

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA JUAN MISAEL SARACHO

FACULTAD DE CIENCIAS Y TECNOLOGÍA

CARRERA DE INGENIERÍA QUÍMICA



**OBTENCIÓN EXPERIMENTAL DE BIXINA DE LAS SEMILLAS DE ACHIOTE
EN EL MUNICIPIO DE BERMEJO**

Por:

YANETH ALEJANDRA MEDINA COLQUE

**Modalidad de graduación: Investigación Aplicada, presentado a consideración
de la “UNIVERSIDAD AUTÓNOMA JUAN MISAEL SARACHO”, como
requisito para optar el grado académico de Licenciatura en Ingeniería Química**

Octubre de 2018

TARIJA-BOLIVIA

V°B°

Msc. Ing. Ernesto Álvarez Gozalvez
DECANO
Facultad de Ciencias y Tecnología

Msc. Lic. Elizabeth Castro Figueroa
VIDECANA
Facultad de Ciencias y Tecnología

APROBADA POR:

TRIBUNAL:

Ing. José Ernesto Auad A.

Ing. Jorge Luis Tejerina Oller

Ing. Roberto Siles

Advertencia

El tribunal calificador del presente trabajo, no se solidariza con la forma, términos, modos y expresiones vertidas en el mismo, siendo éstas responsabilidad de la autora.

Dedicatoria

Dedico mi trabajo a Dios que me ha dado las fuerzas para seguir adelante y ha guiado mi camino. A mis padres por la paciencia y comprensión. A mis docentes por su tiempo, apoyo y por haberme brindado sus conocimientos para mi formación.

Agradecimientos

Agradezco a Dios por haberme dado la capacidad de lograr mis metas. Agradezco a mis padres que siempre estuvieron apoyándome en todo. Agradezco a mis Tribunales Ing. José Ernesto Auad, Ing. Jorge Luis Tejerina e Ing. Roberto Siles, por haberme guiado en el desarrollo de mi proyecto brindándome su sabiduría y paciencia.

ÍNDICE

Página

Advertencia.....	i
Dedicatoria	ii
Agradecimientos.....	iii
Resumen	iv

INTRODUCCIÓN

Antecedentes.....	1
Breve reseña histórica.....	2
El achiote en la actualidad.....	4
Mercado Nacional del Achiote (Bolivia)	5
Disponibilidad de materia prima (Achiote).....	8
Objetivos.....	9
Objetivo General	9
Objetivos Específicos	9
Justificación.....	10
Aspecto del Mercado	11
Aspecto Tecnológico	12
Aspecto Económico-Social	12
Aspecto Ambiental	12

CAPÍTULO I

MARCO TEÓRICO

1.1. El Achiote (Bixa Orellana).....	13
Generalidades	13
1.2 Clasificación Taxonómica.....	13
1.3 Características Morfológicas del Achiote	14
1.4. Variedades de Achiote.....	19
1.5. Bixina (Colorante Natural).....	24
1.5.1. Características de los colorantes.....	24
1.5.2.1. Bixina	26

1.5.2.2. Norbixina.....	27
1.5.2.3. Características fisicoquímicas de la Bixina y Norbixina.....	28
1.5.3. Características del producto Extraído (Bixina)	28
1.5.4. Características de los Carotenoides	29
1.5.4.1. Estructura básica	29
1.5.4.2. Propiedades	31
1.6. Usos de la Bixina.....	32
1.6.1. En la industria de alimentos:	32
1.6.2. En la industria cosmética:.....	33
1.6.3. En la industria farmacéutica:	34
1.6.4. En general:.....	34
1.6.5. Aplicación según la forma del producto.....	35
1.7. Métodos de extracción de Bixina	36
1.8. Selección del Proceso Experimental	39
1.8.1. Selección del Proceso de Extracción.....	39

CAPÍTULO II

PARTE EXPERIMENTAL

2.1. Descripción del método de investigación.....	40
2.1.1 Proceso de Obtención de Bixina.....	41
Diagrama de Bloques	41
Desarrollo del Proceso.....	44
2.1.1.1 Limpieza.....	44
2.1.1.2 Pesado.....	45
2.1.1.3 Extracción.....	45
2.1.1.4 Precipitación	46
2.1.1.5 Filtrado y lavado.....	47
2.1.1.6 Secado.....	48
2.1.1.7 Molido y envasado	49
2.2. Diseño factorial	50
2.2.1 Construcción de un diseño factorial completo 2^k	51
2.3. Procedimientos y técnicas empleados para la obtención de los resultados	54
2.4 Balance de Materia y Energía del Proceso	57
2.4.1 Balance de Materia	57

CAPÍTULO III
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Caracterización de la Materia Prima	60
3.2 Análisis estadístico del diseño experimental.....	60
3.3 Selección de variables de operación para extracción de Bixina.....	64
3.3.1 Identificación de las Variables a ser estudiadas	64
3.3.2 Variables seleccionadas.....	67
3.4 Rendimiento del Proceso de Extracción.....	67
3.5 Características fisicoquímicas de la Bixina.....	68
3.6 Balance de materia	69
3.6.1 Balance en el proceso de Extracción de la Bixina.....	69
3.6.2 Balance en el proceso de Precipitación	70
3.6.3 Balance en el proceso de Filtrado.....	70
3.6.4 Balance en el proceso de Secado.....	71
3.6.5 Balance en el proceso de Molido.....	71

CAPÍTULO IV
EVALUACION FINANCIERA DEL PROYECTO

4.1 Costos del Proyecto	75
4.1.1 Costo Materia prima y solventes	75
4.1.2 Costos de materiales y equipos.....	75
4.1.3 Costos de análisis y pruebas de laboratorio.....	76
4.1.4 Costo Mano de Obra.....	76
4.1.5 Costos Material de Escritorio y otros	76
4.1.6 Resumen de costo total del proyecto	77
4.1.7 Cálculo del costo por gramo de colorante	77

CAPÍTULO V
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones.....	79
5.2 Recomendaciones.....	80

BIBLIOGRAFÍA.....	82
-------------------	----

Índice de Cuadros y/o Tablas

Cuadros	Página
Cuadro I-1: Ventajas y desventajas del método de Extracción con solvente	39
Cuadro II-1: Diseño factorial de la matriz de variables para el proceso de extracción.....	53
Cuadro II-1a: Diseño factorial con la relacion de variables para el proceso de Extracción.	54
Cuadro III-1 Algoritmo de yates para un diseño 2^k	61
Cuadro III-2 Análisis de varianza (ANOVA) para el diseño factorial 2^3	62
Cuadro III-3 Arreglo matricial y resultado del diseño factorial en el proceso de extracció	62
Cuadro III-4 Matriz de algoritmo de yates y resultados.....	63
Cuadro III-5 (ANOVA) para el diseño factorial 2^3	64
Cuadro III-6 Rendimiento de la Bixina	68
Cuadro IV-1: Detalle de costos Materia Prima y Solventes.....	75
Cuadro IV-2 Detalle de costos materiales y equipos.....	75
Cuadro IV-3: Detalle de costos análisis Semillas de Achiote.....	76
Cuadro IV-4: Detalle de costos Mano de Obra.....	76
Cuadro IV-5: Detalle de costos Material de Escritorio.....	76
Cuadro IV-6: Resumen de costos.....	77

Tablas	Página
Tabla A: BOLIVIA: Producción Agrícola, Según cultivo (En Toneladas Métricas).....	6
Tabla B: BOLIVIA:Superficie Cultivada, por año Agrícola, Según cultivo (En Hectáreas).....	7
Tabla C: BOLIVIA:Rendimiento Agrícola, Según cultivo (En Kilogramos por Hectáreas).....	7
Tabla D: Precio de Productos en Bolivia 2013	8
Tabla I-1: Clasificación Taxonómica del achiote.....	13
Tabla I-2: Composición Química de la semilla del achiote	22

Tabla I-3: Composición Nutricional de la semilla del achiote	22
Tabla I-4: Composición del pigmento del achiote	22
Tabla I-5: Principales mercados de Bolivia para semillas de achiote, Año 2007	23
Tabla I-6: Principales mercados de Bolivia: achiote en polvo, Año 2007	23
Tabla I-7: Características fisicoquímicas de la Bixina y de la norbixina	28
Tabla II-1: Materiales de Laboratorio	42
Tabla II-2: Equipos de Laboratorio	43
Tabla II-3: Materia Prima y Reactivos	44
Tabla II-4: Niveles de variación de los factores	52
Tabla II-5: Corrientes del Proceso	59
Tabla III-1: Propiedades físicas y químicas de las semillas de achiote (Bixa Orellana)	60
Tabla III-2 Selección de variables	66
Tabla III-3: Niveles de variación de los factores	67
Tabla III-4: Propiedades físicas y químicas del Colorante Natural en polvo (Bixina)	69
Tabla III-5: Resultados del Balance de Materia	72

Índice de Figuras

	Página
Figura: Estructura química de la Bixina.....	2
Figura: Estructura química de la norbixina	2
Figura 1-1: Planta o arbusto del achiote	14
Figura 1-2: Hojas del achiote	15
Figura 1-3: Flor del achiote	16
Figura 1-4: Fruto del achiote	17
Figura 1-5: Fruto abierto del achiote	17
Figura 1-6: Semillas de achiote	18
Figura 1-7: Colorantes naturales	25
Figura 1-8: Colorantes artificiales	26
Figura 1-9: Colorantes del achiote	26
Figura 1-10: Estructura química de la Bixina.....	27
Figura 1-11: Estructura química de la norbixina.....	27
Figura 1-12: Estructura de los principales Carotenos.....	30
Figura 1-13: Colorante del achiote.....	33
Figura 1-14: Achiote en polvo.....	33
Figura 1-15: Bixina (Colorante natural).....	34
Figura 1-16: Aplicaciones del Colorante de Achiote	35
Figura 2-1: Semillas de achiote	44
Figura 2-2: Pesado de las semillas de achiote	45
Figura 2-3: Etapa de Extracción.....	46
Figura 2-4: Precipitación de la Solución Rojiza.....	47
Figura 2-5: Etapa de Filtrado y lavado	48
Figura 2-6: Etapa de Secado.....	48
Figura 2-7: Etapa de Molido.....	49

Nómina de anexos

ANEXO 1

FOTOGRAFIAS DEL ACHIOTE EN BERMEJO

ANEXO 2

ANALISIS FISICOQUIMICO DE LAS SEMILLAS DE ACHIOTE

ANEXO 3

TAXONOMIA DE LAS SEMILLAS DE ACHIOTE

ANEXO 4

MATERIALES Y EQUIPOS USADOS

ANEXO 5

PROCESO DE OBTENCION DE BIXINA

ANEXO 6

ANALISIS DEL COLORANTE (BIXINA)

ANEXO 7

TABLA DE FISHER

NOMENCLATURA, ABREVIATURAS Y SIMBOLOGÍA UTILIZADA

°C	Grados Celsius
cm	centímetro
m	metro
Ha	Hectáreas
Ton	Toneladas
mg	miligramo
g	gramo
kg	kilogramo
ml	mililitros
l	litros
T	Temperatura
min	minutos
rpm	revoluciones por minuto
nm	nanómetros
UV	Ultravioleta

Nº	Número de experimentos
PH	Unidad de medida para el nivel de acidez o alcalinidad de una sustancia
H ₂ SO ₄	Ácido Sulfúrico
NaOH	Hidróxido de Sodio
GL	Grados de libertad
SC	Suma de cuadrados
FV	Fuente de variación
CM	Cuadrados medios
ANOVA	Análisis de Varianza
SPSS	Statistical Package for the social sciences
IBCE	Instituto Boliviano de Comercio Exterior
INE	Instituto Nacional de Estadística
CIQ	Centro de Investigaciones Químicas
CEANID	Centro de Análisis, Investigación y Desarrollo

Resumen

El presente trabajo de investigación está orientado a la obtención de Bixina de las semillas de achiote del Municipio de Bermejo del departamento de Tarija.

La Bixina es el principal compuesto en los extractos colorantes a partir de las semillas de achiote, se usa en diversas industrias como la alimenticia, cosmética, textil, etc.

Para la extracción de Bixina se usó el método con solvente alcalino en este caso NaOH al 5 % y para su posterior precipitación se usó H₂SO₄ al 20 %.

En una primera etapa se aborda la caracterización de la materia prima; se planteó un diseño factorial de 2³ es decir 3 variables que pueden influir en el proceso de extracción de colorante y dos niveles; los mejores resultados se obtuvieron a una Temperatura de 60° C, un tiempo de 30 min de extracción y una relación en peso (semilla/solvente) de 1:4 realizando dos etapas de lavado para obtener una máxima extracción.

Para evaluar el rendimiento se determinó la cantidad de Bixina total obtenida en ambos lavados; la sumatoria nos dio la cantidad de Colorante Natural en gramos.

Podemos mencionar que de 10 gramos de semillas de Achiote se obtuvo 1,87 gramos de colorante, por lo tanto, el rendimiento es de 18,7 %.

INTRODUCCIÓN

Antecedentes

Los colorantes son sustancias de color intenso que pueden usarse para producir un alto grado de coloración cuando se dispersan en otros materiales o se hacen reaccionar con los mismos por medio de un proceso que, cuando menos temporalmente, destruye la estructura cristalina de la sustancia. Este último punto es la característica que distingue a los colorantes de los pigmentos, que casi siempre se aplican en forma de agregados a cristales insolubles.

La mayoría de los colorantes naturales son de origen vegetal; pueden ser compuestos puros o productos de extracción. Estos últimos son obtenidos de materias primas alimentarias y pueden ser asociados a otras moléculas. Entre los más importantes encontramos a los carotenoides, que son un grupo de compuestos solubles en lípidos, ampliamente distribuidos en el reino vegetal. Tienen dos funciones, principales en las plantas durante la fotosíntesis y como materia colorante en flores y frutos, aparecen como colores amarillos, mientras en los frutos son también naranja o rojo. La bixina es el principal pigmento del achiote, es un carotenoide natural soluble en aceite que se forma naturalmente en la superficie de la semilla de Bixa Orellana.

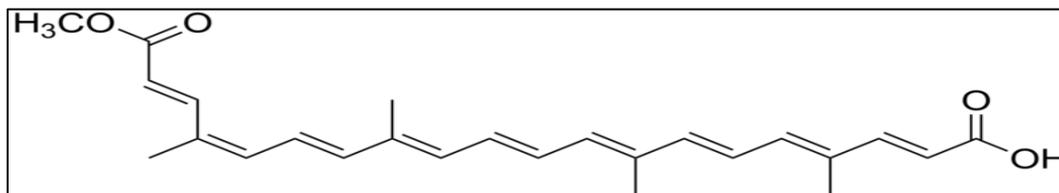
Este pigmento natural se puede obtener mediante separación por métodos de cromatografía. Su punto de ebullición es de 198 °C. Es soluble en acetona, cloroformo y soluciones acuosas alcalinas, es insoluble en agua, ligeramente soluble en alcohol etílico, propilenglicol, etc. La bixina es muy estable entre 60 a 80 °C e inestable por encima de 80 °C. El colorante crudo es de color rojo anaranjado y posee un sabor amargo.

Existen preparaciones de bixina, los extractos solubles en agua, la norbixina es muy soluble en agua. La elaboración de soluciones (0.5 a 4 % de norbixina) por hidrólisis alcalina es una práctica comercial usual y es frecuentemente llamado annato de simple poder. Tales productos son usados para dar color al queso, pasteles, sopas y otros productos de bajo contenido de grasas y se obtiene usando soluciones de hidróxido de potasio como diluyente. El método de extracción del pigmento denominado solución de hidróxido de potasio, se realiza a través de una reacción química, donde un átomo de hidrógeno del grupo carboxílico del compuesto bixina es reemplazado por un átomo de sodio del hidróxido de sodio, formándose una masa llamada bixinato de sodio. Luego se acidifica la solución de bixina de sodio con ácido clorhídrico 1.5 N para lograr precipitar un colorante constituido por bixina. La norbixina es un pigmento carotenoide soluble en agua formado de bixina mediante hidrólisis alcalina.

