UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLÍVAR

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS, RECURSOS NATURALES Y DEL AMBIENTE

CARRERA DE AGROINDUSTRIAS.

TEMA:

APROVECHAMIENTO DE LAS HOJAS DE MANDARINA DE DIFERENTES ESPECIES PARA LA OBTENCION DE EXTRACTOS Y LA APLICACIÓN EN LA BEBIDA TRADICIONAL PÁJARO AZUL

AUTORES:

CHIMBORAZO PUNINA ZOILA MARIELA

DUMAN YUPA STALIN LUIS

TUTOR:

ING. JUAN ALBERTO GAIBOR CHÁVEZ PH. D

GUARANDA – ECUADOR

2025

APROVECHAMIENTO DE LAS HOJAS DE MANDARINA DE DIFERENTES ESPECIES PARA LA OBTENCIÓN DE EXTRACTOS Y LA APLICACIÓN EN LA BEBIDA TRADICIONAL PÁJARO AZUL

REVISADO Y APROBADO POR:

Ing. Juan Alberto Gaibor Chávez PhD.
TUTOR

Ing. Franz Patricio Verdezoto Mendoza MSc.
PAR LECTOR

Ing. Isidro Favián Bayas Morejón PhD.
PAR LECTOR

CERTIFICACIÓN DE AUTORIA

Nosotros, Zoila Mariela Chimborazo Punina con cédula de ciudadanía 0250365103 y Stalin Luis Duman Yupa con cédula de ciudadanía 0302718788, declaramos que el trabajo y los resultados presentados en este informe, no han sido previamente presentados para ningún grado o calificación profesional; y, que las referencias bibliográficas que se incluyen han sido consultadas y citadas con sus respectivos autores.

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, su Reglamentación y la Normativa Institucional vigente.

Zoila Mariela Chimborazo Punina
C.I. 0250365103
AUTORA

Stalin Luis Duman Yupa
C.I. 0302718788
AUTOR

NOTARIA CUARTA DEL CANTÓN GUARANDA

Ing. Juan Alberto Gaibor Chávez PhD.
C.I. 0201051687
TUTOR

ESCRITURA N°20240201004P001281

DECLARACIÓN JURAMENTADA

OTORGAN:
ZOILA MARIELA CHIMBORAZO PUNINA Y
STALIN LUIS DUMAN YUPA
CUANTÍA: INDETERMINADA
Di 2 COPIA

P.A.

En el Cantón Guaranda, Provincia Bolívar, República del Ecuador, hoy lunes a los quince días del mes de diciembre del año dos mil veinticuatro, ante mi **DOCTORA MS. GINA LUCIA CLAVIJO CARRION, NOTARIA CUARTA DEL CANTÓN GUARANDA,** comparecen con plena capacidad, libertad y conocimiento, a la celebración de la presente escritura, la señorita **ZOILA MARIELA CHIMBORAZO PUNINA,** de estado civil soltera y **STALIN LUIS DUMAN YUPA**, de estado civil soltero, ambas partes por sus propios y personales derechos en calidad de OTORGANTES. Los comparecientes declaran ser de nacionalidad ecuatoriana, mayores de edad, de estado civil como se deja expresado, de ocupación estudiantes ambas partes, domiciliada la primera en comparecer en la parroquia Julio Moreno, cantón Guaranda, provincia de Bolívar, con número celular cero nueve ocho ocho nueve nueve cuatro cinco seis siete; y, con correo electrónico zchimborazo@mailes.ueb.edu.ec; y, el segúndo, en comparecer domiciliado en la parroquia El Tambo, cantón El Tambo, provincia Cañar y de paso por este cantón de Guaranda, con número celular cero nueve ocho siete ocho uno seis dos uno cinco ; y, con correo electrónico sduman@mailes.ueb.edu.ec; hábiles en derecho para contratar y contraer obligaciones, a quienes de conocerles doy fe, en virtud de haberme exhibido sus documentos de identificación cuyas copias fotostáticas debidamente certificadas por mí, agrego a esta escritura, además a petición expresa de los comparecientes se adjunta sus documentos personales como son las cedulas de ciudadanía y certificados de votación, como documentos habilitantes. Los comparecientes me autorizan de conformidad con el artículo setenta y cinco de la Ley Orgánica de Gestión de la Identidad y Datos Civiles, a la obtención e impresión del Registro Personal Único cuyo custodio es la Dirección General de Registro Civil, Identificación y Cedulación, que incorporo a la presente escritura. Además, me facultan de conformidad con el artículo sesenta y seis, numeral diecinueve de la Constitución de la República del Ecuador, en concordancia con el artículo ocho, de la Ley Orgánica de Protección de Datos Personales, a declarar y dar un tratamiento legítimo a sus datos personales en el presente instrumento público y además a petición expresa de las partes adjunto sus documentos personales como son cedulas de ciudadanía y certificados de votación, mismos que agrego a esta escritura como habilitantes, me solicitan que recepte su declaración juramentada. Nosotros: **ZOILA MARIELA CHIMBORAZO PUNINA Y STALIN LUIS DUMAN YUPA**, declaramos bajo juramento que los criterios e ideas emitidos en el presente proyecto de investigación, es de nuestra absoluta autoría, titulado: **APROVECHAMIENTO DE LAS HOJAS DE MANDARINA DE DIFERENTES ESPECIES PARA LA OBTENCIÓN DE EXTRACTOS Y LA APLICACIÓN EN LA BEBIDA TRADICIONAL PÁJARO AZUL.** previo a la obtención del título de Ingenieros Agroindustriales , otorgado por la Universidad Estatal de Bolívar, a través de la Facultad de Ciencias Agropecuarias recursos Naturales y del Ambiente, Carrera de Agroindustria.- Es todo cuanto podemos declarar en honor a la verdad.- Para su otorgamiento se observaron los preceptos de ley que el caso requiere y leída que les fue íntegramente a los comparecientes por mí la Notaria, aquellos se afirman y ratifican en la aceptación de su total contenido y firman junto conmigo en unidad de acto, incorporando al protocolo de esta Notaria la presente escritura de Declaración Juramentada, de todo lo cual doy Fe.--------

SRTA. ZOILA MARIELA CHIMBORAZO PUNINA
C.C. 0250365103

SR. STALIN LUIS DUMAN YUPA.
C.C. 0302718788

DOCTORA MSc. GINA CLAVIJO CARRION
NOTARIA CUARTA DEL CANTÓN GUARANDA

NOTARIA CUARTA DEL CANTÓN GUARANDA

INFORME DE ANÁLISIS
magister

Ante-proyectoChimborazo_Duman

9% Textos sospechosos

- 79% **Similitudes (ignorado)**
  - < 1 % similitudes entre comillas
  - < 1 % entre las fuentes mencionadas
- 5% **Idiomas no reconocidos (ignorado)**
- 9% **Textos potencialmente generados por la IA**

Nombre del documento: Ante-proyectoChimborazo_Duman.docx
ID del documento: 34414a1d02a11359a6f297b7f370eb6724eb1dbe
Tamaño del documento original: 10,61 MB

Depositante: ISIDRO FAVIAN BAYAS MOREJON
Fecha de depósito: 19/12/2025
Tipo de carga: interface
fecha de fin de análisis: 19/12/2025

Número de palabras: 33.082
Número de caracteres: 226.690

Ubicación de las similitudes en el documento:



Fuentes de similitudes

Fuentes principales detectadas

Nº	Descripciones	Similitudes	Ubicaciones	Datos adicionales
1	**Ante-proyectoChimborazo_Duman (2).docx** | Ante-proyectoChimboraz... #641e77 Viene de de mi biblioteca 15 fuentes similares	76%		Palabras idénticas: 76% (24.980 palabras)
2	**Ante-proyectoChimborazo_Duman to rev.docx** | Ante-proyectoChimbor... #b02f1f Viene de de mi biblioteca 15 fuentes similares	62%		Palabras idénticas: 62% (20.000 palabras)

Fuentes con similitudes fortuitas

Nº	Descripciones	Similitudes	Ubicaciones	Datos adicionales
1	**Documento de otro usuario** #0aa192 Viene de de otro grupo	< 1%		Palabras idénticas: < 1% (37 palabras)
2	**es.wikipedia.org** | Furfural - Wikipedia, la enciclopedia libre https://es.wikipedia.org/wiki/Furfural	< 1%		Palabras idénticas: < 1% (31 palabras)
3	**repositorio.unapiquitos.edu.pe** | Extracción de aromas vegetales, técnicas y co... http://repositorio.unapiquitos.edu.pe/handle/20.500.12737/1925	< 1%		Palabras idénticas: < 1% (22 palabras)
4	**zaguan.unizar.es** https://zaguan.unizar.es/record/125114/files/TAZ-TFG-2022-3404.pdf	< 1%		Palabras idénticas: < 1% (17 palabras)
5	**dspace.ups.edu.ec** | Evaluación de la capacidad antioxidante de los extractos alc... http://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/18542/4/UPS-CT008714.pdf	< 1%		Palabras idénticas: < 1% (20 palabras)

Fuentes mencionadas (sin similitudes detectadas)

Estas fuentes han sido citadas en el documento sin encontrar similitudes.

1 http://dx.doi.org/10.4067/S0718-221X2018005002601
2 https://doi.org/10.33789/talentos.11.1.198
3 https://repositorio.uea.edu.ec/xmlui/handle/123456789/1082
4 https://repository.agrosavia.co/bitstream/handle/20.500.12324/12639/75612_65856.pdf?sequence=1&isAllowed=y
5 https://dx.doi.org/10.20960/nh.04303

DEDICATORIA

Este trabajo de investigación es mucho más que palabras sobre papel; es el testimonio viviente de un sueño que se negó a morir, y se lo dedico:

A Dios, por sostenerme cuando pensé que no podría más, por darme la fortaleza que me faltaba y por poner en mi camino a las personas correctas en el momento justo. Gracias por cada bendición, por tu amor infinito y por iluminar cada paso de este camino. Por nunca abandonarme y por hacer posible este sueño tan anhelado.

A mis angelitos en el cielo, Segundo Punina y Zoila Gutiérres, que desde allá arriba me han cuidado y guiado. Aunque ya no puedo abrazarlos, siento su presencia en cada logro. Este triunfo también es de ustedes.

A mi madre, María Flor Punina Gutiérrez, pilar fundamental de mi existencia y arquitecta de mis sueños. Fuiste mi luz en la oscuridad, mi fuerza, la voz que susurraba "sigue adelante" cuando todo parecía imposible. Todo lo que soy hoy, cada cualidad que poseo, cada meta conquistada, germinó en el jardín de tu amor infinito. Sin tu presencia, tu guía y tu amor incondicional, este sueño jamás habría cobrado vida. Eres, has sido y serás siempre mi razón de ser y mi mayor inspiración.

A mis hermanas, mis primeras amigas y por estar en las buenas y en las malas, por hacerme reír cuando solo quería llorar. Ustedes son parte fundamental de quien soy.

A Deyvis Nina, mi compañero y apoyo incondicional. Gracias por los abrazos en los días grises, por entender mis ausencias durante este proceso, por ser mi refugio y mi impulso. Gracias por caminar a mi lado.

A cada persona que creyó en mí: familia, amigos, profesores. A los que me preguntaron cómo iba, a los que compartieron un café mientras estudiaba, a los que simplemente dijeron "tú puedes". Sus palabras fueron combustibles para mi motor.

Este logro no es solo mío, es de todos ustedes que caminaron conmigo.

Zoila Mariela Chimborazo Punina

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a Dios, quien nunca me soltó de su mano en las noches de desvelo, en los momentos de duda y en cada pequeña victoria. Gracias por sostenerme cuando sentí que no podía más y por recordarme que todo tiene su propósito y su tiempo perfecto.

Este logro se lo dedico a mi madre Luz y a mi padre Luis, mis pilares inquebrantables, mis héroes, cada sacrificio, cada preocupación convertida en oraciones, cada abrazo que sanó mis heridas está grabados en mi corazón. Ustedes me enseñaron que los sueños no se regalan, se conquistan con trabajo y humildad. Gracias por creer en mí, por secar mis lágrimas de frustración y por celebrar cada pequeño avance como si fuera el más grande de los triunfos. Los amo infinitamente.

A mis hermanos Cristian y Rebeca, se los dedico por todo lo que han sido para mí en este camino que sin ustedes hubiera sido imposible de recorrer. Les agradezco por no haberme soltado nunca, por haber invertido en mi futuro sin esperar nada a cambio y por haberme demostrado que el amor de hermanos es el más puro y desinteresado que existe. Cada sacrificio, cada abrazo, cada palabra de aliento quedaron grabados en mi alma para siempre, porque sin su apoyo yo no estaría aquí.

A mi querida Sonia, mi compañera incansable en esta travesía que muchas veces pareció interminable. No hay forma de expresar todo lo que significó tu presencia en este camino. Fuiste mi fortaleza cuando el cansancio me vencía, mi esperanza cuando la duda me consumía y por cuidar de nuestra familia en momentos de mi ausencia. Gracias por todo.

A mi pequeño hijo Ian, mi razón de ser, cada palabra que escribí en esta tesis la escribí pensando en ti, este sacrificio lo hice porque quiero darte un futuro mejor, porque quiero que un día te sientas orgulloso de tu papá y también enseñarte que los sueños se luchan, aunque duelan, por esperarme con paciencia y por amarme incluso en la distancia. Este logro es tuyo, porque sin tu amor incondicional, yo no hubiera tenido la fuerza para llegar hasta el final. eres lo más valioso que tengo en esta vida.

Stalin Luis Duman Yupa

AGRADECIMIENTO

En primer lugar, elevo mi gratitud infinita a Dios, quien iluminó mi camino, fortaleció mi espíritu en los momentos difíciles y me permitió alcanzar este sueño.

A mis padres por su apoyo constante, especialmente a mi amada madre, el ser más maravilloso que la vida me ha dado. Gracias por ser mi luz, mi fortaleza y mi refugio. Tu apoyo incondicional económico, emocional y espiritual, tus consejos sabios y tu amor inquebrantable fueron el motor de este logro. Todo lo que soy y he conseguido te lo debo a ti, mamá. Esta meta es tan tuya como mía.

A mis amigos y familiares que creyeron en mí. En especial, a Diana Pacheco y Deyvis Nina, pilares fundamentales durante mi vida universitaria, cuya amistad sincera y presencia en los momentos difíciles fueron esenciales.

A mi alma mater, la Universidad Estatal de Bolívar, y a la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales, carrera de Agroindustrias, por formarme con calidad y pasión. A cada docente que dejó huella en mi formación, gracias por sembrar en mí el amor por esta noble profesión.

Expreso mi profundo agradecimiento al Ing. Juan Alberto Gaibor, tutor de esta investigación, por su invaluable guía, dedicación y sabiduría. Más que un tutor, ha sido un verdadero maestro y mentor. Agradezco igualmente al Dr. Fabián Bayas y al Ing. Franz Verdezoto, pares evaluadores, por sus valiosas observaciones que enriquecieron este proyecto.

Finalmente, mi sincero reconocimiento al departamento de laboratorios de investigación de la Universidad Estatal de Bolívar, especialmente a la Ing. María Fernanda Quinteros y a la Ing. Erika Cortez Rojas, por su invaluable apoyo y acompañamiento técnico, fundamentales para el desarrollo exitoso de esta investigación.

Gracias de todo corazón.

Zoila Mariela Chimborazo Punina

AGRADECIMIENTO

Expreso un infinito agradecimiento a Dios por haberme sostenido en cada tropiezo, por darme la sabiduría para comprender y la perseverancia para no rendirme.

A mi familia, mi refugio y mi motor, gracias por ser el pilar fundamental en cada etapa de este camino. Por cada palabra de aliento en los momentos de duda, por cada sacrificio silencioso que hicieron para que yo pudiera seguir adelante, porque cada página lleva impresa su amor incondicional y su apoyo inquebrantable.

A la Universidad Estatal de Bolívar, por ser la cuna de mi formación académica y profesional. A la Carrera de Agroindustrias, por prepararme para enfrentar los desafíos del sector productivo y por inculcar en mí el compromiso con el desarrollo agroindustrial de nuestro país. Llevo con orgullo el sello de esta institución y el honor de ser parte de su comunidad universitaria.

Mis sinceros agradecimientos al Dr. Juan Gaibor Chávez, por su dirección académica, su disposición constante y su invaluable aporte durante todo el proceso de investigación. Su experiencia y conocimientos fueron pilares fundamentales para la culminación de este trabajo. De igual manera, agradezco al Dr. Fabián Vayas Morejón e Ing. Frank Verdezoto Mendoza, por su labor como evaluadores, por sus pertinentes observaciones y por contribuir con su experticia al mejoramiento de esta investigación. Su profesionalismo y dedicación son dignos de reconocimiento.

Expreso mi agradecimiento al Laboratorio de Investigación y Vinculación de la Universidad Estatal de Bolívar, por proveer las instalaciones y recursos técnicos indispensables para la ejecución de la fase experimental de esta investigación. De manera especial, agradezco al personal del laboratorio por su asistencia técnica, su orientación en el manejo de equipos y su colaboración permanente durante todo el proceso investigativo.

Stalin Luis Duman Yupa

ÍNDICE DE CONTENIDO

CONTENIDO

CAPÍTULO I XX

1.1 INTRODUCCIÓN 1

1.2 PROBLEMA 2

1.3 OBJETIVOS 3

1.3.1 Objetivo general 3

1.3.2 Objetivos específicos 3

1.4 HIPÓTESIS 4

1.4.1 Hipótesis nula (H_0): 4

1.4.2 Hipótesis alterna (H_1): 4

CAPÍTULO II 5

2 MARCO TEÓRICO 5

2.1 Hoja de mandarina 5

2.2 Anatomía externa e interna 5

2.3 Taxonomía de la hoja de mandarina 6

2.3.1 Características de la hoja de mandarina 6

2.3.2 Clasificación de las hojas de mandarina de diferentes especies 7

2.3.3 Valor nutricional de la hoja de mandarina 7

2.3.4 Beneficios de la hoja de mandarina 8

2.3.5 Composición de la hoja de mandarina 8

2.4 Historia de la bebida alcohólica artesanal pájaro azul 11

2.4.1 Ingredientes para la formulación de la bebida alcohólica 11

2.5 Parámetros físicos químicos del pájaro azul 12

2.5.1 Parámetros físicos 12

2.5.1.1 Contenido de pH 13

2.5.1.2 Contenido de grados Brix 14
2.5.1.3 Determinación de la densidad 15
2.5.1.4 Contenido de turbidez del pájaro azul 15
2.5.1.5 Determinación de temperatura 16
2.5.1.6 Contenido de solidos totales 16
2.5.1.7 Contenido de grados alcohólicos 18
2.5.2 Parámetros químicos 18
2.5.2.1 Contenidos de alcoholes superiores 19
2.5.2.2 Contenido de acetaldehídos 19
2.5.2.3 Contenido de etilaceto 19
2.5.2.4 Determinación de furfural 20
2.6 Métodos de extracción 20
2.6.1 Procesos de extracción 20
2.6.2 Proceso de extracción hoja de mandarina por ultrasonido 21
2.6.2.1 Fundamento de la extracción por ultrasonido 22
2.6.2.2 Extracción por ultrasonido 23
2.6.2.3 Parámetros de operación 23
2.6.3 Extracción hoja de mandarina por maceración 24
2.6.3.1 Fundamento de la extracción por maceración 25
2.6.3.2 Extracción por maceración 25
2.6.4 Extracción hoja de mandarina por percolación 25
2.6.4.1 Fundamento de la extracción por percolación 25
2.6.4.2 Extracción por percolación 26
2.7 Extractos de la hoja de mandarina 26
2.7.1 Clasificación de los extractos hojas de mandarina 27
2.7.2 Origen 27

2.7.3 Propiedades físicas del extracto de las hojas de mandarina 27
2.7.4 Caracterización del extracto de la hoja de mandarina 28
2.8 Cromatografía de masas acoplada a espectrometría (GC-MS) 28
2.8.1 Componentes instrumentales y configuración del sistema 28
2.8.1.1 Preparación de muestras y metodología analítica 29
2.8.2 Modos de adquisición y estrategias de detección 30
2.8.3 Aplicaciones en diferentes campos científicos 30
2.8.4 Ventajas distintivas de la técnica 31
2.8.5 Limitaciones y consideraciones tecnicas 31
2.9 Evaluación colorimétrica del extracto natural 32
2.9.1 Estabilidad del color bajo diferentes condiciones ambientales 32
2.9.2 Comparación del color entre muestras testigo y con extracto 32
2.9.3 Influencia del alcohol y otros componentes en la coloración 32
CAPÍTULO III 33
3 MARCO METODOLÓGICO 33
3.1 Ubicación de la investigación 33
3.1.1 localización de la investigación 33
3.1.2 Situación geográfica y climática de la localidad 33
3.2 Metodología 34
3.2.1 Materiales experimentales 34
3.2.2 Materiales de campo 34
3.2.3 Materiales de laboratorio 34
3.2.4 Insumos y reactivos 34
3.2.5 Equipos 35
3.3 Métodos 36
3.3.1 Factores de estudio 36

3.3.2 Tratamientos para estudios experimentales 36
3.3.3 Características del experimento 37
3.3.4 Diseño experimental 37
3.3.5 Modelo de análisis de varianza (ANOVA) 37
3.3.6 Modelo de prueba de rangos múltiples 38
3.4 Metodología experimental 38
3.4.1 Tipos de análisis de la hoja de mandarina 38
3.4.1.1 análisis proximal de la hoja de mandarina 39
3.4.1.1.1 Determinación de humedad 39
3.4.1.1.2 Determinación de ceniza 39
3.4.1.1.3 Contenido de materias volátiles 39
3.4.1.2 Análisis elemental de la hoja de mandarina 39
3.4.1.2.1 Porcentaje total de carbono 39
3.4.1.2.2 Porcentaje total de Nitrógeno 39
3.4.1.2.3 Porcentaje total de Hidrogeno 39
3.4.1.2.4 Porcentaje total de Azufre 39
3.5 Desarrollo y técnicas de manejo de tipos de extracciones 40
3.5.1 Proceso de extracción por ultrasonido 40
3.5.2 Etapas del proceso de extracción por maceración 41
3.5.3 Etapas del proceso de extracción por percolación 43
3.6 Identificación de compuestos volátiles por cromatografía de masas 45
3.7 Bebida alcohólica tradicional pájaro azul 47
3.7.1 Diagrama de proceso de la elaboración de la bebida alcohólica 48
3.7.2 Procedimiento para la elaboración de la bebida alcohólica 48
CAPÍTULO IV 54
4 REULTADOS Y DISCUSIÓN 54

4.1 Análisis proximal y elemental de las hojas de mandarina 54
4.1.1 Análisis elemental de las hojas de mandarina 54
4.1.2 Análisis proximal de las hojas de mandarina 55
4.1.2.1 Fase fresca 55
4.1.2.2 Fase seca 56
4.2 Extracción del extracto hojas de mandarina 57
4.2.1 Análisis ANOVA de la variable rendimiento del extracto 57
4.2.1.1 Efecto de los factores principales 59
4.2.1.2 Comparación de métodos de extracción 59
4.2.1.3 Evaluación por variedad de hoja 64
4.2.1.4 Evaluación por método de extracción 64
4.2.1.5 Análisis de interacción y determinación del mejor tratamiento 64
4.2.1.6 Determinación del mejor tratamiento 65
4.2.2 Análisis ANOVA de la variable respuesta clorofila A 65
4.2.2.1 Efectos factoriales y significancia 68
4.2.2.2 Comparación por variedad 69
4.2.2.3 Comparación por método de extracción 69
4.2.2.4 Análisis de interacción 70
4.2.2.5 Determinación del mejor tratamiento 70
4.2.3 Análisis ANOVA de la variable respuesta clorofila B 70
4.2.3.1 Comportamiento factorial 74
4.2.3.2 Distribución por variedad 74
4.2.3.3 Eficiencia de métodos extractivos 74
4.2.3.4 Determinación del mejor tratamiento 75
4.2.4 Análisis ANOVA de la variable respuesta Carotenoides 75
4.2.4.1 Estructura factorial 78

4.2.4.2 Evaluación comparativa de métodos 78
4.2.4.3 Análisis de interacción y optimización..... 78
4.2.4.4 Compuestos químicos responsables 79
4.2.5 Volumen del extracto 80
4.2.6 Análisis ANOVA de la variable respuesta densidad..... 80
4.2.7 Densidad del extracto 81
4.3 Identificación de compuestos volátiles por cromatografía de masas 81
4.3.1 Compuestos volátiles del extracto hoja criolla por ultrasonido 82
4.3.2 Compuestos volátiles del extracto hoja criolla por maceración..... 85
4.3.3 Compuestos volátiles del extracto hoja criolla por percolación..... 88
4.3.4 Extracto de hoja criolla por percolación 90
4.3.5 Compuestos volátiles del extracto hoja cascaruda por ultrasonido.... 91
4.3.6 Extracto de hoja cascaruda por ultrasonido 93
4.3.7 Compuestos volátiles extracto hoja cascaruda por maceración 94
4.3.7.1 Extracto de hoja cascaruda por maceración 96
4.3.8 Compuestos volátiles extracto hoja cascaruda por percolación 97
4.3.8.1 Extracto de hoja Cascaruda por percolación 99
4.3.9 Compuestos volátiles del extracto hoja satsuma por ultrasonido..... 101
4.3.10 Compuestos volátiles del extracto hoja satsuma por maceración 103
4.3.10.1 Extracto de hoja satsuma por maceración..... 105
4.3.10.2 Comparación ultrasonido maceración 105
4.3.11 Compuestos volátiles del extracto hoja satsuma por percolación 106
4.4 Escala colorimétrica de la bebida alcohólica pájaro azul 108
4.4.1 Gradiente cromático continuo 109
4.4.2 Desarrollo del análisis sensorial de colorimetría 110
4.4.3 Muestra I - perfil cromático medio intenso..... 111

4.4.4 Muestra II - perfil cromático medio con mayor dispersión.....112
4.4.5 Muestra III - perfil cromático claro diferenciado.....112
4.4.6 Determinación del mejor tratamiento colorimétrico.....113
4.4.7 Compuestos químicos responsables del color.....113
4.5 COMPROBACIÓN DE HIPOTESIS.....114
4.5.1 Hipótesis nula (H_0):.....114
4.5.2 Hipótesis alterna (H_1):.....114
4.5.3 Comprobación de hipótesis.....114
CAPÍTULO V.....115
5.1 CONCLUSIONES Y RECOMENDASIONES.....115
5.1.1 Conclusiones.....115
5.1.2 Recomendaciones.....116
BIBLIOGRAFÍA.....117
ANEXOS.....1

ÍNDICE DE TABLAS

N°		Pág.
1.	Clasificación taxonómica de la hoja de mandarina	6
2.	Descripción botánica	7
3.	Localización de la investigación	33
4.	Parámetros climáticos del territorio	33
5.	Equipos de laboratorio	35
6.	Factores de estudio y sus niveles	36
7.	Combinación de tratamientos para la investigación	36
8.	Características del experimento	37
9.	Análisis de varianza anova para el diseño axb	38
10.	Análisis elemental de las hojas de mandarina	54
11.	Análisis proximal hojas de mandarina fase fresca	55
12.	Análisis proximal de la hoja de mandarina en fase seca	56
13.	Anova de la variable respuesta rendimiento	57
14.	Prueba de rangos múltiples de la variable rendimiento	58
15.	Anova de la variable respuesta flavonoides totales	60
16.	Prueba de rangos múltiples del factor a flavonoides totales	61
17.	Prueba de rangos múltiples del factor b flavonoides totales	61
18.	Anova de la variable respuesta clorofila a	65
19.	Prueba de rangos múltiples del factor a de la variable clorofila a	67
20.	Prueba de rangos múltiples del factor b de la variable clorofila a	67
21.	Análisis de varianza de la variable respuesta clorofila b	70
22.	Prueba de rangos múltiples del factor a de la variable clorofila b	71
23.	Prueba de rangos múltiples del factor b de la variable clorofila b	72
24.	Anova de la variable respuesta carotenoides	75
25.	Pueba de rangos múltiples de la variable carotenoides	76
26.	Anova de la variable respuesta volumen del extracto	79
27.	Anova de la variable respuesta densidad	80
28.	Compuestos volátiles extracto hoja mandarina criolla por ultrasonido	83
29.	Identificación compuesto del color criolla por ultrasonido	84

30. Compuestos volátiles extracto hoja de mandarina criolla maceración 86
31. Identificación compuesto del color criolla por maceración 86
32. Compuestos volátiles extracto hoja de mandarina criolla percolación 88
33. Identificación compuesto del color criolla por percolación 90
34. Compuestos volátiles del extracto de la hoja cascaruda ultrasonido 91
35. Identificación compuesto del color cascaruda por ultrasonido 94
36. Compuestos volátiles del extracto de la hoja cascaruda maceración 95
37. Identificación compuesto de color cascaruda por maceración 96
38. Compuestos volátiles del extracto de la hoja cascaruda percolación 98
39. Identificación compuesto del color cascaruda por percolación 100
40. Compuestos volátiles del extracto de la hoja satsuma ultrasonido 101
41. Identificación compuesto del color satsuma por ultrasonido 102
42. Compuestos volátiles del extracto de la hoja satsuma maceración 103
43. Identificación compuesto responsable color satsuma por maceración 106
44. Compuestos volátiles del extracto de la hoja satsuma percolación 107
45. Identificación compuesto del color satsuma por percolación 108
46. Muestra de resultados del color de la muestra I 110
47. Muestra de resultados del color de la muestra II 110
48. Muestra de resultados del color de la muestra III 110

ÍNDICE DE FIGURA

N°		Pág
1.	Hoja de mandarina	5
2.	Proceso de extracción	21
3.	Extracción por ultrasonido	23
4.	Grafica de medias de noveles del factor b	58
5.	Grafica de medias de niveles del factor a y b variable flavonoides totales	61
6.	Gráfica de interacción de la variable flavonoides totales	62
7.	Gráfico de medias de niveles del factor a y b de la variable clorofila a	65
8.	Gráfico de interacción de la variable clorofila a	67
9.	Gráfico de medias de niveles del factor a y b de la variable clorofila b	70
10.	Gráfico de interacción de la variable clorofila b	72
11.	Gráfico de medias de niveles del factor b de la variable carotenoides	75
12.	Gráfico de interacción de la variable carotenoides	76
13.	Cromatografía del extracto de la hoja de mandarina criolla ultrasonido	82
14.	Cromatografía del extracto de la hoja de mandarina criolla maceración	85
15.	Cromatografía extracto de la hoja de mandarina criolla percolación	88
16.	Cromatograma del extracto de hoja de mandarina cascaruda ultrasonido	91
17.	Cromatograma del extracto de hoja de mandarina cascaruda maceración	94
18.	Cromatograma del extracto de hoja de mandarina cascaruda percolación	97
19.	Cromatograma del extracto de hoja de mandarina satsuma ultrasonido	101
20.	Cromatograma del extracto de hoja de mandarina satsuma maceración	103
21.	Cromatograma del extracto de hoja de mandarina satsuma percolación	106
22.	Gradiente cromático continuo	109

ÍNDICE DE ANEXO

N°	Pág.
Anexo 1. Mapa de ubicación de la investigación	1
Anexo 2. Lugar de la investigación	1
Anexo 3. Análisis físico y químico de la materia prima	35
Anexo 4. Métodos de extracción de la hoja de mandarina	36
Anexo 5. Rote vaporación y filtrado del extracto	36
Anexo 6. Análisis proximal hojas de mandarina (cenizas, humedad, volátiles)	37
Anexo 7. Centrifugación muestra análisis carotenoides, flavonoides, clorofilas	39
Anexo 8. Análisis cromatográficos del extracto	39
Anexo 9. Destilación de la bebida alcohólica pájaro azul	41
Anexo 10. Producto terminado y análisis sensorial	41
Anexo 11. Cronograma de actividades	43
Anexo 12. Presupuesto	44
Anexo 13. Glosario de términos	45

RESUMEN

El objetivo de la investigación fue aprovechar los resultados biomasicos de las hojas de mandarina, en la obtención de extractos para la determinación de la coloración de la bebida alcohólica tradicional pájaro azul. La tendencia actual hacia ingredientes naturales en las industrias alimentaria y nutracéutica ha promovido la necesidad de investigar nuevas fuentes de bioactivos en residuos agrícolas. Los cultivos de cítricos cubiertos gozan de muchas áreas en Ecuador, especialmente en la provincia de Bolívar, donde los subproductos sopesan una cantidad considerable que generalmente no se aprovecha adecuadamente, los desechos de las hojas de mandarina de diferentes especies que constituyen una posibilidad adecuada de compuestos aromáticas, antioxidantes y productos de degradación que pueden servir como colorantes en sustitución de aditivos artificiales contaminantes en productos agroindustriales, como el pájaro azul. Los extractos de hojas de cítricos contienen varios tipos de extractos compuestos, monoterpenos y sesquiterpenos y una cantidad significativa de extractos secundarios fenólicos, que tienen fuertes de propiedades antioxidantes y antimicrobianas. Aunque dan un sabor característico a la fuente original, los extractos adicionales son únicos en términos de propiedades funcionales y bioactivas y tienen el potencial de satisfacer las necesidades de alimentos, bebidas y farmacología. Su utilización en la producción de bebidas tradicionales no promocionará la calidad sensorial, sino que aumentará el valor nutricional. En el presente tratado, se centró en la descripción del componente principal del proceso de extracción, conservación y formulación de extractos, alcohol etílico o etanol alcohol.

Palabras claves: residuos biomasicos, hojas de mandarina, extracto, destilación, pájaro azul.

SUMMARY

The objective of the research was to take advantage of the biomass results of mandarin leaves in obtaining extracts for determining the coloration of the traditional alcoholic beverage pájaro azul. The current trend toward natural ingredients in the food and nutraceutical industries has promoted the need to investigate new sources of bioactive compounds in agricultural waste. Covered citrus crops are widespread in Ecuador, especially in the province of Bolívar, where by-products account for a considerable amount that is generally not adequately exploited. The waste from the leaves of different species of mandarin oranges offers a suitable source of aromatic compounds, antioxidants, and degradation products that can serve as colorants to replace polluting artificial additives in agro-industrial products such as blue bird. Citrus leaf extracts contain various types of compound extracts, monoterpenes, and sesquiterpenes, as well as a significant amount of secondary phenolic extracts, which have strong antioxidant and antimicrobial properties. Although they give a characteristic flavor to the original source, the additional extracts are unique in terms of functional and bioactive properties and have the potential to meet the needs of food, beverages, and pharmacology. Their use in the production of traditional beverages will not promote sensory quality.

Key words: biomass waste, mandarin leaves, extract, distillation, bluebird.

CAPÍTULO I

1.1 INTRODUCCIÓN

La tendencia actual hacia ingredientes naturales en las industrias alimentaria y nutracéutica ha promovido la necesidad de investigar nuevas fuentes de bioactivos en residuos agrícolas. Los cultivos de cítricos cubiertos gozan de muchas áreas en Ecuador, especialmente en la provincia de Bolívar, donde los subproductos sopesan una cantidad considerable que generalmente no se aprovecha adecuadamente, los desechos de las hojas de mandarina de diferentes especies que constituyen una posibilidad adecuada de compuestos aromáticas, antioxidantes y productos de degradación que pueden servir como colorantes en sustitución de aditivos artificiales contaminantes en productos agroindustriales, como el pájaro azul.

Los extractos de hojas de cítricos contienen varios tipos de extractos compuestos, monoterpenos y sesquiterpenos y una cantidad significativa de extractos secundarios fenólicos, que tienen fuertes de propiedades antioxidantes y antimicrobianas. Aunque dan un sabor característico a la fuente original, los extractos adicionales son únicos en términos de propiedades funcionales y bioactivas y tienen el potencial de satisfacer las necesidades de alimentos, bebidas y farmacología. Su utilización en la producción de bebidas tradicionales no promocionará la calidad sensorial, sino que aumentará el valor nutricional. En el presente tratado, se centró en la descripción del componente principal del proceso de extracción, conservación y formulación de extractos, alcohol etílico o etanol alcohol.

En la provincia de Bolívar, Ecuador, se produce una bebida tradicional denominada pájaro azul, que destaca por su sabor anisado, un contenido de sólidos solubles entre 8 y 12 Brix, y un grado alcohólico que oscila entre 40 y 45 grados. Sin embargo, uno de sus aspectos más llamativos, el color azulado característico, suele lograrse mediante el uso de colorantes sintéticos. Este hecho plantea una oportunidad para innovar en su elaboración, utilizando ingredientes naturales que mantengan su identidad tradicional y aporten valor.

1.2 PROBLEMA

En la provincia de Bolívar, Ecuador, existe una oportunidad para integrar dos recursos locales: los cultivos de mandarina y la bebida tradicional "pájaro azul". Las hojas de mandarina suelen terminar en el descarte o sirven apenas como forraje para animales. Sin embargo, estas hojas guardan compuestos bioactivos valiosos que actúan como antioxidantes y antimicrobianos, lo que abre la posibilidad de emplearlos como colorantes o aromatizantes de origen natural.

En la elaboración del pájaro azul, una bebida alcohólica tradicional, se recurre habitualmente a colorantes de síntesis. Esta práctica puede resultar poco atractiva para consumidores que buscan alternativas más naturales y respetuosas con el ambiente. Incorporar extractos de estas hojas de mandarina en la bebida constituye una propuesta innovadora, transforma un residuo agrícola en un ingrediente funcional, eleva la calidad y la seguridad del producto final, y fortalece su posición en el mercado.

El escaso aprovechamiento de las hojas de mandarina, generalmente por desconocimiento ocasiona la perdida de oportunidad de fortalecer una bebida tradicional. Desarrollar métodos de extracción natural podría crear un modelo de economía circular que beneficie a pequeños productores.

Formulación del problema

¿Cómo puede aprovecharse la biomasa vegetal proveniente de hojas de mandarina para obtener extractos naturales que puedan emplearse en la elaboración de la bebida tradicional pájaro azul, sustituyendo colorantes sintéticos y mejorando su perfil funcional?

¿Qué condiciones óptimas de extracción permiten maximizar el rendimiento y la estabilidad de los compuestos bioactivos presentes en las hojas de mandarina?

¿Cuál es el perfil sensorial y funcional de los extractos obtenidos y su potencial como colorantes y aromatizantes naturales?

¿Cómo pueden integrarse los extractos de hojas de mandarina en la formulación de la bebida pájaro azul?

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 Objetivo general

- Evaluar el aprovechamiento de hojas de mandarina para la obtención de extractos naturales y su aplicación en la elaboración de la bebida tradicional pájaro azul, con el fin de sustituir colorantes sintéticos y mejorar su perfil funcional y sensorial.

1.3.2 Objetivos específicos

- Caracterizar las hojas de mandarina de diferentes especies que se utilizan en el proceso de elaboración de la bebida tradicional pájaro azul.
- Extraer los compuestos bioactivos presentes en las hojas de mandarina
- Caracterizar los extractos obtenidos a partir de hojas de mandarina.
- Establecer una escala colorimétrica del pájaro azul.

1.4 HIPÓTESIS

Bajo condiciones óptimas de formulación, la extracción controlada y aplicación del extracto obtenido de hojas de mandarina permite la reproducción del color azul característico de la bebida tradicional pájaro azul, manteniendo su estabilidad fisicoquímica y sensorial.

1.4.1 Hipótesis nula (H_0):

El uso de extractos obtenidos de hojas de mandarina, ricos en compuestos bioactivos y colorantes naturales, no permite efectivamente la sustitución de colorantes sintéticos utilizados en la producción industrial del pájaro azul.

1.4.2 Hipótesis alterna (H_1):

El uso de extractos obtenidos de hojas de mandarina, ricos en compuestos bioactivos y colorantes naturales, si permite efectivamente la sustitución de colorantes sintéticos utilizados en la producción industrial del pájaro azul.

CAPÍTULO II

2 MARCO TEÓRICO

2.1 Hoja de mandarina

Es una hoja simple, perenne y de forma lanceolada, característica de los árboles cítricos. Se presenta con un color verde brillante en el haz y más claro en el envés, y posee un pecíolo corto y ligeramente alado. En su interior contiene glándulas secretoras de extractos, responsables del aroma típico de la planta. Estas hojas no solo cumplen funciones fisiológicas como la fotosíntesis y el intercambio gaseoso, sino que también son una fuente importante de compuestos bioactivos con propiedades medicinales y aromáticas (Lasprilla, 2020).

Figura 1

Hoja de mandarina



Nota. La figura representa la hoja de mandarina (Pénelo, 2020).

2.2 Anatomía externa e interna

Forma: Lanceolada u oblongo-lanceolada (alargada y en forma de lanza).

Color: Verde oscuro brillante en el haz (parte superior), más claro en el envés (parte inferior).

Textura: Lisa y cerosa.

Disposición: Alterna sobre las ramas.

Peciolo: Corto, ligeramente alado (como pequeñas extensiones).

Vena: Pinnada, con una vena central prominente y ramas laterales.

Cutícula: Capa cerosa que cubre ambas superficies y protege contra la pérdida de agua (Tadeo et al., 2023).

Epidermis superior e inferior: Una sola capa de células que protege los tejidos internos, la inferior contiene estomas.

Estomas: Poros ubicados principalmente en la epidermis inferior, que permiten el intercambio de gases (entrada de CO_2 y salida de O_2 y vapor de agua).(Dottori & Cosa, 2019).

2.3 Taxonomía de la hoja de mandarina

Tabla 1

Clasificación taxonómica de la hoja de mandarina

Reino	**Plantae**
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Sapindales
Familia	Rutaceae
Genero	*Citrus*
Especie	*Citrus reticulata*

Nota: descripción taxonómica de la hoja de mandarina (Penelo, 2020).

2.3.1 Características de la hoja de mandarina

Se caracteriza por presentar un color verde brillante en la parte superior y un tono más claro en la inferior, lo que refleja su adaptación a la captación eficiente de la luz solar. Una de las características más únicas de la especie es la presencia de glándulas secretoras de extractos en el tejido foliar que le otorgan un pronunciado aroma a cítricos. Tales hojas son una fuente de compuestos bioactivos con potencial en las industrias farmacéutica y cosmética ya que desempeñan importantes funciones, incluyendo la fotosíntesis y la transpiración (Hernández, 2021).

Tipo: Hoja simple y perenne.

Forma: Lanceolada u oblonga, lanceolada alargada con una punta afilada).

Borde: Entero sin dientes ni lóbulos.

Color: Verde oscuro brillante en el lado superior y verde claro en el lado inferior.

Textura: Suave y coriácea, con una superficie algo cerosa.

Disposición: Alterna en las ramas del árbol.

Pecíolo: Corto y ligeramente alado (pequeñas expansiones en los bordes).

Venación: Pinnada con venas centrales y laterales secundarias pronunciadas.

Aroma: Similar a cítricos debido a las glándulas de extracto en el mesófilo (Diaz Diez & Santana Rodriguez, 2023).

2.3.2 Clasificación de las hojas de mandarina de diferentes especies

- *C. unshiu* (marcovitch), mandarino Satsuma
- *C. deliciosa* (tenora), mandarino Común
- *C. nobilis* (loureiro), mandarino King
- *C. reticulata* (blanco), mandarino común y otros mandarinos (Lasprilla, 2020).

2.3.3 Valor nutricional de la hoja de mandarina

Las hojas de mandarina poseen un alto valor fitoquímico más que nutricional en términos tradicionales. Aunque no se consumen como alimento directo, son ricas en compuestos bioactivos como flavonoides en las que se encuentran alcaloides, taninos, terpenoides y extractos como limoneno, linalool, citronelal y geraniol. Estos compuestos les confieren propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, antimicrobianas y relajantes. Además, contienen pequeñas cantidades de vitaminas, como la vitamina C, minerales como potasio y calcio y fibra vegetal en su estructura, aunque su interés principal radica en su potencial terapéutico y funcional más que en su valor calórico o proteico. Por ello, las hojas de mandarina se utilizan tradicionalmente en infusiones, extractos para aplicaciones medicinales y cosméticas (Penelo, 2020).

Tabla 2

Descripción botánica

Tipo	**Fruta**
Nombre común	Mandarina
Nombre científico	*Citrus reticulata*
Genero	*Citrus*
Familia	Rutaceae
Subfamilia	Aurantioidea
Origen	Asia

Nota. Tomada de, Pérez et al. (2022).

2.3.4 Beneficios de la hoja de mandarina

- Antioxidante natural: Neutraliza radicales libres y protege las células del daño oxidativo.
- Antiinflamatoria: Ayuda a reducir procesos inflamatorios internos y externos.
- Antimicrobiana: Combate bacterias y hongos, útil en infecciones leves.
- Mejora la digestión: Alivia el cólico, gases e indigestión cuando se toma en infusiones.
- Relajante y ansiolítico: Calmante, reduce el estrés, mejora el sueño.
- Descongestionante respiratorio: Útil en vaporizaciones para aliviar la tos, gripe y bronquitis.
- Uso cosmético: Los extractos purifican, tonifican y perfuman la piel.
- Indicaciones farmacológicas: Investigaciones recientes muestran efectos hepatoprotectores.
- Aromaterapia: Su fragancia cítrica se utiliza para crear ambientes relajantes y revitalizantes (Gasaly & Riveros, 2020).

2.3.5 Composición de la hoja de mandarina

La hoja de mandarina, al igual que otras hojas de cítricos, contiene una serie de componentes bioactivos y estructurales que contribuyen a sus funciones vegetales y posibles usos en aromaterapia, medicina tradicional o como fuente de compuestos aromáticos (Hernández, 2021).

1. **Aceites esenciales (Componentes volátiles)**

   Los aceites esenciales son mezclas complejas de compuestos orgánicos volátiles que se encuentran en plantas aromáticas, incluyendo las hojas de cítricos como la mandarina. Se obtiene mediante la extracción al vapor o expresión mecánica.

   Monoterpenos

   Los compuestos orgánicos formados por dos unidades de isopreno. Son los componentes más abundantes en muchos aceites esenciales:

   - Limoneno: Hidrocarburo monoterpénico responsable del aroma cítrico; tiene propiedades antioxidantes y posiblemente anticancerígenas.
   - Sabineno: Tiene actividad antioxidante y antimicrobiana.

