable	75
4.3.5	Microbiología	75
4.3.6	Análisis organoléptico de la harina de cáscara de naranja	76
4.4	Análisis realizados en el mejor tratamiento	87
4.4.1	Análisis cromatográfico	87
4.4.1.1	Determinación de algunos componentes para cromatografía de gases	87
4.4. 2	Análisis económico en el mejor tratamiento	90
V	Verificación de hipótesis	91
5.1	Hipótesis	91
5.1.1	Verificación de hipótesis para el rendimiento en el aceite de cáscara de naranja	91
VI	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	93
6.1	Conclusiones	93
6.2	Recomendaciones	97
VII	Resumen y summary	98
7.1	Resumen	98
7.2	Summary	100
	Bibliografía	102

ÍNDICE DE CUADROS

Nº	DESCRIPCIÓN	PÁG.
1	Compuestos químicos del aceite esencial de la naranja	7
2	Picos cromatográficos de aceites esenciales de naranja	16
3	Interpretación de picos cromatográfico de aceite esencial de naranja	17
4	Características físicas de la naranja	20
5	Principales componentes de la cáscara de naranja	23
6	Características físicas de la corteza o cáscara de naranja	24
7	Ubicación del experimento	33
8	Parámetros climáticos	33

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Nº	DESCRIPCIÓN	PÁG.
1	Molécula de limoneno	8
2	Molécula de linalol	8
3	Molécula de aldehído	9
4	Molécula de eugenol	10
5	Molécula de carvona	11
6	Molécula de acetato de linalilo	11
7	Método de destilación	26
8	Perfil de tukey para la densidad relativa del aceite esencial de cáscara de naranja	56
9	Perfil de tukey para la acidez del aceite esencial de cáscara de naranja	58
10	Perfil de tukey para la humedad en el aceite esencial de cáscara de naranja	60
11	Perfil del índice de refracción en aceite esencial de cáscara de naranja	62

N°	DESCRIPCIÓN	PÁG.
12	Perfil de tukey para el rendimiento en el aceite esencial de cáscara de naranja	64
13	Perfil del color en el aceite esencial de cáscara de naranja	66
14	Perfil del olor en el aceite esencial de cáscara de naranja	68
15	Perfil del aroma en el aceite esencial de cáscara de naranja	70
16	Perfil de la aceptabilidad en el aceite esencial de cáscara de naranja	72
17	Resumen de los caracteres organolépticos en el aceite esencial de cáscara de naranja	72
18	Perfil del color en la harina de cáscara de naranja	78
19	Perfil del olor en la harina de cáscara de naranja	80
20	Perfil del aroma en la harina de cáscara de naranja	82
21	Perfil de la textura en la harina de cáscara de naranja	84

N°	DESCRIPCIÓN	PÁG.
22	Perfil de la aceptabilidad en la harina de cáscara de naranja	86
23	Resumen de los caracteres organolépticos de la harina de cáscara de naranja	86
24	Cromatografía en el aceite esencial de cáscara de naranja	89

ÍNDICE DE TABLAS

Nº	DESCRIPCIÓN	PÁG.
1	Factores en estudio	37
2	Descripción del diseño	37
3	Análisis estadístico	38
4	Análisis de varianza para la densidad relativa del aceite esencial de cáscara de naranja	55
5	Rangos ordenados de Tukey para la densidad relativa del aceite esencial de cáscara de naranja	55
6	Análisis de varianza para la acidez del aceite esencial de cáscara de naranja	57
7	Rangos ordenados de tukey para la acidez del aceite esencial de cáscara de naranja	57
8	Análisis de Varianza para humedad en el aceite esencial de cáscara de naranja	59
9	Rangos ordenados de Tukey para la Humedad del aceite esencial de cáscara de naranja	59

N°	DESCRIPCIÓN	PAG.
10	Análisis de varianza del Índice de refracción del aceite esencial de cáscara de naranja	61
11	Rangos Ordenados de Tukey para el Índice de refracción del aceite esencial de cáscara de naranja	61
12	Análisis de Varianza para el rendimiento en el aceite esencial de cáscara de naranja	62
13	Rangos ordenados del rendimiento en aceite esencial de cáscara de naranja	63
14	Análisis de varianza en el color del aceite esencial de cáscara de naranja	65
15	Rangos ordenados del color en aceite esencial de cáscara de naranja	65
16	Análisis de varianza en el olor del aceite esencial de cáscara de naranja	66
17	Rangos ordenados del olor en aceite esencial de cáscara de naranja	67

N°	DESCRIPCIÓN	PÁG.
18	Análisis de varianza en el aroma del aceite esencial de cáscara de naranja	69
29	Rangos ordenados del aroma en aceite esencial de cáscara de naranja	69
20	Análisis de varianza en la aceptabilidad del aceite esencial de cáscara de naranja	70
21	Rangos ordenados de la aceptabilidad en aceite esencial de cáscara de naranja	71
22	Análisis de humedad en la harina de cáscara de naranja	73
23	Análisis de cenizas en la harina de cáscara de naranja	74
24	Análisis de pH en la harina de cáscara de naranja	74
25	Análisis de acidez titulable en la harina de cáscara de naranja	75
26	Análisis microbiológicos en la harina de cáscara de Naranja	75
27	Análisis de varianza del color en la harina de cáscara de naranja	77

N°	DESCRIPCIÓN	PÁG.
28	Rangos ordenados del color en la harina de cáscara de naranja	77
29	Análisis de varianza del olor en la harina de cáscara de naranja	79
30	Rangos ordenados del olor en la harina de cáscara de naranja	79
31	Análisis de varianza del aroma en la harina de cáscara de naranja	81
32	Rangos ordenados del aroma en la harina de cáscara de naranja	81
33	Análisis de varianza de la textura en la harina de cáscara de naranja	83
34	Rangos ordenados de la textura en la harina de cáscara de naranja	83
35	Análisis de varianza de la aceptabilidad en la harina de cáscara de naranja	85
36	Rangos ordenados de la aceptabilidad en la harina de cáscara de naranja	85

N°	DESCRIPCIÓN	PÁG.
37	Identificación de los componentes del aceite de naranja por cromatografía de gases	88
38	Análisis de relación costo / beneficio en el mejor tratamiento	90
49	Valores de Fisher comparativos del diseño de volumen para el rendimiento en el aceite esencial de cáscara de naranja	91

ÍNDICE DE ANEXOS

N°	DESCRIPCIÓN
1	Ubicación del experimento
2	Cuadro de análisis físico – químico del aceite esencial y harina
3	Análisis físico, químico y microbiológicos
4	Esquema del experimento
5	Esquema de evaluación de análisis sensorial
6	Normas
7	Fotografías del desarrollo de la investigación
8	Glosario de términos técnicos

I. INTRODUCCIÓN.

La Naranja pertenece a la familia de las Rutáceas, crecen en países de clima cálido y templado, siendo el continente africano donde más especies se pueden encontrar. Según la FAO, en el año 2010 se consumió 66,4 millones de toneladas de naranja, aproximadamente un 14 % más que la obtenida en el período 1997-99. En productos frescos se consumió 36,3 millones de toneladas de naranja y como productos elaborados fueron consumidos 30,1 millones de toneladas. (FAO, 2011)

Según el Ministerio Agricultura Ganadería Acuicultura y Pesca (MAGAP), en el año 2006 se cosecharon 150.000 toneladas métricas de naranja, las provincias con mayor producción son Manabí, con 86.000 toneladas y Los Ríos, con 57.000. En la provincia de Bolívar la producción fue de 40.706 toneladas. (MAGAP, 2006)

De la de naranja, no solamente se aprovechan los jugos alimenticios, sino que de ésta se pueden obtener aceites esenciales, harinas y otros, que se utilizan como aromatizantes, saborizantes, agentes de limpieza cosmética y como suplemento alimenticio para la alimentación humana y animal. (Weiss, 2006)

Los aceites esenciales son líquidos volátiles, en su mayoría insolubles en agua, pero fácilmente solubles en alcohol, éter y aceites vegetales y minerales. El aceite esencial de naranja se extrae de la cáscara de las naranjas y, al igual que todos los aceites esenciales de los cítricos, se caracterizan por ser volátiles. En aroma terapia se usa el aceite esencial de cáscara de naranja para crear una sensación de optimismo y felicidad. El aroma es dulce, fresco y un tanto fuerte y estimula el sistema linfático por lo que es aconsejable para combatir resfriados y la gripe. Además ayuda a la eliminación de toxinas y mejora la formación de colágeno en la piel. (Weiss, 2006)

Las propiedades terapéuticas del aceite esencial de la cáscara de naranja son antisépticas, antidepresivas y antiespasmódicas. También es un buen antiinflamatorio, carminativo, diurético, sedante nervioso y tónico. Gracias a su acción positiva sobre los glóbulos blancos es favorable para el sistema inmune, es desintoxicante y otorga un bienestar general que puede ayudarnos para combatir el estrés y las tensiones nerviosas. (López, 2005)

La cáscara de naranja, luego de la extracción de los aceites esenciales, deja un residuo a la cual se denomina torta, que por su valor proteico, es comparable a una fuente de proteína vegetal. Para lo cual hemos considerado la elaboración de un tipo de harina, la misma que puede ser utilizada en la Industria ganadera, avícola, entre otros. Estudios realizados manifiestan que este suplemento nutritivo se puede también incorporar para la elaboración de balanceados. (Munsell, 2002)

En la presente investigación se plantearon los siguientes objetivos:

- Determinar el mejor porcentaje de bicarbonato de sodio (0, 0.3, 0.5 y 0.7%) para incrementar el rendimiento de los aceites esenciales.
- Realizar el análisis físico, químico de cada uno de los tratamientos por unidad experimental.
- Efectuar una evaluación sensorial a las 4 unidades experimentales.
- Obtener harina a partir del residuo de la destilación obtenido.
- Realizar los análisis bromatológicos y microbiológicos en las harinas obtenidas.
- Realizar un análisis costo/ beneficio al mejor tratamiento.

II. MARCO TEÓRICO.

2. 1 ACEITES ESENCIALES.

Los aceites esenciales no son sustancias químicamente puras están constituidos por varios compuestos, hasta la actualidad el rendimiento de aceite esencial a partir de los cítricos ha llegado de 0.4 – 0.8%, la mayoría de estos tienen sus puntos de ebullición dentro de un rango de 150 – 300°C. Si estos fueran destilados a tan altas temperaturas muchos de estos se descompondrían, oxidarían o resinificarían. En estudios realizados, se ha demostrado que los aceites esenciales poseen propiedades antimicrobianas y antioxidantes, ya que estos rompen las paredes celulares de los microorganismos y cortan el metabolismo. (Soria, 2005)

La mayoría de aceites esenciales se los obtienen por el método de destilación con arrastre de vapor, un proceso el cual es simple ya que se debe calentar la mezcla hasta que las sustancias volátiles se evaporen. Los vapores atraviesan un condensador y pasan al estado líquido, la cual da lugar a la formación de dos capas distintas, en la cual se separa el aceite. Los aceites esenciales son mezclas de varias sustancias químicas biosintetizadas por las plantas, que dan el aroma característico a algunas flores, árboles, frutos, hierbas, especias, semillas, ciertos extractos de origen animal y vegetal. (Soria, 2005)

Se trata de productos químicos intensamente aromáticos, no grasos (por lo que no se enrancia), volátiles por naturaleza (se evaporan rápidamente) y livianos (poco densos). Insolubles en agua, ligeramente solubles en vinagre, y solubles en alcohol, grasas, ceras y aceites vegetales. Se han extraído más de 150 tipos, cada uno con su característica aromática y virtudes curativas únicas. La procedencia de estos aceites es de plantas tan comunes como el perejil y tan exquisitas como el jazmín. Para que den lo mejor de sí, deben proceder de ingredientes naturales brutos y quedar lo más puro posible. El término esencias o aceites esenciales se aplica a las sustancias

sintéticas similares preparadas a partir de los aceites esenciales naturales. El término aceites esenciales puros se utiliza para resaltar la diferencia entre los aceites naturales y los sintéticos. (Araujo, 2002)

En general son los responsables del olor de las plantas se definen como: “productos obtenidos a partir de una materia prima vegetal, bien por arrastre con vapor, bien por procedimientos mecánicos a partir del epicarpio de los Citrus, o bien por destilación seca. El aceite esencial se separa posteriormente de la fase acuosa por procedimientos físicos en los dos primeros modos de obtención; puede sufrir tratamientos físicos que no originen cambios significativos en su composición por ejemplo, re destilación, aireación. (AFNOR, 2003)

Químicamente están formados principalmente por terpenos, monoterpenos y sesquiterpenos (hidrocarburos, alcoholes, cetonas, etc.) que pueden ser acíclicos, monocíclicos, bicíclicos, tricíclicos, en ocasiones llevan también derivados del fenil propano y raramente cumarinas. Además de sus aplicaciones en terapéutica, los aceites esenciales presentan un gran interés industrial, utilizándose en la industria farmacéutica, en alimentación y sobre todo en perfumería. (Alkofahi ,2003)

2.1.1 Teoría de la formación de aceites esenciales.

Poco se conoce sobre la formación de los aceites esenciales en las plantas, y si bien se han emitido varias hipótesis como las de Tschirch y Kodama, Ehrlich y Buchner, ninguna ha satisfecho plenamente. Sin embargo, en forma general se puede citar dos escuelas diferentes según las cuales, los aceites esenciales se han formado como consecuencia de la fotosíntesis, según una; o como un producto del metabolismo de las plantas. Es posible que la formación de los terpenos tengan lugar por deshidratación de los alcoholes de fórmula general CHO, con los que están genéticamente relacionados, ya que éstos pueden obtenerse de forma invitro durante la deshidratación. (Ansari, 2000)

Algunos de estos compuestos se originan a partir de las proteínas o de los hidratos de carbono. El alcohol isoamílico, una importante unidad estructural de los aceites esenciales, pueden obtenerse a partir de los aminoácidos que contienen 6 átomos de carbono (leucina). (Braverman, 2010)

Ruzicka ha presentado una hipótesis, según la mayor parte de los terpenos se pueden considerar, constituidos por un esqueleto de isopreno, el hidrocarburo alifático no saturado C₅H₈, cuya estructura es la siguiente:



Charabot llega a la conclusión de que los componentes primitivos de los aceites esenciales son los alcoholes de los que se forman más tarde los terpenos, para lugar al anillo expresado. Sin embargo también cree que los alcoholes se originan en los tejidos de las plantas ricos en clorofila durante el proceso de asimilación.

Según Charabot los árboles productores de naranja y limón contienen la mayor cantidad de ácidos orgánicos en las hojas y el fruto. También afirma que la cantidad de ésteres aumenta durante la maduración de la fruta. (Braverman, 2010)

Se supone que los aceites esenciales se han formado a partir de los alcoholes, específicamente a partir del geraniol o su isómero el nerol ambos distribuidos ampliamente en los individuos del reino vegetal ya sea en estado libre o en forma de ésteres del ácido acético u otros ácidos. Al deshidratarse el geraniol se transforma en limoneno.

Se afirma que la estructura de este compuesto es singular, pues posee un grupo alcohólico primario activado por un enlace etilénico, situado muy cerca de un

segundo grupo activo que también contiene un grupo etilénico, debido a la gran movilidad de éste agrupamiento y a su reactividad química por disponer de una gran densidad electrónica, puede considerarse al geraniol como la sustancia clave para dar origen a la formación de los terpenos cíclicos y compuestos afines. (Braverman, 2001)

2.1.2 Clasificación de los aceites esenciales.

Los aceites esenciales se pueden clasificar en base a diferentes criterios: origen y naturaleza química de los componentes mayoritarios.

2.1.3 Origen.

De acuerdo a su origen los aceites esenciales se clasifican como:

- Naturales
- Artificiales
- Sintéticos

Los naturales se obtienen directamente de las plantas, frutos o cortezas, 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 son la mayoría de las veces producidos 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, fresa, etc.). (Braverman, 2000).

2.1.4 Composición de los aceites esenciales de la naranja.

Los aceites esenciales a partir de la cáscara de naranja son volátiles o esenciales típicos, constituidos por mezclas de terpenos, sesquiterpenos, alcoholes superiores, aldehídos, cetonas, ácidos, ésteres y alcanfores o ceras.

En la tabla siguiente se puede observar los principales compuestos químicos del aceite esencial a partir de cáscara de naranja.

Cuadro 1. Compuestos químicos del aceite esencial de la naranja.

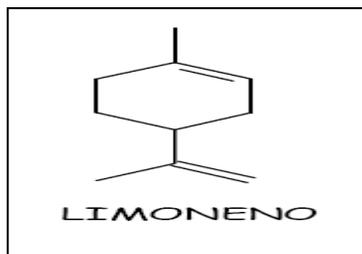
Compuesto	Ejemplo	Propiedades
Alcohol	Mentol, geraniol	Antimicrobiano, antiséptico, espasmolítico.
Aldehído	Citral, citronelal	Espasmolítico, sedante, antiviral
Cetona	Alcanfor, tuyona	Mucolítico, regenerador celular, neurotóxico.
Ésteres	Cineol, ascaridol	Expectorante, estimulante.
Ester	Metil salicilato	Espasmolítico
Éter fenólico	Safrol, anetol, miristicina	Diurético, carminativo estomacal expectorante
Fenol	Timol, eugenol, carvacrol	Antimicrobiano, irritante, estimulante inmunológico.
Hidrocarburo	Pineno, limoneno	Estimulante, descongestionante antivírico, antitumoral.

Fuente: (Braverman, 2000)

2.2.1 Hidrocarburos monoterpénicos.

Son los compuestos más abundantes en los aceites esenciales, y precursores de los más complejos, que son los terpenos oxidados. Se denominan terminando en – eno. Por ejemplo el limoneno, es el precursor de los principales componentes en el aceite esencial de los cítricos. (Bruneton, 2001)

Gráfico N°1: Molécula de limoneno.

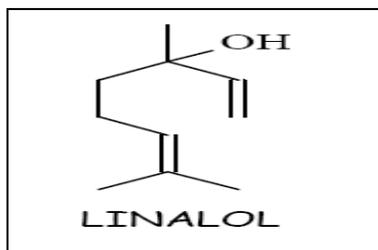


Fuente:(Bruneton, 2001)

2.2.2 Alcoholes.

Los alcoholes llevan el grupo hidroxilo (- OH) unido al esqueleto C₁₀. Se denominan terminados en (- ol). Son muy apreciados por su aroma. Por ejemplo, el linalol, que tiene dos formas, el R-linalol se encuentra en la rosa y la lavanda y es el componente mayoritario de la *Mentha arvensis*. La forma S-linalol en el aceite de lavanda con un contenido > 5% indica adulteración. (Bruneton, 2001)

Gráfico N°2: Molécula de linalol.



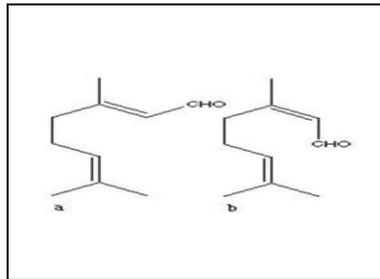
Fuente: (Bruneton, 2001)

2.2.3 Aldehídos.

Los aldehídos son compuestos muy reactivos. Se nombran acabados en (- al). Muchos de ellos, por ejemplo los encontrados en los cítricos, se corresponden con su respectivo alcohol, por ejemplo, geraniol – geranial o citronelol – citronelal. Son

abundantes en los cítricos, responsables del olor característico, principalmente los isómeros geranial (α citral) y neral (β citral) juntos conocidos como citral. Este compuesto, además de su aroma característico, tiene propiedades antivirales, antimicrobianas y sedantes. Pero muchos de ellos, incluido el citral, son irritantes para la piel por lo que no se puede hacer uso tópico de ellos. (Bruneton, 2001)

Gráfico N°3: Molécula de aldehído.

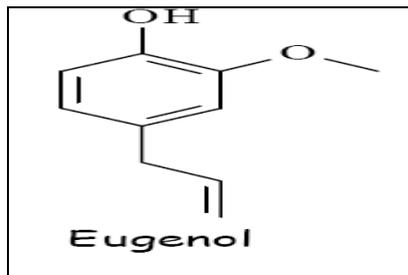


Fuente: (Bruneton, 2001)

2.2.4 Fenoles.

Sólo se encuentran en unas pocas especies pero son muy potentes e irritantes. Los más importantes son el timol y el carvacrol, que se encuentran en los tomillos (g. Thymus) y en los cítricos. Otro fenol muy importante es el eugenol, que se encuentra en muchas especies, por ejemplo en la esencia de clavo. (Bruneton, 2001)

Gráfico N°4: Molécula de eugenol.

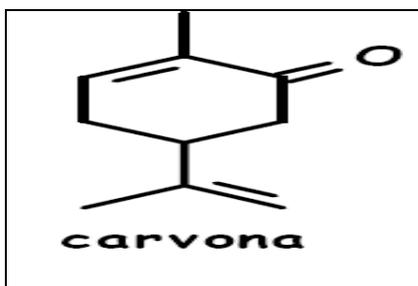


Fuente: (Bruneton, 2001)

2.2.5 Cetonas.

Se producen por la oxidación de alcoholes y son moléculas bastante estables. Terminan en –ona. La carvona está presente en los aceites de todos los cítricos y en la *Mentha spicata*. La tuyona (aislada por primera vez en la Tuya, *Thuja occidentalis*, F. Cupressaceae) y pulegona son bastante tóxicas y nunca deben usarse en el embarazo. La tuyona se encuentra en plantas como el género *Artemisia* (*Artemisia absinthium*, con la cual se hace el vermouth y la absenta), y en la salvia (*S. officinalis*). (Bruneton, 2001)

Gráfico N° 5: Molécula de carvona.

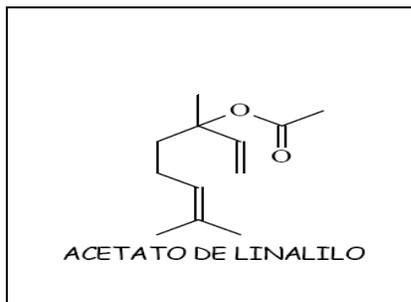


Fuente: (Bruneton, 2001)

2.2.6 Ésteres

La mayoría de los éteres se forman por reacción de un alcohol terpénico con ácido acético. Su aroma caracteriza a los aceites en los que se encuentran. Por ejemplo, el aceite de lavanda contiene linalol y su éster, acetato de linalilo. La abundancia relativa de estos dos compuestos es un indicador de buena calidad. El salicilato de metilo, derivado del ácido salicílico y metanol, es un compuesto antiinflamatorio parecido a la aspirina que se encuentra en un tipo de brezo y se emplea tópicamente en linimentos. (Bruneton, 2001)

Gráfico N° 6: Molécula de acetato de linalilo.



Fuente: (Bruneton, 2001)

Los Hidrocarburos o llamados terpenos, de fórmula general $C_{10} H_{16}$, y por una cantidad menor de sesquiterpenos ($C_{15} H_{24}$); estos dos componentes actúan como soportes para los compuestos oxigenados (alcoholes, aldehídos, cetonas, ácidos y ésteres), estos son usualmente los portadores de los olores característicos de la esencias en las que están contenidos. Los terpenos de mayor importancia son los siguientes:

- d - limoneno
- Pineno (en sus dos formas alfa y beta)
- Canfeno
- Terpineno (en sus tres formas alfa, beta y gama)
- Felandreno (en sus dos formas alfa y beta). (Braverman, 2000)

Los principales portadores del olor específicos de los aceites esenciales a partir de la cáscara de naranja son los compuestos oxigenados; alcoholes, aldehídos, cetonas, ácidos y sus ésteres. Los alcoholes en estado libre, rara vez se encuentran en las esencias de los agrios estos compuestos están combinados con los ácidos formando ésteres. El hecho de que en los análisis se encuentran alcoholes y ácidos libres, puede atribuirse en gran parte a la saponificación de los ésteres durante el proceso de destilación. Entre los principales alcoholes en los aceites esenciales tenemos:

N – Nonil – alcohol ($\text{CH}_3 (\text{CH}_2)_7.\text{CH}_2\text{OH}$)

Geraniol ($\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{O}$)

Linalol ($\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{O}$)

Nerol ($\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{O}$)

Citronelol ($\text{C}_{10}\text{H}_{20}\text{O}$)

Terpineol ($\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{O}$)

Alfa – terpineol ($\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{O}$)

Nerolidol ($\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}$)

(Braverman, 2000)

Los aldehídos forman parte de los componentes del aceite esencial de la cáscara de naranja, en su mayoría de los aldehídos presentan solamente en cantidades muy pequeñas. Sin embargo, es muy importante ya que poseen un olor y aroma característico. Los principales aldehídos presentes en las esencias son:

n – Octil – aldehído ($\text{C}_7\text{H}_{15}\text{CHO}$)

n – nonil- aldehído ($\text{C}_8\text{H}_{17}\text{CHO}$)

N – desil – aldehído ($\text{C}_9\text{H}_{19}\text{CHO}$)

Cítral ($\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{O}$)

Citronelal ($\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{O}$)

La única cetona que encontramos en la química de los aceites esenciales es la metil-eptenona ($\text{C}_8\text{H}_{14}\text{O}$). Ácidos orgánicos y ésteres se encuentran probablemente en los aceites esenciales, solamente en forma de ésteres. Pero al momento de la destilación se aíslan sus componentes, los ésteres se descomponen probablemente en sus respectivos ácidos y alcoholes. Así, por ejemplo la esencia de la cáscara de naranja contiene el ácido n – caprílico ($\text{C}_7\text{H}_{15}\text{COOH}$) o sus ésteres. Los ésteres son en efecto constituyentes muy importantes de los aceites esenciales, pues, aunque se encuentran en pequeñas proporciones, su olor es distintivo, comunicando una fragancia específica a las esencias en cuestión. (Braverman, 2000)

Los estearoptenos, todos los aceites esenciales del genero citrus dejan, después de la destilación, una considerable cantidad de residuo no volátil. Por otra parte, se separan sustancias ceras similares de las esencias en prolongado estado de reposo, estos residuos se llaman estearoptenos. Constituyen masas blandas ceras y de consistencia más o menos pastosa. Entre los principales tenemos:

Citropteno ($C_{11}H_{10}O_4$)

Bergapteno ($C_{12}H_8O_4$). (García, 2003)

2.3 PROPIEDADES FÍSICAS Y ORGANOLÉPTICAS DE LOS ACEITES ESENCIALES.

Generalmente, los aceites esenciales son líquidos a temperatura ambiente. Su volatilidad o capacidad de evaporación al contacto con el aire, a dicha temperatura, los diferencia de los aceites fijos. Dentro de los compuestos aromáticos, el peso molecular se restringe a máximo 250 g/mol para que las sustancias puedan volatilizarse. (Pauli, 2001)

Son fácilmente alterables o sensibles a la oxidación, aunque no se enrancian como los lípidos. Poseen tendencia a polimerizarse, dando lugar a la formación de productos resinosos, especialmente aquellos que contienen alcoholes terpénicos insaturados, variando su olor, color y viscosidad. Son aceites grasos, fácilmente solubles en solventes orgánicos, como éter de petróleo, cloroformo, benzol o alcohol absoluto y casi insoluble en agua. (Pérez, 2006)

2.3.1 Densidad.

Basándonos en la norma Mexicana (NMX – F – 063 – 1978) la densidad del aceite esencial es de 0,846 g/cc .Como se puede observar, la densidad del aceite es menor a la del agua. Esta característica es la responsable de hacer posible la separación del

aceite del agua al final del proceso de destilación. La densidad de los aceites esenciales varía de 0.84 a 1.18 g/cc. (Pérez, 2006)

2.3.2 Color.

Usando la escala de color Hunter, se puede deducir que el aceite es transparente con cierta tonalidad naranja. Esta descripción corresponde con la apariencia descrita en la norma NMX _ F _ 063-1978, de líquido cristalino cuyo valor varia del amarillo claro al anaranjado oscuro. (Pérez, 2006)

2.3.3 Índice de refracción.

El índice de refracción es una propiedad utilizada para controlar la pureza y calidad de los aceites esenciales tanto a nivel laboratorio como industrial. De acuerdo a Pérez, los aceites esenciales poseen un índice de refracción elevado, con un promedio de 1.5. En el caso de Viuda – Martos reportan un índice de refracción del aceite esencial de cáscara de naranja de 1.47 a 20°C. (Pérez, 2006)

2.4 Cromatografía de gases.

La cromatografía de gases es una técnica cromatográfica en la que 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 gas inerte. A diferencia de los otros tipos de cromatografía, la fase móvil no interactúa con las moléculas del analito, su única función es la de transportar el analito a través de la columna. (James, 1998)

Existen dos tipos de cromatografía de gases (GC): la cromatografía gas-sólido (GSC) y la cromatografía gas-líquido (GLC), siendo esta última la que se utiliza más ampliamente, y que se puede llamar simplemente cromatografía de gases (GC). En la GSC la fase estacionaria es sólida y la retención de los analitos en ella se produce

mediante el proceso de adsorción. Precisamente este proceso de adsorción, que no es lineal, es el que ha provocado que este tipo de cromatografía tenga aplicación limitada, ya que la retención del analito sobre la superficie es semipermanente y se obtienen picos de elución con colas. Su única aplicación es la separación de especies gaseosas de bajo peso molecular. La GLC utiliza como fase estacionaria moléculas de líquido inmovilizadas sobre la superficie de un sólido inerte. La GC se lleva a cabo en un cromatógrafo de gases. Éste consta de diversos componentes como el gas portador, el sistema de inyección de muestra, la columna (generalmente dentro de un horno), y el detector. (James, 1998)

2.4.1 Características cromatográficas.

En el control de calidad, la cromatografía de Gas se utiliza para obtener el perfil cromatográfico y cuantificarlos principales componentes del aceite esencial, es decir los mayoritarios o aquellos que, sin ser mayoritarios, tengan una especial tendencia para la calidad (responsabilidad en las propiedades olfativas, por ejemplo). El mayor valor de un perfil Cromatográfico es permitir, ante la presencia de un componente inusual, o ante la ausencia de un constituyente típico, el rechazo de un aceite esencial. (Gloria, 2003)

2.4.2 Cromatografía en fase gaseosa acoplada a espectrometría de masas.

Durante las dos últimas décadas se ha demostrado que uno de los métodos más eficientes para el estudio de la composición de los aceites esenciales es la cromatografía de gases acoplada a la espectrometría de masas (CG-EM). Es un método muy adecuado para la identificación debido a que los componentes del aceite son compuestos volátiles y de bajo peso molecular. La esencia se inyecta directamente en el cromatógrafo, sin ningún tratamiento previo, lo cual elimina posibles modificaciones en la composición de la muestra en la estructura de sus constituyentes debidas a pre tratamiento. No se eliminan las alteraciones debidas a la

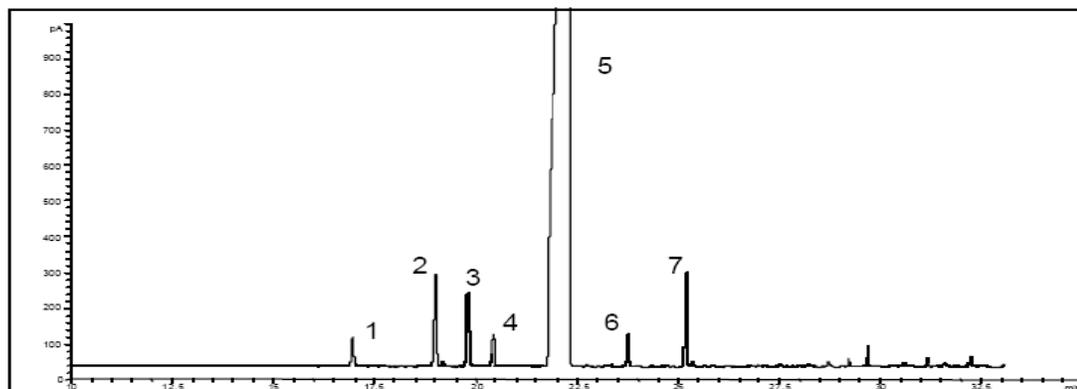
temperatura de análisis, que puede afectar componentes termo sensible. En el cromatógrafo, los componentes de la esencia se separan, tras lo cual penetran en el espectrómetro de masas, que permite registrar el correspondiente espectro década una de las sustancias separadas. Los constituyentes del aceite esencial se identifican gracias a los diferentes patrones de fragmentación que se observan en sus espectros de masas. (Gloria, 2003)

La CG-EM permite realizar en una sola operación, para una muestra del orden de 1 μL , un análisis cualitativo junto con una indicación de las proporciones en las que se encuentran componentes. Cuando se dispone de sustancia patrón, la calibración del equipo permite un análisis cuantitativo exacto de la muestra. Es posible determinar índices de retención en el CG-EM, pero estos pueden no ser comparables con los bibliográficos, que generalmente se han obtenido con cromatografías no acoplados a un espectrómetro. (Gloria, 2003)

Cuando se realiza un CG – EM los picos de cada uno de los aceites esenciales se pueden apreciar como muestra el cuadro 2, siendo el pico más alto limoneno.

En la siguiente tabla se observa los picos del análisis cromatográficos de aceites esenciales de naranja:

Cuadro 2: Picos cromatográficos de aceites esenciales de naranja.



Fuente: (Grosse, 2000).

Perfil Cromatográfico del Aceite Esencial de cáscara de naranja Dulce *Citrus sinensis*, variedad valenciana, cultivada en La bateca (Colombia). La identificación de cada pico se da en el cuadro siguiente:

Cuadro 3: Interpretación de picos cromatográficos de aceite esencial de naranja.

N°	tR min	Concentración Relativa (%)	Lk lit.	Ika exp.	Identificación
1	16.962	0.43	921	922	Isocitroneleno
2	19.009	1.62	953	952	Cafeno
3	19.820	1.66	978	979	Trans-p-mentano
4	20.426	0.69	1004	1003	p- menta-1(7),8-dieno
5	21.957	90.93	1031	1034	Limoneno
6	23.747	0.45	1072	1071	Deihidromircenol
7	25.210	1.78	1200	1202	Trans-deihidrocarbena

Fuente: (Grosse, 2000)

Concentración relativa (%) e identificación por CG - EM de los principales componentes del aceite esencial de la cáscara de la naranja *Citrus sinensis*, variedad Valenciana.

2.5. USOS DE LOS ACEITES ESENCIALES.

2.5.1. Industria alimentaria.

Se emplean para condimentar carnes preparadas, embutidos, sopas, helados, queso, etc. Los aceites más empleados por esta industria son el Cilantro, Naranja y Menta, entre otros. También son utilizados en la preparación de bebidas alcohólicas y no alcohólicas, especialmente refrescos. Con respecto a esta utilidad podemos citar las

esencias extraídas del naranjo, limón, menta e hinojo, entre otros. Estas esencias también se emplean en la producción de caramelos, chocolates y otras golosinas. (Bruneton, 2001)

2.5.2 Industria farmacéutica

Se usan en cremas dentales (aceite de menta, hinojo y naranja), analgésicos e inhalantes para descongestionar las vías respiratorias (eucalipto). El eucalipto es muy empleado en odontología. Son utilizados en la fabricación de neutralizantes de sabor desagradable de muchos medicamentos (naranjas y menta, entre otros). (Pengelly, 2006)

2.5.3 Industria de cosméticos

Esta industria emplea los aceites esenciales en la producción de cosméticos, jabones, colonias, perfumes y maquillaje. En este campo se pueden citar los aceites de geranio, lavanda, rosas y pachouli. (Van, 2003)

2.5.4 Industria de productos de uso veterinario.

Esta industria emplea el aceite esencial de *Chenopodium ambrosoides* muy apreciado por su contenido de ascaridol, vermífugo. También requiere limoneno y mentol como insecticidas. (Van, 2003)

2.5.5 Desodorantes industriales

Actualmente se ha desarrollado el uso de esencias para disimular el olor desagradable de algunos productos industriales como el caucho, los plásticos y las pinturas. La industria de las pinturas emplea limoneno como disolvente biodegradable. También se imparte olor a juguetes. En textiles, como enmascaradores de olores en

tratamientos con mordientes antes y después del teñido. En papelería, para impregnar de fragancias cuadernos, tarjetas, papel higiénico, toallas faciales. (Van, 2003)

2.6 NARANJA.

La naranja (*Citrus sinensis*, *variedad valenciana*) es una de las frutas más populares y saludables del mundo. Tiene un alto contenido de vitamina C. Su sabor, especialmente de algunas variedades es realmente soberbio por su acidez y dulzura. Como todas las frutas cítricas contienen de un cuarenta a cincuenta por ciento de zumo, veinte a cuarenta por cien de piel y un veinte a treinta por cien de pulpa y semillas. Aproximadamente un 90 % de su contenido es agua con un 5% de azúcares. (FAO, 2007)

La naranja que se produce en Ecuador , variedades común y valenciana se destina hoy exclusivamente al mercado en fresco. Aunque la vocación de la naranja Valenciana es servir como materia prima para la industria, la que se produce en el país no cumple con los requisitos exigidos para el procesamiento industrial ni en calidad ni en precio. La naranja que compran los consumidores ecuatorianos se utiliza para exprimir y obtener jugo. No existe evidencia clara en el país sobre un consumo directo de la fruta fresca a escala masiva. (FAO, 2010)

La naranja contiene numerosos compuestos o nutrientes muy importantes para la nutrición que le confieren características específicas al jugo, relacionadas con su calidad de consumo y son de importancia para los procesos tecnológicos de la industria, entre los cuales se encuentran aminoácidos esenciales y compuestos nitrogenados, flavonoides, sustancias pécticas, constituyentes volátiles del sabor, vitaminas C, A, E, B6, Tiamina, Riboflavina, Niacina, ácidos fólico, ácido pantoténico, elementos minerales y lípidos, entre otros. (FAO, 2010)

En la siguiente tabla podemos apreciar las características físicas de la naranja:

Cuadro 4: Características físicas de la naranja.