La fórmula empírica de la Bixina es $C_{25}H_{30}O_4$ y se conoce químicamente como

metilhidrogenuro 9 cis 6-6 dioate, que pertenece a los lípidos por su estructura y sus características. Su estructura química es la siguiente:

Figura: Estructura química de la Bixina

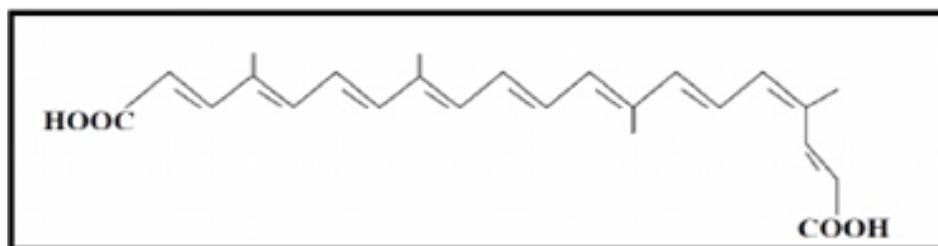


Fuente: Chemical structure of cis-bixin (Edgar181, 2009)

El grupo terminal libre esterificado que posee la Bixina unido a la molécula de alcohol metílico es el que le da la propiedad de ser soluble en grasa y aceites.

La norbixina es un ácido dicarboxílico de fórmula empírica C₂₄H₂₅O₄, conocida químicamente como diapo 6-6 caroteno-dioico, obtenida de la saponificación del éster metílico de la Bixina. Esta característica la convierte en hidrosoluble a valores de PH alcalinos. (REITH, 1971, p.863). Su estructura química es la siguiente:

Figura: Estructura química de la norbixina



Fuente: Extracción de colorante (Bixina) a partir de semillas de achiote (Bixa Orellana L.) (Universidad Nacional Toribio Rodríguez De Mendoza, 2012)

Breve reseña histórica

Antiguamente, el colorante era usado por los pueblos nativos de América del Sur y América Central para pintar sus cuerpos en ritos ceremoniales y para protegerse de picaduras de insectos. (Huerta L.D.C. y Ostos R.R. 2014)

El Achiote, es una planta nativa de América tropical, oriunda de la región amazónica, desde

Brasil hasta México, fue conocida y usada desde épocas muy antiguas.

Los primeros grupos culturales de América preparaban con sus semillas una masa roja con la que se pintaban el cuerpo, la cara, las piernas y los brazos ya sea para adornarse o para evitar la picadura de los mosquitos o para facilitar la cicatrización de las heridas. También, les servía para teñir sus tejidos y pintar sus utensilios o también utilizaban sus fibras para hacer cercos donde encierran a sus animales y para dar gusto a sus guisados.

La voz achiote es un nahualismo que significa “semilla brillante” o “semilla grasa”, el nombre bija proviene del dialecto de los indios arahuac, que viven en Brasil y Venezuela que significa “de color rojo”.

En la época de la conquista y el virreinato, se llevaron de Perú a España grandes cantidades de semillas de achiote para utilizarlas como colorante y, como condimento de alimentos. Los nombres vulgares tienen diferentes orígenes, así en el lenguaje taino de los indígenas de la Española, el nombre era “Bixa” (pronunciado bisha) lo que dio origen a la “bija”, “bixia”, “bisha”. Esto parece haber dado origen también, en el siglo XVI, a un vocablo que se incorporó al castellano por un corto tiempo: “bixio” significó entonces rojizo o amoratado. “embijarse” significarse pintarse la piel de rojo con la bija. Del Caribe, los españoles pasaron a México donde se encontraron que la planta recibía el nombre de “achioti”.

Esto dio origen a una serie de nombres locales encabezados por “Achiote”, que es el que se usaría posteriormente. Surgieron así: achote, achiotillo, achiti amarillo, achite colorado, achihuiti, etc.

Cuando los ingleses se posesionaron de las islas del norte del Caribe, encontraron que los indígenas de esa región llamaban a esa planta “Onoto”, y de allí deriva el nombre de “Annato” con que es conocida en la literatura inglesa y en mucho del mercado internacional. De allí se derivó también arnato, onoto, onotillo, etc. Los indígenas del norte del Brasil y de la cuenca del Orinoco le llaman “urucú” de lo que derivó “urcu”, “uru-uva”, y los viajeros franceses lo adoptaron y lo escribieron a su manera, por lo que nuestro achiote es conocido en Francia como “Roucou”. (Rueda, L.M. y Niño, M.J. 2004)

Esta especie como muchas de las plantas originalmente clasificadas por Linneo, esta rubicunda representante del continente Americano, que se ha adaptado también a las distintas tierras del trópico, excitó la iniciativa de muchos botánicos que le dieron nombres diversos o que encontraron, en alguna variedades, suficientes características diferenciales como para separarlas en una especie diferente o incluso en algún género aparte. Así surgieron nombres como Bixaodorata, Bixaplatycarpa, Bixa arbórea, Bixa Americana, Bixaurucurana, Orellana Americana, kuntze, etc.

Linneo utilizó dos términos que tienen importancia histórica y quizás es por eso que su denominación original es la que ha persistido; le llamó Bixa Orellana; Bixa porque ese fue el nombre indígena original que los hombres de Colón encontraron en la isla española. Y la apellido Orellana en honor al aventurero socio de Pizarro que descubrió el Amazonas.

Cuando las tripulaciones de Colón la encontraron, esta planta era utilizada principalmente con fines cosméticos. (Rueda, L.M. y Niño, M.J. 2004)

El achiote en la actualidad

El achiote o bixa Orellana actualmente es muy importante en la industria, principalmente en la producción de quesos, sin embargo, se usa en bebidas, jaleas, aceites, sopas, cereales, margarinas, dulces, pastas, helados y más.

El uso de los colorantes naturales ha adquirido una gran importancia actualmente, ya que están desplazando a los artificiales, por lo que la extracción de colorante natural (Bixina) es relevante, pues sugiere un mejor aprovechamiento de los recursos naturales y así ayudar a la transformación de productos agrícolas bolivianos, de manera que pueda exportarse un producto con mayor valor agregado.

Existen diferentes métodos de extracción de colorantes, siendo el más usado la extracción alcalina acuosa, el cual mediante un proceso de lavado de las semillas con álcali y una precipitación con exceso de ácido, se puede obtener un colorante en polvo, el cual resulta más atractivo al consumidor, por precio, calidad y facilidad de uso.

Actualmente se han realizado estudios en los cuales se ha demostrado que los colorantes artificiales contienen sustancias dañinas al organismo, tales como sales de bencendiazonio mejor conocidas como compuestos azo, lo que ha provocado el resurgimiento de la

utilización de colores que provengan de una fuente natural.

Un caso típico son los colorantes obtenidos a partir del achiote (Bixa Orellana o urucú), o sea los colorantes a base de Bixina o nor-bixina.

La Bixina es el constituyente natural y el colorante que en mayor cantidad se encuentra en la cubierta resinosa de la semilla de achiote, siguiéndole la orelina, a los cuales debe su nombre científico, Bixa Orellana.

El achiote presenta una gran variedad de colores, desde árboles con tallos rojos, flores rosas y vainas rojo oscuro hasta tallos verdes, flores blancas y vainas de color verde.

Dependiendo de la zona donde crezcan, tipo de clima, variedad de la semilla, etc., pueden crecer entre 2 y 5 metros de altura (según la edad); el tronco tiene de 15 a 22 cm de perímetro, pero a pesar de estas diferencias el pigmento producido no tiene variación en su estructura.

La planta es originaria del área tropical de América, pero actualmente se cultiva en varios países como la India, Jamaica, África del Este, hasta en Kenia donde se utiliza como planta ornamental. Guatemala es un país con gran variedad de productos agrícolas, entre ellos está el achiote, el cual se da de mejor calidad en la zona norte del país y se cosecha entre los meses de marzo y junio de cada año. (Lanza, J.M. 1997).

Mercado Nacional del Achiote (Bolivia)

El Achiote, denominado por los productores nacionales como “oro rojo”, fue el primer producto de Bolivia en obtener “certificación orgánica”, brinda una alternativa ecológicamente segura al colorante producido sintéticamente.

En Villa Exaltación, una pequeña comunidad de la provincia Caranavi, 54 familias han unido fuerzas para formar la Asociación de Productores Ecológicos de Achiote (AIPEAVE). Las colonias vecinas de Choronta Berea y Unión Camacho también se unieron a esta iniciativa productiva apoyadas por el Fondo Comunitario de Desarrollo Alternativo de los Yungas (FCDA), que financió una donación de la Agencia de los Estados Unidos para el Desarrollo Internacional (USAID); las familias recibieron asistencia técnica y equipo para mejorar los procesos de producción y poscosecha de Achiote. En dos estaciones de producción (mayo –junio y septiembre - octubre), produciendo entre 125 y

195 toneladas de semilla de achiote. (IBCE 2009)

En Bolivia la producción tanto silvestre como la instalación de aéreas cultivadas de achiote se encuentran localizadas principalmente en los departamentos de Santa Cruz, Cochabamba y Tarija, según datos del ex Centro de Promoción Bolivia (Ceprobol).

En Santa Cruz las zonas productoras se encuentran en Montero, Yapacaní, La Guardia y el Chaco Cruceño; en Cochabamba principalmente en el Chapare, y en Tarija en Yacuiba, Palmar y Bermejo.

Según el censo agropecuario 2015-2016 la producción de achiote en toda Bolivia es de 1560 toneladas métricas, teniendo en cuenta que no se cultiva en todos los departamentos de Bolivia. (INE 2016)

Tabla A: BOLIVIA: Producción Agrícola, Según cultivo
(En Toneladas Métricas)

DESCRIPCION	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016
	2009-2010	2010-2011	2011-2012	2012-2013	2013-2014	2014-2015	2015-2016
OLEAGINOSAS E INDUSTRIALES	7,612,406	8,002,184	9,935,452	11,022,249	10,648,286	10,442,877	10,289,007
Achiote (urucú)	1,332	1,396	1,431	1,470	1,497	1,534	1,560
Algodón	419	460	2,240	922	1,150	920	1,500
Caña de Azúcar	5,335,735	5,494,370	7,241,104	8,064,683	7,598,630	7,192,512	6,910,805
Girasol (1)	311,100	152,927	225,469	278,102	198,566	105,540	130,740
Maní	18,283	20,320	21,921	23,596	20,788	20,788	20,788
Sésamo	10,055	12,057	13,080	6,596	8,024	9,702	12,593
Soya (1)	1,934,394	2,319,524	2,429,109	2,645,776	2,814,321	3,105,938	3,204,639
Tabaco	1,088	1,130	1,097	1,103	1,133	1,263	1,220

Fuente: Instituto Nacional de Estadística Censo Nacional Agropecuaria-CA-2013 Encuesta Agropecuaria-EA 2015 (INE 2015)

Tabla B: BOLIVIA: Superficie Cultivada, por Año Agrícola, Según cultivo**(En Hectáreas)**

DESCRIPCION	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016
	2009-2010	2010-2011	2011-2012	2012-2013	2013-2014	2014-2015	2015-2016
OLEAGINOSAS E INDUSTRIALES	1,357,550	1,359,686	1,522,274	1,750,574	1,665,892	1,614,066	1,684,025
Achiote (urucú)	2,692	2,731	2,761	2,799	2,828	2,863	2,881
Algodón	700	1,000	3,500	2,000	2,500	2,000	3,000
Caña de Azúcar	142,813	134,455	143,326	150,442	148,758	145,449	152,306
Girasol (1)	235,685	142,791	221,040	285,525	194,082	103,284	146,772
Maní	18,007	19,240	19,258	19,430	19,221	19,042	19,207
Sésamo	25,070	24,070	25,212	12,852	14,865	17,162	22,261
Soya (1)	931,436	1,034,235	1,106,025	1,276,343	1,282,455	1,322,992	1,336,399
Tabaco	1,147	1,165	1,152	1,183	1,183	1,275	1,198

Fuente: Instituto Nacional de Estadística Censo Nacional Agropecuaria-CA-2013 Encuesta Agropecuaria-EA 2015 (INE 2015)

Tabla C: BOLIVIA: Rendimiento Agrícola, Según cultivo**(En kilogramos por Hectáreas)**

DESCRIPCION	2009-2010	2010-2011	2011-2012	2012-2013	2013-2014	2014-2015	2015-2016
OLEAGINOSAS E INDUSTRIALES							
Achiote (urucú)	495	511	518	525	529	536	541
Algodón	599	460	640	461	460	460	500
Caña de Azúcar	37,362	40,864	50,522	53,607	51,081	49,450	45,374
Girasol (1)	1,320	1,071	1,020	974	1,023	1,022	891
Maní	1,015	1,056	1,138	1,214	1,082	1,092	1,082
Sésamo	401	501	519	513	540	565	566
Soya (1)	2,077	2,243	2,196	2,073	2,194	2,348	2,398
Tabaco	948	970	952	932	958	991	1,018

Fuente: Instituto Nacional de Estadística Censo Nacional Agropecuaria-CA-2013 Encuesta Agropecuaria-EA 2015 (INE 2015)

Tabla D: Precio de Productos en Bolivia 2013

Miércoles, 24 de abril de 2013		Santa Cruz		La Paz		Cochabamba	
		Precios en Bolivianos					
Producto	Unidad de Venta	Bajo	Alto	Bajo	Alto	Bajo	Alto
Achiote de Yungas	Quintal			700	720	700	750
Ajonjolí de Santa Cruz	Quintal	600	600			630	630
Anís de Cochabamba	Quintal			1,100	1,100	950	950
Arroz estaquilla de Santa Cruz	Quintal	245	265	240	260	255	270
Arroz grano de oro de Santa Cruz	Quintal	270	285	340	340	280	290
Arroz perlado de Santa Cruz	Quintal	250	270	270	280	270	280
Avena para sopa de La Paz	Quintal	250	260	240	240	180	190
Chuño Queni de La Paz, Grande	Quintal			400	420	390	400
Durazno seco o mocochinchi de Sucre, Mediano	Quintal			1,250	1,300	1,180	1,200
Frijol mantequilla de Santa Cruz	Quintal			400	400	460	460
Frijol negro de Santa Cruz	Quintal			350	350	360	360
Maíz Cubano Amarillo (Duro) de Santa Cruz	Quintal	82	85	100	120		
Maíz frangollo de Tarija	Quintal	250	260	240	240		
Maíz pelado de Cochabamba, Mediano	Quintal	390	390	380	380	390	400
Maní pelado de Cochabamba	Quintal	480	490			450	460
Maní tostado de Sucre, Mediano	Quintal			620	620	500	530
Sorgo de Santa Cruz	Quintal	79	82	120	120		
Trigo pelado de Cochabamba, Grande	Quintal	290	290	285	285	250	250

Fuente: Comercialización agrícola, Precios de los mercados Mayoristas de Bolivia (José Antonio Cortez, 2013)

En la presente tabla se observa el precio del Achiote en Bolivia (Yungas) tanto en La Paz como en Cochabamba; se nota que hay una variación mínima entre el precio por quintal de ambos; siendo el más elevado en los yungas de Cochabamba con 750 Bs por quintal de achiote.

Disponibilidad de materia prima (Achiote)

La materia prima para el presente estudio se centra en el municipio de Bermejo del departamento de Tarija, lugar de donde se extraerá la materia prima (semillas de achiote), que actualmente no se cultiva, sino que crece de manera silvestre; es decir sin cuidados.

Se constató que en dicho lugar hay disponibilidad de materia prima, ya que actualmente no se le da un uso industrial al Achiote, conocido como Urucú por los comunarios del lugar.

No se ha realizado ningún trabajo sobre la obtención de bixina a partir de achiote en el departamento de Tarija; pero sí en otros lugares del País como ser en Cochabamba, donde se cultiva el achiote.

Con este trabajo de investigación se pretende dar iniciativa para la generación de industrias de colorantes a partir del achiote, en el departamento de Tarija, también incentivar a que no se produzca solo en forma silvestre, sino también que se cultive, dando lugar a nuevas ideas emprendedoras para que nuestro departamento tenga nuevos ingresos y se desarrolle.

Además, que la generación de colorantes naturales evitará la contaminación y disminuirá el uso de los colorantes artificiales.