- α-pineno y β-pineno: Monoterpenos con propiedades antiinflamatorias y broncodilatadoras (Euni, 2020).

Monoterpenoles

Los Alcoholes derivados de monoterpenos, generalmente aromáticos y con propiedades terapéuticas son:

- Linalol: Alcohol monoterpénico con aroma floral, usado por sus efectos sedantes y ansiolíticos.
- Geraniol: Es capaz de combatir tanto bacterias como hongos, también se usa como repelente natural de insectos.
- Nerol: Similar al geraniol, con propiedades antioxidantes y calmantes (Gasaly & Riveros, 2020).

Aldehídos monoterpenoides

Los compuestos que contienen un grupo funcional aldehído unido a una estructura monoterpénica son:

- Citronelal: Conocido por sus propiedades antisépticas y como repelente de mosquitos.
- Neral y Geranial: Constituyen el citral, compuesto con fuerte actividad antimicrobiana y antifúngica (Lasprilla, 2020).

Ésteres y otros compuestos aromáticos

Los compuestos formados por la reacción entre un ácido y un alcohol, responsables de aromas frutales y dulces son:

- Acetato de linalilo: Presente en aceites florales, tiene efectos relajantes y sedantes.
- Acetato de terpinil: Aporta al aroma fresco y afrutado de algunos aceites esenciales (Ormaza Manotoa, 2019).

2. Flavonoides y compuestos fenólicos

Los compuestos son metabolitos secundarios de las plantas con propiedades antioxidantes y beneficios para la salud humana.

Flavonoides

Los grupos de polifenoles con estructura C6-C3-C6, conocidos por sus efectos antioxidantes, antiinflamatorios y vasculares son:

- Hesperidina: Glicósido flavonoide que fortalece los vasos sanguíneos y reduce la inflamación.
- Naringenina: Flavonoide con propiedades antioxidantes y potencial protector contra enfermedades crónicas.
- Rutina: Mejora la circulación y tiene acción antiinflamatoria.
- Quercetina: Antioxidante potente con efectos antivirales, antiinflamatorios y antihistamínicos (Penelo, 2020).

3. Sustancias orgánicas

Son compuestos pesadas que no se evaporan fácilmente a temperatura ambiente, estos se identifican, como las clorofilas, carotenoides, proteínas y encimas, polisacáridos y fibras no contribuyen al aroma característico de la hoja, pero son responsables de su sabor amargo, color y, fundamentalmente, de sus propiedades medicinales y antioxidantes.

Clorofila

Los pigmentos verdes esenciales en la fotosíntesis, capaz de absorber la luz solar para convertirla en energía química.

Carotenoides

Estos pigmentos muestran colores cálidos amarillos, naranjas y rojos y cumplen un doble papel, protegen las células del daño oxidativo y sirven como materia prima para que nuestro organismo produzca vitamina A.

Proteínas y enzimas

Las biomoléculas encargadas de realizar funciones estructurales, catalíticas y reguladoras dentro de la célula vegetal.

Polisacáridos y fibras

Los carbohidratos complejos que forman parte de la pared celular de las plantas, contribuyendo a la rigidez y estructura de la hoja (Dottori & Cosa, 2019).

4. Minerales y micronutrientes

Los elementos inorgánicos necesarios para el crecimiento y desarrollo de la planta, y que pueden tener valor nutricional si se consumen son:

- Calcio: Esencial para la estructura celular y señalización intracelular.
- Magnesio: Componente central de la molécula de clorofila.
- Potasio: Regula la apertura y cierre de estomas y participa en procesos osmóticos.
- Hierro: Importante en procesos redox y transporte de electrones.
- Manganeso: Participa en la fotosíntesis y defensa antioxidante(Gasaly & Riveros, 2020).

2.4 Historia de la bebida alcohólica artesanal pájaro azul

Aproximadamente hace 80 años empezó la producción de esta bebida, considerada como de contrabando, no existía la venta libre. Los productores tenían que entregar de dos mil a tres mil litros al Estanco para producir otras bebidas. Posteriormente se dio la venta libre en la década de los setenta, en donde empezó la difusión del Pájaro Azul, conocido primero como anisado, luego como: caldo de gallina, patas de res y del alcohol llamado Puntas porque es muy fuerte y tiene 80 grados alcohólicos. Su nombre se debe a que luego de ingerir las facultades mentales de las personas empiezan a mirar luces y soñar volando, como un pájaro en completa trinar y felicidad; y Azul en honor a su coloración (Rivera García, 2018).

2.4.1 Ingredientes para la formulación de la bebida alcohólica

Ingredientes que se incorporan al momento de elaboración:

- **Anís Estrellado**

El anís estrellado es una especia que se obtiene del árbol de anís estrellado, originario de China. Se caracteriza por su forma de estrella de ocho puntas y su sabor dulce y ligeramente picante. Se utiliza en la gastronomía como condimento y en la elaboración de bebidas, pero también tiene propiedades medicinales. El anís de estrella utilizado en infusiones como té y recomendado por madres y abuelas a través de los años, para controlar los cólicos, el anís estrellado contiene anetol, que es el componente que le da su sabor.

- **Anís de Pan**

Es una hierba de la familia de las *Umbeliferas*. Esta planta herbácea anual, que tiene un olor agradable, tiene el tallo cilíndrico, erguido y ramificado en lo alto sus semillas se utilizan como condimento en panificación, elaboración de dulces, reposterías, licores y como medicina, el 80% de productores utilizan este anís en la preparación del Pájaro Azul.

- **Hoja de mandarina**

La hoja de la mandarina es un elemento natural asociado a la fruta, que se caracteriza por ser verde, oblonga o elíptica, y puede tener un margen aserrado. Son hojas perennes, medianas y alargadas, con base redondeada y terminadas en punta. Además, las hojas de mandarina pueden tener un aroma fragante cuando se las tritura. Estas hojas son ricas en varias vitaminas entre ellas la C, A y del complejo B como la B1 y B2 y también aportan minerales esenciales como potasio, calcio, fósforo y magnesio, igualmente contienen flavonoides y polifenoles que aportan poder antioxidante y antiinflamatorio a la planta, limoneno y linalool, sustancias naturales que calman el sistema nervioso.

2.5 Parámetros físicos químicos del pájaro azul

2.5.1 Parámetros físicos

En términos físico, el pájaro azul se puede describir como una solución hidroalcohólica que incorpora colorantes, saborizantes y ocasionalmente compuestos sintéticos o farmacológicos que alteran sus propiedades organolépticas y toxicológicas. El análisis de los parámetros físicos en las bebidas alcohólicas es un componente esencial dentro de los procesos de control de calidad y caracterización del producto. En el caso del pájaro azul, una bebida alcohólica artesanal que ha ganado notoriedad por su color llamativo y sabor distintivo, la evaluación de sus propiedades físicas permite obtener información clave sobre su apariencia, estabilidad y aceptabilidad sensorial (Moreno Álvarez et al., 2019).

Los parámetros físicos incluyen características como el color, la turbidez, la densidad, la viscosidad y la temperatura de ebullición, entre otros. Influyen tanto en la percepción del consumidor como en la identificación de posibles anomalías en la producción, almacenamiento o distribución del producto. Considerando que el pájaro

azul se produce típicamente por métodos artesanales y con ingredientes que no siempre son uniformes, investigar estos elementos es importante para un perfil físico estable y seguro. Esta investigación permitió una comprensión más profunda del comportamiento físico de la bebida bajo diversas condiciones ambientales y formará la base para su posible estandarización en contextos de producción más amplios o comerciales (Ruíz et al., 2019).

2.5.1.1 Contenido de pH

El pH es una medida que indica el grado de acidez o alcalinidad de una solución acuosa, basado en la concentración de iones hidrógeno presentes en ella. Se expresa en una escala logarítmica que generalmente va de 0 a 14, donde los valores inferiores a 7 representan soluciones ácidas, el valor 7 indica una solución neutra y los valores superiores a 7 corresponden a soluciones básicas o alcalinas. Esta escala logarítmica implica que cada unidad representa un cambio de diez veces en la concentración de iones, lo que significa que incluso pequeñas variaciones en el pH pueden tener efectos significativos. La medición del pH es fundamental en numerosos campos como la química, la biología, la agricultura, la medicina y la industria alimentaria, ya que influye directamente en reacciones químicas, procesos biológicos y en la estabilidad de compuestos (Kotrba & Schilling, 2020).

Influencia del PH en la bebida alcohólica

El pH influye directamente en la acidez o alcalinidad de un producto, lo cual afecta procesos químicos, microbiológicos y sensoriales. Cambios en el pH pueden alterar la estabilidad de compuestos, afectar la eficacia de conservantes, modificar la actividad enzimática y cambiar el sabor del producto. En fermentaciones, por ejemplo, el pH regula el crecimiento de microorganismos, y su desviación puede provocar fermentaciones no deseadas o pérdidas de calidad (Martínez et al., 2021).

Su uso e importancia

El pH es fundamental para asegurar la seguridad microbiológica de alimentos y bebidas, ya que muchas bacterias patógenas no sobreviven en entornos ácidos. Además, es clave para mantener la estabilidad de compuestos sensibles como vitaminas, antioxidantes o principios activos en productos farmacéuticos. En el ámbito sensorial, influye en el sabor, sobre todo en productos ácidos como jugos, vinagres o productos lácteos (Gordillo et al., 2022).

Funcionalidad

El pH actúa como un indicador de calidad, frescura y seguridad. Se utiliza para monitorear procesos de elaboración, fermentación, conservación y formulación. También es una herramienta de control crítico en buenas prácticas de manufactura, y su correcta regulación contribuye a la estabilidad química y biológica del producto final (Hoyos et al., 2019).

2.5.1.2 Contenido de grados Brix

El grado Brix es una medida que indica la cantidad de sólidos solubles, principalmente azúcares, disueltos en un líquido. Se utiliza comúnmente para medir el contenido de azúcar en frutas, jugos, miel, vino y otros productos alimenticios. Un grado Brix representa 1 gramo de sacarosa en 100 gramos de solución, corresponde también un determinado índice de refracción. Una escala refracto métrica en grados Brix corresponde a los índices de refracción de soluciones de 1, 2, 3, etc. (Lamas et al., 2023).

Influencia

Los grados Brix influyen en la percepción de dulzor de un producto, así como en su viscosidad y poder energético. También afectan la fermentación, ya que indican la cantidad de azúcares disponibles para ser transformados en alcohol o ácido por microorganismos. Un °Brix más alto significa mayor concentración de sólidos solubles, lo que puede modificar la textura, el sabor y el valor calórico (Quintana et al., 2019).

Importancia

El °Brix es crucial en la industria alimentaria para estandarizar productos como jugos, néctares, vinos, refrescos y conservas. Es una medida directa de madurez en frutas y calidad en materias primas. También se usa para determinar el punto óptimo de cosecha, el grado de concentración en evaporadores y el control del proceso fermentativo (Lamas et al., 2023).

Funcionalidad

Su función principal es cuantificar el contenido de sólidos solubles (azúcares principalmente), permitiendo ajustes en la formulación y control de procesos. También se emplea como herramienta de seguimiento en fermentaciones y para garantizar uniformidad entre lotes de producción (Hoyos et al., 2019).

2.5.1.3 Determinación de la densidad

La densidad es una magnitud física que expresa la relación entre la masa de un cuerpo y el volumen que ocupa. Se define como la cantidad de materia presente en un determinado espacio y se calcula dividiendo la masa por el volumen. La forma en que los ingredientes se mezclan, y se comportan dentro de un sistema líquido o semisólido. Cambios en la densidad pueden indicar alteraciones en la concentración de ingredientes o adulteraciones. También afecta procesos mecánicos como bombeo, llenado y envasado (Escobar, 2023).

Porque es importante

Es un parámetro clave en el diseño de formulaciones, ya que permite calcular concentraciones y relaciones entre ingredientes. También se utiliza como control de calidad para detectar desviaciones en la composición o evaluar el progreso de un proceso, como la fermentación (Iglesias, 2021).

Determinación de su utilidad

Cumple la función de medir la masa contenida por unidad de volumen, permitiendo estandarizar la formulación de productos, ajustar procesos y asegurar la consistencia entre lotes. También es útil para estimar contenidos de azúcar o alcohol de forma indirecta (Peréz & Méndez, 2010).

2.5.1.4 Contenido de turbidez del pájaro azul

La turbidez es la pérdida de transparencia en un líquido, especialmente agua, debido a la presencia de partículas en suspensión. Estas partículas pueden ser sedimentos, microorganismos, algas, materia orgánica o contaminantes. La turbidez se mide como la cantidad de luz que es dispersada o absorbida por estas partículas en lugar de ser transmitida a través del agua (Siebert, 2020).

Como contribuye su influencia

La apariencia visual del producto, afectando la percepción de calidad y pureza. En alimentos y bebidas, una alta turbidez puede estar relacionada con la presencia de partículas, microorganismos o sedimentos, lo que puede indicar deterioro, contaminación o inadecuado procesamiento (Vicuña, 2019).

Importancia

Es un parámetro clave en productos que requieren claridad, como aguas, jugos filtrados, bebidas alcohólicas y soluciones farmacéuticas. Su medición permite

verificar la efectividad de procesos de clarificación, filtrado o centrifugación. Además, puede ser indicativo de reacciones físicas no deseadas, como precipitación o descomposición (Siebert, 2020).

Función

La función de la turbidez es actuar como un indicador de estabilidad física y control de calidad visual. Se utiliza para monitorear procesos, detectar contaminaciones y validar sistemas de filtración. En productos artesanales o naturales, puede ser incluso un sello de autenticidad (Vicuña, 2019).

2.5.1.5 Determinación de temperatura

La temperatura es una magnitud física que refleja la cantidad de calor, ya sea de un cuerpo, de un objeto o del ambiente. Dicha magnitud está vinculada a la noción de frío a menor temperatura y caliente a mayor temperatura (Santamaria et al., 2022).

Influencia:

La temperatura influye en la velocidad de reacciones químicas, en la solubilidad de compuestos, en la actividad microbiana y en la conservación del producto. Afecta directamente la eficiencia de procesos como fermentación, pasteurización, cocción y enfriamiento. También altera parámetros como viscosidad y densidad (López et al., 2020).

Importancia:

Es un parámetro crítico en todas las etapas de producción, desde la materia prima hasta el almacenamiento. Un mal control de temperatura puede llevar a la pérdida de nutrientes, proliferación de microorganismos o degradación del producto. También es vital en procesos enzimáticos y de conservación (Bravo, 2023).

Función

La temperatura cumple funciones de regulación de procesos, activación o inactivación de reacciones químicas y control de seguridad microbiológica. Además, permite mantener la estabilidad del producto durante su vida útil (Santamaria et al., 2022).

2.5.1.6 Contenido de solidos totales

Los sólidos totales se refieren a la materia sólida que queda después de evaporar y secar una muestra de agua o cualquier otro líquido a una temperatura específica

(generalmente 103-105 °C). Este valor incluye tanto la materia disuelta (sólidos disueltos totales) como la materia no disuelta (Dottori & Cosa, 2019).

Cualidades que influyen

Cuando analizamos las propiedades de un producto cómo se ve, huele, sabe y se comporta químicamente en realidad estamos viendo el resultado de todo los compuestos fenólicos y demás elementos, ya sea que estén completamente disueltos o flotando en suspensión. La concentración de sólidos totales afecta características como el sabor, la textura, la viscosidad, el valor nutricional y la estabilidad del producto. En productos líquidos, un contenido elevado de sólidos puede aumentar la densidad y modificar la percepción sensorial, generando una mayor sensación de cuerpo o espesor. También influye en procesos térmicos y en la eficiencia de métodos de conservación, ya que las soluciones más concentradas requieren mayor energía para ser tratadas térmicamente.

Importancia

El análisis de sólidos totales es fundamental en la industria alimentaria, farmacéutica y de bebidas, ya que permite conocer la calidad, concentración y valor nutricional de los productos. En frutas y jugos, por ejemplo, este parámetro se utiliza como indicador de madurez y calidad mientras que, en productos lácteos, sopas, extractos vegetales o jarabes, se emplea para verificar el cumplimiento de estándares técnicos y regulatorios. Además, es una herramienta útil para detectar adulteraciones o diluciones no declaradas, lo que lo convierte en un parámetro esencial para la autenticidad del producto (García, 2020).

Funcionalidad

El propósito de los sólidos totales es obtener una medida general de la cantidad de materia seca en el producto. Permite la gestión de la formulación, la estandarización de la concentración de ingredientes y la homogeneidad entre lotes de producción. También se determinan los rendimientos, se derivan especificaciones técnicas y se optimizan los procesos de evaporación, deshidratación y concentración. Para concluir, es un indicador esencial para el control de calidad y técnico del producto final (Bravo, 2023).

2.5.1.7 Contenido de grados alcohólicos

Se entiende como grado alcohólico al volumen o porcentaje de alcohol etílico, expresado en cm3, contenido en 100 cm3 de la bebida alcohólica a una temperatura de 20 ºC. El grado alcohólico contenido en una bebida se expresa mediante la escala de Gay Lussac. A cada unidad de porcentaje de alcohol en el volumen total le corresponde un grado de graduación alcohólica (Díaz et al., 2022).

Determinación de su influencia

Los grados alcohólicos influyen en el perfil sensorial de bebidas fermentadas y destiladas, afectando el sabor, el cuerpo y el aroma. También inciden en la capacidad de conservación, ya que el etanol posee propiedades antimicrobianas. Además, modifican la densidad, el punto de ebullición y la viscosidad del producto (Bravo, 2023).

Importancia:

Este parámetro es obligatorio por normativas legales en bebidas alcohólicas, medicamentos y productos cosméticos. En procesos de fermentación, permite calcular la eficiencia de conversión de azúcares en alcohol. En productos farmacéuticos, es importante para asegurar la dosificación adecuada y la estabilidad (Martínez et al., 2021).

Función:

Su función es identificar la cantidad de alcohol en un producto y garantizar que esté dentro de los límites deseados. También sirve para caracterizar el tipo de producto (vino, cerveza, licor), controlar procesos fermentativos y asegurar el cumplimiento normativo (Díaz et al., 2022).

2.5.2 Parámetros químicos

La caracterización química de las bebidas alcohólicas representa un aspecto fundamental tanto para garantizar la calidad del producto como para salvaguardar la salud del consumidor, la bebida conocida como pájaro azul, de origen artesanal y con creciente presencia en ciertos mercados regionales, requiere una evaluación rigurosa de sus parámetros químicos. Dado su proceso de elaboración casera o semiindustrial, y el uso de materias primas variadas frecuentemente aguardiente, colorantes y esencias artificiales (Cifuentez, 2020).

Para lograr propiedades organolépticas, estabilidad del pájaro azul y su seguridad para el consumo humano, es necesario establecer un perfil químico del pájaro azul para su evaluación. Este resultado será información importante para el propósito de regulación, control de calidad y estandarización del producto y será información útil sobre los parámetros involucrados, incluyendo el contenido de alcohol, pH, acidez, concentración de compuestos volátiles, la posible presencia de contaminantes o sustancias tóxicas (Moreno et al., 2019).

2.5.2.1 Contenidos de alcoholes superiores

Los alcoholes superiores son alcoholes orgánicos con una cadena de carbono de tres o más átomos. Se denominan así porque se encuentran en mayor proporción que los alcoholes de cadena más corta como el etanol. Los alcoholes superiores son productos secundarios del metabolismo de las levaduras y contribuyen al aroma y sabor de las bebidas fermentadas. Juegan un papel importante en el aroma de los destilados. Se forman durante la fermentación por ataque de las levaduras a los aminoácidos. Está compuesto principalmente de 2 propanol, isobutanol, y alcoholes amílicos. Estos son producidos durante la fermentación del jugo de caña y no aumentan su concentración a mayor tiempo de añejamiento (López et al., 2020).

2.5.2.2 Contenido de acetaldehídos

El acetaldehído es un compuesto muy inflamable y reactivo, soluble en agua y en la mayoría de los disolventes comunes, el acetaldehído es un componente volátil, potente y genotóxico, el cual es sintetizado y detoxificado por el aldehído deshidrogenasa, que ha sido utilizado como saborizante de alimentos y bebidas. Surge como subproducto de la fermentación de la levadura durante la producción de bebidas alcohólicas y, mientras que el azúcar es el sustrato primario de la formación de acetaldehído, el metabolismo de los aminoácidos como alanina o la oxidación de etanol también contribuyen a la formación de acetaldehído (Lachenmeier & Sohnius, 2019).

2.5.2.3 Contenido de etilaceto

El acetato de etilo es un líquido incoloro con olor a frutas, inflamable, menos denso que el agua y ligeramente miscible con ella. Sus vapores son más densos que el aire. Se obtiene por extracción lenta de una mezcla de ácido acético, alcohol etílico y ácido

sulfúrico, o bien, a partir de acetaldehído anhidro en presencia de etóxido de aluminio (Fonseca et al., 2020).

2.5.2.4 Determinación de furfural

Es un aldehído industrial derivado de varios subproductos de la agricultura, maíz, avena, trigo, aleurona, aserrín. Es un aldehído aromático, con una estructura en anillo. En estado puro, es un líquido aceitoso incoloro con olor a almendras, en contacto con el aire rápidamente pasa a amarillo (Lamas et al., 2023).

Según varios investigadores, el furfural también se obtiene como producto de la reacción entre los azúcares reductores sobre los prótidos y aminoácidos durante la extracción. El furfural comienza a destilar en la fracción del cuerpo, aumentando en forma paulatina a medida que transcurre la extracción por lo que se le considera un producto de fracción cola. Aldehído presente en los destilados, también llamado aldehído piro músico, inexistente en el vino base, se forma durante la extracción, a partir de los azúcares residuales por acción del calentamiento prolongado y el medio ácido (Lamas et al., 2023).

2.6 Métodos de extracción

En la forma natural es muy difícil que las sustancias puras que constituyen una mezcla se separen. Para los químicos es fundamental obtener estas sustancias para identificar sus estructuras y sus propiedades físicas y químicas. Existen distintos métodos para separar una mezcla en sus diferentes componentes. Dichos métodos son físicos ya que no alteran las propiedades de los componentes. Al realizar cualquier separación de mezclas primero debemos saber sobre su estado físico, características y propiedades, para usar la técnica más adecuada (Ojito et al., 2012).

2.6.1 Procesos de extracción

Se denomina extracción a un método de separación de fases, que se encuentra entre los métodos de separación de mezclas. La extracción consiste en el uso consecutivo y controlado de dos procesos físicos: la vaporización y la condensación, usándolas de manera selectiva para separar los componentes de una mezcla por lo general de tipo homogéneo, es decir, en la que no pueden distinguirse a simple vista sus componentes (Vanegas, 2020). Este método consiste en separar dos o más líquidos miscibles con diferentes puntos de ebullición, primero por medio de la evaporación posteriormente por la condensación de las sustancias. A través de esta operación se

separan principalmente mezclas homogéneas de líquidos. Por ejemplo, la separación del agua que hierve a los 100 y de alcohol de vino de mesa que hierve a 78. Para llevar a cabo esta operación se utiliza un equipo de extracción. En él se coloca la mezcla y se procede a calentarla (Santamaria et al., 2022).

La sustancia con el menor punto de ebullición es la primera que se evapora y pasa por el refrigerante. Es ahí donde se condensa y se recibe en estado líquido en un recipiente. Así sucesivamente, hasta que se destilan todas las sustancias puras que componen a la mezcla. Este método se utiliza para separar a las diferentes fracciones del petróleo (Medina et al., 2021).

Figura 2

Proceso de extracción



Nota: Modelos de extracción del extracto

2.6.2 Proceso de extracción hoja de mandarina por ultrasonido

La extracción por ultrasonido, también conocida como extracción ultrasónica o zonificación, es una técnica avanzada utilizada en el procesamiento de matrices vegetales para obtener compuestos bioactivos, flavonoides, terpenos y otros

metabolitos secundarios. Este método se basa en el fenómeno físico, el cual genera microburbujas en el medio de extracción que al colapsar generan ondas de choque y turbulencias locales que rompen las paredes celulares del tejido vegetal. Esto facilita la liberación de los compuestos intracelulares hacia el solvente, incrementando significativamente del proceso de extracción en comparación con métodos tradicionales como la maceración o la extracción (Guillén, 2022).

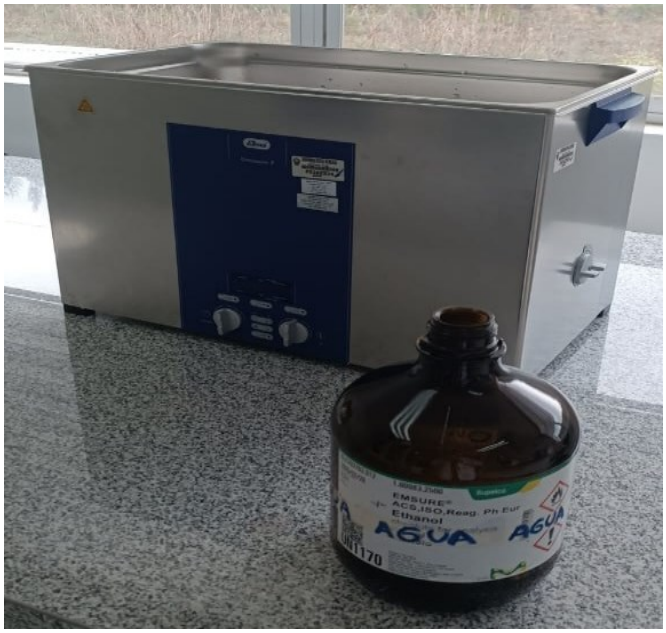
Si hablamos específicamente de las hojas de mandarina, encontramos en ellas una gran variedad de sustancias. Algunas se evaporan fácilmente volátiles y otras no, pero todas contribuyen con propiedades valiosas: dan aroma, combaten la oxidación, frenan microorganismos y reducen la inflamación. La extracción asistida por ultrasonido permite obtener extractos más concentrados, con mayor rendimiento y menor tiempo de procesamiento, reduciendo además el uso de solventes y energía, lo que la convierte en una tecnología limpia y sostenible dentro del marco de la química verde (Gamarra, 2024).

2.6.2.1 Fundamento de la extracción por ultrasonido

La cavitación acústica y la transferencia de masa asistida térmicamente, integradas dentro del marco clásico de la extracción por destilación al vapor. La cavitación acústica, inducida por ondas ultrasónicas de frecuencia media 20–100 kHz, genera microburbujas en el medio líquido que, al colapsar, producen efectos mecánicos locales como ondas de choque, microturbulencias y fuerzas de cizallamiento que rompen las estructuras celulares del tejido vegetal, facilitando la liberación de compuestos intracelulares volátiles. Este fenómeno aumenta significativamente la cinética de difusión de metabolitos en el medio gaseoso, reduciendo el tiempo de extracción y mejorando el rendimiento sin necesidad de aumentar la temperatura, lo cual es clave para preservar los compuestos termolábiles. Al integrarse con el proceso de extracción convencional, la energía ultrasónica actúa como un agente físico no térmico que disminuye las barreras de resistencia difusional, promoviendo una transferencia de masa más eficiente entre la matriz vegetal y el vapor, optimizando así la separación selectiva de compuestos volátiles como terpenos, sesquiterpenos presentes en plantas aromáticas (Castro & Mendoza, 2021).

Figura 3

Extracción por ultrasonido



Nota: La extracción por ultrasonido mejora la extracción de compuestos mediante ondas ultrasónicas.

2.6.2.2 Extracción por ultrasonido

La extracción por ultrasonido es un proceso de extracción avanzado que incorpora múltiples etapas de extracción con la tecnología ultrasónica. En este método, el material vegetal primero se somete a ultrasonido para romper sus estructuras celulares, liberando compuestos bioactivos. Posteriormente, el extracto obtenido pasa por sucesivas etapas de extracción lo que permite una purificación progresiva y la separación fraccionada de componentes según sus puntos de ebullición. Este enfoque escalonado mejora significativamente la pureza y concentración de los compuestos deseados, especialmente útil para aislar extractos y metabolitos específicos de las hojas de mandarina con mayor precisión que los métodos convencionales (Gamarra, 2024).

2.6.2.3 Parámetros de operación

Los procesos de operación para la extracción por ultrasonido comprenden una secuencia integrada que inicia con la preparación meticulosa de las hojas de mandarina (limpieza y triturado), seguida por la fase de sonicación donde el material

vegetal sumergido en solvente es sometido a ondas ultrasónicas (20-40 kHz) que provocan cavitación y liberan los compuestos bioactivos; posteriormente, se ejecuta una primera extracción a temperaturas controladas (60-80°C) para separar los compuestos volátiles iniciales, para luego someter esta extracción a redestilaciones sucesivas con parámetros específicos que permiten la separación fraccionada según puntos de ebullición; durante todo el proceso se mantiene un monitoreo constante de temperatura, presión, potencia ultrasónica y tiempos de residencia, finalizando con la recolección diferenciada de fracciones específicas (aromas, colorantes, antioxidantes) y su adecuado almacenamiento para preservar sus propiedades funcionales para su posterior aplicación en la elaboración del pájaro azul (Rivera et al., 2022).

2.6.3 Extracción hoja de mandarina por maceración

La extracción por maceración es una técnica tradicional utilizada principalmente en la producción artesanal de bebidas espirituosas aromáticas, como aguardientes de frutas, hierbas o raíces, y su fundamento se basa en la combinación de procesos fundamentales: la maceración propiamente dicha primero, los ingredientes vegetales frescos o secos, como cáscaras de naranja, raíces, flores, semillas o frutos silvestres, se introducen directamente en un medio alcohólico (ya sea un mosto previamente fermentado o alcohol neutro) donde permanecen durante un periodo que puede variar desde algunos días hasta varias semanas, permitiendo que los compuestos aromáticos, aceites esenciales y otros metabolitos secundarios presentes en las plantas se transfieran al líquido mediante un proceso de extracción natural; este extracto alcohólico resultante, rico en sabores y aromas característicos, se somete posteriormente a un proceso de destilación simple o por arrastre de vapor, en el cual los compuestos más volátiles, incluido el alcohol etílico, se separan del resto del medio mediante evaporación controlada y luego se condensan para obtener un destilado final con una mayor concentración de alcohol y un perfil sensorial complejo y distintivo; esta técnica no solo permite obtener una bebida con mayor graduación alcohólica, sino que también potencia y fija los aromas naturales del producto, lo que la convierte en un método muy valorado en la elaboración de bebidas típicas y regionales, donde se busca preservar la identidad cultural y los sabores autóctonos (Rivera et al., 2022).

2.6.3.1 Fundamento de la extracción por maceración

La extracción por maceración es un proceso utilizado principalmente para la extracción de compuestos volátiles, como aceites esenciales, de materiales vegetales. Consiste en dejar macerar el material vegetal fresco o seco en agua u otro medio acuoso durante un tiempo determinado para que libere sus componentes aromáticos y volátiles. Posteriormente, la mezcla se somete a calentamiento suave para evaporar los compuestos más volátiles, los cuales se capturan mediante un sistema de condensación, obteniéndose así el destilado. Este método combina las etapas de maceración y extracción, permitiendo una mayor recuperación de los principios activos volátiles. Es comúnmente utilizado en la industria perfumera, farmacéutica y alimentaria para obtener esencias naturales. Aunque es un proceso sencillo, requiere control de temperatura y tiempo para evitar la degradación de los compuestos sensibles al calor (Rivera et al., 2022).

2.6.3.2 Extracción por maceración

La maceración es una técnica sencilla que consiste en sumergir el material vegetal en un solvente durante varios días o semanas para extraer sus componentes activos. El proceso ocurre por difusión: los compuestos de la planta pasan poco a poco al líquido sin necesidad de calor ni agitación constante (Gamarra, 2024).

2.6.4 Extracción hoja de mandarina por percolación

La extracción por percolación es un método tradicional y artesanal de extracción discontinua en el que el líquido fermentado se calienta lentamente en una alambique, permitiendo que los vapores, ricos en alcohol y compuestos aromáticos, asciendan atravesando el líquido o materiales vegetales presentes en la columna del aparato, lo que facilita la extracción selectiva de sustancias volátiles; este proceso, comúnmente usado en la producción de aguardientes y licores artesanales, permite obtener destilados con alto perfil aromático gracias al contacto prolongado entre el vapor y los componentes de la carga, aunque su bajo rendimiento energético y la dificultad para mecanizarlo lo limitan a producciones pequeñas y especializadas (Anda et al., 2023).

2.6.4.1 Fundamento de la extracción por percolación

La extracción por percolación es un proceso físico-químico utilizado principalmente en la producción artesanal de bebidas alcohólicas, basado en el principio de

separación de los componentes de una mezcla líquida, como el agua y el alcohol, según sus diferentes puntos de ebullición; este método se distingue porque los vapores generados al calentar el mosto fermentado ascienden a través de una columna rellena de materiales sólidos como madera triturada, carbón vegetal, cerámica o piedras porosas, que actúan como medio de contacto para mejorar la eficiencia de la separación y aportar características organolépticas únicas al producto final. Los vapores que contienen etanol, el punto de ebullición del etanol es más bajo que el del agua pasan a través del lecho de material sólido, donde ocurren intercambios térmicos y de masa entre las moléculas ascendentes y el líquido condensado que eventualmente puede descender, facilitando una mayor purificación del alcohol y permitiendo que ciertos compuestos volátiles no deseados sean retenidos o transformados por la acción del medio filtrante. Esta forma de extracción combina principios de extracción simple con efectos adicionales de filtración física y adsorción química, resultando en un destilado que no solo tiene una mayor concentración de alcohol, sino también sabores, aromas y texturas influenciados por el tipo de material utilizado en la columna de percolación. Es especialmente valorado en la elaboración tradicional de aguardientes, rones artesanales y otras bebidas espirituosas, donde se busca preservar la identidad regional y los matices naturales que brindan los ingredientes y métodos empleados en cada región (Anda et al., 2023).

2.6.4.2 Extracción por percolación

La percolación es un método de extracción tradicional muy eficaz para obtener compuestos bioactivos de las hojas de mandarina. Este proceso se basa en el paso continuo y lento de un solvente a través del material vegetal, permitiendo una extracción exhaustiva de sus componentes (Anda et al., 2023).

2.7 Extractos de la hoja de mandarina

Llamamos extracto a esas sustancias que sacamos de materiales vegetales usando métodos físicos. Normalmente son líquidos con textura aceitosa y tienen la particularidad de ser volátiles, es decir, se evaporan con cierta facilidad. Los extractos son líquidos aceitosos y aromáticos, algunas veces semi líquidos o sólidos que se obtienen de materiales derivados de las plantas, los extractos son volátiles, es decir, se evaporan a partir del material botánico al elevarse la temperatura, normalmente son solubles en alcohol o éter. Los aromas y sabores están relacionados en gran parte

con los extractos de ciertas plantas; estos no son sustancias químicamente puras, están constituidas por varios compuestos con distintos puntos de ebullición cuyo rango se encuentra 75 a 90 % del peso total del extracto, si fueran destilados a temperaturas mayores muchos de ellos se descompondrían, oxidarían o se convirtieran en resina (Ojito et al., 2012).

2.7.1 Clasificación de los extractos hojas de mandarina

Se clasifican según su consistencia (estabilidad), origen y naturaleza química de los componentes que estén presentes en mayor cantidad.

Consistencia

- Esencias fluidas: sustancias líquidas volátiles a temperatura ambiente.
- Oleorresinas: contienen el aroma de la planta bien concentrado, son líquidos y de alta viscosidad.
- Bálsamos: se obtienen de los árboles, tienen una consistencia espesa y se pueden polimerizar en algunas de sus reacciones (Ojito et al., 2012).

2.7.2 Origen

- Naturales: Los extractos son sustancias odoríferas de naturaleza oleosa encontradas prácticamente en todos los vegetales; son muy numerosos y están ampliamente distribuidos en distintas partes del mismo vegetal: en las raíces, tallos, hojas, flores y frutos
- Artificiales: se crean mediante el proceso de enriquecer una esencia con algunos de sus componentes, como el anetol, que se agrega a una mezcla de esencia de rosa (Euni, 2020).

2.7.3 Propiedades físicas del extracto de las hojas de mandarina

Son las siguientes propiedades físicas:

- Son líquidos y volátiles a temperatura ambiente.
- Recién destilados son ligeramente amarillos o incoloros.
- Casi siempre tienen un alto índice de refracción y fuerza de rotación.
- Poseen una densidad inferior a la del agua.
- Son muy poco solubles en agua y solubles en grasas, pero son arrastrados fácilmente por el vapor de agua (Ojito et al., 2012).

2.7.4 Caracterización del extracto de la hoja de mandarina

La caracterización comprende todos aquellos métodos que conllevan a la identificación de un compuesto puro o de tipos de compuestos presentes en una mezcla, además agrega que cuando se trata de ésta última, se tiene que realizar un análisis cuantitativo de los componentes; por lo que los métodos de análisis para los extractos pueden ser la densidad, el índice de refracción y el pH. Mediante el trabajo de tesis "Extracción y caracterización del extracto de las hojas de mandarinas mediante el método de arrastre de vapor", toma en cuenta a los principales análisis que se debe realizar, tales como la variedad de hojas, humedad de las hojas, flujo masico a cada extracto extraído (Garcia, 2020).

2.8 Cromatografía de masas acoplada a espectrometría (GC-MS)

La cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas representa una metodología analítica instrumental de alta sofisticación que integra dos técnicas complementarias en un único sistema, esta estrategia sinérgica integra la capacidad de separación de la cromatografía de gases con la capacidad de identificación estructural de la espectrometría de masas, resultando en una herramienta analítica increíblemente poderosa y flexible. El principio de funcionamiento se basa en la vaporización de la muestra, que se separa en sus componentes individuales mediante procedimientos de partición que involucran una fase móvil gaseosa y una fase estacionaria líquida o sólida en una columna capilar, seguida de la ionización, fragmentación y detección de cada uno por separado según su relación masa carga. Esta metodología permite no solamente separar mezclas complejas con cientos de componentes, sino también identificar inequívocamente cada sustancia presente mediante su patrón de fragmentación característico, que funciona como una huella digital molecular única. La técnica se fundamenta en principios físico químicos bien establecidos, donde la separación cromatográfica depende de las diferencias en volatilidad, polaridad y peso molecular de los analitos, mientras que la detección por espectrometría de masas.

2.8.1 Componentes instrumentales y configuración del sistema

El sistema GC-MS comprende múltiples módulos interdependientes que deben operar en perfecta sincronía para garantizar resultados analíticos confiables. El cromatógrafo de gases constituye la primera etapa e incluye un sistema de inyección,

que puede ser de tipo split, splitless, on-column o de espacio de cabeza, dependiendo de la naturaleza de la muestra y los requerimientos analíticos. El horno cromatográfico proporciona control preciso de temperatura mediante programación isotérmica o con gradientes térmicos, fundamental para optimizar la separación de compuestos con diferentes puntos de ebullición. La columna capilar, típicamente de sílice fundida con diámetros internos de 0.25 a 0.32 mm y longitudes entre 15 y 60 metros, contiene una fase estacionaria cuya naturaleza química determina la selectividad de la separación. (Penedo & Ortega, 2020).

La interfaz representa un componente crítico que conecta el cromatógrafo con el espectrómetro de masas, asegurando que los picos cromatográficos permanezcan sin alteraciones y permitiendo ajustar la presión atmosférica del cromatógrafo al alto vacío requerido en el detector de masas. Esta interfaz debe estar suficientemente calentada para evitar la condensación de analitos y debe estar diseñada para minimizar los volúmenes muertos que pueden causar ensanchamiento de picos o pérdida de resolución, una energía que proporciona fragmentación reproducible y facilita la comparación con bibliotecas espectrales estandarizadas. La ionización química es otra técnica, que resulta en menos fragmentación y pone énfasis en el ion molecular, ayudando así en la evaluación del peso molecular (Quintana et al., 2019).

2.8.1.1 Preparación de muestras y metodología analítica

La preparación adecuada de muestras constituye un aspecto crítico que determina en gran medida el éxito del análisis por GC-MS. Estas muestras deben ser volátiles o potencialmente volátiles mediante derivatización química, térmicamente estables y compatibles con las condiciones cromatográficas. Los enfoques de preparación varían según la matriz analizada e incluyen extracción líquida, extracción en fase sólida, micro extracción en fase sólida, extracción asistida por microondas y técnicas de espacio de cabeza estático o dinámico. Por lo tanto, se requiere una optimización sistemática de múltiples parámetros para el desarrollo metodológico. La temperatura del inyector debe ser lo suficientemente alta como para vaporizar instantáneamente la muestra sin causar descomposición térmica. La programación de la temperatura del horno debe diseñarse para lograr una separación adecuada de todos los componentes de interés, equilibrando la resolución cromatográfica con el tiempo total de análisis. El flujo de gas portador (típicamente helio de alta pureza) afecta

tanto la eficiencia como la sensibilidad de la separación, con valores típicos entre 1,0 y 1,5 mL/min en modo de flujo constante. Los parámetros del espectrómetro de masas incluyen el rango de masas escaneado, la velocidad de barrido, el voltaje del multiplicador de electrones y los tiempos de permanencia, todos los cuales deben optimizarse para cada aplicación específica (Quintana et al., 2019).

2.8.2 Modos de adquisición y estrategias de detección

El GC-MS puede operar en diversos modos de adquisición que ofrecen diferentes compromisos entre sensibilidad, selectividad e información estructural. El modo de barrido completo registra todo el espectro de masas en un rango predefinido, típicamente de m/z 35 a 500, proporcionando máxima información estructural y permitiendo identificación mediante comparación con bibliotecas espectrales. Este modo resulta ideal para análisis exploratorios, identificación de compuestos desconocidos y estudios de caracterización comprehensiva. Sin embargo, presenta menor sensibilidad comparado con modos selectivos debido a que el detector divide su tiempo entre múltiples iones (Lomulo, 2022).

2.8.3 Aplicaciones en diferentes campos científicos

La versatilidad del GC-MS lo ha establecido como herramienta indispensable en numerosas disciplinas científicas. En química forense, facilita la identificación inequívoca de sustancias controladas, estupefacientes, drogas de diseño, residuos de disparo, acelerantes de incendios y explosivos. La capacidad de generar resultados admisibles en procedimientos judiciales depende de la rigurosidad metodológica, incluyendo validación exhaustiva, cadena de custodia apropiada y controles de calidad rigurosos. Estos análisis forenses generalmente requieren una sensibilidad extrema para detectar trazas microscópicas y una selectividad absoluta para evitar falsos positivos que puedan llevar a serias consecuencias legales. En el campo del análisis ambiental, el GC-MS cuantifica contaminantes orgánicos persistentes como bifenilos policlorados, dioxinas, furanos, hidrocarburos aromáticos policíclicos, pesticidas organoclorados y organofosforados, compuestos orgánicos volátiles en el aire ambiente y contaminantes emergentes en matrices acuáticas y de suelo. Debido a que los estudios ambientales se realizan y dependen cada vez más del cumplimiento normativo estricto, requieren límites de cuantificación extremadamente bajos, generalmente en el rango de partes por trillón, para mantenerse al día con las

regulaciones y estándares que buscan proteger tanto a los ecosistemas como a los seres humanos (Saynes & Ramírez, 2019).

La industria alimentaria emplea procedimientos de GC-MS para analizar residuos de pesticidas, la presencia de contaminantes como micotoxinas y acrilamida, adulteraciones en productos alimenticios, el perfil de compuestos volátiles responsables del aroma y sabor, la determinación de ácidos grasos trans y la verificación del origen geográfico mediante la identificación por marcadores químicos. La seguridad alimentaria demanda métodos analíticos confiables capaces de detectar contaminantes en niveles traza que pudieran representar riesgos para la salud pública (Lomulo, 2022).

2.8.4 Ventajas distintivas de la técnica

El GC-MS ofrece múltiples ventajas que lo posicionan como técnica analítica de referencia. La capacidad de identificación inequívoca mediante comparación de espectros de masas con bibliotecas comerciales que contienen cientos de miles de compuestos proporciona confianza elevada en resultados analíticos. La sensibilidad excepcional permite detección de analitos en concentraciones extremadamente bajas, alcanzando límites de detección en rangos de picogramos cuando se emplean modos de adquisición selectivos y preparación de muestra óptima (Fonseca et al., 2020).

2.8.5 Limitaciones y consideraciones tecnicas

A pesar de sus numerosas ventajas, el GC-MS presenta limitaciones inherentes que deben considerarse al seleccionar metodologías analíticas. La restricción más significativa radica en que solamente compuestos volátiles y térmicamente estables pueden analizarse directamente, excluyendo moléculas polares de alto peso molecular, sales inorgánicas, polímeros y biomoléculas grandes como proteínas y ácidos nucleicos. Que la derivatización química puede extender el rango de aplicabilidad, estos procedimientos adicionales incrementan tiempo de análisis, complejidad metodológica y potencial para introducir errores o pérdidas de analitos. Los efectos de matriz en muestras complejas pueden causar supresión o amplificación de señales analíticas, afectando exactitud de cuantificación y requiriendo estrategias de compensación como uso de estándares internos apropiados, calibración por adición estándar o métodos de dilución isotópica (Fonseca et al., 2020).

2.9 Evaluación colorimétrica del extracto natural

Una de las características más relevantes del "pájaro azul" es su color azul característico, tradicionalmente logrado mediante colorantes sintéticos. Al sustituirlos por un extracto natural obtenido de hojas de mandarina, surge la necesidad de evaluar su efectividad como colorante alimentario. Para ello, se realizan pruebas colorimétricas utilizando equipos como espectrofotómetros o colorímetros, que permiten medir parámetros como luminosidad, coordenadas cromáticas e índice de croma, con el fin de asegurar que el tono obtenido sea el deseado y que permanezca estable a lo largo del tiempo (Saynes & Ramírez, 2019).