Forma	Globoso
Color	2.5 y (8/8) amarillo
Diámetro polar	0.074m
Diámetro ecuatorial	0.075m
Corteza	Separada
Grosor del pericarpio	Medianamente grueso
Pezon o mugron	Si existe
Número de gajos	Promedio 10
Color de la pulpa	2.5 y (7/8) amarillo
Número de semillas	No existe

Fuente: (Freire, 2010)

La naranja está formada por una cáscara o piel la cual incluye dos capas principales: la interna y externa.

2.6 .1 Capa externa.

Influye el flavedo cuya pigmentación depende del tipo de fruta, y el albedo que forma parte de la capa interna y es incolora. El flavedo consiste en un epicarpio, que consta de hepidermis de un mesocarpio externo y de glándulas de aceite con una capa protectora multilaminar o cutícula de estructura compleja y junto con esta se encuentra una capa sobre el epicarpio separada por una capa de pectina. El saco capilar consiste de una red de células parenquimatosas con numerosos unidas y el tamaño celular varía con la madurez del fruto, si se llega a presentar la penetración de algun hongo a través de las células del saco capilar, se inicia la infección del fruto. (Juscafresa, 2008)

2.6.2 Capa interna

Una serie de segmentos triangulares en forma de luna, se encuentran alrededor del centro de la fruta, los cuales constituyen los gajos rodeados por una membrana llamada endocarpio, que permite que un gajo se pueda separar de los demás intensamente cada gajo consta de dos constituyentes principalmente, el jugo o pulpa y las semillas.

Las vesículas del jugo son sacos multicelulares filiformes con tallo y encierran a las glándulas de aceite en el centro. Las vesículas se encuentran unidas por el tallo a un sistema de haces vasculares. La forma y el tamaño de las semillas varían dependiendo de la especie del fruto, y hay unas que no tienen. El central de los cítricos está compuesto del mismo tipo de tejidos que el albedo y en algunos cítricos, como las mandarinas y sus híbridos, tienen un espacio central. (Juscafresa, 2008)

2.6.3 Composición química de la naranja

En su composición química, también cabe destacar la elevada cantidad de ácido ascórbico o vitamina C que contiene (una naranja de tamaño medio aporta 82 mg de vitamina C, siendo 60 mg la ingesta recomendada al día para este nutriente), esta vitamina C favorece la absorción intestinal del hierro. También contiene cantidades apreciables de ácido fólico, y en menor cantidad, provitamina A. Además, las naranjas aportan carotenoides con actividad provitamínica A (alfacaroteno, beta-caroteno y criptoxantina. También contiene otros carotenoides sin actividad provitamínica A, como la luteína y la zeaxantina, que están presentes en la retina y el cristalino del ojo, se asocian inversamente con el riesgo de padecer cataratas y degeneración macular. (Moreiras, 2009)

Las naranjas presentan en su composición ácidos orgánicos, como el ácido málico y el ácido cítrico, que es el más abundante. Este último es capaz de potenciar la acción

de la vitamina C, favorecer la absorción intestinal del calcio, y facilitar la eliminación de residuos tóxicos del organismo, como el ácido úrico.

Además, contienen importantes cantidades de los ácidos hidroxicinámicos, ferúlico, caféico y p-cumárico, ordenados de mayor a menor en función de su actividad antioxidante. Las naranjas son ricas en flavonoides. Los más conocidos son: hesperidina, neohesperidina, naringina, narirutina, tangeretina y nobiletina, a los cuales se les han atribuido múltiples funciones. Cuando se consume esta fruta en forma de zumo varían sus características nutricionales, ya que éste apenas contiene fibra y tiene menores cantidades de vitaminas y minerales que la naranja entera. En cualquier caso, lo ideal es tomarlo recién exprimido, para evitar las pérdidas de vitamina C. (Moreiras, 2009)

2.6.4 Índice de madurez

Se trata de una “ratio” o relación entre el extracto seco de los sólidos solubles del zumo (E), en el que como hemos visto predominan los azúcares, y la acidez (A), que se considera como si toda ella fuera debida al ácido cítrico, cuya fórmula es la siguiente: $I = (E) / (A)$

(E) Se mide en grados Brix. Cada grado Brix equivale a un 1% de azúcares que se determina en hidrómetros graduados y modernamente en refractómetros. (A) Se mide neutralizando la acidez del zumo con sosa décimo normal.

A partir de aquí se calculan los gramos (teóricos) de ácido cítrico por litro. El índice de madurez aumenta a medida que se acerca el momento de la recolección. Como los cítricos son frutas no climatéricas (es decir, que el grado de madurez adecuado sólo se alcanza en árbol), hay que esperar a que el índice alcance valores adecuados antes de proceder a la recolección. Conviene tener presente que existen varias modalidades de madurez: Fisiológica, que es el momento en que las semillas son viables.

Organoléptica, que es el estado en que la fruta tiene una calidad óptima de color, sabor, olor turgencia, característica gustativas, contenido en zumo etc. Comercial, que es cuando reúne las características de calidad que exige el cliente.

Los índices de madurez mínimos y máximos para la exportación se suelen acordar para cada campaña y dependen del año, de la especie y de la variedad. Un exceso de madurez (por ejemplo $I = 13$) pone en peligro la conservación posterior del producto. (Baez, 2003)

Otro indicador, más inexacto, de la maduración es el color del flavedo. En principio color verde indica falta de madurez, pero esta afirmación no es del todo exacta. (M) puede tener valores aceptables y el viraje del verde al naranja no haberse producido. Este fenómeno ocurre en los países tropicales, donde el árbol no ha pasado por etapas frías durante el invierno. Se le puede dar color a la fruta mediante el proceso de desverdización, que suele realizarse aportando etileno exógeno. Existen variedades como la Valencia y la Lane Late en que el color de la fruta no recogida puede retroceder a verde (reverdecimiento). (Baez, 2003)

2.6.5 Corteza o cáscara de naranja.

La composición química de la cáscara de naranja, no se ha estudiado con detenimiento, sin embargo, se conocen en forma general los constituyentes de cada uno de sus tejidos. En el Albedo o Epicarpio encontramos pigmentos carotenoides, vitaminas y aceites esenciales, en el albedo o mesocarpio están presentes celulosas, carbohidratos solubles, protopectina, pectina, azúcar, aminoácidos y minerales.

Los componentes principales de la cáscara de la naranja se pueden observar en el siguiente cuadro:

Cuadro 5: Principales componentes de la cáscara de naranja.

Materia seca	90%
Carbohidratos	62.70%
Fibra	13%
Cenizas	6.90%
Proteína	6%

Fuente: (Becker, 2003)

En la siguiente tabla observaremos las características físicas de la cáscara o corteza de naranja.

Cuadro 6. Características físicas de la corteza o cáscara de naranja.

Espesor	Mediana, como 3mm
Firmeza	Firme y algo dura
Adherencia	Medianamente adherida

Fuente: (Braverman, 2010)

2.6.6 Beneficios de la cáscara de naranja.

Las cáscaras de las naranjas son una fuente abundante de carbohidratos que tienen muchas propiedades beneficiosas para la salud, según un estudio realizado por un grupo de investigadores del Servicio de Investigación Agrícola, en Estados Unidos, quienes dirigidos por el químico Arland T. Hotchkiss, de Pensilvania, han demostrado que la pectina, un tipo de carbohidrato presente en la cáscara de la naranja, tiene propiedades “prebióticas”. Estos carbohidratos prebióticos, también conocidos como oligosacáridos, se encuentran en ciertas frutas y vegetales. El uso de estas sustancias ha empezado a generalizarse en productos alimenticios y en alimentos para animales. (<http://lapectina.galeon.com/>, Octubre 2011)

2.6.7 REACTIVOS

2.7.1 Bicarbonato

Nombre: Químico Bicarbonato de Sodio

Fórmula Molecular: NaHCO_3

Peso molecular: 84 g/mol

Sinónimos: Carbonato ácido de sodio

Sosa de cocer, soda de panadería. (Gessner, 2006)

2.7.2 Descripción.

Polvo blanco o terrones cristalino, sabor refrescante, ligeramente alcalino, soluble en agua, insoluble en alcohol, estable en aire seco, en solución se descompone a partir de los 20°C y como polvo seco se descompone al calor. Su obtención se logra tratando una solución saturada. De cenizas de sosa con dióxido de carbono. Para precipitar el bicarbonato menos soluble; también purificando el producto crudo del proceso Solvay. (Gessner, 2001)

2.7.3 Especificaciones del producto.

Pureza 99% mín.

Arsénico (As) 0.0001% máx.

Metales pesados (Pb) 0.0004% máx.

Pérdidas por secado 0.2% máx.

PH 8.6 máx.

Humedad 0.2 % máx. (Gessner, 2001)

2.7.4 Propiedades

Apariencia Gránulos o polvo

Color Blanco cristalino

Sabor Refrescante ligeramente alcalino

Peso específico 2.159

Punto de fusión pierde CO_2 a 270°C . (Gessner, 2001)

2.7.5 Información ecológica.

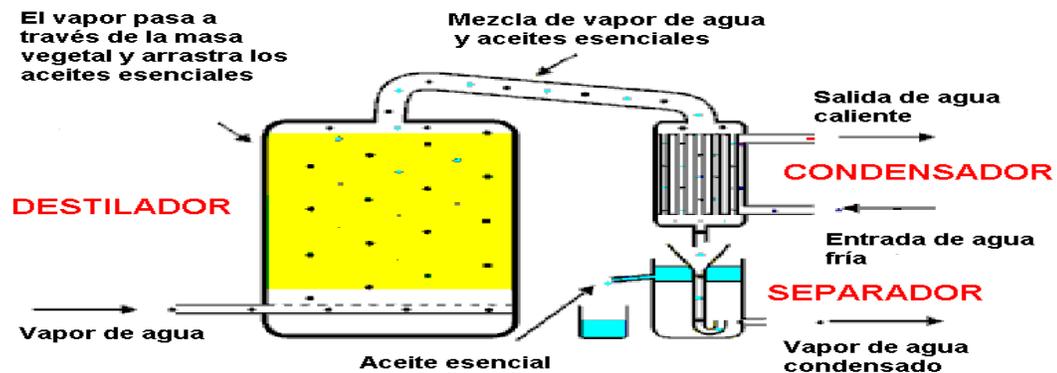
Efectos eco tóxico: ninguno

Toxicidad para peces: LD 50 >7100 mg/l

El producto no presenta peligros ambientales significativos. (Gessner, 2001)

2.7.6 Método destilación por arrastre con vapor para la obtención de aceites esenciales

Gráfico N° 7: Proceso de obtención de aceites esenciales.



Fuente: <http://elezeta.net/2009/11/16/el-mito-de-beber-agua-destilada/>

En la destilación se lleva a cabo la vaporización selectiva del componente volátil de una mezcla formada por ésteres y otros "no volátiles". Lo anterior se logra por medio de la inyección de vapor de agua directamente en el seno de la mezcla, denominándose este "vapor de arrastre", pero en realidad su función no es la de "arrastrar" el componente volátil, sino condensarse en el matraz formando otra fase inmisible que cederá su calor latente a la mezcla a destilar para lograr su evaporación. En este caso se tendrán la presencia de dos fases insolubles a lo largo de la destilación (orgánica y acuosa), por lo tanto, cada líquido se comportará como si el

otro no estuviera presente. Es decir, cada uno de ellos ejercerá su propia presión de vapor y corresponderá a la de un líquido puro a una temperatura de referencia. (Ellenfibe, 2002)

La destilación es una operación en la cual se produce la vaporización de un material por la aplicación de calor; el método es empleado en la industria de capacidad moderada y pequeña, para llevar a cabo separaciones parciales de los componentes más volátiles de mezclas de líquidos miscibles. Normalmente, la mezcla líquida es cargada en lotes a un recipiente y sometida a ebullición. Los vapores que se desprenden se eliminan continuamente, se condensan y se recolectan sin permitir que tenga lugar ninguna condensación parcial ni retorno al recipiente en donde se lleva a cabo el calentamiento y ebullición de la mezcla. (Domínguez, 2001)

El principio de la destilación simple intermitente, puede ilustrarse fácilmente haciendo referencia a un diagrama de equilibrio líquido - vapor. En este sistema, si una mezcla que contiene 25 % mol de alcohol etílico en agua se carga en el recipiente hervidor de un sistema de destilación intermitente y se calienta, la mezcla empezará a ebullición a una temperatura de 82.5 °C. A esta temperatura, la composición del vapor en equilibrio con el líquido es de 55 % mol de alcohol etílico en agua. (Robert, 2001)

La destilación es una de las operaciones de separación muy utilizada tanto en el laboratorio como en la industria. El objetivo de la destilación es la separación de un líquido volátil de una sustancia no volátil o la separación de líquidos con distintos puntos de ebullición. La destilación es el método habitualmente empleado para la separación de un líquido de sus impurezas no volátiles, y es ampliamente utilizada para recuperar disolventes y para obtener agua destilada. La destilación es una de las principales técnicas para separar mezclas de líquidos. La separación se fundamenta en la diferencia de la presión de vapor de los diferentes componentes de la mezcla. Al calentar la mezcla los componentes se evaporan para condensarse posteriormente y

durante el proceso el vapor se enriquece con los componentes más volátiles. (Bates, 2000)

Cuando un líquido puro se introduce en un recipiente cerrado y vacío parte del mismo se evapora hasta que el vapor alcanza una determinada presión, que depende solamente de la temperatura. Esta presión, que es la ejercida por el vapor en equilibrio con el líquido, es la tensión de vapor del líquido a esa temperatura. Cuando la temperatura aumenta, la tensión de vapor también aumenta regularmente hasta que llega un momento en que la tensión de vapor alcanza el valor de 760 mm, entonces, si el líquido está en contacto en el exterior, comienza a hervir. La temperatura a la que esto ocurre recibe el nombre de punto de ebullición normal del líquido en cuestión, y es una constante característica para cada líquido. (Domínguez, 2001)

2.7.7 Arrastre con vapor.

El arrastre con vapor es una técnica utilizada para separar sustancias insolubles en agua y ligeramente volátiles de otros productos no volátiles mezclados con ellas. Es la más comúnmente utilizada, tanto a nivel industrial como de laboratorio, para la producción de aceites esenciales, ya que estos poseen compuestos volátiles y arrastrables por el vapor de agua, además de que es una técnica sencilla y económica, que posee una gran versatilidad a la hora de aplicarlo a materiales vegetales diferentes. (Jiménez, 2006)

El fundamento detrás de esta técnica de extracción está dado por el rompimiento del tejido vegetal por efecto de la temperatura del vapor (100°C) liberando así el aceite esencial después de un cierto tiempo. (Sánchez, 2006)

Las sustancias arrastrables por el vapor son inmiscibles en agua, tienen presión de vapor baja y su punto de ebullición es alto. Al destilar una mezcla de dos líquidos

inmiscibles, su punto de ebullición será la temperatura a la cual la suma de las presiones de vapor de cada líquido es igual a la presión atmosférica. (Jiménez, 2006)

En esta técnica, la muestra se sitúa en un recipiente a través del cual se hace pasar vapor de agua generando en otro recipiente. Se hace pasar una corriente de agua por la muestra que contiene el compuesto a extraer, lo que ocasiona que se caliente la muestra y el vapor arrastre los componentes volátiles hacia un sistema de enfriamiento típico de una destilación simple. El evaporado se recoge, separa y purifica. (Pérez, 2006)

2.8 MACERACIÓN.

La maceración es un proceso de extracción sólido-líquido. El producto sólido (materia prima) posee una serie de compuestos solubles en el líquido extractante que son los que se pretende extraer. En general en la industria química se suele hablar de extracciones, mientras que cuando se trata de alimentos, hierbas y otros productos para consumo humano se emplea el término maceración. En este caso el agente extractante (la fase líquida) suele ser agua, pero también se emplean otros líquidos como vinagre, jugos, alcoholes o aceites aderezados con diversos ingredientes que modificarán las propiedades de extracción del medio líquido. (Froese, 2002)

A veces el producto obtenido es el extracto propiamente dicho y otras el sólido sin los citados compuestos o incluso ambas partes, por ejemplo si extraemos cafeína del café, podemos emplear el café descafeinado para hacer una infusión tradicional y la cafeína para la confección de refrescos u otros usos. La naturaleza de los compuestos extraídos depende de la materia prima empleada así como del líquido de maceración. En los casos en que se utilice el producto extraído se suele emplear una etapa de secado bien al sol, con calor o incluso una liofilización. En herboristería, es decir el arte en el cual se utilizan las plantas medicinales y hierbas para curar o preparar diversos productos, se utiliza mucho este método. (Froese, 2002)

Este método consiste en introducir la materia prima en un recipiente de vidrio, el recipiente bien cerrado se coloca en un cuarto oscuro, a temperatura ambiente, durante dos a cuatro semanas, dependiendo de la naturaleza del material, agitando dos veces al día el macerado. Al concluir el proceso, se decanta el líquido, se exprime el residuo, se filtra el producto y se verifica el volumen obtenido. Es el proceso de elección cuando el vegetal tiene gran cantidad de sustancias gomosas o mucilaginosas que podrían obstruir un percolador unidos mexicanos. (Farmacopea, 2001)

2.9 HARINAS.

La harina es un polvo, obtenido por molienda de cereales y algunos granos secos de leguminosa. Su clasificación de calidad es de acuerdo a la siguiente interpretación: cero (0), dos ceros (00), tres ceros (000) y cuatro ceros (0000). La harina 000 se utiliza siempre en la elaboración de panes, ya que su alto contenido de proteínas posibilita la formación de gluten y se consigue un buen leudado sin que las piezas pierdan su forma. (American, 2003)

La 0000 es más refinada y más blanca, al tener escasa formación de gluten no es un buen contenedor de gas y los panes pierden forma. Por ese motivo sólo se utiliza en panes de mol de y en pastelería, en batido de tortas, hojaldres, etc. Según sea la tasa de extracción vamos a tener las diferentes clases de harinas. La tasa de extracción de una harina se mide por la cantidad de kilos de harina que obtenemos moliendo 100 kilos de cereal. Tasa de extracción de 60: hemos obtenido 60 kilos de harina, moliendo 100 kilos de grano, harina flor con una tasa de extracción de 40, harina blanca con una tasa de extracción de 60-70.

Es la harina refinada de uso común. Solo se ha molido la almendra harinosa, exenta de germen de cubiertas. Harina integral con grado de extracción superior a 85, se ha utilizado el grano completo excepto la cascarilla. Sémola, producto de la molienda de trigo duro, se utiliza para la fabricación de alimentos moldeados y desecados

denominados -pastas alimenticias- (ravioles, espaguetis). Tiene mayor contenido en proteínas (gluten) y la molidura es más grosera. (American, 2003)

2.9.1 Análisis para harinas de origen vegetal.

2.9.2 Humedad.

Todos los alimentos, cualquiera que sea el método de industrialización que haya sido sometido, contienen agua. Las cifras de contenido en agua varían entre 60 y 95 % en los alimentos naturales. El agua existe en dos formas generales: "agua libre" y "agua ligada". El agua libre o absorbida, que es forma predominante, se libera con facilidad y es estimada en la mayor parte de los métodos usados para el cálculo de contenido de agua.

El agua ligada se halla combinando o absorbida. Se encuentra en los alimentos con agua de cristalización (hidrato) o ligada a las proteínas. Parte de la misma permanece ligada al alimento incluso a la temperatura que lo carboniza. La determinación de humedad puede ser el análisis más importante llevado a cabo en un producto alimentario y, sin embargo, puede ser el análisis del que es más difícil obtener resultados exactos y precisos.

La materia seca que permanece en el alimento posterior a la remoción del agua se conoce como sólidos totales. Este valor analítico es de gran importancia económica para un fabricante de alimentos, ya que el agua es un "llenador barato", así:

- El contenido de humedad es un factor de calidad en la conservación de algunos productos, ya que afecta la estabilidad de: frutas y vegetales deshidratados, leches deshidratadas; huevo en polvo, papas deshidratadas y especias.
- Todos los cálculos de valor nutricional requieren del conocimiento previo del contenido de humedad.

Los datos sobre contenido de humedad se utilizan para expresar los resultados de otras determinaciones analíticas en una base uniforme (por ejemplo, con base en el peso seco). El contenido de humedad de los alimentos varía enormemente. El agua es un constituyente principal en la mayoría de los productos alimenticios. (A.O.A.C, 2003)

2.9.3 Porcentaje de cenizas.

Se entiende por cenizas como el residuo inorgánico que queda tras eliminar totalmente los compuestos orgánicos existentes en la muestra, si bien hay que tener en cuenta que en él no se encuentran los mismos elementos que en la muestra intacta, ya que hay pérdidas por volatilización y por conversión e interacción entre los constituyentes químicos.

A pesar de estas limitaciones, el sistema es útil para concretar la calidad de algunos alimentos cuyo contenido en cenizas totales, o sus determinaciones derivadas, que son cenizas solubles en agua y cenizas insolubles en ácido, está bien definido. Facilita en parte, su identificación o permite clasificar el alimento examinado en función de su contenido en cenizas. La determinación consiste en incinerar la muestra en horno mufla, hasta ceniza blanca en una cápsula. (A.O.A.C, 2003)

III. MATERIALES Y MÉTODOS.

3.1 LOCALIZACIÓN DEL EXPERIMENTO.

El presente trabajo de investigación se realizó en las instalaciones del Laboratorio General de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Estatal de Bolívar.

3.2 UBICACIÓN DEL EXPERIMENTO

Cuadro 7. Ubicación del experimento.

UBICACIÓN	LOCALIDAD
Provincia	Bolívar
Cantón	Guaranda
Sector	Laguacoto I

3.3 SITUACIÓN GEOGRÁFICA Y CLIMÁTICA

Cuadro 8. Parámetros Climáticos.

PARÁMETRO	VALOR
Altitud	2445msnm
Latitud	01°34'15" sur
Longitud	79°0'02" oeste
Temperatura mínima	8°C
Temperatura media anual	13°C
Temperatura máxima	18°C
Humedad	75%

Fuente: (Estación Meteorológica. Universidad Estatal de Bolívar. Laguacoto II, 2011).

3.4 MATERIALES

3.4.1 Material experimental

- Cáscara de naranja variedad valenciana.
- Método de destilación por arrastre de vapor
- Bicarbonato de sodio

3.4.2 Material de campo

- Libreta de apuntes
- Computadora portátil
- Cámara fotográfica digital
- Marcadores

3.4.3 Material de oficina

- Calculadora
- Computadora
- Flash memory
- Impresora
- Papel de impresión
- Libretas
- Esferos
- Escritorio
- Sillas

3.4.4 Material de planta

- Balanza gramera
- Mandil color blanco
- Botas de caucho color blanco
- Baldes
- Recipientes plásticos
- Cuchillos metálicos
- Jarras plásticas
- Cilindro de gas
- Materiales de limpieza (jabón, detergente)

3.4.5 Material de laboratorio

- Mechero Búnzen
- Pipetas de 0.1 ml. – 1 ml
- Probeta plástica 500 ml
- Bureta
- Equipo de destilación
- Embudo de separación
- Bicarbonato de sodio
- Agua

3.4.6 Recursos institucionales

- Laboratorio General de la Facultad de Ciencias Agropecuarias Recursos Naturales y del Ambiente de la Universidad Estatal de Bolívar, donde se realizaron los siguientes análisis en el aceite esencial: índice de madurez, densidad, acidez y en la harina: humedad, cenizas, pH, Microbiológicos.
- Laboratorio LACONAL de la Universidad Técnica de Ambato (U.T.A.) realizando los siguientes análisis en el aceite esencial: índice de refracción y humedad.
- Laboratorio de análisis instrumental de la Escuela Politécnica Nacional de Quito, donde realizamos el análisis cromatográfico de gases.

3.4.7 Fuente de información

3.4.7.1 Primarias

- Universidad Técnica de Ambato
- Escuela Politécnica Nacional del Chimborazo
- Escuela Politécnica Nacional
- Universidad Central del Ecuador

3.4.7.2 Secundarias

- Libros
- Internet
- Tesis Marcelo Soria
- Normas mexicanas, europeas y ecuatorianas

3.5 FACTOR EN ESTUDIO.

Tabla1. Factor en estudio.

FACTOR	CÓDIGO	NIVELES
Método de destilación por arrastre de vapor	(A)	A ₁ =agua pura A ₂ =Bicarbonato de sodio 0,3% A ₃ = Bicarbonato de sodio 0,5% A ₄ = Bicarbonato de sodio 0,7%

Experimentales. (Moposita D / Núñez D, 2012)

3.6 CARACTERÍSTICAS DEL EXPERIMENTO.

Tamaño experimental: 1 kg

Repeticiones=3

Tratamientos= 4

Unidades experimentales= 12

Tabla 2. Descripción del diseño

Nº Trat.	Código	DESCRIPCIÓN
1	A ₁	A ₁ =agua pura
2	A ₂	A ₂ =Bicarbonato de sodio 0,3%
3	A ₃	A ₃ = Bicarbonato de sodio 0,5%
4	A ₄	A ₄ = Bicarbonato de sodio 0,7%

Experimentales. (Moposita D / Núñez D, 2012)

3.6.2 Tipo de diseño experimental

Se aplicó un diseño completamente al azar (D.C.A.) con 3 repeticiones.

Para lo cual se utilizará el siguiente modelo matemático:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij} \quad \begin{array}{l} i = 1,2,3,\dots, t \\ j = 1,2,3,\dots, n \end{array}$$

Dónde:

Y_{ij} = Variable respuesta en la j-ésima repetición del i-ésimo tratamiento

μ = Media general

τ_i = Efecto del tratamiento i.

ε_{ij} = Error aleatorio, donde $\varepsilon_{ij} \sim N(0, \sigma^2)$

3.6.3 Análisis estadístico y funcional

Para establecer las diferencias entre los tratamientos se aplicó el análisis de varianza (ADEVA)

Tabla 3. Análisis estadístico.

FV	GL
TOTAL	11
TRATAMIENTOS	3
ERROR	8

Experimentales. (Moposita D / Núñez D, 2012)

- Esquema de Análisis de Varianza DCA.
- Prueba de comparación de Tukey al 5% para promedios de tratamientos.
- Análisis Económico en la relación Costo/ Beneficio al mejor tratamiento.

3.7 MÉTODOS DE EVALUACIÓN Y DATOS A EVALUARSE

Las mediciones experimentales se realizaron tanto a la materia prima como al aceite esencial obtenido de la cáscara de naranja, en el laboratorio general de la Universidad Estatal de Bolívar.

3.7.1 En la Materia Prima

3.7.1.1 Índice de madurez

- Se partió a la mitad las naranjas por la sección ecuatorial “mitad” y se extrajo el jugo presionando la fruta contra el extractor, de manera que sean exprimidas la totalidad de las celdillas de jugo.
- Se pasó el jugo extraído a través de un tamiz y recogerlo en un recipiente limpio y previamente tarado.
- Pesamos el recipiente con el jugo y anotamos el resultado.
- Hicimos por lo menos dos determinaciones con muestras del mismo lote.

El índice de madurez se lo realizó previo a la recepción de la materia prima controlando su calidad, determinando los frutos óptimos para el proceso, para el efecto nos basamos en la norma mexicana NMX-FF012-1982.

3.7.2 En el producto terminado (aceite esencial a partir de cáscara de naranja).

3.7.2.1 Densidad relativa 25/25°C.

- Se limpió cuidadosamente el picnómetro con mezcla sulfocrómica y se enjuagó con agua. Se escurrió y luego se bañó sucesivamente con etanol y éter etílico. Se secó interiormente utilizando una corriente de aire seco y exteriormente con un paño o con papel filtro.

- Se determinó la masa del picnómetro completo con la precisión de 0.1 mg; se llenó con agua destilada evitando la formación de burbujas de aire se colocó el termómetro y se dejó destapada la rama del capilar.
- Se sumergió en un baño de agua a $25^{\circ}\text{C} \pm 0,2^{\circ}\text{C}$ ó $40^{\circ}\text{C} \pm 0.2^{\circ}\text{C}$ durante 30 min controlando la temperatura del baño con el termómetro del picnómetro hasta alcanzar la temperatura deseada, se enrasa la rama capilar del picnómetro con agua destilada a la misma temperatura y se tapa; se extrajo del baño, se limpió, se secó exteriormente y se determinó su masa con la precisión de 0.1 mg.
- El picnómetro se vació y luego se lavó con etanol y éter etílico. Se secó interiormente utilizando una corriente de aire seco y exteriormente con un paño seco o con papel de filtro.
- Se llenó el picnómetro con el aceite o grasa vegetal o animal homogeneizado, evitando la formación de burbujas de aire, se colocó el termómetro y se dejó destapada la rama del capilar, se sumergió en el baño de agua a $25^{\circ}\text{C} \pm 0.2^{\circ}\text{C}$ o $40^{\circ}\text{C} \pm 0.2^{\circ}\text{C}$ durante 30 min. Controlando la temperatura del baño con el termómetro del picnómetro. Cuando se alcanzó la temperatura deseada, se enrasó la rama del capilar del picnómetro con el aceite o grasa vegetal o animal a la misma temperatura y se tapó, después se procedió como se detalla para el agua destilada.

La densidad relativa se lo realizó una vez extraído el aceite esencial a partir de cáscara de naranja y obtener el parámetro de calidad basándonos en los resultados que se obtendrán y comparar con la norma que se está siguiendo. (NMX-F-075-1987)

3.7.2.2 Acidez

- A la muestra determinada en gramos, seca, fundida y filtrada, contenida en un matraz Erlenmeyer de 300 cm³, se le agregó tantos centímetros cúbicos de alcohol etílico, previamente neutralizado, si la disolución de los ácidos grasos libres no es completa en frío, se calentó suavemente el matraz en baño de vapor a reflujo hasta disolución completa, y después se agregó 1 cm³ de fenolftaleína, se tituló la mezcla con la solución de hidróxido de potasio valorada, agitando frecuentemente hasta que una coloración rosada persista durante 30 s.

La acidez se lo realizó una vez extraído el aceite esencial y tener el parámetro de calidad basándonos en los resultados que se obtendrán y finalmente comparar con la norma mexicana NMX-F-101-1987.

3.7.2.3 Humedad

- En un vaso de precipitado tarado a masa constante se determinó una masa de 5 a 20 g de la muestra anterior, con una exactitud de 0.0001 g; colocamos en el calentador a una temperatura tal que girando lentamente el vaso evite que salpique, lo cual puede resultar de una ebullición rápida.
- La aproximación del punto final se juzgó por el cese de burbujas, o también por la ausencia de espuma. Otro método para juzgar el punto final es colocando un vidrio de reloj limpio y seco sobre el vaso. La presencia de vapor se indica por la condensación en el vidrio del reloj. La temperatura de la muestra no debe exceder de 130°C, excepto al final de la prueba.
- Cuando el punto final aparente fue alcanzado, se siguió al calentando hasta la formación incipiente de humos, pero teniendo cuidado de no sobrecalentar.
- Enfriamos la muestra a la temperatura ambiente en un desecador y determine su masa hasta masa constante.

La humedad se lo realizó una vez extraído el aceite esencial, obteniendo resultados y comparando con la norma establecida. (NMX-F-211-1987)

3.7.2.4 Índice de refracción

- Antes de depositar la muestra en el refractómetro, se mantuvo una temperatura próxima la que se tomó la lectura. Se hizo circular una corriente de agua en el refractómetro, con el objeto de que el instrumento esté a la temperatura a la cual se efectuarán las lecturas. Esta temperatura no debe exceder de la de referencia en $\pm 20^{\circ}\text{C}$ y estar dentro de $\pm 0.2^{\circ}\text{C}$.
- Se colocó la muestra en los prismas limpios y secos y se esperó a que se estabilice la temperatura y se efectúa la lectura.

Para llevar a cabo este análisis nos basamos en la norma mexicana: (NMX-F-074-S-1981)

3.7.2.5 Análisis organoléptico sensorial del aceite esencial

Se realizó este análisis por medio de la participación de catadores semi entrenados, los mismos que calificaron considerando los caracteres de color, olor, aroma, y aceptabilidad, la calificación se dio según la escala de medición de Sancho, 2002, calificando de forma numérica 1 – 5.

3.7.3 En el producto terminado (harina a partir de cáscara de naranja).

3.7.3.1 Humedad.

- En un vaso de precipitación tarado a masa constante se determinó una masa de 5 a 20 g de la muestra anterior, con una exactitud de 0.0001 g; se colocó en el calentador a una temperatura tal que girando lentamente el vaso evite que salpique, lo cual puede resultar de una ebullición rápida.

- La aproximación del punto final pudo ser juzgada por el cese de burbujas, o también por la ausencia de espuma. Otro método utilizado para juzgar el punto final fue el de colocarlo en un vidrio de reloj limpio y seco sobre el vaso. La presencia de vapor se indica por la condensación en el vidrio del reloj. La temperatura de la muestra no debe exceder de 130°C, excepto al final de la prueba.
- Cuando el punto final aparente fue alcanzado, se siguió calentando hasta la formación incipiente de humos, pero teniendo cuidado de no sobrecalentar.
- Se enfrió la muestra a la temperatura ambiente en un desecador y se determinó su masa hasta masa constante.

La humedad se realizó una vez obtenida la harina a partir de la cáscara de naranja obteniendo resultados las cuales fueron comparadas con la norma mexicana. (NMX-F-007-1982)

3.7.3.2 Cenizas.

- En un crisol a masa constante, se depositó de 3 a 5 g de muestra por analizar, colocamos el crisol con muestra en una parrilla y quemar lentamente el material hasta que ya no desprenda humos, evitando que se proyecte fuera del crisol.
- Se llevó el crisol a una mufla y se procedió a la calcinación completa.
- Se refrescó en la mufla, se trasladó al desecador para su completo enfriamiento y determinar la masa del crisol con cenizas.

El análisis de cenizas se lo realizó una vez obtenida la harina a partir de la cáscara de naranja, los cuales fueron comparados con los parámetros de calidad según la norma NMX-F-007-1982

3.7.3.3 pH

- Las muestras para este análisis se colocaron en recipientes herméticos, limpios, secos (vidrio, plástico u otro material inoxidable), completamente llenos para evitar que se forme espacios de aire.
- La cantidad de la muestra de la harina de origen vegetal extraída dentro de un lote determinado fue representativa y no debe exponerse al aire mucho tiempo.
- Se homogenizó la muestra invirtiendo varias veces el recipiente que lo contiene.
- La determinación se efectuó por duplicado sobre la misma muestra preparada.
- Se comprobó el correcto funcionamiento del potenciómetro.
- Su peso fue con aproximación al 0,1 mg, 10 g de muestra preparada y se colocó en el vaso de precipitación, añadimos 100cc de agua destilada, recientemente hervida y enfriada, se agitó suavemente hasta que las partículas queden uniformemente suspendidas.
- La muestra fue agitada durante 30 min a 25°C, de modo que las partículas de almidón se mantengan en suspensión, y dejamos en reposo para que el líquido se decante.
- Determinamos el pH por lectura directa, introduciendo los electrodos del potenciómetro en el vaso de precipitación con la muestra, cuidando que éstos no toquen las paredes del recipiente ni las partículas sólidas.

El análisis de pH se realizó una vez obtenida la harina del pastel vegetal residual del proceso de extracción de aceite esencial, para el efecto nos basamos en la norma de calidad. (INEN 526 – 1980 – 12)

3.7.3.4 Mohos y levaduras.

- Se preparó la muestra por uno de los métodos recomendados en el PRT-712.01-002.

- Se tomó con una pipeta por duplicado a placas Petri estériles alícuotas de 1 ml de la muestra si es producto líquido o 1 ml de la dilución 10-1 en el caso de otros productos.
- Se sembró por lo menos dos diluciones consecutivas por duplicado.
- Se recomienda esta serie de diluciones cuando no se conoce el rango aproximado de microorganismos.
- Se agregó 15 ml de agar fundido y temperado a $47^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$.
- El tiempo que se dejó transcurrir entre la preparación de la suspensión inicial y el momento de agregar el agar no debe excederse de los 15 min.
- Se homogenizó el inóculo con el medio fundido, inclinando y se giró las placas. La forma adecuada de llevar a cabo esta operación fue la siguiente:
 - Se giró la placa con movimientos de vaivén 5 veces en una dirección.
 - Hicimos girar 5 veces en el sentido de las agujas del reloj.
 - Se giró con movimientos de vaivén en una dirección que se formó un ángulo recto con la primera.
 - Se giró 5 veces en el sentido contrario a las agujas del reloj.
 - Se incubó a $22 - 25^{\circ}\text{C}$ durante 3 a 5 días

El análisis de Mohos y levaduras se lo realizó siguiendo la normativa que rige la norma (ISO 7954), una vez obtenida la harina a partir del pastel vegetal.