Para la realización del trabajo, contamos con los equipos necesarios y medios que nos brindará la Universidad Autónoma Juan Misael Saracho (UAJMS), que actualmente cuenta con laboratorios bien equipados.

Objetivos

Objetivo General

Obtener Bixina a partir de las semillas del achiote (Bixa Orellana) provenientes del Municipio de Bermejo.

Objetivos Específicos

- ❖ Determinar las propiedades físicas y químicas de las semillas de achiote (Bixa Orellana).
- ❖ Seleccionar y diseñar el proceso tecnológico para la obtención experimental de Bixina.
- ❖ Seleccionar las variables de operación para la extracción de la Bixina.
- ❖ Determinar el rendimiento del proceso de extracción seleccionado.
- ❖ Determinar las características físicas y químicas de la Bixina.

Justificación

Hoy en día el uso de los colorantes que mantengan su característica natural, es vital en los productos, debido a las recomendaciones de las organizaciones de salud y medicinales; tiene el fin de disminuir el consumo de los colorantes artificiales o sintéticos en alimentos, cosméticos y otros; mejorando la calidad de vida de las personas.

En el municipio de Bermejo, provincia Aniceto Arce del departamento de Tarija se produce achiote (Bixa Orellana) en forma silvestre por lo que actualmente se comercializa como semilla. Con la extracción de Bixina se dará valor agregado y se podrá diversificar la producción.

Se generará más puestos de empleo, siendo los beneficiados tanto el productor como el consumidor, además de una mayor producción dada la mayor demanda de materia prima y producto en un futuro se podrá exportar, generando mayores ingresos para nuestro Departamento.

Lo desechado puede ser usado como alimento de animales, tales como las aves, de esta manera no se desperdiciará nada y se contribuye a disminuir la contaminación del medio ambiente.

En cuanto al proyecto de investigación se espera brindar una alternativa viable para dar valor agregado a una materia prima que en la actualidad en nuestra región se produce de manera silvestre, pero que bien puede cultivarse para mejorar sus rendimientos y dar así alternativas de mejores ingresos a una población que tiene casi un monocultivo como lo es el de la caña de azúcar. Es importante destacar que a nivel nacional el Achiote se produce de manera comercial en varios departamentos como ser Cochabamba y Santa Cruz, y se cosecha en tres épocas del año, con pocos cuidados abasteciendo para obtener colorante natural, lo cual genera un importante movimiento económico como sustento para las familias, a diferencia de la caña de azúcar y los cítricos.

Salud

El colorante de achiote tiene la propiedad de repelente y ayuda a la cicatrización de heridas debido a sus beneficios, también se usa en farmacéutica para dar color a jarabes y pastillas.

Medicinales

-Es una gran fuente de vitamina A debido a los Carotenoides que una vez consumido por el proceso metabólico se traduce en vitamina A.

-Refuerzo para el sistema inmunológico, juega un papel muy importante en el desarrollo de nuevos fármacos para el tratamiento de enfermedades inflamatorias, además refuerza nuestro sistema inmune para combatir enfermedades como gripe.

-Podría prevenir el cáncer, la norbixina, uno de los componentes encontrados en las semillas de Achiote, conocido por ser un potente antioxidante, tendría un efecto anti-cáncer sobre las células sanas expuestas a células cancerosas y los radicales libres.

Alimentos

-El colorante es usado en quesos procesados, queso crema y queso en salsa.

-La Bixina en aceite puede producir una tonalidad apropiada en margarinas y mayonesas, con un toque de brillo en aceites vegetales y de cocina.

-El yogurt y otras bebidas lácteas pueden ser mejor coloreados con Bixina si lo que se busca un producto final entre amarillo o naranja, logrando una buena estabilidad en condiciones de pH ácidas.

-Se utiliza también para dar color a Helados, jugos de frutas, salsas, aderezos.

Cosméticos

El Achiote es llamado frecuentemente “Árbol de lápiz labial” en América latina, porque los nativos usan su pigmento natural proveniente de sus semillas para hacer pintura.

Esta justificación se sustenta en 4 aspectos fundamentales:

Aspectos del Mercado

El proyecto pretende contribuir a diversificar la producción del colorante del achiote como es la Bixina, promoviendo su uso como colorante natural, para el mercado local nacional y a futuro las exportaciones.

Aspecto Tecnológico

Se validará una tecnología que permita el aprovechamiento de las semillas de achiote que pueden ser utilizada para extraer el colorante natural, que tiene un amplio uso en las industrias alimenticias y cosmética.

Contribuir con innovaciones que impulsen la producción nacional, eleven la eficiencia y productividad, mejoren la calidad de vida y contribuyan a la realización del buen vivir.

Aspecto Económico-Social

Será una oportunidad de negocio para las industrias de colorantes y se podrá darle un valor agregado a la producción.

Se incentivará a producir el achiote como cultivo; generando más puestos de empleos y mejora en la producción del agricultor.

Los beneficiarios serán tanto el productor como el consumidor, al obtener un producto de gran calidad y mayor valor agregado; repercutirá tanto en el interior como en el exterior, ya que hay demanda del producto, y se podrá exportar. Habrá más puestos de trabajo.

Aspecto Ambiental

Se aplicará una tecnología ambientalmente amigable, que no genere descargas de residuos que contaminen el medio ambiente.

Promoviendo el uso de un producto silvestre se contribuye a un control ambiental o disminución de la contaminación ambiental que se genera al no aprovechar las semillas de achiote.

CAPÍTULO I
MARCO TEÓRICO

1.1.El Achiote (*Bixa Orellana*)

Generalidades

El Achiote (*Bixa Orellana L.*), también conocido como urucú, es una planta originaria de las regiones tropicales y subtropicales de América del Sur y América Central. Se cultiva principalmente en Perú, Ecuador, Colombia, México, Brasil, Cuba, República Dominicana y Jamaica. Hoy en día se siembra también en regiones de Asia y Medio Oriente. La planta de Achiote es un árbol frondoso con flores de color blanco o rosado y su tamaño varía desde los 3 hasta los 10 metros. Estas características dependen de la región, del clima y de las condiciones del suelo. (Huerta L.D.C. y Ostos R.R. 2014).

A la llegada de los Europeos, el achiote era cultivado desde México hasta Brasil, siendo su área de origen, posiblemente, la hoya amazónica. El uso inicial del achiote fue para pintura y tatuaje del cuerpo, como se utiliza aún entre ciertas tribus nativas de Sur América, protegiéndose así de los insectos, además de utilizarlo para teñir telas de algodón y algunos utensilios de cocina.

1.2. Clasificación Taxonómica

Tabla I-1: Clasificación Taxonómica del achiote

Reino:	Vegetal
Tipo:	Endoprotales, fanerógamas, espermatofitas.
Sub-tipo:	Angiospermas o estigmadas.
Orden:	Parietales, ranancúlidas.
Familia:	Bicáceas
Género:	Bixa
Especie:	Orellana linnes
Nombre vulgar:	Achiote, achote, anato

Fuente: Optimización del tiempo de lavado en el proceso de extracción de Bixina con álcali a partir de semillas de achiote (*bixa Orellana*) de diferente Maduración (Lanza, J.M. 1997)

1.3. Características morfológicas del achiote

1.3.1. La planta

La planta del achiote es un arbusto de rápido crecimiento, que alcanza de cuatro a seis metros de altura, su aspecto es robusto, con flores muy vistosas y de color blancas o rosadas según sea la variedad; el fruto es una cápsula de color pardo rojizo o amarillo verdoso que contiene de 30 a 45 semillas cubiertas por una delgada capa o arilo que, por su contenido de Bixina, es de color rojo o anaranjado y constituye la sustancia tintórea propiamente.

Figura 1-1: Planta o arbusto del achiote



Fuente: Elaboración propia, Bermejo 2016

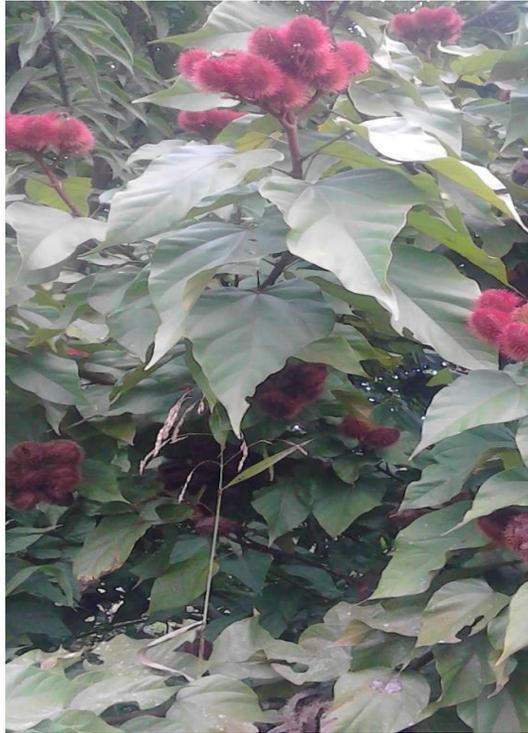
1.3.2. El tallo

Presenta un diámetro o eje principal que puede llegar hasta 40 cm a nivel del suelo. Las ramas en general son delgadas, tendiendo a leñosas y su coloración varía del verde al morado.

1.3.3. Las hojas

Tienen un color verde oscuro, son acorazonadas en la base, alternas, agudas en el ápice, y lisas por ambas caras, miden de 10 a 20 cm de longitud. (Rojas, J.O. 2002)

Figura 1-2: Hojas del achiote



Fuente: Elaboración propia, Bermejo 2016

1.3.4. Las flores

Las flores están dispuestas en ramilletes terminales y son hermafroditas, de colores blanco a rosado según las variedades; su floración es escalonada y comienza por los capullos terminales. (Susana R., 2010)

Figura 1-3: Flor del achiote



Fuente: Elaboración propia, Bermejo 2016

1.3.5. El fruto

El fruto es una cápsula de color rojo, erizada de pelos gruesos, dehiscente, de color verde oscuro o morado según las variedades, que al madurar se tornan de color pardo-rojo obscuro. En cada valva se encuentra un número variable de semillas, desde 10 hasta 40, en relación con el tamaño de la cápsula; aunque en promedio se puede tomar como 20 semillas por cápsula en los ejemplares espontáneos. (Susana R., 2010)

Consiste en una vaina rugosa cubierta de espinas flexibles, conocida como “pocha” la cual varía de tamaño, color y apariencia, pudiendo ser redonda o elongada, de aproximadamente 3 cm de ancho y 5 cm de largo. En su interior se encuentran las semillas que varían en número, desde 10 hasta 50 las cuales están recubiertas de una pequeña capa de resina suave, levemente pegajosa de color naranja/rojizo y constituye la materia prima para el proceso. (Lanza, J.M. 1997).

Figura 1-4: Fruto del achiote



Fuente: Elaboración propia, Bermejo 2016

Figura 1-5: Fruto abierto del achiote



Fuente: Elaboración propia, Bermejo 2016

1.3.6. Semillas del achiote

Cuando las cápsulas han madurado, se desprenden las semillas del interior las cuales son parecidas en forma y tamaño a las de las uvas.

Estas semillas están cubiertas por una capa resinosa delgada color rojo amarillento o anaranjado brillante. Esta *es* la parte más utilizada de la semilla, sin embargo, también se utiliza su aceite y en algunos casos las hojas de la planta.

La capa externa representa el 10 % del peso total de la semilla y contiene entre otros componentes de 4 a 6 % de su peso de pigmentos. De este porcentaje el 70 a 80 % se refiere a la Bixina y el resto a otros compuestos coloridos en su mayoría amarillo que tiene bajo valor de pigmentación.

Al peso de la semilla madura corresponde un 10 % a la cubierta externa, un 22 % a la corteza, y un 68 % al interior. (Guzmán F.J., Salinas M. y Quiroz V.M. 1992)

El fruto de la planta, que tiene forma redonda y hueca por dentro, contiene aproximadamente 40 semillas de color rojizo como se observa en la Imagen 2. A partir de las semillas se obtiene el colorante natural conocido como Bixina, cuyo código comercial en la Unión Europea es E-160d y se comercializa principalmente en polvo, aunque también existen presentaciones en pasta. (Huerta L.D.C. Y Ostos R.R. 2014)

Figura 1-6: Semillas de Achiote



Fuente: Elaboración propia, 2017

1.4. Variedades de Achiote

No se han realizado estudios sistemáticos amplios. Empíricamente se conocen algunas variedades, distinguidas por características de color y forma de las cápsulas:

- * Variedad de flor rosada y cápsula morada.
- * Variedad de flor blanca y cápsula verde.
- * Variedad con cápsula sin espinas.

El Centro Agronómico Tropical de Investigaciones Experimentales - CATIE - de Costa Rica realiza, desde hace varios años, estudios varietales. (Susana R., 2010)

1.4.1. Ecología

El achiote se ha adaptado a distintos tipos de clima y suelos en la franja intertropical americana. Soporta temperaturas desde 24° hasta 35° C y, en altitud, de 100 a 1.000 m., aunque prospera mejor en zonas relativamente bajas (100 a 500 m) y planas, con temperaturas entre los 25 y los 30 °C y sin heladas; con tres meses de temporada seca, y precipitaciones anuales de 1.000 a 1.200 mm. (Susana R., 2010)

1.4.2. Cultivo

Se puede realizar siembra directa ubicando tres o cuatro semillas por hoyo y después se hace raleo dejando las plántulas más vigorosas. Es recomendable proveer un sombreado hasta que la planta alcance unos 35 cm. de altura.

Se puede realizar también en almácigo - lo más conveniente - bajo sombra y se procede después a su transplante al lugar definitivo cuando las plántulas hayan alcanzado una altura de 25-30 cm.

La época de siembra más adecuada es a principios de primavera, pudiendo prolongarse hasta fin de la misma.

Tanto la plantación a campo como en los almácigos deben ser regadas y limpiadas de malezas con suficiente frecuencia.

Estacas: Se puede utilizar este método si se desea multiplicar determinados clones. Para ello se seleccionarán estacas de madera dura que aseguren un mayor enraizamiento.

Injerto: Permite lograr mejores rendimientos y uniformidad en la madurez de las cápsulas.

Entre los tipos probados, ha sobresalido el "de escudete".

En plantación definitiva, las distancias entre plantas pueden variar entre 3 x 4 metros, 4 x 4 m., 4 x 5 m., 5 x 5 m. e incluso mayores, lo que depende, entre otros factores, de la fertilidad del suelo. Los hoyos deben tener una profundidad de 0,40 m. y un diámetro igual y serán abiertos con suficiente anticipación. (Susana R., 2010)

Labores

Durante el crecimiento de las plantas es necesario mantener el cultivo libre de malezas. Generalmente con dos deshierbes por año es suficiente; éstos se pueden realizar con azada o cultivador. Cuando la plantación es adulta, basta una sola limpieza en el año.

Una poda, por lo general cada dos años, será necesaria para quitar de las plantas las ramas secas, chupones, etc., que afectan el rendimiento.

Fertilización

Dependerá de las necesidades que se aprecien durante el desarrollo del cultivo, pues no hay experiencias suficientes.

Plagas y enfermedades

Los enemigos del achiote no han sido tampoco objeto de estudios científicos. Sin embargo, en otros países, se han identificado varias plagas como hormigas (*Atta* sp), trips (*Selenothrips* sp), arañuelas rojas (*Tetranychus* sp.) y cochinillas (*Pseudococcus* sp).

En cuanto a enfermedades, se han observado las manchas de la hoja (*Cercospora* sp.) en arbustos expuestos a la sombra, oídio polvoriento (*Oidium* sp), royas (*Uredo* sp), entre otras.

Cosecha

Los arbustos de achiote entran en producción comercial entre los 3 y 4 años de edad, aunque la primera cosecha se inicia entre los 18 y 24 meses de efectuada la plantación; esta primera cosecha es pequeña.

El número de años en que una plantación resulta redituable varía de acuerdo con las condiciones del suelo, el clima y el manejo que se haga; término medio dura unos 12 años, pero generalmente es mayor en terrenos fértiles.

Los frutos maduran alrededor de setiembre y cuando maduros, por ser dehiscentes, se abren en dos. En tal momento deberán recolectarse en canastas, bateas o cajas.