2.9.1 Estabilidad del color bajo diferentes condiciones ambientales

El comportamiento del extracto colorante natural puede verse afectado por factores como la temperatura, exposición a la luz UV y el pH del medio, elementos comunes en el procesamiento y almacenamiento de bebidas alcohólicas. Por ello, dentro de las pruebas por error, se incluyen ensayos de estabilidad del color, donde se someten muestras del producto terminado a distintas condiciones ambientales controladas. Esto permite identificar si el extracto mantiene su funcionalidad colorante o si, por el contrario, se degrada, precipita o cambia de tonalidad, afectando la calidad visual del producto (Lomulo, 2022).

2.9.2 Comparación del color entre muestras testigo y con extracto

Para validar el uso del extracto natural como alternativa viable, se lleva a cabo una comparación objetiva entre el producto elaborado con colorantes sintéticos convencionales muestra testigo y el elaborado con el extracto de hojas de mandarina. La idea es determinar si el cambio de colorante genera diferencias perceptibles y si éstas podrían influir en la aceptación del consumidor (Saynes & Ramírez, 2019).

2.9.3 Influencia del alcohol y otros componentes en la coloración

En bebidas alcohólicas, el etanol puede interactuar con los compuestos responsables del color en extractos vegetales, alterando su estabilidad o solubilidad. Es fundamental analizar cómo se comporta el extracto de hojas de mandarina en un medio alcohólico, ya que esto puede influir en la apariencia final del producto. Las pruebas por error deben contemplar este factor, evaluando posibles cambios en el color durante el proceso de maceración, fermentación o mezcla con otros ingredientes (Quintana et al., 2019).

CAPÍTULO III

3 MARCO METODOLÓGICO

3.1 Ubicación de la investigación

La presente investigación propuesta se realizará en el laboratorio de investigación y vinculación de la Universidad Estatal de Bolívar.

3.1.1 localización de la investigación

Tabla 3

localización de la investigación

Provincia	**Bolívar**
Cantón	Guaranda
Parroquia	Gabriel Ignacio Veintimilla
Sector	Laguacoto II
Dirección	Laguacoto II (Guaranda Guaranda Km.1 ½ vía San Simón)

3.1.2 Situación geográfica y climática de la localidad

Tabla 4

Parámetros climáticos del territorio

Parámetros	Valores
Altitud promedio	2.604 msnm
Latitud	01º 36' 52" sur
Longitud	78º 59' 54" oeste
Temperatura máxima	21 ºC
Temperatura mínima	7 ºC
Temperatura media	14,4 ºC
Precipitación media anual	980 mm
Humedad relativa	70%
Heliófilo promedio	900 horas/luz/año
Velocidad de viento	6 m/s

3.2 Metodología

3.2.1 Materiales experimentales

- Hojas de mandarina

3.2.2 Materiales de campo

- Cuaderno de apuntes
- Computadora portátil
- Impresora
- Esferos gráficos

3.2.3 Materiales de laboratorio

- Vasos de precipitados
- Matraz balón de fondo redondo
- Tubos de ensayo y gradillas
- Embudos de vidrio y embudos separadores
- Probetas graduadas
- Pipetas graduadas y automáticas
- Frascos de vidrio ámbar (para almacenar los extractos)
- Espátulas de acero inoxidable o vidrio
- Papel de filtro
- Etiquetas adhesivas para identificación de muestras
- Estufa
- Papel indicador de Ph
- Agitadores de vidrio
- Parafilm
- Cinta adhesiva

3.2.4 Insumos y reactivos

- Etanol 98%
- Agua destilada o desionizada (H_2O)
- Sulfato de almunia
- Quercetina

3.2.5 Equipos

Tabla 5

Equipos de laboratorio

Equipo	Modelo	Función	Imagen
Balanza analítica	RADWAG	• Pesar muestras	
Refractómetro	HANNA	• Medir concentración de líquidos	
Termómetro	ASTM 6C	• Medir temperatura	
Cromatografía de masas	AGILLED	• Equilibrio vapor-muestra • Analizar	
Alcalímetro densímetro	GAY-LUSSAC	• Medir densidad o grado alcohólico	
Balanza termogravimétrica	METILER TOLEDO	• Determinar porcentaje de humedad • Pesar muestras	

3.3 Métodos

3.3.1 Factores de estudio

Los factores considerados para el aprovechamiento de residuos biomasicos de la hoja de mandarina para la obtención de extracción fueron: Factor A variedades de hoja de mandarina con tres niveles y Factor B métodos de extracción con tres niveles.

Tabla 6

Factores de estudio y sus niveles

Factores	**Código**	**Nivel**
Variedades de hojas de mandarina	A	a_1: Criolla *(Citrus reticulata criolla)* a_2: Cascaruda ($Nobilis\ loureiro$) a_3: Satsuma (*Citrus unshiu)*
Métodos de Extracción	B	b_1: Ultrasonido b_2: Maceración b_3: Percolación

3.3.2 Tratamientos para estudios experimentales

Los tratamientos constituyen la combinación de cada uno de los niveles de ellos factores A y B que intervienen en este estudio.

Tabla 7

Combinación de tratamientos para la investigación

Tratamientos	**Código**	**Niveles**	
		A	**B**
1	a_1b_1	Criolla	Ultrasonido
2	a_1b_2	Criolla	Maceración
3	a_1b_3	Criolla	Percolación
4	a_2b_1	Cascaruda	Ultrasonido
5	a_2b_2	Cascaruda	Maceración
6	a_2b_3	Cascaruda	Percolación
7	a_3b_1	Satsuma	Ultrasonido
8	a_3b_2	Satsuma	Maceración
9	a_3b_3	Satsuma	Percolación

3.3.3 Características del experimento

Con ayuda de los factores en estudio se procederá a detalla las características de la experimentación, donde se evidencia el número de factores, numero de niveles de cada factor, numero de réplica, variables de respuesta y lo más importante el tamaño de la muestra.

Tabla 8

Características del experimento

Características del experimento	
factores experimentales	2
Nivel factores A	3
Nivel factores B	3
Replicas	2
Unidades experimentales	9
Tamaño de muestra	200 g
Variable de respuesta	4

Nota: las variables de respuestas son: volumen del extracto, densidad, rendimiento y coloración.

3.3.4 Diseño experimental

Se aplicará un diseño en arreglo factorial con dos factores AxB (3x3) con dos repeticiones, el modelo matemático es el siguiente:

$$\mathbf{Y_{ijkl}} = \mu + A_i + \beta_j + C_k + (A\beta)_{ij} + (AC)_{ik} + (\beta C)_{jk} + ABC_{ijk} + \varepsilon_{ijkl}$$

Donde:

μ: media general.

A_i: efecto del nivel i del factor A

β_j: efecto del j-ésimo nivel del factor B.

C_k: efecto del k-esimo nivel del factor C.

$(A\beta)_{ij}$, $(AC)_{ik}$, $(BC)_{jk}$: efecto de interacción doble en los niveles ij, ik, jk.

$(ABC)_{ijk}$: efecto de interacción triple en la combinación ijk.

ε_{ijkl}: error aleatorio en la combinación ijk.

3.3.5 Modelo de análisis de varianza (ANOVA)

Se aplicará el siguiente modelo de análisis de varianza:

Tabla 9

Análisis de varianza ANOVA para el diseño AxB

Fuente de variabilidad	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medio	F_o	Valor-p
A	SC_A	1	CM_A	CM_A/CM_E	P(F >*F*) 0
B|	SC_B	1	CM_B	CM_B/CM_E	P(F >*F*) 0
C	SC_C	1	CM_C	CM_C/CM_E	P(F >*F*) 0
AC	SC_{AB}	1	CM_{AB}	CM_{AC}/CM_E	P(F >*F*) 0
BC	SC_{BC}	1	CM_{AC}	CM_{BC}/CM_E	P(F >*F*) 0
ABC	SCA_{BC}	1	CM_{BC}	CM_{ABC}/CM_E	P(F >*F*) 0
Error	SC_E	$2^3(n-1)$	CM_E		
Total	SC_T	$n2^3-1$			

Nota: Tomado de análisis y diseño de experimento, por Gutiérrez & Salazar (2008).

3.3.6 Modelo de prueba de rangos múltiples

Se aplicará el método matemático para pruebas de rangos múltiples Tukey:

$$T_a = q_\alpha(k, N-K)\sqrt{CM_E/n_i}$$

Donde:

CM_E: cuadrado medio de error

n_i: número de observaciones por tratamiento

k: numero de tratamientos

$N-K$: grados de libertad para error

α: nivel de significancia prefijado

$q_\alpha(k, N-K)$: puntos porcentuales de la distribución del rango estudentizado.

3.4 Metodología experimental

A continuación, se detalla los análisis que se realizaran a la materia prima (hoja de mandarina):

3.4.1 Tipos de análisis de la hoja de mandarina

- Análisis elemental (Carbono, nitrógeno, hidrogeno y azufre)
- Análisis proximal (humedad, cenizas, carbono, volátiles totales).

3.4.1.1 análisis proximal de la hoja de mandarina

Los análisis y cálculos proximales se realizaron siguiendo metodologías estandarizadas, tomando como base las normativas técnicas reconocidas a nivel nacional e internacional. Dichas normas serán adecuadas, en la medida de lo necesario, a las particularidades de las muestras de las hojas de mandarina y a las condiciones operativas del Laboratorio de Investigación de la Universidad Estatal de Bolívar, asegurando así la confiabilidad y pertinencia de los resultados obtenidos

3.4.1.1.1 Determinación de humedad

- Se determino mediante la normativa (UNE-EN-ISO 18134-3).

3.4.1.1.2 Determinación de ceniza

- Se determino mediante la normativa (UNE-EN-ISO 18122).

3.4.1.1.3 Contenido de materias volátiles

- Se determino según la normativa (UNE-EN-ISO 18123).

3.4.1.2 Análisis elemental de la hoja de mandarina

El análisis elemental se realizó siguiendo metodologías estandarizadas, tomando como base normativas técnicas reconocidas a nivel nacional e internacional. Estas normas serán adaptadas, en la medida necesaria, a las características particulares de las muestras de hojas de mandarina y a las condiciones operativas del Laboratorio de Investigación de la Universidad Estatal de Bolívar, con el fin de garantizar la confiabilidad, precisión y pertinencia de los resultados obtenidos.

3.4.1.2.1 Porcentaje total de carbono

- Se determino según la normativa (UNE-EN-ISO 16948).

3.4.1.2.2 Porcentaje total de Nitrógeno

- Se determino según la normativa (UNE-EN-ISO 16948).

3.4.1.2.3 Porcentaje total de Hidrogeno

- Se determino según la normativa (UNE-EN-ISO 16948).

3.4.1.2.4 Porcentaje total de Azufre

- Se determino según la normativa (UNE-EN-ISO 16948).

3.5 Desarrollo y técnicas de manejo de tipos de extracciones

3.5.1 Proceso de extracción por ultrasonido

Para obtención del extracto por ultrasonido, se deben seguir estas actividades específicas:

a) Recolección y preparación de las hojas

- Recolectar hojas frescas de mandarina
- Seleccionar hojas sanas, sin daños visibles ni enfermedades
- Lavar con agua destilada para eliminar polvo e impurezas superficiales

b) Procesamiento del material vegetal

- Triturar o moler las hojas secas hasta obtener partículas pequeñas
- Se midieron 20 gramos de materia prima (hojas de mandarina)

c) Selección y preparación del disolvente

- Elegir el disolvente adecuado según los compuestos a extraer (etanol, metanol, agua o mezclas)
- Se prepararon 300 ml de etanol al 70% para la extracción
- Preparar la relación muestra: disolvente (generalmente 1:10 a 1:20)

d) Configuración del equipo de ultrasonido

- La frecuenta fue ajustada (generalmente 37 kHz)
- Se estableció un poder del (100 %)
- Programar el tiempo de extracción (90 minutos)
- Controlar la temperatura (45 °C)
- Relación materia primas +solvente (1.10)

e) Proceso de extracción

- Colocar agua destilada a una base limitada para el procedimiento
- Colocar la mezcla de hojas y el solvente en un recipiente apropiado
- Sumergir en el baño de ultrasonido o aplicar la sonda ultrasónica
- Mantener control de temperatura durante el proceso

a) Filtración y separación

- Filtrar la mezcla utilizando papel filtro o tela filtrante
- Presionar el material vegetal para extraer la mayor cantidad de líquido
- Recolectar cuidadosamente el filtrado (extracto líquido)

b) Concentración del extracto

- El líquido filtrado se concentró utilizando un evaporador rotativo para eliminar el exceso de solvente
- Utilizar una rota evaporadora a presión reducida (temperatura no mayor a 50°C)
- La concentración se realizó a una temperatura de 40°C y una presión reducida para evitar la degradación de los compuestos bioactivos

c) Envasado y almacenamiento

- Transferir el extracto a recipientes de vidrio ámbar
- Etiquetar con fecha, contenido y condiciones de preparación
- Almacenar en refrigeración (2-8°C) o lugar fresco y oscuro

d) Control de calidad

- Determinar el rendimiento de la extracción.

3.5.2 Etapas del proceso de extracción por maceración

Para obtención del extracto por maceración, se deben seguir estas actividades específicas:

e) Recolección y selección del material vegetal.

- Recolectar hojas frescas de mandarina
- Seleccionar hojas sanas, sin signos de enfermedad o daños
- Descartar hojas deterioradas o con hongos

f) Preparación de las hojas

- Lavar cuidadosamente con agua destilada para eliminar polvo e impurezas.
- Se midieron 20 gramos de materia prima (hojas de mandarina).

g) Preparación del solvente

- Se prepararon 300 ml de etanol al 70% para la extracción.

h) Reducción de tamaño

- Triturar o moler las hojas secas hasta obtener fragmentos pequeños
- Tamizar para obtener un tamaño de partícula uniforme
- Aumentar la superficie de contacto facilitará la extracción

i) Pesado del material vegetal

- Determinar con precisión la cantidad de hojas molidas a utilizar

- Registrar el peso para calcular posteriormente el rendimiento

j) Selección del disolvente

- Elegir el disolvente apropiado según los compuestos a extraer
- Para hojas de mandarina: etanol (70-80%), etanol, agua o mezclas hidroalcohólicas
- Considere la polaridad de los compuestos objetivo (aceites esenciales, flavonoides, etc.).

k) Preparación de la mezcla para maceración

- Colocar el material vegetal en un recipiente adecuado (preferiblemente de vidrio ámbar)
- Añadir el disolvente en proporción adecuada (generalmente 1:10 hoja disolvente)
- Asegurar que el material vegetal quede completamente sumergido

l) Proceso de maceración

- Cerrar herméticamente el recipiente
- Se coloco un rotaevaporador con una temperatura constante de 40°C durante 10 dias
- La temperatura se mantuvo constante para favorecer la extracción de los compuestos bioactivos
- Durante los 10 días, las botellas se agitaron 2 veces al día para asegurar una extracción uniforme

m) Filtración y separación

- Filtrar la mezcla utilizando papel filtro o tela filtrante
- Presionar el material vegetal para extraer la mayor cantidad de líquido.
- Recolectar cuidadosamente el filtrado (extracto líquido)

n) Concentración del extracto

- El líquido filtrado se concentró utilizando un evaporador rotativo para eliminar el exceso de solvente
- Utilizar una rota evaporadora a presión reducida (temperatura no mayor a 50°C)
- La concentración se realizó a una temperatura de 40°C y una presión reducida para evitar la degradación de los compuestos bioactivos.

o) Envasado y almacenamiento

- Transferir el extracto a recipientes de vidrio ámbar
- Etiquetar con fecha, contenido y condiciones de preparación
- Almacenar en refrigeración (2-8°C) o lugar fresco y oscuro

p) Control de calidad

- Determinar el rendimiento de la extracción

Nota: Es importante destacar que el proceso de maceración y extracción puede variar dependiendo del tipo de materia prima y del objetivo de la extracción. Es fundamental seguir las buenas prácticas de laboratorio y tomar las medidas de seguridad necesarias para evitar la contaminación y la degradación de los compuestos bioactivos.

3.5.3 Etapas del proceso de extracción por percolación

Para la obtención del extracto por percolación se sigue las siguientes actividades o etapas

a) Preparación del material vegetal:

- Molienda para obtener un tamaño de partícula adecuado (generalmente entre 2-5 mm)
- Humectación previa con una pequeña cantidad del solvente seleccionado durante 2-4 horas

b) Montaje del percolador:

- Colocación el embudo buchner
- Seguido del embudo de decantación que le sostiene un soporte universal
- Color el matraz Erlenmeyer para separar el extracto de la materia prima más solvente
- Empaquetamiento homogéneo del material vegetal humedecido en el percolador

c) Adición del solvente:

- Verter cuidadosamente el solvente (etanol al 70%)
- Cierre hermético del percolador para evitar evaporación

d) Maceración inicial:

- Permitir un tiempo de contacto inicial (23 horas), sin abrir la llave del percolador
- Esta fase favorece la penetración del solvente y el ablandamiento de las estructuras celulares

e) Proceso de percolación:

- Apertura de la llave inferior para permitir un goteo lento (2-3 ml/min)
- Adición continua o intermitente de solvente fresco en la parte superior
- Mantenimiento constante del nivel de solvente sobre el material vegetal

f) Recolección:

- El extracto se recoge en fracciones
- Las primeras fracciones son más concentradas
- El proceso continúa hasta agotamiento (cuando el solvente sale incoloro o pruebas cualitativas negativas)
- Combinación de las fracciones según concentración

q) Filtración y separación

- Filtrar la mezcla utilizando papel filtro o tela filtrante
- Presionar el material vegetal para extraer la mayor cantidad de líquido
- Recolectar cuidadosamente el filtrado (extracto líquido)

r) Concentración del extracto

- El líquido filtrado se concentró utilizando un evaporador rotativo para eliminar el exceso de solvente.
- Utilizar una rota evaporadora a presión reducida (temperatura no mayor a 50°C)
- La concentración se realizó a una temperatura de 40°C y una presión reducida para evitar la degradación de los compuestos bioactivos

s) Envasado y almacenamiento

- Transferir el extracto a recipientes de vidrio ámbar
- Etiquetar con fecha, contenido y condiciones de preparación
- Almacenar en refrigeración (2-8°C) o lugar fresco y oscuro

t) Control de calidad

- Determinar el rendimiento de la extracción

Nota: Para las hojas de mandarina, este método permite extraer eficazmente flavonoides, limonoides, extractos y otros compuestos bioactivos con propiedades antioxidantes y antimicrobianas características de los cítricos.

3.6 Identificación de compuestos volátiles por cromatografía de masas

a) Preparación del equipo

Se utilizó un equipo de cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas (GC-MS). El sistema fue configurado con una columna capilar HP 5 MS, la cual fue seleccionada para la separación de los compuestos volátiles presentes en la muestra. Se verificó que el parámetro de inyección estuviera establecido para utilizar la columna cromatográfica como medio de inyección directa de la muestra.

b) Configuración de las condiciones de la columna y flujo de gas portador

Se ajustó el flujo del gas portador, identificado como S.O., a un valor de 0.8 mL por segundo. La presión del sistema se estableció en 9.99, lo cual corresponde a una condición de alta presión, según la configuración requerida para este análisis. Esta presión se mantuvo constante durante todo el tiempo de corrida.

c) Establecimiento de las condiciones de inyección

Se realizó una inyección en modo sin división para la muestra, lo que permitió que toda la muestra inyectada entrara en la columna. El volumen inyectado fue de 0,250 µL a través de una jeringa con una capacidad de 4 microlitros. La temperatura del inyector se fijó en 250 °C para vaporizar completamente la muestra. Hubo residuos o cenizas mínimas en la muestra durante la inyección, lo que no afectó significativamente el análisis.

Adicionalmente, se registraron los siguientes parámetros:

- Relación L → L: Se estableció en 30.
- Factor F →: Se ajustó a 0.25.
- Factor D →: Se ajustó a 0.025.

Estos valores fueron introducidos en el software del equipo para garantizar la reproducibilidad del método.

d) Programación de la temperatura del horno

El programa de temperatura del horno del cromatógrafo se configuró de la siguiente manera:

- Se inició el análisis a una temperatura de 60 °C.
- Esta temperatura se mantuvo durante 1 min inicial para permitir la evaporación de los componentes más volátiles.
- Se utilizó una rampa de calentamiento lineal de 60℃ a 100℃. A 100 °C, esta temperatura se mantuvo durante 30 segundos.
- Luego, se aplicó una segunda rampa de calentamiento de 100 °C a 280 °C.
- Finalmente, la temperatura de 280℃ se mantuvo durante 76 min, correspondiente al tiempo total de la corrida analítica.
- Además, se registró la nota "RT 30℃ x N/min", la cual pudo haberse referido a un tiempo de retención o a una condición adicional de rampa inicial, aunque no fue especificada completamente en el protocolo original.

e) Configuración del detector de masas (MS)

El detector de masas fue configurado con una temperatura de 280 °C para evitar la condensación de compuestos y garantizar una ionización eficiente. El rango de masas monitoreadas se estableció entre m/z 35 y m/z 550, lo cual cubrió la gama esperada de compuestos volátiles presentes en la muestra. El equipo operó en modo de escaneo (Scan Mode) para obtener espectros completos de cada pico eluido. Para la identificación de los compuestos, se utilizó la biblioteca MS/HP, que contiene espectros de referencia de compuestos volátiles.

f) Procedimiento experimental realizado

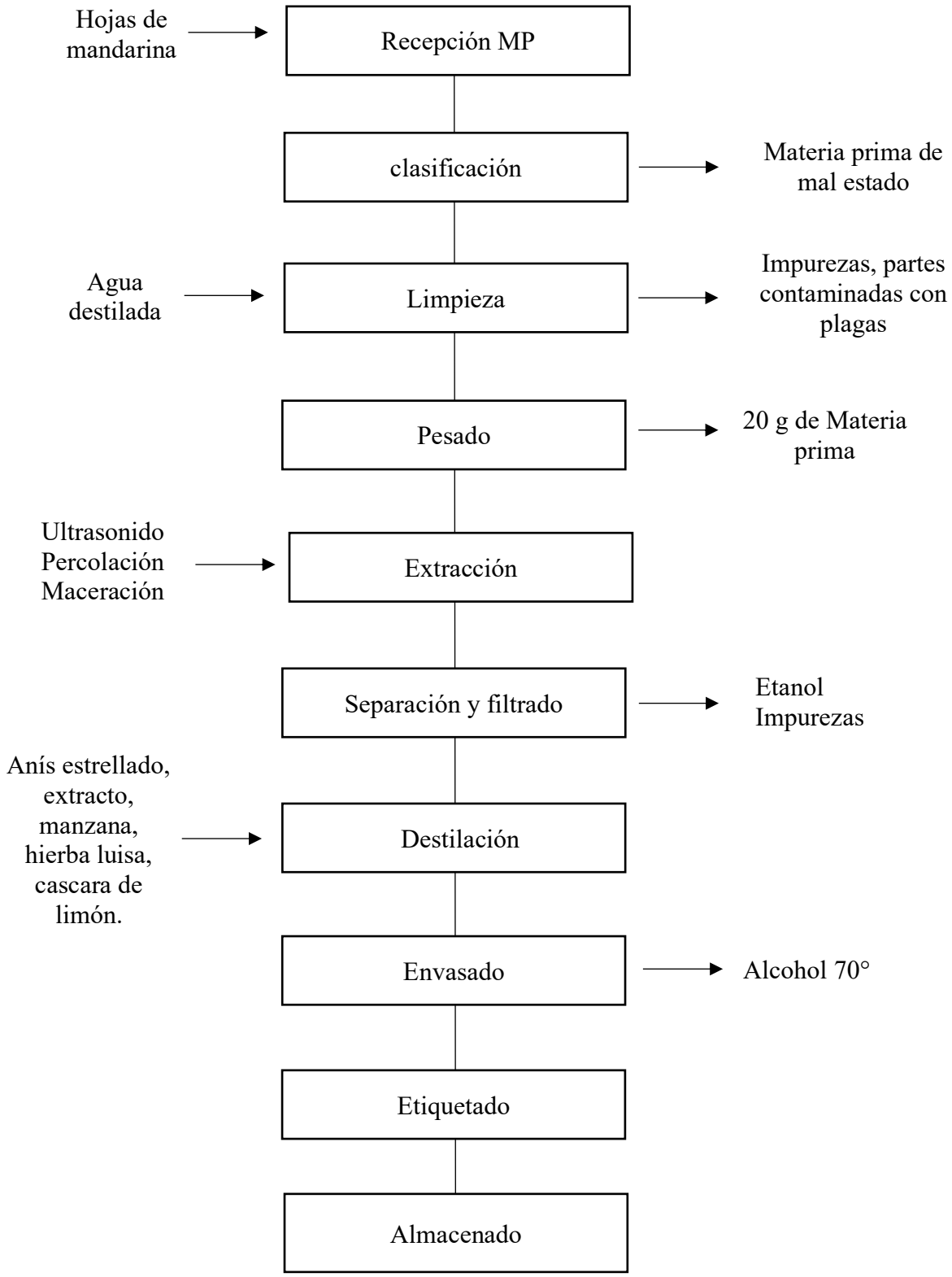
Se inyectó la muestra en el sistema GC-MS siguiendo el programa de temperatura y condiciones descritas anteriormente. Inmediatamente después de la inyección de la muestra, se realizó una inyección de solvente para limpiar el sistema y evitar contaminación cruzada entre corridas. Se revisaron las condiciones térmicas tanto del horno como del detector para confirmar que estuvieran dentro de los límites establecidos. La muestra fue preparada de acuerdo con el protocolo previamente definido, aunque no se especificó el procedimiento exacto de preparación en el registro original. Al concluir la corrida, se enfatizó la necesidad de limpiar el sistema

utilizando solvente H posiblemente hexano u otro solvente apropiado para preservar la integridad del equipo y prevenir interferencias en análisis futuros.

3.7 Bebida alcohólica tradicional pájaro azul

La bebida alcohólica artesanal pájaro azul es un destilado de 45 a 50 grados, conocido por su color azulado y aroma único. En el pasado, su producción era clandestina y los fabricantes estaban obligados a entregar entre 2.000 y 3.000 litros al Estanco Nacional para la elaboración de otras bebidas comerciales, sin acceso a la venta libre. Fue a partir de la década de 1970 cuando se permitió su comercialización directa, con un alto contenido alcohólico de hasta 80 grados. Hoy en día, los pequeños productores se enfrentan a nuevas normativas y señalan que carecen de los recursos necesarios para cumplirlas, por lo que solicitan apoyo institucional para regularizar sus operaciones.

3.7.1 Diagrama de proceso de la elaboración de la bebida alcohólica



Procedimiento para la elaboración de la bebida alcohólica

a) Recepción de la materia prima

Para la obtención de la materia prima, se procedió a la recolección de hojas de tres variedades de mandarina satsuma, criolla y cascaruda. La cosecha se llevó a cabo en plantaciones ubicadas en el recinto La Palma, vía Mate Cacao, provincia de Los Ríos, Ecuador, zona caracterizada por sus condiciones climáticas favorables para el cultivo de cítricos.

b) Clasificación

La clasificación de la materia prima se desarrolló en el laboratorio de investigación de la Universidad Estatal de Bolívar, donde se recolecto un total de 3 kilogramos de hojas de mandarina, correspondientes a las tres variedades estudiadas, con 1 kilogramo de hojas por cada variedad. El proceso de clasificación se llevó a cabo mediante inspección visual y manual, separando y seleccionando las hojas que cumplieran con los criterios de calidad establecidos para la investigación, tales como: tamaño uniforme, color verde intenso característico de cada variedad, ausencia de manchas, decoloraciones o daño, se procedió a eliminar hojas que presentaran signos de deterioro, presencia de plagas, enfermedades o cualquier contaminante externo que pudiera comprometer la calidad de la materia prima.

c) Limpieza

La limpieza de las tres variedades de hojas de mandarina se realizó empleando agua destilada para garantizar la eliminación de impurezas, polvo, residuos y cualquier contaminante presente en la superficie foliar, sin alterar las propiedades fisicoquímicas de las hojas. El proceso se llevó a cabo de forma manual y cuidadosa, cada hoja fue lavada individualmente mediante inmersión suave en agua destilada y limpieza superficial con movimientos delicados, evitando la ruptura o daño de la lámina foliar. Posteriormente, se procedió al secado de las hojas utilizando toallas reutilizables de algodón, realizando toques suaves y absorbentes sobre ambas caras de cada hoja, con el fin de eliminar el exceso de humedad superficial sin ejercer presión que pudiera causar deterioro.

d) Pesado

El pesado de las tres variedades de hojas de mandarina (satsuma, criolla y cascaruda) se utilizando una balanza analítica de precisión previamente calibrada. Se pesaron 20 gramos de hojas limpias y secas de cada variedad este peso fue establecido como la cantidad óptima para la extracción, una vez pesadas, las muestras de 20 gramos de cada variedad fueron introducidas cuidadosamente en frascos de vidrio ámbar debidamente esterilizados y etiquetados, identificando la variedad, fecha y peso de la muestra. Posteriormente, se adicionó etanol al 70% como solvente de extracción, en una relación sólido-líquido establecida, asegurando la completa inmersión de las hojas en el solvente. Los frascos ámbar fueron sellados herméticamente para evitar la evaporación del solvente y la degradación de los compuestos bioactivos por exposición a la luz, quedando las muestras preparadas y listas para proceder a la siguiente etapa.

e) Extracción

El proceso de extracción de las tres variedades de hojas de mandarina (satsuma, criolla y cascaruda) se empleando tres métodos diferentes: ultrasonido, maceración y percolación. Para la extracción por ultrasonido, los frascos ámbar conteniendo 20 gramos de hojas de cada variedad sumergidas en etanol al 70% fueron colocados en un baño ultrasónico a una frecuencia de 20-40kHz y temperatura ambiente de 37°C durante 90 minutos, permitiendo la ruptura celular y liberación de los compuestos mediante ondas ultrasónicas. En el método de maceración, se utilizó un equipo de incubadora digital, las muestras de 20 gramos de hojas de cada variedad fueron mantenidas en contacto con etanol al 70% en frascos ámbar herméticamente cerrados a temperatura ambiente durante 14 días, con agitación manual 2 veces al día para favorecer la difusión de los compuestos solubles desde el material vegetal hacia el solvente. Para la extracción por percolación, se utilizó un método tradicional, las hojas de cada variedad fueron colocadas en la columna de extracción, permitiendo el paso lento y continuo de etanol al 70% a través del material vegetal durante 23 horas, facilitando la extracción exhaustiva de los compuestos por contacto continuo y renovación constante del solvente.

f) Separación y filtrado

El proceso de separación y filtrado se realizó con el objetivo de separar completamente el material vegetal sólido del extracto líquido y obtener una solución clara libre de partículas en suspensión. Inicialmente, se procedió a la decantación de cada muestra, separando cuidadosamente la fase líquida de los residuos sólidos de hojas presentes en los frascos ámbar, posteriormente, se realizó un primer filtrado utilizando papel filtro Whatman N°4, colocado en embudos de vidrio previamente esterilizados, permitiendo el paso del extracto líquido y reteniendo las partículas de mayor tamaño. Para garantizar la completa clarificación de los extractos y eliminar cualquier residuo fino o sedimento remanente, obteniendo así extractos hidroalcohólicos clarificados y homogéneos. Se logró obtener un volumen aproximado de 150 a 200 ml de extracto filtrado por cada combinación de variedad y método de extracción, variando el rendimiento según la eficiencia de cada técnica y las características propias de cada variedad de hoja de mandarina. Los extractos filtrados fueron recolectados en frascos de vidrio ámbar limpios y esterilizados, debidamente etiquetados con información detallada que incluía variedad de mandarina, método de extracción utilizado, fecha de filtración y volumen obtenido. Finalmente, los extractos clarificados fueron almacenados en refrigeración a 4°C, protegidos de la luz y en condiciones herméticas.

g) Separación de etanol del extracto

El proceso de se realizó mediante rota evaporación, colocando los extractos filtrados 150-200 mL en el balón de evaporación bajo condiciones controladas: temperatura de 40 °C, velocidad de rotación de 75 rpm y presión reducida de 70 mbar. Estas condiciones facilitaron la evaporación selectiva del etanol al 70 % que se utilizó como disolvente, mientras que los compuestos bioactivos quedaron concentrados en el balón. Los extractos concentrados fueron transferidos a viales de vidrio ámbar debidamente etiquetados con la información de variedad, método de extracción, volumen final y fecha de concentración, y posteriormente almacenados en refrigeración a 4 ℃ protegidos de la luz hasta su caracterización fisicoquímica y evaluación de actividad biológica.

h) Proceso de destilación del pájaro azul con extractos de hojas de mandarina

El sistema de destilación fue configurado de acuerdo con los protocolos estandarizados para la destilación simple, empleando una manta calefactora como fuente principal de calor. Esta se calibró y mantuvo a una temperatura constante de 150°C durante todo el proceso. Simultáneamente, se llevó a cabo un monitoreo continuo que permitió mantener la temperatura del destilador estable en 70°C, lo cual favoreció la volatilización controlada de compuestos aromáticos y alcohólicos sin causar degradación térmica en los componentes sensibles. El sistema de refrigeración funcionó con un caudal adecuado de agua, asegurando así una condensación eficiente y continua de los vapores generados. La formulación del destilado incorporó ingredientes tradicionales dosificados con precisión: anís estrellado, manzana, hierba luisa, hierbas diversas, cáscara de limón y canela; además del extracto central proveniente de hojas de mandarina. Esto último contribuyó a obtener destilados con perfiles organolépticos únicos.

i) Envasado

Se procedió al envasado de la bebida tradicional pájaro azul posterior al proceso de destilación, obteniéndose un destilado con una graduación alcohólica de 80°. Considerando que esta concentración alcohólica resulta excesivamente elevada para el consumo directo y con el objetivo de cumplir con los estándares de calidad y seguridad alimentaria, se realizó un proceso de dilución controlada mediante la adición de agua destilada o potable, reduciendo la graduación alcohólica hasta alcanzar los 49° alcohólicos, valor establecido como óptimo para el consumo humano, una vez estandarizada la graduación alcohólica, se procedió al envasado en recipientes de vidrio previamente esterilizados, garantizando las condiciones higiénico sanitarias adecuadas, cada envase fue herméticamente sellado.

j) Etiquetado

Se realizó el etiquetado del producto final siguiendo las normativas vigentes para bebidas alcohólicas artesanales, asegurando la correcta información al consumidor. Cada envase fue identificado mediante una etiqueta que incluía los datos esenciales del producto: la denominación "pájaro azul", la graduación alcohólica claramente

visible para informar sobre el contenido alcohólico de la bebida, se estableció la fecha de caducidad del producto considerando las características de estabilidad de las bebidas destiladas con extractos naturales.

k) Almacenado

Se procedió al almacenamiento del producto final bajo condiciones controladas. Los envases debidamente etiquetados fueron ubicados en un área designada con temperatura ambiente.

CAPÍTULO IV

4 REULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Análisis proximal y elemental de las hojas de mandarina

Los datos que se presentan a continuación corresponden al análisis proximal y elemental llevado a cabo en hojas de tres variedades de mandarina, cuyas muestras fueron procesadas en el laboratorio de investigación de la Universidad Estatal de Bolívar.

4.1.1 Análisis elemental de las hojas de mandarina

Tabla 10

Análisis elemental de las hojas de mandarina

Variedades hojas de mandarina	Propiedades						Método
	Carbono (%)	Nitrógeno (%)	Hidrógeno (%)	Azufre (%)	Relación C/N (%)	Relación C/H (%)	
Criolla	24,36	1,25	6,48	5,03	18,82	3,64	UNE-EN
Cascaruda	30,64	2,12	4,25	0,10	15,30	7,20	ISO
Satsuma	21,74	1,45	5,78	0,03	14,84	3,76	16948

La Tabla 10 se presenta el análisis elemental, mediante el cual se observaron diferencias significativas entre las variedades estudiadas. La variedad cascaruda destacó por un mayor contenido de carbono 0,3% y nitrógeno, lo se observa una estructura más lignificada y rica en compuestos orgánicos, en tanto que las variedades satsuma y criolla obtuvieron menores valores de carbono 0,2%, cada una y nitrógeno, la relación carbono/nitrógeno C/N se encontró en un nivel más alto en la variedad criolla con un 18.82%, demostrando el estado estable de la materia orgánica y una descomposición lenta en comparación con satsuma y cascaruda, que presentaron respectivamente un 14.84% y un 15.30%. Estas últimas mostraron relaciones más bajas, indicando una degradación más rápida. En cuanto al contenido de azufre, criolla mostró un contenido bastante elevado 5.03%, que es mucho mayor que el encontrado en cascaruda 0.10% y satsuma 0.03%. Esto resalta una mayor cantidad

de aminoácidos que contienen azufre y son necesarios para las actividades enzimáticas catalíticas y las vías biosintéticas de metabolitos bioactivos.

4.1.2 Análisis proximal de las hojas de mandarina

4.1.2.1 Fase fresca

Es una expresión más pura y viva, antes de que el tiempo o el proceso la transformen. Es en este estado donde los aceites esenciales, los aromas y los compuestos bioactivos son más íntegros, reflejando la esencia misma de la planta. Cada variedad revela su propia identidad a través de la textura, la humedad y la riqueza volátil, sin homogenizaciones ni pérdidas. Este no es un simple material vegetal, sino un archivo químico de adaptación, genética y entorno. Evaluarla en fase fresca es escuchar lo que la planta dijo en el momento de la cosecha, antes de que el mundo exterior la silenciara. Sin este punto de partida, cualquier análisis posterior carece su autenticidad. Por lo tanto, preservar, comprender y respetar la fase fresca no es un detalle técnico, es el parámetro funcional de cualquier valor.

Tabla 11

Análisis proximal hojas de mandarina fase fresca

Variables	Unidad	Método	Variedades de hojas de mandarina		
			Criolla	Cascaruda	Satsuma
Humedad	%	UNE-EN-ISO 18134-3	57,35	40,09	57,93
Cenizas	%	UNE-EN-ISO 18122	0,065	0,07	0,060
Volátiles Totales	%	UNE-EN-ISO 18123	83,87	81,81	85,85

En la tabla 11 se puede observar, los valores de humedad, cenizas y volátiles totales en fase fresca se reflejaron que Satsuma y criolla presentan altos contenidos de humedad del 57,9% y 57,3% respectivamente, mientras que cascaruda resalta por su baja humedad 40,1% lo que constituye una ventaja para procesos termoquímicos al reducir costos de secado. Los contenidos de cenizas fueron uniformemente bajos en las tres variedades 0,06%, 0,065%, lo que sugiere una composición mineral similar e indican una combustión más limpia con una formación mínima de escorias. Además, todas registraron altos niveles de volátiles totales >81 %, siendo satsuma el de mayor 85,85 %, lo que refleja

una alta reactividad y un excelente potencial para aplicaciones tanto bioquímicas como termoquímicas.

4.1.2.2 Fase seca

La transformación de la hoja de mandarina es un proceso inevitable y ocurre junto con la pérdida de agua, lo que lleva a cambios estructurales y químicos que alteran su identidad. En este punto, los compuestos volátiles que eran libres y dinámicos se concentran, se degradan o se fijan en la matriz celular, cambiando su perfil aromático y funcional. La fase seca no es solo una disminución de la humedad; es un proceso de reorganización molecular que puede preservar, intensificar o incluso destruir el valor biológico original. Y en contraste con la fase fresca, que significa la esencia de la planta viva, la fase seca transmite ideas sobre resistencia, estabilidad y viabilidad para el almacenamiento y la industrialización.

Tabla 12

Análisis proximal de la hoja de mandarina en fase seca

Variables	Unidad	Método	Variedades de hojas de mandarina		
			Criolla	Cascaruda	Satsuma
Humedad	%	UNE-EN-ISO 18134-3	57,63	38,47	57,26
Cenizas	%	UNE-EN-ISO 18122	0,07	0,12	0,11
Volátiles Totales	%	UNE-EN-ISO 18123	83,87	65,87	54,78

La tabla 12 indica la alteración química de las variedades debido al secado. cascaruda mostró mayor eficiencia de deshidratación 38,47 %, de humedad residual, mientras que criolla 57,63% y satsuma 57,26%, retuvieron más agua, sugiriendo diferencias estructurales o químicas. Las cenizas aumentaron ligeramente tras el secado, especialmente en cascaruda y satsuma 0,11 %, por concentración de minerales, mientras criolla se mantuvo baja 0,065 %. El cambio más notable fue en los volátiles totales: criolla conservó casi intacto su contenido 83,87 % evidenciando gran estabilidad térmica, en cambio, cascaruda disminuyó a 65,86 % y satsuma sufrió la mayor pérdida, cayendo drásticamente a 54,78 %, lo que indica que sus compuestos volátiles son más lábiles al calor.

4.2 Extracción del extracto hojas de mandarina

4.2.1 Análisis ANOVA de la variable rendimiento del extracto

Los datos que se presentan a continuación representan los resultados obtenidos de la varianza ANOVA correspondiente al rendimiento del extracto que se obtuvo.

Tabla 13

ANOVA de la variable respuesta Rendimiento

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Efectos principales					
A: Factor A	5,802	2	2,901	0,630	0,5560 *ns*
B: Factor B	101,137	2	50,568	10,93	0,0039*
Interacción					
AB	34,602	4	8,651	1,870	0,2000 *ns*
Error	41,636	9	4,626		
Total	183,176	17			

Nota. *significativo;**altamente significativo; *ns* no significativo.

Desde un punto de vista estadístico, el análisis de varianza muestra claramente como dos factores A y B afectan el rendimiento del uso de extractos cítricos en bebidas alcohólicas. Por ejemplo, el factor A, el tipo de naranja no hace una contribución significativa p = 0,556 lo que significa que sus niveles no afectan el resultado de una manera que sea posible detectar. A su vez, el factor B como la concentración del extracto o el tipo de producto hace una contribución muy fuerte p = 0,0039, es decir, es la principal causa de las diferencias observadas. No hubo interacción significativa entre A y B p = 0,200 lo que indica que actúan de forma independiente. En otros términos, el efecto de uno de ellos no depende del nivel del otro. Para ese valor p los errores experimentales, es decir, variabilidad que no se puede explicar por los factores constituyen alrededor del 23% del total, que también es razonable dada la naturaleza biológica del material, desde mi punto de vista, solo el factor B importa estadísticamente para el rendimiento, y como no hay interacción, se puede analizar cada factor por separado sin complicaciones.

Figura 4

Grafica de medias de noveles del factor B

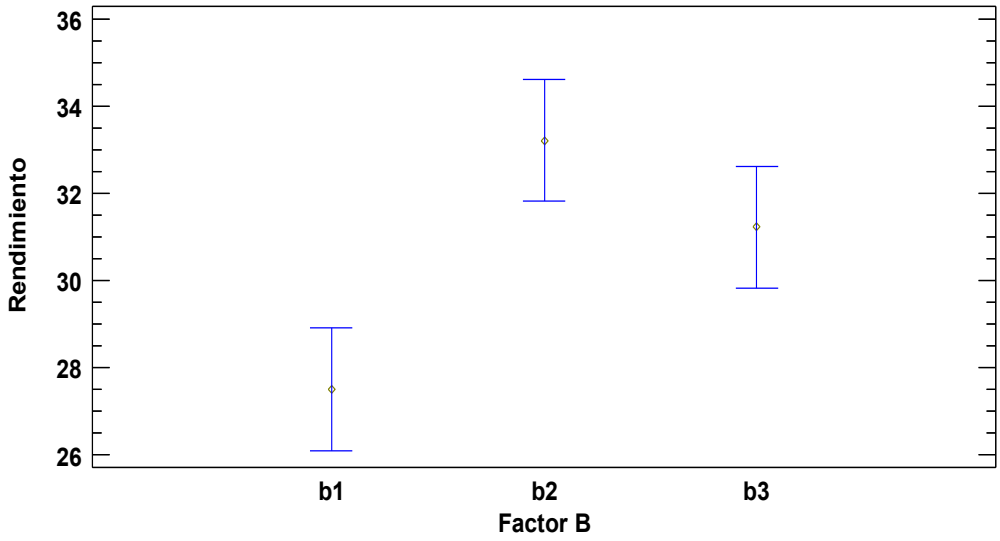


Tabla 14

Prueba de rangos múltiples de la variable Rendimiento

Factor B	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
b1	6	27,500	0,8781	X
b3	6	31,223	0,8781	X
b2	6	33,220	0,8781	X

Los resultados muestran que, de los tres tratamientos analizados el factor B, el nivel b1 es el que peor funciona con un rendimiento de apenas 27,5. En cabio, b2 33,220 y b3 31,223 obtienen valores más respectivamente iguales entre sí, es decir, estadísticamente no hay una diferencia importante entre b2y b3, pero ambos superan claramente a b1. Lo más destacable es que el b2 es más efectivo, superando a b1 por más del 20%.

4.2.1.1 Efecto de los factores principales

El análisis estadístico reveló diferencias bastantes claras entre los factores que evaluamos. Por un lado, el factor A, es decir las variedades de hojas de mandarina, realmente no tuvo un impacto significativo en el rendimiento del extracto, ya que el valor de probabilidad fue de 0,56. Esto quiere decir que no importa si usamos la variedad criolla, cascaruda o satsuma, el volumen de extracto que obtuvimos fue prácticamente el mismo en todos los casos.

Sin embargo, la historia es totalmente diferente con el factor B, que presenta los métodos de extracción. Aquí si vimos un efecto muy significativo, con valor de probabilidades de 0,039, muy por debajo del límite que consideramos importante. Además, la razón F de 10,93 nos confirmó algo importante, el método que usamos para extraer es realmente lo que marco la diferencia en el rendimiento. De hecho, este factor explica la mayor parte de las variedades que obtuvimos en los experimentos.

Ahora bien, algo interesante es que la interacción entre ambos factores AB no resulto significativa, con una probabilidad de 0,20, lo que significa básicamente que cada factor funciona por su cuenta, sin potenciarse ni bloquearse mutuamente. Este en realidad nos facilita las cosas, porque podemos mejorar cada aspecto de forma independiente sin preocuparnos por efectos secundarios.