3.7.3.5 *Escherichia – coli*.

- En un medio líquido de enriquecimiento selectivo se inoculó con una cantidad especificada de la suspensión inicial de la muestra de ensayo.
- El tubo se incubó a 37°C durante hasta 48 h. El tubo se examinó para la producción de gas después de 24 h, y 48 h.
- Si el tubo ha dado lugar a la opacidad, turbidez o emisión gaseosa, se subcultivan a un tubo que contiene un medio líquido selectivo (CE caldo).
- El tubo obtenido se incubó a 44°C durante hasta 48 h. El tubo se examinó para el gas la producción después de 24 h y 48 h.

- Si el tubo de medio obtenido en la sección ha dado lugar a la emisión gaseosa, se subcultivan a un tubo que conteniendo libre de agua de peptona.
- El tubo obtenido en se incubaba a 44 ° C durante 48 h. El tubo se examinó la producción de indol resultante de la degradación del triptófano en el componente de peptona.
- Los tubos que muestran la opacidad, la producción de gas en el medio de enriquecimiento selectivo líquido y cuyas subculturas han producido de gas en el caldo de la CE y de indol en el agua de peptona a 44 ° C se considera que contienen presuntos *Escherichia-coli*. Los resultados se presentan como la "presencia" o "ausencia" presuntivos de *Escherichia-coli* en xg o x ml de producto.

El análisis de *Escherichia coli* se realizó una vez obtenida la harina del pastel vegetal residual del proceso de extracción de aceite esencial comparando con la norma que se está siguiendo. (ISO 7251:2005)

3.7.3.6 Análisis organoléptico sensorial de la harina.

- Se realizó este análisis por medio de la participación de catadores semi entrenados, los mismos que calificaron considerando los caracteres de color, olor, aroma, textura y aceptabilidad, la calificación se dio según la escala de medición de Sancho, 2002 que corresponde numéricamente 1 – 5 respectivamente.

3.7.4. Análisis en el mejor tratamiento.

3.7.4.1 Análisis cromatográfico.

- Para la determinación de la composición cualitativa y cuantitativa del aceite esencial se efectuó por cromatografía de gases, empleando para el efecto un cromatógrafo de gases equipado con detector de ionización de llama.

- Para la identificación de los compuestos se procedió, a buscar las condiciones para una óptima separación y luego se inyectaron una serie de estándares en idénticas condiciones.
- La confirmación de identificación de los componentes se efectuó corriendo un cromatograma de la muestra en una columna de diferente polaridad.

Características del equipo:

- Equipo: Cromatógrafo de gases VARIAN – Mod. 2.860.
- Detector: Ionización de llama.
- Material de la columna: Acero inoxidable.
- Longitud de la columna: 12 pies.
- Diámetro de la columna: 1/8 pulgadas.
- Soporte: Chromosorb w 60/80 DMCS.
- Fase estacionaria: Carbowax 20M, al 15%.
- Sensibilidad: Variable.
- Temperatura del inyector: 200 C.
- Temperatura de la columna: programada.
- Temperatura del detector: 200C.
- Velocidad de la carta: 0,5 pulg/min.

El análisis cromatográfico se lo realizó una vez extraído el aceite esencial y tener el parámetro de calidad basándonos en los resultados que se obtendrán y comparando con la norma que se está siguiendo.

Este análisis cromatográfico de gases fue realizado en un cromatógrafo varian 8500 con detector de ionización de llama, empleando una columna empacada polar para el efecto nos basamos en la Tesis, Marcelo Soria Viteri Marzo 1.981.

3.7.4.2 Análisis de relación costo /beneficio.

Este análisis se realizó para determinar cuánto es o será el beneficio considerando gasto de producción en el mejor tratamiento.

3.8 MANEJO EXPERIMENTAL (ACEITE ESENCIAL).

- **Recepción**

La naranja se revisó que esté bien desarrollada, del color adecuado, entera, limpia, sin golpes y de consistencia firme, de textura razonablemente lisa y sin signos de putrefacción o descomposición.

- **Transporte**

Del área de recepción de materia prima, se transportó a través de recipientes metálicos hacia el área de lavado en el trayecto se seleccionaron y eliminaron los que presenten signos de descomposición o que no reúnan las características requeridas, y se realizó el análisis de índice de madurez.

- **Lavado**

Las naranjas se colocaron en recipientes metálicos, donde recibe chorros de agua. A través de este lavado se eliminan agentes extraños y otros tipos de microorganismos.

- **Extracción**

Con la ayuda de un cuchillo se cortó la naranja en dos partes iguales, donde extrajo el jugo de la naranja con un exprimidor manual plástico y apartamos la cáscara del jugo para la extracción del aceite esencial.

- **Troceado**

Para llevar a cabo este proceso se necesitó un cuchillo manual y una tabla plástica para picar donde, la cáscara de naranja fue picada en pequeños segmentos de un

centímetro de largo por medio centímetro de ancho para facilitar el ablandamiento posterior.

- **Maceración**

La cáscara de naranja troceada, se colocó en baldes herméticos con diferentes porcentajes de concentración de bicarbonato de sodio diluido en agua lo que ayuda al ablandamiento del tejido vegetal de la cáscara de naranja, facilitando la extracción del aceite esencial mediante destilación por arrastre con vapor.

- **Licudo**

Se llevó a cabo este proceso para romper las células que contienen los aceites esenciales, liberando de forma inmediata al momento de destilación por arrastre con vapor.

- **Destilación**

Se colocó en el balón de destilación el 25% de agua en relación al peso de la cáscara de naranja, donde mediante acción de calor arrastramos aquellas sustancias volátiles de la cáscara de naranja dando como resultado final aceite esencial y agua.

- **Condensación**

Los vapores de agua y aceite esencial, evaporados por acción de calor pasan por un condensador, donde cambia de gas a líquido.

- **Separación**

El aceite y agua condensados caen en un embudo de separación, donde por decantación obtuvimos el aceite esencial libre de agua.

- **Inspección**

Del recipiente que contiene el Aceite esencial, se tomaron muestras para valorar su aspecto que debe ser cristalino y no presente turbidez, sólidos o agua. Que tenga color ligeramente amarillo de tono casi incoloro. Su olor sea limpio sin rastros de rancio o

quemado y que su sabor no tenga rastros extraños y por último que su densidad relativa sea adecuado, ya que una densidad relativa baja indica un aceite ligero debido a una destilación incompleta. Por otra parte una densidad alta, indica una destilación muy prolongada, utilización de fruta muy madura o un aceite muy viejo.

- **Envasado**

El aceite esencial obtenido mediante destilación se procedió al envasado en recipientes o en envases de vidrio color oscuro, cual evitará la contaminación del producto.

- **Almacenado**

El producto final ya envasado lo almacenamos a temperaturas menores a 30°C y superiores a 7°C, utilizando estas condiciones de temperaturas no se obtuvo problema alguno de alteraciones tanto físicas como químicas.

3.8 PROCESO PARA ELABORACIÓN DE HARINA

- **Recepción**

En esta etapa, se recibió el pastel vegetal, residuo de la extracción del aceite esencial en bandejas de metal, se llevó a cabo una inspección sensorial de la materia prima, y se determinó el peso de la misma mediante una balanza, estableciendo parámetros de rendimiento para el proceso de elaboración de harina.

- **Lavado**

El lavado del pastel vegetal se realizó mediante aspersion en una tina de polietileno Y un tamizador de tela, para eliminar las impurezas por el proceso de destilación, ya que está expuesto a un porcentaje de bicarbonato y alto contenido de agua.

- **Secado**

Se llevó a cabo mediante un secador horizontal experimental. La papilla obtenida en la etapa anterior se colocarán en bandejas de aluminio, de 9.5 cm de largo, 9 cm de ancho y 0.8 cm de profundidad, las cuales se colocaron en el secador a temperaturas entre 50 y 60° C con una velocidad del aire de 4.19 m/s durante 13 horas.

- **Pulverizado**

En esta etapa se recogió el pastel vegetal ya deshidratado y troceado en bandejas de metal y la reducción de tamaño del material seco se realizó mediante un molino-tamiz hasta obtener una harina.

- **Tamizado**

Se recogió todo la harina en bandejas de metal y se pasó por una serie de mallas para determinar si el tamaño de las partículas y determinar el segundo pulverizado si así fuere necesario.

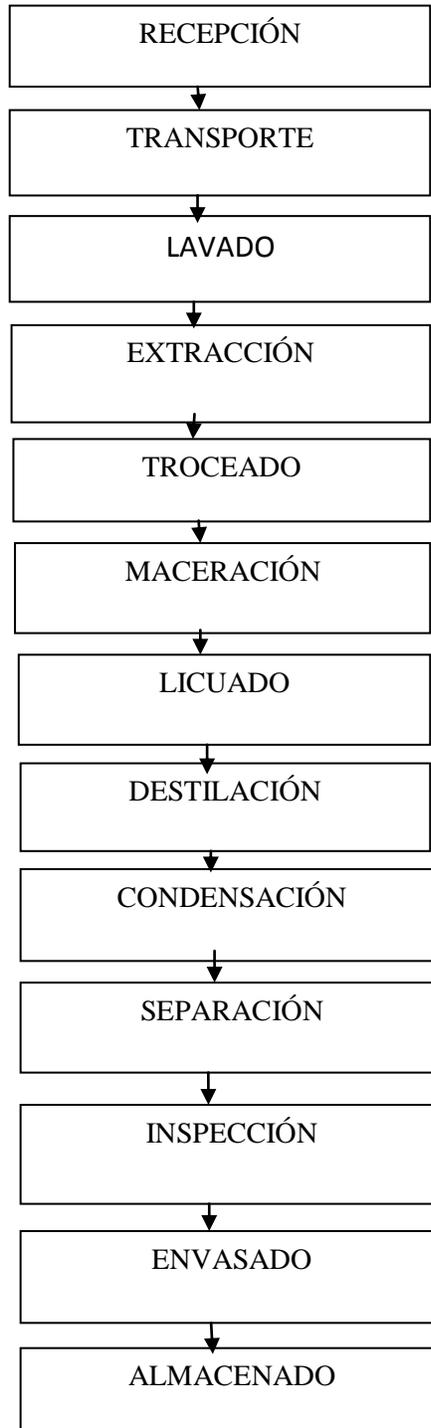
- **Envasado**

La harina de cáscara de naranja obtenida se envasó en fundas de polietileno.

- **Almacenado**

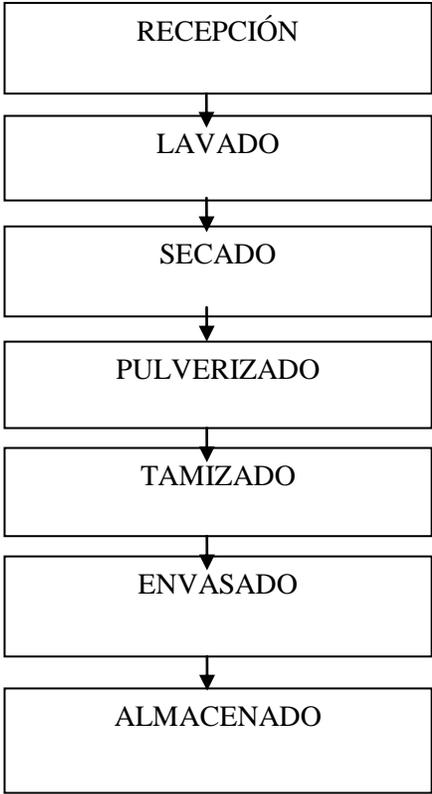
Se recolectó la harina ya envasada y se transportó a un lugar de depósito a temperatura ambiente o bodega, tomando en consideración tanto la temperatura y humedad.

3.10 Diagrama de flujo para la elaboración de aceites esenciales a partir de cáscara de naranja.



Experimentales. (Moposita D / Núñez D, 2012)

3.11 Diagrama de flujo para la elaboración de harina a partir de cáscara de naranja.



Experimentales. (Moposita D / Núñez D, 2012)

IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES.

4.1 ANÁLISIS REALIZADOS EN LA MATERIA PRIMA.

4.1.1 Índice de madurez.

El índice de madurez en la naranja, es un método que se utiliza para la determinación del volumen de jugo presente en la fruta, para el efecto nos basamos en la norma mexicana NMX-FF012-1982. Donde encontramos que el contenido de jugo, que no debe ser menor de 40% en peso, en este estudio, la media en cuanto a volumen de jugo de naranja fue de 44.55 %, esto indica que, la materia prima utilizada para este estudio, está en el parámetro indicado por la norma establecida. Para este estudio se trabajó con la naranja *Citrus sinensis*, variedad valenciana, cumpliendo con los parámetros establecidos de postcosecha debido a su estado físico de madurez.

4.2 ANÁLISIS EN EL PRODUCTO TERMINADO (ACEITE ESENCIAL)

4.2.1 Densidad relativa 25/25°C

La densidad es una medida de cuanto material se encuentra comprimido en un espacio determinado; es la cantidad de masa por unidad de volumen, según manifiesta la norma mexicana NMX – F – 063 – 1978.

Tabla 4: Análisis de varianza para la densidad relativa del aceite esencial de cáscara de naranja.

F V	GL	SC	CM	Razón-F	Probabilidad
TRATAMIENTOS	3	0,0003000	0,00011100	20,00	0,0004**
ERROR RESIDUAL	8	0,0000398	0,00000500		
TOTAL	11	0,0003398			
\bar{X}		0,82			
CV%		0,86			

Experimentales. (Moposita D / Núñez D, 2012)

** = *Diferencia Altamente significativa*

En la Tabla 4 del Análisis de varianza para la densidad relativa del aceite esencial de cáscara de naranja, se aprecia que existe diferencia altamente significativa en los tratamientos, deduciéndose que las concentraciones de bicarbonato de sodio influyen en los tratamientos. El bicarbonato de sodio físicamente rompe los tejidos vegetales haciendo que el aceite esencial pueda evaporarse rápidamente por acción de calor.

Tabla5: Rangos ordenados de Tukey para la densidad relativa del aceite esencial de cáscara de naranja.

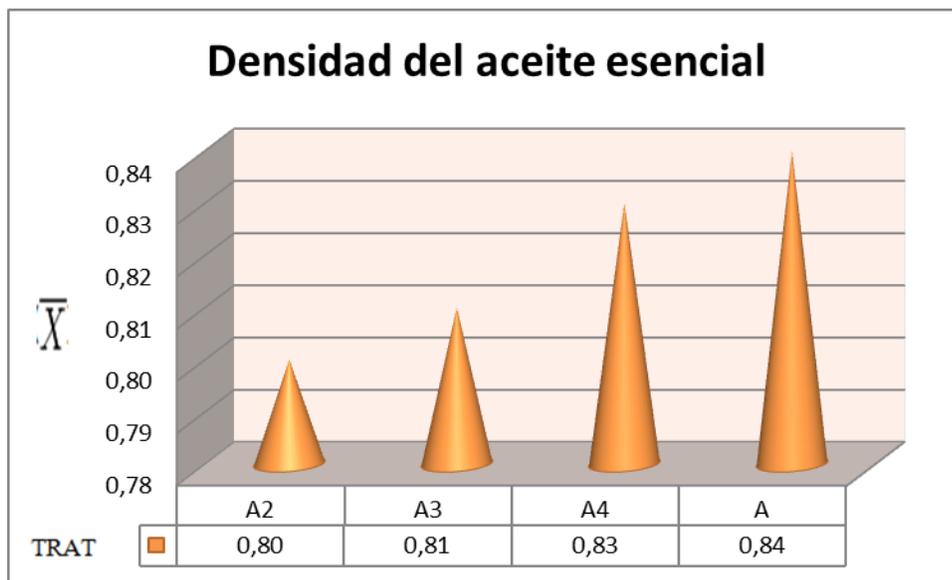
Trat.	Rép.	\bar{X}	Grupos Homogéneos
A2	3	0,80	A
A3	3	0,81	A
A4	3	0,83	B
A1	3	0,84	B

Experimentales. (Moposita D / Núñez D, 2012)

En los Rangos ordenados de Tukey para la densidad relativa del aceite esencial de cáscara de naranja que se muestra en la tabla 5, se encuentran distribuidos en dos grupos, el tratamiento A2 posee una densidad de 0,80 g/cm³, seguido por el tratamiento A3 con una densidad de 0.81 g/cm³, como se observa en el gráfico 8; basándonos en la norma mexicana NMX – F – 063 – 1978, encontrando que la densidad del aceite esencial debe ser de 846 kg/m³ (0,84 g/cm³), esto indica que el

tratamiento A1 en cuanto al aceite esencial es el más puro en relación a los otros tratamientos, ya que se aleja de la densidad del agua que es uno, demostrando pureza a simple vista. Demostrando que el bicarbonato de sodio actúa de acuerdo a la concentración.

Gráfico 8: Perfil de Tukey para la densidad relativa del aceite esencial de cáscara de naranja



Experimentales. (Moposita D / Núñez D, 2012)

4.2.2 Acidez

La acidez titulable es una medida del contenido de ácidos grasos libres en una muestra o la cantidad en miligramos de hidróxido de potasio necesaria para neutralizar los ácidos grasos libres en 1.0 g de aceite, según la norma NMX-F-101-1987.

Tabla 6: Análisis de varianza para la acidez del aceite esencial de cáscara de naranja

F V	GL	SC	CM	Razón-F	Probabilidad
TRATAMIENTOS	3	0,179000	0,060000	2346,00	0,0000**
ERROR RESIDUAL	8	0,000020	0,000025		
TOTAL	11	0,179020			
\bar{X}		0,34			
CV%		1,47			

Experimentales. (Moposita D / Núñez D, 2012)

** = *Diferencia Altamente significativa*

El Análisis de varianza para la acidez del aceite esencial de cáscara de naranja que se muestra en la tabla 6, se aprecia que existe en los tratamientos diferencia altamente significativa, esto indica que el bicarbonato de sodio influyó tanto físico-químicamente por su característica propia de alcalinidad, permitiendo estabilidad de los ácidos de la cáscara de naranja. (Gessner, 2006)

Tabla7: Rangos ordenados de Tukey para la acidez del aceite esencial de cáscara de naranja.

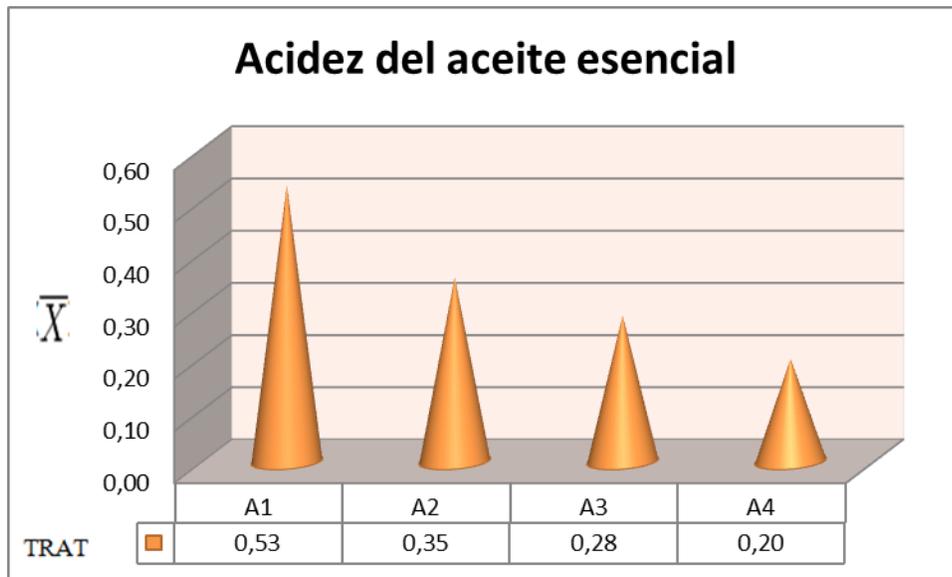
Trat.	Rép.	\bar{X}	Grupos Homogéneos
A1	3	0,53	A
A2	3	0,35	B
A3	3	0,28	C
A4	3	0,20	D

Experimentales. (Moposita D / Núñez D, 2012)

En la tabla 7 de Rangos ordenados de Tukey para la acidez del aceite esencial de cáscara de naranja, identificamos cuatro grupos diferentes, observando que el tratamiento A1 (0% de bicarbonato de sodio) es el que posee mayor acidez debido a la ausencia de la misma del reactivo estudiado, conforme incrementa la concentración de bicarbonato de sodio la acidez reduce, comprobando que el bicarbonato de sodio

es una sustancia alcalina, concluyendo que a mayor concentración de bicarbonato menor acidez, como se aprecia en el gráfico a continuación:

Gráfico 9: Perfil de Tukey para la acidez del aceite esencial de cáscara de naranja.



Experimentales. (Moposita D / Núñez D, 2012)

4.2.3 Humedad

La humedad es la cantidad de agua presente en una sustancia, la misma que no ayuda a determinar el grado de pureza que este posee, para dicho análisis nos regimos a la norma NMX-F-007-1982.

Tabla 8: Análisis de Varianza para humedad en el aceite esencial de cáscara de naranja.

F V	GL	SC	CM	Razón-F	Probabilidad
TRATAMIENTOS	3	20,940	6,9800	13,93	0,0015**
ERROR RESIDUAL	8	4,0000	0,500		
TOTAL	11	24,94			
\bar{X}		29,79			
CV%		2,37			

Experimentales. (Moposita D / Núñez D, 2012)

** = *Diferencia Altamente significativa*

En la tabla 8 del Análisis de Varianza para humedad en el aceite esencial de cáscara de naranja, se aprecia que existe diferencia altamente significativa en los tratamientos, esto indica que el bicarbonato de sodio influye en el arrastre del vapor de acuerdo a la concentración, facilitando la extracción de los aceites esenciales de manera directa, ya que la humedad nos da a conocer la mayor cantidad de agua presente en la sustancia.

Tabla 9: Rangos ordenados de Tukey para la Humedad del aceite esencial de cáscara de naranja

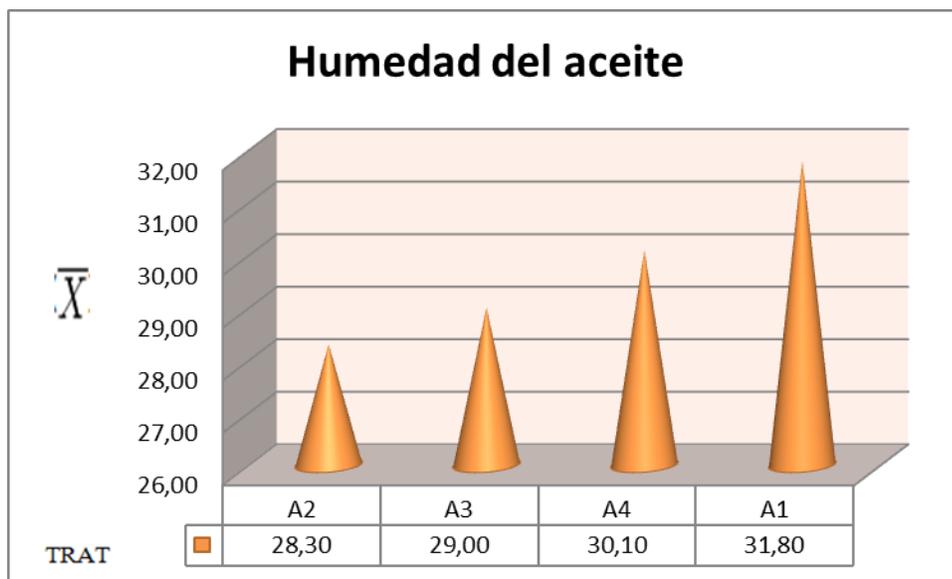
Trat.	Rép.	\bar{X}	Grupos Homogéneos
A2	3	28,3	A
A3	3	29,0	AB
A4	3	30.1	B
A1	3	31.8	B

Experimentales. (Moposita D / Núñez D, 2012)

En la tabla 9 se expresa los resultados de la humedad presente en el aceite esencial de la cáscara de naranja, observando que el tratamiento A2 (0,3% bicarbonato de sodio) posee menor porcentaje de humedad con 28,33 %, seguido por el tratamiento A3 con 29% de humedad, podemos recalcar que la humedad y la densidad del aceite esencial están relacionados por la cantidad de agua presente en una sustancia, para este análisis nos basamos en la norma (NMX-F-063-1978). En el tratamiento A2 en

cuanto a la densidad del aceite esencial es el que más se aleja de la densidad del agua, tomando en cuenta que la densidad del agua es 1 g\cc, en el análisis de humedad el que menor cantidad de agua posee es el tratamiento A2, concluyendo que a menor densidad menor cantidad de agua, esto indica que el bicarbonato de sodio actúa en la humedad del producto final, como se aprecia en el gráfico 10.

Gráfico 10: Perfil de Tukey para la humedad en el aceite esencial de cáscara de naranja.



Experimentales. (Moposita D / Núñez D, 2012)

4.2.4 Índice de refracción

Índice de refracción es la relación que existe entre el seno del ángulo de incidencia y el seno del ángulo de refracción de un rayo luminoso, de una longitud de onda determinada, que pasa del aire a la sustancia en examen. Esta se mantiene a una temperatura constante y determinada, según el aparato utilizado, el método se basa en la medida directa del ángulo de refracción; o bien, en la observación del límite de reflexión total, manteniendo la sustancia dentro de condiciones de isotropismo y transparencia, esto según la norma NMX-F-074-S-1981.

Tabla10: Análisis de varianza del Índice de refracción del aceite esencial de cáscara de naranja.

F V	G L	SC	CM	Razón-F	Probabilidad
TRATAMIENTOS	3	0,00000502	0,0000010	776,00	0,0001**
ERROR RESIDUAL	8	0,00000002	0,0000025		
TOTAL	11	0,00000502			
\bar{X}		1,47			
CV%		0,0034			

Experimentales. (Moposita D / Núñez D, 2012)

** =Diferencia Altamente significativa

En el Análisis de varianza del Índice de refracción del aceite esencial de cáscara de naranja que se aprecia en la tabla 10, existe diferencia altamente significativa en los tratamientos, determinando que el bicarbonato de sodio influyo en los tratamientos.

Tabla 11: Rangos Ordenados de Tukey para el Índice de refracción del aceite esencial de cáscara de naranja.

Trat.	Rép.	\bar{X}	Grupos Homogéneos
A1	3	1,4721	A
A2	3	1,4716	B
A3	3	1,4708	C
A4	3	1,4703	D

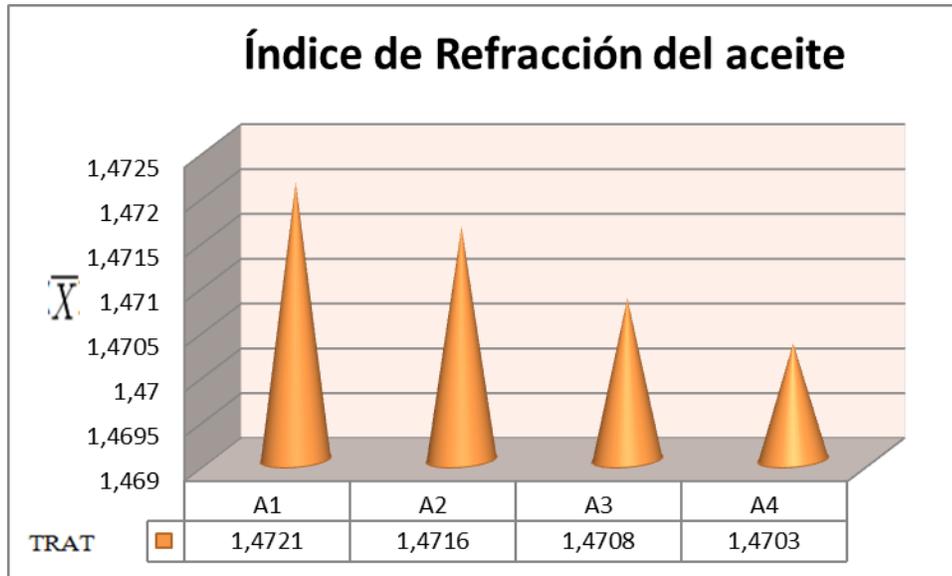
Experimentales. (Moposita D / Núñez D, 2012)

En la Tabla 11 se muestran los rangos Ordenados de Tukey para el Índice de refracción del aceite esencial de cáscara de naranja, donde observamos cuatro grupos diferentes, numéricamente el tratamiento A1 (0% de bicarbonato de sodio) y A2 son superiores a los dos restantes con un índice de refracción de 1,4721 y 1,4716.

Esta disminución estadística de refracción en los tratamientos se debe a la concentración de bicarbonato de sodio, que presenta mayor número de sólidos totales, lo que impide el paso de luz, comparando con la norma establecida se encuentra en el

rango permitido que es 1,4754, concluyendo que a menor concentración de Bicarbonato de sodio mayor índice de refracción como se aprecia en el gráfico 11.

Gráfico 11. Perfil del Índice de refracción en aceite esencial de cáscara de naranja



Experimentales. (Moposita D / Núñez D, 2012)

4.2.5 Rendimiento en el aceite esencial.

Para este análisis, se consideró el volumen obtenido de los tratamientos, mediante el método de arrastre con vapor.

Tabla 12. Análisis de Varianza para el rendimiento en el aceite esencial de cáscara de naranja.

F V	GL	SC	CM	Razón-F	Probabilidad
TRATAMIENTOS	3	10,61	3,54	282,39	0,0000**
ERROR RESIDUAL	8	0,100	0,01		
TOTAL	11	10,71			
\bar{X}		6,56			
CV%		1,71			

Experimentales. (Moposita D / Núñez D, 2012)

** =Diferencia altamente significativa

El análisis de varianza para rendimiento en el aceite esencial de cáscara de naranja, que se muestra en la tabla 12, se aprecia que existe diferencia altamente significativa en los tratamientos, por lo que se deduce que las concentraciones de bicarbonato de sodio influyen en el volumen final del aceite esencial, por su poder ablandador de las paredes celulares ayudándonos a la fácil extracción del aceite esencial de cáscara de naranja. (Gessner, 2006)

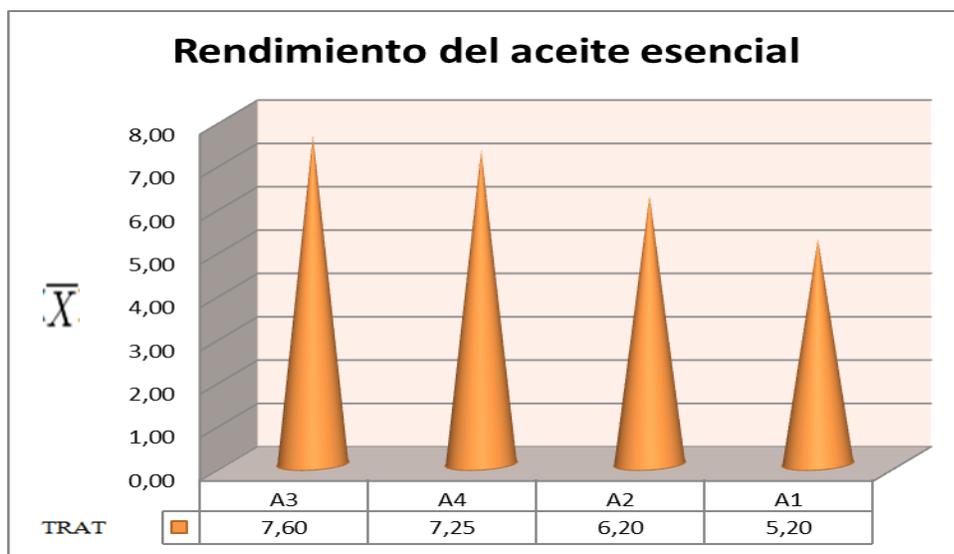
Tabla 13. Rangos ordenados del rendimiento en aceite esencial de cáscara de naranja

Trat.	Rép.	\bar{X}	Grupos Homogéneos
A3	3	7,60	A
A4	3	7,25	B
A2	3	6,20	C
A1	3	5,20	D

Experimentales. (Moposita D / Núñez D, 2012)

En la tabla 13 de rangos ordenados para rendimiento del aceite esencial de cáscara de naranja, se aprecia que existe alta diferencia significativa, divididos en cuatro grupos diferentes, el tratamiento A3 (0,5% de bicarbonato de sodio) es superior a los demás tratamientos con 7,60 ml de aceite esencial, seguido por el tratamiento A4 (0,7% de bicarbonato de sodio) con 7,25ml, A2 (0,3% de bicarbonato de sodio) con 6,20ml y el A1 (0% de bicarbonato de sodio) con 5,20ml, concluyéndose que la concentración de bicarbonato de sodio ideal para la obtención máxima de aceite esencial es de 0,5%. Comprobando que a mayor concentración de bicarbonato de sodio a lo establecido en esta investigación produce una saturación de bióxido de carbono que al contacto con el calor se forma una reacción creando burbujas lo que impide el paso de el aceite.

Gráfico12. Perfil de Tukey para el rendimiento en el aceite esencial de cáscara de naranja



Experimentales. (Moposita D / Núñez D, 2012)

4.2.6 Análisis organoléptico del aceite esencial

El análisis organoléptico o evaluación sensorial, es el análisis de los alimentos u otros materiales a través de los sentidos, es una disciplina científica usada para evocar, medir, analizar e interpretar las reacciones a aquellas características de los alimentos que se perciben por los sentidos de la vista, el oído, el olfato, el gusto y el tacto, por lo tanto, la evaluación sensorial no se puede realizar mediante aparatos de medida, el “instrumento” utilizado son personas semientrenados. (León, 2005)

a) Color

El color es la cualidad de la sensación provocada en la retina de los ojos del observador que resulta de la interacción de la luz y un componente físico que depende de determinadas características de la luz. (Sancho, 2002)

Tabla 14. Análisis de varianza en el color del aceite esencial de cáscara de naranja.

F V	GL	SC	CM	Razón-F	Probabilidad
TRATAMIENTOS	3	0,09579	0,03193	0,21	0,8864NS
CATADORES	9	8,27581	0,919534	6,14	0,0001**
ERROR RESIDUAL	27	4,04551	0,149834		
TOTAL	39	12,4171			
\bar{X}		3,86			
CV%		10,03			

Experimentales. (Moposita D / Núñez D, 2012)

NS = *Diferencia no significativa*

** = *Diferencia Altamente significativa*

El análisis de varianza del color en el aceite esencial de cáscara de naranja, que se muestra en la tabla14, se aprecia que existe diferencia no significativa en los tratamientos, mientras que existe diferencia altamente significativa en los catadores, por lo que se demuestra que para cada uno de los catadores el color de los tratamientos son diferentes, esto se debe a que cada una de las personas tenemos criterio personal propio. (Sancho, 2002)

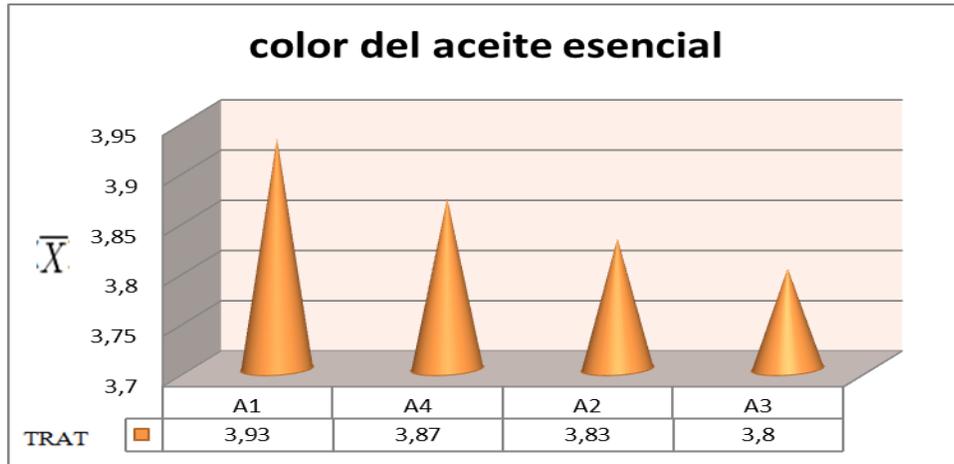
Tabla 15. Rangos ordenados del color en aceite esencial de cáscara de naranja

Trat.	Rép.	\bar{X}	Grupos Homogéneos
A1	10	3,93	A
A4	10	3,87	A
A2	10	3,83	A
A3	10	3,80	A

Experimentales. (Moposita D / Núñez D, 2012)

En la tabla 15 de rangos ordenados del color en aceite esencial de cáscara de naranja, se aprecia un grupo homogéneo, pero numéricamente los catadores califican al tratamiento A1 (0% de bicarbonato de sodio) como superior con 3,93 que corresponde transparente, según la escala de Sancho, 2.002, por lo que se deduce que las concentraciones de bicarbonato de sodio no influyen en el color del aceite esencial, ver gráfico13.