Luego se extraen las semillas, preferentemente después de asolearlas un poco para que la materia colorante se fije mejor.

Cuando la extracción del colorante no se realiza inmediatamente, las semillas se exponen al sol durante 3 a 4 días, en capas finas, sobre una superficie limpia y se remueven a menudo. Una vez secas se envasan en sacos, cajas, etc. para ser vendidas.

1.4.3. Rendimiento

El rendimiento promedio de una plantación depende del suelo y la edad de la planta, entre otras variables, pero se consideran normales 1.000 kg/ha de frutos secos, del cual las semillas representan el 50-60 % de ese peso total, o sea 500-600 kg/ha, es decir, en promedio se obtienen de 500 a 600 kg de semilla por hectárea.

En los años 2015 y 2016 el rendimiento agrícola según cultivo (en kilogramos por hectárea) en Bolivia es de 541 Kg/ha de Achiote o Urucú (según datos del INE).

1.4.4. Características fisicoquímicas de la semilla del achiote

El principal constituyente colorante de la semilla del achiote es la bixina, que se encuentra en la cubierta exterior de la semilla del fruto, representa más del 80 % de los pigmentos presentes, lo cual facilita su extracción; los componentes principales de la semilla del achiote son:

- Resina
- Orellina (materia colorante amarilla)
- Bixina (materia colorante roja) (80 %)
- Aceite Volátil y aceite Graso

La composición tanto química como nutricional de la semilla del achiote es muy variada, como puede observarse en las siguientes Tablas:

Tabla I-2: Composición Química de la semilla del achiote (%)

Humedad	8.00 - 13.00
Proteína	13 -14.24
Celulosa	13.8
Fibra cruda	18.48
Almidones	11.45
Carbohidratos totales	39.91
Ceniza	4.50 - 7.97
Energía	54 kcal

Fuente: Extracción del colorante del achiote (Christian Andrew Aguilar Mamani, 2013)

Tabla I-3: Composición Nutricional de la semilla del achiote (mg/100g)

Calcio	7
Fósforo	10
Hierro	1.4
Vitamina A	45 g
Riboflavina	0.2
Niacina	1.46
Tiamina	0.39
Acido ascórbico	12.5

Fuente: Extracción del colorante del achiote (Christian Andrew Aguilar Mamani, 2013)

Tabla I-4: Composición del pigmento del achiote (g/100g)

Proteínas	12.3 - 13.2
Pectina	0.23
Carbohidratos	39.91 - 47.90
Ceniza	5.44 - 6.92
Taninos	0.33 - 0.91
Pentosanos	11.35 - 14.97
Carotenoides	1.21 - 2.30
B-carotenos	6.8 - 11.30 mg

Fuente: Extracción del colorante del achiote (Christian Andrew Aguilar Mamani, 2013)

1.4.5. Exportaciones de Achiote

De acuerdo a los estudios del Instituto Boliviano de Comercio Exterior (IBCE), de marzo de 2009, los principales destinos de las exportaciones bolivianas de semillas de achiote son Ecuador, Perú y Argentina. En 2007 las exportaciones de achiote suman \$us 89 mil. Por su parte, las exportaciones de polvo de achiote tienen como destinos a: Argentina, Chile, España y Estados Unidos. Este tipo de exportaciones bolivianas no son constantes.

1.4.6. Importadores

Estados Unidos y los Países Bajos dominan el mercado de las importaciones de achiote, con una participación del 11.3 % y 11.1 % respectivamente.

Sin embargo, los países importadores que muestran mayor crecimiento en las importaciones de este producto son: Pakistán con 11.6 % de crecimiento entre 2003 y 2007; y en menor medida se encuentra Dinamarca, junto con España y Australia con 16 % y 15 % respectivamente. (IBCE marzo 2009)

Tabla I-5: Principales mercados de Bolivia para semillas de achiote, Año 2007

Países Importadores	Valor (\$us)	Volumen (kg)	Crecimiento % (2003-2007)
Ecuador	78480	72632	176
Perú	8400	10010	329
Argentina	2760	13815	-95
Total	89640	96457	

Fuente: Productos con potencial exportador (IBCE, marzo 2009)

Tabla I-6: Principales mercados de Bolivia: achiote en polvo, Año 2007

Países Importadores	Valor (miles de \$us)	Volumen (kg)
Argentina	23678	144563
Chile	4320	27020
España	310	264
Estados Unidos	128	137
Total	28436	171984

Fuente: Productos con potencial exportador (IBCE, marzo 2009)

1.4.7. Precios del Achiote

El precio actual del achiote estimulará a muchos productores a producir colorantes naturales, situación que posteriormente contribuirá a un descenso de precios difícil de predecir señala el IBCE. Se puede establecer un rango de precio CIF (Termino de Comercio Internacional), oscila entre 700 a 750 Bs el Quintal de semillas de achiote. En los últimos años el precio del achiote tuvo un ascenso. (BOLIVIA LAND 2009)

1.4.8. Usos del Achiote

El "achiote" ha sido utilizado desde tiempos primitivos, y lo es aún, por indígenas del Amazonas como tinte para la piel, lo cual, además de su valor ornamental, protege contra las picaduras de insectos y ayuda en la cicatrización de las heridas. Los colonizadores españoles le dieron luego uso como condimento o especia para cocinar por sus propiedades parecidas al azafrán (*Crocus sativus* L.).

En América se sigue cultivando para tal fin, sin embargo, se ha retomado el interés industrial por el achiote como colorante natural en razón de las legislaciones drásticas acerca del uso de los colorantes químicos en la producción de alimentos. (Susana R., 2010)

1.5. Bixina (Colorante Natural)

1.5.1. Características de los colorantes

Colorantes

Los colorantes son sustancias de origen natural o artificial que se usan para aumentar el color de los alimentos o cualquier otro material, ya sea porque el alimento ha perdido color en su tratamiento industrial o bien para hacerlo más agradable a la vista y más apetecible al consumidor.

Aquellas sustancias que se añaden o devuelven color a un alimento, e influyen componentes naturales de sustancias alimenticias y otras fuentes naturales que son naturalmente consumidas como alimentos por sí mismos y no son habitualmente utilizados como ingredientes característicos en alimentación.

Hay aromas que por su proceso de extracción que son provenientes de productos naturales,

contienen sustancias colorantes que pueden conferir color al alimento en el que se usan. Estos aromas se denominan extractos vegetales naturales.

Colorantes Naturales

Los colorantes y tintes naturales hacen referencia a colorantes o tintes derivados de plantas, invertebrados y otros productos de color. La mayor parte de los colorantes naturales son colorantes vegetales provenientes de plantas, así también como de alimentos como:

- Azafrán
- Achiote
- Betarraga
- Maíz morado

Figura 1-7: Colorantes naturales



Fuente: Extracción de Colorantes, Universidad Nacional de Cajamarca Perú (Elvis Chavarría, 2016)

Colorantes Artificiales

Los colorantes artificiales son solubles en agua, debido a la presencia de grupos de ácido sulfónico, y consecuentemente son fáciles de utilizar, generalmente en sales sódicas, en líquidos y materiales pastosos. También se pueden utilizar en forma insoluble, como lacas con hidróxido de aluminio, cuando se añaden a productos sólidos, para evitar que estos productos “destiñan”. En este segundo caso, el colorante representa solamente entre el 10 % al 40 % del peso total. (Chavarría E, 2016)

Figura 1-8: Colorantes artificiales



Fuente: Extracción de Colorantes, Universidad Nacional de Cajamarca Perú (Elvis Chavarría, 2016)

1.5.2. Colorantes del achiote

El colorante obtenido de las semillas de achiote es un colorante natural, compuesto en su mayoría por el carotenoide Bixina, que se utiliza en la industria láctica, cárnica, condimentaria, cosmética, farmacéutica, etc. (Chavarría E, 2016)

Figura 1-9: Colorantes del achiote



Fuente: Extracción de Colorantes, Universidad Nacional de Cajamarca Perú (Elvis Chavarría, 2016)

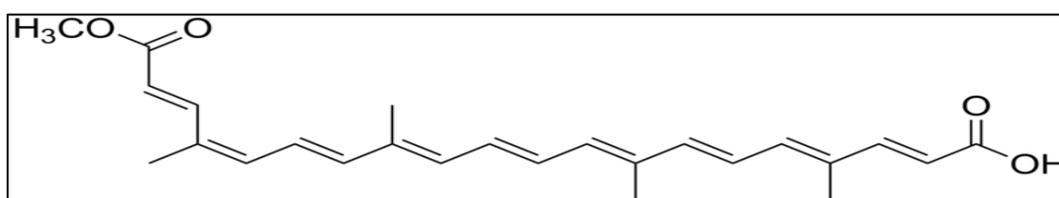
1.5.2.1. Bixina

Llamado también bija o annato, cuya fórmula es $C_{25}H_{30}O_4$ de peso molecular 394,49. Se presenta como isómero geométrico del tipo cis, pero que puede convertirse a su forma trans, más estable. Se usa en forma de pasta para la elaboración de mantequilla y en forma

de una solución alcalina diluida como aditivo para la leche destinada a la elaboración de queso. Sus dos pigmentos principales, la Bixina (soluble en aceite) y norbixina (soluble en agua) producen una solución naranja. El color de la Bixina depende mucho del PH: entre PH 6 y 7 es predominante amarillo, mientras que en PH inferior a 5,5 es predominante el rojo.

Se conoce químicamente como metilhidrogenuro 9 cis 6-6 dioate, que pertenece a los lípidos por su estructura y sus características. Su estructura química es la siguiente:

Figura 1-10: Estructura química de la Bixina



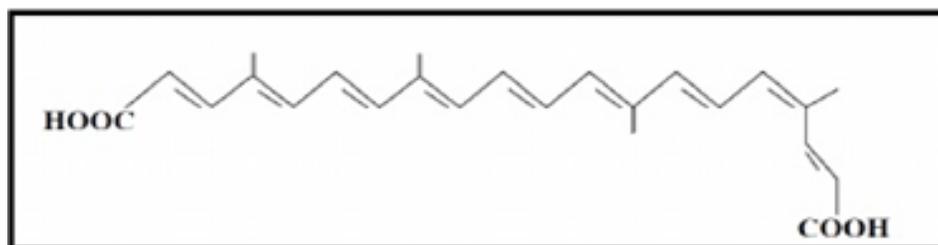
Fuente: chemical structure of cis-bixin (Edgar181, 2009)

1.5.2.2. Norbixina

Fórmula C₂₄ H₂₈ O₄ de peso molecular 380,50. Es un carotenoide producido por la eliminación del grupo ester metílico de la Bixina, es estable al oxígeno, sensible a la luz y al calor, es soluble en agua, se utiliza como colorante y en algunos casos como sustituto del beta caroteno.

Conocida químicamente como diapo 6-6 caroteno-dioico, obtenida de la saponificación del éster metílico de la Bixina. Esta característica la convierte en hidrosoluble a valores de PH alcalinos. (REITH, 1971, p.863). Su estructura química es la siguiente:

Figura 1-11: Estructura química de la norbixina



Fuente: Extracción de Colorante (Bixina) a partir de semillas de Achiote (Bixa Orellana L.) (Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza, 2012)

1.5.2.3. Características fisicoquímicas de la Bixina y Norbixina

Tabla I-7: Características fisicoquímicas de la Bixina y de la Norbixina

Características	BIXINA	NORBIXINA
Fórmula molecular	$C_{25}H_{30}O_4$	$C_{24}H_{25}O_4$
Peso molecular	394.5	380.5
Punto de fusión	204-206°C	No funde (se carboniza a 240°C)
Solubilidad	Insoluble en agua, poco soluble en etanol y bastante soluble en aceites vegetales.	Soluble en agua y etanol
Espectrofotometría	Diluido en cloroformo, tiene absorbancia máxima a 439, 470 y 501nm.	Diluido en agua, tiene absorbancia máxima a 453 y 482 nm.

Fuente: Optimización del tiempo de lavado en el proceso de extracción de Bixina con álcali a partir de semillas de achiote (bixa Orellana) de diferente Maduración (Lanza, J.M. 1997)

1.5.3. Características del producto Extraído (Bixina)

El producto o extracto del achiote consiste en una mezcla de dos componentes principales los cuales son Bixina y Norbixina, que son extraídos del pericarpio de las semillas del achiote, los cuales se encuentran en forma de polvillo fino. Estos componentes forman parte de la familia de los carotenoides, colorantes anaranjado rojizo y ampliamente distribuido en el reino vegetal.

Dependiendo del proceso de extracción aplicado se pueden obtener diferentes tipos de producto, que difieren por el contenido Bixina y Norbixina, por ejemplo, a nivel mundial, GLOBENATURAL INTERNACIONAL, produce los siguientes derivados del achiote:

a) **Annato Powder**

Es un polvo poroso, el cual es extraído de las semillas de achiote en solución básica, para luego ser precipitado con ácidos minerales. El polvo tiene un contenido de hasta 25% de Bixina.

b) **Annato Podwer Desgrasado**

Es un polvo no poroso, con un contenido de Bixina de hasta 35 %.

c) Norbixin Podwer

Preparado en soluciones alcalinas calientes y luego acidificada. El polvo contiene hasta 35 % de Norbixina.

d) Annato Liposoluble

Es una suspensión de Annato en aceite, se puede obtener empleando Annato Podwer desgrasado o sin desgrasar, se fabrica hasta concentraciones de 3 % de Bixina.

e) Annato Oil

Es una solución de Bixina en aceite vegetal refinado, el producto tiene una concentración de hasta 2 %.

f) Norbixina Líquida

Son soluciones acuosas alcalinas de Norbixina con una concentración de hasta 4 %. Para aplicaciones especiales se han desarrollado también productos estables en medios ácidos. (Rojas, J.O. 2002)

1.5.4. Características de los Carotenoides

Más de 600 tipos de carotenoides han sido separados de fuentes naturales. Sus propiedades y características tienen cierta relación ya que todos los tipos tienen una estructura básica similar.

1.5.4.1. Estructura básica

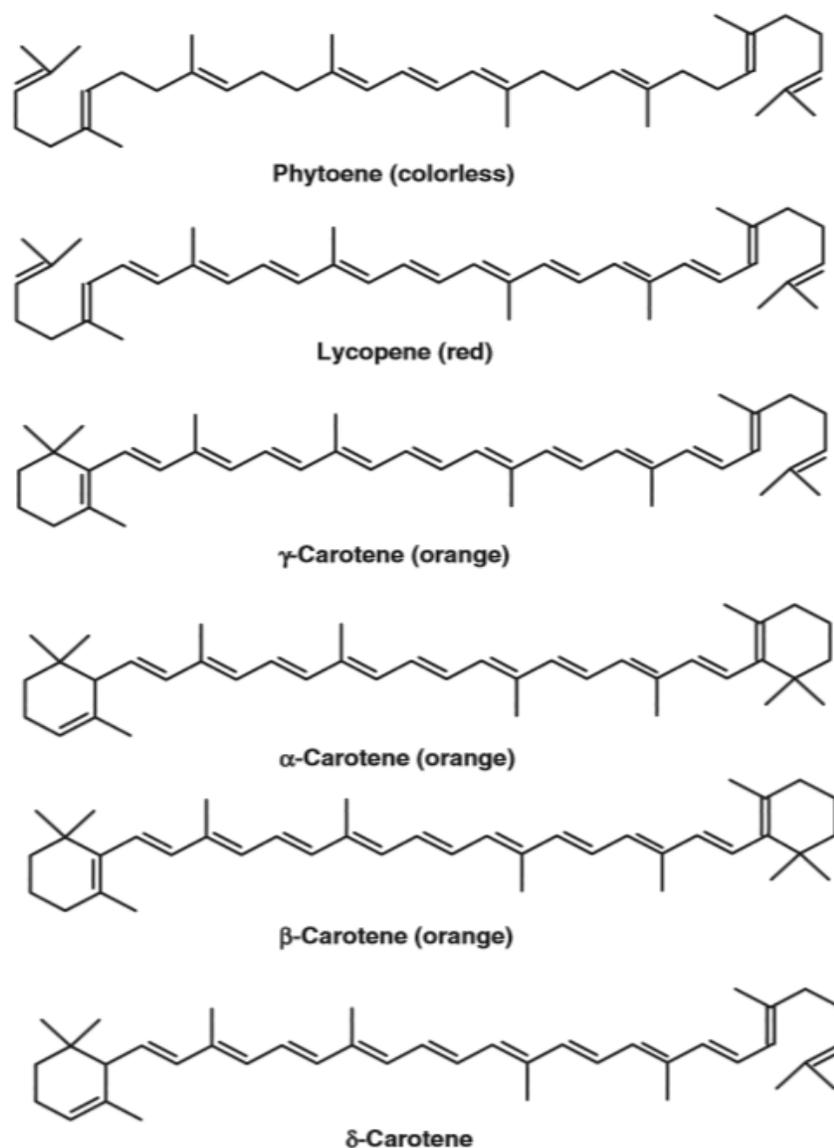
Los carotenoides son tetraterpenoides formados por ocho unidades de isoprenoides, el esqueleto puede ser modificado por la ciclización de los átomos extremos o por hidrogenación o por adición de oxígeno. (Britton, 1995). Una característica importante es la extensa cadena conjugada de dobles enlaces por lo que absorben la luz dando colores atractivos. El espectro visible sirve de base para su identificación y cuantificación.