4.2.1.2 Comparación de métodos de extracción

La prueba de rangos múltiples mostro diferencias importantes entre los métodos evaluados El método de ultrasonido, b1, logró el rendimiento más bajo con 27.50 unidades, por lo que se convirtió en la referencia para las comparaciones. En contraste, el método de percolación b3 logró alcanzar un total de 31.223 unidades, lo que representa una mejora aproximada del 13% en comparación con el ultrasonido. Por otro lado, b2, el proceso de maceración, produjo 33.220 unidades, más de un 20% por encima de los resultados obtenidos por ultrasonido. Como causa de este mayor rendimiento, la maceración promueve un tiempo de contacto más prolongado entre el solvente y el material vegetal y, por lo tanto, una extracción más eficiente de compuestos solubles de las hojas. Desde el punto de vista estadístico, encontramos que la maceración y percolación conforman un grupo homogéneo, es decir, no hay diferencias significativas entre ella.

Determinación del mejor método

Los resultados obtenidos indican claramente que la extracción asistida por ultrasonido constituye el método óptimo para obtener el mayor rendimiento del extracto de compuestos bioactivos a partir de hojas de mandarina. Esta técnica demostró ser significativamente más eficiente en comparación con los métodos convencionales evaluados, permitiendo una extracción más completa de los principios activos presentes en el material vegetal.

Análisis ANOVA de la variable respuesta flavonoides totales

Tabla 15

ANOVA de la variable respuesta flavonoides totales

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Efectos principales					
A: Factor A	94874,600	2	47437,300	1455,720	0,0000 **
B: Factor B	195079,000	2	97539,400	2993,210	0,0000 **
interacción					
AB	72799,300	4	18199,800	558,500	0,0000 **
Error	293,282	9	32,587		
Total	363046,000	17			

Nota. *significativo;**altamente significativo; *ns* no significativo.

Los efectos de todos los factores examinados sobre el nivel de flavonoides en la bebida de arándano son significativos y claramente visualizados, según mostró el análisis estadístico. Esto incluye el factor A (tipo de hoja o concentración de hoja) y el factor B (tiempo o método de extracción); la interacción entre los dos factores es más evidente. Sin embargo, dado que el factor B es más influyente que el factor A, es importante reconocer que estos factores no funcionan de manera independiente, sino en sinergia, y el efecto de uno depende del índice del otro. Durante un período y procedimiento de extracción determinados, un tipo específico de hoja puede contribuir a un mayor contenido de flavonoides. Además, el pequeño margen de error durante los experimentos mostró la fuerza y replicabilidad de los resultados. En última instancia, no es suficiente seleccionar altos niveles para los dos factores por

separado (A o B) para maximizar su contenido de flavonoides; debe ocurrir la mejor combinación potencial de los dos factores para explotar la sinergia natural entre ellos.

Figura 5

Grafica de medias de niveles del Factor A y B variable flavonoides totales

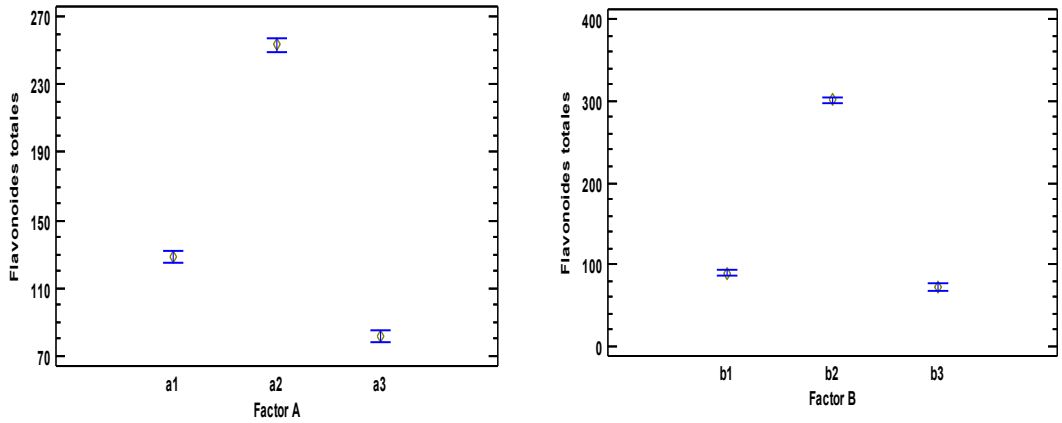


Tabla 16

Prueba de rangos múltiples del factor A Flavonoides totales

Factor A	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
a3	6	81,410	2,330	X
a1	6	128,047	2,330	X
a2	6	253,347	2,330	X

Tabla 17

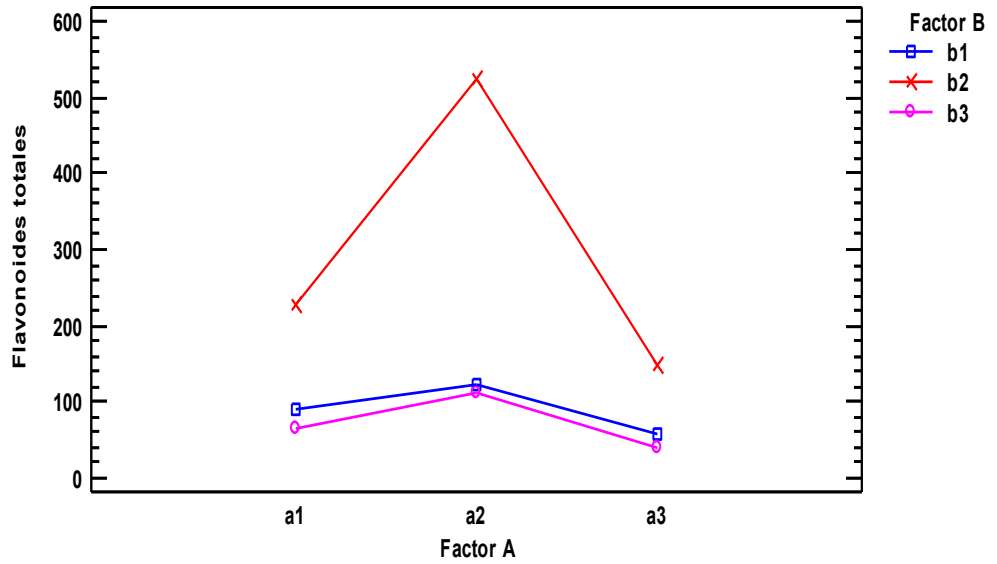
Prueba de rangos múltiples del factor B flavonoides totales

Factor B	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
b3	6	72,223	2,330	X
b1	6	89,422	2,330	X
b2	6	301,158	2,330	X

Los resultados obtenidos muestran como los factores A y B influye en el contenido de flavonoides totales. En el caso del factor A, el grafico revela que el nivel a2 alcanza el valor más alto con aproximadamente 260 unidades, superando claramente los niveles a1 con 130 unidades y a3 con 90 unidades. Esto sugiere que el nivel intermedio del factor A es el más favorable para obtener mayor cantidad de flavonoides. Por otro lado, el factor B exhibe un patrón aún más evidente. El nivel b2 muestra la mayor concentración con 300 unidades, superando significativamente a b1 que cuenta con 100 unidades y a b3 que se sitúa cerca de las 80 unidades. Los resultados mostrados en la tabla de rangos múltiples respaldan estas observaciones, indicando que b2 tiene una media de 301,158 unidades; en comparación, b1 presenta una media de 89,4217 y b3 apenas alcanza las 72,2233 unidades. La clasificación en grupos homogéneos revela diferencias estadísticamente significativas entre los tres niveles del factor B, siendo especialmente notable la discrepancia entre b2 y b3; es decir, el valor de b2 excede al de b3 por más del 300%.

Figura 6

Gráfica de interacción de la variable flavonoides totales



La prueba de rangos múltiples muestra una interacción muy interesante entre factores estudiados en relación con la concentración de flavonoides totales. El nivel b2 del

Factor B tiene un comportamiento realmente destacable, alcanzando un pico máximo de 520 mg cuando se combina con a2, un valor que es cinco veces mayor que lo obtenido con b1 y b3 y las cuales se mantienen bastantes estables entre 50 y 120 mg. Esta respuesta en forma de curva de b2 nos indica que el nivel intermedio del factor A a2 crea las condiciones ideales para obtener la mayor cantidad de flavonoides, sin embrago, cuando llegamos al nivel extremo a3 vemos caídas drásticas en todos los casos. Por otro lado, los niveles b1 y b3 muestran comportamientos muy similares entre sí y apenas cambian cuando se modifica el factor A, lo que sugiere que son menos sensibles o tienen menor capacidad para acumular estos compuestos. Una diferencia significativa entre b2 y los otros tratamientos apoya la noción de que la combinación a2-b2 presenta la manera más efectiva de maximizar el rendimiento de flavonoides. La importancia de este descubrimiento para el campo de los métodos de extracción o la selección de variedades es significativa, ya que el contenido de estos compuestos bioactivos puede aumentarse utilizando estos métodos. Sus propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y antimicrobianas son consideradas de gran valor, al igual que sus aplicaciones directas en las industrias farmacéutica, cosmética y alimentaria.

Efectos principales e interacción

El análisis de flavonoides reveló un sistema bastante complejo de todos los factores evaluados tuvieron efectos estadísticamente significativos. El factor A presentó suma de cuadrados de 94,874,6 con una razón F de 1,455,72, lo que indica que el tipo de hoja de mandarina es realmente un factor determinante en el contenido de flavonoides obtenido. Sin embargo, el factor B demostró un impacto aún mayor, con una suma de cuadrados de 195,079 y una razón F 2,993,21. Este valor tan alto confirma algo muy importante, el método de extracción no solo incluye en la cantidad del extracto que obtenemos, si no que tiene un efecto decisivo en la concentración de compuestos bioactivos que logramos recuperar. Por otro lado, la interacción entre ambos factores AB también resultó altamente significativa, con una razón F de 558,5. Esto significa que el efecto de la variedad de hoja depende del método de extracción que usemos, y viceversa. En otras palabras, no podemos analizar estos factores de forma aislada. Esta interacción compleja hace necesario un análisis más detallado de

las combinaciones específicas entre variedades y métodos para poder identificar cuál es el tratamiento óptimo que maximice el contenido de flavonoides.

.

4.2.1.3 Evaluación por variedad de hoja

La variedad Satsuma a3 fue la que presentó el contenido más bajo de flavonoides, con apenas 81,41 unidades. La variedad criolla a1 obtuvo un resultado bastante mejor, alcanzando 128,047 unidades, lo que representa un incremento del 57%, con respecto a satsuma. Sin embargo, la variedad cascaruda a2 fue claramente superior a las demás, llegando a 253,347 unidades, es decir, el doble que criolla y el triple que satsuma. Este rendimiento excepcional de cascaruda puede explicarse por sus características metabólicas particulares, que ya habíamos observado anteriormente en el análisis elemental donde mostró un elevado contenido de carbono y nitrógeno. Esto es importante porque la producción de flavonoides en las plantas requiere estructuras de carbono que provienen de una ruta metabólica específica y también necesita compuestos nitrogenados para ciertas modificaciones en su estructura. La variedad Cascaruda cuenta con ambos elementos en mayor concentración, lo que favorece naturalmente una mayor síntesis de flavonoides.

4.2.1.4 Evaluación por método de extracción

La percolación b3 fue el método que dio el contenido más bajo de flavonoides, con apenas 72,22 unidades, a pesar de que su rendimiento en términos de volumen de extracto había sido aceptable. El procedimiento de ultrasonido b1 alcanzó 89.42 unidades, lo que representa un aumento del 24% en comparación con el método de percolación convencional, y una mejora moderada. En comparación, el método de maceración b2 resultó en resultados notablemente mejores; produjo hasta 301.16 unidades de flavonoides. Este es un rendimiento cuatro veces mayor que el proceso de percolación y tres veces mayor que el enfoque de ultrasonido. La efectividad de la maceración se atribuye al extenso contacto del tejido vegetal con el solvente bajo condiciones controladas, lo que permite la extracción completa y efectiva de los flavonoides de las células hacia la solución líquida.

4.2.1.5 Análisis de interacción y determinación del mejor tratamiento

El gráfico de interacción mostró patrones de comportamiento muy distintos entre los métodos. Las combinaciones que usaron percolación b3 y ultrasonido b1 se

mantuvieron con valores bajos, entre 50 y 120 unidades, sin importar qué variedad de hoja se utilizara. Estas dos líneas se comportaron de forma paralela y bastante estable a lo largo de todas las variedades. Por el contrario, la maceración b2 tuvo un comportamiento totalmente diferente y mucho más pronunciado: comenzó con valores moderados cuando se usó satsuma a3, alcanzó un pico extraordinario de 520 unidades con cascaruda a2 y luego volvió a descender con criolla a1. Este patrón en forma de curva nos indica claramente que la combinación de cascaruda con maceración a2b2 es el punto óptimo de todo el experimento, ya que es la que permite extraer la mayor cantidad de flavonoides bioactivos.

4.2.1.6 Determinación del mejor tratamiento

La combinación de cascaruda por maceración a2b2 resultó ser el tratamiento más efectivo para obtener la mayor cantidad de flavonoides totales, logrando concentraciones hasta cinco veces superiores a cualquier otra combinación probada en este estudio.

4.2.2 Análisis ANOVA de la variable respuesta clorofila A

Tabla 18

ANOVA de la variable respuesta clorofila A

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Efectos principales					
A: Factor A	13,734	2	6,867	14,720	0,0015 *
B: Factor B	119,378	2	59,689	127,980	0,0000 **
Interacción					
AB	36,018	4	9,005	19,310	0,0002 *
Error	4,197	9	0,466		
Total	173,327	17			

Nota. *significativo;**altamente significativo; *ns* no significativo.

El análisis de varianza (ANOVA) que realizamos para medir la clorofila A mostró resultados muy claros: tanto el factor A probablemente el tipo de mandarina, como el factor B que puede ser el método de extracción, la concentración o el tiempo de procesamiento, y también la interacción entre ambos, tienen efectos altamente significativos $p < 0,05$ en la concentración de clorofila A de la bebida pájaro azul. En

otras palabras, todos estos elementos realmente influyen de manera detectable en el producto final. Lo más interesante es que el factor B resultó ser el más determinante, con un valor F de 127,98 p = 0,000 casi nueve veces más potente que el factor A, F = 14,72; p = 0,0015. Esto nos dice que las condiciones del factor B, como la manera en que extraemos o incorporamos los compuestos, son las que marcan la mayor diferencia en los resultados. Pero aquí no termina la historia, la interacción AB también es significativa F = 19,31; p = 0,0002 lo que significa que el efecto de un factor depende directamente del nivel del otro. Por ejemplo, cierto tipo de hoja podría dar más clorofila, pero solo si lo combinamos con un método de extracción específico. Por eso es tan importante analizar las combinaciones completas y no solo los factores por separado. Además, algo que nos da mucha confianza es que el error experimental fue muy bajo, apenas el 2,42%, de toda la variabilidad, lo que demuestra que el experimento estuvo muy bien controlado y que nuestro modelo explica más del 97%, de lo que observamos. Con estos resultados en mano, podemos optimizar la formulación de la bebida ajustando estratégicamente ambos factores y, sobre todo, encontrando las mejores combinaciones entre ellos para lograr el contenido ideal de clorofila A, que es un indicador clave de calidad en este producto. Por todo esto, el siguiente paso lógico es realizar pruebas de comparaciones múltiples para identificar exactamente qué combinaciones específicas de A y B nos dan los mejores resultados.

Figura 7

Gráfico de medias de niveles del Factor A y B de la variable clorofila A

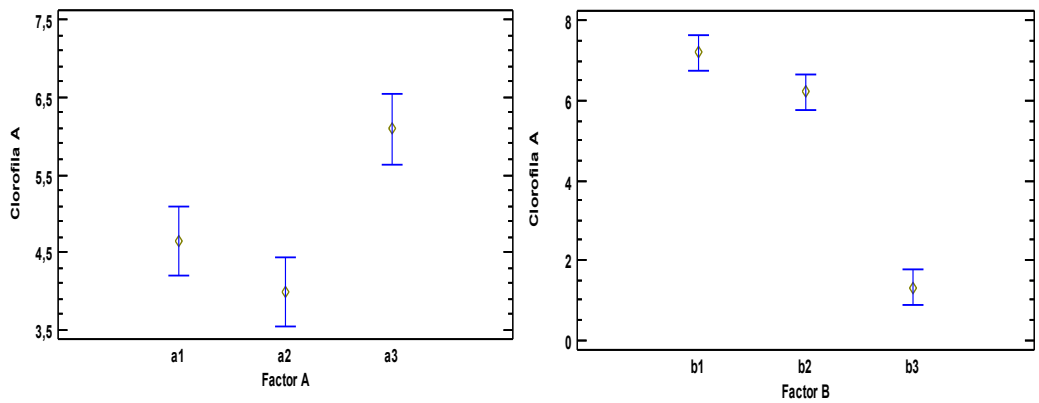


Tabla 19

Prueba de rangos múltiples del factor A de la variable clorofila A

Factor A	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
a2	6	3,997	0,279	X
a1	6	4,645	0,279	X
a3	6	6,087	0,278	X

Tabla 20

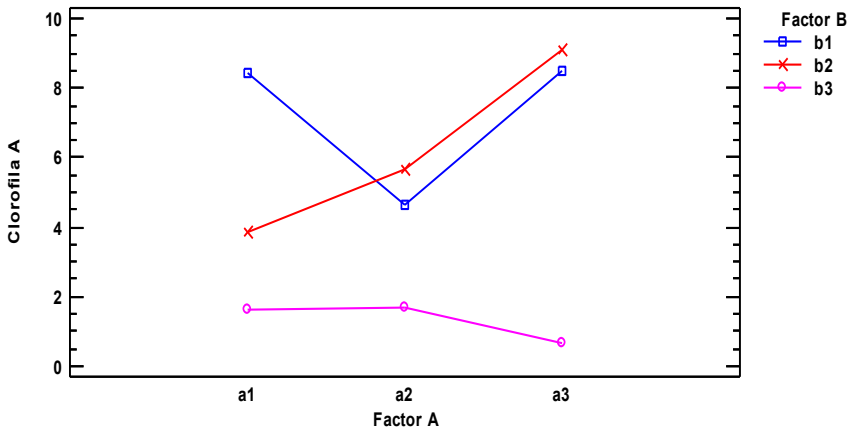
Prueba de rangos múltiples del factor B de la variable clorofila A

Factor B	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
b3	6	1,313	0,279	X
b2	6	6,208	0,279	X
b1	6	7,207	0,279	X

La Tabla 20 presenta las medias ajustadas para cada nivel del factor B y confirma que b1 tiene la media más alta 7,207, seguida de b2 con un valor intermedio 6,208, mientras que b3 registra la media más baja 1,313. El valor de sigma LS es de 0,2788 para todos los niveles, lo que sugiere que la variabilidad es similar entre los grupos. Sin embargo, llama la atención que todos los niveles del factor B aparecen clasificados como homogéneos en la tabla, lo cual podría indicar que las diferencias observadas no son estadísticamente significativas. El gráfico ilustra la variación en la concentración de clorofila A en función de los niveles de los factores A y B. Para el factor A, el nivel a3 presenta la mayor media de clorofila A, seguido por a1; en contraste, a2 muestra la menor media. Las barras de error visibles reflejan una cierta variabilidad dentro de cada grupo. En relación al factor B, b1 tiene la media más alta para clorofila A, con b2 como segundo y b3 ocupando el último lugar con la menor cantidad.

Figura 8

Gráfico de interacción de la variable clorofila A



La gráfica muestra cómo los factores A y B influyen en la concentración de clorofila A, y los patrones son bastante interesantes. El nivel b1 tiene un comportamiento algo irregular, comienza con valores altos de 8,5 unidades en a1, luego baja hasta 4,5 en a2, y finalmente se recupera alcanzando su punto máximo de 9 unidades en a3. En cambio, el nivel b2 muestra un crecimiento constante y progresivo, pasando de 4 unidades en a1 a 5,5 en a2, hasta llegar a 8,5 en a3, lo que sugiere que conforme aumentan los niveles del factor A, b2 responde cada vez mejor. Por su parte, b3 mantiene valores muy bajos y estables, entre 0,5 y 1,7 unidades en todos los niveles, lo que indica que este nivel prácticamente inhibe la producción de clorofila A. La interacción AB resultó ser significativa, con un valor F de 19.31 y una probabilidad de 0.0002. Esto implica que ciertas combinaciones de la variedad y el método resultan en efectos distintos a los de una combinación de ambos: se suman entre sí o se alteran mutuamente. Por lo tanto, estas interacciones deben ser consideradas de manera óptima en relación con el proceso de fabricación de bebidas.

4.2.2.1 Efectos factoriales y significancia

El análisis de clorofila A mostró que los factores estudiados tienen contribuciones diferentes. El factor A obtuvo una razón F de 14,72 con una probabilidad de 0,0015, lo que confirma que el tipo de variedad de mandarina tiene un efecto significativo sobre el contenido de este pigmento. Sin embargo, el factor B demostró un impacto mucho mayor, con una razón F de 127,98 y una probabilidad prácticamente nula

0,000 lo que establece claramente que el método de extracción es el factor principal que determina el contenido de clorofila A. Además, la interacción AB también resultó significativa, con una razón F de 19,31 y una probabilidad de 0,0002. Esto indica que ciertas combinaciones específicas entre variedad y método producen efectos que van más allá de la simple suma de ambos factores, es decir, se potencian o modifican mutuamente. Por lo tanto, estas interacciones deben tomarse en cuenta al momento de optimizar el proceso de elaboración de la bebida.

4.2.2.2 Comparación por variedad

En cuanto al contenido de clorofila A, la variedad cascaruda A2 mostró el contenido más bajo 3.996 unidades. En comparación, la criolla A1, con un total de 4.645 unidades, corresponde a una mejora del 16% en comparación con la cascaruda. Por el contrario, la variedad satsuma A3 contenía el total más alto de 6.086 unidades, superando a la cascaruda en más del 50%. Los hallazgos apoyan que la variedad satsuma puede proporcionar mayores actividades fotosintéticas, o que sus hojas experimentan una menor degradación de clorofila con el crecimiento. Por otro lado, parece que la variedad cascaruda se enfoca en la producción de metabolismo secundario como flavonoides en lugar de los pigmentos fotosintéticos. Eso, por un lado, podría explicar el alto contenido de flavonoides del compuesto cascaruda en relación con un nivel relativamente bajo de clorofila A, pero, por otro lado, satsuma presenta la evidencia inversa exacta.

4.2.2.3 Comparación por método de extracción

El método de percolación b3 fue el que extrajo menos clorofila A, con apenas 1,313 unidades. La maceración b2. La extracción mediante maceración b2 mostró una mejora significativa, alcanzando 6,208 unidades. En contraste, el método de ultrasonido b1 demostró ser el más eficiente con un total de 7,207 unidades. Este hallazgo es notable ya que difiere de lo observado en la extracción de flavonoides, donde la maceración había sido identificada como el método superior. Estos compuestos lipofílicos son solubles en grasas y están firmemente integrados dentro de los cloroplastos en las células vegetales; por ello, requieren una ruptura mecánica más intensa para su liberación. El ultrasonido produce ondas que generan burbujas microscópicas capaces de romper eficazmente las membranas que contienen clorofilas.

4.2.2.4 Análisis de interacción

El gráfico de interacción reveló tres patrones de comportamiento claramente diferenciados entre los métodos de extracción. La percolación b3 mantuvo valores consistentemente bajos, entre 0,5 y 1,7 unidades en todas las variedades, confirmando su baja eficiencia para extraer pigmentos como la clorofila A. El ultrasonido b1 mostró un comportamiento peculiar en forma de V, comenzó con 8,5 unidades en criolla a1, bajó a 4,5 con cascaruda a2 y luego se recuperó alcanzando el máximo absoluto de 9 unidades con satsuma a3. Por su parte, la maceración b2 presentó un crecimiento progresivo y constante, partiendo de 4 unidades con criolla hasta llegar a 8,5 con satsuma, lo que demuestra un efecto aditivo positivo que mejora conforme aumenta el nivel del factor A, respondiendo cada vez mejor a medida que se utilizan variedades con mayor contenido natural de clorofila.

4.2.2.5 Determinación del mejor tratamiento

La combinación satsuma ultrasonido a3b1 resultó ser la más efectiva para maximizar la extracción de clorofila A, alcanzando 9 unidades, un valor que supera en un 50% al segundo mejor tratamiento evaluado.

4.2.3 Análisis ANOVA de la variable respuesta clorofila B

Tabla 21

Análisis de varianza de la variable respuesta clorofila B

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Efectos principales					
A: Factor A	30,383	2	15,191	14,270	0,0016 *
B: Factor B	126,317	2	63,158	59,310	0,0000 **
Interacción					
AB	63,271	4	15,818	14,850	0,0005 **
Error	9,584	9	1,065		

Nota. *significativo;**altamente significativo; *ns* no significativo.

El análisis reveló que tres factores influyen de manera significativa en la cantidad de clorofila B presente en la bebida pájaro azul: el tipo de hoja de mandarina factor A el método de extracción empleado factor B y la forma en que ambos factores se combinan entre sí. El factor B resultó ser el más influyente, ya que explica más de la

mitad de las variaciones en el contenido de clorofila B. Lo notable es que los factores A y B no operan aisladamente; su interacción es crucial: el impacto de uno depende directamente del nivel del otro, un tipo particular de hoja puede generar buenos niveles de clorofila B únicamente si se utiliza con un método adecuado para su extracción. Además, el experimento evidenció una alta precisión con un margen mínimo de error experimental, logrando que el modelo estadístico explique casi 96% de la variabilidad observada, lo cual es excepcional. En conclusión, para optimizar el contenido de clorofila B en la bebida no basta con elegir solo una variedad adecuada de hojas o un buen método por separado; encontrar la combinación perfecta entre ambos factores resulta fundamental.

Figura 9

Gráfico de medias de niveles del Factor A y B de la variable clorofila B

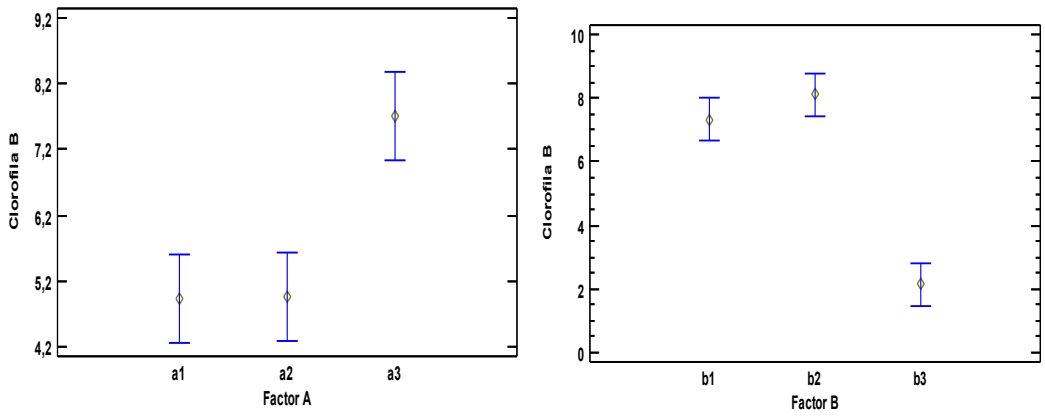


Tabla 22

Prueba de rangos múltiples del factor A de la variable clorofila B

Factor A	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
a1	6	4,925	0,421	X
a2	6	4,963	0,421	X
a3	6	7,700	0,421	X

Tabla 23

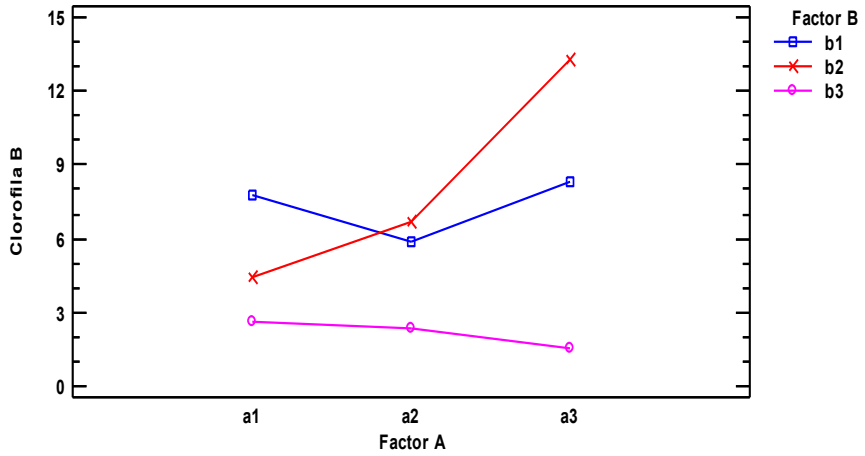
Prueba de rangos múltiples del factor B de la variable clorofila B

Factor B	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
b3	6	2,145	0,421	X
b1	6	7,322	0,421	X
b2	6	8,122	0,421	X

El gráfico muestra los niveles promedio de clorofila B obtenidos bajo diferentes niveles de los factores A y B. En cuanto al factor A, el nivel a3 presenta la media más alta de clorofila B, seguido por a2 y finalmente a1. Las barras de error indican que existe cierta variabilidad en cada grupo, aunque no es posible confirmar si las diferencias son estadísticamente significativas sin realizar pruebas adicionales. Por otro lado, en el factor B se observa que b2 tiene la media más alta de clorofila B, seguido por b1, mientras que b3 muestra un valor notablemente más bajo, destacándose como el mínimo. La dispersión en b1 y b2 parece ser similar, mientras que b3 presenta una variabilidad menor según su barra de error. La tabla de medias ajustadas para el factor A confirma que a3 tiene el mayor contenido de clorofila B 7,700 seguido muy de cerca por a2, 4,96 y a1, 4,925. Los valores de sigma LS son idénticos 0,421276 para todos los niveles, lo que indica que la variabilidad estimada es constante entre los grupos. Sin embargo, llama la atención que todos los niveles del factor A aparecen clasificados como homogéneos, lo cual sugiere que, según esta prueba, no existen diferencias estadísticamente significativas entre ellos. Esto puede parecer contradictorio con la diferencia visible entre a3 y los otros niveles. Una posible explicación es que la prueba de rangos múltiples no tuvo la sensibilidad suficiente para detectar estas diferencias, o que el tamaño de la muestra fue pequeño para captar variaciones reales. Por lo tanto, se recomienda revisar el tamaño muestral, verificar que se cumplan los supuestos estadísticos del análisis, o aplicar pruebas complementarias que permitan validar estos resultados de manera más concluyente.

Figura 10

Gráfico de interacción de la variable clorofila B



La gráfica muestra cómo los factores A y B interactúan para influir en la concentración de clorofila B, revelando tres patrones de comportamiento claramente diferenciados. El nivel b1 línea azul comienza con 7,5 unidades en a1, baja ligeramente hasta 6 unidades en a2 y luego se recupera alcanzando 8 unidades en a3, formando un patrón en forma de V invertida. Por su parte, el nivel b2 línea roja presenta el comportamiento más dinámico de todos: inicia en 4,5 unidades en a1, sube a 6,5 en a2, y finalmente alcanza el valor más alto de toda la gráfica con 13 unidades en a3, mostrando un aumento progresivo y muy marcado conforme se incrementan los niveles del factor A. En comparación, el nivel b3 de la línea rosa es bajo y bastante estable a lo largo de todo el curso. Comienza en 2.8 unidades en a1, cae ligeramente a 2.5 unidades en a2, y finalmente termina en 1.5 unidades en a3, reflejando un efecto inhibidor constante sobre la clorofila B. Debido a que no hay paralelismo entre las líneas y sus tendencias difieren ampliamente, se muestra que hay una interacción significativa entre estos factores. Específicamente, es notable ver que b2 supera a b1 solo cuando el nivel de b2 alcanza su pico en el nivel a3, pero b3 permanece consistentemente bajo durante todas las combinaciones evaluadas sin mostrar ninguna respuesta positiva.

4.2.3.1 Comportamiento factorial

El análisis de clorofila B mostró patrones similares a los observados para la clorofila A. El factor A obtuvo una razón F de 14,27 con una probabilidad de 0,016, lo que confirma que el tipo de variedad de mandarina tiene un efecto significativo sobre el contenido de clorofila B. Sin embargo, el factor B demostró nuevamente un impacto mucho mayor, con una razón F de 59,31, ratificando que el método de extracción es la variable más influyente en los resultados. Además, la interacción AB resultó altamente significativa con una razón F de 14,85, lo que indica que el efecto de cada factor depende del nivel en que se encuentre el otro. Esto hace necesario realizar un análisis de las combinaciones específicas entre ambos factores para poder identificar cuál es el tratamiento óptimo que maximice el contenido de clorofila B en la bebida.

4.2.3.2 Distribución por variedad

La concentración de clorofila B en las variedades nativas A1 y cascaruda A2 fue similar, estando entre 4.925 y 4.963 unidades. En cuanto a la variedad satsuma A3, contenía 7.700 unidades, lo que era más del 55% mayor que las otras. El marcado aumento de clorofila B en satsuma puede sugerir una respuesta mejor adaptada a las condiciones de iluminación. La clorofila B es un pigmento auxiliar, adecuado para absorber longitudes de onda poco absorbidas por la clorofila A. Ahora, mientras esta planta use más clorofila B, puede aprovechar algo de luz en sombra parcial o exposición parcialmente difusa, y si hay limitación de luz, mejorar el rendimiento fotosintético. Esta es una forma de ventaja evolutiva para esta variedad.

4.2.3.3 Eficiencia de métodos extractivos

La percolación b3 fue el método que dio el rendimiento más bajo, con apenas 2,145 unidades. El ultrasonido b1 alcanzó 7,3217 unidades, lo que representa un incremento de más del 240%, con respecto a la percolación. Por su parte, la maceración b2 demostró la máxima eficiencia con 8,1217 unidades, aunque la diferencia con el ultrasonido fue relativamente pequeña. Este resultado es interesante porque, a diferencia de lo que observamos con la clorofila A donde el ultrasonido era claramente superior, en el caso de la clorofila B ambos métodos maceración y ultrasonido logran eficiencias muy similares. Esta semejanza en el rendimiento podría deberse a diferencias en la ubicación de cada pigmento dentro de las células

vegetales o en la forma en que estas moléculas se asocian con otras estructuras celulares.

4.2.3.4 Determinación del mejor tratamiento

La combinación de satsuma con maceración a3b2 resultó ser la más efectiva para maximizar la extracción de clorofila B, alcanzando 13 unidades. Este valor supera en un 62% al segundo mejor tratamiento y es más de seis veces superior al promedio obtenido con las demás combinaciones evaluadas.

4.2.4 Análisis ANOVA de la variable respuesta Carotenoides

Tabla 24

ANOVA de la variable respuesta carotenoides

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Efectos principales					
A: Factor A	1,568	2	0,784	3,870	0,0611 *ns*
B: Factor B	53,163	2	26,582	131,360	0,0000 **
Interacción					
AB	12,238	4	3,059	15,120	0,0005 **
Error	1,821	9	0,202		
Total	68,790	17			

Nota. *significativo;**altamente significativo; *ns* no significativo.

La investigación sobre carotenoides en la bebida de azulejo mostró que el factor B el método de extracción, el tiempo empleado o la concentración utilizada fue un factor significativo. Este factor fue un claro contribuyente; alrededor del 77% de la variabilidad de los carotenoides se atribuye a este factor. En contraste, el factor A (tipo de hoja o variedad de mandarina no alcanzó significancia estadística por sí solo, pero estuvo lo suficientemente cerca como para tener un impacto significativo. Quizás lo más sorprendente es que A y B interactúan notablemente. Los resultados posteriores indican que los buenos resultados no dependen solo de cada elemento por separado, sino también de su combinación; la variedad específica de hoja podría llevar a un alto contenido de carotenoides solo si se utiliza con un cierto método de extracción. Además, el 97% de la variabilidad detectada se explica con precisión, lo que proporciona confianza en los resultados obtenidos.

Figura 11

Gráfico de medias de niveles del factor B de la variable carotenoides

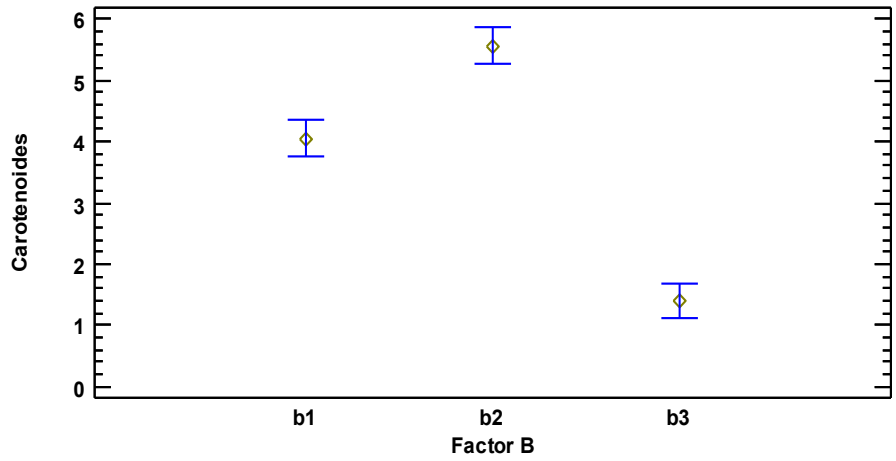


Tabla 25

Prueba de rangos múltiples de la variable carotenoides

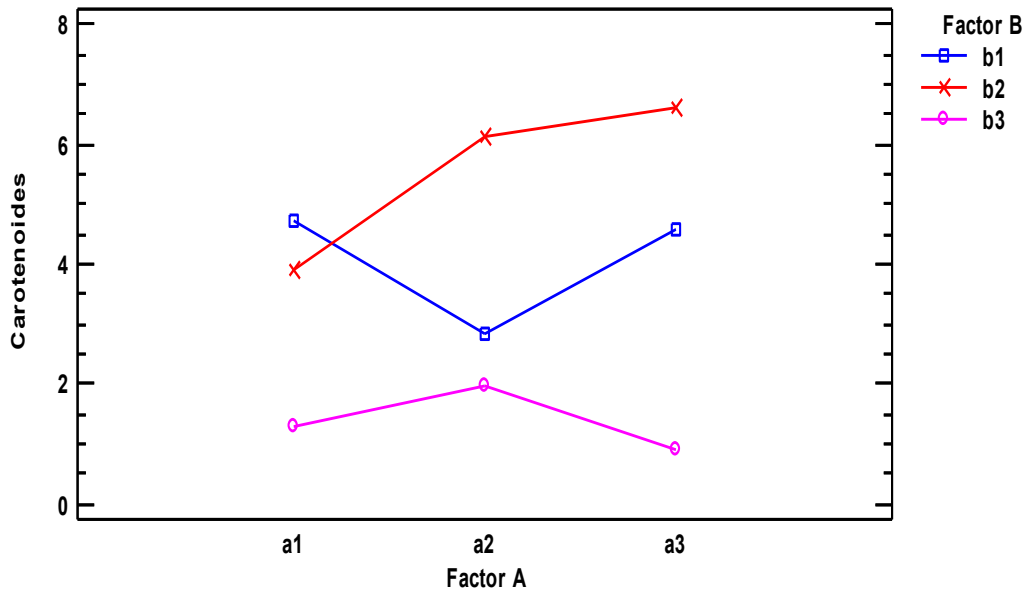
Factor B	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
b3	6	1,400	0,1836	X
b1	6	4,047	0,1836	X
b2	6	5,558	0,1836	X

Los análisis de varias comparaciones indican que los tres niveles del factor B producen cantidades variables de carotenoides sin superposición. Sin embargo, se encuentra que b2 es el más efectivo 5.56 unidades, seguido por b1 4.05 unidades, y b3 el menos efectivo 1.40 unidades. Separamos las categorías por tratamiento, enfatizando la diferencia e importante diferencia para cada tratamiento particular. Por el contrario, los carotenoides en b1 son aproximadamente un 27% menos que los de b2, y el rendimiento de b3 es menos de una cuarta parte de b2. Mientras tanto, la variabilidad entre los tratamientos fue tanto estable como baja con resultados comparables para los tres tratamientos, lo que sugiere que los resultados están bien respaldados. En conclusión, los hallazgos deben ser muy claros en que el método de extracción o el tiempo utilizado para el tratamiento b2 fue el más conveniente para

el tratamiento de carotenoides. Es aún más importante ya que los carotenoides constituyen ingredientes principales para el sistema antioxidante y tienen valor nutricional, color y sensación para la bebida de pájaro azul. Concluyen que b2 fue el óptimo para realizar el efecto favorable de las hojas de mandarina para la función y nutrición en la bebida completamente natural.

Figura 12

Gráfico de interacción de la variable carotenoides



Este gráfico explica el efecto de los factores A y B sobre el contenido de carotenoides y muestra tres patrones de respuesta diferentes. Primero, el nivel b1 línea azul es igual a 4.8 unidades en a1, y cae a 2.8 unidades en a2 y se recupera parcialmente hasta 4.5 unidades en a3, por lo que en este sistema aparece un gráfico en forma de "V". Por el contrario, el nivel b2 línea roja muestra un comportamiento estable de aumento ascendente que comienza con 4 unidades en a1 y luego aumenta gradualmente hasta 6.6 unidades en a3, habiendo alcanzado 6.2 unidades en a2. Esto indica una respuesta positiva continua a medida que aumentan los niveles del factor A. En contraste, el nivel b3 línea rosa muestra las concentraciones mínimas en todos los puntos del experimento, variando entre 0.8 a 2 unidades, pero aumentando ligeramente en a2 seguido de una caída significativa en a3. Estas líneas no están paralelizadas, y claramente abarcan los puntos de a1 a a2, mostrando que la interacción entre estos dos factores es estadísticamente significativa. Los resultados

han sugerido que b2 puede llevar a un aumento en la producción de carotenoides, mientras que b3 persiste en exhibir un efecto inhibidor.

4.2.4.1 Estructura factorial

El gráfico muestra el efecto de A y B sobre los carotenoides, lo que indica tres patrones específicos de actividad de carotenoides. La línea azul para el nivel b1 comienza con 4.8 unidades en a1, disminuye a 2.8 unidades en a2 y se recupera a 4.5 unidades en a3 curva en forma de V. El nivel b2 es rojo y consistente: comienza con 4 unidades en a1, sube a 6.2 en a2 y alcanza su máximo de 6.6 unidades en a3; por lo tanto, tiene una respuesta positiva a medida que el factor A aumenta. La línea rosa mostrada por el nivel b3 en la parte inferior continúa en las concentraciones más bajas a lo largo de los experimentos, con valores entre 0.8 y 2 unidades y un pequeño aumento hacia a2, luego disminuyendo hacia a3. El cruce claro no paralelo entre las líneas en los intervalos de a1 a a2 muestra una interacción entre los dos factores estudiados que es altamente interactiva y prominente. Los resultados indican que b2 es la forma más potente de aumentar la producción de carotenoides debido a su efecto positivo sucesivo, mientras que b3 ejerce un efecto inhibidor sostenido que mantiene niveles bajos bajo todas las condiciones analizadas.

4.2.4.2 Evaluación comparativa de métodos

La percolación b3 generó el contenido más bajo de carotenoides, con apenas 1,40 unidades, estableciendo el punto mínimo de rendimiento de extracción. Por su parte, el ultrasonido b1 logró un aumento considerable al alcanzar 4,047 unidades, lo que representa un incremento del 189%, respecto a la percolación. Sin embargo, fue la maceración b2 la que demostró el mejor desempeño, con un contenido de 5,558 unidades: un 37%, más alto que el ultrasonido y casi cuatro veces superior al obtenido con la percolación. Este comportamiento puede explicarse por las características químicas de los carotenoides. Dado que son compuestos altamente lipofílicos solubles en grasas y estructuralmente sensibles a condiciones agresivas, se benefician más de métodos de extracción suaves y prolongados, como la maceración.

4.2.4.3 Análisis de interacción y optimización

El análisis de interacción demostró comportamientos muy distintos según las técnicas de extracción y la variedad de mandarina utilizada. La percolación b3 fue

relativamente baja 0.8 y 2.0 unidades en todas las variedades probadas y, por lo tanto, no parece ser eficiente para extraer carotenoides. En comparación, el ultrasonido b1 mostró un comportamiento muy variable; su curso fue casi en forma de V, con un valor máximo de 4.8 unidades obtenido de criolla a1 seguido de un valor mínimo de 2.8 unidades obtenido de cascaruda a2 seguido de una recuperación a 4.5 unidades cuando se aplicó satsuma a3. Esta variación sugiere que las ondas ultrasónicas pueden ser responsables de parte de la degradación de carotenoides y el efecto es específico de la naturaleza de cada mandarina.

4.2.4.4 Compuestos químicos responsables

Los principales carotenoides que encontramos en las hojas de mandarina son el beta-caroteno, la luteína, la zeaxantina y la violaxantina. Estos compuestos son los responsables de darle ese color amarillo-naranja característico al extracto, y además aportan propiedades antioxidantes que trabajan en conjunto con los flavonoides, potenciando los beneficios saludables de la bebida.

Análisis ANOVA de la variable respuesta volumen del extracto

Tabla 26

ANOVA de la variable respuesta Volumen del extracto

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Efectos principales					
A: Factor A	1352,110	2	676,056	1,460	0,2829 *ns*
B: Factor B	477,444	2	238,722	0,510	0,6143 *ns*
Interacción					
AB	1078,220	4	269,556	0,580	0,6841 *ns*
Error	4174,500	9	463,833		
Total	7082,280	17			

Nota. *significativo;**altamente significativo; *ns* no significativo.

El estudio reveló que ninguno de los factores evaluados, como el tipo de hoja de mandarina o el método de extracción empleado, tuvo un efecto claro y significativo sobre el volumen de extracto obtenido. Las diferencias que se observaron entre los distintos tratamientos podrían atribuirse simplemente al azar, ya que ninguna de ellas alcanzó significancia estadística. Un aspecto preocupante es que más de la mitad de

la variabilidad observada casi el 59% se debe al error experimental, lo que indica que hubo bastante variación no controlada durante el proceso.