Gráfico13. Perfil del color en el aceite esencial de cáscara de naranja



Experimentales. (Moposita D / Núñez D, 2012)

b) Olor

Es la percepción por medio de la nariz de sustancias volátiles liberadas en los alimentos, dicha propiedad en la mayoría de las sustancias olorosas es diferente para cada una. En la evaluación de olor es muy importante que no haya contaminación de un olor con otro, por tanto los alimentos que van a ser evaluados deberán mantenerse en recipientes herméticamente cerrados. (Sancho, 2002)

Tabla 16. Análisis de varianza en el olor del aceite esencial de cáscara de naranja.

F V	GI	SC	CM	Razón-F	Probabilidad
TRATAMIENTOS	3	0,72446	0,241487	1,75	0,1800NS
CATADORES	9	9,24106	1,02678	7,45	0,0000**
ERROR RESIDUAL	27	3,71964	0,137764		
TOTAL	39	13,6852			
\bar{X}		3,55			
CV%		10,46			

Experimentales. (Moposita D / Núñez D, 2012)

NS = Diferencia no significativa

** = Diferencia altamente significativa

El análisis de varianza del olor en el aceite esencial de cáscara de naranja, que se muestra en la tabla 16, se aprecia una diferencia no significativa en los tratamientos, mientras que los catadores manifiestan una diferencia altamente significativa, demostrándose que para cada uno de los catadores el olor de los tratamientos son diferentes. (Sancho, 2002)

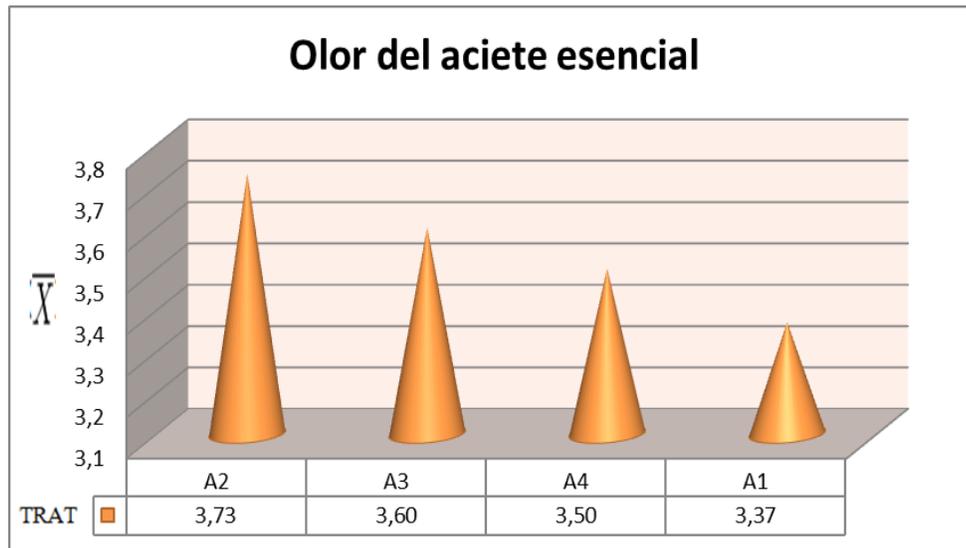
Tabla 17. Rangos ordenados del olor en aceite esencial de cáscara de naranja

Trat.	Rép.	\bar{X}	Grupos Homogéneos
A2	10	3,73	A
A3	10	3,60	A
A4	10	3,50	A
A1	10	3,37	A

Experimentales. (Moposita D / Núñez D, 2012)

En la tabla 18 de rangos ordenados del olor en aceite esencial de cáscara de naranja, se aprecia un grupo homogéneo, pero numéricamente los catadores califican al tratamiento A2 (0,3% de bicarbonato de sodio) como superior con 3,73 que corresponde agradable siguiendo la escala de Sancho, 2002, comprobándose que las concentraciones de bicarbonato de sodio no influye en el olor del aceite, debido a que produce bióxido de carbono que al contacto con el calor este se evapora en el ambiente, ver gráfico14.

Gráfico14. Perfil del olor en el aceite esencial de cáscara de naranja.



Experimentales. (Moposita D / Núñez D, 2012)

c) Aroma

Consiste en la percepción de las sustancias olorosas y aromáticas de un alimento después de haberse puesto en la boca. Dichas sustancias se disuelven en la mucosa del paladar y la faringe, llegando a través del Eustaquio a los centros sensores del olfato. El aroma es el principal componente del sabor de los alimentos, es por eso que cuando tenemos gripe o resfriado el aroma no es detectado y algunos alimentos sabrán a lo mismo. El uso y abuso del tabaco, drogas o alimentos picantes y muy condimentados, insensibilizan la boca y por ende la detección de aromas y sabores. (Sancho, 2002)

Tabla 18. Análisis de varianza en el aroma del aceite esencial de cáscara de naranja.

F V	GI	SC	CM	Razón-F	Probabilidad
TRATAMIENTOS	3	0,0673475	0,0224492	0,09	0,9675NS
CATADORES	9	10,8317	1,20352	4,58	0,0010**
ERROR RESIDUAL	27	7,10123	0,263008		
TOTAL	39	18,0003			
\bar{X}		3,37			
CV%		15,22			

Experimentales. (Moposita D / Núñez D, 2012)

NS = Diferencia no significativa

** = Diferencia altamente significativa

En la Tabla 18, que presenta el Análisis de varianza en el aroma del aceite esencial de cáscara de naranja, se aprecia existe diferencia no significativa en los tratamientos, mientras los catadores presentan diferencia altamente significativa, se demuestra que para cada catador el aroma de los tratamientos es diferente, esto se debe al estado de salud que se encuentre el catador. (Sancho, 2002)

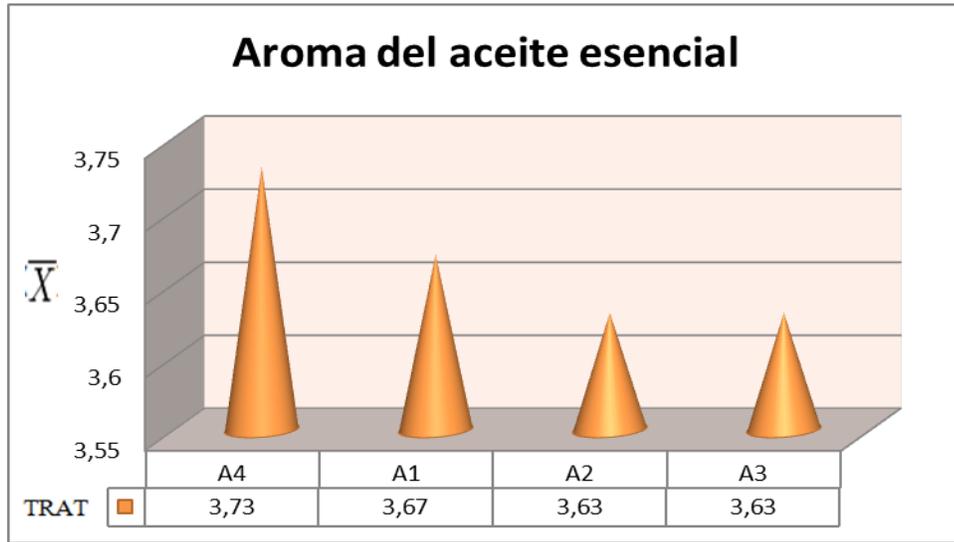
Tabla 19. Rangos ordenados del aroma en aceite esencial de cáscara de naranja.

Trat.	Rép.	\bar{X}	Grupos Homogéneos
A4	10	3,73	A
A1	10	3,67	A
A2	10	3,63	A
A3	10	3,63	A

Experimentales. (Moposita D / Núñez D, 2012)

En los rangos ordenados del aroma en aceite esencial de cáscara de naranja que se muestra en la tabla 19, se aprecia un grupo homogéneo, numéricamente los catadores califican al tratamiento A4 (0,7% de bicarbonato de sodio) como superior con 3,73 que corresponde a agradable según la escala de calificaciones Sancho, 2.002, deduciéndose que las concentraciones de bicarbonato de sodio no influye en el aroma del aceite esencial, ver gráfico 15.

Gráfico15. Perfil del aroma en el aceite esencial de cáscara de naranja.



Experimentales. (Moposita D / Núñez D, 2012)

d) Aceptabilidad

Permite medir además del grado de preferencia, la actitud del panelista o catador hacia un producto alimenticio, es decir se le pregunta al consumidor si estaría dispuesto a adquirirlo y por ende su gusto o disgusto frente al producto catado. (Carpenter, 2002)

Tabla 20. Análisis de varianza en la aceptabilidad del aceite esencial de cáscara de naranja.

F V	GL	SC	CM	Razón-F	Probabilidad
TRATAMIENTOS	3	0,00002	0,0000066667	0,00	1,0000NS
CATADORES	9	9,3656	1,04062	6,02	0,0001**
ERROR RESIDUAL	27	4,67018	0,17297		
TOTAL	39	14,0358			
\bar{X}		3,90			
CV%		10,66			

Experimentales. (Moposita D / Núñez D, 2012)

NS = Diferencia no significativa

** = Diferencia altamente significativa

En la Tabla 20, del Análisis de varianza en aceptabilidad del aceite esencial de cáscara de naranja, se aprecia que existe diferencia no significativa en los tratamientos, mientras que en los catadores presentan diferencia altamente significativa, se demuestra que para cada uno de los catadores los tratamientos son diferentes, demostrándose que cada uno de los catadores tienen criterio personal diferente. (Carpenter, 2002)

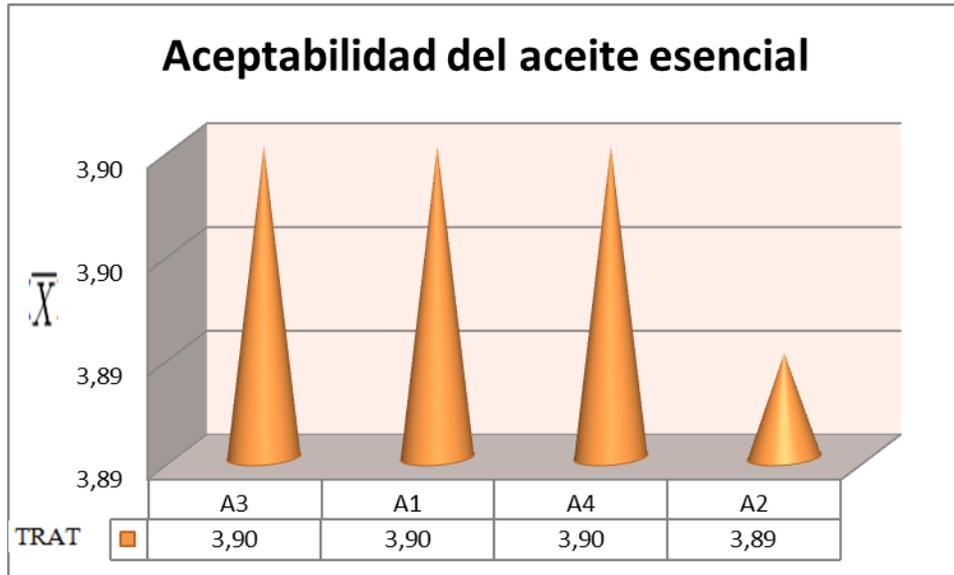
Tabla 21. Rangos ordenados de la aceptabilidad en aceite esencial de cáscara de naranja.

Trat.	Rép.	\bar{X}	Grupos Homogéneos
A3	10	3,90	A
A1	10	3,90	A
A4	10	3,90	A
A2	10	3,89	A

Experimentales. (Moposita D / Núñez D, 2012)

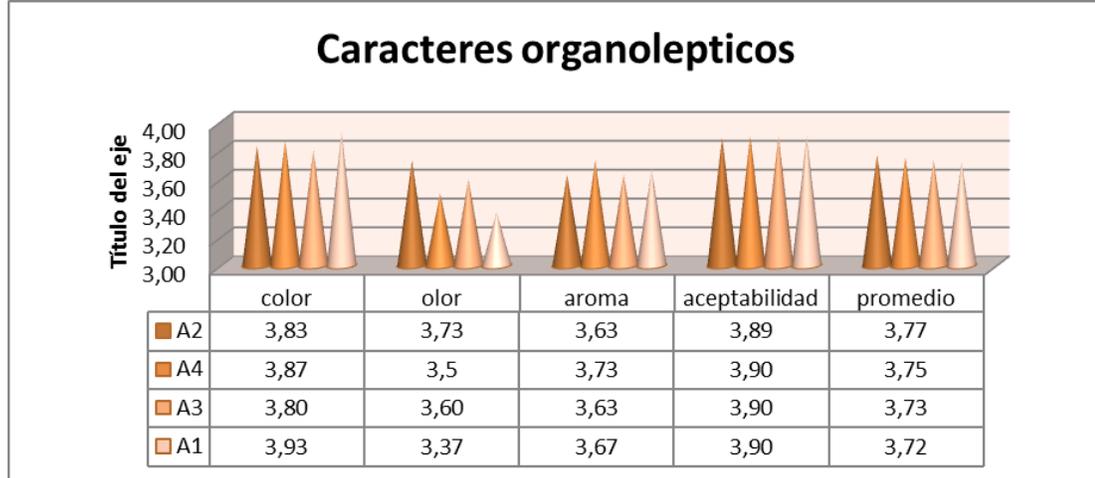
En la tabla 21, de rangos ordenados de aceptabilidad en el aceite esencial de cáscara de naranja, se aprecia un solo grupo homogéneo, pero numéricamente los catadores califican a los tratamientos; A3 (0,5% de bicarbonato de sodio), A1 (0% de bicarbonato de sodio) y A4 (0,7% de bicarbonato de sodio) como superior con 3,90 que corresponde a aceptable, deduciéndose también que las concentraciones de bicarbonato de sodio no influyen en la aceptabilidad del aceite esencial, ver gráfico 16.

Gráfico16. Perfil de la aceptabilidad en el aceite esencial de cáscara de naranja



Experimentales. (Moposita D / Núñez D, 2012)

Gráfico 17. Resumen de los caracteres organolépticos, en el aceite esencial de cáscara de naranja.



Experimentales. (Moposita D / Núñez D, 2012)

En el resumen de los caracteres organolépticos del aceite esencial de cáscara de naranja que se muestra en el gráfico 17, se aprecia el promedio general, el cual numéricamente evidencia como mejor al tratamiento A2 (0,3% de bicarbonato de sodio) con 3,77.

4.3 ANÁLISIS REALIZADOS EN LA HARINA.

4.3.1 Humedad.

Todos los alimentos, cualquiera que sea el método de industrialización a que hayan sido sometidos, contienen agua en mayor o menor proporción. El contenido de humedad varía entre un 60 y un 95% en los alimentos naturales.

Tabla 22: Análisis de humedad en la harina de cáscara de naranja.

Tratamiento	Resultado (%)
A1	17,3
A2	17,4
A3	17,4
A4	17,6

Experimentales. (Moposita D / Núñez D, 2012)

En la tabla 22, del análisis de humedad en cáscara de naranja se aprecia que en el tratamiento A4 (0,7% de bicarbonato de sodio) es de 17,6%, seguido por los tratamientos A2 (0,3% de bicarbonato de sodio) y A3 (0,5%) con 17,4%; deduciéndose que a mayor concentración de bicarbonato de sodio mayor contenido de humedad en la harina; basándonos en la norma mexicana NMX-F-007-1982, la humedad máxima de una harina para panificación no debe ser superior al 14%, lo que nos indica que la harina obtenida no es apta en panificación, pudiendo utilizarse en repostería, como saborizante, productos balanceados entre otros.

4.3.2 Cenizas

Las cenizas de un alimento son un término analítico equivalente al residuo inorgánico que queda después de calcinar la materia orgánica.

Tabla 23: Análisis de cenizas en la harina de cáscara de naranja.

Tratamiento	Resultado (%)
A1	2,82
A3	4,60
A2	5,07
A4	6,17

Experimentales. (Moposita D / Núñez D, 2012)

En la tabla 23, se observa los resultados de análisis de cenizas en la harina de cáscara de naranja, donde evidenciamos que el tratamiento A1 correspondiente a (0% bicarbonato de sodio) posee menor porcentaje de cenizas con 2,82%, seguido por el tratamiento A3 (0,5% bicarbonato de sodio), deduciéndose que el bicarbonato de sodio se concentra en las moléculas de la cáscara de naranja, por ello la presencia de sólidos en la muestra, basándonos en la norma mexicana NMX-F-007-1982, donde el contenido de cenizas es de 0,55 al 1% dependiendo su uso, esto indica que la harina obtenida a partir de la cáscara de naranja no es apta para panificación, pero se le puede utilizar en repostería, como saborizante, productos balanceados y como abono orgánico.

4.3.3 pH

El pH (potencial de hidrógeno) es una medida de acidez o alcalinidad de una disolución. El pH indica la concentración de iones de hidrogeno presentes en determinadas sustancias.

Tabla 24: Análisis de pH en la harina de cáscara de naranja.

Tratamiento	Resultado
A1	4,50
A2	5,20
A3	5,30
A4	5,50

Experimentales. (Moposita D / Núñez D, 2012)

En el análisis de pH realizado a los tratamientos de harina de cáscara de naranja de la tabla 24, se aprecia que el tratamiento A4 que corresponde a (0,7% de bicarbonato de sodio), posee mayor pH con 5,50, seguido por el tratamiento A3 (0,5% de bicarbonato de sodio) con 5,30; demostrándose que a mayor concentración de bicarbonato de sodio menor acidez de la muestra, para el efecto nos basamos en la norma (INEN 526 – 1980 – 12) manifestando el pH óptimo de la harina de cáscara de naranja debe ser de 4 -6.

4.3.4 Acidez titulable

La acidez titulable es una medida del contenido de ácidos grasos libres en una muestra. Su cálculo se basa en la masa molar de un ácido graso o una mezcla de ácidos grasos según la norma mexicana NMX-F-101-1987.

Tabla 25: Análisis de acidez titulable en la harina de cáscara de naranja.

Tratamiento	Resultado
A4	0,22
A3	0,30
A2	0,35
A1	0,64

Experimentales. (Moposita D / Núñez D, 2012)

Analizando la tabla 25 de los resultados de acidez titulable en la harina de cáscara de naranja, se aprecia que el tratamiento A1 (0% bicarbonato de sodio) posee mayor acidez, y que en los tratamientos disminuye a medida que se incrementa la concentración de bicarbonato, debiéndose a la acción oxidante del bicarbonato, basándonos en la ley RTCR 14: 1958, la acidez máxima para harina de panificación no debe ser superior al 0,25%, concluyendo que el tratamiento A4 es apta para uso en panificación.

4.3.5 Microbiología

El análisis microbiológico de alimentos es una inspección que permite valorar la carga microbiana presente en un analito.

Tabla 26: Análisis microbiológicos en la harina de cáscara de naranja.

Tratamiento	Resultado (%)	
	E-coli	Mohos/levaduras
A1	Ausencia	1
A2	Ausencia	2
A3	Ausencia	6
A4	Ausencia	8

Experimentales. (Moposita D / Núñez D, 2012)

Analizando la tabla 26 de los resultados microbiológicos en la harina de cáscara de naranja, se aprecia que en E-coli presenta ausencia en todos los tratamientos, mientras en mohos y levaduras el tratamiento A4 (0,7% de bicarbonato de sodio) presenta mayor número de UFC / gr de muestra, con 8, seguido por el A3 (0,5% de bicarbonato de sodio) con 6 UFC/gr, luego por el A2 (0,3% de bicarbonato de sodio), y finalmente el A1 (0% de bicarbonato de sodio) con 1 UFC / gr, según la norma ISO 7251:2005y ISO 7954, en E-coli debe ser ausente, mientras que en mohos y levaduras permite un máximo de 10UFC /gr de muestra, demostrando que la harina obtenida se encuentra en los parámetros permitidos por la norma antes mencionada. De esta forma podemos concluir, que la humedad presente en la harina influyo de manera significativa para la proliferación de mohos y levaduras.

4.3.6 Análisis organoléptico de la harina de cáscara de naranja

a) Color

El color es la cualidad de la sensación provocada en la retina del observador que resulta de la interacción de la luz en la retina y un componente físico que depende de determinadas características de la luz. (Sancho, 2002).

Tabla 27: Análisis de varianza del color en la harina de cáscara de naranja.

F V	GL	SC	CM	Razón-F	Probabilidad
TRATAMIENTOS	3	0,208527	0,0695092	0,40	0,7548NS
CATADORES	9	6,40685	0,711872	4,09	0,0021**
ERROR RESIDUAL	27	4,7034	0,1742		
TOTAL	39	11,3188			
\bar{X}		3,14			
CV%		13,13			

Experimentales. (Moposita D / Núñez D, 2012)

** = *Diferencia altamente significativa*

NS = *Diferencia no significativa*

En la tabla 27, del Análisis de varianza del color en la harina de cáscara de naranja, se aprecia que en los tratamientos existe alta diferencia significativa, mientras que en los catadores se observa una diferencia altamente significativa, deduciéndose que para cada catador el color de los tratamientos es diferente.

Tabla 28. Rangos ordenados del color en la harina de cáscara de naranja.

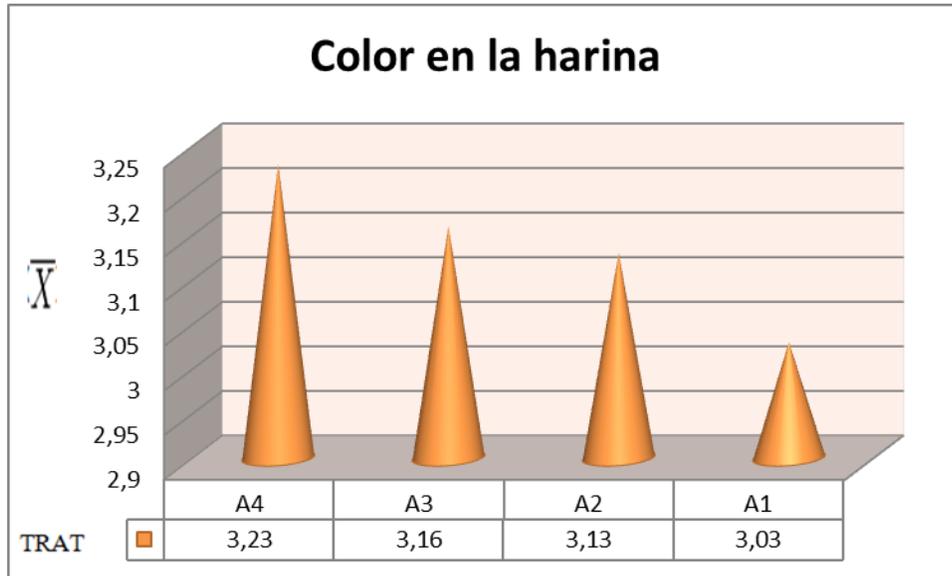
Trat.	Rép.	\bar{X}	Grupos Homogéneos
A4	10	3,23	A
A3	10	3,16	A
A2	10	3,13	A
A1	10	3,03	A

Experimentales. (Moposita D / Núñez D, 2012)

En la tabla 28, de los Rangos ordenados del color en la harina de cáscara de naranja, se aprecia un grupo homogéneo, pero numéricamente los catadores califican como mejor al tratamiento A4 (0,7% bicarbonato de sodio) con una calificación de 3,23 que corresponde a claro según la escala de medición Sancho, 2.002; seguido por el tratamiento A3 (0,5% de bicarbonato de sodio) con 3,16, por lo que se demuestra que las concentraciones de bicarbonato de sodio impide que las enzimas actúen, de esta manera evitamos el emparedamiento enzimático, esta es la razón por la cual el

tratamiento A4 que tiene mayor cantidad de bicarbonato de sodio se asemeja al color característico de la cascara de naranja como se observa en el gráfico 18.

Gráfico 18: Perfil del color en la harina de cáscara de naranja.



Experimentales. (Moposita D / Núñez D, 2012)

b) Olor

Es la percepción por medio de la nariz de sustancias volátiles liberadas en los alimentos; dicha propiedad en la mayoría de las sustancias olorosas es diferente para cada una. En la evaluación de olor es muy importante que no haya contaminación de un olor con otro, por tanto los alimentos que van a ser evaluados deberán mantenerse en recipientes herméticamente cerrados. (Sancho, 2002)

Tabla 29: Análisis de varianza del olor en la harina de cáscara de naranja.

F V	GL	SC	CM	Razón-F	Probabilidad
TRATAMIENTOS	3	0,516247	0,172083	2,10	0,1242NS
CATADORES	9	2,6655	0,296167	3,61	0,0046**
ERROR RESIDUAL	27	2,21673	0,082101		
TOTAL	39	5,39848			
\bar{X}		3,27			
CV%		8,76			

Experimentales. (Moposita D / Núñez D, 2012)

NS = Diferencia no significativa

** = Diferencia altamente significativa

En el Análisis de varianza del olor en la harina de cáscara de naranja que presenta la tabla 29, se aprecia en los tratamientos existe diferencia no significativa, mientras que en los catadores se observa una diferencia altamente significativa, demostrándose que para cada catador el olor de los tratamientos son diferentes, a pesar que este aceite esencial es extraído de una misma fruta cítrica y el reactivo usado para su extracción es alcalina.

Tabla 30. Rangos ordenados del olor en la harina de cáscara de naranja.

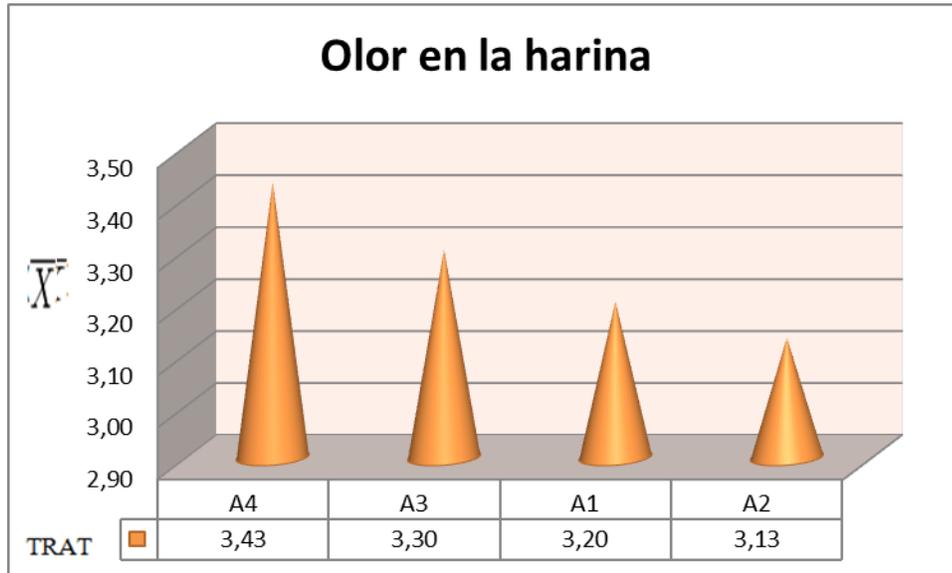
Trat.	Rép.	\bar{X}	Grupos Homogéneos
A4	10	3,43	A
A3	10	3,30	A
A1	10	3,20	A
A2	10	3,13	A

Experimentales. (Moposita D / Núñez D, 2012)

En los Rangos ordenados de olor en la harina de cáscara de naranja que muestra la tabla 30, se aprecia un solo grupo homogéneo, pero numéricamente los catadores califican como mejor al tratamiento A4 (0,7% bicarbonato de sodio) con una calificación de 3,43 que corresponde a agradable según la escala de medición Sancho, 2.002, seguido por el tratamiento A3 (0,5% de bicarbonato de sodio) con 3,30, por lo

que se demuestra que las concentraciones de bicarbonato de sodio no influyen en el olor, tomando en cuenta que este reactivo es inodoro y por su concentración no es significativo en lo que corresponde al olor, como se observa en el gráfico 19.

Gráfico 19. Perfil del olor en la harina de cáscara de naranja



Experimentales. (Moposita D / Núñez D, 2012)

c) Aroma

Consiste en la percepción de las sustancias olorosas y aromáticas de un alimento después de haberse puesto en la boca. Dichas sustancias se disuelven en la mucosa del paladar y la faringe, llegando a través del Eustaquio a los centros sensores del olfato. El aroma es el principal componente del sabor de los alimentos, es por eso que cuando tenemos gripe o resfriado el aroma no es detectado y algunos alimentos sabrán a lo mismo. El uso y abuso del tabaco, drogas o alimentos picantes y muy condimentados, insensibilizan la boca y por ende la detección de aromas y sabores. (Sancho, 2002)

Tabla 31. Análisis de varianza del aroma en la harina de cáscara de naranja.

F V	GL	SC	CM	Razón-F	Probabilidad
TRATAMIENTOS	3	0,748867	0,249622	1,94	0,1473NS
CATADORES	9	4,13476	0,459418	3,57	0,0049**
ERROR RESIDUAL	27	3,47861	0,128837		
TOTAL	39	8,36224			
—		3,26			
CV%		11,00			

Experimentales. (Moposita D / Núñez D, 2012)

NS = *Diferencia no significativa*

**=*Diferencia altamente significativa*

El Análisis de varianza del aroma en la harina de cáscara de naranja que presenta la tabla 31, se aprecia que en los tratamientos existe diferencia no significativa, pero los catadores estadísticamente manifiestan una diferencia altamente significativa, demostrándose que para cada catador los tratamientos son diferentes.

Tabla 32. Rangos ordenados del aroma en la harina de cáscara de naranja

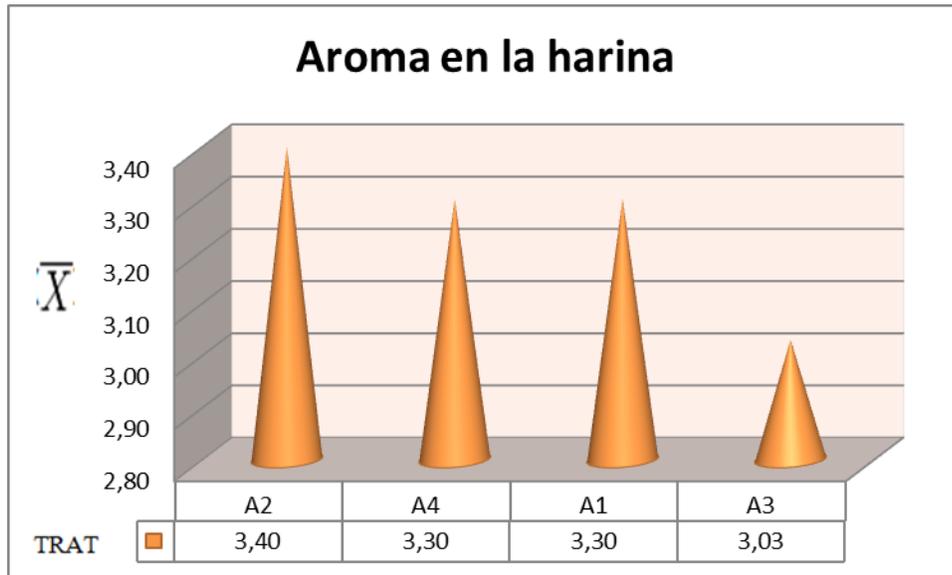
Trat.	Rép.	\bar{X}	Grupos Homogéneos
A4	10	3,40	A
A3	10	3,30	A
A1	10	3,30	A
A2	10	3,03	A

Experimentales. (Moposita D / Núñez D, 2012)

En la tabla 32, de los Rangos ordenados del aroma en la harina de cáscara de naranja, se aprecia un grupo homogéneo, pero numéricamente los catadores califican como mejor al tratamiento A4 (0,7% bicarbonato de sodio) con una calificación de 3,40 que corresponde a poco agradable según la escala de medición Sancho, 2002; seguido por el tratamiento A3 (0,5% de bicarbonato de sodio) con 3,30, deduciéndose que las concentraciones de bicarbonato de sodio no influyen en el aroma, ya que el bicarbonato de sodio es una sustancia inodora y no interfiere en la caracterización de

la harina y su olor característico de la fruta que esta es extraída, como se observa en el gráfico 20. (Gessner, 2006)

Gráfico 20. Perfil del aroma en la harina de cáscara de naranja.



Experimentales. (Moposita D / Núñez D, 2012)

d) Textura

Es la propiedad de los alimentos apreciada por los sentidos del tacto, la vista y el oído; se manifiesta cuando el alimento sufre una deformación. La textura no puede ser percibida si el alimento no ha sido deformado; es decir, por medio del tacto podemos decir, por ejemplo si el alimento está duro o blando al hacer presión sobre él. Al morderse una fruta, más atributos de textura empezarán a manifestarse como el crujido, detectado por el oído y al masticarse, el contacto de la parte interna con las mejillas, así como con la lengua, las encías y el paladar nos permitirá decir de la fruta si presenta fibrosidad, granulosidad, etc. (Sancho, 2002)

Tabla 33. Análisis de varianza de la textura en la harina de cáscara de naranja.

F V	GI	SC	CM	Razón-F	Probabilidad
TRATAMIENTOS	3	2,89303	0,964342	11,22	0,0001**
CATADORES	9	6,10307	0,678119	7,89	0,0000**
ERROR RESIDUAL	27	2,3216	0,0859851		
TOTAL	39	11,3177			
\bar{X}		3,35			
CV%		8,75			

Experimentales. (Moposita D / Núñez D, 2012)

** = *Diferencia altamente significativa*

En la tabla 33, del Análisis de varianza de textura en la harina de cáscara de naranja, se observa que en los tratamientos y en los catadores presenta alta diferencia significativa, demostrándose que para cada catador los tratamientos son diferentes, ya que la molturación no fue realizada por un molino industrial sino de forma casera.

Tabla 34. Rangos ordenados de la textura en la harina de cáscara de naranja

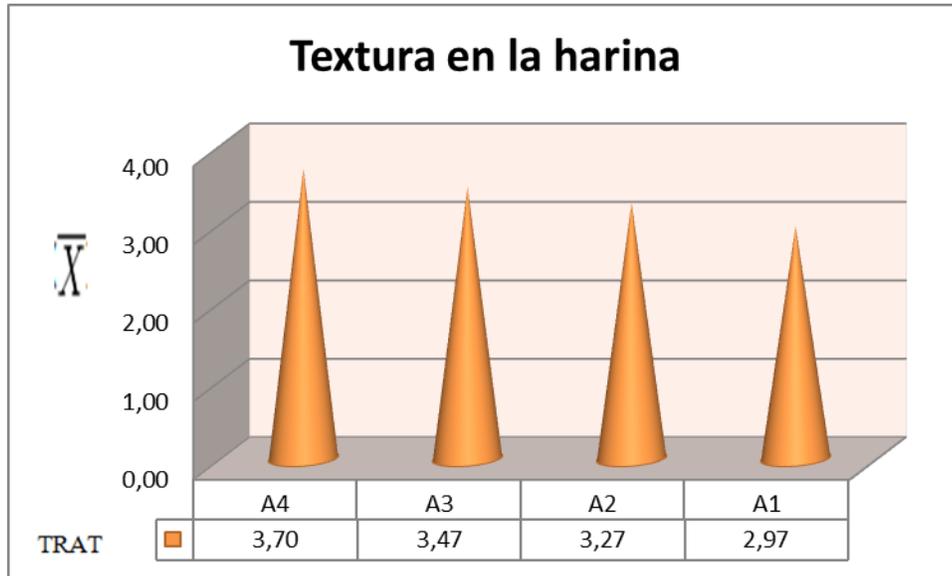
Trat.	Rép.	\bar{X}	Grupos Homogéneos
A4	10	3,70	A
A3	10	3,47	AB
A2	10	3,27	AB
A1	10	2,97	B

Experimentales. (Moposita D / Núñez D, 2012)

En los Rangos ordenados de la textura en la harina de cáscara de naranja que muestra la tabla 34, observamos tres grupos homogéneos, numéricamente los catadores califican como mejor al tratamiento A4 (0,7% bicarbonato de sodio) con una calificación de 3,70 que corresponde a suave según la escala de medición Sancho, 2002; seguido por el tratamiento A3 (0,5% de bicarbonato de sodio) con 3,47, este

hecho se llevó a cabo ya que la técnica aplicada para la molturación fue artesanal y no existió un control de granulometría; como se observa en el gráfico 25.

Gráfico 21. Perfil de la textura en la harina de cáscara de naranja.



Experimentales. (Moposita D / Núñez D, 2012)

d) Aceptabilidad

Permite medir además del grado de preferencia, la actitud del panelista o catador hacia un producto alimenticio, es decir se le pregunta al consumidor si estaría dispuesto a adquirirlo y por ende su gusto o disgusto frente al producto catado. (Carpenter, 2002)

Tabla 35: Análisis de varianza de la aceptabilidad en la harina de cáscara de naranja.