Se clasifican en dos grupos; carotenos y xantofilas. Los carotenos son hidrocarburos, contienen hidrogeno y carbono, como ser el b-caroteno y licopeno. Las xantofilas a diferencia de los carotenos contienen; oxígeno, grupos hidroxilos, epóxidos, aldehídos o cetonas.

Los carotenoides pueden ser acíclicos (licopeno), monocíclicos (γ -caroteno) o bicíclicos (α -caroteno o β -caroteno). Estos existen en su mayoría en su forma todo-trans (*all-E*) y en pequeña cantidad en la forma cis (o *Z*).

A los carotenoides se les denomina con nombre que incluye la variación de los anillos laterales, en especial la posición del enlace doble. Para los carotenos se emplea el sufijo *caroteno* y para las xantofilas el sufijo *ina*. (Rodríguez, Amaya, & Kimura, 2004)

Figura 1-12: Estructura de los principales Carotenos



Fuente: Fruit and Vegetables Phytochemicals (A. de la Rosa, Alvarez, & A. Gonzáles, 2010)

1.5.4.2. Propiedades

Los carotenoides son extremadamente hidrofóbicos, es decir, no son solubles en agua. Por lo tanto, son restringidos a áreas hidrofóbicas de la célula, excepto si está asociada con proteínas que les permiten el acceso a medios acuosos. Los carotenoides colorados en su conformación *trans* son lineales y rígidos, como el licopeno.

1.5.4.2.1. Estequiometría

Cada doble enlace de la cadena básica del caroteno puede existir en dos tipos de conformación *cis* o *trans*. Teóricamente puede haber un sinnúmero de conformaciones pero la más estable en la naturaleza es la forma *trans* ya que es la conformación a baja energía.

Todas las conformaciones *trans* dan a la molécula la característica de ser lineales y rígidos, mientras que las moléculas en la conformación *cis* no son completamente lineales. La tendencia del isómero *cis* a cristalizar o agregar es mucho menor, sin embargo, resulta disolverse más rápido, absorberse y transportarse que el isómero *trans*.

1.5.4.2.2. Absorción de la luz

La absorción de la luz por moléculas orgánicas produce una excitación de la molécula. En el caso de los carotenoides la transición de los electrones del doble enlace π al orbital no ocupado π^* . Los electrones π son altamente deslocalizados, el estado excitación es comparativamente de baja energía, por lo tanto, la energía requerida es relativamente pequeña y corresponde a la luz visible entre los rangos de 400-500nm. Los carotenoides tienen entonces colores intensos entre el amarillo, naranja o rojo.

1.5.4.2.3. Propiedades químicas

La reacción de oxidación de los carotenoides es importante para evaluar su propiedad anti-oxidativa. La parte fundamental de la molécula es la cadena de polienos por su alta reactividad, este sistema es susceptible a ser atacado por agentes electrofílicos responsables de inestabilidad de los carotenoides hacia la oxidación. Esta es la importancia de la molécula con los radicales libres.

- ***Oxidación***

Los radicales con un alto potencial pueden remover un electrón de la molécula del carotenoide para darle una carga positiva.

- ***Reducción***

La adición de un electrón al carotenoide da como resultado un anión.

- ***Adición***

La adición de una especie de radical como un peroxi ROO* o un hidróxido HO* a la cadena de polieno puede generar otro radical.

1.6. Usos de la Bixina

1.6.1. En la industria de alimentos:

Como condimento en embutidos, como colorante en solución en aceite utilizado para colorear mantequilla, margarina, helados.

Su solución en agua ligeramente alcalina para colorear quesos. También se utiliza para colorar galletas, tortas, panetones, artículos de confitería. En la alimentación de aves de corral, se ha encontrado que el residuo que queda después del proceso de preparación del achiote, es una buena fuente de vitamina A. se tienen experiencias en el sentido de que agregando un 3 % de harina de achiote a la ración alimentaria de las gallinas ponedoras, aumenta el contenido de carotina de los huevos y por tanto mejora el color de las yemas. En raciones para pollitos, puede reemplazar del 30 al 50 % del maíz.

Figura 1-13: Colorante del achiote



Fuente: Productos con potencial exportador (IBCE, 2009)

1.6.2. En la industria cosmética:

En la fabricación de lápices labiales, bronceadores, polvos faciales, sombras para ojos, vaselina para el cabello, esmalte para uñas, otros.

Figura 1-14: Achiote en polvo



Fuente: Elaboración propia, 2018

1.6.3. En la industria farmacéutica:

Como colorante para jarabes.

1.6.4. En general:

En cerámica, textilería, ceras para pisos, betunes para calzado.

Se ha experimentado para teñir tejido adiposo. Los pigmentos puros de Achiote poseen colores potentes altamente tintoriales. Para muchas aplicaciones 100 ppm del pigmento puro se requieren para obtener el matiz o intensidad deseados. Los productos muy altamente coloreados requerirán más, pero en la mayoría de los casos menos de 100 ppm. Debe señalarse que los preparados y extractos de Achiote contienen entre 0,5 y 15 % del pigmento puro de achiote. En la industria se emplea para colorear las telas de amarillo, anaranjado o rojo intenso, para modificar o avivar ciertos tintes y para dar color a los barnices, aceites y grasas animales. (Rueda, L.M. y Niño, M.J 2004)

Figura 1-15: Bixina (Colorante natural)



Fuente: Elaboración propia, 2018

Figura 1-16: Aplicaciones del Colorante de Achiote

	<p>Queso Procesado</p> <p>Colores vivos en tonos amarillos que ofrecen una apariencia apetitosa.</p>
	<p>Margarina, Aceites y Manteca Vegetal</p> <p>Brillantes y frescos tonos pueden ser obtenidos con el uso de colorantes extraídos del achiote.</p>
	<p>Productos Lácteos</p> <p>Una gran variedad de productos lácteos tales como el yogurt y los helados resaltan su frescura con este colorante.</p>
	<p>Cereales</p> <p>Tonalidades que van desde los amarillos-anaranjados hasta los marrones-dorados.</p>
	<p>Frituras y Snacks</p> <p>Tonos amarillentos hasta anaranjados-rojizos ideales para productos con sabor a queso.</p>
	<p>Empanizadores</p> <p>Empanizadores para carnes, pollo, pescado y productos como los aros de cebolla pueden realzar su apariencia.</p>

Fuente: Aplicaciones del Achiote (TECO Técnica Ecológica, S.A. San José Costa Rica, 2005)

1.6.5. Aplicación según la forma del producto

El extracto colorante de las semillas de achiote es comercialmente aprovechado en las siguientes formas, dándole a cada caso su aplicación particular:

1.6.5.1. Pigmento de achiote soluble en aceite

Puede ser en suspensión o en solución del tinte en aceite vegetal, la concentración que presenta puede variar desde 0,53 hasta 3 % de bixina. Es usado como colorante de alimentos con un grueso contenido de aceite, tales como la mantequilla, margarina, aceite para ensaladas y condimentos, aceites comestibles, grasas y otros productos grasos.

1.6.5.2. Pigmento de achiote en solución acuosa

En una solución alcalina de una sal potásica o sódica de Bixina (Norbixina). Es usado principalmente para colorante de queso, productos de panadería, sopas instantáneas, condimentos, pescado ahumado, azúcar y harina para dulcería, y otros productos con bajo o cero contenidos de grasa.

1.6.5.3. Cristales de Bixina

Esta es una forma cristalizada del caroteno, Bixina; los cristales de Bixina comercializados, son variables en su pureza, la cual puede alcanzar de 50 a 99 %. Son usadas para la preparación de soluciones de color de alto valor tintóreo, tales como en alimentos y productos no alimenticios.

1.6.5.4. Pigmento de achiote en polvo

Esta es la forma del producto que tiene más aceptación en el mercado internacional, por sus aplicaciones en agua y en seco, además por su facilidad de transporte y porque contiene una alta proporción de Bixina y Norbixina. (Rojas, J.O. 2002)

1.7. Métodos de extracción de Bixina

Desde la antigüedad se conocen diferentes métodos de extracción del colorante del Achiote que varían desde la extracción rudimentaria o artesanal hasta los procesos industriales. A continuación, se describen brevemente algunos de los procesos conocidos.

1.7.1. Extracción rudimentaria o artesanal

Para alistar achiote, a las semillas recién cosechadas se agrega un poco de agua y se amasan; así se logra que las telitas se rompan y el achiote quede disuelto en agua.

Para que todo el achiote se desprenda, es preferible lavar varias veces las semillas en un

colador, hasta que las semillas queden del todo limpias. Luego se cocina el achiote ya sin semillas, durante media hora. Es recomendable poner una cucharada de sal por cada litro de agua. Eso ayuda a conservar el achiote. Después se filtra y se pone a baño maría nuevamente hasta que el agua espese juntamente con el achiote. Se pasa al caldo concentrado caliente por un filtro de manta y se deja escurrir de 1 a 2 días. Así queda como una masa; luego hay que pesar dicha masa para agregarle un conservante para evitar que entren mohos. En 3 cucharadas de agua se deshace una cucharada de benzoato de sodio. A esta solución se le agrega una cucharada por cada kilo de masa de achiote. (Lanza, J.M. 1997)

En otro recipiente se pone a calentar y derretir manteca sin dejarla ebulir; por cada kilo de manteca se le puede poner 1 kilo de masa de achiote, luego se deja enfriar, moviéndola de vez en cuando; cuando está un poco caliente se la envasa.

1.7.2. Extracción industrial

La extracción del pigmento a escala industrial se puede hacer con diferentes solventes, tales como agua caliente, álcali diluido, aceites vegetales, propilenglicol, acetato de etilo y otros solventes de menor importancia. Para cada uno de estos solventes se emplean varios métodos de extracción, de acuerdo con la disponibilidad de equipos y recursos.

1.7.2.1. Álcali acuoso

La Bixina, uno de los componentes colorantes del Achiote, es un ácido carboxílico que, al agregarle un álcali acuoso, forma sales alcalinas solubles en agua, lo que permite extraer el colorante de una forma más fácil. Las semillas se lavan con esta solución, el extracto y el lavado se acumulan y la solución roja oscura se neutraliza con un exceso de ácido mineral, el cual precipita el pigmento. Luego se filtra, se lava y el líquido sobrante se separa hasta obtener la masa colorante para secar.

1.7.2.2. Aceites vegetales

La extracción con aceites vegetales consiste en diluir el colorante de las semillas en aceite vegetal caliente, para venderlo en pigmentación de algunos productos lácteos y para fines culinarios. (Devia, J.E. 2005)

1.7.2.3. Extracción con solvente orgánico

Los pigmentos del achiote pueden ser extraídos con un solvente permitido y adecuado como la acetona. Este extracto es filtrado y los pigmentos se cristalizan y lavan.

Finalmente se remueve el solvente hasta alcanzar los niveles permitidos del mismo. Este método de extracción produce el extracto más concentrado, que consiste mayormente de cristales de cis-bixina y con mucha menor cantidad de cristales trans-bixina y cis-norbixina. Estos cristales pueden ser disueltos o suspendidos en aceite o pueden utilizarse para producir una solución alcalina de colorante hidrosoluble. La incorporación de antioxidantes puede potenciar la estabilidad, como es el caso del ácido ascórbico, pero debe ser usado necesariamente en productos o extractos acuoso. (Lanza, J.M. 1997).

1.7.2.4. Propilenglicol

El proceso de extracción se lleva a cabo en frío debido a la alta solubilidad que tiene el pigmento en estas condiciones. El colorante obtenido se emplea para colorear derivados lácteos principalmente (Jaramillo, 1992).

1.7.2.5. Extracción con solución alcalina (NAOH o KOH).

Entre los diferentes métodos y solventes existentes para extraer el colorante del achiote, se selecciona la solución de hidróxido de sodio o potasio para desarrollar los ensayos, a escala de laboratorio, en este proyecto.

Esta selección se fundamenta en las siguientes razones:

Según estudios realizados con diferentes solventes, con una solución de hidróxido de sodio se obtiene el colorante con mejor rendimiento y calidad, el solvente que extrae un mayor porcentaje del compuesto activo por encima del 30 %, además del acetato de etilo, es el hidróxido de sodio; lo cual es determinante en el momento de exportar el colorante.

La extracción con una solución de hidróxido de sodio, es muy común entre algunas empresas extranjeras, tales como KALSEC, localizada en Estados Unidos y dedicada a la extracción del colorante de achiote, *Annatto*, no solo por el método de la solución alcalina, sino también con aceites vegetales, oleo-resinas, entre otros, encontrando que el hidróxido de sodio es el indicado para realizar esta extracción (Kalsec, 2003). (Devia, J.E. 2005)

1.8. Selección del proceso experimental

1.8.1. Selección del proceso de extracción

Cuadro I-1: Ventajas y desventajas del método de extracción con solvente

Proceso	Viabilidad	Ventajas	Desventajas
Soxhlet	Es viable	-Permite extraer una buena cantidad debido al reflujo del solvente. -Accesible y fácil de usar.	-Se extrae en tiempos mayores que en otro método. -Se usan altas relaciones masa soluto. -El efecto de temperatura y tiempo combinados de extracción puede dar una isomerización de la Bixina.
Agitación magnética	Es viable	-Utilizada a escala laboratorio e industrial para la obtención de Bixina. -Los tiempos de extracción son menores que por Soxhlet.	-Tiempos de extracción bajos a comparación de Soxhlet. -Trabaja a temperaturas moderadas. -Se obtiene buenos rendimientos. -Económicamente es accesible.
Lixiviación	Es viable	-Llamada también extracción sólido-líquido, donde el solvente se extrae sin necesidad de agitación. -Trabaja a velocidades bajas.	-Tiempo de extracción largos. -Trabaja a altas velocidades de Lixiviación.

Fuente: Elaboración propia, 2017

De los procesos descritos en la tabla, se selecciona el proceso por agitación magnética ya que es un equipo viable, fácil de utilizar, los tiempos de extracción son bajos, trabaja a temperaturas moderadas y nos da buenos rendimientos.

Además que el equipo; agitador magnético nos facilita el LOU (Laboratorio de Operaciones Unitarias) de la UAJMS.

CAPÍTULO II

PARTE EXPERIMENTAL

2.1. Descripción del método de investigación

La metodología a utilizar corresponde a un trabajo de investigación aplicada que busca, a partir de experiencias y resultados referidos de otros países, seleccionar un proceso tecnológico para la extracción y producción de colorante natural para la industria de alimentos, se recolectarán semillas de achiote del municipio de Bermejo (Tarija-Bolivia) aprovechando los árboles de achiote que cuenta el departamento de Tarija y que sirva de base para la implantación futura de una industria de producción de colorantes naturales en el país.

Para el desarrollo del presente proyecto, la parte experimental comprende dos partes; la primera es la obtención del Colorante Natural de las semillas de Achiote, para ello se utiliza el método por agitación magnética, se realiza la extracción con solución alcalina de Hidróxido de Sodio (NaOH) para despigmentar las semillas de achiote; para ello se realiza dos lavados con agitación a una temperatura de 60 °C y un tiempo de 30 min para una extracción óptima, es decir con mayor rendimiento. Se agrega Ácido Sulfúrico (H₂SO₄), que hace precipitar la solución pigmentada para luego poder filtrar, quedando una pasta rojiza (colorante natural) y por último pasar a la estufa donde se secará a 50-60 °C; obteniendo como producto final colorante el polvo (Bixina).