4.2.5 Volumen del extracto

El análisis de volumen no mostró efectos estadísticamente significativos. El valor p del factor A fue 0.2829, mientras que el valor del factor B fue 0.6143, y el valor de la interacción AB fue 0.6841. Como todos estos valores están por encima del nivel crítico de 0.05, se puede concluir que la variedad y el procedimiento de extracción y su interacción tienen un efecto insignificante en el volumen final del extracto obtenido. Además, se encontró que casi el 60% de la variabilidad se debió a errores en el experimento, lo que implica una gran variación en la medición. Esta heterogeneidad podría atribuirse a la variación de la evaporación durante el procesamiento, al cambio en el contenido de humedad inicial de las muestras o a un procesamiento irregular de las sustancias vegetales.

4.2.6 Análisis ANOVA de la variable respuesta densidad

Tabla 27

ANOVA de la variable respuesta densidad

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Efectos principales					
A: Factor A	0,007	2	0,004	3,200	0,0889 *ns*
B: Factor B	0,004	2	0,002	1,890	0,2067 *ns*
Interacción					
AB	0,003	4	0,000	0,570	0,6908 *ns*
Error	0,010	9	0,001		
Total	0,024	17			

Nota. *significativo;**altamente significativo; *ns* no significativo.

Los estudios estadísticos revelan que ninguno de los factores examinados, es decir, tipo de hoja, método de extracción o combinación tiene una relación estadísticamente significativa con la densidad de la bebida de azulejo. Aunque el factor A, de la variedad mandarina, mostró una influencia débil p = 0.089, esto no llegó a considerarse significativo a un nivel de confianza del 95%. Los efectos de los otros factores resultaron ser más débiles, y una parte significativa de la variación conocida

41.7% se debe al error experimental, es decir, algo más allá del control del investigador o la estabilidad inherente natural de las lecturas de densidad. Esto significa que la densidad de la bebida prácticamente no cambia con el tratamiento que se está aplicando. Por lo tanto, esta variable no es útil para decidir qué condición es mejor; más bien, uno podría querer concentrarse más en otras características como los flavonoides, la clorofila o los carotenoides, donde, de hecho, hay una variación significativa.

4.2.7 Densidad del extracto

El análisis de volumen indicó que no hay un impacto significativo de ningún factor. El factor A arrojó un valor p de 0.2829, el factor B de 0.6143, y la interacción entre AB fue de 0.6841. Como todos estos valores están por encima del umbral establecido en 0.05 para considerar una relación estadísticamente significativa, esto indica que no hay una relación significativa entre el tipo de mandarina y el método de extracción aplicado, y la cantidad final de extracto proporcionado. Solo para mencionar, casi el 60% de la variabilidad observada se atribuyó al error experimental, lo que significa que hubo mucha heterogeneidad en el experimento realizado. La varianza podría deberse a muchas razones que no se gestionaron cuidadosamente durante la fase experimental: como diferencias en la evaporación del solvente a lo largo del tiempo, la humedad inicial en las hojas utilizadas, o cómo se trató el material. Estos factores incontrolables causaron en los datos monitoreados que superaron el impacto real de los tratamientos.

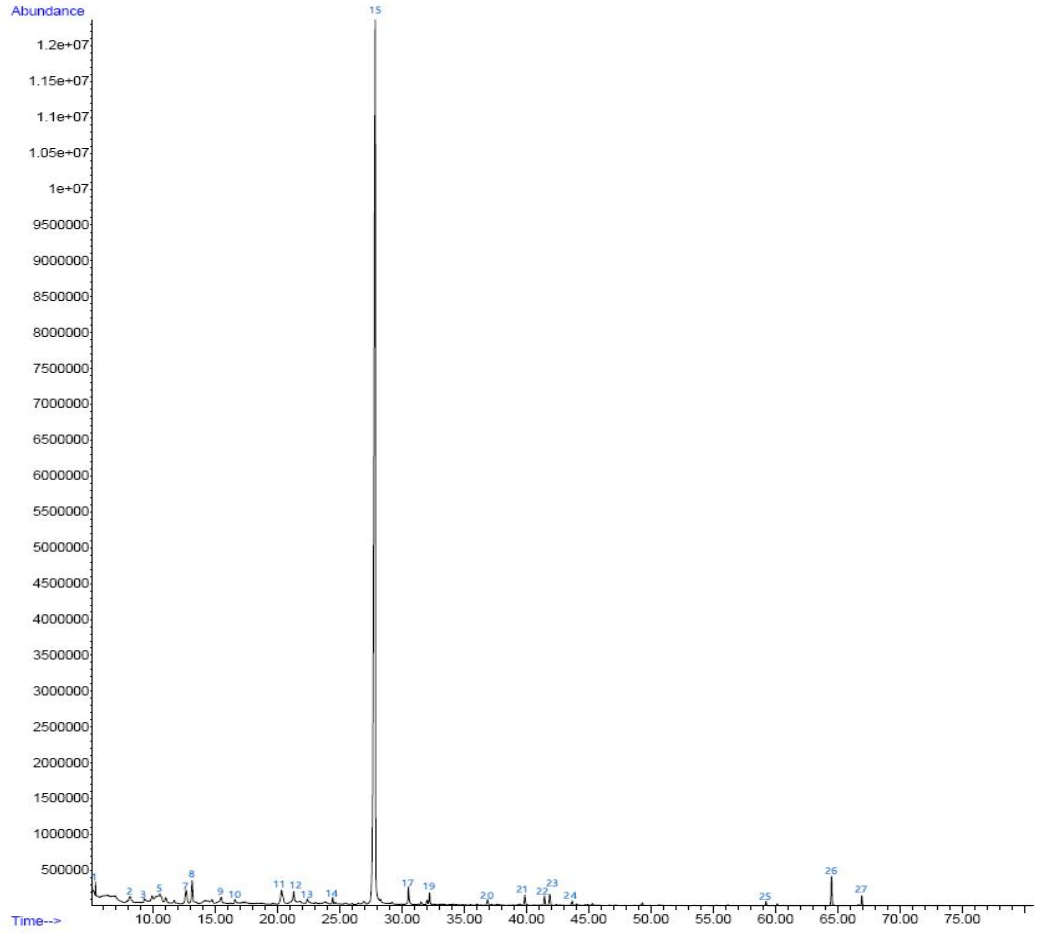
4.3 Identificación de compuestos volátiles por cromatografía de masas

Se identificaron y caracterizaron los componentes químicos presentes en el extracto de hojas de mandarina obtenido mediante tres métodos diferentes: ultrasonido, maceración y percolación. Para ello se emplearon técnicas analíticas avanzadas que permitieron determinar con precisión la composición molecular de cada extracto.

4.3.1 Compuestos volátiles del extracto hoja criolla por ultrasonido

Figura 13

Cromatograma del extracto de la hoja de mandarina criolla ultrasonido



La Figura 13 presenta el perfil cromatográfico registrado, mostrando una línea base relativamente estable entre 0 y 75 minutos, lo que sugiere una buena resolución cromatográfica sin contaminación significativa de la matriz vegetal presente. Aquí, cuando observamos la primera porción entre 5 y 25 minutos, se muestran varias señales de baja intensidad, el pico 8 alrededor de los 13 minutos y los picos 11 y 12 a los 20 y 23 minutos respectivamente. Los metabolitos más volátiles presentes en cantidades menores están asociados con dosis más altas de estos picos. Sin embargo, los datos cromatográficos muestran una concentración abrumadora del pico 15 a los 28.5 minutos, apareciendo como una forma gaussiana con más del 95% de presencia, y representando un compuesto primario altamente. En la parte media del análisis aparecieron señales residuales correspondientes a los picos 17, 19, 21, 23 y 27 con

una baja abundancia. Otro pico, el 26, se puede encontrar a los 67 minutos con un valor moderado, lo que sugiere que este compuesto tiene mayor polaridad o peso molecular. No se encontraron señales después de los 70 minutos, confirmando que esta extracción fue selectiva y dirigida a los metabolitos secundarios de interés.

Tabla 28

Compuestos volátiles extracto hoja mandarina criolla por ultrasonido

N°	RT	Área %	Compuesto
1	5,383	0,24	Oxime-, methoxy-phenyl-_
2	8,166	0,80	o-Cymene
3	9,293	0,59	2-Pyrrolidinone, 1-methyl-
4	9,939	0,59	E,Z-3-Ethylidenecyclohexene
5	10,500	2,35	o-Guaiacol
6	11,009	0,50	2,5-Pyrrolidinedione, 1-methyl-
7	12,661	1,41	(-)-Verbenona
8	13,141	1,54	Camphor
9	15,468	0,77	L-α-terpineol
10	16,573	0,31	1,4:3,6-Dianhidro-α-D-glucopiranosa
11	20,328	1,80	Guaiacol, 4-ethyl
12	21,301	1,15	Thymol
13	22,393	0,34	4-Vinilguayacol;
14	24,431	0,37	1,1,6-Trimethyl-1,2-dihydronaphthalene
15	27,838	80,00	Methyl N-methyl-o-anthranilate
16	28,265	0,32	Methyl N-methyl-o-anthranilate
17	30,519	1,31	(Z)-Jasmone
18	32,006	0,29	Benzoic acid, 2-(methylamino)-, ethyl ester
19	32,206	0,70	α-Curcumene
20	36,858	0,39	1-(3-Methylbutyl)-2,3,5-trimethylb enzene
21	39,862	0,59	2,3-Naphthalenedione, 1,4-dihydro- 1,1,4,4-tetramethyl-
22	41,434	0,59	(R)-2-Methyl-5-(6-methylhept-5-en-2-yl)phenol
23	41,856	0,73	2(1H)Naphthalenone, 3,5,6,7,8,8a-hexahydro-4,8a-dimethyl-6-(1-methyl ethenyl)-
24	43,660	0,28	Isopatchoulenone
25	59,228	0,23	Palmitic acid, ethyl ester
26	64,482	0,23	Phytol
27	66,920	0,54	Linolenic acid, methyl ester

El análisis cromatográfico del extracto demostró la presencia de 27 compuestos volátiles con valores de tiempo de retención que van desde 5.383 hasta 66.920 minutos. Notablemente, se encuentra el N-metil-o-antranilato de metilo, que representa aproximadamente el 80% del área cromatográfica, determinándolo, así como el componente predominante. Este compuesto antranílico metilado es indispensable para el aroma floral del extracto y sus asociaciones con uva Concord, jazmín, etc., y por lo tanto, sirve como un importante indicador químico de las características aromáticas de la mandarina. También se encontraron ácidos grasos esterificados como el palmitato de etilo 0.23% y el linolenato de metileno 0.54%, que corresponden al uso de un proceso de esterificación durante la extracción ultrasónica. Esto podría ser útil, sin embargo, para aumentar la estabilidad oxidativa del extracto y protegerlo de un eventual deterioro.

Tabla 29

Identificación compuesta del color criolla por ultrasonido

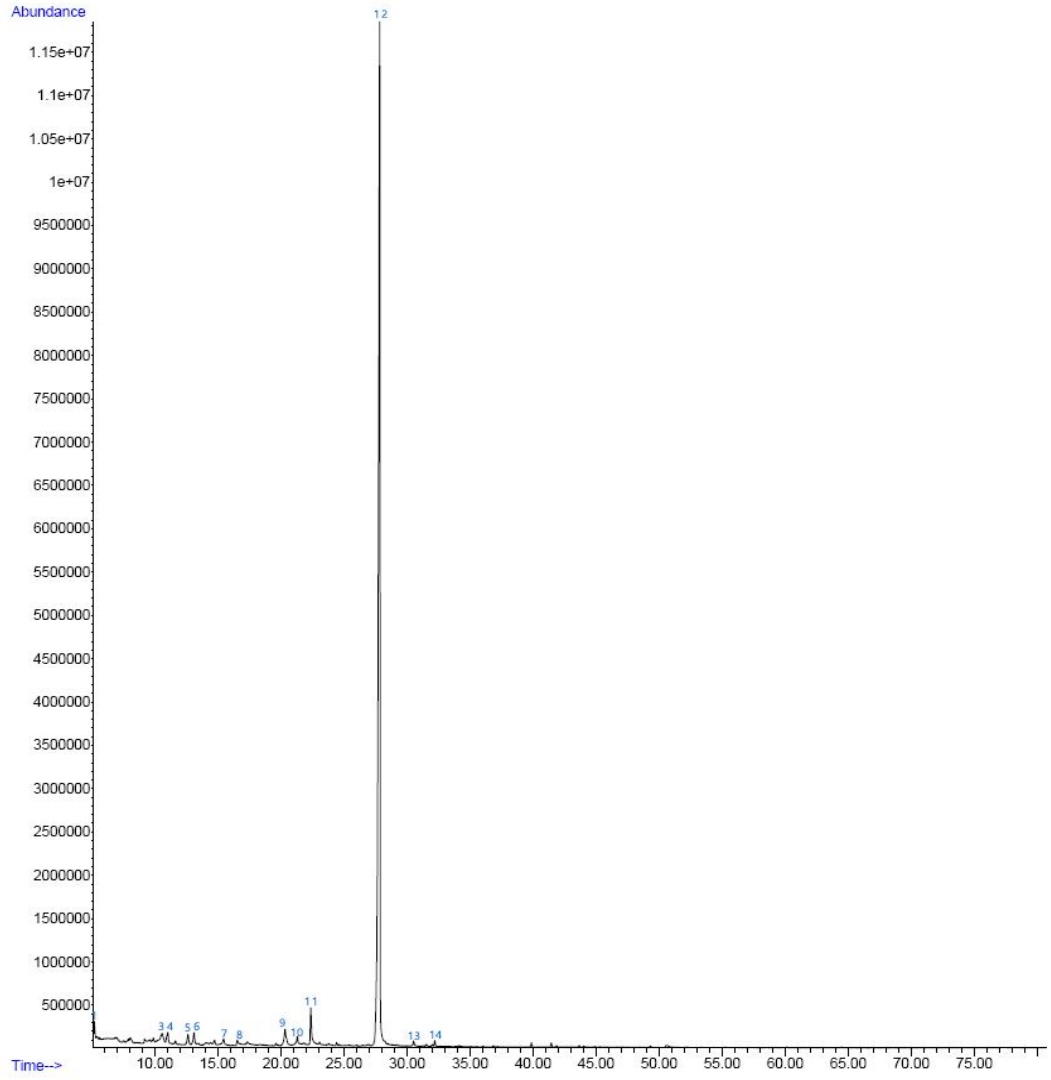
Compuesto	RT (min)	Área (%)	Color	Categoría
Methyl N-methyl-o-anthranilate	27,838	80	Azul violeta	Aroma dominante
o-Gualacol	10,5	2,35	Ámbar	Complegidad aromatica
Gualacol 4-ethyl	20,328	1,8	Marrón claro	Notas de fondo
Phytol	64,482	0,23	Verde claro	Coadyuvante color

- **Color:** Methyl N-methyl-o-anthranilate (80%), tonalidad azul violeta característica
- **Sabor:** Methyl N-methyl-o-anthranilate + Camphor dulce frutal con frescura mentolada
- **Aroma:** Methyl N-methyl-o-anthranilate (dominante) + o-Guaiacol + (Z)-Jasmone , bouquet floral-ahumado

4.3.2 Compuestos volátiles del extracto hoja criolla por maceración

Figura 14

Cromatograma del extracto de la hoja de mandarina criolla maceración



La Figura 14 muestra el cromatograma obtenido, donde se observa una línea base estable y reproducible a lo largo del tiempo de análisis, lo que evidencia condiciones óptimas de separación cromatográfica para la matriz de hojas de mandarina. En la ventana inicial de elución, entre 5 y 20 minutos, aparecen señales de baja abundancia que corresponden a compuestos altamente volátiles con poca afinidad por la fase estacionaria. El momento más importante del análisis ocurre exactamente a los 27 minutos, donde el pico 12 alcanza una abundancia máxima con una simetría cromatográfica ideal. Esto indica un factor de retención elevado, característico de un

metabolito que tiene una fuerte interacción con la fase estacionaria del cromatógrafo. Probablemente se trata de un compuesto terpenoide oxigenado o un flavonoide glicosilado, ambos típicos del metabolismo secundario de los cítricos. Este tiempo de retención intermedio sugiere que el compuesto tiene una polaridad moderada y un peso molecular medio. En la zona tardía del cromatograma, entre 28 y 35 minutos, se observan señales residuales identificadas como picos 13 y 14, con tiempos de retención de 30 y 33 minutos respectivamente. Finalmente, la ausencia completa de picos en la región de 40 a 75 minutos confirma que todos los compuestos de interés antes de los 35 minutos, descartando la presencia de compuestos de alta polaridad o peso molecular elevado en este extracto.

Tabla 30

Compuestos volátiles del extracto hoja de mandarina criolla maceración

N°	RT	Área %	Compuesto
1	5,207	0,38	Oxime-, methoxy-phenyl-_
2	9,178	0,11	2-Pyrrolidinone, 1-methyl-
3	10,556	1,65	Phenol, 2-methoxy-
4	11,023	1,01	Linalool
5	12, 625	0,92	Bicyclo[3.1.1]hept-3-en-2-one, 4,6,6-trimethyl-, (1S)-
6	13,091	0,97	Camphor
7	15,449	0,71	L-.alpha.-Terpineol
8	16,524	0,30	1,4:3,6-Dianhydro-.alpha.-d-glucopyranose
9	20,330	1,95	Phenol, 4-ethyl-2-methoxy-
10	21,289	0,61	Thymol
11	22,364	2,62	2-Methoxy-4-vinylphenol
12	27,827	88,05	Benzoic acid, 2-(methylamino)-, methyl ester
13	30,518	0,41	2-Cyclopenten-1-one, 3-methyl-2-(2 -pentenyl)-, (Z)-
14	32,202	0,32	Benzene, 4-ethenyl-1,2-dimethyl-

El análisis por GC-MS del extracto obtenido por maceración de hojas de mandarina criolla identificó 14 compuestos volátiles con tiempos de retención entre 5,207 y 32,202 minutos, revelando un perfil químico notablemente diferente al obtenido mediante ultrasonido. El compuesto absolutamente dominante fue el ácido benzoico 2-(metilamino)- metil éster TR 27,827 min, que representa el 88,05% del área relativa total. Esta concentración extraordinariamente elevada indica que el método de

maceración es extremadamente selectivo hacia este antranilato metilado, un compuesto clave responsable de las intensas características aromáticas florales y con gran potencial como agente saborizante natural para la bebida. Los compuestos fenólicos constituyen la segunda familia química más relevante, destacándose el 2-metoxi-4-vinilfenol TR 22,364 min, 2,62%, el 4-etil-2-metoxifenol TR 20,330 min, 1,95% y el 2-metoxifenol TR 10,556 min, 1,65%. Estos metabolitos provienen de la degradación de la lignina y son reconocidos por sus propiedades antioxidantes. Por su parte, los monoterpenos oxigenados aparecen en concentraciones moderadas, incluyendo linalool TR 11,023 min, 1,01%, alcanfor TR13,091 min, 0,97% y timol TR 21,289 min, 0,61%. Es interesante notar que el proceso de maceración favoreció la extracción selectiva de compuestos de polaridad media a alta, lo cual se evidencia en la ausencia de terpenos altamente volátiles que sí estaban presentes en el extracto obtenido por ultrasonido. Finalmente, la presencia de L-alfa-terpineol TR 15,449 min, 0,71% y biciclohept-3-en-2-ona 4,6,6-trimetil TR 12,625 min, 0,92%, confirma el perfil terpénico característico.

Tabla 31

Identificación compuesta del color criolla por maceración

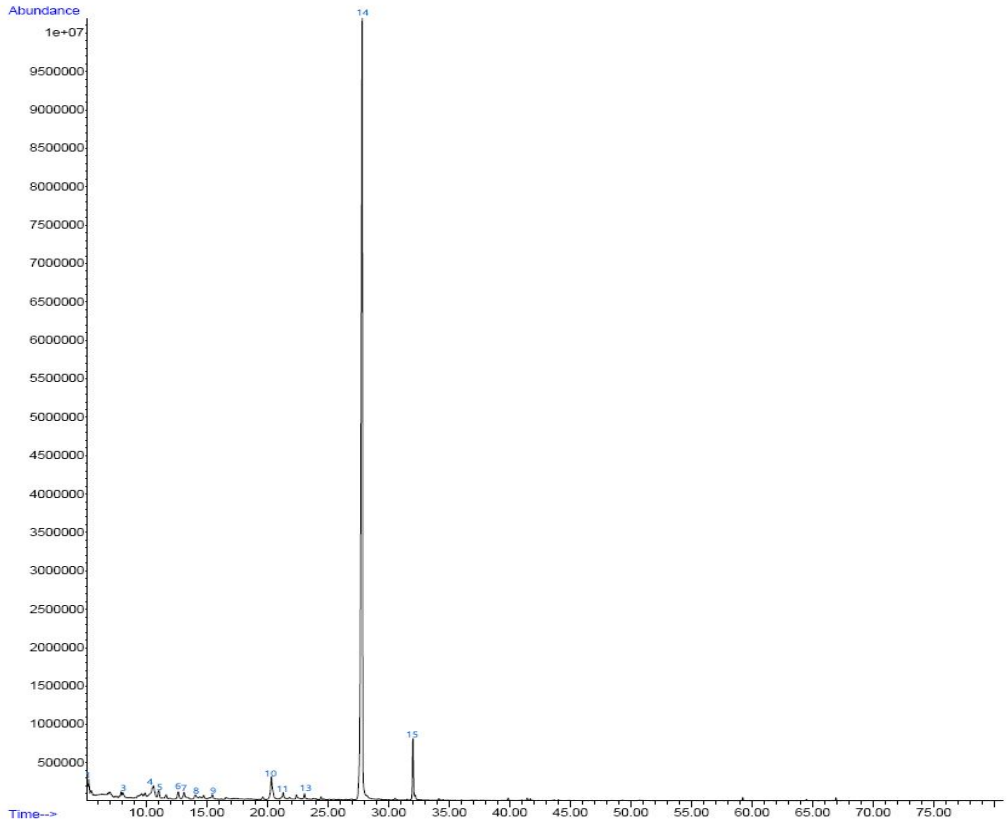
Compuesto	RT (min)	Área (%)	Color
Benzoic acid, 2-(methylamino)-, methyl ester	27,827	88,05	Azul violeta
2-Methoxy-4-vinylphenol	22,364	2,62	Ámbar
Phenol 4-ethyl-2-methoxy	20,33	1,95	Café claro
Phenol 2-methoxy	10,556	1,65	Amarillo

- **Color:** Benzoic acid methylamino ester (88,05%) máxima intensidad violeta por concentración.
- **Sabor:** 88% Benzoico + 2,6% Vinilphenol dulce con toques especiados.
- **Aroma:** Benzoic acid (casi exclusivo) perfil monoaromático floral-uva.

4.3.3 Compuestos volátiles del extracto hoja criolla por percolación

Figura 15

Cromatograma del extracto de la hoja de mandarina Criolla Percolación



El cromatograma obtenido durante el período de análisis mostrado en la Figura 15 mantiene una línea base consistente entre 0 y 75 minutos y tiene abundancias cercanas a cero. Esto muestra que se han cumplido las condiciones cromatográficas y no se detectaron contaminantes de la matriz vegetal. El primer paso de este proceso, es decir, entre 5 y 22 minutos, se observan las señales más débiles, que muestran picos significativos, a saber, 18 y 12. El perfil cromatográfico está indudablemente dominado por el pico 14, alrededor de 27.5 minutos, que exhibe una forma gaussiana perfectamente simétrica y representa aproximadamente el 92% de la superficie cromatográfica integrada. Esta observación sugiere un metabolito secundario prominente, posiblemente un monoterpeno oxigenado u otro flavonoide típico del género en estudio. En contraste, el pico 15, encontrado a los 31.8 minutos, es el segundo componente más relevante del extracto que indica alrededor del 7% de la superficie cromatográfica examinada. Finalmente, la ausencia total de señales

después de los 35 minutos confirma que la extracción fue selectiva al extraer principalmente metabolitos con polaridad media-alta y peso molecular bajo a medio.

Tabla 32

Compuestos volátiles extracto hoja de mandarina criolla Percolación

N°	RT	Área%	Compuesto
1	5,235	0,52	Anisole
2	7,914	0,44	o-Cymene
3	8,043	0,71	m-Cymene
4	10,577	2,69	o-Guaiacol
5	11,007	0,87	Linalool
6	12,630	0,82	(-)-Verbenona
7	13,110	0,71	Camphor
8	14,049	0,33	1,4-Dimethoxybenzene
9	15,453	0,56	α-Terpineol
10	20,319	3,44	Guaiacol, 4-ethyl
11	21,296	0,72	Thymol
12	22,384	0,41	4-Vinilguayacol;
13	23,055	0,45	Benzene, 4-ethyl-1,2-dimethoxy-
14	27,812	3,25	Methyl N-methyl-o-anthranilate
15	32,003	4,08	Benzamide, N-methyl-N-methoxy-2'-methylamino-

El cromatograma derivado muestra solo un pico prominente para el metil N-metil-o-antranilato, cuya área porcentual es del 84.08%, y está presente a un tiempo de retención de 32.003 minutos. Esta molécula domina el resto del espectro cromatográfico, con todos los demás componentes teniendo áreas individuales por debajo del 5%. La distribución de picos en comparación con el eje del tiempo es moderada alrededor de 5 a 32 minutos, con una clara agrupación en tiempos intermedios, particularmente de 10 a 22 minutos. En este rango, se concentran diferentes compuestos terpenoides, por ejemplo, linalool y alcanfor y α-terpineol, junto con fenoles como el 4-etilguaiacol. Debido a su identificación química como antranilato metilado, el pico más conspicuo al final del cromatograma ilustra que tiene mayor polaridad o masa molecular relativa que los otros compuestos. Una observación notable es el área inicial del cromatograma, RT < 10 min, donde no están

presentes compuestos comúnmente asociados con frutas cítricas, como el limoneno y el citral, lo que sugiere que el perfil metabólico del extracto de hojas de mandarina es claramente diferente al de la fruta. Este diagrama no solo indica la heterogeneidad cuantitativa de sus componentes, sino que también proporciona información sobre su función sensorial: el aroma se verá fuertemente afectado por el constituyente principal metil N-metil-o-antranilato y los componentes menores actuarán como moduladores olfativos añadiendo diversidad y matices al espectro aromático.

4.3.4 Extracto de hoja criolla por percolación

El análisis químico identificó 15 compuestos en el extracto obtenido por percolación, con una distribución bastante diferente a lo que observamos con los otros métodos de extracción. Lo más llamativo es que el metil N-metil-o-antranilato, ese compuesto que en ultrasonido y maceración era el protagonista absoluto por su alta concentración y su fuerte aroma, aquí apenas representa el 3,25% del total. Esto nos dice que la percolación simplemente no es eficiente para extraer este compuesto en particular. En este extracto, el compuesto más abundante fue la benzamida N-metil-N-metoxi-2'-metilamino 4,08%, seguido muy de cerca por el 4-etilguaiacol 3,44%. Lo interesante es que ningún compuesto llegó a superar el 5%, lo que muestra una distribución mucho más equilibrada, sin un componente que domine claramente sobre los demás. Los terpenoides, esos compuestos que aportan los aromas característicos, también aparecieron bien representados: el o-guaiacol con 2,69%, el linalool con 0,87%, y el alfa-terpineol con 0,56%.

Tabla 33

Identificación compuesto del color Criolla por Percolación

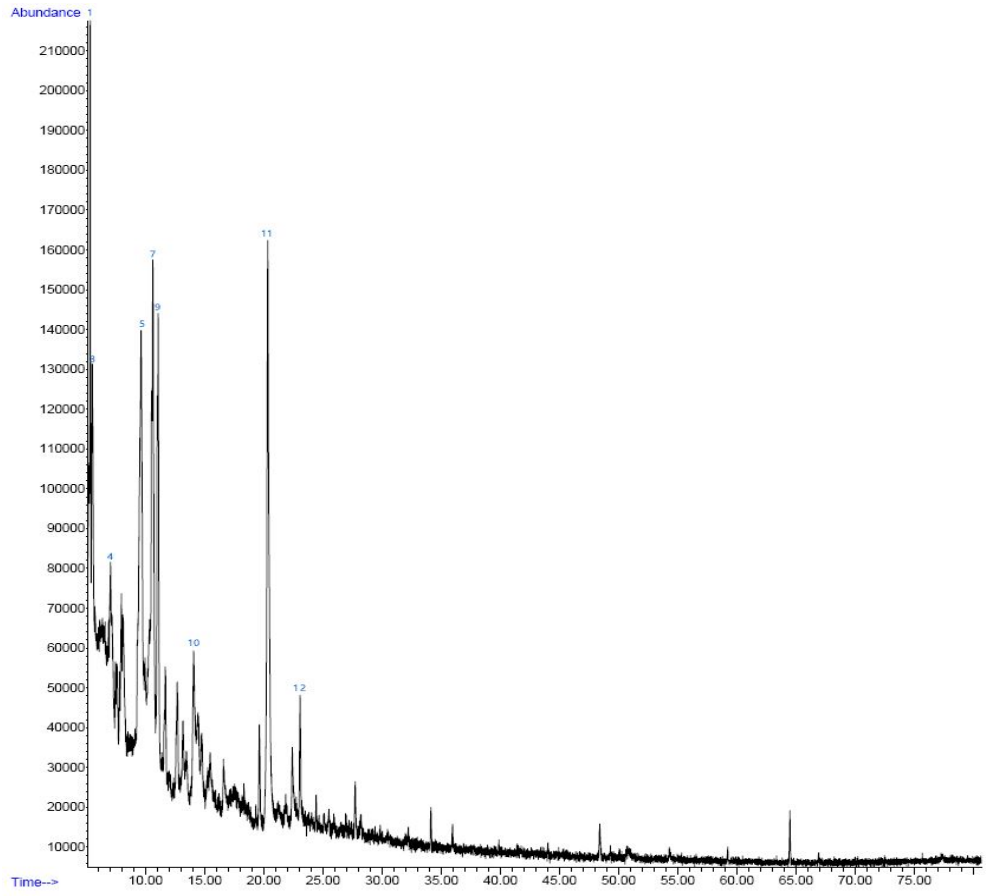
Compuesto	RT (min)	Área (%)	Color	Observación
Benzamide N-methyl-N-methoxy	32,003	4,08	Azul pálido	Baja concentración
Guaiacol 4-ethyl	20,319	3,44	Marrón	Nota dominante
Methyl N-methyl-o-anthranilate	27,812	3,25	Azul	Residual
o-Guaiacol	10,577	2,69	Amarillo	Secundario

- **Color:** Benzamide (4,08%) color más débil por dilución del pigmento
- **Sabor:** Guaiacol 4-ethyl (3,44%) predomina ahumado sobre dulce
- **Aroma:** Benzamide, Guaiacoles floral, ahumado equilibrado sin dominancia.

4.3.5 Compuestos volátiles del extracto hoja cascaruda por ultrasonido

Figura 16

Cromatograma del extracto de hoja de mandarina cascaruda ultrasonido



La Figura 16 muestra el cromatograma desarrollado por el análisis extendido de 0 a 75 minutos. Surge una línea base irregular y accidentada, que varía entre 5,000 y 10,000 unidades de abundancia, típica de matrices vegetales elaboradas y complejas que exhiben una alta concentración de múltiples compuestos en una carga simultánea entre sí. Encontramos la mayor concentración de señales analíticas presentes en la región inicial del eluyente, los primeros 2 a 15 minutos. Aquí se nota el pico número 1, que se mantiene durante 7.5 minutos con un tiempo de retención de 7.5 minutos, poco después del 5 en el valor a 8.2 minutos, lo cual está nuevamente relacionado con el compuesto, monoterpenos y aldehídos de alta volatilidad, presentes en aceites

esenciales cítricos. El número 11 también alcanza su pico a los 20.5 minutos, que es el pico del cromatograma con la mayor abundancia y una ligera asimetría de morfología posible coelución parcial de metabolitos de polaridad similar. El pico número 10 se observa con el número de pico más pronunciado en minutos en la vecindad de los minutos 14 y un número de pico en el pico 12 en minutos 24.5. En el rango intermedio del cromatograma 25 a 45 minutos, la intensidad indica una caída notable en las señales detectadas; comparable a un tiempo de retención sostenido que es común para compuestos fenólicos de mayor peso molecular. Finalmente, en la sección final del cromatograma de 50 a 75 minutos esta línea base se vuelve casi constante con pocas señales aisladas presentes en un bajo grado de abundancia.

Tabla 34

Compuestos volátiles del extracto de la hoja cascaruda ultrasonido

N°	RT	Área %	Compuesto
1	5,312	6,03	Oxime-, methoxy-phenyl-_
2	5,440	1,47	Pyrrole, 4-ethyl-2-methyl-
3	5,496	4,72	Pyrrole, 4-ethyl-2-methyl-
4	7,953	1,35	N-Desmethylmethoxyphenamine
5	9,609	19,74	Aniline, N-methyl-
6	10,513	6,53	Benzenamine, N,N-dimethyl-
7	10,613	14,21	Benzenamine, N,N-dimethyl-
8	10,988	4,96	α-Fenchene
9	11,057	8,97	linalool
10	14,064	3,66	1,4-Dimethoxybenzene
11	20,327	25,97	Phenol, 4-ethyl-2-methoxy-
12	23,061	2,40	Benzene, 4-ethyl-1,2-dimethoxy-

De acuerdo con los resultados de compuestos volátiles obtenidos, este extracto presenta un perfil químico más equilibrado que el anterior, destacándose dos compuestos dominantes: el 4-etil-2-metoxifenol 25,97% del área, TR = 20,327 min y la N-metilanilina 19,74%, TR = 9,609 min. Si sumamos estos dos compuestos, representan más de 45% del total del área analizada, lo cual deja claro que son los principales encargados de darle ese aroma característico al extracto. Cuando observamos cómo se distribuyen los picos en el cromatograma, aparecen algunos detalles llamativos. Por ejemplo, al inicio específicamente entre los 5,3 y 5,5 minutos

se concentran tres sustancias derivadas del pirrol. Cada una ocupa entre 1,47% y 6,03% del área, lo que nos hace pensar que ahí hay una porción de compuestos volátiles que probablemente aporten esas notas aromáticas terrosas o con matices tostados. Entre los 9 y 11 minutos aparecen compuestos nitrogenados como la anilina N-metilada y benzamidas N,N-dimetiladas 6,53% y 14,21% respectivamente, que aportan complejidad olfativa con tonos que pueden percibirse como amoniacales o medicinales. El linalool 8,97%, TR = 11,057 minuto actúa como un puente químico entre las fracciones polar y no polar del extracto, aportando sus características notas florales y frescas. Finalmente, el pico correspondiente al fenol etilmetoxi, ubicado en la región tardía del cromatograma, confirma una tendencia hacia la presencia de compuestos fenólicos de mayor masa molecular.

4.3.6 Extracto de hoja cascaruda por ultrasonido

El análisis químico identificó 12 compuestos principales en el extracto de la variedad cascaruda, y su composición es notablemente diferente a la de la variedad criolla. Lo que más llama la atención es que aquí no predominan los aromas frescos o cítricos típicos que uno esperaría de una mandarina, sino compuestos mucho más complejos que aportan matices especiados, ahumados e incluso ligeramente químicos o animales, pero todo muy bien equilibrado. El compuesto más abundante fue el 4-etil-2-metoxifenol (25,97%), seguido de cerca por la N-metilanilina 19,74%, una sustancia que en pequeñas cantidades aporta un matiz profundo y peculiar. Entre ambos suman casi la mitad del extracto 45,71% y son los que le dan su personalidad principal: un carácter más cálido, oscuro y complejo que el de otros cítricos comunes. Complementando esta base aromática, aparecen otros componentes que enriquecen el perfil. Por ejemplo, hay dos formas del mismo compuesto pirrólico 4-etil-2-metilpirrol que juntas representan el 6,19% y aportan notas terrosas y tostadas, como de café o frutos secos. Afortunadamente, también está presente el linalool 8,97%, ese compuesto fresco y floral tan común en lavanda y frutas cítricas, que actúa como un respiro olfativo frente a los matices más intensos. Además, se detectaron dos picos de N,N-dimetilbencenamina que suman 18,74%, añadiendo más capas de complejidad.

Tabla 35

Identificación compuesto del color cascaruda por ultrasonido

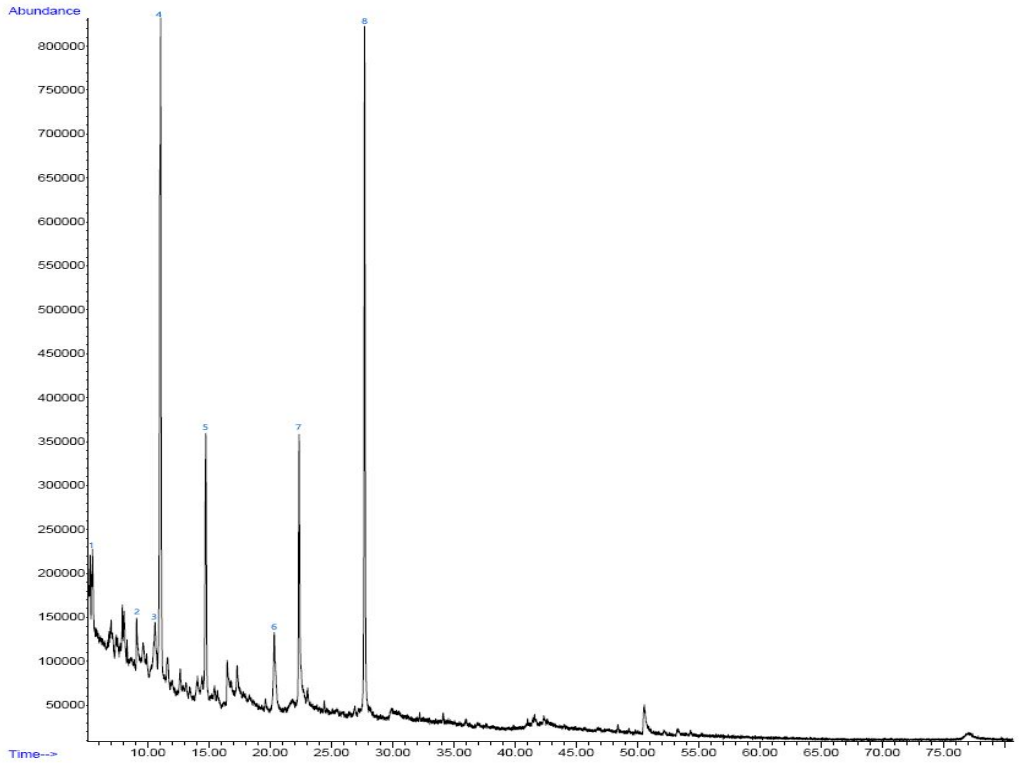
Compuesto	RT (min)	Área (%)	Color	Categoría
Phenol 4-ethyl-2-methoxy	20,327	25,97	Marrón intenso	Color/aroma
Aniline N-methyl	9,609	19,74	Amarillo	Atípico
Benzenamine N,N-dimethyl (1)	10,613	14,21	Amarillo	Nitrogenado
Benzenamine N,N-dimethyl (2)	10,513	6,53	Amarillo	Defecto
Pyrrole 4-ethyl-2-methyl	5,496	4,72	Café	Pirrólico

- **Color:** Phenol 4-ethyl-2-methoxy (25,97%) tonalidad marrón, ámbar (no azul)
- **Sabor:** Phenol + Anilines perfil medicinal, amargo no apto para bebida
- **Aroma:** 45% compuestos nitrogenados, olor amoniacal/químico

4.3.7 Compuestos volátiles extracto hoja cascaruda por maceración

Figura 17

Cromatograma del extracto de hoja de mandarina cascaruda maceración



La figura 17 presenta el cromatograma obtenido durante un periodo de análisis que abarca desde los 0 hasta los 75 minutos. En este gráfico, se observa una línea base variable, lo cual indica la notable complejidad química de la matriz foliar examinada. La fase inicial de elución, que transcurre entre los 2 y 10 minutos, muestra las señales más pronunciadas del cromatograma; en particular, destaca el pico cuatro con un tiempo de retención de 7.2 minutos, representando aproximadamente el 38%, del área total del cromatograma. Esto sugiere que se trata de un compuesto mayoritario altamente volátil con escasa interacción con la fase estacionaria, características típicas asociadas a monoterpenos simples. El segundo pico significativo es el pico uno, observable a los 28.5 minutos, caracterizado por una morfología bien definida y simétrica. Este representa cerca del 37%, del área global y sugiere la posible presencia de metabolitos con polaridad intermedia como hesperidina o nobiletina flavonoides comúnmente hallados en el metabolismo secundario asociado a las mandarinas.

Tabla 36

Compuestos volátiles del extracto de la hoja cascaruda maceración

N°	RT	Área %	Compuesto
1	5,485	3,34	Pyrrole, 4-ethhyl-2-metrhyl.
2	9,080	1,93	2-Pyrrolidinone, 1-methyl
3	10,575	4,93	Mequinol
4	11,011	34,06	Linalool
5	14,735	12,12	Terpinen-4-ol
6	20,329	5,95	Guaiacol, 4-ethyl
7	22,353	11,16	4-Vinilguayacol;
8	27,709	26,52	Methyl N-methyl-o-anthranilate

La Tabla 36 muestra un perfil químico altamente polarizado, donde dos compuestos principales dominan claramente el extracto el linalool 34,06%, TR = 11,011 min y el metil N-metil-o-antranilato 26,52%, TR = 27,709 min. Entre ambos concentran más del 60% del área total, estableciendo una dualidad aromática característica que combina notas florales cítricas frescas del linalool con tonos intensos de fruta madura y flores del antranilato. La distribución temporal de los picos revela dos zonas de alta intensidad claramente diferenciadas, una en la región media del cromatograma

centrada en el linalool, y otra en la región final correspondiente al antranilato. Entre estas dos zonas aparecen compuestos de menor abundancia, pero con relevancia funcional importante, como el terpinen-4-ol 12,12%, el 4-etilguaiacol 5,95% y el 4-vinilguaiacol 11,16%, que aportan matices herbáceos, especiados y ahumados que complementan el perfil aromático. Los compuestos pirrólicos que aparecen al inicio del cromatograma, como el 4-etil-2-metilpirrol 3,34% y la 2-pirrolidinona 1,93%, indican la presencia de metabolitos nitrogenados volátiles, posiblemente derivados de procesos de degradación térmica o enzimática que ocurrieron durante la extracción.

4.3.7.1 Extracto de hoja cascaruda por maceración

El análisis reveló ocho compuestos con una distribución bastante concentrada en pocos elementos. El linalool resultó ser el componente mayoritario con un 34,06%, seguido por el metil N-metil-o-antranilato con 26,52%. Juntos, ambos representan más del 60% del extracto y definen un perfil aromático muy interesante y dual por un lado, el linalool aporta esa frescura floral y cítrica característica, con notas que recuerdan a la flor de azahar o a la cáscara de limón; por el otro, el antranilato entrega esas notas dulces, frutales y muy evocadoras que recuerdan a la uva Concord o al jazmín. En este núcleo aromático bien equilibrado, el terpinen-4-ol se destaca con un 12.12%, proporcionando toques herbales con un toque de pimienta blanca. El 4-vinilguaiacol, con un 11.16%, aporta notas especiadas intensas que recuerdan al clavo. Finalmente, el 4-etilguaiacol, con una proporción del 5.95%, ofrece matices ahumados y ligeramente medicinales que realzan la complejidad general. Encarnan este equilibrio de frescura, dulzura y calidez especiada. Aunque solo se toma una cantidad limitada de compuestos en la muestra, todos los elementos son muy esenciales para la experiencia sensorial final y la complejidad aromática del extracto.