F V	GI	SC	CM	Razón-F	Probabilidad
TRATAMIENTOS	3	0,9668	0,322267	2,23	0,1074NS
CATADORES	9	1,24556	0,138396	0,96	0,4940NS
ERROR RESIDUAL	27	3,899	0,144407		
TOTAL	39	6,11136			
\bar{X}		3,66			
CV%		10,38			

Experimentales. (Moposita D / Núñez D, 2012)

NS = Diferencia no significativa

En el Análisis de varianza de la aceptabilidad en la harina de cáscara de naranja que presenta la tabla 35, se aprecia que en los tratamientos y catadores no existe diferencia significativa, notándose que para los catadores todos los tratamientos son iguales.

Tabla 36. Rangos ordenados de la aceptabilidad en la harina de cáscara de naranja

Trat.	Rép.	\bar{X}	Grupos Homogéneos
A4	10	3,87	A
A3	10	3,70	A
A2	10	3,63	A
A1	10	3,43	A

Experimentales. (Moposita D / Núñez D, 2012)

En la Tabla 36 de los Rangos ordenados de aceptabilidad en la harina de cáscara de naranja, se aprecia que los tratamientos no presentan diferencia significativa, pero numéricamente los catadores califican como mejor al tratamiento A4 (0,7% bicarbonato de sodio) con una calificación de 3,87 que corresponde a aceptable según la escala de medición Sancho, 2002; por lo que deduce que las concentraciones de bicarbonato no influyen en la aceptabilidad de la harina, sabiendo que las características del bicarbonato de sodio es un polvo blanco, cristalino, inodoro y

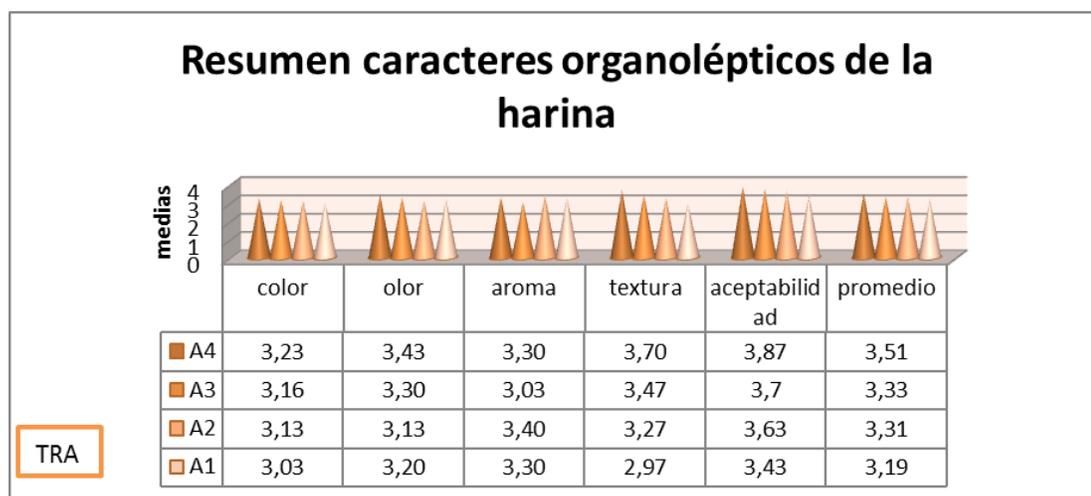
soluble en agua y esta no difiere en la harina de cáscara de naranja, ver gráfico 22. (Gessner, 2006)

Gráfico 22: Perfil de la aceptabilidad en la harina de cáscara de naranja.



Experimentales. (Moposita D / Núñez D, 2012)

Gráfico 23: Resumen de los caracteres organolépticos de la harina de cáscara de naranja.



Experimentales. (Moposita D / Núñez D, 2012)

En el gráfico 23, del resumen de los caracteres organolépticos de la harina de cáscara de naranja, se aprecia los promedios generales, en los cuales el tratamiento A4 0,7% de bicarbonato de sodio es mayor con 3,51.

4.4. ANÁLISIS REALIZADOS EN EL MEJOR TRATAMIENTO.

Para determinar el mejor tratamiento, hemos considerado de acuerdo al volumen obtenido del aceite esencial a partir de la cáscara de naranja, el mismo que fue el A3 (0,5% bicarbonato de sodio), con un volumen de 7.60 ml de aceite esencial.

4.4.1. Análisis cromatográfico

El análisis cromatográfico de gases se utilizó para identificar los componentes principales en el aceite esencial de cáscara de naranja, para el efecto nos regimos a la tesis del Ing. Marcelo Soria Viteri Marzo 1981, utilizando el cromatógrafo varian 8.500 con detector de ionización de llama.

4.4.1.1. Determinación de algunos componentes para cromatografía de gases.

La determinación de la composición cualitativa y cuantitativa del aceite se efectuó por cromatografía de gases, empleando para el efecto un cromatógrafo de gases equipado con detector de ionización de llama.

Para la identificación de los compuestos, se procedió en primer lugar, a buscar las condiciones para una óptima separación y luego se inyectaron una serie de estándares en idénticas condiciones, comparándose después los tiempos de retención con los de la muestra problema. En el análisis de cromatografía que se observa en el gráfico 24, se identifica 18 componentes separados, de los cuales se logró identificar a 5 y que constan a continuación:

α -Pino

β -Pino

Limoneno

β -Cimeno

Linalol

Además de estos componentes se tiene los siguientes, cuya presencia no se pudo confirmar:

8 -Terpineno

Metilantranilato

Benzaldehído

Citral

Acetato de Linalilo

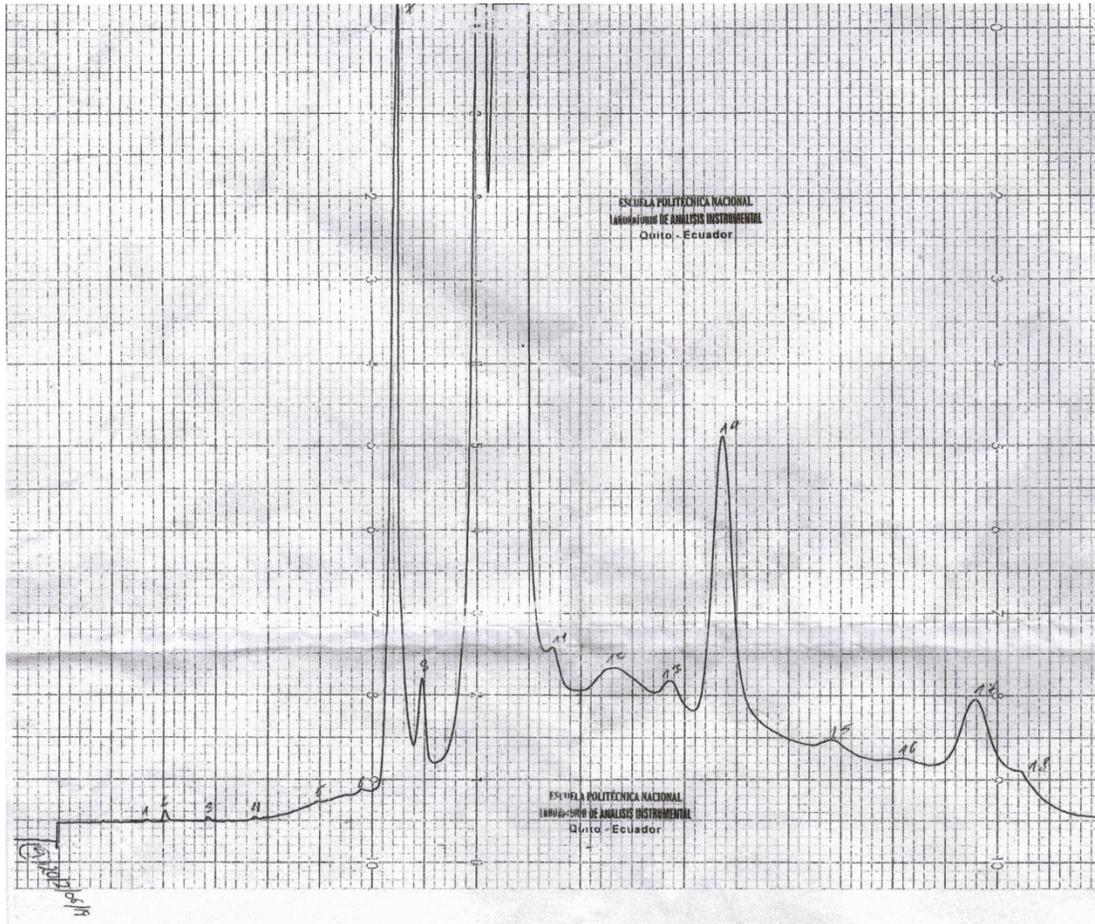
(El protocolo para este análisis se encuentra detallado en la Tesis Marcelo Soria Viteri Marzo 1981, anexo 6)

Tabla 37: Identificación de los componentes del aceite de naranja por cromatografía de gases.

Nº PICO	SENSIBILIDAD	PORCENTAJE	COMPUESTO
1	64×10^{-11}	2,10	-----
2	''''''	2,00	-----
3	''''''	2,00	-----
4	''''''	2,00	-----
5	''''''	2,00	-----
6	''''''	2,00	-----
7	256×10^{-11}	89,00	α-Pineno
8	''''''	0,07	-----
9	512×10^{-10}	89,00	β-Pineno
10	''''''	89,00	Limoneno
11	''''''	36,00	-----
12	''''''	35,00	-----
13	''''''	32,00	-----
14	64×10^{-11}	52,00	Cimeno
15	''''''	15,00	-----
16	''''''	14,00	-----
17	''''''	24,00	Linalol
18	''''''	12,00	-----

Fuente: Laboratorio Escuela Politécnica Nacional (2012).

Gráfico 24. Cromatografía en el aceite esencial de cáscara de naranja.



Fuente: Laboratorio Escuela Politécnica Nacional (2012)

Nuestro país Ecuador no cuenta con estándares para aceite esencial a partir de cáscara de naranja, es la razón por el cual hemos tomado como referencia la tesis realizada por Marcelo Soria Viteri Marzo 1981 (Extracción de los aceites esenciales de la mandarina), donde se identificaron los siguientes componentes principales: 77,60%, limoneno, 11,20%, p-cimeno, menores al 10% pineno1, pineno2 y linalol. Haciendo comparación con nuestra investigación (tabla 37), encontrándose los mismos componentes con ligera diferencia numérica en algunos de ellos, se analizó al mejor tratamiento correspondiente A3 (0,5% de bicarbonato de sodio) en el análisis cromatografico de gases. (Ver anexo 6)

4.4. 2. Análisis económico en el mejor tratamiento.

Tabla 38: Análisis de relación costo / beneficio en el mejor tratamiento.

ITEM	DESCRIPCIÓN	Cantidad	C/U	C/T
1	Materia prima (cáscara de naranja)	1kg	0,15	0.15
2	Bicarbonato de sodio	5g	0,01	0.05
3	Agua	1.5lt	0,33	0.50
4	Energía	4KW	0,15	0.60
5	Envase	1	0,50	0.50
	Imprevistos (10% "sub total")			0,18
	SUB-TOTAL			1,80
	TOTAL EGRESOS			1,98
	PVP (precio de venta al público)			4,00
	RCB(relación costo beneficio)			\$ 2,02

Experimentales. (Moposita D / Núñez D, 2012)

En el análisis económico relación costo beneficio del mejor tratamiento que se aprecia en la tabla 38, se puede identificar que se tiene un beneficio de \$ 2,02, lo que se considera que por cada dólar invertido se obtiene una rentabilidad de \$1,20 que corresponde a la siguiente expresión matemática:

$$R = (1 \times RCB) / \text{Total egresos}$$

V. VERIFICACIÓN DE HIPÓTESIS.

5.1. HIPÓTESIS.

La utilización de Bicarbonato de Sodio para mejorar el rendimiento en la obtención de aceite esencial influirá en las características físicas y químicas del producto

5.1.1. Verificación de hipótesis para el rendimiento en el aceite de cáscara de naranja.

Para la verificación de la hipótesis, se realizó una comparación entre los valores Razón-F del volumen del aceite esencial con el valor de F tabulados en tablas de Fisher, para poder aceptar la hipótesis nula y si se rechaza, aceptar la hipótesis alternativa.

Tabla 49: Valores de Fisher comparativos del diseño de volumen para el rendimiento en el aceite esencial de cáscara de naranja.

Determinación	Razón-F	Valor F Tablas
TRATAMIENTOS (Humedad)	13,93	3,59
TRATAMIENTOS (Densidad)	20,00	3,59
TRATAMIENTOS (Acidez)	2346,00	3,59

Experimentales. (Moposita D / Núñez D, 2012)

En la tabla 39, se presenta a un nivel de confianza del 95%, que existe diferencia alta significativa para los tratamientos de la humedad del aceite esencial, densidad y acidez, de esta manera se acepta la hipótesis alterna (H_i) y se rechaza la hipótesis nula (H_o), debido a que el valor de Razón-F es mayor al valor de F de tablas. Por ello se acepta la hipótesis alterna, según la siguiente expresión matemática:

$$\text{Hipótesis alternativa: } H_1 = T_1 \neq T_2 \neq T_3 \neq T_4.$$

En la cual se pone en manifiesto que mediante el arrastre de vapor con la adición de bicarbonato de sodio a diferentes concentraciones, influyen directamente en las condiciones físicas y químicas del aceite esencial. Por ser un agente hidrolizador, rompe los tejidos vegetales abriendo las cadenas en las que se encuentran encapsuladas el aceite esencial, facilitando la extracción de la misma por medio del calor con la técnica del arrastre con vapor.

VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.

6.1 CONCLUSIONES.

Del presente trabajo de investigación se puede expresar las siguientes conclusiones.

- Determinamos el mejor tratamiento, luego de realizar el proceso de destilación por arrastre de vapor considerando el volumen obtenido A3(0,5% de bicarbonato de sodio) con 7,60 ml de aceite esencial, con un tiempo de maceración en solución de bicarbonato de sodio durante 48 horas, por ende la concentración de bicarbonato de sodio ayuda a la extracción del aceite esencial de los tejidos vegetales de la cáscara de naranja.
- Se realizó el análisis físico, químico de cada uno de los tratamientos por unidad experimental, dichos análisis fueron: índice de madurez donde se calculó el porcentaje de jugo de naranja, los datos obtenidos fueron 44,55% en relación al peso. Basándonos en la norma (NMX-FF012-1982), la cual nos indica que el contenido de jugo de naranja en relación al peso no debe de ser inferior al 40%, concluyendo que la materia prima para esta investigación está acorde con la normativa establecida.
- En la densidad, el tratamiento A2 (0,3% de bicarbonato de sodio) fue el mejor con una densidad 0,80 g/cc, de esta manera podemos concluir que el A2 es el mejor tratamiento, éste análisis se realizó basando en la norma mexicana NMX-F-063-1978 donde la densidad del aceite esencial debe ser de 0,846 g/cc, por lo que se manifiesta que el aceite esencial obtenido es mejor al estándar de calidad establecido por la norma. En acidez ha disminuido conforme se concentró el bicarbonato de sodio, en vista que el tratamiento A1 (0% de bicarbonato de sodio) tuvo 0,53 y el A4 (0,5% de bicarbonato de sodio) 0,20, para el desarrollo de este análisis nos basamos en la norma

mexicana NMX-F-101-1987. Humedad, en el cual se obtuvo valores de 28.33% en el tratamiento A2 (0,3% de bicarbonato de sodio), seguido por el tratamiento A3 (0,5% de bicarbonato de sodio) con 29.00%; resultando en este análisis como mejor tratamiento el A2, para este análisis nos basamos en la norma (NMX-F-063-1978).

- En el análisis de índice de refracción no existió diferencia significativa, en el tratamiento A1 se obtuvo el valor de 1,4721 (alto) y A4 con un valor de 1,4703 (bajo), pero de forma numérica la concentración de bicarbonato de sodio influye en la refracción de la luz a través de la muestra, para el desarrollo de este análisis nos basamos en la norma (NMX-F-074-S-1981), donde manifiesta que el óptimo es de 1,4754, por lo que se concluye que el aceite esencial obtenido en la investigación se encuentra en los parámetros que rige la norma. Se realizó el análisis de cromatografía de gases en el aceite esencial al mejor tratamiento, considerando el volumen obtenido del producto. En nuestra investigación corresponde al A3 como el mejor tratamiento, donde hemos logrado identificar 5 compuestos principales con el 89% correspondiente al limoneno y los siguientes: pineno1, pineno2, y en otras concentraciones cimeno y linalol, basándonos en la tesis de comparación del Ing. Marcelo Soria Viteri año 1.981 (Extracción de los aceites esenciales de la mandarina), donde se pudo observar los picos cromatograficos de gases acorde a nuestra investigación.
- Se realizó el análisis de rendimiento a cada unidad experimental basándonos en el volumen de aceite esencial obtenido donde A3 (0,5% de bicarbonato de sodio) presenta un volumen extraído de aceite esencial de 7,60ml seguido por el A4 (0,7% de bicarbonato de sodio) presenta un volumen extraído de aceite esencial de 7,25 ml, con estos datos obtenidos se puede indicar que la concentración de bicarbonato de sodio óptimo para la extracción del aceite esencial es 0,5% correspondiente al A3.

- Se efectuó una evaluación sensorial a las 4 unidades experimentales, harina y aceite esencial de cáscara de naranja. En la harina se determinó que no existió diferencia significativa entre los tratamientos, determinando de forma numérica el A4 con 3,51% de promedio entre las características organolépticas evaluadas (color, olor, aroma, textura y aceptabilidad) basándonos en la escala de calificaciones Sancho, 2002 (1 al 5) se logró determinar el producto como bueno. En el aceite esencial se determinó que no existió diferencia significativa entre los tratamientos, determinando de forma numérica el A2 con 3,77 % de promedio entre las características organolépticas evaluadas (color, olor, aroma, y aceptabilidad) basándonos en la escala de calificaciones Sancho, 2002 (1 al 5) determinándose el producto cómo bueno.
- En las harinas obtenidas a partir del residuo de la destilación, se realizaron los siguientes análisis: Humedad, para dicho efecto nos basamos en la NMX-F-007-1982 donde la humedad de harina para panificación no debe ser superior al 14%, en nuestros análisis realizados superan este rango, con el A4 17,6 % (alto) y A1 17,3 % (bajo). Identificando que la harina obtenida a partir del pastel residual de la destilación no es apta para panificación, pudiendo utilizarse como adicional en repostería y abono orgánico. Cenizas, para este análisis nos basamos en la norma mexicana NMX-F-007-1982 donde el porcentaje de cenizas mínimo es de 0,5%, máximo 1%, en la investigación realizada supera el rango establecida por esta norma, el A4 6,17 % (alto) y el A1 2,82 % (bajo). Identificando que la harina obtenida en nuestra investigación contiene un porcentaje de fibra alta. pH, para este análisis nos basamos en la norma (INEN 526-1980-12) donde nos indica el rango óptimo de pH en la harina para panificación es de 4 a 6, en nuestra investigación hemos determinado que, el A4 con un pH de 5,50(alto) y A1 con un pH de 4,5(bajo), finalizando que de acuerdo al pH presente en la harina es óptimo para panificación. Acidez titulable, para este estudio nos guiamos en la ley

RTCR14:1958, donde manifiesta que la acidez máxima para harina de panificación es de 0,25%, en nuestra investigación el A1 corresponde a 0,64 (alto) y el A4 corresponde al 0,22 (bajo): demostrando que la harina obtenida en el tratamiento A4 es apto para uso en panificación.

- En los análisis microbiológicos en E-Coli todos los tratamientos presentaron ausencia total, según la norma ISO 7954, en E-Coli debe ser ausente, por esto concluimos manifestando que cada una de las etapas durante todo el proceso se tuvo asepsia total. En mohos y levaduras, el tratamiento A1 presenta 1UFC/g, en el A4 presenta 8UFC/g conociéndose que en la norma NTE INEN 2074 permite un máximo de 10UFC por gramo de muestra, como se pudo observar los mohos y levaduras aparecieron de acuerdo a la humedad de la harina.
- Finalmente se concluye que en el análisis económico en el mejor tratamiento se obtiene un beneficio de 2,02 USD; notándose que por cada dólar invertido se tiene una rentabilidad de 1,019 USD.

6.2. RECOMENDACIONES.

- La tecnología seguida en el presente trabajo es sencilla, pudiéndose aplicar a procesos industriales de carácter complementario en donde se trata de aprovechar los residuos de los frutos de la naranja, para extraer el aceite esencial.
- Aplicar bicarbonato de sodio como agente hidrolizador del tejido vegetal de la cáscara de naranja para facilitar la extracción del aceite esencial con un máximo de 0.5%, para evitar ebullición excesiva durante la destilación.
- Las cáscaras de naranja en maceración no deben ser sumergidas en la solución de bicarbonato de sodio por más de 48 horas, ya que el aceite esencial presente en ella se evapora.
- Se debe utilizar envases de vidrio de color ámbar de vidrio debido a que la esencia es fotosensible y puede perder sus características organolépticas.
- No se debe emplear envases plásticos, para almacenar el aceite esencial, debido a que esta interacción con los hidrocarburos, de los cuales están hechos los envases plásticos, les da nuevas características al aceite esencial no deseables.
- Almacenar la harina en un lugar seco, para evitar que la misma se hidrate, pues al ser hidrocopia absorbe la humedad del ambiente.

VII. RESUMEN Y SUMMARY.

7.1. RESUMEN.

En la ciudad de Guaranda, Sector Laguacoto 1, Universidad Estatal de Bolívar, Escuela de Ingeniería Agroindustrial Matriz se realizó la investigación que tuvo como objetivo la elaboración de aceite esencial a partir de la cáscara de naranja utilizando bicarbonato de sodio como ablandador del tejido vegetal, el diseño aplicado fue un diseño completamente al azar mono factorial con tres réplicas, dicha prueba permitió evaluar los resultados para verificar los diferentes niveles o porcentajes de bicarbonato de sodio e identificar de qué forma ayuda al rendimiento del producto final. A la materia prima se realizaron análisis de Índice de madurez obteniendo como resultado la cantidad de jugo promedio 44.55 %, lo que nos indica que estamos dentro de los parámetros establecidos que rige la norma

La mejor formulación para la obtención de aceite esencial a partir de la cáscara una vez concluido con los objetivos específicos fue: Tratamiento N°3 (0.5% de bicarbonato de sodio+ 1kg de cáscara de naranja + maceración por 48 horas).

En el aceite esencial a partir de cáscara de naranja los análisis físico químico al mejor tratamiento N° 3 (0.5% de bicarbonato de sodio+ 1kg de cáscara de naranja + maceración durante 48 horas), reportó los siguientes datos: densidad 0.81g/cc, acidez 0.28, humedad 29.0%, índice de refracción 1,4708.

Se realizó el análisis sensorial obteniendo como mejor tratamiento el N°3 (0.5% de bicarbonato de sodio+ 1kg de cáscara de naranja + maceración por 48 horas), reportó los siguientes datos: color 3.80, olor 3,60, aroma 3.63, aceptabilidad 3.90, catalogándose como buena.

En la harina a partir de cáscara de naranja los análisis bromatológicos y físico químico al mejor tratamiento N° 3 (0.5% de bicarbonato de sodio+ 1kg de cáscara de naranja + maceración por 48 horas), reportó los siguientes datos; cenizas 4.60%, humedad 17.4%, pH 5.30, acidez titulable 0.30, densidad 0.81g/cc, los análisis microbiológicos realizados al mejor tratamiento estuvieron dentro de los rangos establecidos, E. coli ausencia, mohos y levaduras 6 UFC/ g de muestra.

Se realizó el análisis sensorial a la harina obteniendo como mejor tratamiento el N°3 (0.5% de bicarbonato de sodio+ 1kg de cáscara de naranja + maceración durante 48 horas), reportó los siguientes datos: color 3.16, olor 3,30, aroma 3.03, textura 3.47, aceptabilidad 3.70, dando con un promedio de 3.33, calificándose como buena.

En el análisis Cromatográfico de gases al mejor tratamiento el N°3 (0.5% de bicarbonato de sodio+ 1kg de cáscara de naranja + maceración por 48 horas) se pudo identificar que el componente mayoritario presente en el aceite fue el Limoneno con 89.0%.

En el análisis económico de la relación costo beneficio del mejor tratamiento, se puede identificar que se tiene un beneficio de \$ 2,02, lo que se considera que por cada dólar invertido se obtiene una rentabilidad de \$1,019.

7.2. SUMMARY.

In Guaranda city , Laguacoto Sector 1, Bolivar State University, School of Agroindustrial Engineering, research was performed aimed at the development of essential oil from orange peel using bicarbonate as a softener of plant tissue, applied design was a completely randomized design with three replicates single factor, this test allowed us to evaluate the results to verify the different levels or percentages of sodium bicarbonate and help identify how the final product performance.

A raw material analyzes were performed maturity index which resulted in the average amount of juice 44.55%, which indicates that we are within the parameters governing the standard.

The best training for obtaining essential oil from the peel once completed with the specific objectives were:

Treatment No. 3 (0.5% sodium bicarbonate + 1kg + orange peel +maceration for 48 hours).In the essential oil from orange peel the physical and chemical analysis to the best treatment No. 3 (0.5% sodium bicarbonate + 1kg + orange peel maceration for 48 hours), reported the following: 0.81g/cc density, acidity 0.28, moisture 29.0%, 1.4708 refractive index.

Sensory analysis was performed by obtaining better treatment as No. 3 (0.5% sodium bicarbonate + 1kg + orange peel maceration for 48 hours), reported the following data: color 3.80, 3.60 odor, flavor 3.63, 3.90 acceptability, placing it as good category.

The flour from orange peel analyzes bromatological and physical chemist at the best treatment No. 3 (0.5% sodium bicarbonate + 1kg orange peel + maceration for 48 hours), reported the following data, ash 4.60%, moisture 17.4 %, pH 5.30, acidity 0.30, 0.52g/cc density, Microbiological analyzes were performed to better treatment within the established ranges, E. absence coli, yeast and molds 6 CFU / g of sample.

Sensory analysis was performed to flour getting better treatment as No. 3 (0.5% sodium bicarbonate + 1kg + orange peel maceration for 48 hours), reported the following data: color 3.16, 3.30 odor, flavor 03.03 , 3.47 texture, acceptability 3.70, giving an average of 3.33, placing it as good category.

In the gas chromatographic analysis to the best treatment No. 3 (0.5% sodium bicarbonate + 1kg + orange peel maceration for 48 hours) was identified that the major component present in the oil was limonene with 89.0%.

In the economic analysis of the cost benefit of better treatment, you can identify that you have a profit of \$ 2.02; it is considered that for every dollar spent you get a return of \$ 1.019.

BIBLIOGRAFÍA.

1. Ansari MA, Vasudevan P, Tandon M, Razdan RK. (2000) Larvicidal and mosquito repellent action of peppermint (*Menthapiperita*) oil. *Bioresour. Technol.* 71(3): 267-71.
2. Araujo M. Valencia C. (2002). “Extracción y estudio de los aceites esenciales del limón (*Citrus limonun*) y naranja (*Citrus cinensis*).” Tesis de grado. FCIAL – UTA. Ambato _ Ecuador. Pp 13 _ 18.
3. Atta AH, AlkofahiA (2003). Anti-nociceptive and anti-inflammatory effects of some Jordanian medicinal plant extracts. *J.Ethnopharmacol.* 60(2): 117-24.
4. Baez, S. R. (ed.). (2003). Manejo postcosecha de frutas y verduras en iberoamérica. CYTED-RITEP. Hermosillo, Sonora, México. 138 p.
5. Braverman J. B. S. (2010), introducción a la bioquímica de los alimentos. Traducción por Pérez B. y Burgos J. 3ra. Ed. Barcelona ed. Omega pp. 274 – 291
6. Braverman J.B.S. 2010, los agrios y sus derivados. Traducción por Iranzo J. Rayo. Ed. Aguilar S.A. de ediciones Madrid 431p.
7. Ecónomos, C. and Clay, W.D. (1998) Nutritional and health benefits of citrus fruits. *Food NutrAgric.* 24:11-18
8. FAO, (2007). Manual Correspondiente a cítricos. *FoodAgriculturalOrganizations.* Pág. 81, 82, 83, 84, 85.
9. Foods, Biochemical and Processing. Ed Mazza,G. Technomic Publishing Company. Pensilvania. (1998); pp 155-178.
10. García H. A. (2003) “Esencias Naturales”. Aguilar S.A Ediciones Madrid. pp 33 – 129.
11. A.O.A.C. (2003). *OfficialMethods of Analysis of theAssoc. of Off. Anal. Chemists.* EilliamHorritz, Editor. Ed.
12. AACC St Paul Min, USA Edit (2003). *American Association of Cereal ChemistryCereal Laboratory Methods.*
13. Bates R.B.Schaefer J.P. 2009 *Técnicas de Investigación en Química Orgánica,* Prentice-Hall Internacional, Madrid.

14. Bruneton, J. (2001). Farmacognosia. Fitoquímica. Plantas Medicinales. 2ª Ed. Zaragoza: Acribia S. A.
15. Bruneton, J. (2001). Farmacognosia. Fitoquímica. Plantas Medicinales. 2ª Ed. Zaragoza: Acribia S. A.
16. Carpenter R. (2002). Análisis sensorial en el desarrollo y control de la calidad
17. Corporación Colombiana Internacional, Inteligencia de mercados, Julio 2001.
18. Diccionario de Química y de Productos Químicos. Gessner G. Hawley (2006)
19. Domínguez, X. A. y Domínguez S, X. Experimental. Limusa-Noriega, México, 2001.
20. Ellenfibe R.W. STEAM DISTILLATION BASICS, ChemEng. Marzo 4, (2001).
21. F. J. Guerra, C. Mall_en, A. Struck, T. (2008) Varela Universidad Iberoamericana Laboratorio de Procesos de Separaci_on.
22. FAO/INFOODS. (2010) Tabla de composición de Alimentos de América Latina y Tablas de composición de alimentos. Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Subirán. México.
23. Farmacopea homeopática de los estados unidos mexicanos comisión permanente de los estados unidos mexicanos D.R (2001) Instituto politécnico Nacional, primera edición impreso en México ISBN
24. Freire, J.E. y Valencia, F.L, (2001), “El cultivo de los cítricos en el Cantón Patate”, tesis de grado previa a la obtención del título de Ingeniero (S) Agrónomos, Ambato- Ecuador.
25. FROESE, T. (2003). Applyngfuzzylogictomodernprocess control systems. Proc.Comp.DesignFuzzyLogicconfer. M114-1-M114-9. Burkingame, CA
26. Girard, B. and Mazza, G. (2001) Functional grape and citrus products. En: Functional.
27. Gloria Albarracín Montoya, (2003), Universidad Nacional de Colombia Sede Manizales.
28. Grosse R et al (2000). Extracción del Aceite Esencial de Naranja Cajera citrus. Acta Científica

29. Jiménez-Escrib, A. Rincón, M, Pulido, R. and Saura-Calixto, F. Guavafruit (Psidium guajava L) (2001) as a new source of antioxidant dietary fiber. *J. Agric. Food Chem.*; 49:5489-5493
30. Juscafresa, B. 2008, “los agrios, cultivo y enfermedades”, editorial Serrathima y Urpi, S.A, Barcelona – España.
31. Larrauri J.A.; Rupérez P.; Saura-Calixto F. (2003) Mango peel fibres with antioxidant activity. *Lebensm. Unters. Forsch.*, 205:39-42
32. León Crespo F. (2005). Galán Soldevilla, H.
33. López J. B. Jean F, Gagnon H, Colling G, Gameau F, Pichette A (2005). *J. Essent. Oil Res.* 17: 1-7
34. Martínez-Valverde, I., Periego, M. Ros, G. (2000) Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. *Arch. Latinoam. Nutr.* 50:5-18
35. McNair, Harold M. & Miller, James M. (1998). *Basic Gas Chromatography*. Canada: John Wiley & Sons, Inc. ISBN: 0-471-17260-X (alk. paper); ISBN 0-471-17261-8 (pbk.: alk. paper).
36. Moreiras O, Carbajal A, Cabrera L, Cuadrado C (2010). *Tablas de composición de alimentos.*, 10ª edn: Madrid.
37. Moreiras O, Varela-Moreiras G, Ávila JM, Beltrán B, Cuadrado C, del Pozo S et al (2009). *La alimentación española. Características nutricionales de los principales alimentos de nuestra dieta*. Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino.
38. *Munsell Book of Color*. (2002). Macbeth division of Kollmorgen corporation Bbaltimore, Mariland 21218
39. Pauli, (2001), “*Análisis Esencial de Aceites y Productos Relacionados*”.
40. Pengelly, A. (2006). *The constituents of Medicinal Plants*. 2nd Ed. Cabi Publishing, U. K.
41. Pérez, (2006) “*Destilación de Plantas Aromáticas en General y Rectificación de Esencias Obtenidas*”.

42. Rincón, A.M.; Tapia, M.S.; Padilla, F.C.(2004) Evaluación de las cáscaras (exocarpio) de algunas frutas cultivadas en Venezuela.Rev. Fac de Farmacia, en prensa.
43. Sancho, J. Bota, E. de Castro, J.J. 2002. Introducción al análisis sensorial de los alimentos. Editorial Alfa Omega, México, México, D.F.
44. Soria M. (2005). “Babaco, fruta con potencial en el Ecuador y el mundo”. Revista INIAP N° 9.
45. Van Ginkel, A. (2003). Apuntes del Máster y Diplomatura de posgrado de la UAB “Plantas Medicinales y Fitoterapia. Módulo 2. Cultivo de plantas medicinales. Tecnología y Producción.”
46. Weiss E A (2006). Essential oil Crops. Cab Internatinal: New York, Usa, pp. 417-511.
47. Elezeta / Método destilación por arrastre con vapor para la obtención de aceites esenciales el-mito-de-beber-agua-destilada <http://elezeta.net/16/11/2009>.
48. Espol/<http://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/6391/1/Obtenci%C3%B3n%20de%20harina%20de%20yuca%20para%20el%20desarrollo%20de%20productos%20dulces.pdf>. (2004).
49. FAO/Morfología de la naranja. <http://www.fao.org/docrep/fao/006/x6732s/x6732s03.pdf> (2011).
50. Galeon/<http://www.galeon.com/Beneficios-de-la-c%C3%A1scara-de-naranja-la-pectina/> (2010).
51. MAGAP/Producción nacional de naranja/ <http://www.magap.com>. (2006).
52. Otramedicina/Aceite-esencial-de-naranja. <http://www.otramedicina.com/18/07/2010/>

ANEXOS

ANEXO 1: Ubicación del experimento



ANEXO2: Resultados experimentales del aceite esencial y harina

Resultados experimentales en el aceite esencial

tratamientos	Densidad	Acidez	Humedad	Refracción
1	0,84	0,53	31,8	1,4721
2	0,80	0,35	28,3	1,4716
3	0,81	0,28	29,0	1,4708
4	0,83	0,20	30,1	1,4703

Resultados experimentales en la harina

tratamientos	pH	Acidez	Humedad	Cenizas	E-coli	M/levaduras
1	4,50	0,64	17,3	2,82%	ausencia	1
2	5,20	0,35	17,4	5,07%	Ausencia	2
3	5,30	0,30	17,4	4,60%	Ausencia	6
4	5,50	0,22	17,6	6,17%	ausencia	8

ANEXO 3: Análisis físico, químico y microbiológicos de los productos terminados



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
 FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS
 UNIDAD DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO EN TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS
LABORATORIO DE CONTROL Y ANÁLISIS DE ALIMENTOS
 Dirección: Av. Los Chaguín y Río Parícutas, Shushufuqui, Telf: 2 400 987, Fax: 2 400 998, Email: Insaanal@utabona.edu.ec



CERTIFICADO DE ANÁLISIS DE LABORATORIO

Certificado No: 12-189J		BB1-5.10.05.02				
Solicitud N° 12-189J		Pág. 1 de 1				
Fecha recepción: 20 junio 2012		Fecha de depósito de muestra: 20 junio 2012				
Información del cliente:						
Empresa: Particular		C.I./RUC: 0201977576				
Representante: Darwin Alberto Naber Torres		Tlf: 2206484				
Dirección: Calle Simón Bolívar y Boyacá		Celular: 094444536				
Ciudad: Guaranda		E-mail: winmetal69@yahoo.com				
Descripción de las muestras:						
Producto: Aceite esencial de naranja		Peso: 10 ml				
Marca comercial:		Tipo de envase: Envase de vidrio oscuro				
Lote: n/a		No de muestras: Cuatro				
F. Ex. n/a		F. Exp. n/a				
Conservación: Ambiente X Refrigeración: Congelación		Almac. en Lab: 30 días				
Cierre seguridad: Ninguno Integro: X Rotas:		Muestreo por el cliente: 28 mayo 2012				
RESULTADOS OBTENIDOS						
Muestra	Código del laboratorio	Código cliente	Ensayos solicitados	Métodos utilizados	Unidades	Resultados
Aceite esencial de naranja	18912363	R1 0 %	Índice de refracción	AOAC 920.141. 2005	(A 20°C)	1.4721
			Humedad	AOAC 920.47. 2005	%	31.8
	18912364	R2 0.3 %	Índice de refracción	AOAC 920.141. 2005	(A 20°C)	1.4716
			Humedad	AOAC 920.47. 2005	%	28.3
	18912365	R3 0.5 %	Índice de refracción	AOAC 920.141. 2005	(A 20°C)	1.4708
			Humedad	AOAC 920.47. 2005	%	29.0
	18912366	R4 0.7 %	Índice de refracción	AOAC 920.141. 2005	(A 20°C)	1.4703
			Humedad	AOAC 920.47. 2005	%	30.1
Código Analítico: 20-07-U-4894B						
Nota: Los ensayos marcados con (*) no están incluidos en el alcance de la acreditación del OIG						
 LABORATORIO DE CONTROL Y ANÁLISIS DE ALIMENTOS		DIRECTOR DE CALIDAD Dr. Marcelo Soria V. Director de la Calidad				

Nota: Los resultados consignados en este certificado corresponden a la muestra recibida. El Laboratorio no es responsable por el mal uso de los datos de este certificado. No se asume responsabilidad. Prohibida su reproducción sin la aprobación del Laboratorio.