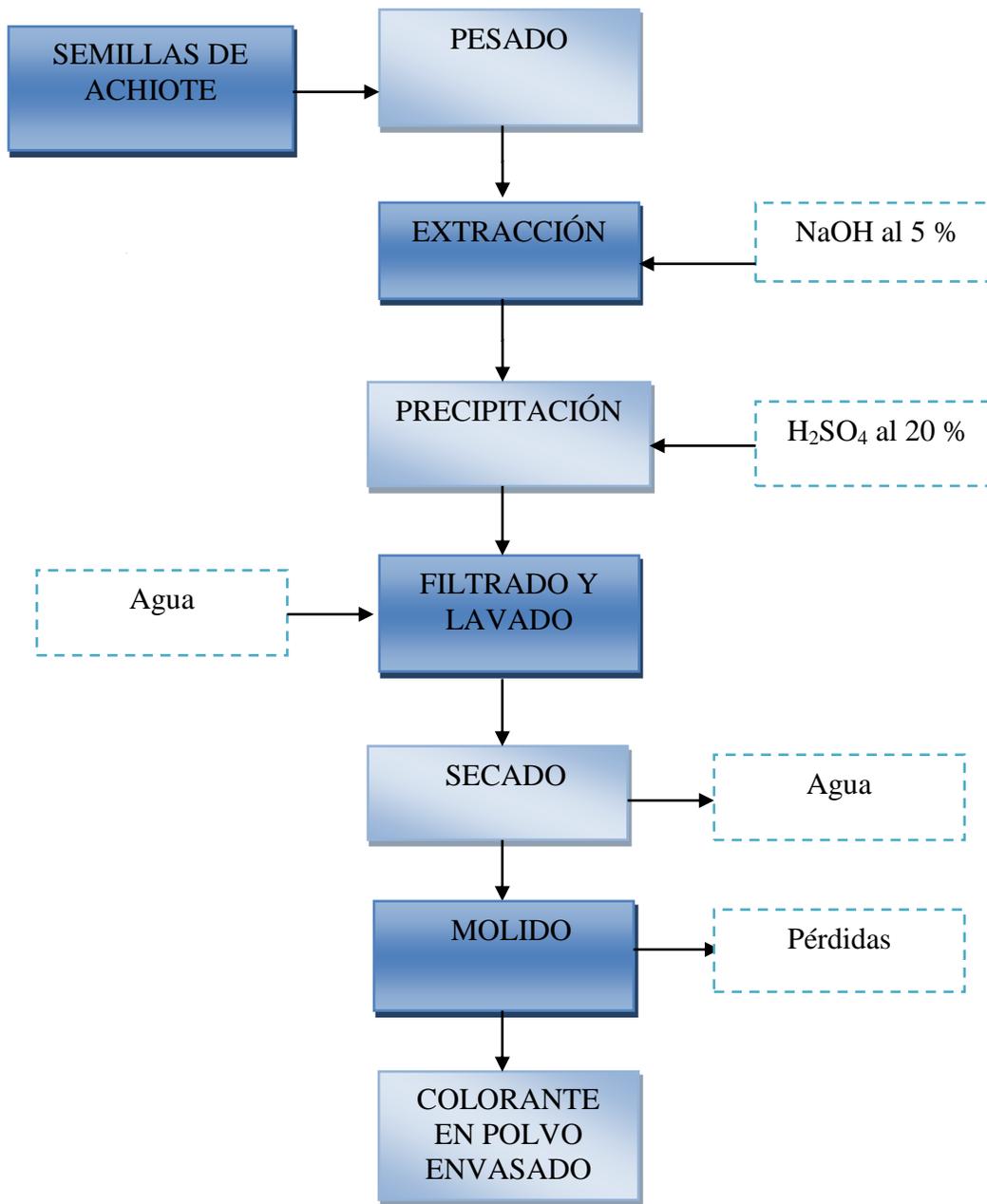
La segunda parte consiste en el desarrollo del diseño factorial, donde se manejan las variables que influyen en el proceso de extracción, en este caso la relación semilla solvente, temperatura y tiempo de extracción, las cuales se hacen variar en diferentes pruebas o ensayos para obtener el mayor rendimiento.

En el siguiente diagrama se describe el proceso de obtención del colorante natural (Bixina).

2.1.1 Proceso de obtención de Bixina

Diagrama de bloques

Proceso de obtención de Bixina (extracción en solución alcalina)



Fuente: Elaboración propia, 2017

Antes del desarrollo experimental se detallan los materiales, equipos y reactivos usados en el proceso.

Tabla II-1: Materiales de laboratorio

Material	Capacidad	Cantidad
Vasos de Precipitación	50 ml	4
	250 ml	1
Probeta	100 ml	1
Erlenmeyer	250 ml	1
	500 ml	2
Embudos	75 mm	3
Pipetas	5 ml	2
Vidrios reloj		3
Varilla de vidrio		1
Mortero		1
Colador		1
Termómetro	100 °C	1
Piseta		1
Papel filtro		20
Bolsas plásticas con cierre hermético		25

Fuente: Elaboración propia, 2017

Tabla II-2: Equipos de laboratorio

Equipo	Descripción	Imagen
Balanza Analítica	<p>GIBERTINI EUROPE 500</p> <p>Max 510 g Min 1g E= 0,01 g d=0,001 g T=-510 g +15°C/+30°C</p>	
Agitador Magnético	<p>AGIMATIC REV-E</p> <p>JP. SELECTA, s.a CE</p> <p>Fuse (A): 4</p> <p>A:2.7 W:640 V:230 Hz: 50/60</p>	
Estufa	<p>P SELECTA</p> <p>Fuse (A): 12</p> <p>A:8.6 W:2000 V:230 Hz: 50/60</p>	

Fuente: Elaboración propia, 2017

Tabla II-3: Materia prima y reactivos

Reactivo o MP	Concentración	Cantidad
Semillas de achiote		1000 g
NaOH (Hidróxido de Sodio)	5 %	1800 ml
H ₂ SO ₄ (Ácido Sulfúrico)	20 %	400 ml
Agua destilada		1000 ml

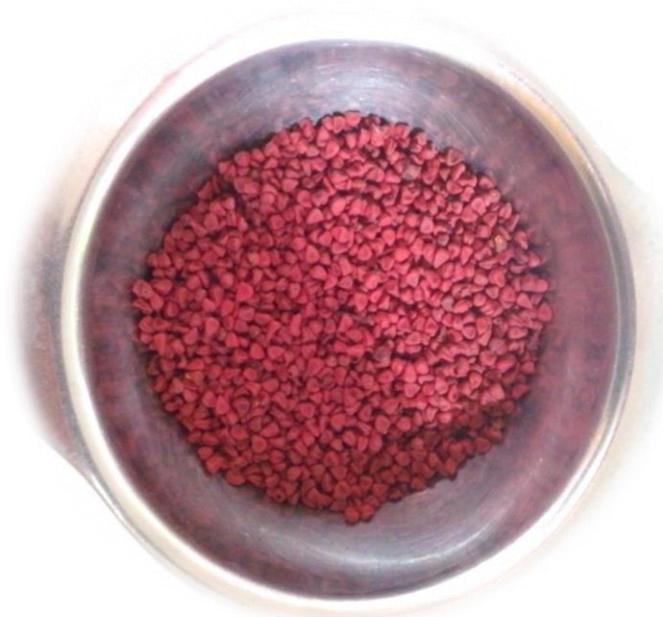
Fuente: Elaboración propia, 2017

Desarrollo del proceso

2.1.1.1 Limpieza

Previo a la utilización de las semillas de achiote para la extracción del colorante, este debe ser cuidadosamente limpiado para eliminar basuras, o cualquier materia extraña que luego pueda bajar la pureza del producto final.

Figura 2-1: Semillas de achiote



Fuente: Elaboración propia, 2017

2.1.1.2 Pesado

Una vez limpias las semillas de Achiote, se procede al pesado de las mismas en una balanza analítica previamente tarada, para cada prueba se pesarán 10 gramos de semillas.

Figura 2-2: Pesado de las semillas de achiote



Fuente: Elaboración propia, 2017

2.1.1.3 Extracción

Para la extracción del pigmento las semillas se colocan en un vaso de precipitación de 100 ml, donde se agregan 30 ml de solución de NaOH al 5 %. Se usa un agitador magnético para agitar el contenido y con la ayuda de un imán se procede a la agitación de la solución para despigmentar las semillas, es decir, lavarlas.

Después de un tiempo de extracción de 30 min a una temperatura de 60 °C, el líquido que contiene el colorante en solución es trasladado a otro vaso de precipitación (usando un colador), quedando las semillas agotadas en el mismo para su segundo lavado.

La solución colorante se procede a precipitar con ácido sulfúrico.

Figura 2-3: Etapa de Extracción



Fuente: Elaboración propia, 2017

2.1.1.4 Precipitación

Para separar el colorante de la solución alcalina rojiza, se adiciona 10,80 ml de una solución de ácido sulfúrico al 20 %, en la solución de extracto de achiote. La cantidad de ácido depende de la cantidad que se usa de hidróxido de sodio en este caso se adicionará 10, 80 ml, de esta forma se consigue que todo el pigmento presente en la solución, sea neutralizado y posteriormente precipitado.

Al cabo de 2 horas, el pigmento precipita en el fondo del vaso de precipitación, formándose una pasta acuosa del colorante.

Después de la precipitación, se procede a filtrar dicha pasta acuosa.

Figura 2-4: Precipitación de la solución rojiza



Fuente: Elaboración propia, 2017

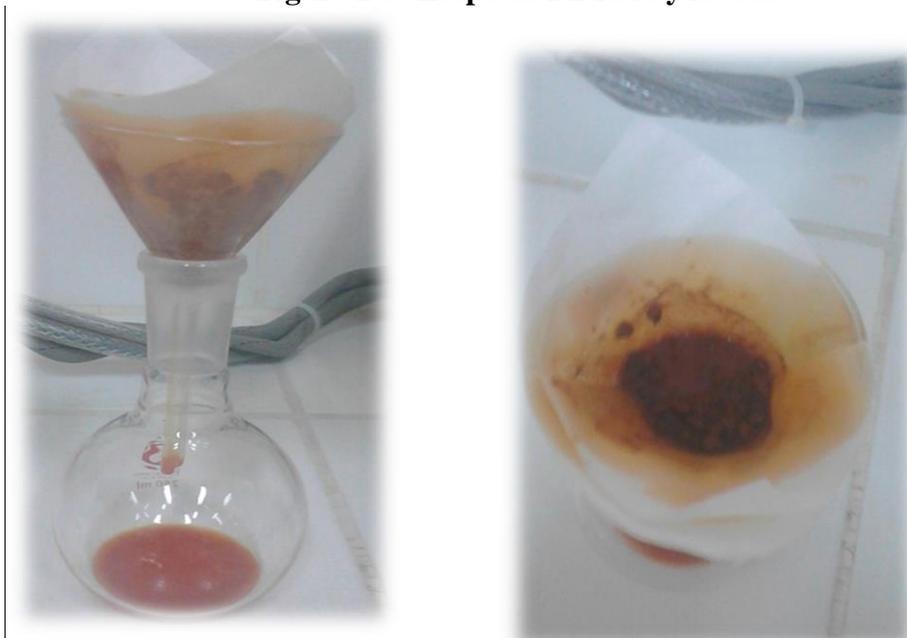
2.1.1.5 Filtrado y lavado

El proceso que sigue a la precipitación es el filtrado, que se realiza en un Erlenmeyer de 250 ml de capacidad con la ayuda de un embudo de vidrio y papel filtro, para obtener una filtración rápida y económica.

El pigmento precipitado, es vaciado al mismo Erlenmeyer para su filtración; para evitar pérdidas se procede a lavar el vaso de precipitación con 10 ml de agua aproximadamente.

Los sólidos son retenidos en el papel filtro, mientras el líquido cae al fondo del Erlenmeyer.

Luego, concluida la filtración, se procede a la descarga de la pasta húmeda, a un vidrio reloj para su posterior secado.

Figura 2-5: Etapa de Filtrado y lavado

Fuente: Elaboración propia, 2017

2.1.1.6 Secado

La pasta húmeda es sometida al proceso de secado; se introduce dicha pasta a la estufa a una temperatura constante de 60 °C, el tiempo de secado es aproximadamente de 6 a 7 horas, hasta un secado total.

Figura 2-6: Etapa de Secado

Fuente: Elaboración propia, 2017



Fuente: Elaboración propia, 2017

2.1.1.7 Molido y envasado

Una vez seca la pasta, es retirada de la estufa para su posterior molido con el fin de reducir las partículas a un tamaño mínimo; esta última etapa se realiza con la ayuda de un mortero, donde se agrega la pasta seca y se procede a moler hasta obtener colorante en polvo que es el producto final.

Por último, envasamos el colorante en bolsitas plásticas con cierre hermético, para evitar la humedad.

Figura 2-7: Etapa de Molido



Fuente: Elaboración propia, 2017



Fuente: Elaboración propia, 2017

2.2. Diseño factorial

En muchos experimentos interviene el estudio de los efectos de dos o más factores. En general, los diseños factoriales son los más eficientes para este tipo de experimentos. Por diseño factorial se entiende que en cada ensayo o réplica completa del experimento se investigan todas las combinaciones posibles de los niveles de los factores.

Para optimizar procesos de fabricación, condiciones de reacción y métodos de análisis entre otros, es necesario conocer qué variables influyen significativamente en el sistema y cómo afectan. A menudo esta información no está disponible y se genera experimentando. Primero se recogen en una lista todas las variables que podrían influir en la respuesta. A continuación, se realiza una serie de experimentos en los cuales se fijan las variables que no interesa modificar, se anota el valor de las que no se pueden controlar y se varían las restantes. Finalmente, se obtiene la información comparando la variación de la respuesta entre experimentos.

El elevado coste de la experimentación y las limitaciones de tiempo obligan a ejecutar solo los experimentos imprescindibles. Y el método tradicional de variar un factor cada vez no suele ser la mejor opción. Puede implicar más experimentos de los necesarios y, a pesar de ello, proporcionar solo información parcial. Por ejemplo, no mostrará si existe interacción

entre factores. Las interacciones suelen ser muy corrientes y a veces son los efectos más importantes, por lo que conocerlas es imprescindible para comprender el comportamiento de muchos sistemas.

En el presente trabajo se utilizará el diseño factorial completo 2^k para determinar el número de experimentos elementales que se realizarán en función a los factores o variables independientes controlables (x) que pueden influir en las variables dependientes o respuestas (y) de la extracción de Bixina y que se deben controlar para garantizar la calidad del producto final. La variable de interés que mediremos como consecuencia de la experimentación, es la respuesta.

2.2.1 Construcción de un diseño factorial completo 2^k

En este diseño, cada factor se estudia a solo dos niveles y sus experimentos contemplan todas las combinaciones de cada nivel de un factor con todos los niveles de los otros factores. La matriz comprende 2^k filas ($2 \times 2 \dots \times 2 = 2^k$) y k columnas, que corresponden a las k variables en estudio.

2.2.1.2 Factores o Variables

Temperatura

La temperatura es una variable importante en el proceso de extracción de Bixina, ya que se debe conocer la temperatura óptima para obtener la máxima cantidad de colorante; en las pruebas realizadas reportan valores de temperatura de 60 °C.

Tiempo

El tiempo de extracción es otra variable que se debe considerar en el proceso, para determinar el tiempo que deben permanecer las semillas en agitación para retirar la máxima cantidad de colorante, sin que estas comiencen a desprender impurezas o quede buena parte de colorante sin separar. Se ha trabajado con un tiempo de agitación de 30 minutos, para una máxima extracción del colorante.

Relación Semilla: Solvente

Es una variable importante para llevar a cabo el proceso, porque indica cuál es el volumen adecuado de solvente, según el peso de semillas. En los estudios realizados se han

manejado relaciones de 1:2,5 y 1:3, esta variable permite conocer la cantidad de Bixina extraído.