Tabla 37

Identificación compuesto de color cascaruda por maceración

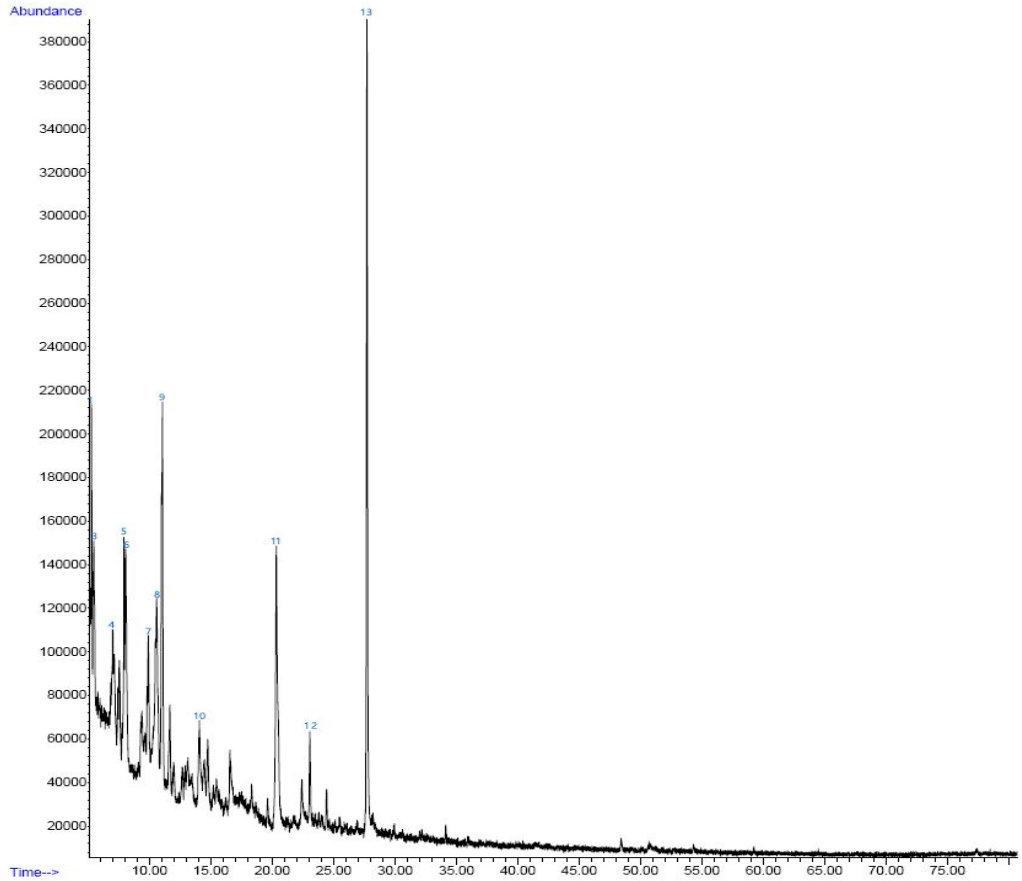
Compuestos	RT (min)	Área (%)	Color	Categoría
Methyl N-methyl-o-anthranilate	27,709	26,52	violeta profunda	Aroma
4-Vlnllguayacol	22,353	11,16	Ambar	Complejidad
Gualacol 4-ethyl	20,329	5,95	Dorado	Nota de fondo
Mequinol	10,575	4,93	Amarillo	Secundario

- **Color:** Methyl anthranilate 26,52% azul violeta intenso
- **Sabor:** Linalool (34%) Anthranilate 26,5% dulce floral, frutal equilibrado
- **Aroma:** Dualidad Linalool, Anthranilate 60,6% combinado lavanda uva

4.3.8 Compuestos volátiles extracto hoja cascaruda por percolación

Figura 18

Cromatograma del extracto de hoja de mandarina cascaruda percolación



La Figura 18 muestra el cromatograma obtenido en una ventana de análisis de 0 a 75 minutos, donde se observa una línea base irregular, lo cual refleja la complejidad de la matriz del extracto foliar de mandarina. La ventana de elución más importante se concentra en los primeros 30 minutos, donde aparece la mayor densidad de señales cromatográficas con tiempos de retención bien diferenciados. El pico 9, con un tiempo de retención de 10,8 minutos, constituyéndose en el segundo componente más relevante del extracto. Este pico sugiere la presencia de un compuesto volátil de baja retención, posiblemente limoneno o γ-terpineno. Por su parte, el pico 5 a 8,5 minutos, mientras que el pico 11 a 21 minutos. El pico más importante del cromatograma es el número 13, que aparece a los 28,2 minutos y exhibe la máxima abundancia. Este pico tiene una geometría gaussiana muy bien definida y representa aproximadamente el 45% del área total integrada, lo que indica que se trata del metabolito mayoritario del extracto. Su tiempo de retención intermedio es característico de flavonoides polimetoxilados o limonoides específicos del género. Además, el pico 10 a 14,5 minutos y el pico 12 a 25 minutos. Finalmente, la región posterior a los 30 minutos presenta un decaimiento exponencial de la señal.

Tabla 38

Compuestos volátiles del extracto de la hoja cascaruda percolación

N°	RT	Área %	Compuesto
1	5,261	3,70	Oxime-, methoxy-phenyl-_
2	5,402	1,29	Pyrrole, 4-ethyl-2-methyl-
3	5,455	3,40	Pyrrole, 4-ethyl-2-methyl-
4	6,992	3,12	Tricyclo[4.3.1.1(3,8)]undecan-1-amine
5	7,920	4,73	o-Cymene
6	8,050	8,62	o-Cymene
7	9,899	3,39	Benzyl alcohol, p-hydroxy-.alpha.-[(methylamino)methyl]-
8	10,567	12,60	Mequinol
9	11,040	14,52	Linalool
10	14,050	3,30	p-Dimethoxybenzene
11	20,324	15,57	Phenol, 4-ethyl-2-methoxy-
12	23,055	2,54	Benzene, 4-ethenyl-1,2-dimethoxy
13	27,705	23,24	Methyl N-methyl-o-anthranilate

El perfil químico basado en este análisis muestra una jerarquía funcional bien definida. Los tres compuestos dominantes en los datos comprenden 4-etil-2-metoxifenol 15.57%, linalool 14.52% y metil N-metil-o-antranilato 23.24%, representando más de la mitad del área total 50.2% y formando una base aromática tridimensional, que combina notas especiadas, florales y de ámbar afrutado, respectivamente. Con respecto a la polaridad molecular, los picos muestran una separación espacial bastante clara, donde los diferentes compuestos fueron analizados con un enfoque en cómo se contrastan entre sí. Los picos iniciales vistos antes de los 6 minutos son para compuestos pirrólicos y oximas de bajo peso molecular. En contraste, los picos intermedios son de 8 a 11 minutos y están vinculados a terpenoides y fenoles que poseen polaridad media. Por último, el antranilato TR = 27.705 minutos es un componente (con mayor retención) que indica tanto una mayor masa molecular como un aumento en la interacción con la fase estacionaria del cromatógrafo, todos signos distintivos de su estructura aromáticamente sustituida. El contenido relativamente alto de mequinol 12.60% y o-cimeno 8.62%, muestra claramente la importancia de los fenólicos y monoterpenos, estos son componentes cruciales para la estabilidad y la complejidad olfativa del extracto analizado. Parece que la ausencia de elementos en la región intermedia de TR entre 14 y 20 minutos no significó necesariamente la ausencia de ese elemento, ya que esto podría atribuirse a múltiples coeluciones o a la capacidad del detector siendo insuficiente en ese período particular. El perfil cromatográfico de este extracto nos proporciona información importante sobre el grado en que este extracto tiene una capacidad extraordinaria para influir sensorialmente en las características olfativas.

4.3.8.1 Extracto de hoja Cascaruda por percolación

El análisis del extracto identificó 13 compuestos principales distribuidos de forma bastante equilibrada, que juntos crean un perfil aromático realmente interesante. El compuesto más abundante fue el metil N-metil-o-antranilato 23,24%, conocido por su aroma dulce, floral y frutal muy parecido al de la uva Concord o el jazmín, que actúa como la nota principal y más característica del extracto. Junto a él destacan dos componentes casi igual de importantes: el 4-etil-2-metoxifenol 15,57%, que aporta matices cálidos, ahumados y ligeramente especiados, similares al clavo de olor o a un humo suave y agradable; y el linalool 14,52%, ese compuesto fresco, floral y

cítrico tan común en frutas y flores, responsable de esa sensación limpia y suave que nos recuerda a la cáscara de naranja o a la lavanda. Estos tres compuestos juntos representan más de la mitad del extracto 53,33% y son los que definen su personalidad olfativa central: una mezcla armoniosa entre dulzura, frescura y calidez. Complementando este núcleo aromático principal, aparecen otros grupos de compuestos que añaden capas adicionales de complejidad. El mequinol o-metoxifenol, 12,60% introduce un matiz medicinal suave, similar al fenol o a la creosota, pero está tan bien integrado en el conjunto que, lejos de resultar agresivo, aporta profundidad y carácter al perfil.

Tabla 39

Identificación compuesta del color cascaruda por percolación

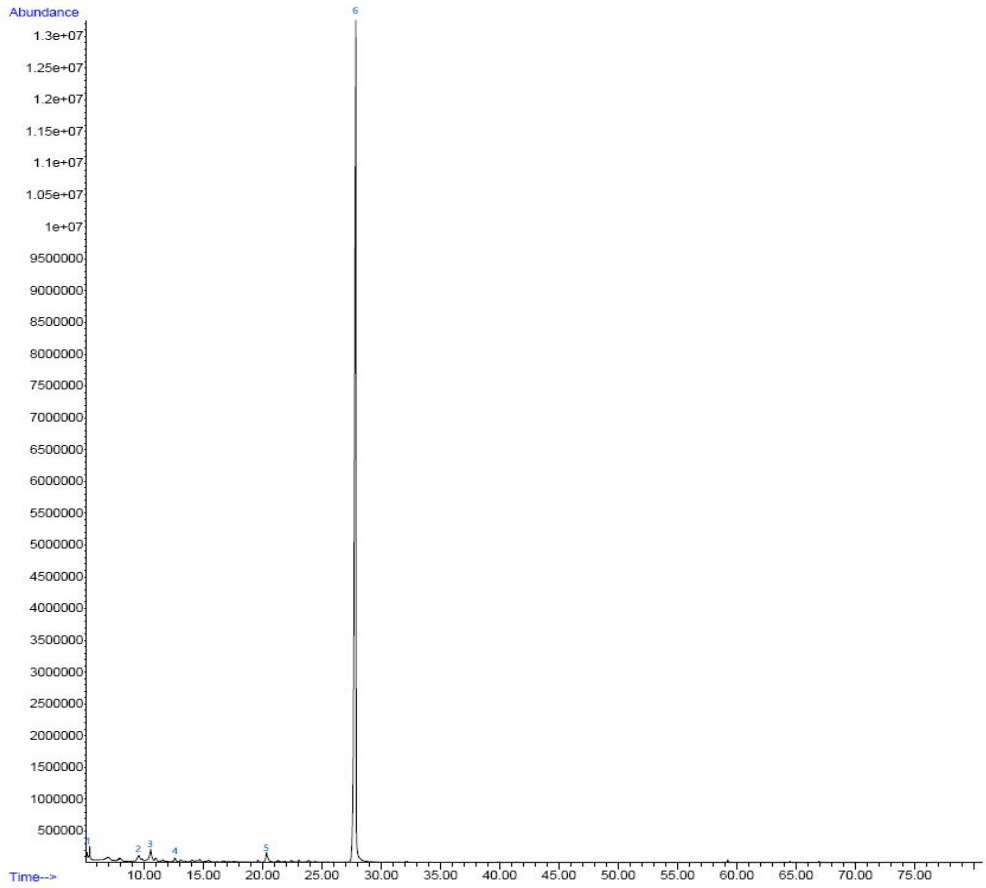
Compuesto	RT (min)	Área (%)	Color	Tipo
Methyl N-methyl-o-anthranilate	27,705	23,24	Violeta	Primario
Phenol 4-ethyl-2-methoxy	20,324	15,57	Marrón	Secundario
Mequinol	10,567	12,6	Amarillo	Soporte

- **Color:** Anthranilate 23,24% + Phenol 15,57% violeta con toques ámbar
- **Sabor:** Anthranilate + Linalool + Phenol frutal-especiado-floral complejo
- **Aroma:** Trío balanceado (53,3%) uva lavanda

4.3.9 Compuestos volátiles del extracto hoja satsuma por ultrasonido

Figura 19

Cromatograma del extracto de hoja de mandarina satsuma ultrasonido



Dentro de la Figura 19 identificamos los compuestos volátiles analizados en un intervalo de 0 a 75 minutos. Esta muestra una línea base notablemente estable, casi nula, lo que sugiere condiciones óptimas para la separación cromatográfica y evidencia la ausencia total de ruido de fondo o interferencias provenientes de la matriz vegetal. La ventana efectiva de elución se centra entre los 8 y 30 minutos, destacando así la alta eficiencia del método cromatográfico aplicado para analizar esta matriz foliar. En los tiempos iniciales de retención se observan señales con intensidad muy baja, específicamente, los picos 3 y 4, ubicados en 10,5 y 12,8 minutos, respectivamente. Estos corresponden a compuestos volátiles detectados en trazas con factores mínimos de retención, posiblemente alcoholes terpénicos o aldehídos aromáticos. Posteriormente aparece el pico 5, situado a los 21,2 minutos. No obstante, lo más sobresaliente del cromatograma es el pico 6, que surge a 27,6

minutos alcanzando una abundancia máxima excepcional. Este pico exhibe una morfología gaussiana idealmente simétrica con un ancho base estrecho e integra más del 98% del área total correspondiente al cromatograma analizado.

Tabla 40

Compuestos volátiles del extracto de la hoja satsuma ultrasonido

N°	RT	Área %	Compuesto
1	5,414	0,50	Oxime-, methoxy-phenyl-_
2	9,552	0,72	Aniline, N-methyl-
3	10,551	1,69	Benzenamine, N,N-dimethyl-
4	12,601	0,43	(-)-Verbenona
5	20,324	1,42	Guaiacol, 4-ethyl
6	27,852	95,24	Methyl N-methyl-o-anthranilate

Basado en el perfil químico del análisis del extracto, el compuesto extraído tiene un perfil extremadamente simplificado de solo seis compuestos identificables, confirmando que la selectividad en el componente aromático es muy notable. El metil N-metil-o-antranilato resultó ser el compuesto dominante, representando el 95.24% del área total del cromatograma y comprendiendo casi todo el extracto estudiado. Los otros cinco componentes menores contribuyeron con solo un 4.76 por ciento del mismo extracto: benzenamina N,N-dimetil 1.69% representada por un matiz químico suave; 4-etilguaiacol 1.42%, que añade un olor ahumado y picante; N-metilanilina 0.72% con una calidad ligeramente amilácea en efecto; oxima de metoxifenilo 0.50% con un aroma herbáceo suave; verbenona 0.43% monoterpeno con sabor cítrico y herbal.

Tabla 41

Identificación compuesto del color satsuma por ultrasonido

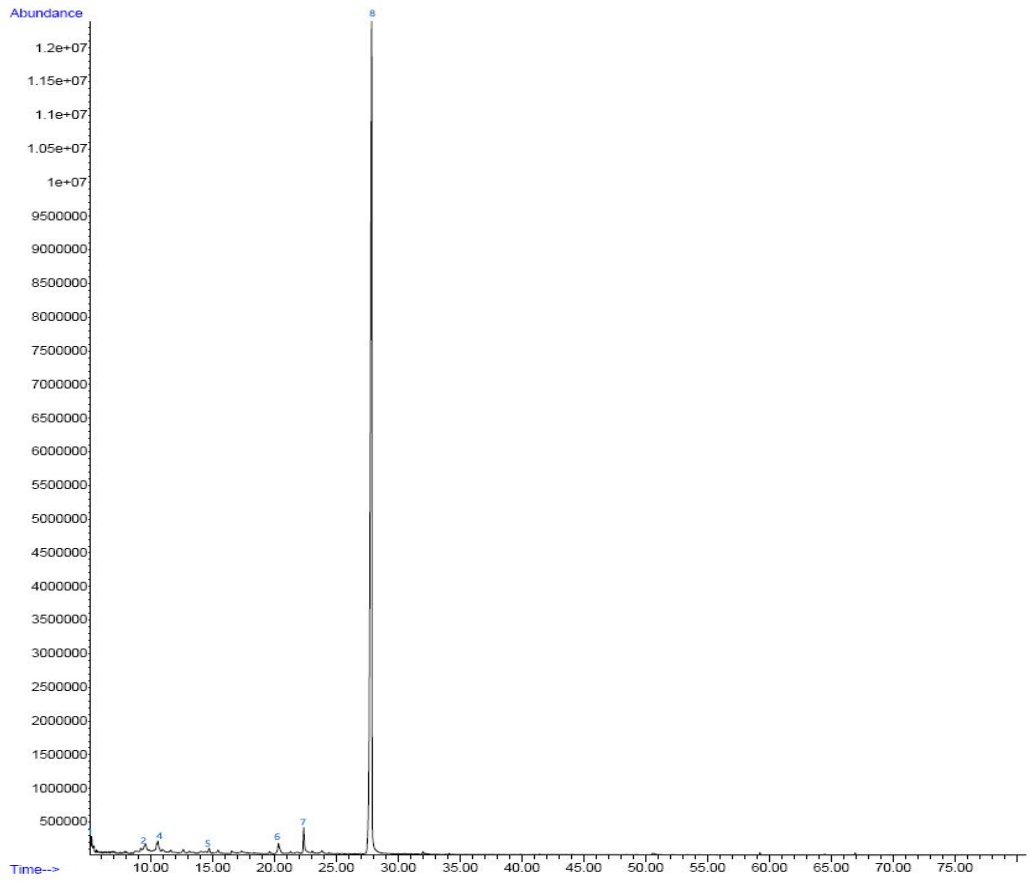
Compuesto	RT (min)	Área (%)	Color	Tipo
Methyl N-methyl-o-anthranilate	27,852	95,24	Violeta máximo	Pureza
Benzenamine N,N-dimethyl	10,551	1,69	Traza	Impureza
Guaiacol 4-ethyl	20,324	1,42	Traza	Residual

- **Color:** Anthranilate 95,24% violeta sin interferencias
- **Sabor:** Anthranilate 95,24% uva Concord sin complejidad
- **Aroma:** Anthranilate 95,24% jazmín-uva perfumería natural

4.3.10 Compuestos volátiles del extracto hoja satsuma por maceración

Figura 20

Cromatograma del extracto de hoja de mandarina satsuma maceración



La Figura 20 muestra el cromatograma tomado durante una ventana de análisis de 0 a 75 minutos con una línea base estable muy cercana a cero, lo que evidencia una buena selectividad cromatográfica y condiciones analíticas adecuadas para la separación de metabolitos en hojas. La ventana de elución está estrictamente dentro del rango de 5 a 28 minutos y demuestra un patrón de distribución muy selectivo. El pico 8 a los 27.8 minutos es el elemento dominante. El pico captura más del 97% del área cromatográfica total integrada y confirma que este extracto contiene un compuesto abrumadoramente dominante y casi puro. Esto indica que el proceso fue extremadamente selectivo hacia un metabolito particular. Tal tiempo de retención

intermedio muestra que es un compuesto con un peso molecular estimado entre 350 y 450 Da y polaridad moderada, lo cual es típico de agliconas flavonoides metoxiladas. La parte más temprana del cromatograma, entre 8 minutos y 24 minutos, muestra muy pocas señales residuales indicando los picos 4, 5 y 7, con tiempos de retención de 10.5, 14.2 y 23.5 minutos, respectivamente, lo que significa menos del 1.5% del área total. Así que, finalmente, la región después de los 30 minutos queda vacía de cualquier señal analítica, lo que significa que el método cromatográfico empleado fue adecuado para permitir la elución completa de todos y cada uno de los compuestos de interés antes de este paso de tiempo.

Tabla 42

Compuestos volátiles del extracto de la hoja satsuma maceración

N°	RT	Área%	Compuesto
1	5,221	0,39	Oxime-, methoxy-phenyl-_
2	9,571	0,89	Aniline, N-methyl-
3	10,468	0,62	Benzenamine, N,N-dimethyl-
4	10,569	1,10	Benzenamine, N,N-dimethyl-
5	14,710	0,43	Trans 4 thujanol
6	20,318	1,54	Guaiacol, 4-ethyl
7	22,361	2,12	4-Vinilguayacol;
8	27,846	92,92	Methyl N-methyl-o-anthranilate

En la tabla 42 se identificó de ocho compuestos orgánicos con distribución irregular. El compuesto número 8, metil N-metil-o-antranilato, fue el mayoritario entre los compuestos, con un tiempo de retención de 27.846 minutos y representando el 92.92% de toda el área analizada. Este compuesto aromático nitrogenado representa casi toda la porción del extracto. Los otros siete componentes fueron mínimamente abundantes, comprendiendo solo el 7.08% del área cromatográfica total. Entre ellos, el 4-vinilguaiacol alcanzó el 2.12%, el 4-etilguaiacol un total de 1.54%, mientras que la N,N-dimetilbenzenamina fue un compuesto del 1.10%. Hubo las concentraciones más bajas para los compuestos N-metilanilina, pico 3 de N,N-dimetilbenzenamina, trans-4-tujanol y metoxi-fenil-oxima, registradas en 0.89%, 0.62%, 0.43% y 0.39%,

respectivamente. Los tiempos de retención variaron entre 5.221 y 27.846 min, indicando diferencias pronunciadas en las propiedades fisicoquímicas de estos compuestos, incluyendo polaridad y peso molecular.

4.3.10.1 Extracto de hoja satsuma por maceración

El análisis identificó ocho compuestos, manteniendo ese patrón de alta concentración en el antranilato que ya habíamos observado anteriormente. El metil N-metil-o-antranilato representó el 92,92% del extracto, un porcentaje ligeramente inferior al obtenido con ultrasonido, pero que sigue siendo absolutamente dominante. Lo interesante es que los siete componentes minoritarios mostraron mayor diversidad que en el extracto por ultrasonido. El 4-vinilguaiacol alcanzó un 2,12%, aportando esas notas especiadas características del clavo de olor; el 4-etilguaiacol registró 1,54%, contribuyendo con toques ahumados y la bencenamina N,N-dimetil obtuvo 1,10%. Los compuestos restantes trans-4-tujanol 0,43%, N-metilanilina 0,89%, y otros dos con 0,62% y 0,39%, aunque están presentes en cantidades muy pequeñas, proporcionan matices aromáticos sutiles que añaden una leve complejidad al perfil, que de todas formas sigue estando completamente dominado por el antranilato.

4.3.10.2 Comparación ultrasonido maceración

Los dos métodos, tanto la maceración como el ultrasonido, producen extractos de la variedad satsuma casi monoaromáticos, es decir, con un perfil dominado de forma abrumadora por un solo compuesto: el antranilato. Sin embargo, hay una diferencia sutil pero interesante entre ambos. La maceración genera un extracto ligeramente más complejo, ya que los compuestos aromáticos secundarios representan el 7,08% del total, frente al 4,76% obtenido con ultrasonido. Aunque la diferencia puede parecer pequeña, es significativa porque indica que la maceración logra conservar un poco más de esos matices aromáticos adicionales provenientes de otros compuestos minoritarios. Estos componentes secundarios, aunque presentes en bajas concentraciones, pueden contribuir a enriquecer sutilmente el sabor y el aroma del producto final, aportando esa complejidad adicional que hace que el perfil sensorial no sea completamente unidimensional.

Tabla 43

Identificación compuesto responsable color satsuma por maceración

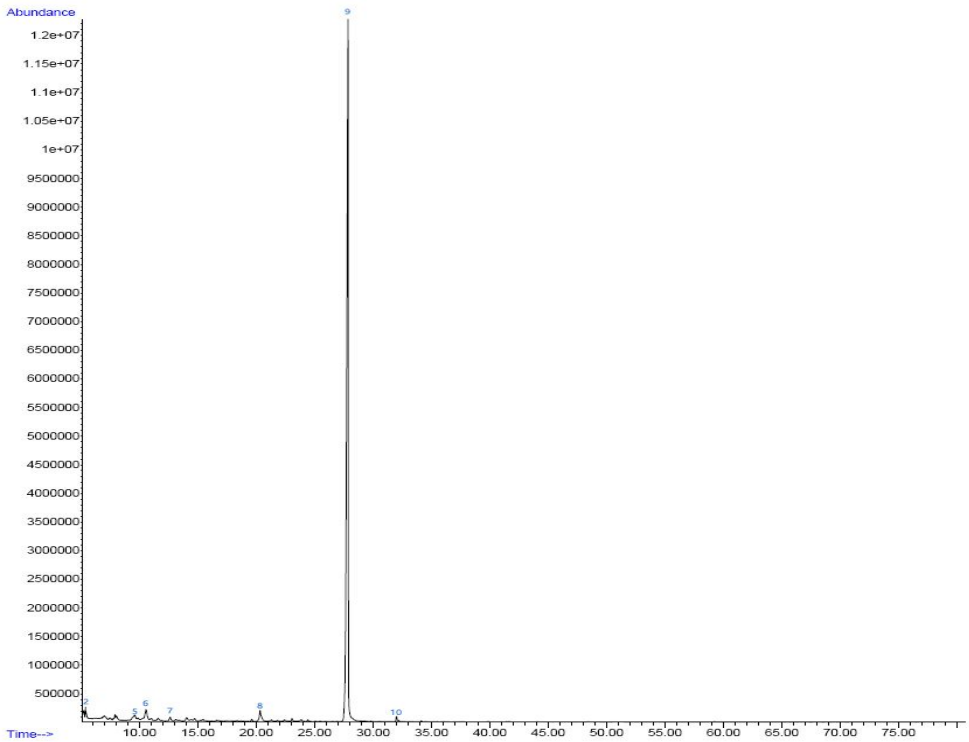
Compuesto	RT (min)	Área (%)	Color	Tipo
Methyl N-methyl-o-anthranilate	27,846	92,92	Violeta intenso	Mayoritario
4-Vinilguayacol	22,361	2,12	Ámbar	Modulador
Guaiacol 4-ethyl	20,318	1,54	Dorado	Complejidad

- **Color:** Anthranilate 92,92% violeta
- **Sabor:** Anthranilate + Vinilguayacol uva con toque especiado
- **Aroma:** Anthranilate (93%) floral dominante con matices secundarios

4.3.11 Compuestos volátiles del extracto hoja satsuma por percolación

Figura 21

Cromatograma del extracto de hoja de mandarina satsuma percolación



La Figura 21 muestra el cromatograma obtenido en una ventana de análisis de 0 a 75 minutos, con una línea base estable y muy cercana a 0, lo que evidencia condiciones cromatográficas óptimas y la ausencia de interferencias significativas provenientes de la matriz vegetal. Todos los compuestos detectados aparecen concentrados entre los 5 y 35 minutos, con señales bastante débiles al inicio. Algunos picos menores destacan en este rango: el pico 6 surge alrededor de los 11,8 minutos y el pico 8 a los 21,5 minutos, ambos corresponden a sustancias volátiles presentes en pequeñas cantidades y con tiempos de salida cortos, algo característico de monoterpenos oxigenados. Sin embargo, lo más llamativo del cromatograma es el pico 9, que aparece a los 28,3 minutos con una forma casi perfecta, simétrica y con esa curva gaussiana ideal. Este único pico representa cerca del 96% de toda el área integrada, lo cual indica que el método de extracción fue extraordinariamente eficiente y selectivo hacia un metabolito específico. Su tiempo de retención intermedio sugiere una polaridad moderada, típica de flavonoides polimetoxilados como la nobiletina o sinensitina, compuestos bioactivos exclusivos del metabolismo secundario de las plantas con pesos moleculares característicos de este tipo de moléculas.

Tabla 44

Compuestos volátiles del extracto de la hoja satsuma percolación

N°	RT	Área %	Compuesto
1	5,244	0,37	1H-Pyrrole, 2-ethyl-4-methyl-
2	5,374	0,72	Oxime-, methoxy-phenyl-_
3	7,890	0,44	o-Cymene
4	8,026	0,63	Benzene, 1-ethyl-2,3-dimethyl-
5	9,589	0,92	Aniline, N-methyl-
6	10,548	2,02	Benzenamine, N,N-dimethyl-
7	12,626	0,49	(-)-Verbenona
8	20,323	1,87	Guaiacol, 4-ethyl
9	27,848	92,16	Methyl N-methyl-o-anthranilate
10	32,004	0,38	Methyl N-methyl-o-anthranilate

El análisis identificó diez compuestos y mostró ese mismo patrón que ya hemos visto: el antranilato es el rey absoluto del extracto. El metil N-metil-o-antranilato llegó al 92,16%, un porcentaje casi idéntico al que obtuvimos con la maceración. Esto nos confirma algo muy interesante: la variedad Satsuma produce extractos con un aroma prácticamente dominado por un solo compuesto, sin importar si usamos ultrasonido, maceración o percolación. Los nueve componentes minoritarios restantes sumaron apenas el 7,84%. Entre ellos, la bencenamina N,N-dimetil fue la más abundante con 2,02%, seguida por el 4-etilguaiacol con 1,87% y la N-metilanilina con 0,92%. También aparecieron derivados del o-cimeno 1,07% en total y la verbenona 0,49%, que aportan esas notas cítricas-herbáceas y ligeramente alcanforadas que dan un toque sutil de complejidad, aunque el perfil sigue estando completamente dominado por ese aroma floral y frutal del antranilato. Lo que esto nos dice es que las hojas de Satsuma tienen una composición química muy particular y consistente.

Tabla 45

Identificación compuesto del color satsuma por percolación

Compuestos	RT (min)	Área (%)	Color	Categoría
Methyl N-methyl-o-anthranilate	27,848	92,16	Violeta	Principal
BenzenamineN,N-dimethyl	10,548	2,02	Amarillo	contaminante
Gualacol 4-ethyl	20,323	1,87	Ámbar	Complemento

- **Color:** Anthranilate 92,16% violeta
- **Sabor:** Anthranilate 92% + aminas 3% uva con amargor residual
- **Aroma:** Anthranilate dominante floral consistente con satsuma

4.4 Escala colorimétrica de la bebida alcohólica pájaro azul

La escala colorimétrica funciona del nivel 1 al nivel 5, aumentando progresivamente en intensidad y oscuridad. El nivel 1, que es muy claro, indica que hay una presencia mínima o prácticamente nula de lo que estamos midiendo. El nivel 2, un poco más oscuro, muestra que hay una cantidad baja pero ya detectable. El nivel 3, que está en el punto medio, representa un valor moderado o dentro de lo que consideramos normal. El nivel 4, con un tono más oscuro, señala que hay una concentración alta

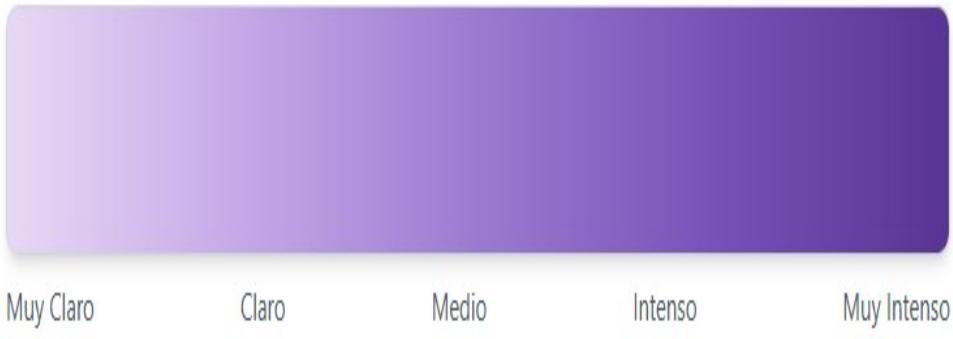
que podría requerir nuestra atención. Finalmente, el nivel 5, el más intenso de todos, refleja el máximo nivel posible. Esta forma de gradación nos permite interpretar de un vistazo qué tan alto o bajo está el parámetro que estamos evaluando, simplemente usando el color como una guía visual muy intuitiva.

4.4.1 Gradiente cromático continuo

La determinación del color es un aspecto clave cuando evaluamos productos como alimentos, bebidas o cosméticos, ya que influye directamente en cómo los percibimos con los sentidos y, en última instancia, en si los aceptamos o no como consumidores. Para facilitar esta evaluación, se utiliza un gradiente cromático continuo que funciona como una escala progresiva de intensidad, diseñada para que cualquiera pueda interpretar visualmente de forma clara y precisa el nivel de color presente. Esta escala se organiza en cinco niveles bien definidos: muy claro, que indica que prácticamente no hay color o que la concentración del pigmento es mínima claro, que refleja una presencia leve pero ya perceptible del color, medio, que corresponde a un nivel moderado y representa lo que esperaríamos como estándar o normal, intenso, que señala una concentración alta o un color claramente marcado y finalmente, muy intenso, que representa el máximo grado de coloración que podemos observar. Esta forma de clasificar el color nos ayuda a tener un criterio objetivo y visual para comparar y evaluar muestras de manera consistente.

Figura 22

Gradiente cromático continuo



4.4.2 Desarrollo del análisis sensorial de colorimetría

Tabla 46

Muestra de resultados del color de la muestra I

Muestra 1				
Nivel	**Frecuencia**	**%**	**Color**	**Determinación**
1	1	4,00		muy claro
2	2	8,00		claro
3	17	68,00		medio
4	5	20,00		intenso
5	0	0,00		muy intenso
	25	**100**		**Total**

La bebida mostró principalmente el nivel 3, ese tono azul violeta medio, que apareció en 17 observaciones, es decir, el 68% de las muestras evaluadas. Le siguió el nivel 4, con 5 observaciones que representan el 20%. En general, la muestra presentó una coloración bastante consistente, ubicándose en el rango de medio a intenso.

Tabla 47

Muestra de resultados del color de la muestra II

Muestra II				
Nivel	**frecuencia**	**%**	**Color**	**Determinación**
1	1	4,00		muy claro
2	1	4,00		claro
3	14	56,00		medio
4	7	28,00		intenso
5	2	8,00		muy intenso
	25	100		**Total**

Esta muestra mostró una distribución parecida, con predominancia del nivel 3 que apareció en 14 observaciones 56% del total, seguido del nivel 4 con 7 observaciones 28%. Lo interesante aquí es que también aparecieron 2 observaciones en el nivel 5, lo que indica que hubo algunos casos con una intensidad de color bastante más alta.

Tabla 48

Muestra de resultados del color de la muestra III

Muestra III				
Nivel	**frecuencia**	**%**	**Color**	**Denominación**
1	6	24,00		muy claro
2	14	56,00		claro
3	4	16,00		medio
4	1	4,00		intenso
5	0	0,00		muy intenso
	25	100		**Total**

Esta muestra presentó un perfil bastante diferente a las anteriores. Aquí predominó el nivel 2, ese tono azul violeta claro, que apareció en 14 observaciones 56% del total, seguido del nivel 1 con 6 observaciones 24%. Lo más notable es que esta muestra mostró una coloración significativamente más clara que las variedades criolla y cascaruda.

4.4.3 Muestra I - perfil cromático medio intenso

La evaluación colorimétrica de la muestra I, realizada por un panel de 25 jueces, reveló una distribución bastante concentrada en los niveles medios y medios-altos de la escala. El nivel 3 azul violeta medio capturó la gran mayoría de las observaciones, con 17 respuestas que representan el 68% del panel. El nivel 4 azul violeta intenso obtuvo 5 observaciones, equivalentes al 20%. Los niveles extremos tuvieron una presencia bastante marginal: el nivel 2 claro registró solo 2 observaciones 8%, el nivel 1 muy claro obtuvo apenas una observación 4%, y el nivel 5 muy intenso no recibió ninguna evaluación por parte del panel, la interpretación cromática muestra I presenta una coloración azul violeta bien definida y consolidada en el rango medio, con una ligera tendencia hacia la intensidad moderada. Esto indica que hay una concentración equilibrada de antocianinas y compuestos fenólicos, sin llegar a una saturación excesiva. Este perfil sugiere que se utilizó una dosis óptima de extracto, que proporciona ese color azul violeta característico y atractivo de la bebida.

4.4.4 Muestra II - perfil cromático medio con mayor dispersión

La muestra II mostró una distribución más variada a lo largo de la escala de color. El nivel 3 siguió siendo el predominante, con 14 observaciones 56%, aunque en menor proporción que en la muestra I, pero aun representando la mayoría. El nivel 4 tuvo mayor presencia aquí, alcanzando 7 observaciones 28%. Lo más notable es que el nivel 5 muy intenso recibió 2 observaciones 8%, siendo esta la única muestra que llegó a este extremo de intensidad de color. Los niveles más claros tuvieron una presencia mínima: tanto el nivel 2 como el nivel 1 registraron apenas una observación cada uno 4% respectivamente. La interpretación cromática, muestra II presenta una coloración notablemente más intensa y menos homogénea que la muestra I. Mientras que en la muestra I solo el 20% de las evaluaciones se ubicaron en los niveles altos 4-5, en la muestra II este porcentaje subió al 36%. Esta mayor intensidad y variabilidad sugiere que hay una concentración superior de pigmentos, o posiblemente una interacción sinérgica entre las antocianinas y las clorofilas que profundiza y enriquece esa tonalidad azul-violeta característica.

4.4.5 Muestra III - perfil cromático claro diferenciado

En la muestra III ocurrió algo totalmente distinto a lo visto en las anteriores: las evaluaciones se inclinaron fuertemente hacia los tonos más suaves de la escala. La mayor parte de los panelistas concretamente 14 de ellos, es decir, un 56% ubicaron esta muestra en el nivel 2, que corresponde a un azul violeta bastante claro. Si a esto le sumamos las 6 personas 24% que la colocaron en el nivel 1, el más tenue de todos, nos da que 8 de cada 10 evaluaciones se concentraron en esos dos niveles inferiores. Por el contrario, los tonos más intensos casi no tuvieron representación: apenas 4 personas 16% eligieron el nivel 3, solo una 4% se inclinó por el nivel 4, y nadie marcó el nivel 5. Esto apunta a que los pigmentos responsables del color están presentes en cantidades bastante reducidas. Las explicaciones más probables son dos: puede que la cantidad de extracto de hoja de mandarina que se agregó haya sido insuficiente desde el inicio, o tal vez las antocianinas esos compuestos que dan el color se deterioraron en algún momento, ya sea durante la preparación o mientras la muestra estuvo almacenada.

4.4.6 Determinación del mejor tratamiento colorimétrico

El análisis comparativo de las tres muestras permite concluir claramente que la muestra I representa el tratamiento colorimétrico óptimo para la bebida pájaro azul. Esta muestra logra el equilibrio ideal entre intensidad y homogeneidad, con el 68% de las evaluaciones concentradas en el nivel 3 azul violeta medio y un 20% en el nivel 4, proporcionando ese color característico y atractivo sin caer en excesos. A diferencia de la muestra II, que presenta demasiada variabilidad e intensidad cercana a la saturación con un 8% llegando al nivel 5 muy intenso, o de la muestra III, que resulta excesivamente pálida con 80% de evaluaciones en los niveles más claros, la muestra I ofrece una coloración visualmente atractiva, homogénea y diferenciada, perfecta para la comercialización del producto con una identidad visual clara y apetecible que captará la atención del consumidor sin resultar demasiado oscura ni demasiado tenue.

4.4.7 Compuestos químicos responsables del color

La coloración azul violeta tan característica de la bebida pájaro azul proviene principalmente de las antocianinas presentes de forma natural en los ingredientes de la bebida tradicional. A esto se suma una contribución sinérgica de las clorofilas con sus tonos verde-azulados y los carotenoides con matices amarillo-naranja que aporta el extracto de hojas de mandarina. Lo interesante es que los flavonoides presentes en el extracto interactúan con estas antocianinas mediante un proceso de pigmentación, lo que ayuda a estabilizar y profundizar esa tonalidad azul al desplazar el máximo de absorción de luz hacia longitudes de onda más largas, un fenómeno conocido como desplazamiento bato crómico. En términos simples, todos estos compuestos trabajan juntos para crear y mantener ese color azul violeta distintivo que hace tan especial a esta bebida tradicional.

4.5 COMPROBACIÓN DE HIPOTESIS

4.5.1 Hipótesis nula (H_0):

El uso de extractos obtenidos a partir de hojas de mandarina, ricos en compuestos bioactivos y colorantes naturales, no permite sustituir eficazmente los colorantes sintéticos utilizados en la elaboración del pájaro azul de una manera industria.

4.5.2 Hipótesis alterna (H_1):

El uso de extractos obtenidos a partir de hojas de mandarina, ricos en compuestos bioactivos y colorantes naturales, si permite sustituir eficazmente los colorantes sintéticos utilizados en la elaboración del pájaro azul de una manera industria.

4.5.3 Comprobación de hipótesis

Con base en los resultados experimentales, se acepta la hipótesis alterna y se rechaza la hipótesis nula. Se establece que los extractos de hojas de mandarina sí permiten sustituir eficazmente los colorantes sintéticos en la elaboración del pájaro azul. El análisis cromatográfico identificó compuestos mayoritarios responsables de las propiedades cromáticas, mientras la caracterización fisicoquímica demostró concentraciones significativas de flavonoides, clorofilas y carotenoides que aportan coloración natural. La evaluación colorimétrica sensorial confirmó que los extractos reproducen efectivamente la tonalidad azul violeta. Los resultados dejaron claro que la técnica de extracción empleada marca una diferencia considerable en las variables que medimos. En términos prácticos, esto significa que podemos tomar subproductos agroindustriales que antes no tenían uso y convertirlos en materias primas biotecnológicas con propiedades funcionales y sensoriales aprovechables a nivel industrial.

CAPÍTULO V

5.1 CONCLUSIONES Y RECOMENDASIONES

5.1.1 Conclusiones

- Los resultados de las hojas de mandarina variedad satsuma extraídas por ultrasonido, constituye el tratamiento óptimo para maximizar la obtención de flavonoides totales, alcanzando un valor alto, cinco veces superior a cualquier otra combinación evaluada, este resultado se fundamenta en el perfil metabólico particular de satsuma y en las condiciones de equilibrio termodinámico que proporciona el ultrasonido durante períodos prolongados.
- De acuerdo al análisis de la clorofila A de variedad satsuma combinada con ultrasonido maximiza la extracción, mientras que la combinación satsuma maceración optimiza la obtención de clorofila B y carotenoides, esta diferenciación demuestra que la extracción de pigmentos lipofílicos requiere alteraciones mecánicas intensas o contacto prolongado suave, evidenciando especificidad metodológica según la naturaleza química del analito objetivo.
- De acuerdo al análisis cromatográfico por GC-MS realizado, se identificó al Methyl N-methyl-o-anthranilate como el compuesto volátil absolutamente dominante en extractos de Satsuma, responsable directo de la coloración azul-violeta característica y del perfil aromático floral, el Methyl N-methyl-o-anthranilate es el responsable único y directo de tres propiedades sensoriales fundamentales de la bebida pájaro azul cuando se utiliza extracto de las hojas de mandarina variedad satsuma.
- Los resultados de la evaluación colorimétrica con el panel de 25 jueces estableció que la muestra I representa el tratamiento óptimo para la bebida pájaro azul, con 68% de observaciones en nivel 3 azul-violeta medio y 20% en nivel 4 intenso, proporcionando coloración consolidada sin saturación excesiva, este perfil cromático equilibrado, resultado de la interacción sinérgica entre antocianinas, clorofilas y flavonoides del extracto de hojas de mandarina, garantiza identidad visual diferenciada y atractiva para su producción.

5.1.2 Recomendaciones

- Utilizar el extracto de hojas de mandarina variedad Satsuma obtenido por método de ultrasonido como colorante natural en la producción industrial de la bebida pájaro azul.
- Realizar análisis de calidad y cantidad del extracto obtenido, mediante técnicas cromatográficas de mayor sensibilidad, para identificar más compuestos en el análisis y cuantificar de mejor manera la cantidad de compuestos existentes.
- Ampliar el estudio mediante la aplicación de modelos matemáticos de cinética de extracción para determinar el mejor ajuste en el rendimiento y la concentración de compuestos bioactivos en función del tiempo, optimizando así el proceso extractivo del extracto de hojas de mandarina.
- Se recomienda evaluar otras variedades de hojas de mandarina como materias primas alternativas en estudios experimentales para la obtención de extractos.

BIBLIOGRAFÍA

Alvarado, J. J., & Rutiaga, J. G. (2018). Study of kinetics in thermogravimetric processes of lignocellulosic materials. Maderas. Ciencia y tecnología, 20(2). http://dx.doi.org/10.4067/S0718-221X2018005002601

Anda, N. F., Bravo, D. M., Cedeño Narváez, A. S., Espinoza Farías, J. G., & Pazmiño Panta, N. A. (2023, junio). Yield evaluation of aqueous extracts of Basil (Ocimun Sanctum) by three extraction methods. Artículo de investigación, 11(1). https://doi.org/10.33789/talentos.11.1.198 A

Bravo, C. A. (2023). Evaluación de la calidad de bebidas alcohólicas de diferentes cultivares de musáceas en El Carmen-Manabí. [Ingenieria Agropecuaria, Uleam]. https://repositorio.uleam.edu.ec/handle/123456789/4615

Castro, P. A., & Mendoza, S. C. (2021). Evaluación de la obtención de colorante natural a partir del hollejo de uva (vitis vinifera 'cabernet sauvignon') y la cáscara de mandarina (citrus reticulata) para aplicación en la industria alimentaria. [Proyecto integral de grado para optar al título de Ingenieria Quimica., Fundación universidad de américa facultad de ingenierías programa de ingeniería química Bogotá.]. https://repositorio.uea.edu.ec/xmlui/handle/123456789/1082

Chetla, D. U., Franyutti, K. F., & Falcón Arias, V. (2023). Methanol Poisoning by Consumption of Adulterated Alcoholic Beverages. Effects on the Nervous System. A Case Report. Revista de la Facultad de Medicina (México), 66(1). https://doi.org/10.22201/fm.24484865e.2023.66.1.03

Cifuentez, E. A. (2020). Determinacion y cuantificacion de metanol y congeneréz en alcohol etílico, mediante la estanderización de una metodologia cromatográfica en la industria licorera del Cauca. [Trabajo de grado presentado como requisito parcial para optar el titulo de Químico., Universidad del Cauca facultad de ciencias naturales, exactas de la educación departamento de química.]. http://repositorio.unicauca.edu.co:8080/bitstream/handle/123456789/4263/Determinaci%C3%B3n%20y%20cuantificaci%C3%B3n%20de%20metanol%20y%20cong%C3%A9neres%20en%20alcohol%20et%C3%ADlico%2C%20mediante%20la%2

0estandarizaci%C3%B3n%20de%20una%20metodolog%C3%ADa%20cromatogr%C3%A1fica.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Diaz Diez, C. A., & Santana Rodriguez, M. O. (2023). Diversidad Botanica Identificada y reconocida en los sistemas de producción agropecuarios en el bajo cauca antioqueño (Corporacion Colombiana Agropecuaria). CRECED Bajo Cauca Antioqueño Caucasia Antioquia. https://repository.agrosavia.co/bitstream/handle/20.500.12324/12639/75612_65856.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Díaz, L., Gómez, S., Nova, E., & Marcos, A. (2022). Do we know what moderate alcohol consumption is? The particular case of beer. Nutrición Hospitalaria, 39(3). https://dx.doi.org/10.20960/nh.04303

Dottori, N., & Cosa, M. T. (2019, diciembre). Anatomy and development of fruit and seed of Solanum palinacanthum (Solanaceae). Revista mexicana de biodiversidad, 78(2). https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-34532007000200013

Escobar, J. (2023). Análisis del origen y variedades del aguardiente pájaro azul y el consumo en la ciudad de Guayaquil. [Facultad de Ingeniería Química, Universidad de Guayaquil]. http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/35909

Euni, E. (2020). Composición química y análisis de la actividad antifúngica in vitro de extractos de semillas y hojas de Aframomum meleguata y Monodora myristica frente a Sclertium rolfsii de Vigna unguiculata L. Walp. https://www.researchgate.net/scientific-contributions/Donatus-Ebere-Okwu-2009944477

Fajardo, J., & Sánchez, F. (2022). Ultrasonic-assisted extraction (uae) and its application in obtaining vegetable oils. Centro Azúcar, 49(4). http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2223-48612022000400125

Fonseca, A., Cordoví, J. M., Benítez, N., & Fernández, M. (2020, noviembre 26). Development and validation of a gas chromatographic method for the determination of menthol, methyl salicylate, thymol, and benzoic acid in antiseptic solution. Revista

Colombiana de Ciencias Químico - Farmacéuticas, 49(2). https://doi.org/10.15446/rcciquifa.v49n2.89484

Gamarra, M. Á. (2024). "Evaluación de la calidad y rendimiento de aceite esencial de eucalipto (Eucalyptus globulus) obtenido por los métodos hidrodestilación y destilación por arrastre de vapor" [Para optar el Título de Ingeniero Agroindustrial, Universidad nacional Micaela bastidas de Apurímac facultad de ingeniería.]. https://repositorio.unamba.edu.pe/handle/UNAMBA/1422

García, J. (2020). Procedimiento para la Medición de Sólidos Totales [Laboratorio de Sistemas Ambientales, Universidad Tecnológica de Panamá Centro de Investigaciones Hidráulicas e Hidrotécnicas]. https://utp.ac.pa/documentos/2011/pdf/PCUTP-CIHH-LSA-211-2006.pdf

Garcia, L. (2020). Extracción del aceite esencial de mandarina (citrus reticulata) utilizando dióxido de carbono en condición supercrítica como solvente. [Trabajo especial de grado., Universidad Central de Venezuela]. http://saber.ucv.ve/bitstream/10872/514/1/EXTRACCI%C3%93N%20DEL%20ACEITE%20ESENCIAL%20DE%20MANDARINA%20TESIS%202.pdf

Gasaly, N., & Riveros, K. (2020, abril). Fitoquímicos: Una nueva clase de prebióticos. Revista chilena de nutrición, 47(2), 82.