"La información que se está enviando es confidencial, exclusivamente para el destinatario y no puede ser retransmitida. Si usted es el destinatario de esta información recomendamos eliminarla inmediatamente. La distribución o copia del mismo está prohibida y será sancionada según el proceso legal pertinente."

LABORATORIO DE SUELOS

Muestra :

Lugar:

Parroquia, Cantón:

Propietario:

Solicitante:

Fecha de Ingreso:

Fecha de Entrega de Resultados:

ACEITE CASCARA

DE NARANJA

LABORATORIO

GENERAL

VUITIMILLA

DIEGO MOPOSITA DARWIN NÚÑEZ

DIEGO MOPOSITA DARWIN NÚÑEZ

MAYO 28 2012

JULIO 16 2012

ACEITES DE CASCARA DE

NARANJA

ACIDEZ TITULABLE

INDICE ACIDEZ	0.28		
% ACIDOS GRASOS	0.24		
DENSIDAD mg/cc	0.81		

Edith

DR. EDITH YANEZ
TEC. LABORATORISTA



LABORATORIO DE SUELOS

Muestra :

Lugar:

Parroquia, Cantón:

Propietario:

Solicitante:

Fecha de Entrega:

Fecha de Entrega de Resultados:

HARINA DE CASCARA DE

HARINA EN VARIOS TRATAMIENTOS

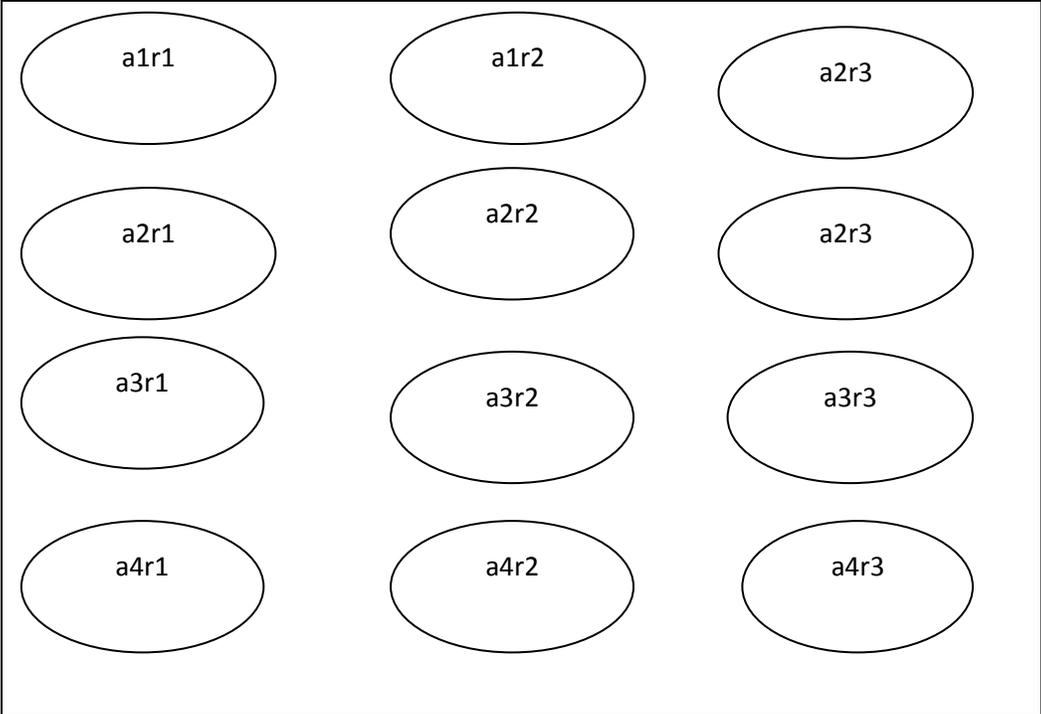
HARINA DE
CASCARA DE
SARANA
LABORATORIO
GENERAL
VELLA
DIEGO MORALES DARWIN NÚÑEZ
DIEGO MORALES DARWIN NÚÑEZ
MAYO 28 2012
JUNIO 28 2012

CARACTERES ORGANOLEPTICOS	0%	0,3%	0,5%	0,7%
COLORES	CAFE OSCURO	AMARILLO	AMARILLO	AMARILLO
OLOR	SURGIERIS	SURGIERIS	SURGIERIS	SURGIERIS
SABOR	4,5	5,2	5,3	6,6
PH	17,3	17,4	17,4	17,6
TEMPERATURA °C	17,3	17,4	17,4	17,6
N. HUMEDAD	0,84	0,35	0,3	0,22
ACIDEZ TITULABLE	0,67	0,63	0,62	0,56
DENSIDAD	2,82	5,07	4,8	6,17
% CENIZAS	XXXXX	XXXXX	XXXXX	XXXXX
ECHERICHA COLI	XXXXX	XXXXX	XXXXX	XXXXX
MOROS Y LEVADURAS	XXXXX	XXXXX	XXXXX	XXXXX
Unidades Colonias x gramos	1 c/gf	6 c/gf	2 c/gf	8 c/gf

Erwin
ERWIN VANEZ
TEC. LABORATORISTA



ANEXO 4: Esquema del experimento



ANEXO 5: Esquema de evaluación de análisis sensorial

UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLÍVAR
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
ESCUELA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL
EVALUACIÓN SENSORIAL DE HARINA A PARTIR DE CÁSCARA DE
NARANJA (*Citrus sinensis*, variedad valenciana).

Fecha: _____ **Nombre:** _____

Instrucciones: Sírvase evaluar cada una de las características de calidad y aceptabilidad.

Marque con una **X** el punto que mejor indique su sentido a cerca de la muestra.

CARACTERÍSTICAS	ALTERNATIVAS	MUESTRAS			
		101	201	301	401
COLOR	1.-Muy oscuro				
	2.-Obscuro				
	3.- Semi- claro				
	4.- Claro				
	5.- Muy claro				
OLOR	1.- Muy Desagradable				
	2.- Desagradable				
	3.- Poco agradable				
	4.- Agradable				
	5.- Muy agradable				
AROMA	1.- Muy Desagradable				
	2.- Desagradable				
	3.- Poco agradable				
	4.- Agradable				
	5.- Muy agradable				
TEXTURA	1.- Dura				
	2.- Poco dura				
	3.- Blanda				
	4.- Suave				
	5.- Muy suave				
ACEPTABILIDAD	1.- Nula				
	2.- Poco aceptable				
	3.- Casi aceptable				
	4.- Aceptable				
	5.- Muy aceptable				

Observaciones:

UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLIVAR
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
ESCUELA DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL
EVALUACIÓN SENSORIAL DE ACEITE ESENCIAL A PARTIR DE
CÁSCARA DE NARANJA (*Citrus sinensis*, variedad valenciana)

Fecha: _____ **Nombre:** _____

Instrucciones: Sírvase evaluar cada una de las características de calidad y aceptabilidad.

Marque con una **X** el punto que mejor indique su sentido a cerca de la muestra.

CARACTERÍSTICAS	ALTERNATIVAS	MUESTRAS			
		740	141	742	743
COLOR	1.-Muy oscuro				
	2.-Oscuro				
	3.- Semi- transparente				
	4.- Transparente				
	5.- Muy transparente				
OLOR	1.- Muy Desagradable				
	2.- Desagradable				
	3.- Poco agradable				
	4.- Agradable				
	5.- Muy agradable				
AROMA	1.- Muy Desagradable				
	2.- Desagradable				
	3.- Poco agradable				
	4.- Agradable				
	5.- Muy agradable				
ACEPTABILIDAD	1.- Nula				
	2.- Poco aceptable				
	3.- Casi aceptable				
	4.- Aceptable				
	5.- Muy aceptable				

Observaciones:

ANEXO 6: Normas

NMX-FF-012-1982. PRODUCTOS ALIMENTICIOS NO INDUSTRIALIZADOS PARA USO HUMANO. FRUTA FRESCA. DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE JUGO EN FRUTAS CITRICAS CON BASE AL PESO. NON INDUSTRIALIZED FOOD PRODUCTS FOR HUMAN USE. FRESH FRUIT. DETERMINATION OF JUICE CONTENT IN CITRIC FRUITS BASED ON WEIGHT. NORMAS MEXICANAS. DIRECCIÓN GENERAL DE NORMAS.

PREFACIO

En la elaboración de esta Norma, participaron los siguientes Organismos:

Subsecretaría de Salubridad.
Dirección General de Laboratorios de Salud Pública.
Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos
Comisión Nacional de Fruticultura.
Laboratorios de Investigación.

1. OBJETIVO Y CAMPO DE APLICACIÓN

Esta Norma Mexicana establece el método para determinar el contenido de jugo en frutas cítricas en base al peso.

2. REFERENCIAS

Esta Norma se complementa con las vigentes de las siguientes Normas Mexicanas:

NMX-FF-006	Productos alimenticios no industrializados para uso humano - Fruta fresca - Terminología.
NMX-Z-012	Muestreo para inspección por atributos.

3. DEFINICIÓN

Jugo.- Es el líquido sin diluir y sin concentrar obtenido de la expresión de frutas sanas y limpias.

4. FUNDAMENTO

Este método se basa en la obtención del peso del jugo de una fruta y relacionarlo con el peso de la fruta entera.

5. APARATOS O INSTRUMENTOS

- Material común de laboratorio.

- Cuchillo.
- Extractor de "piña" rotatoria con velocidad de 1400 - 1600rpm (véase fig.1) provisto de tamiz.
- Balanza granataria.

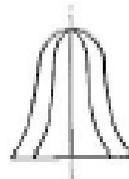
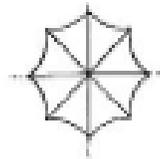
6. MUESTREO

Para llevar a cabo un muestreo durante alguna inspección, este puede ser establecido de común acuerdo entre vendedor y comprador. De no haber ningún acuerdo, se recomienda seguir el procedimiento indicado en la Norma Mexicana NMX-Z-12 (véase capítulo 2).

7. PROCEDIMIENTO

Lavar, secar y pesar la

- Partir a la mitad la fruta contra la "Piña" de la máquina de jugo.
- Pasar el jugo extraído a un recipiente previamente tarado.
- Pesar el recipiente.
- Hacer por lo menos



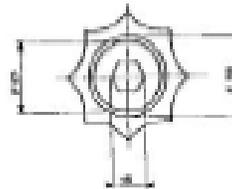
tres (3) veces, presionando la Fruta contra la superficie alidad de las celdillas

de un recipiente limpio y

tarado.

8. EXPRESIÓN DE RESULTADOS

El contenido de jugo extraído de la muestra en gramos.



en porcentaje (M/M) y en números

8.1 Cálculos

Para calcular el porcentaje de jugo extraído de la muestra:

$$M_1$$

Donde:

M = Masa en gramos de jugo extraído de la muestra

M_1 = Masa en gramos de la muestra.

9. INFORME DE LA PRUEBA

El resultado de la prueba será la media aritmética de las determinaciones realizadas.

10. BIBLIOGRAFÍA

NMX-Z-13-1977 Guía para la redacción, estructuración y presentación de las Normas Mexicanas.

Fecha de aprobación y publicación: Junio 10, 1982.

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO

FACULTAD DE INGENIERÍA

Escuela de Ingeniería en Alimentos

TESIS DE GRADO

**“Extracción de los Aceites Esenciales
de la Mandarina”**

MARCELO SORIA VITERI

Ambato - Ecuador

1.981

UNIVERSIDAD TECNICA DE AMBATO

FACULTAD DE INGENIERIA

ESCUELA DE INGENIERIA EN ALIMENTOS.

TESIS PREVIA A LA OBTENCION DEL TITULO DE INGENIERO EN ALIMENTOS
OTORGADO POR LA UNIVERSIDAD TECNICA DE AMBATO, A TRAVES DE LA FA
CULTAD DE INGENIERIA, ESCUELA DE INGENIERIA EN ALIMENTOS

" EXTRACCION DE LOS ACEITES ESENCIALES DE LA MANDARINA "

MARCELO SORIA VITERI

MARZO 1981

AMBATO

ECUADOR

5.2.- METODOLOGIA

Los métodos que se aplicaron para caracterizar el aceite, en su mayoría, fueron tomados del Manual de Alimentos de R. Lees (19), a excepción de los análisis de solubilidad y metales pesados, cuya metodología fue consultada del trabajo de Tesis de Grado de Espinoza H. (12).

CUADRO Nº 8

PRINCIPALES ANALISIS DEL ACEITE ESENCIAL DE MANDARINA	
ANALISIS.	METODO UTILIZADO
Gravedad específica	Procedimiento del picnómetro
Rotación óptica	Uso de un polarímetro de media sombra
Indice de refracción	Empleo de un refractómetro estándar
Solubilidad	Procedimiento con alcohol diluído, de distintas concentraciones
Aldehídos totales	Método de la hidroxilamina
Esteres totales	Método de aplicación general para aceites esenciales, basado en la saponificación de los esterres con alcali
Metales pesados	Método colorimétrico, empleando sulfuro de hidrógeno
Residuos no volátiles	Aplicación de evaporación en baño María hasta peso constante

5.3.- PROPIEDADES FISICOQUIMICAS DEL ACEITE OBTENIDO

5.3.1.- CARACTERISTICAS ORGANOLEPTICAS

COLOR	Incoloro
OLOR	Similar a la fruta fresca
APARIENCIA	Azulado-fluorescente en - alcohol diluido

5.3.2.- PROPIEDADES FISICOQUIMICAS

TABLA Nº 11

PRINCIPALES PROPIEDADES FISICOQUIMICAS DEL ACEITE OBTENIDO

CARACTERISTICA	VALOR MEDIO *
Gravedad específica (20°C/20°C)	0,8526
Rotación óptica (a $\frac{20}{D}$)	+ 69° 32' 24''
Indice de refracción (20°C)	1,47497
Esteres totales (%) (como acetato de linalilo)	3,2725
Aldehídos totales (%) (como aldehído decílico)	0,8642
Residuos no volátiles (%)	1,2631
Presencia de metales pesados	negativo
Solubilidad	Claramente soluble en - 10 volúmenes de alcohol al 85%; claramente solu ble desde 5 a 10 volúme nes de alcohol al 90%

* Número de repeticiones: 3

5.4.- DETERMINACION DE ALGUNOS COMPONENTES POR CROMATOGRAFIA DE GASES

La determinación de la composición cualitativa y cuantitativa del aceite se efectuó por cromatografía de gases, empleando para el efecto un cromatógrafo de gases equipado con detector de ionización de llama.

Para la identificación de los compuestos se procedió, en primer lugar, a buscar las condiciones para una óptima separación y luego se inyectaron una serie de estándares en idénticas condiciones, comparándose después los tiempos de retención con los de la muestra problema.

La confirmación de la identidad de los componentes se efectuó corriendo un cromatograma de la muestra en otra columna de diferente polaridad y siguiendo un procedimiento similar al anterior para la identificación.

5.4.1.- CONDICIONES DE TRABAJO

EQUIPO	Cromatógrafo de gases VARIAN-Mod.2860
DETECTOR	Ionización de llama
MATERIAL DE LA COLUMNA	Acero inoxidable
LONGITUD DE LA COLUMNA	12 pies
DIAMETRO DE LA COLUMNA	1/8 pulgadas
SOPORTE	Chromosorb W 60/80 DMCS
FASE ESTACIONARIA	Carbowax 20 M, al 15 %
SENSIBILIDAD	Variable
TEMPERATURA DEL INYECTOR	200°C
TEMPERATURA DE LA COLUMNA	Programada
TEMPERATURA DEL DETECTOR	200°C
VELOCIDAD DE LA CARTA	0,5 pulg/min

En el cromatograma obtenido, figura Nº 9, se pueden observar 14 componentes separados, de los cuales se logró identificar a 5 y que constan a continuación:

α-Pineno
β-Pineno
Limoneno
p-Cimeno
Linalol

Ademas de estos componentes se tienen los siguientes, - cuya presencia no fue posible confirmar:

γ-Terpineno
Metil antranilato
Benzaldehído
Citral
Acetato de linalilo

TABLA Nº 12

IDENTIFICACION DE LOS COMPONENTES DEL ACEITE
DE MANDARINA POR CRUMATOGRAFIA DE GASES*

Nº PICO	SENSIBILIDAD	PORCENTAJE	COMPUESTO
1	256×10^{-11}	0,01	- - - - -
2	" " "	2,10	α-Pineno
3	" " "	1,70	β-Pineno
4	" " "	0,90	- - - - -
5	512×10^{-10}	77,60	Limoneno
6	" " "	7,10	- - - - -
7	" " "	11,20	p-Cimeno

Continuación de la Tabla Nº 12...

8	64×10^{-11}	0,07	- - - - -
9	" " "	0,02	- - - - -
10	" " "	0,10	- - - - -
11	" " "	1,20	Linalol
12	" " "	0,30	- - - - -
13	" " "	0,20	- - - - -
14	" " "	0,70	- - - - -

* Análisis realizados en el Laboratorio de Análisis Instrumental de la Escuela Politécnica Nacional - Quito

5.5.- PROPIEDADES FISICOQUIMICAS DEL ACEITE DE DIVERSA PROCEDENCIA

Las propiedades del aceite varían ligeramente de acuerdo al lugar de su procedencia. Para comparar esas características con las del producto obtenido en el presente trabajo, se exponen en la Tabla Nº 13 los análisis realizados en aceites de dos países distintos. (13)

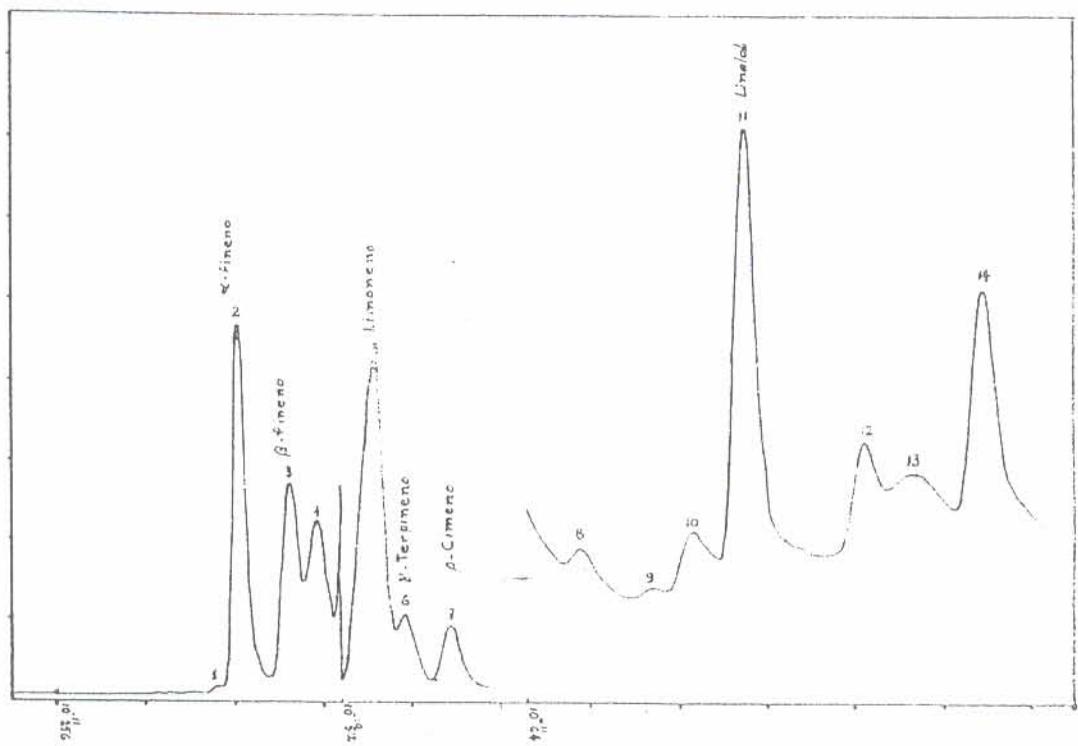


FIGURA Nº9 .-, Cromatograma del Aceite Esencial de Mandarina

TABLA Nº 13

COMPARACION DELAS PROPIEDADES DEL ACEITE
DE DIVERSA PROCEDENCIA CON EL ACEITE EXTRAIDO

PROPIEDAD	ACEITE ITALIANO	ACEITE BRASILEÑO	ACEITE LOCAL
Gravedad específica (20°C/20°C)	0,856	0,856	0,852
Rotación óptica (a $\frac{20}{D}$)	71°25'	69°18'	69°32'
Indice de refracción (a 20°C)	1,4754	1,4754	1,4749
Esteres totales (%) (como acetato de lina lilo)	8,15	2,5	3,27
Aldehídos totales (%) (como aldehído decílico)	- - -	0,95	0,86
Residuos no volátiles.	2,8	4,05	1,26
Solubilidad	Incompletamente insolubles en alcohol del 90 %		Completamen te soluble en alcohol del 90 %

NMX-F-101-1987. ALIMENTOS. ACEITES Y GRASAS VEGETALES O ANIMALES. DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE DE ACIDEZ. FOODS. VEGETABLES OR ANIMALS OILS AND FATS. ACIDITY INDEX DETERMINATION. NORMAS MEXICANAS. DIRECCIÓN GENERAL DE NORMAS.

PREFACIO

En la elaboración de la presente Norma participaron los siguientes Organismos:

Asociación Nacional de Industriales de Aceites y Mantecas Comestibles, A.C.
Cámara de la Industria de Aceites y Grasas Comestibles.
Instituto Mexicano de Aceites, Grasas y Proteínas, A.C.
Arancia Aceites La Gloria, S.A.
Aceites Polimerizados, S.A. de C.V.
Instituto Nacional del Consumidor
Aceite Casa, S.A. de C.V.
Industrias CONASUPO, S.A.
Anderson Clayton & Co., S.A.

1. OBJETIVO Y CAMPO DE APLICACIÓN

Esta Norma establece el método volumétrico para la determinación del Índice de acidez.

Por este método se determinan valores de Índice de acidez, con una aproximación de $\pm 0.25\%$.

2. FUNDAMENTO

Este método se basa en la titulación de los ácidos grasos libres, con un álcali.

3. DEFINICION

Índice de acidez: Es la cantidad en miligramos de hidróxido de potasio necesaria para neutralizar los ácidos grasos libres en 1.0 g de aceites o grasa.

4. APARATOS Y EQUIPO

- Balanza analítica con sensibilidad de 0.0001 g.
- Baño de vapor de reflujo.
- Material común de laboratorio.

5. MATERIALES Y REACTIVOS

Los reactivos que a continuación se mencionan, serán grado analítico, a menos que se indique otra cosa; cuando se hable de agua, ésta será agua destilada.

- Solución de hidróxido de potasio exactamente valorada (según tabla 1).
- Alcohol etílico de 95° (v/v) neutralizado en el momento de usarse con hidróxido de potasio 0.1 N utilizando como indicador fenolftaleína.
- Solución de hidróxido de potasio 0.1 N.
- Solución alcohólica indicadora de fenolftaleína al 1.0%.

6. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

La cantidad de muestra empleada para esta determinación debe estar de acuerdo con la siguiente tabla:

Tabla 1

% de Ácidos Grasos Libres	Muestra en Gramos	Mililitros de Alcohol	Normalidad de la Solución
0.00 a 0.2	56.4 ± 0.2	50.0	0.1
0.2 a 1.0	28.2 ± 0.2	50.0	0.1
1.0 a 30.0	7.05 ± 0.05	75.0	0.25
30.0 a 50.0	7.05 ± 0.05	100.0	0.25 ó 1.0
50.0 a 100.0	3.525 ± 0.001	100.0	1.0

7. PROCEDIMIENTO

A la muestra determinada en gramos, seca, fundida y filtrada, contenida en un matraz Erlenmeyer de 300 cm³, se le agregan tantos centímetros cúbicos de alcohol etílico (véase A.1) como lo indica la tabla anterior, previamente neutralizado; si la disolución de los ácidos grasos libres no es completa en frío, caliente suavemente el matraz en baño de vapor a reflujo hasta disolución completa, y después se agrega 1 cm³ de fenolftaleína; se titula la mezcla con la solución de hidróxido de potasio valorada, agitando frecuentemente hasta que una coloración rosada persista durante 30 s.

8. EXPRESIÓN DE RESULTADOS

El resultado se expresa en miligramos de hidróxido de potasio de acuerdo a la siguiente expresión:

$$\text{Índice de acidez} = \frac{56.1 \times N \times V}{P}$$

En donde:

56.1 = equivalente químico de la potasa.

N = normalidad de la solución de hidróxido de potasio.

V = cm³ de solución valorada de hidróxido de potasio gastados en la titulación de la muestra.

P - masa de la muestra en gramos.

Se debe expresar como porcentaje de ácido oleico, palmítico o láurico aplicando la siguiente expresión, utilizando el meq del ácido graso de referencia:

$$\% \text{ ácidos grasos libres} = \frac{\text{meq} \times N \times V}{P} \times 100$$

En donde:

meq = miliequivalente químico del ácido graso de referencia

N = normalidad de la solución de hidróxido de potasio.

V = cm³ de solución valorada de hidróxido de potasio gastados en la titulación de la muestra.

P = peso de la muestra en gramos.

9. REPETIBILIDAD

El procedimiento debe efectuarse por duplicado y el valor no debe tener una variación mayor de ± 0.25 %; siendo el resultado final la media aritmética de ambas determinaciones.

10. REPRODUCIBILIDAD

La diferencia entre el resultado obtenido por un analista y el promedio de una serie de determinaciones efectuadas en el mismo material de prueba, por diferentes analistas, en diferentes laboratorios, no debe ser mayor de 1%.

APÉNDICE A

A.1 En el caso de las grasas se recomienda la mezcla al 50% de alcohol éter.

11. BIBLIOGRAFÍA

NMX-Z-013-1977 Guía para la redacción, estructuración y presentación de las Normas Mexicanas.

Sampling and analysis of commercial fats and oils official and tentative methods of the American Oil Chemist's Society Method (AOCS).

12. CONCORDANCIA CON NORMAS INTERNACIONALES

No se puede establecer concordancia por no existir referencia al momento de la elaboración de la presente.

NMX-F-211-1987. ALIMENTOS. ACEITES Y GRASAS VEGETALES O ANIMALES. DETERMINACIÓN DE HUMEDAD Y MATERIA VOLÁTIL. FOODS. VEGETABLES OR ANIMALS OILS AND FATS. MOISTURE AND VOLATILE MATTER DETERMINATION. NORMAS MEXICANAS. DIRECCIÓN GENERAL DE NORMAS.

PREFACIO

En la elaboración de esta Norma participaron las siguientes Empresas e Instituciones:

Asociación Nacional de Industriales de Aceites y Mantecas Comestibles, A.C.

Cámara de la Industria de Aceites y Grasas Comestibles.

Instituto Mexicano de Aceites, Grasas y Proteínas, A.C.

Anderson, Clayton & Co., S.A.

Central Mantequera, S.A.

Industrias CONASUPO, S.A. de C.V.

Productos de Maíz, S.A.

Aceite Casa, S.A. de C.V.

Aceites Polimerizados. S.A. de C.V.

1. OBJETIVO Y CAMPO DE APLICACIÓN

Esta Norma establece el procedimiento para la determinación de humedad y materia volátil en todas las grasas y aceites ordinarios, incluyendo emulsiones tales como mantequillas, oleomargarinas (mantequilla artificial) y aceite de coco altamente ácido. No es aplicable para grasas y aceites que puedan contener residuos no solventes con punto de ebullición muy alto o para muestras que contengan agregados de monoglicéridos.

2. DEFINICIÓN

Por humedad y materia volátil se entiende la pérdida en masa del aceite o grasa, bajo la condición experimental indicada posteriormente.

3. FUNDAMENTO

Eliminar humedad y materia volátil por un aumento de temperatura.

4. APARATOS Y EQUIPO

Calentador eléctrico, de superficie muy pulida; en caso contrario, cubrir con una almohadilla de asbesto para prevenir el deterioro del vaso de precipitado.

5. MATERIAL

- Vaso de precipitado de 100 a 150 cm³
- Desecador conteniendo un eficiente desecante. El cloruro de calcio no es satisfactorio.

6. PREPARACION DE LA MUESTRA

En caso necesario o cuando la muestra sea sólida, ésta se ablanda con un calentamiento suave teniendo cuidado de no fundirla. Cuando esté lo suficientemente suave, mézclase para distribuir el agua uniformemente.

7. PROCEDIMIENTO

En un vaso de precipitado tarado a masa constante se determina una masa de 5 a 20 g de la muestra anterior, con una exactitud de 0.0001 g; colóquese en el calentador a una temperatura tal que girando lentamente el vaso evite que salpique, lo cual puede resultar de una ebullición rápida.

La aproximación del punto final puede ser juzgada por el cese de burbujas, o también por la ausencia de espuma. Otro método para juzgar el punto final es colocando un vidrio de reloj limpio y seco sobre el vaso. La presencia de vapor se indica por la condensación en el vidrio del reloj. La temperatura de la muestra no debe exceder de 130°C, excepto al final de la prueba.

Cuando el punto final aparente ha sido alcanzado, seguir calentando hasta la formación incipiente de humos, pero teniendo cuidado de no sobrecalentar.

Enfríe la muestra a la temperatura ambiente en un desecador y determine su masa hasta masa constante.

8. EXPRESIÓN DE RESULTADOS

El resultado se expresa en % de acuerdo a la siguiente expresión:

$$\% \text{ HMV} = \frac{M_1 - M_2}{M_1} \times 100$$

En donde:

% HMV = % de humedad y materia volátil

M₁ = Masa de la muestra

M₂ = Masa de la muestra sin humedad y materia volátil

9. REPETIBILIDAD

La diferencia entre determinaciones efectuadas por duplicado no debe ser mayor de 0.002 g; en caso contrario, repetir la determinación.

10. REPRODUCIBILIDAD

La diferencia entre el resultado obtenido por un analista y el promedio de una serie de determinaciones efectuadas en el mismo material de prueba, por diferentes analistas, por diferentes laboratorios, no debe ser mayor de 1%.

11. BIBLIOGRAFÍA

NMX-Z-013-1977 Guía para la redacción estructuración y presentación de las Normas Mexicanas.

American Oil Chemist's Society - Official and Tentative Methods Section C Sampling and Analysis of Commercial Fats and Oils (A.O.C.S.).

NMX-K-129-1976. DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE DE REFRACCIÓN EN ACEITES ESENCIALES Y PRODUCTOS AROMÁTICOS. METHOD OF TEST FOR REFRACTIVE INDEX OF ESSENTIAL OILS AND AROMATIC SUBSTANCES. NORMAS MEXICANAS. DIRECCIÓN GENERAL DE NORMAS.

PREFACIO

En la elaboración de esta Norma participaron los siguientes Organismos e Instituciones:

Secretaría de Salubridad y Asistencia.
Subdirección de Alimentos y Bebidas.
Pepsi-Cola Mexicana, S.A.
The Coca Cola Export Corporation.
Firmenich de México, S.A.

1. OBJETIVO Y CAMPO DE APLICACIÓN

Esta Norma establece el método para determinar el índice de refracción, en aceites esenciales y productos aromáticos.

2. REFERENCIAS

NMX-K-144 Norma Mexicana. Método de Muestreo de Aceites Esenciales y Productos Aromáticos.
NMX-K-245 Norma Mexicana. Preparación de la Muestra de Aceites Esenciales y Productos Aromáticos.

3. DEFINICIÓN

Índice de refracción es la relación que existe entre el seno del ángulo de incidencia y el seno del ángulo de refracción de un rayo luminoso, de una longitud de onda determinada, que pasa del aire a la sustancia en examen. Esta se mantiene a una temperatura constante y determinada. (Ver 9.1 y 9.2).

4. FUNDAMENTO

Según el aparato utilizado, el método se basa en la medida directa del ángulo de refracción; o bien, en la observación del límite de reflexión total, manteniendo la sustancia dentro de condiciones de isotropismo y transparencia.

5. APARATO

5.1 Refractómetro. Se utiliza un refractómetro que permita la lectura directa del índice de refracción entre 1.3000 y 1.7000 con una precisión de ± 0.0002 .

Se ajusta el aparato de manera que se obtenga a 20°C, los siguientes índices de refracción:

- 1.3330 agua destilada
- 1.3651 etanol 85%, p/p
- 1.4906 p-cimeno
- 1.6043 cinamato de bencilo
- 1.5685 benzoato de bencilo
- 1.6585 1-bromonaftaleno

El refractómetro puede ajustarse mediante el empleo de una placa de vidrio de índice de refracción conocido y siguiendo las instrucciones dadas por el fabricante del aparato. Las determinaciones se efectúan con luz monocromática o, si el refractómetro está provisto con un dispositivo óptico compensador, se usa cualquier fuente luminosa.

5.2 Dispositivo para la estabilización de la temperatura

Se utiliza un dispositivo idóneo para hacer circular, en el refractómetro, una corriente de agua que permita mantener el aparato a la temperatura necesaria y constante ($\pm 0.2^{\circ}\text{C}$)

6. PREPARACIÓN Y CONSERVACIÓN DE LAS MUESTRAS

Ver Normas Mexicanas NMX-K-144 y NMX-K-245.

7. PROCEDIMIENTO

Antes de depositar la muestra en el refractómetro, se mantiene una temperatura próxima a la que se va a tomar la lectura. Se hace circular una corriente de agua en el refractómetro, con el objeto de que el instrumento esté a la temperatura a la cual se efectuarán las lecturas. Esta temperatura no debe exceder de la de referencia en $\pm 20^{\circ}\text{C}$ y estar dentro de $\pm 0.2^{\circ}\text{C}$.

Se coloca la muestra en los prismas limpios y secos y se espera a que se establezca la temperatura y se efectúa la lectura.

8. EXPRESIÓN DE LOS RESULTADOS

El índice de refracción a la temperatura de referencia, está dado por:

8.1 Cálculos

$$n_D^t = n_D^{t'} + F (T^1 - T)$$

En donde:

$n_D^{t'}$ = Lectura tomada a la temperatura t' y a la longitud de onda de la banda D de la luz de sodio.

F = Factor de corrección específico en cada aceite o producto aromático (Ver 9.3).

T = 20°C o la temperatura indicada en la Norma del aceite o producto aromático.

T' = Temperatura a la que se efectuó la lectura.

Los resultados se expresan hasta la cuarta cifra decimal.

8.2 Precisión

Dos o tres lecturas deben tener una tolerancia de ± 0.0003 .

9. APÉNDICE

9.1 La longitud de onda es de 589.3 ± 0.3 nm, que corresponde a las radiaciones D₁ y D₂ del espectro de sodio.

9.2 La temperatura de referencia es de 20°C, excepto para aquellas muestra que a esta temperatura no se encuentren en estado líquido. En este caso se usan temperaturas de 25°C y 30°C, de acuerdo a los límites máximos de los puntos de fusión de las mismas.

9.3 Para obtener el factor de corrección correspondiente, es necesario consultar la Norma del aceite o producto aromático en cuestión.

10. CONCORDANCIA CON NORMAS INTERNACIONALES

10.1 Esta Norma concuerda totalmente con la recomendación ISO R 280. "Determination of the Refractive Index of Essential Oils".

10.2 Esta Norma concuerda totalmente con el ESQUEMA 1o de RECOMENDACIÓN COPANT 8:2-005 Aceites Esenciales. "Método de Determinación del Índice de Refracción".