Para este caso se consideran 3 factores (variables independientes), a 2 niveles (variables dependientes) cada uno, con 2 repeticiones (A y B); dando como resultado el siguiente diseño factorial:

$$2^3 = 2 \times 2 \times 2 = 8 \text{ corridas/prueba}$$

Donde los niveles de variación de cada factor son los siguientes:

- Temperatura (X) = 2 niveles
- Tiempo (Y) = 2 niveles
- Relación semilla/solvente (Z) = 2 niveles

2.2.1.3 Niveles

En la tabla siguiente, se muestran los niveles de variación de los factores (nivel superior y nivel inferior), a ser aplicado en la etapa de concentración, conformado por tres variables: Temperatura, tiempo y relación semilla: solvente.

Tabla II-4: Niveles de variación de los factores

Variables		Nivel inferior		Nivel superior	
Temperatura	(X)	50 °C	(-)	60 °C	(+)
Tiempo	(Y)	20 min	(-)	30 min	(+)
Relación semilla : solvente	(Z)	1: 4	(-)	1 : 4,5	(+)

Fuente: Elaboración propia, 2017

Dando como resultado 2 niveles

2.2.1.4 Variable respuesta

La variable respuesta es la cantidad de Bixina extraída, expresada en gramos (g).

$$m = g$$

2.2.1.5 Número de Combinaciones

Al ser el diseño factorial: 2^k

El número de experiencias es $2^3 = 8$

Considerando dos replicas:

Número de experimentos: $2^3 = 8 * 2 = 16$ experimentos

En la tabla II-4, se muestra la matriz del diseño experimental a ser aplicado en la etapa de extracción, conformado por tres variables: temperatura, tiempo y relación semilla/solvente.

Cuadro II-1: Diseño factorial de la matriz de variables para el proceso de Extracción

Combinación de tratamientos	Factores			Interacciones				Total	
	X	Y	Z	XY	XZ	YZ	XYZ	Y _i	Y _i
(1)	-	-	-	+	+	+	-	Y ₁	Y ₁
a	+	-	-	-	-	+	+	Y ₂	Y ₂
b	-	+	-	-	+	-	+	Y ₃	Y ₃
ab	+	+	-	+	-	-	-	Y ₄	Y ₄
c	-	-	+	+	-	-	+	Y ₅	Y ₅
ac	+	-	+	-	+	-	-	Y ₆	Y ₆
bc	-	+	+	-	-	+	-	Y ₇	Y ₇
abc	+	+	+	+	+	+	+	Y ₈	Y ₈

Fuente: Elaboración propia, 2017

Donde:

Y_i = variable respuesta

Cuadro II-1a: Diseño factorial con la relación de variables para el proceso de extracción

	N° Experimento	VARIABLES			Respuesta	Rendimiento %
		Temperatura (°C)	Tiempo (min)	Relación semillas/solvente (g/ml)	Masa (g)	
Primera combinación	1	50	20	1:4	1,512	15,12
	2	60	20	1:4	1,602	16,02
	3	50	30	1:4	1,652	16,52
	4	60	30	1:4	1,809	18,09
	5	50	20	1:4,5	1,270	12,70
	6	60	20	1:4,5	1,390	13,90
	7	50	30	1:4,5	1,442	14,42
	8	60	30	1:4,5	1,474	14,74
Réplica	9	50	20	1:4	1,525	15,25
	10	60	20	1:4	1,611	16,11
	11	50	30	1:4	1,645	16,45
	12	60	30	1:4	1,870	18,70
	13	50	20	1:4,5	1,301	13,01
	14	60	20	1:4,5	1,357	13,57
	15	50	30	1:4,5	1,416	14,16
	16	60	30	1:4,5	1,412	14,12

Fuente: Elaboración propia, 2017

2.3. Procedimientos y técnicas empleados para la obtención de los resultados

Plan de trabajo

Se contemplará las actividades a realizarse durante el levantamiento de información teórica para interpretación de la misma.

2.3.1. Elaborar el marco teórico para la obtención de colorante natural (Bixina)

Contempla las actividades de recopilación de la información teórica; a través del internet, tesis, libros, etc. para su posterior sistematización e interpretación de la misma.

2.3.2. Caracterizar las propiedades fisicoquímicas de la materia prima (achiote)

Para este objetivo se hará un detalle de la materia prima utilizada en el proceso y se describirán las propiedades físicas y químicas del achiote y se determinarán las mismas mediante consultas bibliográficas y laboratorio.

2.3.3. Seleccionar y diseñar el proceso tecnológico para la obtención experimental de Bixina (colorante natural)

En primer lugar, se identificará el tipo de materia prima que se utilizará en el proceso y el tipo de producto que se quiere obtener mediante un análisis de caracterización, para posteriormente hacer una breve descripción de las alternativas de extracción del producto que se encontrará en distintas bibliografías, seleccionando la más adecuada con el uso de criterios de elección apropiados; para eso se elaborará una matriz de decisión para determinar qué proceso es conveniente usar.

2.3.4. Formular la fase experimental para el proceso de obtención de Bixina, (colorante natural)

En esta etapa se realizará diferentes actividades para obtener el producto (Bixina); para ello se utilizarán los diferentes equipos y reactivos de laboratorios de la UAJMS; para este proceso se seleccionó el método de extracción con solventes orgánico, las técnicas que se empleará para llevar a cabo este proceso son:

- Recolección de la materia prima
- Limpieza de la materia prima
- Extracción
- Acidificado con ácido sulfúrico
- Filtro
- Secado de la muestra
- Obtención del colorante

2.3.5. Identificación de las variables dependientes e independientes a ser estudiadas

Las variables que actúan en el proceso de obtención de Bixina para lograr un buen rendimiento son: relación cantidad de semilla a volumen de solvente, tiempo de agitación y temperatura de extracción.

Variables independientes

. **Tiempo de agitación:** El tiempo de agitación es otra de las variables que se debe considerar en el proceso, porque es necesario determinar cuánto tiempo deben permanecer las semillas en agitación para retirar la máxima cantidad de colorante, sin que éstas comiencen a desprender impurezas o quede buena parte de colorante sin separar.

Variables dependientes

.**Relación cantidad de semilla-volumen de solvente:** Es una variable importante porque indica cuál debe ser el volumen adecuado de solvente para un peso determinado de semillas.

. **Temperatura de extracción:** Se usa una temperatura máxima de 60 °C para la extracción, en estudios anteriores, que a temperaturas por encima de 60 °C la Bixina se degrada, disminuyéndose la calidad del colorante y el rendimiento del proceso.

2.3.6. Elaboración del diseño factorial

En muchos experimentos interviene el estudio de los efectos de dos o más factores. En general, los diseños factoriales son los más eficientes para este tipo de experimentos. Por diseño factorial se entiende que en cada ensayo o réplica completa del experimento se investigan todas las combinaciones posibles de los niveles de los factores.

El elevado coste de la experimentación y las limitaciones de tiempo obligan a ejecutar solo los experimentos imprescindibles. Y el método tradicional de variar un factor cada vez no suele ser la mejor opción. Puede implicar más experimentos de los necesarios y, a pesar de ello, proporcionar solo información parcial. Por ejemplo, no mostrará si existe interacción entre factores. Las interacciones suelen ser muy corrientes y a veces son los efectos más importantes, por lo que conocerlas es imprescindible para comprender el comportamiento de muchos sistemas.

En el presente trabajo se utilizará el diseño factorial completo 2^k para determinar el número de experimentos elementales que se realizarán en función a los factores o variables independientes controlables (x) que pueden influir en las variables dependientes o respuestas (y) de la fermentación alcohólica y que se deben controlar para garantizar la

calidad del producto final. La variable de interés que mediremos como consecuencia de la experimentación, es la respuesta.

2.3.7. Caracterizar el tipo y calidad del producto obtenido: Bixina (colorante natural)

Para esto se debe realizar los análisis correspondientes para saber el tipo del producto obtenido y si está aprobado por las normas correspondientes, además de la calidad del mismo ya que se quiere obtener un producto de alta calidad y con mayor valor agregado.

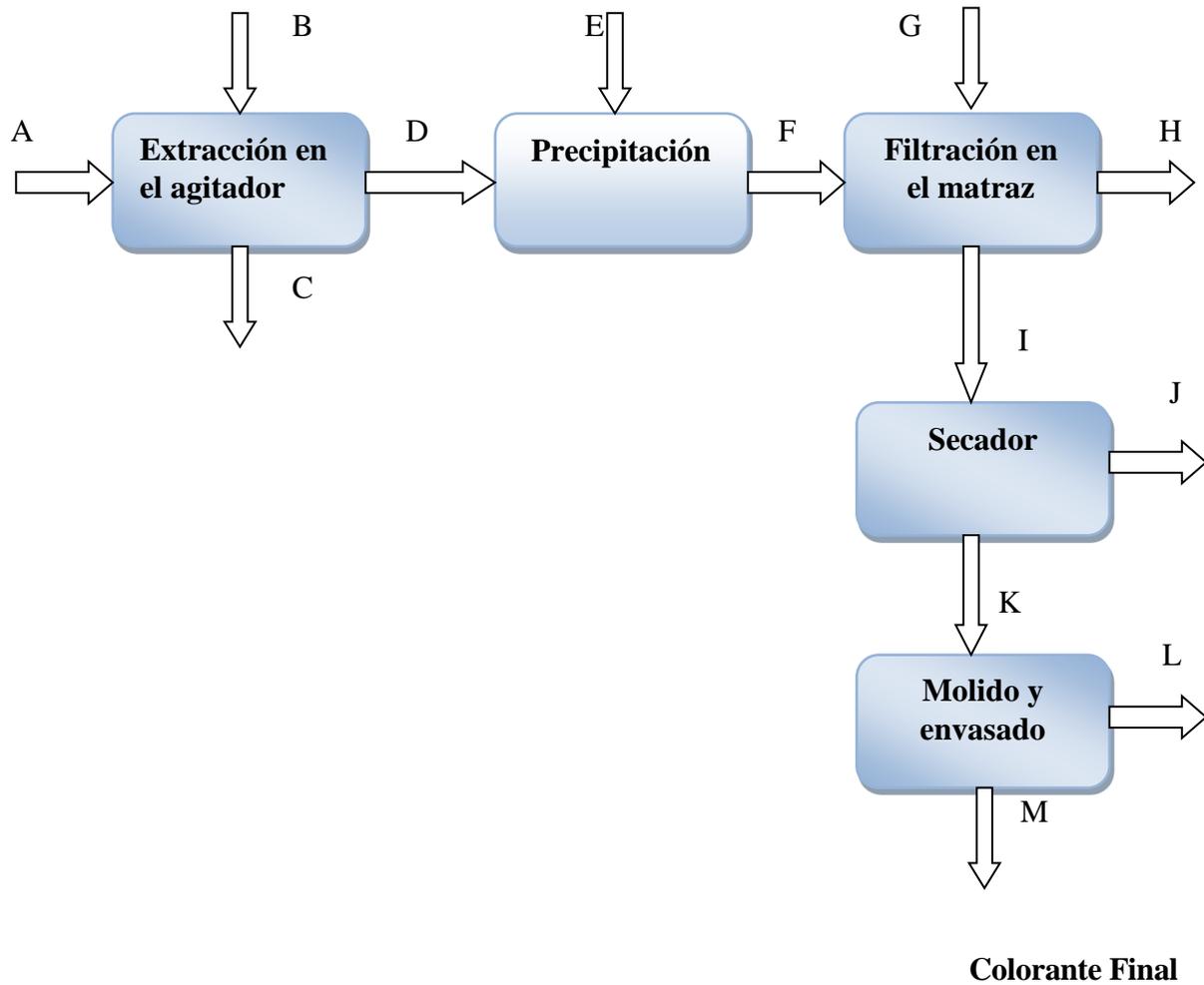
2.3.8. Presentar, analizar y valorar los resultados del proceso de obtención de Bixina (colorante natural)

En este último paso se presentará los resultados obtenidos a nivel de laboratorio de la Bixina (colorante natural); se analizará si está aprobado por las normas para los colorantes y se realizará las correcciones correspondientes, si las hay. Posteriormente se pasa a presentar el perfil final con las pruebas analizadas.

2.4 Balance de materia y energía del proceso

2.4.1 Balance de materia

El balance de materia del proceso de extracción se realiza para poder determinar el valor de las corrientes que no se conocen, que luego se necesitarán para realizar el balance de energía. En la figura 2.3 se presenta un diagrama de bloques del proceso, que ayudará a determinar el valor de las corrientes.

Diagrama de bloques del proceso de extracción de Bixina

Fuente: Elaboración propia, 2017

Tabla II-5: Corrientes del Proceso

CORRIENTE	NOMBRES
A	Semillas de Achiote
B	Hidróxido de Sodio al 5 %
C	Semilla agotadas secas
D	Colorante en solución
E	Ácido Sulfúrico al 20 %
F	Colorante en pasta (Húmeda)
G	Agua de entrada
H	Solución de Na ₂ SO ₄
I	Colorante en pasta
J	Agua evaporada
K	Extracto colorante
L	Pérdidas
M	Extracto colorante en polvo

Fuente: Elaboración propia, 2017

CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Caracterización de la materia prima

En la tabla III-1 se muestra los resultados del análisis fisicoquímico de las semillas de Achiote realizado en el Centro de Análisis, Investigación y Desarrollo (CEANID), que se encuentra en la misma universidad UAJMS; los resultados se muestran a continuación:

Tabla III-1: Propiedades físicas y químicas de las semillas de achiote (Bixa Orellana)

Parámetro	Unidad	Resultado
Cenizas	%	4,38
Fibra	%	12,46
Materia grasa	%	4,48
Humedad	%	9,05
Hidratos de carbono	%	69,41
Proteína total	%	12,68
Valor energético	%	368,68
Bixina	%	4,25

Fuente: Elaboración propia, 2017

3.2 Análisis estadístico del diseño experimental

Procedimiento para la resolución del diseño factorial 2^3

Algoritmo de yates para un diseño 2^k

Una técnica muy eficiente para calcular la estimulación de los efectos y las correspondientes sumas de cuadrados en un diseño factorial 2^k fue propuesta por Yates (1937), el cual procede a elaborar un cuadro de algoritmo de la siguiente manera (Ramírez, 2009).

Cuadro III-1 Algoritmo de Yates para un diseño 2^k

Combinación de tratamientos	Resp (Y_i)		Columna I		Columna II		Columna III	Efectos
1	Y_1	$Y_1 + Y_2$	Y_9	$Y_9 + Y_{10}$	Y_{17}	$Y_{17} + Y_{18}$	$\sum Y_i$	
a	Y_2	$Y_3 + Y_4$	Y_{10}	$Y_{11} + Y_{12}$	Y_{18}	$Y_{19} + Y_{20}$	Y_{26}	$Y_{26}/n2^{k-1}$
b	Y_3	$Y_5 + Y_6$	Y_{11}	$Y_{13} + Y_{14}$	Y_{19}	$Y_{21} + Y_{22}$	Y_{27}	$Y_{27}/n2^{k-1}$
ab	Y_4	$Y_7 + Y_8$	Y_{12}	$Y_{15} + Y_{16}$	Y_{20}	$Y_{23} + Y_{24}$	Y_{28}	$Y_{28}/n2^{k-1}$
c	Y_5	$Y_2 - Y_1$	Y_{13}	$Y_{10} - Y_9$	Y_{23}	$Y_{18} - Y_{17}$	Y_{29}	$Y_{29}/n2^{k-1}$
ac	Y_6	$Y_4 - Y_3$	Y_{14}	$Y_{12} - Y_{11}$	Y_{22}	$Y_{20} - Y_{19}$	Y_{30}	$Y_{30}/n2^{k-1}$
bc	Y_7	$Y_6 - Y_5$	Y_{15}	$Y_{14} - Y_{13}$	Y_{23}	$Y_{22} - Y_{21}$	Y_{31}	$Y_{31}/n2^{k-1}$
abc	Y_8	$Y_8 - Y_7$	Y_{16}	$Y_{16} - Y_{15}$	Y_{24}	$Y_{24} - Y_{23}$	Y_{32}	$Y_{32}/n2^{k-1}$
	$\sum Y_i$							

Fuente: Ramírez, 2009.