Gordillo, G. G., Narváez García, A., Aguilar Carrera, J. O., & Ferriol Sánchez, F. (2022). Development, production and analysis of distilled alcoholic beverages using ten types of native Ecuadorian fruits. Ciencias Técnicas y Aplicadas Artículo de Investigación, 7(6), 267-280.

Guillén, M. J. (2022). Aplicación del ultrasonido en la extracción por hidrodestilación y microondas de aceite esencial de cáscara de limón (citrus aurantifolia). [Tesis para optar el título de ingeniero en industrias alimentarias., Universidad nacional agraria la molina facultad de industrias alimentarias.]. http://45.231.83.156/bitstream/handle/20.500.12996/5444/guillen-ca%c3%b1avi-milagros-janeth.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Hernández, E. (2021). Botanical and ethnobotanical characterization of agroforestry systems of the Choloque, Lambayeque region, Perú. [Trabajo Fin de Grado,

Universidad Zaragoza]. https://zaguan.unizar.es/record/111743/files/TAZ-TFG-2021-4851.pdf

Hoyos, J. L., Urbano, F. H., Villada Castillo, H. S., Mosquera, S. A., & Navia, D. P. (2019). Determinaron of fermentatives parameters to formulation and procurement of wine orange (citrus sinensis). Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, 8(1). http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1692-35612010000100004

Iglesias, M. A. (2021, noviembre). Caracterización fisicoquímica y microbiológica de una bebida fermentada de (annona cherimola) dulce y seca. Fabicijb, XXIV(24), 2-12.

Kotrba, M., & Schilling, L. H. (2020). Medición del pH en etanol, agua destilada y sus mezclas: Sobre la evaluación del pH en colecciones húmedas de historia natural basadas en etanol y los aspectos perjudiciales de la dilución con agua destilada. Foro de Colección, 31(1-2), 84-101.

Lachenmeier, D. W., & Sohnius, E. M. (2019). El papel del acetaldehído fuera del metabolismo del etanol en la carcinogenicidad de las bebidas alcohólicas: Evidencia de un amplio estudio químico. Toxicología alimentaria y química, 46(8), 2903-2911.

Lamas, Y., Armas, A. C., Albernas, Y., & González, E. (2023, agosto). Preliminary analisys of alcoholic fermentation using filter juice, molasses and syrup mixture. Centro Azúcar, 50(3). http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2223-48612023000300035

Lasprilla, D. M. (2020, marzo 2). Mandarina (Citrus reticulata Blanco). Mesa Editorial Corredor Tecnológico Agroindustrial CTA-2. https://repository.agrosavia.co/bitstream/handle/20.500.12324/36828/Ver_documento_36828.pdf?sequence=4

Lomulo, P. (2022). Estudios centrados en la técnica cromatografía de gases-olfatometría. Avances en la metodología e interpretación de los resultados sensoriales [Trabajo de fin de grado, Universidad Zaragoza]. https://zaguan.unizar.es/record/125114/files/TAZ-TFG-2022-3404.pdf

López, L. E., Zumalacárregui de Cárdenas, L., & Pérez Ones, O. (2020, agosto). Análisis de componentes principales aplicado a la fermentación alcohólica. Revista Científica de la UCSA, 6(2). https://doi.org/10.18004/ucsa/2409-8752/2019.006.02.011-019

Manals, E., Penedo, M., & Giralt, G. (2020). Thermogravimetric and thermal analysis differential different vegetable biomasses. Tecnología Química, 31(2). http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2224-61852011000200005

Martínez, E., Trejo Morales, K. Y., & PérezAtilano, Y. (2021). pH variability in common drinks consumed. Why should we avoid consuming them to take care of our health? UNO Sapiens Boletín Científico de la Escuela Preparatoria No. 1, 4(7), 24-27.

Medina, R., Segovia, J. G., & Flores, M. G. (2021). Dynamic behavior of thermally coupled reactive distillation sequences for different operating conditions. Revista mexicana de ingeniería química, 10(1). https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1665-27382011000100015

Moreno, M. J., Rodríguez, G., Aponte, H., & Camacho, B. (2019, julio). Cambios fisicoquímicos en dos aguardientes dulces aromatizados con cáscaras de mandarina y naranja. Revista de la Facultad de Agronomía, 21(3). https://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-78182004000300008

Ojito, K., Herrera, Y., Vega, N., & Portal, O. (2012). Actividad antioxidante in vitro y toxicidad de extractos hidroalcohólicos de hojas de Citrus spp. (Rutaceae). Revista Cubana de Plantas Medicinales, 17(4), 368-379.

Ormaza Manotoa, R. A. (2019). Efecto de la hoja de mandarina (citrus reticulada l.) proveniente de tres pisos altitudinales en el redestilado del aguardiente de caña de azúcar. [Título de la Unidad Integradora Curricular, Universidad Técnica Estatal de Quevedo facultad de ciencias pecuarias carrera de ingeniería en alimentos]. https://repositorio.uteq.edu.ec/server/api/core/bitstreams/c44d25c7-4683-4c68-9965-3905c43e898e/content

Penelo, L. (2020, septiembre 21). Mandarina: Propiedades, beneficios y valor nutricional. La Vanguardia. https://www.lavanguardia.com/comer/frutas/20180921/451893238317/mandarina-beneficios-propiedades-valor-nutricional.html

Peréz, L., & Méndez, A. (2010). Determinación de la viscosidad de fluidos newtonianos y no newtonianos (una revisión del viscosímetro de Couette). Dialnet Métricas, 4(1). https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=3695964

Pérez, M., Enio, S., León Pacheco, R. I., o Rodríguez Yzquierdo, G. A., & Villagrán Munar, E. A. (2022). Injertos de naranja (Citrus sinensis) y mandarina (Citrus reticulata) en fase de producción. Agronomía Mesoamericana, 31(1). https://revistas.ucr.ac.cr/index.php/agromeso/index

Quintana, L. F., Gelvez Pinilla, M., & Mendoza Ludy, J. (2019). Standardization of the fermentation phase "phase 1" in obtaining a liquor mandarin using yeast "Saccharomyces cerevisiae". Revista Especializada en Ingeniería, 8, 12.

Rivera García, K. M. (2018). "La identidad del licor artesanal pájaro azul y su influencia en la decisión de compra entre las personas de 18 a 25 años de edad de la ciudad de Guaranda, provincia Bolívar, año 2015" [Proyecto de Investigación previo a la obtención del Título de Ingeniera en Diseño Gráfico Publicitario, Universidad técnica de Ambato facultad de diseño, arquitectura y artes carrera de diseño gráfico publicitario]. https://repositorio.uta.edu.ec/server/api/core/bitstreams/fe3ca78d-a8e5-461a-bc65-81530e89dc34/content

Rivera, M. T., Huerta, R., Herrera, M. G., & Herrera, V. (2022, junio). Mashing and fermentation conditions that increase ethanol content in fermented wort for single malt whisky. Biotecnia, 24(1). https://doi.org/10.18633/biotecnia.v24i1.1576

Ruiz, M., & Bertoncini, F. (2020). Comprehensive Two-Dimensional Gas Chromatography Application in Sulphur and Nitrogen Speciation of Gasoline. Información tecnológica, 21(1), 43-50.

Ruíz, N., Carvajal, Y., & Escobar, J. (2019). A review of physical-chemical parameters as water quality and contamination indicators. Ingeniería e Investigación, 27(3), 172-181.

Santamaria, P., Lopez, R., Gutiérrez, A. R., & GarcIa Escudero, E. (2022). Influencia de la temperatura en la fermentación alcoholica. Zubia Monografia, 7.

Saynes, V., & Ramírez, E. (2019). The use of gas chromatography in greenhouse gas emission research in the livestock sector. Agroproductividad, 11(2). file:///C:/Users/LENOVO/Downloads/iluna,+Journal+manager,+con-13.pdf

Siebert, K. J. (2020). Formación de turbidez en las bebidas. Researchgate. https://www.researchgate.net/publication/229115970_Haze_formation_in_beverages

Tadeo, F. R., Moya, J. L., & Iglesias, D. J. (2023). Sèrie Divulgació Tècnica. En Histología y Citología de Cítricos (Vols. 1054-2003). Generalitat Valencia Consellería de Agricultura, Pesca y Alimentación. https://frutales.wordpress.com/wp-content/uploads/2011/01/cit-06-hostiologia-y-citologia-de-los-citricos.pdf

Vanegas, D. (2020, diciembre). Case study of ethanol-water distillation in continuous and discontinuous operation and its simulation with cubic equations of state and activity models. TecnoLógicas, 23(49). https://doi.org/10.22430/22565337.1638

Vicuña, A. G. (2019). Elaboración de una bebida artesanal de baja graduación alcohólica a base de la miel de abeja (Apis Mellífera) y fruta capulí (Prunus Salicifolia) [Licenciado/a en Gestión Gastronómica; Licenciado/a en Gastrononía, Universidad Superior Politecinica de Chimborazo]. http://dspace.espoch.edu.ec/handle/123456789/11828

ANEXOS

Anexo 1

Mapa de ubicación de la investigación



Anexo 2

Lugar de la investigación

Análisis de la materia prima



INFORME Nº 255-2025

DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA	
Solicitante	Zoila Mariela Chimborazo Punina - Stalin Luis Duman Yupa
Muestra	Hojas frescas de mandarina criolla, cascaruda y satsuma.
Código	INV-788; INV-789; INV-790
Estado de la muestra	Solido fresco
Envase de recepción	Frascos de plásticos
Análisis requerido(s)	Porcentaje total de Carbono, nitrógeno, hidrógeno, azufre, relación C/N y C/H
Fecha de recepción	14/08/2025
Fecha de análisis	27/08/2025
Fecha de informe	04/09/2025
Técnico (s) asignado	MIPV

RESULTADOS OBTENIDOS

Código	Muestra	Parámetros	Unidad	Método	Resultado	Promedio
INV-788	Hojas frescas de mandarina variedad Criolla	Carbono	%	UNE-EN ISO 16948	24,39	24,44
					24,61	
					24,33	
		Nitrógeno			1,25	1,21
					1,13	
					1,25	
		Hidrógeno			6,12	6,36
					6,48	
					6,48	
		Azufre			0,03	0,03
					0,02	
					0,03	
		Relación C/N			19,56	19,82
					21,82	
					18,08	
		Relación C/H			3,98	3,75
					3,79	
					3,49	
INV-789	Hojas frescas de mandarina variedad Cascaruda	Carbono	%	UNE-EN ISO 16948	30,50	30,85
					30,78	
					31,26	
		Nitrógeno			1,97	2,07
					2,16	
					2,07	
		Hidrógeno			4,26	4,35
					4,24	
					4,55	

		Azufre			0,10	0,10
					0,10	
					0,11	
		Relación C/N			15,49	14,95
					14,27	
					15,10	
		Relación C/H			7,15	7,14
					7,25	
					7,01	
INV-790	Hojas frescas de mandarina variedad Satsuma	Carbono	%	UNE-EN ISO 16948	20,72	21,40
					21,30	
					22,18	
		Nitrógeno			1,39	1,43
					1,44	
					1,46	
		Hidrógeno			5,93	5,83
					5,86	
					5,69	
		Azufre			0,03	0,03
					0,04	
					0,03	
		Relación C/N			14,93	14,95
					14,75	
					15,16	
		Relación C/H			3,49	3,67
					3,62	
					3,89	

Datos	Elaborado por:	Revisado por:
Firma		
Nombre y Apellido	Blg. Manuela Isabel Paredes	Ing. Fevian Bayas Morejón, PhD
Cargo	TÉCNICO DOCENTE	DIRECTOR DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN

Determinación de clorofila A de los extractos de las hojas de mandarina

UEB UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLÍVAR — DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN	LABORATORIOS DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN Laguacoto II, Km 1 1/2, vía a San Simón, Cantón Guaranda, Provincia Bolívar, Ecuador	Código	IR-CLF
		Versión	1
	INFORME DE RESULTADOS	Año	2025
		Pagina	Página 1 de 3

INFORME DE ENSAYOS Nº 264

DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA	
Solicitante	Mariela Chimborazo - Stalin Duman
Muestras	Extracto etanólico de hoja de mandarina
Código asignado UEB	INV 979, INV 987, INV 796, INV 797, INV 980, INV 988, INV 973, INV 974, INV 975, INV 976, INV 977, INV 978, INV 981, INV 982, INV 983, INV 984, INV 985, INV 986.
Estado de la muestra	Liquida
Envase de recepción	Botella de vidrio ámbar con aprox. 100 mL de contenido de muestra
Análisis requerido(s)	Clorofila a
Fecha de recepción	19 de agosto al 18 de septiembre de 2025
Fecha de análisis	21 de agosto al 18 de septiembre de 2025
Fecha de informe	23 de septiembre de 2025
Técnico (s) asignado	MFQM

RESULTADOS OBTENIDOS

Código de laboratorio	Muestra	Análisis	Técnica de análisis	Unidad	Resultado
INV 979	Extracto etanólico de hojas de mandarina variedad Criolla obtenido por el método de ultrasonido R1	Clorofila a	Espectrofotometría	µg /mL muestra	8,43
INV 987	Extracto etanólico de hojas de mandarina variedad Criolla obtenido por el método de ultrasonido R2				8,49
INV 796	Extracto etanólico de hojas de mandarina variedad Cascaruda obtenido por el método de ultrasonido R1				4,05
INV 797	Extracto etanólico de hojas de mandarina variedad Cascaruda obtenido por el método de ultrasonido R2				5,22
INV 980	Extracto etanólico de hojas de mandarina variedad Satsuma obtenido por el método de ultrasonido R1				8,56
INV 988	Extracto etanólico de hojas de mandarina variedad Satsuma obtenido por el método de ultrasonido R2				8,49

Código de laboratorio	Muestra	Análisis	Técnica de análisis	Unidad	Resultado
INV 973	Extracto etanólico de hojas de mandarina variedad Criolla obtenido por el método de maceración R1	Clorofila a	Espectrofotometría	µg /mL muestra	3,08
INV 974	Extracto etanólico de hojas de mandarina variedad Criolla obtenido por el método de maceración R2				4,59
INV 975	Extracto etanólico de hojas de mandarina variedad Cascaruda obtenido por el método de maceración R1				4,95
INV 976	Extracto etanólico de hojas de mandarina variedad Cascaruda obtenido por el método de maceración R2				6,43
INV 977	Extracto etanólico de hojas de mandarina variedad Satsuma obtenido por el método de maceración R1				9,81
INV 978	Extracto etanólico de hojas de mandarina variedad Satsuma obtenido por el método de maceración R2				8,39
INV 981	Extracto etanólico de hojas de mandarina variedad Criolla obtenido por el método de percolación R1				1,32
INV 982	Extracto etanólico de hojas de mandarina variedad Criolla obtenido por el método de percolación R2				1,96
INV 983	Extracto etanólico de hojas de mandarina variedad Cascaruda obtenido por el método de percolación R1				1,50
INV 984	Extracto etanólico de hojas de mandarina variedad Cascaruda obtenido por el método de percolación R2				1,83

Código de laboratorio	Muestra	Análisis	Técnica de análisis	Unidad	Resultado
INV 985	Extracto etanólico de hojas de mandarina variedad Satsuma obtenido por el método de percolación R1	Clorofila a	Espectrofotometría	µg /mL muestra	0,69
INV 986	Extracto etanólico de hojas de mandarina variedad Satsuma obtenido por el método de percolación R2				0,58

Los resultados de los análisis corresponden a 3 determinaciones por muestra.

Ing. María Fernanda Quinteros
TÉCNICA DE LABORATORIO DIVIUEB
ELABORADO

Ing. Ravian Bayas PhD.
DIRECTOR DIVIUEB
REVISADO

Determinación de clorofila B de los extractos de las hojas de mandarina

UEB UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLIVAR — DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN	LABORATORIOS DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN Laguacoto II, Km 1 1/2, vía a San Simón, Cantón Guaranda, Provincia Bolívar, Ecuador	Código	IR-CLF
		Versión	1
	INFORME DE RESULTADOS	Año	2025
		Pagina	Página 1 de 3

INFORME DE ENSAYOS Nº 265

DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA	
Solicitante	Mariela Chimborazo - Stalin Duman
Muestras	Extracto etanólico de hoja de mandarina
Código asignado UEB	INV 979, INV 987, INV 796, INV 797, INV 980, INV 988, INV 973, INV 974, INV 975, INV 976, INV 977, INV 978, INV 981, INV 982, INV 983, INV 984, INV 985, INV 986.
Estado de la muestra	Líquida
Envase de recepción	Botella de vidrio ámbar con aprox. 100 mL de contenido de muestra
Análisis requerido(s)	Clorofila b
Fecha de recepción	19 de agosto al 18 de septiembre de 2025
Fecha de análisis	21 de agosto al 18 de septiembre de 2025
Fecha de informe	23 de septiembre de 2025
Técnico (s) asignado	MFQM

RESULTADOS OBTENIDOS

Código de laboratorio	Muestra	Análisis	Técnica de análisis	Unidad	Resultado
INV 979	Extracto etanólico de hojas de mandarina variedad Criolla obtenido por el método de ultrasonido R1	Clorofila b	Espectrofotometría	µg /mL muestra	6,71
INV 987	Extracto etanólico de hojas de mandarina variedad Criolla obtenido por el método de ultrasonido R2				8,86
INV 796	Extracto etanólico de hojas de mandarina variedad Cascaruda obtenido por el método de ultrasonido R1				5,00
INV 797	Extracto etanólico de hojas de mandarina variedad Cascaruda obtenido por el método de ultrasonido R2				6,78
INV 980	Extracto etanólico de hojas de mandarina variedad Satsuma obtenido por el método de ultrasonido R1				7,72
INV 988	Extracto etanólico de hojas de mandarina variedad Satsuma obtenido por el método de ultrasonido R2				8,86

Código de laboratorio	Muestra	Análisis	Técnica de análisis	Unidad	Resultado
INV 973	Extracto etanólico de hojas de mandarina variedad Criolla obtenido por el método de maceración R1	Clorofila b	Espectrofotometría	µg /mL muestra	3,41
INV 974	Extracto etanólico de hojas de mandarina variedad Criolla obtenido por el método de maceración R2				5,40
INV 975	Extracto etanólico de hojas de mandarina variedad Cascaruda obtenido por el método de maceración R1				5,73
INV 976	Extracto etanólico de hojas de mandarina variedad Cascaruda obtenido por el método de maceración R2				7,56
INV 977	Extracto etanólico de hojas de mandarina variedad Satsuma obtenido por el método de maceración R1				13,95
INV 978	Extracto etanólico de hojas de mandarina variedad Satsuma obtenido por el método de maceración R2				12,68
INV 981	Extracto etanólico de hojas de mandarina variedad Criolla obtenido por el método de percolación R1				2,23
INV 982	Extracto etanólico de hojas de mandarina variedad Criolla obtenido por el método de percolación R2				2,94
INV 983	Extracto etanólico de hojas de mandarina variedad Cascaruda obtenido por el método de percolación R1				2,06
INV 984	Extracto etanólico de hojas de mandarina variedad Cascaruda obtenido por el método de percolación R2				2,65

Código de laboratorio	Muestra	Análisis	Técnica de análisis	Unidad	Resultado
INV 985	Extracto etanólico de hojas de mandarina variedad Satsuma obtenido por el método de percolación R1	Clorofila b	Espectrofotometría	µg /mL muestra	1,22
INV 986	Extracto etanólico de hojas de mandarina variedad Satsuma obtenido por el método de percolación R2				1,77

Los resultados de los análisis corresponden a 3 determinaciones por muestra

Ing. Maria Fernanda Quinteros
TÉCNICA DE LABORATORIO DIVIUEB
ELABORADO

Ing. Favian Bayas PhD
DIRECTOR DIVIUEB
REVISADO

Determinación de Carotenoides totales de los extractos de las hojas de mandarina

UEB UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLÍVAR — DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN	LABORATORIOS DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN Laguacoto II, Km 1 1/2 vía a San Simón, Cantón Guaranda, Provincia Bolívar, Ecuador	Código	IR-CT
		Versión	1
	INFORME DE RESULTADOS	Año	2025
		Pagina	Página 1 de 3

INFORME DE ENSAYOS Nº 266

DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA	
Solicitante	Mariela Chimborazo - Stalin Duman
Muestras	Extracto etanólico de hoja de mandarina
Código asignado UEB	INV 979, INV 987, INV 796, INV 797, INV 980, INV 988, INV 973, INV 974, INV 975, INV 976, INV 977, INV 978, INV 981, INV 982, INV 983, INV 984, INV 985, INV 986.
Estado de la muestra	Liquida
Envase de recepción	Botella de vidrio ámbar con aprox. 100 mL de contenido de muestra
Análisis requerido(s)	Carotenoides totales
Fecha de recepción	19 de agosto al 18 de septiembre de 2025
Fecha de análisis	21 de agosto al 18 de septiembre de 2025
Fecha de informe	23 de septiembre de 2025
Técnico (s) asignado	MFQM

RESULTADOS OBTENIDOS

Código de laboratorio	Muestra	Análisis	Técnica de análisis	Unidad	Resultado
INV 979	Extracto etanólico de hojas de mandarina variedad Criolla obtenido por el método de ultrasonido R1	Carotenoides totales	Espectrofotometría	µg /mL muestra	4,67
INV 987	Extracto etanólico de hojas de mandarina variedad Criolla obtenido por el método de ultrasonido R2				4,78
INV 796	Extracto etanólico de hojas de mandarina variedad Cascaruda obtenido por el método de ultrasonido R1				2,79
INV 797	Extracto etanólico de hojas de mandarina variedad Cascaruda obtenido por el método de ultrasonido R2				2,88
INV 980	Extracto etanólico de hojas de mandarina variedad Satsuma obtenido por el método de ultrasonido R1				4,38
INV 988	Extracto etanólico de hojas de mandarina variedad Satsuma obtenido por el método de ultrasonido R2				4,78

Código de laboratorio	Muestra	Análisis	Técnica de análisis	Unidad	Resultado
INV 973	Extracto etanólico de hojas de mandarina variedad Criolla obtenido por el método de maceración R1	Carotenoides totales	Espectrofotometría	µg /mL muestra	3,82
INV 974	Extracto etanólico de hojas de mandarina variedad Criolla obtenido por el método de maceración R2				4,02
INV 975	Extracto etanólico de hojas de mandarina variedad Cascaruda obtenido por el método de maceración R1				5,68
INV 976	Extracto etanólico de hojas de mandarina variedad Cascaruda obtenido por el método de maceración R2				6,57
INV 977	Extracto etanólico de hojas de mandarina variedad Satsuma obtenido por el método de maceración R1				7,32
INV 978	Extracto etanólico de hojas de mandarina variedad Satsuma obtenido por el método de maceración R2				5,93
INV 981	Extracto etanólico de hojas de mandarina variedad Criolla obtenido por el método de percolación R1				1,26
INV 982	Extracto etanólico de hojas de mandarina variedad Criolla obtenido por el método de percolación R2				1,36
INV 983	Extracto etanólico de hojas de mandarina variedad Cascaruda obtenido por el método de percolación R1				1,56
INV 984	Extracto etanólico de hojas de mandarina variedad Cascaruda obtenido por el método de percolación R2				2,38

Código de laboratorio	Muestra	Análisis	Técnica de análisis	Unidad	Resultado
INV 985	Extracto etanólico de hojas de mandarina variedad Satsuma obtenido por el método de percolación R1	Carotenoides totales	Espectrofotometría	µg /mL muestra	0,99
INV 986	Extracto etanólico de hojas de mandarina variedad Satsuma obtenido por el método de percolación R2				0,85

Los resultados de los análisis corresponden a 3 determinaciones por muestra.

Ing. María Fernanda Quinteros
TÉCNICA DE LABORATORIO DIVIUEB
ELABORADO

Ing. Favian Bayas, PhD.
DIRECTOR DIVIUEB
REVISADO

Determinación de flavonoides totales del extracto de las hojas de mandarina

UEB UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLÍVAR — DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN	LABORATORIOS DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN Laguacoto II. Km 1 1/2, vía a San Simón, Cantón Guaranda, Provincia Bolívar, Ecuador	Código	IR-FT
		Versión	1
	INFORME DE RESULTADOS	Año	2025
		Pagina	Página 1 de 3

INFORME DE ENSAYOS Nº 268

DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA	
Solicitante	Mariela Chimborazo - Stalin Duman
Muestras	Extracto etanólico de hoja de mandarina
Código asignado UEB	INV 979, INV 987, INV 796, INV 797, INV 980, INV 988, INV 973, INV 974, INV 975, INV 976, INV 977, INV 978, INV 981, INV 982, INV 983, INV 984, INV 985, INV 986.
Estado de la muestra	Liquida
Envase de recepción	Botella de vidrio ámbar con aprox. 100 mL de contenido de muestra
Análisis requerido(s)	Flavonoides totales
Fecha de recepción	19 de agosto al 18 de septiembre de 2025
Fecha de análisis	22 de septiembre de 2025
Fecha de informe	25 de septiembre de 2025
Técnico (s) asignado	MFQM

RESULTADOS OBTENIDOS

Código de laboratorio	Muestra	Análisis	Técnica de análisis	Unidad	Resultado
INV 979	Extracto etanólico de hojas de mandarina variedad Criolla obtenido por el método de ultrasonido R1	Flavonoides totales	Espectrofotometria	mg Eq QE/L muestra	86,04
INV 987	Extracto etanólico de hojas de mandarina variedad Criolla obtenido por el método de ultrasonido R2				92,80
INV 796	Extracto etanólico de hojas de mandarina variedad Cascaruda obtenido por el método de ultrasonido R1				117,83
INV 797	Extracto etanólico de hojas de mandarina variedad Cascaruda obtenido por el método de ultrasonido R2				124,59
INV 980	Extracto etanólico de hojas de mandarina variedad Satsuma obtenido por el método de ultrasonido R1				58,23
INV 988	Extracto etanólico de hojas de mandarina variedad Satsuma obtenido por el método de ultrasonido R2				57,04

Código de laboratorio	Muestra	Análisis	Técnica de análisis	Unidad	Resultado
INV 973	Extracto etanólico de hojas de mandarina variedad Criolla obtenido por el método de maceración R1	Flavonoides totales	Espectrofotometría	mg Eq QE/L muestra	237,13
INV 974	Extracto etanólico de hojas de mandarina variedad Criolla obtenido por el método de maceración R2				221,40
INV 975	Extracto etanólico de hojas de mandarina variedad Cascaruda obtenido por el método de maceración R1				531,61
INV 976	Extracto etanólico de hojas de mandarina variedad Cascaruda obtenido por el método de maceración R2				519,93
INV 977	Extracto etanólico de hojas de mandarina variedad Satsuma obtenido por el método de maceración R1				150,59
INV 978	Extracto etanólico de hojas de mandarina variedad Satsuma obtenido por el método de maceración R2				146,29
INV 981	Extracto etanólico de hojas de mandarina variedad Criolla obtenido por el método de percolación R1				63,55
INV 982	Extracto etanólico de hojas de mandarina variedad Criolla obtenido por el método de percolación R2				67,36
INV 983	Extracto etanólico de hojas de mandarina variedad Cascaruda obtenido por el método de percolación R1				117,43
INV 984	Extracto etanólico de hojas de mandarina variedad Cascaruda obtenido por el método de percolación R2				108,69

Código de laboratorio	Muestra	Análisis	Técnica de análisis	Unidad	Resultado
INV 985	Extracto etanólico de hojas de mandarina variedad Satsuma obtenido por el método de percolación R1	Flavonoides totales	Espectrofotometría	mg Eq QE/L muestra	38,51
INV 986	Extracto etanólico de hojas de mandarina variedad Satsuma obtenido por el método de percolación R2				37,80

Los resultados de los análisis corresponden a 3 determinaciones por muestra.

Ing. Maria Fernanda Quinteros
TÉCNICA DE LABORATORIO DIVIUEB
ELABORADO

Ing. Favian Bayas PhD.
DIRECTOR DIVIUEB
REVISADO

Análisis cromatográficos del extracto por diferentes métodos de extracción

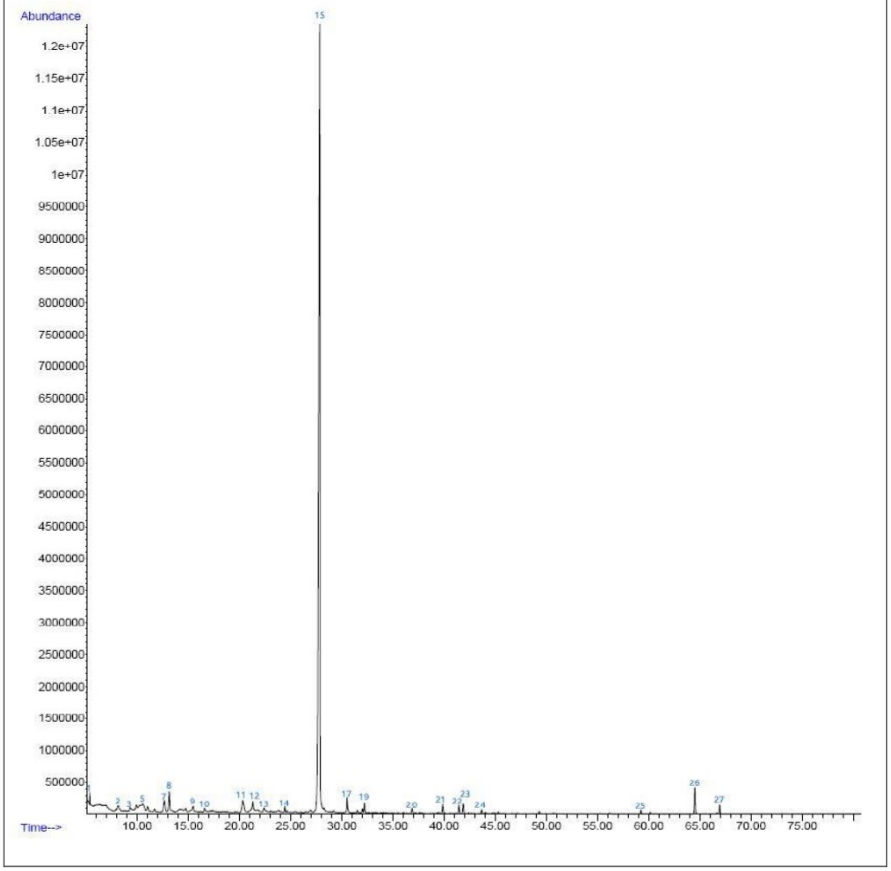
Criolla por ultrasonido

UEB UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLÍVAR | DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN	**LABORATORIOS DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN** Laguacoto II, Km 1 1/2, vía a San Simón, Cantón Guaranda, Provincia Bolívar, Ecuador.	**Código**	**FPG12-01**
		Versión	**1**
	INFORME DE RESULTADOS	**Año**	**2025**
		Pagina	**Página 1 de** 3

INFORME DE ENSAYOS Nº350-2025

Descripción de la muestra	
Solicitantes	Zoila Mariela Chimborazo Punina – Stalin Luis Duman Yupa
Muestra	Extracto etanolico de hojas de mandarina variedad Criolla (*Citrus reticulata*) obtenido por el método de ultrasonido
Código asignado UEB	INV 1286
Estado de la muestra	Liquido
Envase de recepción	Frasco de vidrio color ámbar con 30 mL aprox de muestra
Análisis requerido(s)	Identificación de compuestos volátiles por GC-MS
Fecha de recepción	05 de septiembre de 2025
Fecha de análisis	08 de septiembre al 24 de octubre de 2025
Fecha de informe	28 de octubre de 2025
Técnico asignado	ECCR

RESULTADOS OBTENIDOS



EQUIPO	GC AGILENT TECHNOLOGIES 7890 B
DETECTOR	AGILENT TECHNOLOGIES 5977A MSD
COLUMNA	Columna HP-5MS (30m x 0.250mm x 0.25µm)
MÉTODO CROMATOGRÁFICO	**Temperatura del inyector:** 250°C; **Modo de inyección:** Splitless. **Programa térmico:** Temperatura del horno 60°C a 80°C con una rampa de temperatura de 3°C/min durante 1 min; posteriormente se incrementó de 80°C a 220°C a razón de 2°C /min durante 3 min. **Tiempo total de corrida**: 80.667 minutos; **Temperatura del detector:** 250°C

Nº	Compuesto	Tiempo de retención (min)	Área (%)
1	Oxime-, methoxy-phenyl-_	5,383	0,24
2	o-Cymene	8,166	0,80
3	2-Pyrrolidinone, 1-methyl-	9,293	0,59
4	E,Z-3-Ethylidenecyclohexene	9,939	0,59
5	o-Guaiacol	10,500	2,35
6		11,009	0,50
7	(-)-Verbenona	12,661	1,41
8	Camphor	13,141	1,54
9	L-α-terpineol	15,468	0,77
10	1,4:3,6-Dianhidro-α-D-glucopiranosa	16,573	0,31
11	Guaiacol, 4-ethyl	20,328	1,80
12	Thymol	21,301	1,15
13	4-Vinilguayacol;	22,393	0,34
14	1,1,6-Trimethyl-1,2-dihydronaphthalene	24,431	0,37
15	Methyl N-methyl-o-anthranilate	27,838	80,00
16	Methyl N-methyl-o-anthranilate	28,265	0,32
17	(Z)-Jasmone	30,519	1,31
18	Benzoic acid, 2-(methylamino)-, ethyl ester	32,006	0,29
19	α-Curcumene	32,206	0,70
20	1-(3-Methylbutyl)-2,3,5-trimethylb enzene	36,858	0,39
21	2,3-Naphthalenedione, 1,4-dihydro- 1,1,4,4-tetramethyl-	39,862	0,59
22	(R)-2-Methyl-5-(6-methylhept-5-en-2-yl)phenol	41,434	0,59
23	2(1H)Naphthalenone, 3,5,6,7,8,8a-hexahydro-4,8a-dimethyl-6-(1-methyl ethenyl)-	41,856	0,73

24	Isopatchoulenone	43,660	0,28
25	Palmitic acid, ethyl ester	59,228	0,23
26	Phytol	64,482	0,23
27	Linolenic acid, methyl ester	66,920	0,54

Los compuestos fueron identificados con la Librería NIST14.L.

Firmado electrónicamente por: ISIDRO FAVIAN BAYAS MOREJON
Validar documento con firmaEC

Ing. Erika Cortés Rojas MSc.
Técnica de Laboratorio DIVIUEB
ELABORADO

Ing. Favian Bayas Morejón PhD.
Director DIVIUEB
REVISADO

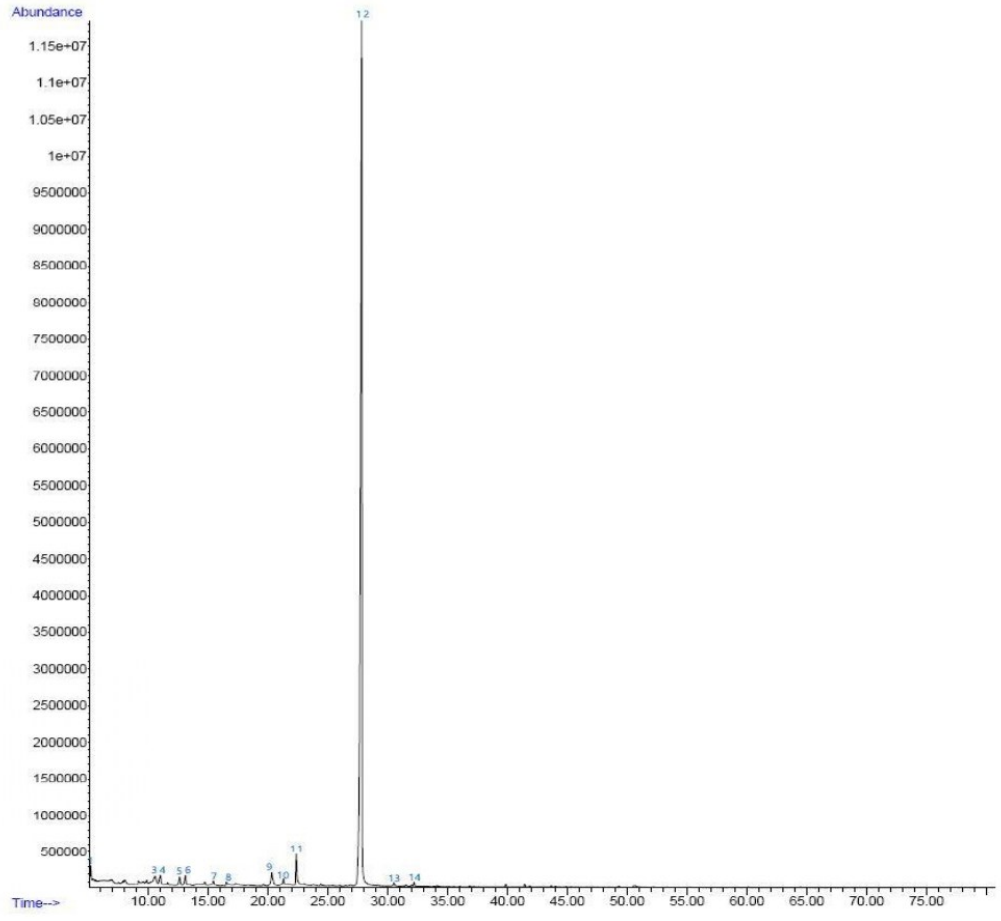
Criolla maceración

UEB UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLIVAR | DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN	**LABORATORIOS DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN** Laguacoto II, Km 1 1/2, vía a San Simón, Cantón Guaranda, Provincia Bolívar, Ecuador.	**Código**	**FPG12-01**
		Versión	**1**
	INFORME DE RESULTADOS	**Año**	**2025**
		Pagina	**Página 1 de** 2

INFORME DE ENSAYOS Nº351-2025

Descripción de la muestra	
Solicitantes	Zoila Mariela Chimborazo Punina – Stalin Luis Duman Yupa
Muestra	Extracto etanólico de hojas de mandarina variedad Criolla (*Citrus reticulata*) obtenido por el método de maceración
Código asignado UEB	INV 1287
Estado de la muestra	Liquido
Envase de recepción	Frasco de vidrio color ámbar con 30 mL aprox de muestra
Análisis requerido(s)	Identificación de compuestos volátiles por GC-MS
Fecha de recepción	05 de septiembre de 2025
Fecha de análisis	08 de septiembre al 24 de octubre de 2025
Fecha de informe	28 de octubre de 2025
Técnico asignado	ECCR

RESULTADOS OBTENIDOS



EQUIPO	GC AGILENT TECHNOLOGIES 7890 B
DETECTOR	AGILENT TECHNOLOGIES 5977A MSD
COLUMNA	Columna HP-5MS (30m x 0.250mm x 0.25µm)
MÉTODO CROMATOGRÁFICO	**Temperatura del inyector:** 250°C; **Modo de inyección:** Splitless. **Programa térmico:** Temperatura del horno 60°C a 80°C con una rampa de temperatura de 3°C/min durante 1 min; posteriormente se incrementó de 80°C a 220°C a razón de 2°C /min durante 3 min. **Tiempo total de corrida**: 80.667 minutos; **Temperatura del detector:** 250°C

Nº	Compuesto	Tiempo de retención (min)	Área (%)
1	Oxime-, methoxy-phenyl-_	5,207	0,38
2	2-Pyrrolidinone, 1-methyl-	9,178	0,11
3	Phenol, 2-methoxy-	10,556	1,65
4	Linalool	11,023	1,01
5	Bicyclo[3.1.1]hept-3-en-2-one, 4,6,6-trimethyl-, (1S)-	12, 625	0,92
6	Camphor	13,091	0,97
7	L-.alpha.-Terpineol	15,449	0,71
8	1,4:3,6-Dianhydro-.alpha.-d-glucopyranose	16,524	0,30
9	Phenol, 4-ethyl-2-methoxy-	20,330	1,95
10	Thymol	21,289	0,61
11	2-Methoxy-4-vinylphenol	22,364	2,62
12	Benzoic acid, 2-(methylamino)-, methyl ester	27,827	88,05
13	2-Cyclopenten-1-one, 3-methyl-2-(2 -pentenyl)-, (Z)-	30,518	0,41
14	Benzene, 4-ethenyl-1,2-dimethyl-	32,202	0,32

Los compuestos fueron identificados con la Librería NIST14.L.

Firmado electrónicamente por: ERIKA CAROLINA CORTES ROJAS
Validar únicamente con FirmaEC

Ing. Erika Cortés Rojas MSc.
Técnica de Laboratorio DIVIUEB
ELABORADO

Firmado electrónicamente por: ISIDRO FAVIAN BAYAS MOREJON
Validar únicamente con FirmaEC

Ing. Favian Bayas Morejón PhD.
Director DIVIUEB
REVISADO

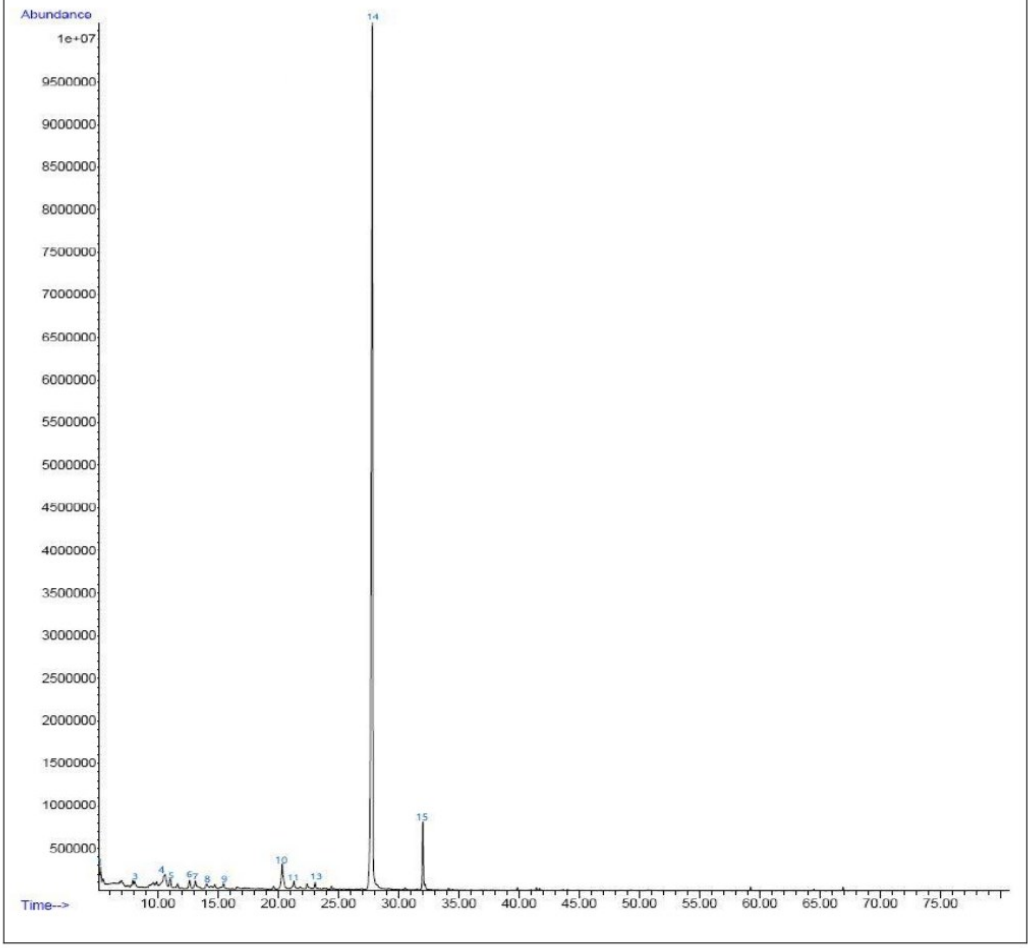
Criolla percolación

UEB UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLIVAR | DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN	**LABORATORIOS DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN** Laguacoto II, Km 1 1/2, vía a San Simón, Cantón Guaranda, Provincia Bolívar, Ecuador.	**Código**	**FPG12-01**
		Versión	**1**
	INFORME DE RESULTADOS	**Año**	**2025**
		Pagina	**Página 1 de** 2

INFORME DE ENSAYOS Nº352-2025

Descripción de la muestra	
Solicitantes	Zoila Mariela Chimborazo Punina – Stalin Luis Duman Yupa
Muestra	Extracto etanólico de hojas de mandarina variedad Criolla (*Citrus reticulata*) obtenido por el método de percolación
Código asignado UEB	INV 1288
Estado de la muestra	Liquido
Envase de recepción	Frasco de vidrio color ámbar con 30 mL aprox de muestra
Análisis requerido(s)	Identificación de compuestos volátiles por GC-MS
Fecha de recepción	05 de septiembre de 2025
Fecha de análisis	08 de septiembre al 24 de octubre de 2025
Fecha de informe	28 de octubre de 2025
Técnico asignado	ECCR

RESULTADOS OBTENIDOS



EQUIPO	GC AGILENT TECHNOLOGIES 7890 B
DETECTOR	AGILENT TECHNOLOGIES 5977A MSD
COLUMNA	Columna HP-5MS (30m x 0.250mm x 0.25µm)
MÉTODO CROMATOGRÁFICO	**Temperatura del inyector:** 250°C; **Modo de inyección:** Splitless. **Programa térmico:** Temperatura del horno 60°C a 80°C con una rampa de temperatura de 3°C/min durante 1 min; posteriormente se incrementó de 80°C a 220°C a razón de 2°C /min durante 3 min. **Tiempo total de corrida**: 80.667 minutos; **Temperatura del detector:** 250°C

Nº	Compuesto	Tiempo de retención (min)	Área (%)
1	Anisole	5,235	0,52
2	o-Cymene	7,914	0,44
3	m-Cymene	8,043	0,71
4	o-Guaiacol	10,577	2,69
5	Linalool	11,007	0,87
6	(-)-Verbenona	12,630	0,82
7	Camphor	13,110	0,71
8	1,4-Dimethoxybenzene	14,049	0,33
9	α-Terpineol	15,453	0,56
10	Guaiacol, 4-ethyl	20,319	3,44
11	Thymol	21,296	0,72
12	4-Vinilguayacol;	22,384	0,41
13	Benzene, 4-ethyl-1,2-dimethoxy-	23,055	0,45
14	Methyl N-methyl-o-anthranilate	27,812	83,25
15	Benzamide, N-methyl-N-methoxy-2'-methylamino-	32,003	4,08

Los compuestos fueron identificados con la Librería NIST14.L.