11. BIBLIOGRAFÍA

- a) NMX-Z-013 Norma Mexicana. Guía de Redacción Estructuración y Presentación de las Normas Mexicanas. Secretaría de Industria y Comercio. México 1975.
- b) ISO RECOMMENDATION R 280 "Determination of the Refractive Index of Essential Oils" International Organization for Standardization. Genova 1962.
- c) ESQUEMA 1o DE RECOMENDACION COPANT 8:2-005. ACEITES ESENCIALES. "Método de Determinación del Índice de Refracción" Comisión Panamericana de Normas Técnicas. Argentina 1972.
- d) NORMAS UNICHIM 27/5. OLII ESSENZIALI. "Determinazione dell'Indice di Rifrazione". UNICHIM gruppo per l'unificazione nella chimica, Milano.
- e) NORMA AFNOR NF T 75-112 "HUILES ESSENTIELLES" "Determination de L'Indice de Refraction des Huiles Essentielles" Association Francaise de Normalisation. Paris 1964.

Fecha de aprobación y publicación: Mayo 25, 1976.

NMX-F-075-1987. ALIMENTOS. DETERMINACIÓN DE LA DENSIDAD RELATIVA EN ACEITES Y GRASAS VEGETALES O ANIMALES. FOODS. VEGETABLES OR ANIMALS OILS AND FATS. SPECIFIC GRAVITY DETERMINATION. NORMAS MEXICANAS. DIRECCIÓN GENERAL DE NORMAS.

1. OBJETO Y CAMPO DE APLICACIÓN

La presente Norma establece el método de prueba para la determinación de la densidad relativa en los aceites y grasas vegetales o animales.

2. DEFINICIÓN

Densidad relativa: Es la relación de la masa de un volumen dado de una sustancia y la masa de un volumen igual de agua en las mismas condiciones de presión y temperatura

La densidad relativa es un número abstracto (sin unidades).

3. FUNDAMENTO

El método consiste en determinar la masa a volúmenes iguales de agua y de aceite o grasa vegetal o animal que se utilizaron para calcular la relación entre ambos valores, bajo condiciones específicas de temperatura, 25°C para aceites y 40°C para grasas.

4. APARATOS Y EQUIPO

- Picnómetro de 10, 25, 50 ó 100 cm³ de capacidad con rama capilar lateral para aforo.
- Termómetro graduado de 0° a 100°C, dividido en quintos o décimos de grados para determinar temperaturas entre 10°C y 30°C.
- Baño de agua, con regulador de temperatura con precisión de $\pm 0.2^\circ\text{C}$.
- Embudo y pipeta para llenar el picnómetro.
- Balanza analítica con sensibilidad de 0.0001 g.
- Material común de laboratorio.

5. MATERIALES Y REACTIVOS

Los reactivos que se mencionan, deben ser grado analítico; cuando se indique agua, debe entenderse agua destilada.

- Papel filtro
- Agua destilada
- Alcohol etílico de 96° (v/v).
- Eter etílico

- Mezcla sulfocrómica.- (Estos reactivos podrán ser de grado comercial).

En un matraz aforado de 1000 cm³, se colocan 55 cm³ de solución saturada de dicromato de potasio y se completa a 1000 cm³ con ácido sulfúrico concentrado.

6. PROCEDIMIENTO

6.1 Se limpia cuidadosamente el picnómetro con mezcla sulfocrómica y se enjuaga con agua. Se escurre y luego se baña sucesivamente con etanol y éter etílico. Se seca interiormente utilizando una corriente de aire seco y exteriormente con un paño o con papel filtro.

6.2 Se determina la masa del picnómetro completo con la precisión de 0.1 mg; se llena con agua destilada evitando la formación de burbujas de aire se coloca el termómetro y se deja destapada la rama del capilar.

Se sumerge en un baño de agua a 25°C ± 0,2°C ó 40°C ± 0.2°C durante 30 min controlando la temperatura del baño con el termómetro del picnómetro cuando se alcance la temperatura deseada se enrasa la rama capilar del picnómetro con agua destilada a la misma temperatura y se tapa; se extrae del baño, se limpia, se seca exteriormente y se determina su masa con la precisión de 0.1 mg.

6.3 El picnómetro se vacía y luego se lava con etanol y éter etílico. Se seca interiormente utilizando una corriente de aire seco y exteriormente con un paño seco o con papel de filtro.

6.4 Se llena el picnómetro con el aceite o grasa vegetal o animal homogeneizado, evitando la formación de burbujas de aire; se coloca el termómetro y se deja destapada la rama del capilar, se sumerge en el baño de agua a 25°C ± 0.2°C o 40°C ± 0.2°C durante 30 min. controlando la temperatura del baño con el termómetro del picnómetro.

Cuando se alcance la temperatura deseada, se enrasa la rama del capilar del picnómetro con el aceite o grasa vegetal o animal a la misma temperatura y se tapa, después se procede como se detalla para el agua destilada (véase 6.2 y 6.3).

7. EXPRESIÓN DE RESULTADOS

La densidad relativa se calcula con las siguientes expresiones:

$$G_1 = M_1 - M$$

$$G_2 = M_2 - M$$

$$\delta = \frac{G_1}{G_2}$$

En donde:

M_1 = Masa del picnómetro con muestra.

M_2 = Masa del picnómetro con agua,

M = Masa del picnómetro vacío.

G_1 = Masa neta del aceite o grasa.

G_2 = Masa neta del agua.

δ = Densidad relativa del aceite o grasa a temperatura

T (°C) con respecto al agua de la misma temperatura.

La expresión de los resultados se hace hasta la tercera cifra decimal

8. REPETIBILIDAD Y REPRODUCTIBILIDAD

8.1 REPETIBILIDAD

La diferencia máxima permisible entre determinaciones efectuadas por duplicado no debe ser mayor de 0.001 del valor de la densidad relativa; en caso contrario, se repiten las determinaciones.

8.2 REPRODUCTIBILIDAD

La diferencia entre el resultado obtenido por un analista y el promedio de una serie de determinaciones efectuadas en el mismo material de prueba, por diferentes analistas, en diferentes laboratorios, no debe ser mayor de 1%.

9. BIBLIOGRAFÍA

NMX-Z-013-1977 Guía para la redacción, estructuración y presentación de las Normas Mexicanas.

American Oil Chemist's Society Official and Tentative Methods Section O Sampling and Analysis of Commercial Fats and Oils (A.O.C.S.).

10. CONCORDANCIA CON NORMAS INTERNACIONALES

No se puede establecer concordancia por no existir referencia al momento de la elaboración de la presente.

Decreto No. 7

EL PRESIDENTE DE LA REPUBLICA
Y EL MINISTRO DE INDUSTRIA Y COMERCIO

De conformidad con lo que dispone el artículo 1º de la Ley No. 1698 del 26 de noviembre de 1953 y por recomendación del Comité de Normas y Asistencia Técnica Industrial,

Artículo 1º-Se aprueba y declara de cumplimiento obligatorio la siguiente

RTCR 14:1958

Norma oficial para harina de trigo

I DEFINICION

Harina de trigo es el producto obtenido de la molturación y cernido del trigo maduro, limpio y debidamente acondicionado.

II CARACTERISTICAS GENERALES

La harina de trigo deberá ser fabricada a partir de granos de trigo sanos y limpios, exentos de materia terrosa y en perfecto estado de conservación. Deberá estar exenta de parásitos, larvas, hongos, impurezas y microorganismos que indiquen manipulaciones defectuosas del producto. No podrá estar húmeda, fermentada ni rancia.

III CLASIFICACION

A) Clasificación con referencia a su uso:

Las harinas de trigo se dividirán en panificables y para otros usos industriales, en base a la calidad del trigo usado.

B) Clasificación con base en el trigo usado:

1. Harinas de primera calidad:

Nombre	Humedad % máximo	Cenizas % (*) máximo	Proteína %	Acidez % máximo
a) Harina de trigo duro de primera	14,0	0,50	12 mínimo	0,25
b) Harina de trigo duro de invierno	14,0	0,50	11 mínimo	0,25
c) Harina de trigo Blando	14,0	0,45	6 mínimo 9.5 máximo	0,25
d) Harina de mezcla de trigo duro	14,0	0,50	11 mínimo	0,25

¡Error! Marcador no definido.

de primera y trigo duro de invierno				
-------------------------------------	--	--	--	--

(*) Los porcentajes de cenizas se determinarán del enriquecimiento de la harina.

2. Harina de otras calidades

Se clasificarán "harinas de otras calidades" las harinas de trigo duro con porcentajes de humedad y de cenizas superiores a 14,0 % y 0,5 % respectivamente, o con un contenido de proteína inferior a los mínimos señalados en el cuadro N° 1 para las harinas de primera calidad. Se clasificarán "Harinas de otras calidades" las harinas de trigo blando con porcentajes de humedad y de cenizas superiores a 14,0 % y 0,5 %, o si el valor de la proteína es inferior al mínimo o superior al máximo señalados en el cuadro N°1 para harinas de primera calidad de trigo blanco.

Harinas con grado de acidez superior a 0,25 % se consideran no aptas para el consumo humano.

3. Harina enriquecida:

Con este nombre se designa la harina de trigo enriquecida con vitaminas, sales minerales y otras sustancias de valor biológico específico.

C) Clasificación con referencia a fuerza y condición extensográfica:

(Determinación con "extensómetro Brabeunder")

	Area (cm²)	Resistencia (°Brabeunder)	Extensión(cm)
1. Harinas para fabricación de pan	100 mínimo	400 mínimo	12 máximo
2. Harinas de autolevantamiento	44 mínimo	190 mínimo	15 máximo
3. Harinas para pastelería y galletas	29 mínimo	100 mínimo	19,5 máximo

IV ENVASE Y ROTULACION

La harina de trigo se presentará al comercio en envases de material adecuado que respondan a los requisitos sanitarios. Los envases llevarán las siguientes indicaciones; marca registrada, harina de trigo enriquecida, nombre o razón social del fabricante, ubicación de la fábrica, licencia del Ministerio de salubridad Pública, que es producto centroamericano y peso neto al envasar expresado en el sistema métrico decimal, pudiendo indicarse optativamente, la equivalencia en libras de cuatrocientos sesenta (460) gramos.

Artículo 2º Este decreto rige a partir de su publicación.

Dado en la Casa Presidencial.-San José, a los cinco días del mes de mayo de mil novecientos sesenta y siete.

¡Error! Marcador no definido.

J.J. TREJOS FERNANDEZ, El Ministro de Industria y Comercio, M. JIMENEZ

¡Error! Marcador no definido.

This document was created with Win2PDF available at <http://www.daneprairie.com>.
The unregistered version of Win2PDF is for evaluation or non-commercial use only.

NMX-F-007-1982. ALIMENTO PARA HUMANOS. HARINA DE TRIGO. FOODS FOR HUMANS. WHEAT FLOUR. NORMAS MEXICANAS. DIRECCIÓN GENERAL DE NORMAS.

PREFACIO

En la elaboración de esta Norma, participaron los siguientes Organismos:

Secretaría de Salubridad y Asistencia.

Dirección General de Control de Alimentos, Bebidas y Medicamentos.

Lance, S.A.

Nabisco Famosa, S.A.

Gerencia de Coordinación de Productos, Comercialización Servicios de Filiales CONASUPO.

0. INTRODUCCIÓN'

Las especificaciones que se establecen en esta Norma sólo podrán satisfacerse cuando en la elaboración del producto objeto de esta Norma, se utilicen materias primas de calidad sanitaria, se apliquen buenas técnicas de elaboración se realicen en locales e instalaciones bajo condiciones higiénicas, que aseguren que el producto es apto para el consumo humano, de acuerdo con el Código Sanitario de los Estados Unidos Mexicanos, sus Reglamentos y demás disposiciones de la Secretaría de Salubridad Asistencia.

1. OBJETIVO Y CAMPO DE APLICACIÓN

Esta Norma Mexicana establece las especificaciones que debe cumplir el producto denominado harina de trigo, cuyo principal empleo es la fabricación de pan, galletas y pastas para sopa.

2. REFERENCIAS

Esta Norma se complementa con las siguientes Normas Mexicanas vigentes:

NMX-F-066-S. Alimentos para humanos. Determinación de cenizas. (Determinación de cenizas en alimentos).

NMX-F-068-S. Alimentos para humanos. Determinación de proteínas. (Alimentos. Determinación de proteínas).

NMX-F-083. Alimentos para humanos. Determinación de humedad. (Determinación de humedad en productos alimenticios).

NMX-F-090-S. Alimentos para humanos. Determinación de fibra cruda. (Determinación de fibra cruda en alimentos).

NMX F-253. Alimentos para humanos. Microbiológicos. Cuenta de bacterias mesofílicas aerobias. (Cuenta de bacterias mesofílicas aerobias).

NMX-F-254. Alimentos para humanos. Microbiológicos. Cuenta de organismos coliformes. (Cuenta de organismos coliformes).

NMX-F-255. Alimentos para humanos. Microbiológicos. Método de conteo de hongos, y levaduras (Método de conteo de hongos y levaduras).

NMX-F-304. Alimentos para humanos. Microbiológicos. Investigación de *Salmonella* método general. (Método general de investigación de *Salmonella*).

NMX-F-308. Alimentos para humanos. Microbiológicos. Cuenta de organismos coliformes fecales. (Cuenta de organismos coliformes fecales).

NMX-F-310-S. Alimentos para humanos. Microbiológicos. Cuenta de *Staphylococcus aureus*, coagulasa positiva. (Determinación de cuenta de *Staphylococcus aureus*, coagulasa positiva en alimentos).

NMX-F-403-S. Alimentos para humanos. Microbiológicos. Cuenta de *Bacillus Mesentericus* o *Bacillus Subtilis* (esporas formadoras de hebra).

NMX-F-353-S. Alimentos para humanos. Determinación de aflatoxinas en cacahuates nueces, granos y sus productos. (Cuatro partes. Cacahuate, otras nueces, granos y sus productos. Determinación de aflatoxinas).

NMX-F-365-S. Alimentos para humanos. Harinas. Determinación de materia extraña. (Harinas. Determinación de materia extraña).

NMX-F-377-S. Alimentos para humanos. Harinas. Determinación de gluten. (Harinas. Determinación de gluten).

NMX-B-231. Requisitos de las cribas para clasificación de materiales.

NMX-Z-012. Muestreo para la inspección por atributos.

3. DEFINICIONES

Para los efectos de esta Norma se establecen las siguientes definiciones:

3.1 Se entiende por- harina de trigo, al producto que se obtiene por molienda y tamizado de granos de trigo (*Triticum Vulgare* y *Triticum Durum Lin*), sanos limpios, enteros o quebrados, sin cáscara, con un 73% de extracción mínimo aproximado, adicionado o/no de los aditivos permitidos (véase 5.7). Este producto requiere cocimiento para su consumo.

3.2 Se entiende por grado 1: Harina de trigo fina (para panificación), el producto que cumple con lo señalado en 3.1 y con las especificaciones correspondientes (véase 5) adicionado o/no de levadura, agentes leudantes sal y agua con la que se elabora previo proceso de cocción pan blanco, bollos, bizcochos, pasteles, y otros.

3.3 Se entiende por grado II: Harina de trigo semifina (para galletas), el producto que cumple con lo señalado en 3.1 con las especificaciones correspondientes (véase 5)

adicionado de levadura, agentes leudantes, azúcar, mantequilla, grasa vegetal comestible, u otros ingredientes permitidos para su elaboración.

3.4 Se entiende por grado III: Harina de trigo común o estándar (para pastas para sopa) el producto que cumple con lo señalado en 3.1 y con las especificaciones correspondientes (véase 5) adicionado o/no de ingredientes opcionales y aditivos permitidos para su elaboración.

4. CLASIFICACIÓN Y DESIGNACIÓN DEL PRODUCTO

Para los efectos de esta Norma, de acuerdo a su uso, la harina de trigo se clasifica en un sólo tipo y tres grados de calidad, designándose como: Harina de Trigo.

GRADO I Harina de trigo para panificación

GRADO II Harina de trigo para galletas

GRADO III Harina de trigo para pastas para sopa

5. ESPECIFICACIONES

El producto objeto de esta Norma en su único tipo y tres grados de calidad debe cumplir con las siguientes especificaciones:

5.1 Sensoriales

Color.- Blanco o ligeramente amarillo, característico (véase A.5).

Olor.- Debe ser característico del producto, sin ningún olor extraño.

Sabor.- Farináceo, característico del producto, sin sabor extraño o desagradable.

5.2 Físicas y químicas

El producto objeto de esta Norma debe cumplir con las especificaciones físicas y químicas anotadas en la tabla 1.

TABLA 1

Especificaciones	Grado I Panificación	Grado II Galletas	Grado III Pastas para Sopa
Humedad % Máx.	14.0	14.0	14.0
Proteínas % (N x 5.7) Mín.	9.5	9.0	9.0
Cenizas %	0.55 Máx.	0.4 - 1.0	0.6 Máx.
*Fibra Cruda %	0.2 - 0.4	0.2 - 0.6	0.3 Máx.
Gluten húmedo % Mín.	31.3	29.7	29.7
Granulometría	(véase A.3)		

Nota 1. Los porcentajes están expresados sobre base húmeda de 14% excepto gluten.

Nota 2. (Referente a fibra cruda). Será sólo para orientación del analista.

5.3 Alveogramas (véase A.1)

5.4 Microbiológicas

El producto objeto de esta Norma no debe contener microorganismos patógenos, toxinas microbianas, e inhibidores microbianos.

5.5 Contaminantes químicos

El producto objeto de esta Norma no deberá contener ningún contaminante químico en cantidades que puedan representar un riesgo para la salud. Los límites máximos para estos contaminantes quedan sujetos a los que establezca la Secretaría de Salubridad y Asistencia.

5.6 Materia extraña objetable

El producto objeto de esta Norma no debe contener insectos, fragmentos de insectos, pelos y excretas de roedores, fuera de los límites permitidos por la Secretaría de Salubridad y Asistencia, así como de cualquier otra materia extraña.

5.7 Aditivos

Los siguientes permitidos por la Secretaría de Salubridad y Asistencia dentro de los límites que se señale.

5.7.1 Blanqueadores u oxidantes y/o agentes de maduración o mejoradores.

- Oxidos de nitrógeno
- Cloruro de nitrosilo
- Cloro
- Dióxido de cloro
- Persulfato de amonio o
- Peróxido de benzoilo (mezcla de una parte, con seis partes de almidón o carbonato de calcio o fosfato tricálcico o carbonato de magnesio).

En la cantidad necesaria para la buena elaboración del producto.

- Bromato de potasio: 50 mg/kg (50 ppm). (véase A.5).
- Azo dicarbonamida: 45 mg/kg. (45 ppm).
- Acido ascórbico.
- Enzimas proteolíticas y amilolíticas (alfa amilasa).

5.7.2 No se permite el empleo de conservadores o agentes antimicrobianos.

6. MUESTREO

6.1 Cuando se requiera el muestreo del producto, éste podrá ser establecido de común acuerdo entre productor y comprador, recomendándose el uso de la Norma Mexicana. NMX-Z-012.

6.2 Muestreo Oficial.

El muestreo para efectos oficiales estará sujeto a la legislación y disposiciones de la Dependencia Oficial correspondiente.

7. MÉTODOS DE PRUEBA

Para la verificación de las especificaciones físicas, químicas, microbiológicas, y materia extraña, que se establecen en esta Norma se deben aplicar las Normas Mexicanas que se indican en el capítulo de Referencias (véase 2).

8. MARCADO, ETIQUETADO, ENVASADO Y EMBALAJE

8.1 Marcado y etiquetado

8.1.1 Cada envase del producto debe llevar una etiqueta o impresión permanente, visible e indeleble con los siguientes datos:

- Denominación del producto conforme a la clasificación de esta Norma y especificando el grado de calidad correspondiente (véase A. 5)
- Nombre comercial o marca comercial registrada, pudiendo aparecer el símbolo del fabricante.
- El "Contenido Neto" de acuerdo con las disposiciones de la Secretaría de Comercio.
- Nombre o razón social del fabricante o titular del registro y domicilio donde se elabore el producto.
- La leyenda "Hecho en México".
- Cuando se adicione bromato de potasio o de azo dicarbonamida se señalará el nombre y el por ciento del aditivo empleado.
- Texto de las siglas Reg. S.S.A. No. "A" debiendo figurar en el espacio en blanco el número de registro correspondiente.
- Otros datos que exija el reglamento respectivo o disposiciones de la Secretaría de Salubridad y Asistencia.

8.1.2 Marcado en el embalaje

Deben anotarse los datos necesarios de 8.1.1 para identificar el producto y todos aquellos otros que se juzguen convenientes tales como las precauciones que debe tenerse en el manejo y uso de los embalajes.

8.2 Envase

El producto objeto de esta Norma se debe envasar en recipientes de un material resistente e inocuo, que garantice la estabilidad del mismo, que evite su contaminación, y no altere su calidad ni sus especificaciones (véase A.3).

8.3 Embalaje

Para el embalaje del producto objeto de esta Norma, se deben usar cajas de cartón o envolturas de algún otro material apropiado, que tengan la debida resistencia y que ofrezcan la protección adecuada a los envases, para impedir su deterioro exterior, a la vez que faciliten su manipulación en el almacenamiento y distribución de las mismas, sin exponer a las personas que los manipulen (véase A.3).

9. ALMACENAMIENTO

El producto terminado debe conservarse en locales que reúnan los requisitos sanitarios que señale la Secretaría de Salubridad y Asistencia.

APÉNDICE

A.1 Alveogramas

En virtud de que cada harina se requiere con características reológicas específicas, según los fines a que se destine, ya sea para la elaboración de pan, galletas, o pastas para sopa el comprador deberá de hacer del conocimiento del vendedor las especificaciones que de acuerdo a sus necesidades requiera de la harina de trigo que la solicita. Para definir en cada caso las determinaciones mencionadas, se recomienda utilizar el método del alveograma; dando importancia principal a las relativas a extensibilidad, elasticidad, tenacidad y fuerza del gluten.

Estas se llevan a cabo en aparatos especiales de laboratorio entre los que se encuentran el alveógrafo de Chopin, el farinógrafo y extensómetro de Brabender y otros aparatos que son específicos para ellas.

A.2 Granulometría

GRADO I. La harina de trigo para panificación: no debe reportar retención en tamiz NOM-34 M (de 0.177 mm de abertura de malla; equivalente a 80 U.S.B.S.) y puede aceptarse un máximo de 10 % de retención en un tamiz NOM-50-M (de 0.125 mm de abertura de malla: equivalente a 120 U.S.B.S.).

GRADO II. En la harina de trigo para galletas generalmente se utilizan mezclas variables de acuerdo al tipo de galleta que se fabrique.

GRADO III. La harina de trigo para pastas para sopa: debe reportar un 73% como mínimo de retención de las fracciones de dos tamices .NOM-20-M y NOM-40-M (de 0.297 y 0.149 mm de abertura de malla: equivalentes a 50 y 100 U.S.B.S.) respectivamente.

A.3 Las especificaciones de envase y embalaje que deben aplicarse para cumplir con 8.2 y 8.3 serán las correspondientes a las Normas Oficiales Mexicanas de envase y embalaje específicas para cada presentación y gramaje del producto.

A.4 Para el control del color específico de lotes, se pueden utilizar escalas colorimétricas con referencia al MgO.

A.5 Cuando la harina contenga bromato de potasio, en la cantidad mencionada en 5.7.1 se ostentará en la etiqueta la denominación: harina bromatada.

10. BIBLIOGRAFÍA

NMX-F-007-1960 Harina de Trigo

NMX-F-160-1980 Harina de Arroz.

Norma Técnica Ecuatoriana	HARINAS DE ORIGEN VEGETAL. DETERMINACION DE LA CONCENTRACION DE ION HIDROGENO	INEN 526 1980-12
<p style="text-align: center;">1. OBJ ETO</p> <p>1.1 Esta norma establece el método para determinar la concentración de ion (pH) en las harinas de origen vegetal.</p> <p style="text-align: center;">2. ALCANCE</p> <p>2.1 Este método es aplicable a harinas de trigo y pan.</p> <p style="text-align: center;">3. RESUMEN</p> <p>3.1 Determinar la concentración de ion hidrógeno (pH) utilizando el potenciómetro.</p> <p style="text-align: center;">4. INSTRUMENTAL</p> <p>4.1 <i>Potenciómetro</i>, con electrodos de vidrio.</p> <p>4.2 <i>Vaso de precipitación</i> de 250 cm³.</p> <p>4.3 Piceta.</p> <p style="text-align: center;">5. REACTIVOS</p> <p>5.1 <i>Solución estándar</i>, de valores de pH conocidos entre 4,5 y 7,0.</p> <p style="text-align: center;">6. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA</p> <p>6.1 Las muestras para el ensayo deben estar acondicionadas en recipientes herméticos, limpios, secos (vidrio, plástico u otro material inoxidable), completamente llenos para evitar que se formen espacios de aire.</p> <p>6.2 La cantidad de muestra de la harina de origen vegetal extraída dentro de un lote determinado debe ser representativa y no debe exponerse al aire mucho tiempo.</p> <p>6.3 Se homogeniza la muestra invirtiendo varias veces el recipiente que lo contiene.</p> <p style="text-align: center;">7. PROCEDIMIENTO</p> <p>7.1 La determinación debe efectuarse por duplicado sobre la misma muestra preparada.</p>		

7.2 Comprobar el correcto funcionamiento del potenciómetro.

7.3 Pesar, con aproximación al 0,1 mg, 10 g de muestra preparada y colocar en el vaso de precipitación, añadir 100 cm³ de agua destilada, recientemente hervida y enfriada, y agitar suavemente hasta que las partículas queden uniformemente suspendidas.

7.4 Continuar la agitación durante 30 minutos a 25°C, de modo que las partículas de almidón se mantengan en suspensión, y dejar en reposo para que el líquido se decante.

7.5 Determinar el pH por lectura directa, introduciendo los electrodos del potenciómetro en el vaso de precipitación con la muestra, cuidando que éstos no toquen las paredes del recipiente ni las partículas sólidas.

8. ERRORES DE MÉTODO

8.1 La diferencia entre los resultados de una determinación efectuada por duplicado no debe exceder de 0,1 unidades de pH; en caso contrario, debe repetirse la determinación.

9. INFORME DE RESULTADOS

9.1 Como resultado final, debe reportarse la media aritmética de los dos resultados obtenidos de la determinación.

9.2 En el informe de resultados, deben indicarse el método usado y el resultado obtenido. Debe mencionarse, además, cualquier condición no especificada en esta norma o considerada como opcional, así como cualquier circunstancia que pueda haber influido sobre el resultado.

9.3 Deben incluirse todos los detalles para la completa identificación de la muestra.

APENDICE Z

Z.1 NORMAS A CONSULTAR

Esta norma no requiere de otras para su aplicación.

Z.2 BASES DE ESTUDIO

Propuesta de Norma Centroamericana ICAITI 34 086 h 2. *Harinas de origen vegetal. Determinación del pH*. Instituto Centroamericano de Investigación y Tecnología Industrial. Guatemala, 1977.

Método AOAC de análisis 17. *Cereal Food. Hydrogen Activity (pH)*. Association of Official Analytical Chemists. Washington, 1975.

A.A.C.C. Approved methods 02-52. *Hydrogen-ion activity (pH)*. Electrometric method. American Association of Cereal Chemists. Minnesota U.S.A., 1969.

Norma Hindú IS 4706 *Methods of test for edible Starches*. Indian Standards Institution. Nueva Delhi, 1963.

INFORMACIÓN COMPLEMENTARIA

Documento: NTE INEN 526 **TÍTULO:** HARINAS DE ORIGEN VEGETAL. **Código:** AL 02.02-310
DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE AL
HIDRÓGENO.

ORIGINAL: Fecha de iniciación del estudio:	REVISIÓN: Fecha de aprobación anterior por Consejo Directivo Oficialización con el Carácter de por Acuerdo No. publicado en el Registro Oficial No. Fecha de iniciación del estudio:
--	--

Fechas de consulta pública: 1978-04-25 a 1978-06-09

Subcomité Técnico: AL 02.02, HARINAS DE ORIGEN VEGETAL

Fecha de iniciación:

Fecha de aprobación: 1979-06-20

Integrantes del Subcomité Técnico:

NOMBRES:

INSTITUCIÓN REPRESENTADA:

Sr. Patricio Hidalgo P.	MOLINEROS DE LA SIERRA
Sr. Godifrey Berry	INDUSTRIAL MOLINERA C.A.
Sr. Gustavo Negrete	INDUSTRIAL MOLINERA C.A.
Dra. Marlene de San Lucas	INDUSTRIAL MOLINERA C.A.
Sr. Pedro Novillo	MICEI
Ing. Edgar Alvarado	MICEI
Ing. Poema Jiménez	MICEI (Guayaquil)
Sr. Rafael Clavijo	CENDES
Ing. César Cáceres	MAG
Sr. Wilfredo Llaguno	MAG (Guayaquil)
Ing. Jaime Gallegos	MAG
Ing. Peter Alter	FAO
Dr. Luís Vallejo	INSTITUTO NAC. DE NUTRICION
Ing. Washington Moreno	INSTITUTO DE INVESTIGACIONES TECNOLOGICAS (Guayaquil)
Srta. Lourdes Chamarro	ESCUELA POLITECTICA NACIONAL
Sr. José Bueno	MOLINOS POULTIER
Dra. Iclea de Rodríguez	INSTITUTO IZQUIETA PEREZ
Sr. Rafael Aguirre	INEN
Ing. Iván Navarrete	INEN
Lic. María Eugenia de Mora	INEN
Dra. Leonor Orozco	INEN

Otros trámites: ♦⁴ Esta norma sin ningún cambio en su contenido fue **DESREGULARIZADA**, pasando de **OBLIGATORIA a VOLUNTARIA**, según Resolución de Consejo Directivo de 1998-01-08 y oficializada mediante Acuerdo Ministerial No. 235 de 1998-05-04 publicado en el Registro Oficial No. 321 del 1998-05-20

El Consejo Directivo del INEN aprobó este proyecto de norma en sesión de 1980-12-11

Oficializada como: OBLIGATORIA
 Registro Oficial No. 392 de 1981-03-06

Por Acuerdo Ministerial No. 131 de 1981-02-05

**Instituto Ecuatoriano de Normalización, INEN - Baquerizo Moreno E8-29 y Av. 6 de Diciembre
Casilla 17-01-3999 - Telfs: (593 2)2 501885 al 2 501891 - Fax: (593 2) 2 567815
Dirección General: E-Mail: direccion@inen.gov.ec
Área Técnica de Normalización: E-Mail: normalizacion@inen.gov.ec
Área Técnica de Certificación: E-Mail: certificacion@inen.gov.ec
Área Técnica de Verificación: E-Mail: verificacion@inen.gov.ec
Área Técnica de Servicios Tecnológicos: E-Mail: inencati@inen.gov.ec
Regional Guayas: E-Mail: inenguayas@inen.gov.ec
Regional Azuay: E-Mail: inencuenca@inen.gov.ec
Regional Chimborazo: E-Mail: inenriobamba@inen.gov.ec
URL: www.inen.gov.ec**

 GOBIERNO DE CHILE INSTITUTO DE SALUD PÚBLICA	PROCEDIMIENTO RECuento MOHOS Y LEVADURAS EN ALIMENTOS NORMA ISO 7954	Fecha emisión: Septiembre 1993
		Revisión: 2
		Fecha revisión: 24/10/2008
Sección Microbiología Alimentos	PRT- 712.02-031	Página 1 de 14

1. OBJETIVO

Conocer el número de Mohos y Levaduras que contiene un alimento.

2. CAMPO DE APLICACIÓN Y ALCANCE

Este procedimiento se aplica a todos los alimentos de consumos humano o animal en los cuales el ambiente es menos favorable para el crecimiento bacteriano por ej pH <5, baja humedad, aw (0.75), alto contenido en sal o azúcar, baja temperatura de almacenamiento, la presencia de antibióticos o exposiciones a irradiación.

3. FUNDAMENTO

Los hongos son generalmente aerobios estrictos, en cambio las levaduras pueden crecer con o sin oxígeno; en presencia de éste crecen mejor. Las levaduras crecen más rápido que los hongos.

Existen varios medios de cultivo recomendados para alimentos, para reducir el crecimiento bacteriano, algunos utilizan valores de pH bajos (≈ 4), otros la adición de antibióticos como por ejemplo penicilina + estreptomina, cloramfenicol, clortetraciclina, oxytetraciclina o gentamicina.

4. REFERENCIAS

- 4.1 Norma ISO 7954. Microbiology- General Guidance for enumeration of yeasts and moulds- Colony count technique al 25°C. First edition 1987.

 <p>GOBIERNO DE CHILE INSTITUTO DE SALUD PÚBLICA</p>	PROCEDIMIENTO RECUENTO MOHOS Y LEVADURAS EN ALIMENTOS NORMA ISO 7954	Fecha emisión: Septiembre 1993
		Revisión: 2
		Fecha revisión: 24/10/2008
Sección Microbiología Alimentos	PRT- 712.02-031	Página 2 de 14

5. TERMINOLOGÍA

5.1 No Aplica

6. MATERIALES, INSUMOS Y EQUIPOS

6.1 MATERIALES

6.1.1 Tubos 16x160 mm.

6.1.2 Placas de Petri

6.1.3 Pipetas bacteriológicas de 1 mL

6.2 EQUIPOS

6.2.1 Baño de agua termostático a $47^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ para mantener el agar fundido.

6.2.2 Estufa de incubación regulada entre el rango de 22°C a 25°C ($24^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$).

6.2.3 Cuenta colonias modelo Quebec

6.3 MEDIO DE CULTIVO Y REACTIVOS

6.3.1 Agar Cloranfenicol- dextrosa- extracto de levadura (cloranfenicol puede ser reemplazado por oxitetraciclina).

6.3.2 Solución de Cloranfenicol u Oxitetraciclina al 0,1%.

6.3.3 Agua de dilución: Solución de agua peptonada al 0,1 % o Agua buffer fosfato.

6.3.4 Reactivos Tinción de Gram o Reactivos para Tinción Simple.

7. DESARROLLO

7.1 SIEMBRA

7.1.1 Preparar la muestra por uno de los métodos recomendados en el PRT-712.01-002.

7.1.2 Pipetear por duplicado a placas Petri estériles alícuotas de 1 mL de la muestra si es producto líquido o 1 mL de la dilución 10^{-1} en el caso de otros productos.

7.1.3 Sembrar por lo menos dos diluciones consecutivas por duplicado.

 <p>GOBIERNO DE CHILE INSTITUTO DE SALUD PÚBLICA</p>	PROCEDIMIENTO RECuento MOHOS Y LEVADURAS EN ALIMENTOS NORMA ISO 7954	Fecha emisión: Septiembre 1993
		Revisión: 2
		Fecha revisión: 24/10/2008
Sección Microbiología Alimentos	PRT- 712.02-031	Página 3 de 14

- 7.1.4 Se recomienda esta serie de diluciones cuando no se conoce el rango aproximado de microorganismos.
- 7.1.5 Agregar 15 mL de agar fundido y temperado a $47^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$.
- 7.1.6 El tiempo transcurrido entre la preparación de la suspensión inicial y el momento de agregar el agar no debe exceder de los 15 min.
- 7.1.7 Mezclar el inóculo con el medio fundido, inclinando y girando las placas. La forma adecuada de llevar a cabo esta operación sería la siguiente:
- 7.1.7.1 Mover la placa con movimientos de vaivén 5 veces en una dirección,
- 7.1.7.2 hacerla girar 5 veces en el sentido de las agujas del reloj,
- 7.1.7.3 mover con movimientos de vaivén en una dirección que forme ángulo recto con la primera y
- 7.1.7.4 hacerla girar 5 veces en el sentido contrario a las agujas del reloj.
- 7.1.8 Una vez solidificado el agar, NO INVERTIR las placas.
- 7.1.9 Incubar a 22 - 25°C durante 3 a 5 días.
- 7.1.10 Realizar controles de ambiente, medio de cultivo y diluyente. Anotar resultados en registros código RG-712.00-010.
- 7.2 LECTURA
- 7.2.1 Tomar todas las precauciones necesarias al manipular las placas Petri, para evitar la contaminación del área de trabajo. Las esporas de los mohos se dispersan con gran facilidad.
- 7.2.2 Usar un cuenta colonias y contar las placas que contengan **menos de** 150 colonias.
- 7.2.3 Si parte de la placa presenta desarrollo excesivo de hongos, o si es difícil contar colonias aisladas en menos tiempo, registrar los recuentos obtenidos y registrar el período de incubación, ya sea tres o cuatro días e incluirlo en el informe final.
- No contar las placas antes de 3 días de incubación, la manipulación podría provocar colonias secundarias por dispersión de esporas.
- 7.2.4 Contar las colonias de mohos las que se presentan bajo una forma filamentosa característica (micelio) de color variable. Estas se desarrollan más tardíamente que las levaduras. Anotar resultados en RG-712.00-023.

 GOBIERNO DE CHILE INSTITUTO DE SALUD PÚBLICA	PROCEDIMIENTO RECuento MOHOS Y LEVADURAS EN ALIMENTOS NORMA ISO 7954	Fecha emisión: Septiembre 1993
		Revisión: 2
		Fecha revisión: 24/10/2008
Sección Microbiología Alimentos	PRT- 712.02-031	Página 4 de 14

7.2.5 Contar las colonias de levadura por separado.

Las colonias de levaduras se presentan en forma de colonias opacas, blancas o amarillas. Anotar resultados en RG-712.00-023.