Firmado electrónicamente por: ERIKA CAROLINA CORTES ROJAS
Validar únicamente con FirmaEC

Ing. Erika Cortés Rojas MSc.
Técnica de Laboratorio DIVIUEB
ELABORADO

Firmado electrónicamente por: ISIDRO FAVIAN BAYAS MOREJON
Validar únicamente con FirmaEC

Ing. Favian Bayas Morejón PhD.
Director DIVIUEB
REVISADO

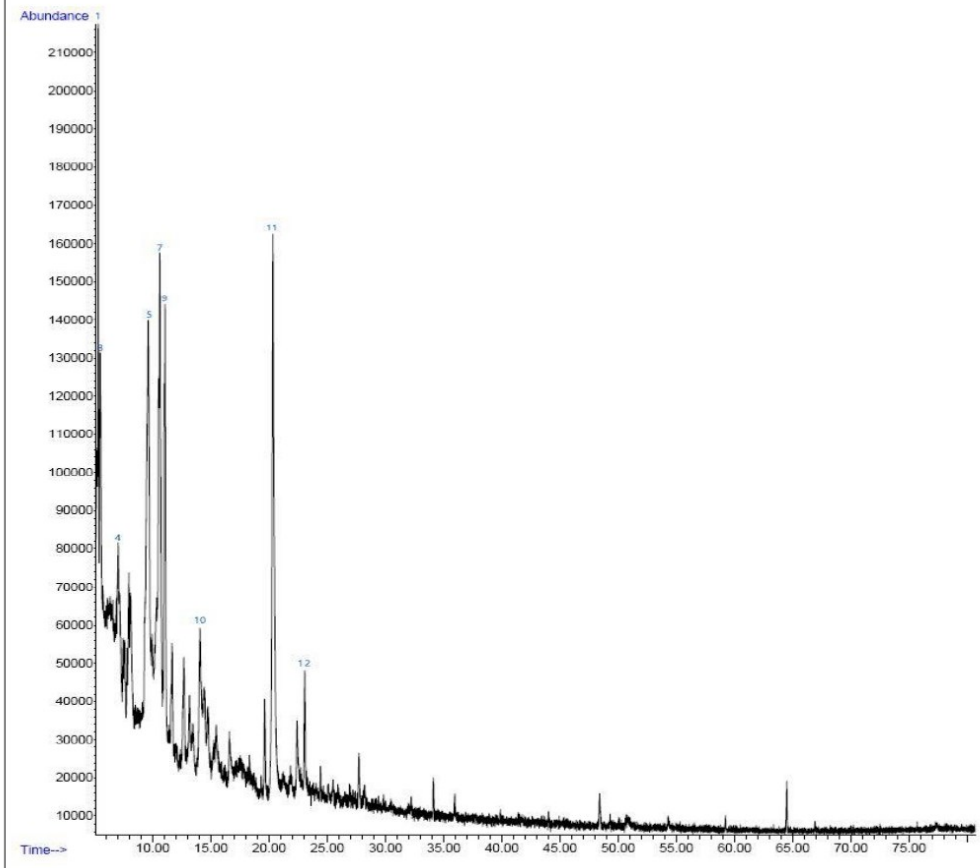
Cascaruda ultrasonido

UEB UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLIVAR | DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN	**LABORATORIOS DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN** Laguacoto II, Km 1 1/2, vía a San Simón, Cantón Guaranda, Provincia Bolívar, Ecuador.	**Código**	**FPG12-01**
		Versión	**1**
	INFORME DE RESULTADOS	**Año**	**2025**
		Pagina	**Página 1 de** 2

INFORME DE ENSAYOS Nº353-2025

Descripción de la muestra	
Solicitantes	Zoila Mariela Chimborazo Punina – Stalin Luis Duman Yupa
Muestra	Extracto etanólico de hojas de mandarina variedad Cascaruda (*Nobilis Loureiro*) obtenido por el método de ultrasonido
Código asignado UEB	INV 1289
Estado de la muestra	Liquido
Envase de recepción	Frasco de vidrio color ámbar con 30 mL aprox de muestra
Análisis requerido(s)	Identificación de compuestos volátiles por GC-MS
Fecha de recepción	05 de septiembre de 2025
Fecha de análisis	08 de septiembre al 24 de octubre de 2025
Fecha de informe	28 de octubre de 2025
Técnico asignado	ECCR

RESULTADOS OBTENIDOS



EQUIPO	GC AGILENT TECHNOLOGIES 7890 B
DETECTOR	AGILENT TECHNOLOGIES 5977A MSD
COLUMNA	Columna HP-5MS (30m x 0.250mm x 0.25µm)
MÉTODO CROMATOGRÁFICO	**Temperatura del inyector:** 250°C; **Modo de inyección:** Splitless. **Programa térmico:** Temperatura del horno 60°C a 80°C con una rampa de temperatura de 3°C/min durante 1 min; posteriormente se incrementó de 80°C a 220°C a razón de 2°C /min durante 3 min. **Tiempo total de corrida**: 80.667 minutos; **Temperatura del detector:** 250°C

Nº	Compuesto	Tiempo de retención (min)	Área (%)
1	Oxime-, methoxy-phenyl-_	5,312	6,03
2	Pyrrole, 4-ethyl-2-methyl-	5,440	1,47
3	Pyrrole, 4-ethyl-2-methyl-	5,496	4,72
4	N-Desmethylmethoxyphenamine	7,953	1,35
5	Aniline, N-methyl-	9,609	19,74
6	Benzenamine, N,N-dimethyl-	10,513	6,53
7	Benzenamine, N,N-dimethyl-	10,613	14,21
8	α-Fenchene	10,988	4,96
9	linalool	11,057	8,97
10	1,4-Dimethoxybenzene	14,064	3,66
11	Phenol, 4-ethyl-2-methoxy-	20,327	25,97
12	Benzene, 4-ethyl-1,2-dimethoxy-	23,061	2,40

Los compuestos fueron identificados con la Librería NIST14.L.

Firmado electrónicamente por: ERIKA CAROLINA CORTES ROJAS. Validar únicamente con FirmaEC

Ing. Erika Cortés Rojas MSc.
Técnica de Laboratorio DIVIUEB
ELABORADO

Firmado electrónicamente por: ISIDRO FAVIAN BAYAS MOREJON. Validar únicamente con FirmaEC

Ing. Favian Bayas Morejón PhD.
Director DIVIUEB
REVISADO

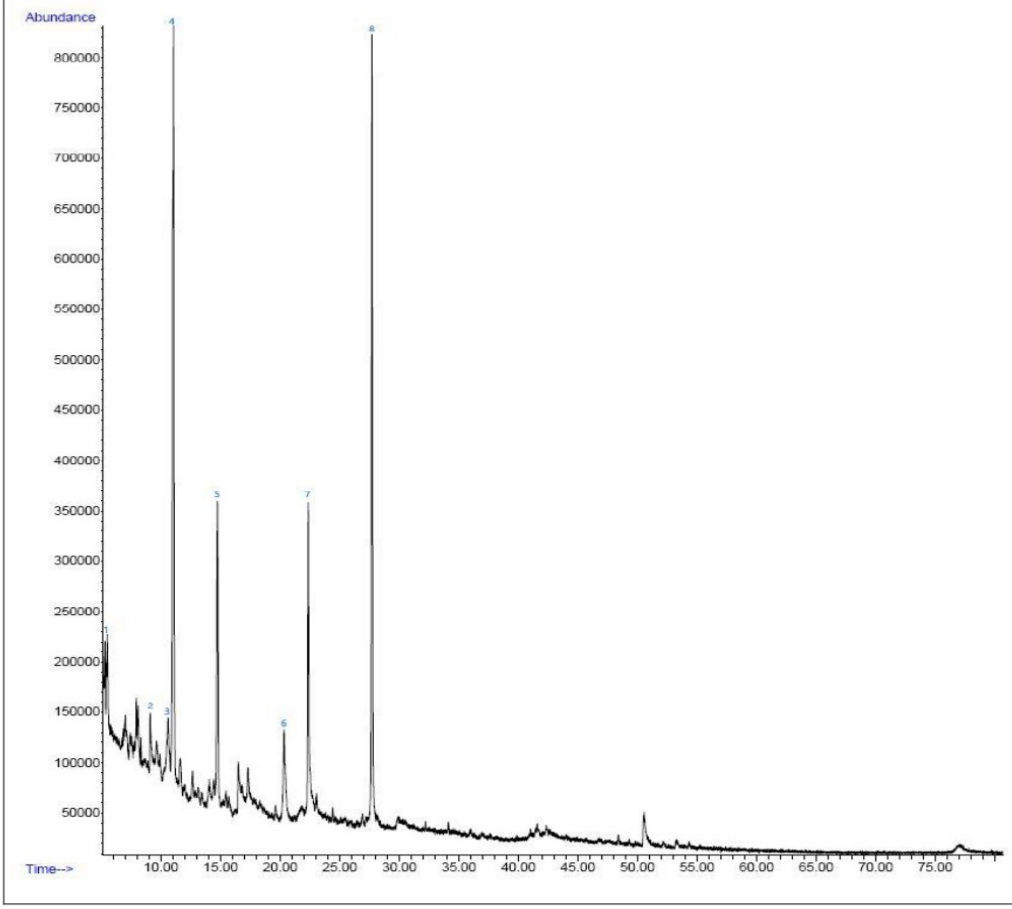
Cascaruda maceración

UEB UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLIVAR | DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN	**LABORATORIOS DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN** Laguacoto II, Km 1 1/2, vía a San Simón, Cantón Guaranda, Provincia Bolívar, Ecuador.	**Código**	**FPG12-01**
		Versión	**1**
	INFORME DE RESULTADOS	**Año**	**2025**
		Pagina	**Página 1 de** 2

INFORME DE ENSAYOS Nº354-2025

Descripción de la muestra	
Solicitantes	Zoila Mariela Chimborazo Punina – Stalin Luis Duman Yupa
Muestra	Extracto etanólico de hojas de mandarina variedad Cascaruda (*Nobilis Loureiro*) obtenido por el método de maceración
Código asignado UEB	INV 1290
Estado de la muestra	Liquido
Envase de recepción	Frasco de vidrio color ámbar con 30 mL aprox de muestra
Análisis requerido(s)	Identificación de compuestos volátiles por GC-MS
Fecha de recepción	05 de septiembre de 2025
Fecha de análisis	08 de septiembre al 24 de octubre de 2025
Fecha de informe	28 de octubre de 2025
Técnico asignado	ECCR

RESULTADOS OBTENIDOS



EQUIPO	GC AGILENT TECHNOLOGIES 7890 B
DETECTOR	AGILENT TECHNOLOGIES 5977A MSD
COLUMNA	Columna HP-5MS (30m x 0.250mm x 0.25µm)
MÉTODO CROMATOGRÁFICO	**Temperatura del inyector:** 250°C; **Modo de inyección:** Splitless. **Programa térmico:** Temperatura del horno 60°C a 80°C con una rampa de temperatura de 3°C/min durante 1 min; posteriormente se incrementó de 80°C a 220°C a razón de 2°C /min durante 3 min. **Tiempo total de corrida**: 80.667 minutos; **Temperatura del detector:** 250°C

Nº	Compuesto	Tiempo de retención (min)	Área (%)
1	Pyrrole, 4-ethhyl-2-metrhyl.	5,485	3,34
2	2-Pyrrolidinone, 1-methyl	9,080	1,93
3	Mequinol	10,575	4,93
4	Linalool	11,011	34,06
5	Terpinen-4-ol	14,735	12,12
6	Guaiacol, 4-ethyl	20,329	5,95
7	4-Vinilguayacol;	22,353	11,16
8	Methyl N-methyl-o-anthranilate	27,709	26,52

Los compuestos fueron identificados con la Librería NIST14.L.



Ing. Erika Cortés Rojas MSc.
Técnica de Laboratorio DIVIUEB
ELABORADO



Ing. Favian Bayas Morejón PhD.
Director DIVIUEB
REVISADO

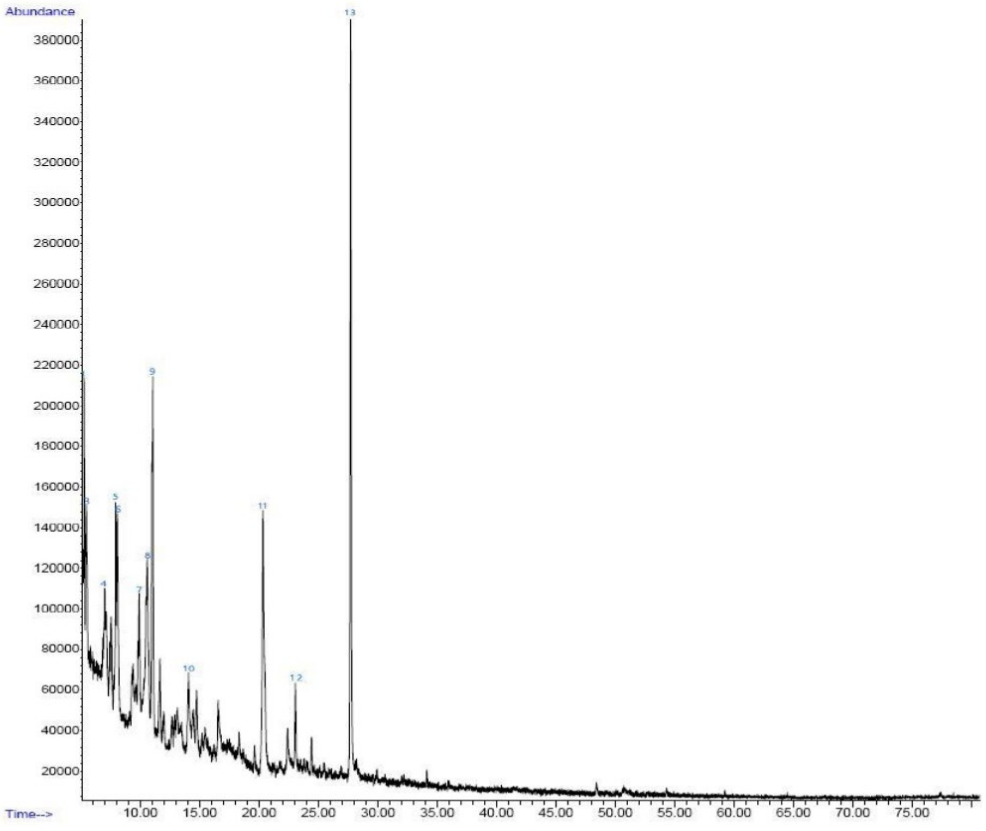
Cascaruda percolación

UEB UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLÍVAR | DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN	**LABORATORIOS DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN** Laguacoto II, Km 1 1/2, vía a San Simón, Cantón Guaranda, Provincia Bolívar, Ecuador.	**Código**	**FPG12-01**
		Versión	**1**
	INFORME DE RESULTADOS	**Año**	**2025**
		Pagina	**Página 1 de** 2

INFORME DE ENSAYOS Nº355-2025

Descripción de la muestra	
Solicitantes	Zoila Mariela Chimborazo Punina – Stalin Luis Duman Yupa
Muestra	Extracto etanólico de hojas de mandarina variedad Cascaruda (*Nobilis Loureiro*) obtenido por el método de percolación
Código asignado UEB	INV 1291
Estado de la muestra	Liquido
Envase de recepción	Frasco de vidrio color ámbar con 30 mL aprox de muestra
Análisis requerido(s)	Identificación de compuestos volátiles por GC-MS
Fecha de recepción	05 de septiembre de 2025
Fecha de análisis	08 de septiembre al 24 de octubre de 2025
Fecha de informe	28 de octubre de 2025
Técnico asignado	ECCR

RESULTADOS OBTENIDOS



EQUIPO	GC AGILENT TECHNOLOGIES 7890 B
DETECTOR	AGILENT TECHNOLOGIES 5977A MSD
COLUMNA	Columna HP-5MS (30m x 0.250mm x 0.25µm)
MÉTODO CROMATOGRÁFICO	**Temperatura del inyector:** 250°C; **Modo de inyección:** Splitless. **Programa térmico:** Temperatura del horno 60°C a 80°C con una rampa de temperatura de 3°C/min durante 1 min; posteriormente se incrementó de 80°C a 220°C a razón de 2°C /min durante 3 min. **Tiempo total de corrida**: 80.667 minutos; **Temperatura del detector:** 250°C

Nº	Compuesto	Tiempo de retención (min)	Área (%)
1	Oxime-, methoxy-phenyl-_	5,261	3,70
2	Pyrrole, 4-ethyl-2-methyl-	5,402	1,29
3	Pyrrole, 4-ethyl-2-methyl-	5,455	3,40
4	Tricyclo[4.3.1.1(3,8)]undecan-1-amine	6,992	3,12
5	o-Cymene	7,920	4,73
6	o-Cymene	8,050	8,62
7	Benzyl alcohol, p-hydroxy-.alpha.-[(methylamino)methyl]-	9,899	3,39
8	Mequinol	10,567	12,60
9	Linalool	11,040	14,52
10	p-Dimethoxybenzene	14,050	3,30
11	Phenol, 4-ethyl-2-methoxy-	20,324	15,57
12	Benzene, 4-ethenyl-1,2-dimethoxy	23,055	2,54
13	Methyl N-methyl-o-anthranilate	27,705	23,24

Los compuestos fueron identificados con la Librería NIST14.L.

Firmado electrónicamente por: ERIKA CAROLINA CORTES ROJAS
Validar únicamente con FirmaEC

Ing. Erika Cortés Rojas MSc.
Técnica de Laboratorio DIVIUEB
ELABORADO

Firmado electrónicamente por: ISIDRO FAVIAN BAYAS MOREJON
Validar únicamente con FirmaEC

Ing. Favian Bayas Morejón PhD.
Director DIVIUEB
REVISADO

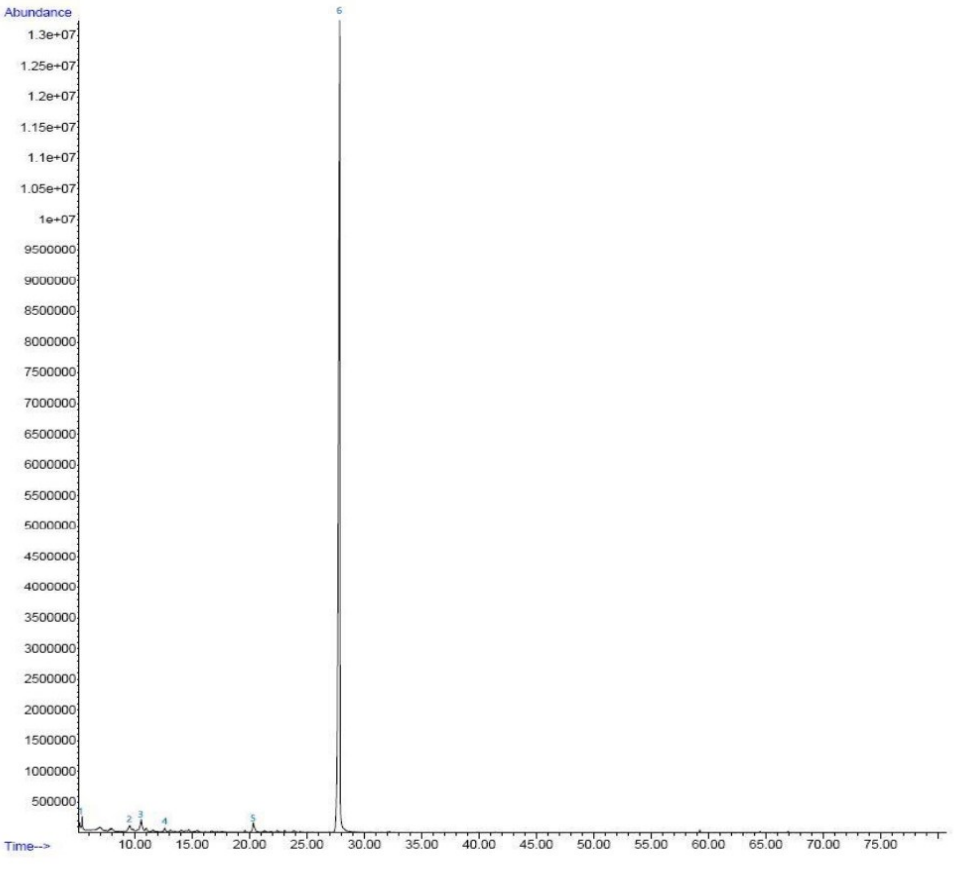
Satsuma ultrasonido

UEB UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLIVAR | DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN	**LABORATORIOS DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN** Laguacoto II, Km 1 1/2, vía a San Simón, Cantón Guaranda, Provincia Bolívar, Ecuador.	**Código**	**FPG12-01**
		Versión	**1**
	INFORME DE RESULTADOS	**Año**	**2025**
		Pagina	**Página 1 de** 2

INFORME DE ENSAYOS Nº356-2025

Descripción de la muestra	
Solicitantes	Zoila Mariela Chimborazo Punina – Stalin Luis Duman Yupa
Muestra	Extracto etanólico de hojas de mandarina variedad Satsuma (*Citrus unshiu*) obtenido por el método de ultrasonido
Código asignado UEB	INV 1292
Estado de la muestra	Liquido
Envase de recepción	Frasco de vidrio color ámbar con 30 mL aprox de muestra
Análisis requerido(s)	Identificación de compuestos volátiles por GC-MS
Fecha de recepción	05 de septiembre de 2025
Fecha de análisis	08 de septiembre al 24 de octubre de 2025
Fecha de informe	28 de octubre de 2025
Técnico asignado	ECCR

RESULTADOS OBTENIDOS



EQUIPO	GC AGILENT TECHNOLOGIES 7890 B
DETECTOR	AGILENT TECHNOLOGIES 5977A MSD
COLUMNA	Columna HP-5MS (30m x 0.250mm x 0.25µm)
MÉTODO CROMATOGRÁFICO	**Temperatura del inyector:** 250°C; **Modo de inyección:** Splitless. **Programa térmico:** Temperatura del horno 60°C a 80°C con una rampa de temperatura de 3°C/min durante 1 min; posteriormente se incrementó de 80°C a 220°C a razón de 2°C /min durante 3 min. **Tiempo total de corrida**: 80.667 minutos; **Temperatura del detector:** 250°C

Nº	Compuesto	Tiempo de retención (min)	Área (%)
1	Oxime-, methoxy-phenyl-_	5,414	0,50
2	Aniline, N-methyl-	9,552	0,72
3	Benzenamine, N,N-dimethyl-	10,551	1,69
4	(-)-Verbenona	12,601	0,43
5	Guaiacol, 4-ethyl	20,324	1,42
6	Methyl N-methyl-o-anthranilate	27,852	95,24

Los compuestos fueron identificados con la Librería NIST14.L.

Firmado electrónicamente por: ERIKA CAROLINA CORTES ROJAS. Validar únicamente con FirmaEC

Ing. Erika Cortés Rojas MSc.
Técnica de Laboratorio DIVIUEB
ELABORADO

Firmado electrónicamente por: ISIDRO FAVIAN BAYAS MOREJON. Validar únicamente con FirmaEC

Ing. Favian Bayas Morejón PhD.
Director DIVIUEB
REVISADO

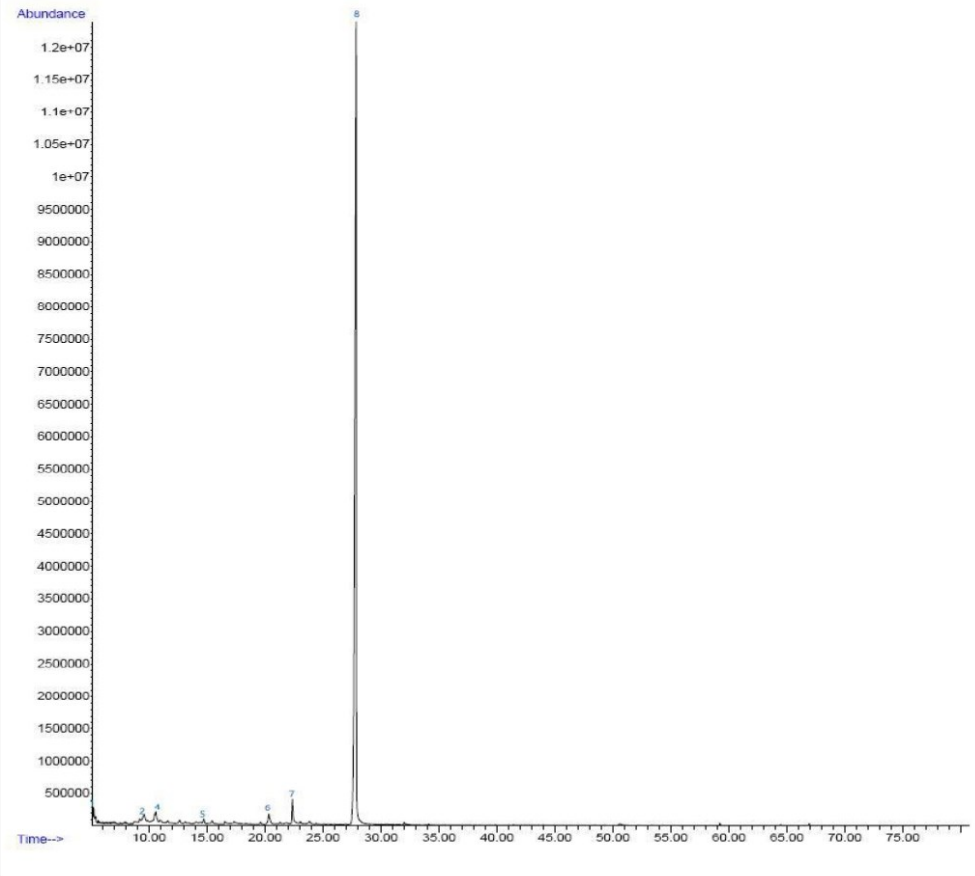
Satsuma maceración

UEB UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLIVAR | DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN	LABORATORIOS DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN Laguacoto II, Km 1 1/2, vía a San Simón, Cantón Guaranda, Provincia Bolívar, Ecuador.	Código	FPG12-01
		Versión	1
	INFORME DE RESULTADOS	Año	2025
		Pagina	Página 1 de 2

INFORME DE ENSAYOS Nº357-2025

Descripción de la muestra	
Solicitantes	Zoila Mariela Chimborazo Punina – Stalin Luis Duman Yupa
Muestra	Extracto etanolito de hoja de mandarina de variedad Satsuma extraído por el método de Maceración
Código asignado UEB	INV 802
Estado de la muestra	Liquido
Envase de recepción	Frasco de vidrio color ámbar con 30 mL aprox de muestra
Análisis requerido(s)	Identificación de compuestos volátiles por GC-MS
Fecha de recepción	05 de septiembre de 2025
Fecha de análisis	08 de septiembre al 24 de octubre de 2025
Fecha de informe	28 de octubre de 2025
Técnico asignado	ECCR

RESULTADOS OBTENIDOS



EQUIPO	GC AGILENT TECHNOLOGIES 7890 B
DETECTOR	AGILENT TECHNOLOGIES 5977A MSD
COLUMNA	Columna HP-5MS (30m x 0.250mm x 0.25µm)
MÉTODO CROMATOGRÁFICO	**Temperatura del inyector:** 250°C; **Modo de inyección:** Splitless. **Programa térmico:** Temperatura del horno 60°C a 80°C con una rampa de temperatura de 3°C/min durante 1 min; posteriormente se incrementó de 80°C a 220°C a razón de 2°C /min durante 3 min. **Tiempo total de corrida**: 80.667 minutos; **Temperatura del detector:** 250°C

Nº	Compuesto	Tiempo de retención (min)	Área (%)
1	Oxime-, methoxy-phenyl-_	5,221	0,39
2	Aniline, N-methyl-	9,571	0,89
3	Benzenamine, N,N-dimethyl-	10,468	0,62
4	Benzenamine, N,N-dimethyl-	10,569	1,10
5	Trans 4 thujanol	14,710	0,43
6	Guaiacol, 4-ethyl	20,318	1,54
7	4-Vinilguayacol;	22,361	2,12
8	Methyl N-methyl-o-anthranilate	27,846	92,92

Los compuestos fueron identificados con la Librería NIST14.L.

Firmado electrónicamente por: ERIKA CAROLINA CORTES ROJAS
Validar únicamente con FirmaEC

Ing. Erika Cortés Rojas MSc.
Técnica de Laboratorio DIVIUEB
ELABORADO

Firmado electrónicamente por: ISIDRO FAVIAN BAYAS MOREJON
Validar únicamente con FirmaEC

Ing. Favian Bayas Morejón PhD.
Director DIVIUEB
REVISADO

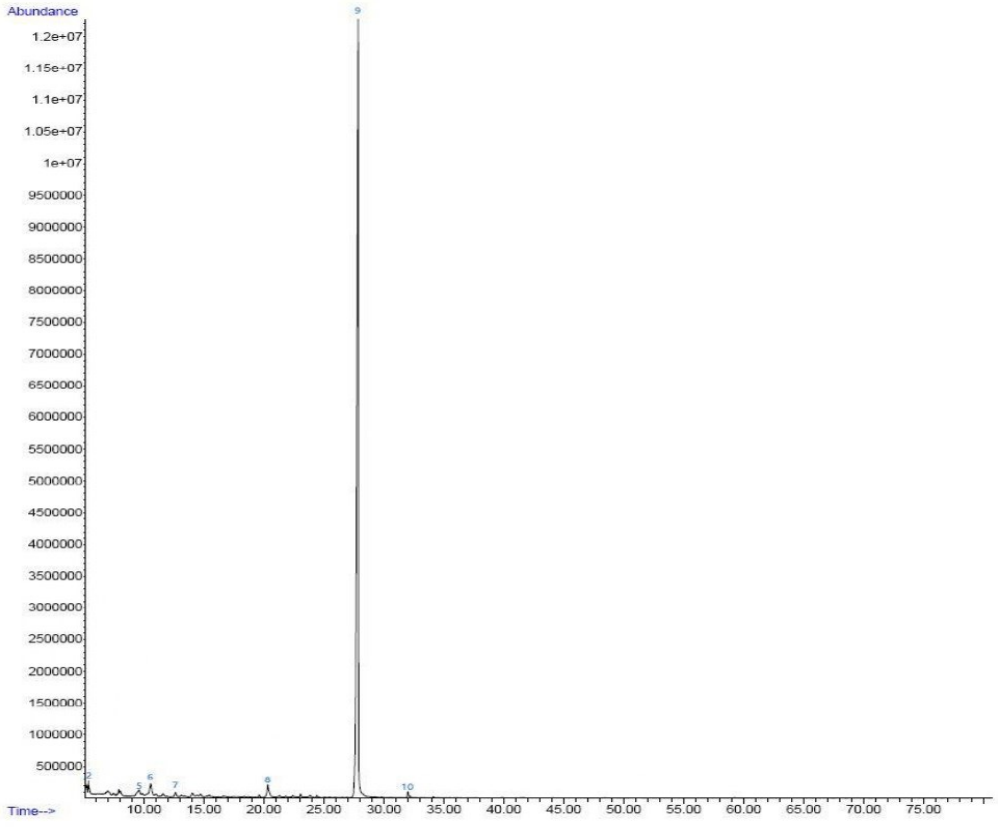
Satsuma percolación

UEB UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLIVAR | DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN	**LABORATORIOS DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN** Laguacoto II, Km 1 1/2, vía a San Simón, Cantón Guaranda, Provincia Bolívar, Ecuador.	**Código**	**FPG12-01**
		Versión	**1**
	INFORME DE RESULTADOS	**Año**	**2025**
		Pagina	**Página 1 de** 2

INFORME DE ENSAYOS Nº358-2025

Descripción de la muestra	
Solicitantes	Zoila Mariela Chimborazo Punina – Stalin Luis Duman Yupa
Muestra	Extracto etanólico de hojas de mandarina variedad Satsuma (*Citrus unshiu*) obtenido por el método de percolación
Código asignado UEB	INV 1294
Estado de la muestra	Liquido
Envase de recepción	Frasco de vidrio color ámbar con 30 mL aprox de muestra
Análisis requerido(s)	Identificación de compuestos volátiles por GC-MS
Fecha de recepción	05 de septiembre de 2025
Fecha de análisis	08 de septiembre al 24 de octubre de 2025
Fecha de informe	28 de octubre de 2025
Técnico asignado	ECCR

RESULTADOS OBTENIDOS



EQUIPO	GC AGILENT TECHNOLOGIES 7890 B
DETECTOR	AGILENT TECHNOLOGIES 5977A MSD
COLUMNA	Columna HP-5MS (30m x 0.250mm x 0.25µm)
MÉTODO CROMATOGRÁFICO	**Temperatura del inyector:** 250°C; **Modo de inyección:** Splitless. **Programa térmico:** Temperatura del horno 60°C a 80°C con una rampa de temperatura de 3°C/min durante 1 min; posteriormente se incrementó de 80°C a 220°C a razón de 2°C /min durante 3 min. **Tiempo total de corrida**: 80.667 minutos; **Temperatura del detector:** 250°C

Nº	Compuesto	Tiempo de retención (min)	Área (%)
1	1H-Pyrrole, 2-ethyl-4-methyl-	5,244	0,37
2	Oxime-, methoxy-phenyl-_	5,374	0,72
3	o-Cymene	7,890	0,44
4	Benzene, 1-ethyl-2,3-dimethyl-	8,026	0,63
5	Aniline, N-methyl-	9,589	0,92
6	Benzenamine, N,N-dimethyl-	10,548	2,02
7	(-)-Verbenona	12,626	0,49
8	Guaiacol, 4-ethyl	20,323	1,87
9	Methyl N-methyl-o-anthranilate	27,848	92,16
10	Methyl N-methyl-o-anthranilate	32,004	0,38

Los compuestos fueron identificados con la Librería NIST14.L.

Firmado electrónicamente por: ERIKA CAROLINA CORTES ROJAS
Validar únicamente con FirmaEC

Ing. Erika Cortés Rojas MSc.
Técnica de Laboratorio DIVIUEB
ELABORADO

Firmado electrónicamente por: ISIDRO FAVIAN BAYAS MOREJON
Validar únicamente con FirmaEC

Ing. Favian Bayas Morejón PhD.
Director DIVIUEB
REVISADO

Anexo 3

Análisis físico y químico de la materia prima



Árbol de mandarina



Recolección de materia prima



Proceso de selección de las hojas



Limpieza de hojas de mandarina

Anexo 4

Métodos de extracción de la hoja de mandarina



Método por ultrasonido



Método por maceración



Método por percolación



Proceso de extracción por percolación

Anexo 5

Rotavaporación y filtrado del extracto



Separación de etanol del extracto



Equipo de rotaevaporador



Filtración de extractos



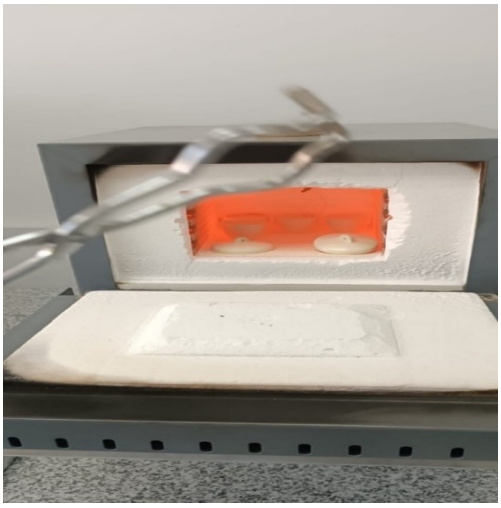
Extracto sin impurezas

Anexo 6

Análisis proximal de las hojas de mandarina (Cenizas, Humedad, volátiles totales)



Desecador y crisoles



Termo mufla más crisoles



Análisis proximal de cenizas



Termo mufla para volátiles totales

Anexo 7

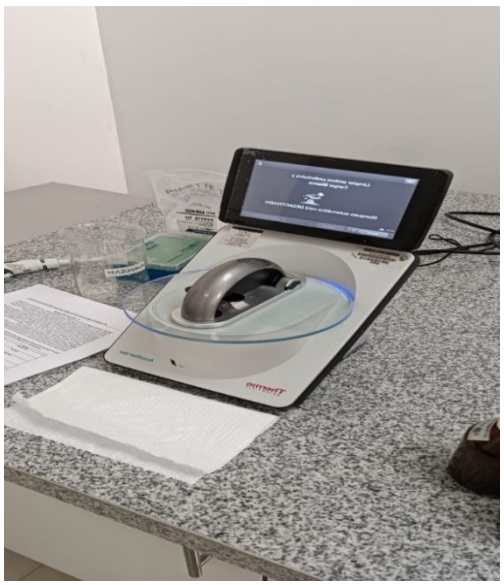
Centrifugación de la muestra y análisis de carotenoides, flavonoides, clorofila A y B



Centrifugación de extractos



Separación de impurezas del extracto



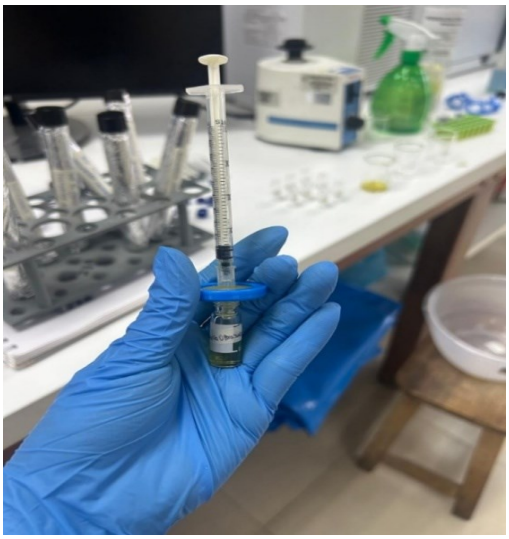
Análisis de clorofilas en el Nanodrop



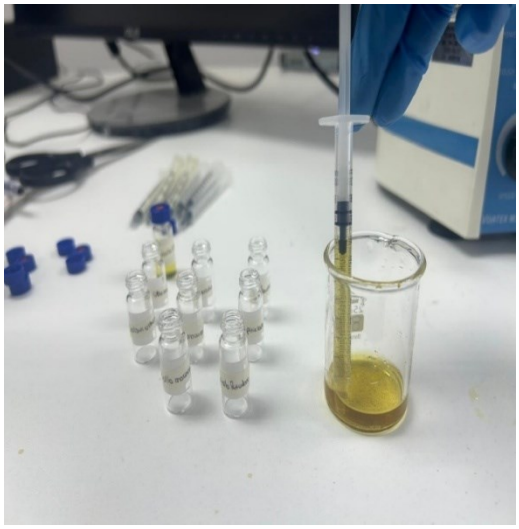
Análisis de carotenoides en el equipo

Anexo 8

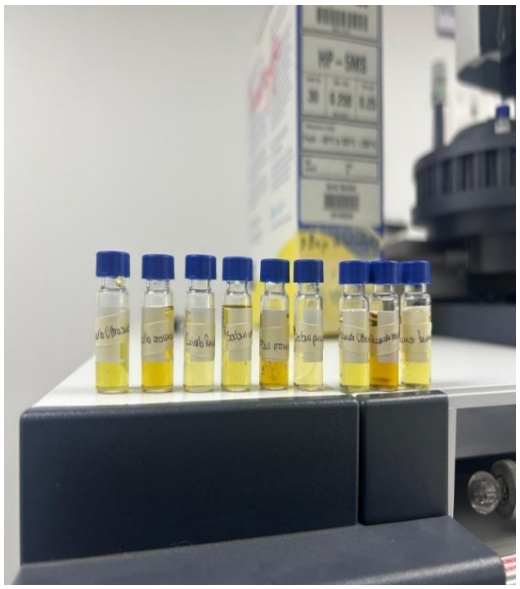
Análisis cromatográficos del extracto



Inyección de cromatograma



Aplicación de la inyección en el extracto



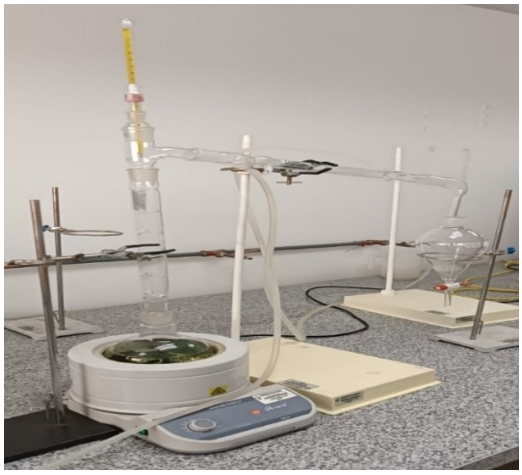
Muestras del extracto



Inyección y capsula

Anexo 9

Destilación de la bebida alcohólica pájaro azul



Equipo de destilación simple



destilado del pájaro azul



Muestras prueba error del color



Producto terminado

Anexo 10

Producto terminado y análisis sensorial



Pájaro azul procesado con extracto



Análisis de Catación con los técnicos



Análisis visual del producto



Análisis de Catación con los estudiantes

Anexo 11

Cronograma de actividades

Actividades	**Meses**							
	Mayo	**Junio**	**Julio**	**Agosto**	**Septiembre**	**Octubre**	**Noviembre**	**Diciembre**
Planteamiento del tema del perfil del proyecto	X							
Presentación del tema del perfil		X						
Aceptación del tema del perfil		X						
Correcciones con el tutor		X						
Defensa del perfil del proyecto		X						
Manejo del experimento			X					
Trabajo de laboratorio			X	X				
Pruebas de laboratorio					X	X		
Visita de campo							X	
Recolección de datos							X	
Sistematización							X	
Corrección del borrador								X
Predefensa								X

Anexo 12

Presupuesto

RUBRO	**CONCEPTO**	**TOTAL (USD)**
Reactivos y solventes	Etanol Metanol Agua destilada NaOH	$25
Materia prima	Hojas frescas de mandarina (10 kg)	$10
Consumibles varios	Frascos ámbar Etiquetas Guantes Cofias Mascarillas Otros materiales	$100
Análisis y pruebas	Pruebas colorimétricas, cromatografía parcial.	$270
Mano de obra (estudiante)	Asistente de laboratorio (2 meses x $100/mes)	$250
Servicios básicos	Energía eléctrica Internet Agua	$100
Gastos misceláneos	Transporte, impresiones, materiales adicionales alimentación	$150
Imprevistos (10%)	Reserva para gastos no previstos	$100
TOTAL: GENERAL DEL PROYECTO		**$1,220**

Anexo 13

Glosario de términos

- **Cavitación acústica**

Es un fenómeno físico causado por ondas ultrasónicas que generan burbujas microscópicas en un líquido. Estas burbujas se forman y colapsan rápidamente, produciendo efectos mecánicos como ondas de choque. Este proceso se usa para romper células vegetales y mejorar la extracción de compuestos bioactivos.

- **Anetol**

Es un compuesto químico aromático con sabor dulce, presente en el anís estrellado. Actúa como agente saborizante y tiene propiedades medicinales, como calmante digestivo. Es usado en la elaboración de bebidas artesanales como el pájaro azul.

- **Hesperidina**

Es un flavonoide presente en cítricos, especialmente en cáscaras y hojas. Tiene propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y fortalece los vasos sanguíneos. Ayuda a mejorar la circulación y protege contra enfermedades cardiovasculares.

- **Rutina**

También llamada rutosido, es un flavonoide que fortalece los tejidos vasculares y reduce la inflamación. Ayuda a prevenir hemorragias capilares y mejorar la salud circulatoria. Se encuentra naturalmente en hojas y frutos cítricos.

- **Pecíolo**

Es la parte de la hoja que conecta el limbo foliar con el tallo de la planta. Le da soporte y permite la conducción de agua y nutrientes. En la mandarina es corta y ligeramente alada.

- **Clorofila**

Es el pigmento verde esencial para la fotosíntesis en las plantas. Absorbe la luz solar y convierte energía lumínica en energía química. Está presente en todas las hojas verdes, incluidas las de mandarina.