7.2.6 Realizar Tinción de Gram según IT-712.00-066 o microscopía al fresco (IT-712.00-081) a las colonias sospechosas de levaduras para confirmar su presencia. Anotar el resultado en el registro código RG-712.00-023

7.3 CALCULO

7.3.1 El número de Mohos y Levaduras por gramo o mL de alimento se determina según la siguiente fórmula :

$$N = \frac{\Sigma C}{[(1 \times n1) + (0.1 \times n2)] \times d}$$

donde :

N = número de colonias por ml o g de producto

ΣC = suma de todas las colonias contadas en todas las placas

n1 = número de placas contadas de la menor dilución.

n2 = número de placas contadas de la dilución consecutiva.

d = dilución de la cuál fue obtenido el primer recuento

 GOBIERNO DE CHILE INSTITUTO DE SALUD PÚBLICA	PROCEDIMIENTO RECuento MOHOS Y LEVADURAS EN ALIMENTOS NORMA ISO 7954	Fecha emisión: Septiembre 1993
		Revisión: 2
		Fecha revisión: 24/10/2008
Sección Microbiología Alimentos	PRT- 712.02-031	Página 5 de 14

7.4 EXPRESION DE RESULTADOS

- 7.4.1 Se informa Recuento de Mohos por gramo o mL de alimento y Recuento de Levaduras por gramo o mL de alimento.
- 7.4.2 **Aproximar el resultado a dos cifras significativas. Si el tercer dígito es 6, 7, 8 o 9 adicionar una unidad al segundo dígito. Si el tercer dígito es 1, 2, 3 o 4 considerar solamente los dos primeros dígitos. Cuando el tercer dígito es 5, agregar una unidad al segundo dígito si este es impar y mantener el segundo dígito si este es par. Usar ceros para los demás dígitos hacia la derecha.**
- 7.4.3 **i todas las placas de ambas diluciones no presentan crecimiento o desarrollo, informar como menor de uno por el valor recíproco de la dilución menor por g o mL.**

$$< 1 \times 1/d_m \text{ , donde } d_m = \text{menor dilución}$$

8. REGISTROS

Identificación del registro	Almacenamiento	Protección	Recuperación	Tiempo retención y disposición
Registro control de ambiente, RG-712.00-009.	Archivador verde Registros Laboratorio N°346 Sección Microbiología Alimentos y Agua.	Acceso restringido a personal Sección Microbiología.	Papel	5 años y disposición en basura normal partidos en trozos.
Registro control de esterilidad de medios de cultivo utilizados en el análisis Laboratorio 346, RG-712.00-010.	Archivador verde Registros Laboratorio N°346 Sección Microbiología Alimentos y Agua.	Acceso restringido a personal Sección Microbiología.	Papel	5 años y disposición en basura normal partidos en trozos.
Registro análisis de muestras de alimentos y agua Laboratorio de	Archivador azul Registros de Lecturas e informes de resultados	Acceso restringido a personal Sección	Papel	5 años y disposición en basura normal partidos en trozos.

**Microbiology of food and animal feeding
stuffs — Horizontal method for the
detection and enumeration of
presumptive *Escherichia coli* — Most
probable number technique**

*Microbiologie des aliments — Méthode horizontale pour la recherche et
le dénombrement d'Escherichia coli présumés — Technique du nombre
le plus probable*



PDF disclaimer

This PDF file may contain embedded typefaces. In accordance with Adobe's licensing policy, this file may be printed or viewed but shall not be edited unless the typefaces which are embedded are licensed to and installed on the computer performing the editing. In downloading this file, parties accept therein the responsibility of not infringing Adobe's licensing policy. The ISO Central Secretariat accepts no liability in this area.

Adobe is a trademark of Adobe Systems Incorporated.

Details of the software products used to create this PDF file can be found in the General Info relative to the file; the PDF-creation parameters were optimized for printing. Every care has been taken to ensure that the file is suitable for use by ISO member bodies. In the unlikely event that a problem relating to it is found, please inform the Central Secretariat at the address given below.

© ISO 2005

All rights reserved. Unless otherwise specified, no part of this publication may be reproduced or utilized in any form or by any means, electronic or mechanical, including photocopying and microfilm, without permission in writing from either ISO at the address below or ISO's member body in the country of the requester.

ISO copyright office
Case postale 56 • CH-1211 Geneva 20
Tel. + 41 22 749 01 11
Fax + 41 22 749 09 47
E-mail copyright@iso.org
Web www.iso.org

Published in Switzerland

Contents

Page

Foreword	iv
Introduction	v
1 Scope	1
2 Normative references	1
3 Terms and definitions	2
4 Principle	2
4.1 Detection method	2
4.2 Enumeration method	2
5 Diluent, culture media and reagent	3
6 Apparatus and glassware	5
7 Sampling	6
8 Preparation of test sample	6
9 Procedure	6
9.1 Detection method	6
9.2 Enumeration method	7
10 Expression of results	8
10.1 Detection method	8
10.2 Enumeration method	8
11 Test report	8
Annex A (normative) MPN table	10
Bibliography	13

Foreword

ISO (the International Organization for Standardization) is a worldwide federation of national standards bodies (ISO member bodies). The work of preparing International Standards is normally carried out through ISO technical committees. Each member body interested in a subject for which a technical committee has been established has the right to be represented on that committee. International organizations, governmental and non-governmental, in liaison with ISO, also take part in the work. ISO collaborates closely with the International Electrotechnical Commission (IEC) on all matters of electrotechnical standardization.

International Standards are drafted in accordance with the rules given in the ISO/IEC Directives, Part 2.

The main task of technical committees is to prepare International Standards. Draft International Standards adopted by the technical committees are circulated to the member bodies for voting. Publication as an International Standard requires approval by at least 75 % of the member bodies casting a vote.

Attention is drawn to the possibility that some of the elements of this document may be the subject of patent rights. ISO shall not be held responsible for identifying any or all such patent rights.

ISO 7251 was prepared by Technical Committee ISO/TC 34, *Food products*, Subcommittee SC 9, *Microbiology*.

This third edition cancels and replaces the second edition (ISO 7251:1993), and also ISO 11866-1:1997 and IDF 170-1:1999.

Clauses 4, 9 and 10 of ISO 7251:1993 have been technically revised. The main changes are as follows:

- the temperature of the second incubation is now $44\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ (see 4.2.5);
- detection (9.1) and enumeration (9.2) of presumptive *E. coli* are covered;
- the use of five tubes per dilution is allowed for some specific products (see 9.2.2.1);
- some products (dairy products) may hinder the collection of gas (see 9.1.2 and 9.2.2.5);
- the MPN calculation refers to ISO 7218 (see Clause 10).

Introduction

Because of the large variety of products within this field of application, these guidelines may not be appropriate in every detail for certain products, and for some other products it may be necessary to use different methods. Nevertheless, it is hoped that in all cases every attempt will be made to apply the provided guidelines as far as possible and that deviations from them will only be made if absolutely necessary for technical reasons.

When this International Standard is next reviewed, account will be taken of all information then available regarding the extent to which the guidelines have been followed and the reasons for deviations from them in the case of particular products.

The harmonization of test methods cannot be immediate, and for certain groups of products International Standards and/or national standards may already exist that do not comply with these guidelines. In cases where International Standards already exist for the product to be tested, they should be followed, but it is hoped that when such standards are reviewed they will be changed to comply with this International Standard so that eventually the only remaining departures from these guidelines will be those necessary for well-established technical reasons.

Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the detection and enumeration of presumptive *Escherichia coli* — Most probable number technique

1 Scope

This International Standard gives general guidelines for the detection and enumeration of presumptive *Escherichia coli* by means of the liquid-medium culture technique and calculation of the most probable number (MPN) after incubation at 37 °C, then at 44 °C. This International Standard is applicable to

- products intended for human consumption and the feeding of animals, and
- environmental samples in the area of food production and food handling.

WARNING — Some pathogenic strains of *Escherichia coli* do not grow at 44 °C.

A limitation of the applicability of this International Standard is imposed by the susceptibility of the method to a large degree of variability (see Clause 10).

2 Normative references

The following referenced documents are indispensable for the application of this document. For dated references, only the edition cited applies. For undated references, the latest edition of the referenced document (including any amendments) applies.

ISO 6887-1, *Microbiology of food and animal feeding stuffs — Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination — Part 1: General rules for the preparation of the initial suspension and decimal dilutions*

ISO 6887-2, *Microbiology of food and animal feeding stuffs — Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination — Part 2: Specific rules for the preparation of meat and meat products*

ISO 6887-3, *Microbiology of food and animal feeding stuffs — Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination — Part 3: Specific rules for the preparation of fish and fishery products*

ISO 6887-4, *Microbiology of food and animal feeding stuffs — Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination — Part 4: Specific rules for the preparation of products other than milk and milk products, meat and meat products, and fish and fishery products*

ISO 7218, *Microbiology of food and animal feeding stuffs — General rules for microbiological examinations*

ISO 8261, *Milk and milk products — General guidance for the preparation of test samples, initial suspensions and decimal dilutions for microbiological examination*

ISO/TS 11133-1, *Microbiology of food and animal feeding stuffs — Guidelines on preparation and production of culture media — Part 1: General guidelines on quality assurance for the preparation of culture media in the laboratory*

ISO/TS 11133-2, *Microbiology of food and animal feeding stuffs — Guidelines on preparation and production of culture media — Part 2: Practical guidelines on performance testing of culture media*

3 Terms and definitions

For the purposes of this document, the following terms and definitions apply.

3.1 presumptive *Escherichia coli*
bacteria which at 44 °C ferment lactose with the production of gas, and which at 44 °C produce indole from tryptophan, when the test is carried out in accordance with the method specified in this International Standard

3.2 enumeration of presumptive *Escherichia coli*
most probable number of *E. coli* per millilitre or per gram of the test sample when the test is carried out according to the method specified in this International Standard

4 Principle

4.1 Detection method

4.1.1 A liquid selective enrichment medium is inoculated with a specified quantity of the initial suspension of the test sample.

4.1.2 The tube is incubated at 37 °C for up to 48 h. The tube is examined for gas production after 24 h and 48 h.

4.1.3 If the tube has given rise to opacity, cloudiness or gaseous emission, it is subcultured to a tube containing a liquid selective medium (EC broth).

4.1.4 The tube obtained in 4.1.3 is incubated at 44 °C for up to 48 h. The tube is examined for gas production after 24 h and 48 h.

4.1.5 If the tube of medium obtained in 4.1.4 has given rise to gaseous emission, it is subcultured to a tube containing indole-free peptone water.

4.1.6 The tube obtained in 4.1.5 is incubated at 44 °C for 48 h. The tube is examined for indole production resulting from the degradation of tryptophan in the peptone constituent.

4.1.7 Tubes showing opacity, cloudiness or gas production in the liquid selective enrichment medium (4.1.1) and whose subcultures have produced gas in the EC broth and indole in the peptone water at 44 °C are considered to contain presumptive *Escherichia coli*. The results are given as the "presence" or "absence" of presumptive *Escherichia coli* in x g or x ml of product.

4.2 Enumeration method

4.2.1 Three tubes of double-strength liquid selective enrichment medium are inoculated with a specified quantity of the initial suspension.

4.2.2 Three tubes of single-strength liquid enrichment medium are inoculated with a specified quantity of the initial suspension.

Then, under the same conditions, another three tubes of the single-strength medium are inoculated with a specified quantity of decimal dilutions of the initial suspension.

4.2.3 The tubes of double- and single-strength medium are incubated at 37 °C for up to 48 h. The tubes are examined for gas production after 24 h and 48 h.

4.2.4 Each tube of double-strength medium that has given rise to opacity, cloudiness or gaseous emission, and each tube of single-strength medium that has given rise to gaseous emission, is subcultured to a tube containing a liquid selective medium (EC broth).

4.2.5 The tubes obtained in 4.2.4 are incubated at 44 °C for up to 48 h. The tubes are examined for gas production after 24 h and 48 h.

4.2.6 Each tube of medium obtained in 4.2.5 that has given rise to gaseous emission is subcultured to a tube containing indole-free peptone water.

4.2.7 The tubes obtained in 4.2.6 are incubated at 44 °C for 48 h. The tubes are examined for indole production resulting from the degradation of tryptophan in the peptone constituent.

4.2.8 The most probable number of presumptive *Escherichia coli* is determined by means of the MPN table (see Annex A), according to the number of tubes of single- and double-strength medium whose subcultures have produced gas in the EC broth and indole in the peptone water at 44 °C.

5 Diluent, culture media and reagent

For current laboratory practice, see ISO 7218.

5.1 Diluent

In general, see ISO 6887-1, but for milk products see ISO 8261.

5.2 Selective enrichment medium (lauryl sulfate broth)

5.2.1 Composition

	a) Double-strength medium	b) Single-strength medium
Enzymatic digest of plant and animal tissues	40,0 g	20,0 g
Lactose	10,0 g	5,0 g
Dipotassium monohydrogen phosphate (K ₂ HPO ₄)	5,5 g	2,75 g
Potassium dihydrogen phosphate (KH ₂ PO ₄)	5,5 g	2,75 g
Sodium chloride	10,0 g	5,0 g
Sodium lauryl sulfate [CH ₃ (CH ₂) ₁₁ OSO ₃ Na]	0,2 g	0,1 g
Water	1 000 ml	1 000 ml

5.2.2 Preparation

Dissolve the components or the dehydrated complete medium in the water, by heating if necessary.

Adjust the pH, if necessary, so that after sterilization it is $6,8 \pm 0,2$ at 25 °C.

ISO 7251:2005(E)

Dispense the media in quantities of 9 ml into tubes of dimensions 16 mm × 160 mm (6.4) containing Durham tubes (6.6) in the case of single-strength medium, and 10 ml into test tubes of dimensions 18 mm × 180 mm or 20 mm × 200 mm (6.4) containing Durham tubes (6.6) in the case of the double-strength medium.

Sterilize for 15 min in an autoclave (6.1) set at 121 °C.

The Durham tubes shall not contain air bubbles after sterilization.

5.3 EC broth (selective medium)

5.3.1 Composition

Enzymatic digest of casein	20,0 g
Lactose	5,0 g
Bile salts No. 3 ^a	1,5 g
Potassium monohydrogen phosphate (K ₂ HPO ₄)	4,0 g
Potassium dihydrogen phosphate (KH ₂ PO ₄)	1,5 g
Sodium chloride	5,0 g
Water	1 000 ml
^a See Reference [1].	

5.3.2 Preparation

Dissolve the components or the dehydrated complete medium in the water, by heating if necessary.

Adjust the pH, if necessary, so that after sterilization it is $6,8 \pm 0,2$ at 25 °C.

Dispense the medium in quantities of 10 ml into tubes of dimensions 16 mm × 160 mm (6.4) containing Durham tubes (6.6).

Sterilize for 15 min in an autoclave (6.1) set at 121 °C.

The Durham tubes shall not contain air bubbles after sterilization.

5.3.3 Performance testing and quality assurance of the culture medium

To test the performance of the medium, see ISO/TS 11133-1 and ISO/TS 11133-2.

5.4 Peptone water, indole free

5.4.1 Composition

Enzymatic digest of casein	10,0 g
Sodium chloride	5,0 g
Water	1 000 ml

5.4.2 Preparation

Dissolve the components or the complete dehydrated medium in the water, by heating if necessary.

Adjust the pH, if necessary, so that after sterilization it is $7,3 \pm 0,2$ at 25 °C.

Dispense the medium in quantities of 5 ml to 10 ml into tubes of dimensions 16 mm × 160 mm (6.4).

Sterilize for 15 min in an autoclave (6.1) set at 121 °C.

5.5 Indole reagent (Kovacs' reagent)

5.5.1 Composition

4-Dimethylaminobenzaldehyde	5,0 g
2-Methylbutan-1-ol or pentan-1-ol	75,0 ml
Hydrochloric acid (ρ_{20} 1,18 g/ml to 1,19 g/ml)	25,0 ml

5.5.2 Preparation

Dissolve the 4-dimethylaminobenzaldehyde in the alcohol by heating gently by means of a water bath maintained at between 50 °C and 55 °C.

Cool and add the acid.

Protect from light and store at approximately 4 °C (see ISO 7218).

The reagent shall be light yellow to light brown.

NOTE A ready-to-use commercially available preparation may also be used.

6 Apparatus and glassware

NOTE Disposable apparatus is an acceptable alternative to reusable glassware if it has similar specifications.

Usual microbiological laboratory equipment and, in particular, the following.

6.1 Apparatus for dry sterilization (oven) or wet sterilization (autoclave)

See ISO 7218.

6.2 Incubator, capable of operating at $37 \text{ °C} \pm 1 \text{ °C}$ and $44 \text{ °C} \pm 1 \text{ °C}$.

6.3 Water bath, capable of being maintained at $44 \text{ °C} \pm 1 \text{ °C}$.

6.4 Test tubes, of dimensions approximately 16 mm × 160 mm and 18 mm × 180 mm or 20 mm × 200 mm.

6.5 Sampling loops, made of platinum/iridium or nickel/chromium, approximately 3 mm in diameter, or approximately 10 µl **sterile disposable sampling loops**.

6.6 Durham tubes, of a size suitable for use in the test tubes (6.4).

6.7 Total-delivery pipettes, having nominal capacities of 1 ml and 10 ml.

6.8 pH-meter, having a resolution of 0,01 pH units and accurate to within $\pm 0,1$ pH units at 25 °C.

7 Sampling

A representative sample should have been sent to the laboratory. It should not have been damaged or changed during transport or storage.

Sampling is not part of the method specified in this International Standard. If there is no specific International Standard dealing with sampling of the product concerned, it is recommended that the parties concerned come to an agreement on this subject.

8 Preparation of test sample

Prepare the test sample in accordance with the specific International Standard appropriate to the product concerned. If there is no specific International Standard, it is recommended that the parties concerned come to an agreement on this subject.

9 Procedure

9.1 Detection method

9.1.1 Test portion and initial suspension

See the appropriate part of ISO 6887 depending on the product concerned, or ISO 8261.

Add 1 ml of the initial suspension to 9 ml of single-strength lauryl sulfate broth [5.2.1 b)] (i.e. 0,1 g or 0,1 ml of the sample) or 10 ml of the initial suspension to 10 ml of double-strength lauryl sulfate broth [(5.2.1 a)] (i.e. 1 g or 1 ml of the sample). For larger volumes of test portions, prepare the initial suspension by adding x ml or x g to $9x$ ml of the diluent (see ISO 6887 or ISO 8261), then add the entire initial suspension to $90x$ ml of single-strength lauryl sulfate broth [5.2.1 b)]. For example, add 5 ml or 5 g of the sample to 45 ml of the diluent, and add this entire initial suspension to 450 ml of single-strength lauryl sulfate broth [5.2.1 b)], or add the test portion to an equal volume of double-strength lauryl sulfate broth [5.2.1 a)].

9.1.2 Incubation of the selective enrichment medium (lauryl sulfate broth)

Incubate single-strength or double-strength lauryl sulfate broth (5.2) in the incubator (6.2) set at 37 °C for 24 ± 2 h. If, at this stage, neither gas production nor opacity preventing the observation of gas production is observed, incubate for up to $48 \text{ h} \pm 2 \text{ h}$.

NOTE For live shellfish, an incubation time of $48 \text{ h} \pm 2 \text{ h}$ may be used.

For some milk products (e.g. casein), the Durham tube may stick to the bottom of the tubes of selective enrichment medium. If, after 48 h incubation period, opacity is observed but no gas production, inoculate the EC broth with this broth and proceed with the method as described in 9.1.3.

9.1.3 Inoculation and incubation of the selective medium (EC broth)

After incubation of double-strength medium [(5.2.1 a)] according to 9.1.2, if opacity, cloudiness or any visible gas is observed, or after incubation of the single-strength medium [(5.2.1 b)] according to 9.1.2 if visible gas is observed, inoculate a tube of EC broth (5.3) with a sampling loop (6.5) and incubate in a water bath (6.3) or an incubator (6.2) set at 44 °C for $24 \text{ h} \pm 2 \text{ h}$. If, at this stage, there is no visible gas in the EC broth (5.3), extend the incubation time up to a total of $48 \text{ h} \pm 2 \text{ h}$.

NOTE For live shellfish, a total incubation time of not more than $24 \text{ h} \pm 2 \text{ h}$ may be used.

9.1.4 Inoculation and incubation of the peptone water

After incubation according to 9.1.3, if visible gas is observed, inoculate a tube of peptone water (5.4), preheated to 44 °C, using a sampling loop (6.5). Incubate for 48 h ± 2 h at 44 °C.

9.1.5 Examination for indole production

Add 0,5 ml of indole reagent (5.5) to the tubes of peptone water (5.4) incubated according to 9.1.4.

Mix well and examine after 1 min. A red colour in the alcoholic phase indicates the presence of indole.

9.1.6 Interpretation

Consider as positive the selective enrichment medium incubated according to 9.1.2 that has given rise (after subculturing and incubation according to 9.1.3 and 9.1.4) to visible gas in the tube of EC broth and to indole production in the tube of peptone water.

9.2 Enumeration method

9.2.1 Test portion, initial suspension and dilutions

See the appropriate part of ISO 6887 depending on the product concerned, or ISO 8261.

Prepare a sufficient number of dilutions to ensure that all the tubes for the final dilution will yield a negative result.

9.2.2 Inoculation and incubation of the selective enrichment medium (lauryl sulfate broth)

9.2.2.1 A series of three tubes for each dilution is scheduled. It is necessary to incubate a series of five tubes (see Annex A) for live shellfish or other special products, and/or when greater accuracy of the results is required.

9.2.2.2 Take three tubes of double-strength selective enrichment medium [5.2.1 a)]. Using a sterile pipette (6.7), transfer to each of these tubes 10 ml of the initial suspension. These test portions correspond to 1 g of sample per tube.

9.2.2.3 Then take three tubes of single-strength selective enrichment medium [5.2.1 b)]. Using a fresh sterile pipette (6.7), transfer to each of these tubes 1 ml of the initial suspension. These test portions correspond to 0,1 g of sample per tube.

9.2.2.4 For each of the further dilutions (equal to 0,01 g, 0,001 g, etc. of sample per tube), proceed as in 9.2.2.3. Use a new sterile pipette for each dilution. Carefully mix the inoculum and the medium.

9.2.2.5 Incubate the tubes of double-strength selective enrichment medium inoculated in 9.2.2.2 and the tubes of single-strength selective enrichment medium inoculated in 9.2.2.3 and 9.2.2.4 in the incubator (6.2) set at 37 °C for 24 h ± 2 h. If, at this stage, neither gas production nor opacity preventing the observation of gas production is observed, incubate for up to 48 h ± 2 h.

For live shellfish, the incubation time shall be 48 h ± 2 h.

For some milk products (e.g. casein), the Durham tube may stick to the bottom of the tubes of selective enrichment medium. If after the 48 h incubation period, opacity is observed but no gas production, inoculate the EC broth (5.3) with this broth and proceed with the method as described in 9.2.3.

9.2.3 Subculturing and incubation of the selective medium (EC broth)

9.2.3.1 For each tube of double-strength medium incubated according to 9.2.2.5 showing opacity, cloudiness or any visible gas, and for each tube of single-strength medium incubated according to 9.2.2.5 showing visible gas subculture to a tube containing EC broth (5.3) with a sampling loop (6.5).

9.2.3.2 Incubate the tubes inoculated as in 9.2.3.1 in a water bath (6.3) or an incubator (6.2) set at 44 °C for 24 h ± 2 h. If, at this stage, there is no visible gas in the EC broth (5.3), extend the incubation up to a total of 48 h ± 2 h.

For live shellfish, the total incubation time shall be limited to 24 h ± 2 h.

9.2.4 Inoculation and incubation of the peptone water

For each tube incubated according to 9.2.3.2 and showing any visible gas, inoculate a tube of peptone water (5.4), preheated to 44 °C, using a sampling loop (6.5). Incubate for 48 h ± 2 h at 44 °C.

9.2.5 Examination for indole production

Add 0,5 ml of indole reagent (5.5) to the tubes of peptone water (5.4) incubated according to 9.2.4.

Mix well and examine after 1 min. A red colour in the alcoholic phase indicates the presence of indole.

9.2.6 Interpretation

Consider as positive each tube of double-strength [5.2.1 a)] or single-strength [5.2.1 b)] selective enrichment medium incubated according to 9.2.2 that has given rise (after subculturing and incubation according to 9.2.3 and 9.2.4) to any visible gas in the tube of EC broth and to indole production in the tube of peptone water.

For each dilution, count the number of positive result tubes of double-strength [5.2.1 a)] and single-strength [5.2.1 b)] medium.

10 Expression of results

10.1 Detection method

In accordance with the interpretation of the results (9.1.6), report the presence or absence of presumptive *Escherichia coli* in the test portion, specifying the mass in grams, or the volume in millilitres, of the test sample.

10.2 Enumeration method

See Annex A.

EXAMPLE Using a solid sample and three tubes, in 95 % of cases, the confidence limits vary from 13 to 200 presumptive *Escherichia coli* per gram for an MPN of $7,4 \times 10$ presumptive *Escherichia coli* per gram, and from 4 to 99 presumptive *Escherichia coli* per gram for an MPN of $2,4 \times 10$ presumptive *Escherichia coli* per gram.

11 Test report

The test report shall specify:

- a) all information necessary for the complete identification of the sample;
- b) the sampling method used, if known;

- c) the test method used, with reference to this International Standard;
- d) all operating details not specified in this International Standard, or regarded as optional, together with details of any incidents which may have influenced the test results;
- e) the test results obtained.

Annex A (normative)

MPN table

A.1 MPN calculations using three tubes

See ISO 7218.

A.2 MPN calculations using five tubes

See Table A.1.

Table A.1 — MPN table for 5 × 1 g (ml), 5 × 0,1 g (ml) and 5 × 0,01 g (ml)

Number of positive results			MPN index	Category ^a when the number of samples (per batch) tested is					Confidence limits			
				1	2	3	5	10	≥ 95 %	≥ 95 %	≥ 99 %	≥ 99 %
0	0	0	< 0,18						0,00	0,65	0,00	0,93
0	0	1	0,18	2	2	2	1	1	0,00	0,65	0,00	0,93
0	1	0	0,18	2	2	2	1	1	0,01	0,65	0,00	0,93
0	1	1	0,36	3	3	3	2	2	0,07	0,99	0,02	1,40
0	2	0	0,37	3	2	2	2	1	0,07	0,99	0,02	1,40
0	2	1	0,55	0	0	0	3	3	0,17	1,40	0,09	2,10
0	3	0	0,56	0	3	3	3	3	0,17	1,40	0,09	2,10
1	0	0	0,20	1	1	1	1	1	0,02	0,99	0,01	1,40
1	0	1	0,40	2	1	1	1	1	0,07	1,00	0,02	1,40
1	0	2	0,60	0	0	3	3	3	0,17	1,40	0,09	2,10
1	1	0	0,40	1	1	1	1	1	0,07	1,10	0,03	1,40
1	1	1	0,61	3	2	2	2	1	0,17	1,40	0,09	2,10
1	1	2	0,81	0	0	0	0	3	0,33	2,20	0,20	2,80
1	2	0	0,61	2	1	1	1	1	0,18	1,40	0,09	2,10
1	2	1	0,82	3	3	3	3	2	0,33	2,20	0,20	2,80
1	3	0	0,83	3	3	3	3	2	0,33	2,20	0,20	2,80
1	3	1	1,0	0	0	0	0	3	0,3	2,2	0,2	2,8
1	4	0	1,1	0	0	0	0	3	0,3	2,2	0,2	2,8
2	0	0	0,45	1	1	1	1	1	0,08	1,4	0,04	2,10
2	0	1	0,68	2	1	1	1	1	0,18	1,50	0,09	2,10
2	0	2	0,91	0	3	3	3	3	0,33	2,20	0,20	2,80
2	1	0	0,68	1	1	1	1	1	0,19	1,70	0,10	2,30
2	1	1	0,92	2	2	1	1	1	0,33	2,20	0,20	2,80

Table A.1 (continued)

Number of positive results			MPN index	Category ^a when the number of samples (per batch) tested is					Confidence limits			
				1	2	3	5	10	≥ 95 %	≥ 95 %	≥ 99 %	≥ 99 %
2	1	2	1,2	0	0	3	3	3	0,4	2,5	0,2	3,4
2	2	0	0,93	1	1	1	1	1	0,34	2,20	0,20	2,80
2	2	1	1,2	3	3	2	2	2	0,4	2,5	0,2	3,4
2	2	2	1,4	0	0	0	0	3	0,6	3,4	0,4	4,4
2	3	0	1,2	3	2	2	2	1	0,4	2,5	0,2	3,4
2	3	1	1,4	0	3	3	3	3	0,6	3,4	0,4	4,4
2	4	0	1,5	0	3	3	3	3	0,6	3,4	0,4	4,4
3	0	0	0,78	1	1	1	1	1	0,21	2,20	0,12	2,80
3	0	1	1,1	1	1	1	1	1	0,4	2,2	0,2	2,9
3	0	2	1,3	3	3	3	2	2	0,6	3,4	0,4	4,4
3	1	0	1,1	1	1	1	1	1	0,4	2,5	0,2	3,4
3	1	1	1,4	2	1	1	1	1	0,6	3,4	0,4	4,4
3	1	2	1,7	3	3	3	3	2	0,6	3,4	0,4	4,4
3	2	0	1,4	1	1	1	1	1	0,6	3,4	0,4	4,4
3	2	1	1,7	2	2	2	1	1	0,7	3,9	0,5	5,1
3	2	2	2,0	0	3	3	3	3	0,7	3,9	0,5	5,2
3	3	0	1,7	2	2	1	1	1	0,7	3,9	0,5	5,2
3	3	1	2,1	3	3	3	2	2	0,7	3,9	0,5	5,2
3	3	2	2,4	0	0	0	3	3	1,0	6,6	0,7	9,4
3	4	0	2,1	3	3	2	2	2	0,7	4,0	0,5	5,2
3	4	1	2,4	0	3	3	3	3	1,0	6,6	0,7	9,4
3	5	0	2,5	0	0	0	3	3	1,0	6,6	0,7	9,4
4	0	0	1,3	1	1	1	1	1	0,4	3,4	0,3	4,4
4	0	1	1,7	1	1	1	1	1	0,5	3,4	0,4	4,4
4	0	2	2,1	3	2	2	2	2	0,7	3,9	0,5	5,2
4	0	3	2,5	0	0	0	0	3	1,0	6,6	0,7	9,4
4	1	0	1,7	1	1	1	1	1	0,6	3,9	0,4	5,1
4	1	1	2,1	1	1	1	1	1	0,7	4,1	0,5	5,3
4	1	2	2,6	3	3	2	2	2	1,0	6,6	0,7	9,4
4	1	3	3,1	0	0	0	0	3	1,0	6,6	0,7	9,4
4	2	0	2,2	1	1	1	1	1	0,7	4,8	0,5	6,1
4	2	1	2,6	2	1	1	1	1	1,0	6,6	0,7	9,4
4	2	2	3,2	3	3	3	2	2	1,0	6,6	0,7	9,4
4	2	3	3,8	0	0	0	0	3	1,3	10,0	0,9	14,7
4	3	0	2,7	1	1	1	1	1	1,0	6,6	0,7	9,4
4	3	1	3,3	2	2	1	1	1	1,0	6,6	0,7	9,4
4	3	2	3,9	3	3	3	3	2	1,3	10,0	0,9	14,7

Table A.1 (continued)

Number of positive results			MPN index	Category ^a when the number of samples (per batch) tested is					Confidence limits			
				1	2	3	5	10	≥ 95 %	≥ 95 %	≥ 99 %	≥ 99 %
4	4	0	3,4	2	2	1	1	1	1,3	10,0	0,9	14,7
4	4	1	4,0	3	3	2	2	2	1,3	10,0	0,9	14,7
4	4	2	4,7	0	0	0	3	3	1,4	11,3	0,9	14,7
4	5	0	4,1	3	3	3	3	2	1,3	10,0	0,9	14,7
4	5	1	4,8	0	0	3	3	3	1,4	11,3	0,9	14,7
5	0	0	2,3	1	1	1	1	1	0,7	6,6	0,5	9,4
5	0	1	3,1	1	1	1	1	1	1,0	6,6	0,7	9,4
5	0	2	4,3	3	2	2	2	1	0,3	10,0	0,9	14,7
5	0	3	5,8	0	0	0	3	3	2,1	14,9	1,4	20,0
5	1	0	3,3	1	1	1	1	1	1,0	10,0	0,7	14,7
5	1	1	4,6	1	1	1	1	1	1,4	11,3	0,9	14,7
5	1	2	6,3	2	2	1	1	1	2,1	14,9	1,4	20,0
5	1	3	8,4	3	3	3	3	2	3,4	11,0	2,1	27,0
5	2	0	4,9	1	1	1	1	1	1,5	14,9	0,9	20,0
5	2	1	7,0	1	1	1	1	1	2,2	16,8	1,4	23,0
5	2	2	9,4	2	2	1	1	1	3,4	22,0	2,1	28,0
5	2	3	12	3	3	2	2	2	3	24	2	32
5	2	4	15	0	0	0	0	3	6	35	4	45
5	3	0	7,9	1	1	1	1	1	2,3	22,0	1,5	27,0
5	3	1	11	1	1	1	1	1	3	24	2	32
5	3	2	14	1	1	1	1	1	5	35	3	45
5	3	3	17	3	2	2	2	1	7	39	4	51
5	3	4	21	3	3	3	3	2	7	39	4	51
5	4	0	13	1	1	1	1	1	3	35	3	45
5	4	1	17	1	1	1	1	1	6	39	4	51
5	4	2	22	1	1	1	1	1	7	44	4	57
5	4	3	28	2	1	1	1	1	10	70	6	92
5	4	4	35	2	2	2	1	1	10	70	6	92
5	4	5	43	0	0	3	3	3	15	106	9	150
5	5	0	24	1	1	1	1	1	7	70	4	92
5	5	1	35	1	1	1	1	1	10	106	6	150
5	5	2	54	1	1	1	1	1	15	166	10	223
5	5	3	92	1	1	1	1	1	23	253	15	338
5	5	4	160	1	1	1	1	1	40	460	20	620
5	5	5	> 160									

NOTE These results are based on Reference [2].

^a For an explanation of the categories, see ISO 7218.

Bibliography

- [1] *ICMSF Microorganisms in Foods*, 1988, Vol. 1, p. 280, University of Toronto Press, Toronto, Canada
- [2] DE MAN, J.C. MPN tables, corrected. *Eur. J. Appl. Biotechnol.*, 1983, **17**, pp. 301-305

ANEXO 7: Fotografías del desarrollo de la investigación.

Determinación del índice de madurez en la materia prima



Recepción



Transporte



Lavado



Extracción



Troceado



Maceración



Licudo



Destilación



Condensación



Separación



Inspección



Envasado



Almacenado



Análisis realizados al aceite esencial



Densidad



pH

Harina Recepción



Lavado



Secado



Pulverizado



Tamizado



Envasado



Almacenado



Análisis microbiológicos en la harina



Pruebas de Catación



ANEXO 9: Glosario de términos técnicos

Aceite: La palabra aceite (del árabe az-zait, el jugo de la aceituna, y éste del arameo zayta) es un término genérico para designar numerosos líquidos grasos de orígenes diversos que no se disuelven en el agua y que tienen menor densidad que ésta.

Aditivo: Un aditivo alimentario es toda sustancia que, sin constituir por sí misma un alimento ni poseer valor nutritivo, se agrega intencionadamente a los alimentos y bebidas en cantidades mínimas con objetivo de modificar sus caracteres organolépticos o facilitar o mejorar su proceso de elaboración o conservación.

Densidad: La densidad es una medida utilizada por la física y la química para determinar la cantidad de masa contenida en un determinado volumen.

Deshidratación: La deshidratación es la pérdida excesiva de agua y sales minerales de un cuerpo.

Destilación: Es la operación de separar, mediante evaporización y condensación, los diferentes componentes líquidos, sólidos disueltos en líquidos o gases.

Evaporación: La evaporación es un proceso físico que consiste en el pasaje lento y gradual de un estado líquido hacia un estado gaseoso, tras haber adquirido energía suficiente para vencer la tensión superficial.

Harina: Polvo obtenido al moler los granos de trigo, de otros cereales, de semillas de diversas leguminosas y también de algunos tubérculos, así como de pescado.

Limoneno: El limoneno es una sustancia natural que se extrae del aceite de las cáscaras de los cítricos y que da olor característico a las naranjas y los limones.

Método: (del griego meta (más allá) y hodos (camino), literalmente camino o vía para llegar más lejos). Modo ordenado y sistemático de proceder para llegar a un resultado o fin determinado.

Naranja: La naranja es una fruta cítrica comestible obtenida del naranjo dulce (*Citrus sinensis*), del naranjo amargo (*Citrus × aurantium*) y de naranjos de otras especies o híbridos, antiguos híbridos asiáticos originarios de India, Vietnam o el sureste de China.