Por lo general para un diseño factorial 2^k deben construirse K columnas de este tipo; por lo tanto, la columna K es el contraste del efecto representado por las letras minúsculas al comienzo del reglón.

- Para obtener la estimación del efecto se dividen los valores de la columna K por $n2^{k-1}$ y se crea esta columna
- Se obtiene la columna de la suma de cuadrados de los efectos elevando al cuadrado los valores de la columna K, y dividiendo por $n2^{k-1}$.

Representación del análisis de varianza (ANOVA) en el diseño 2^3

En el cuadro siguiente, se muestra la tabla de análisis de varianza (ANOVA) para un diseño factorial de 2^3 , en base a la aplicación de la prueba de Fisher (Ramírez, 2009).

Cuadro III-2 Análisis de varianza (ANOVA) para el diseño factorial 2³.

Fuente de variación (FV)	Suma de cuadrados (SC)	Grados de libertad (GL)	Cuadrados medios (CM)	Fisher calculado (Fcal)	Fisher tabulado (Ftab)
Total	SS(T)	$n2^3-1$			
Factor A	SS(A)	(a-1)	$CM(A) = \frac{SS(A)}{(a-1)}$	$\frac{CM(A)}{CM(E)}$	$\frac{V_1}{V_2} = \frac{GL_{SS(A)}}{GL_{SS(E)}}$
Factor B	SS(B)	(b-1)	$CM(B) = \frac{SS(B)}{(b-1)}$	$\frac{CM(B)}{CM(E)}$	$\frac{V_1}{V_2} = \frac{GL_{SS(B)}}{GL_{SS(E)}}$
Factor C	SS(C)	(c-1)	$CM(C) = \frac{SS(C)}{(c-1)}$	$\frac{CM(C)}{CM(E)}$	$\frac{V_1}{V_2} = \frac{GL_{SS(C)}}{GL_{SS(E)}}$
Interacción AB	SS(AB)	(a-1)(b-1)	$CM(AB) = \frac{SS(AB)}{(a-1)(b-1)}$	$\frac{CM(AB)}{CM(E)}$	$\frac{V_1}{V_2} = \frac{GL_{SS(AB)}}{GL_{SS(E)}}$
Interacción AC	SS(AC)	(a-1)(c-1)	$CM(AC) = \frac{SS(AC)}{(a-1)(c-1)}$	$\frac{CM(AC)}{CM(E)}$	$\frac{V_1}{V_2} = \frac{GL_{SS(AC)}}{GL_{SS(E)}}$
Interacción BC	SS(BC)	(b-1)(c-1)	$CM(BC) = \frac{SS(BC)}{(b-1)(c-1)}$	$\frac{CM(BC)}{CM(E)}$	$\frac{V_1}{V_2} = \frac{GL_{SS(BC)}}{GL_{SS(E)}}$
Interacción ABC	SS(ABC)	(a-1)(b-1)(c-1)	$CM(ABC) = \frac{SS(ABC)}{(a-1)(b-1)(c-1)}$	$\frac{CM(ABC)}{CM(E)}$	$\frac{V_1}{V_2} = \frac{GL_{SS(ABC)}}{GL_{SS(E)}}$
Error	SS(E)	$(n2^{k-1})$	$CM(E) = \frac{SS(E)}{(n2^{k-1})}$		

Fuente: Ramírez, 2009.

En la tabla se observa el arreglo matricial y resultados del diseño factorial 2³ de las variables independientes: temperatura, acidez y tipo de muestra.

Cuadro III-3 Arreglo matricial y resultado del diseño factorial en el proceso de extracción

Corridas	Combinación de tratamientos	Factores			Réplica I	Réplica II
		T	t	Relación		
1	1	50	20	1:4	15,12	15,25
2	a	60	20	1:4	16,02	16,11
3	b	50	30	1:4	16,52	16,45
4	ab	60	30	1:4	18,09	18,70
5	c	50	20	1:4,5	12,70	13,01
6	ac	60	20	1:4,5	13,90	13,57
7	bc	50	30	1:4,5	14,42	14,16
8	abc	60	30	1:4,5	14,74	14,12

Fuente: Elaboración propia, 2017

Aplicando la matriz del algoritmo de Yates, se tiene:

Cuadro III-4 Matriz de algoritmo de Yates y resultados

Combinación de tratamientos	Resp. Yi		Columna I		Columna II		Columna III	Suma de cuadrados
I	30,37	30,37+32,13	62,50	62,50+69,76	132,26	132,26+110,62	242,88	
T	32,13	32,97+36,79	69,76	53,18+57,44	110,62	5,58+2,04	7,62	3,63
t	32,97	25,71+27,47	53,18	1,76+3,82	5,58	7,26+4,26	11,52	8,29
R	36,79	28,58+28,86	57,44	1,76+0,28	2,04	2,06+(-1,48)	0,58	0,02
Tt	25,71	32,13-30,37	1,76	69,76-62,50	7,26	110,62-132,26	-21,64	29,27
TR	27,47	36,79-32,97	3,82	57,44-53,18	4,26	2,04-5,58	-3,54	0,78
tR	28,58	27,47-25,71	1,76	3,82-1,76	2,06	4,26-7,26	-3	0,56
TtR	28,86	28,86-28,58	0,28	0,28-1,76	-1,48	-1,48-2,06	-3,54	0,78
	242,88							

Fuente: Elaboración propia, 2017

Forma de elaborar la columna de las sumas de los cuadrados; se obtiene elevando al cuadrado los valores de la columna (3) luego dividirlos por $n2^k = 2 \times 2^3 = 16$. Así mismo la suma de la variable respuesta $\sum Y_i = 106,727$, debe ser igual al primer valor (**242,88**) de la columna III

La suma de cuadrados del total de los factores T

$$SS(T) = \sum_{i=1}^2 \sum_{j=1}^2 \sum_{k=1}^2 \sum_{l=1}^2 Y_{ijkl}^2 - \frac{T^2}{8n}$$

$$SS(T) = 15,12^2 + 15,25^2 + 16,02^2 + 16,11^2 + 16,52^2 + 16,45^2 + 18,09^2 + 18,70^2 + 12,70^2 + 13,01^2 + 13,90^2 + 13,57^2 + 14,42^2 + 14,16^2 + 14,74^2 + 14,12^2 - \frac{242,88^2}{8 \times 2}$$

$$SS(T) = 3730,79 - 3686,92$$

$$SS(T) = 43,87$$

La suma de cuadrados de error de los factores E:

$$SS(E) = SS(T) - SS(A) - SS(B) - SS(C) - SS(AB) - SS(AC) - SS(BC) - SS(ABC)$$

$$SS(E) = 43,87 - 3,63 - 8,29 - 0,02 - 29,27 - 0,78 - 0,56 - 0,78$$

$$SS(E) = 0,54$$

En el cuadro III-5, se muestra el análisis de varianza (ANOVA) de la prueba estadística de Fisher

Cuadro III-5 (ANOVA) para el diseño factorial 2^3 .

Fuente de variación (FV)	Suma de cuadrados (SC)	Grados de libertad (GL)	Cuadrados medios (CM)	Fisher Cal	Fisher Tab
Total	43,87	16 - 1 = 15			
Temperatura	3,63	2 - 1 = 1	3,63	51,86	11,259
tiempo	8,29	2 - 1 = 1	8,29	118,43	11,259
Relación	0,02	2 - 1 = 1	0,02	0,28	11,259
Temperatura-tiempo	29,27	2 - 1 = 1	29,27	418,14	11,259
Temperatura-relación	0,78	2 - 1 = 1	0,78	11,14	11,259
tiempo-relación	0,56	2 - 1 = 1	0,56	8,00	11,259
Temperatura-tiempo - relación	0,78	2 - 1 = 1	0,78	11,14	11,259
Error	0,54	$2^3=8$	0,07		

Fuente: Elaboración propia, 2017

3.3 Selección de variables de operación para extracción de Bixina

3.3.1 Identificación de las variables estudiadas

Las variables que actúan en el proceso de obtención de Bixina para lograr un buen rendimiento son: concentración del solvente, relación cantidad de semilla a volumen de solvente, tiempo de extracción, velocidad de agitación, pH y temperatura de extracción

- **Tiempo de extracción:** El tiempo de extracción es otra de las variables que se debe considerar en el proceso, para determinar el tiempo que deben permanecer las semillas en agitación para retirar la máxima cantidad de colorante, sin que estas comiencen a desprender impurezas o quede buena parte de colorante sin separar. Se han trabajado diferentes tiempos de agitación, entre 20 a 30 minutos.
- **Concentración del solvente:** Como se deben emplear bajas concentraciones de álcali para no degradar el colorante, este parámetro se maneja como variable del proceso porque, en parte, de ella depende el desprendimiento del colorante de las semillas.
- **Relación cantidad de semilla-volumen de solvente:** Es una variable importante para llevar a cabo el proceso, porque indica cuál es el volumen adecuado de solvente, según el peso de semillas. En los estudios realizados se han manejado

relaciones de 1:2,5 y 1:3, esta variable permite conocer la cantidad de Bixina extraída.

- **Temperatura de extracción:** Los estudios realizados reportan valores de temperatura desde 30 a 60 °C para la extracción de Bixina, por lo que se considera temperaturas dentro de ese rango; por tanto, la temperatura es una variable importante.
- **Velocidad de agitación:** La velocidad de agitación es otro parámetro importante, porque a bajas velocidades se obtiene un mayor rendimiento.
- **pH:** Cuando se desea que la presentación final del colorante sea en polvo, se requiere precipitar el pigmento con ácido sulfúrico antes de filtrar. En un intervalo entre 2 – 2,5 se obtiene un mayor rendimiento en la precipitación.
- **Temperatura de secado:** Se usa una temperatura máxima de 57 °C para el secado, porque experimentalmente se ha encontrado, en estudios anteriores, que a temperaturas por encima de 60 °C la Bixina se degrada, disminuyéndose la calidad del colorante y el rendimiento del proceso.

Tabla III-2 Selección de variables

Variables	Descripción	Influencia en el proceso de Extracción
Tiempo de extracción	Se debe considerar para determinar el tiempo que deben permanecer las semillas en agitación para retirar la máxima cantidad de colorante	Influye mucho en los primeros treinta minutos de extracción, que es donde se extrae la mayor parte de Bixina.
Concentración del solvente	Se deben emplear bajas concentraciones de álcali para no degradar el colorante.	Influye, pero es importante encontrar la relación adecuada para la extracción.
Relación semilla/solvente	Es una variable importante, porque indica cuál es el volumen adecuado de solvente según el peso de semillas.	Influye mucho, para evitar los excesos de solvente y que este quede en el producto final.
Temperatura de extracción	La temperatura es una variable importante; estudios realizados reportan valores de temperatura desde 30 a 60 °C para la extracción de Bixina.	Influye mucho en la calidad del producto, pues altas temperaturas afectan el color del colorante degradándolo.
Velocidad de agitación	Se debe trabajar a bajas velocidades para obtener un mayor rendimiento	Influye poco ya que tenemos una referencia con la cual podemos iniciar.
pH	Se debe precipitar el pigmento con ácido sulfúrico antes de filtrar en un intervalo de Ph entre 2 – 2,5	No influye
Temperatura de secado	Se usa una temperatura máxima de 57 °C para el secado.	No influye

Fuente: Elaboración propia, 2017

Después de analizar cada variable, se eligen las que influyen más en el proceso de extracción, en este caso son: la temperatura, tiempo y relación semilla solvente, estas son las seleccionadas para realizar nuestro diseño factorial. A continuación se muestran dichas variables.

3.3.2 Variables seleccionadas

Para este caso se consideran 3 factores (variables independientes), con dos niveles:

- Temperatura (X) = 2 niveles
- Tiempo (Y) = 2 niveles
- Relación semilla/solvente (Z) = 2 niveles

En la tabla siguiente, se muestran los niveles de variación de los factores (nivel superior y nivel inferior), a ser aplicado en la etapa de concentración, conformado por tres variables: Temperatura, tiempo y relación semilla: solvente.

Tabla III-3: Niveles de variación de los factores

Variables		Nivel inferior	Nivel superior
Temperatura	(X)	50 °C (-)	60 °C (+)
Tiempo	(Y)	20 min (-)	30 min (+)
Relación	(Z)	1:4 (-)	1:4,5 (+)

Fuente: Elaboración propia, 2017

3.4 Rendimiento del proceso de extracción

En el cuadro III-6 se muestra los resultados de los experimentos realizados de acuerdo al diseño factorial planteado.

Cuadro III-6 Rendimiento de la Bixina

N° Experimento	VARIABLES			Masa (g)	Respuesta Rendimiento %
	Temperatura (°C)	Tiempo (min)	Relación semillas/solvente (g/ml)		
1	50	20	1:4	1,512	15,12
2	60	20	1:4	1,602	16,02
3	50	30	1:4	1,652	16,52
4	60	30	1:4	1,809	18,09
5	50	20	1:4,5	1,270	12,70
6	60	20	1:4,5	1,390	13,90
7	50	30	1:4,5	1,442	14,42
8	60	30	1:4,5	1,474	14,74
9	50	20	1:4	1,525	15,25
10	60	20	1:4	1,611	16,11
11	50	30	1:4	1,645	16,45
12	60	30	1:4	1,870	18,70
13	50	20	1:4,5	1,301	13,01
14	60	20	1:4,5	1,357	13,57
15	50	30	1:4,5	1,416	14,16
16	60	30	1:4,5	1,412	14,12

Fuente: Elaboración propia, 2017

El rendimiento porcentual para cada experimento se calcula de la siguiente manera:

$$\text{Rendimiento} = \frac{m_{\text{Pigmento}}}{m_{\text{semillas}}} * 100$$

$$\text{Rendimiento} = \frac{1,87 \text{ g}}{10 \text{ g}} * 100 = 18,7 \%$$

En la tabla se puede observar que los rendimientos son mayores para una relación 1:4, en este caso en el experimento 12 con la relación de semilla: solvente 1:4, Temperatura de 60°C y tiempo de treinta minutos, obtuvo el mayor rendimiento de 18,70 % siendo esta nuestra variable respuesta.

3.5 Características fisicoquímicas de la Bixina

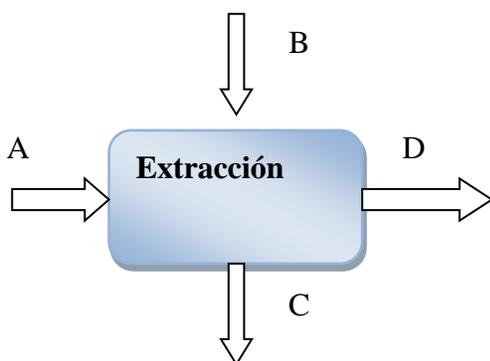
Tabla III-4: Propiedades físicas y químicas del colorante natural en polvo (Bixina)

Parámetro	Unidad	Resultado
Cenizas	%	27,71
Humedad	%	11,26
pH 20°C (Solución al 2%)	%	1,23
Bixina	%	10,38

Fuente: Elaboración propia, 2018

3.6 Balance de materia

3.6.1 Balance en el proceso de extracción de la Bixina



Datos:

A=10 g de semillas

B=53,25 g NaOH

C= 12 g

D= ? colorante en solución

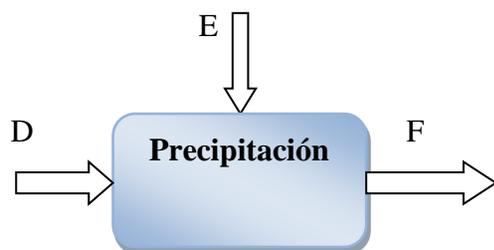
$$A+B= C+D$$

$$D=A+B-C$$

$$D= 10 \text{ g} + 53,25 \text{ g} - 12 \text{ g}$$

$$\mathbf{D= 51,25 \text{ g}}$$

3.6.2 Balance en el proceso de Precipitación



Datos:

$$D = 51,25 \text{ g}$$

$$E = 14,4 \text{ ml H}_2\text{SO}_4 = 26,50 \text{ g}$$

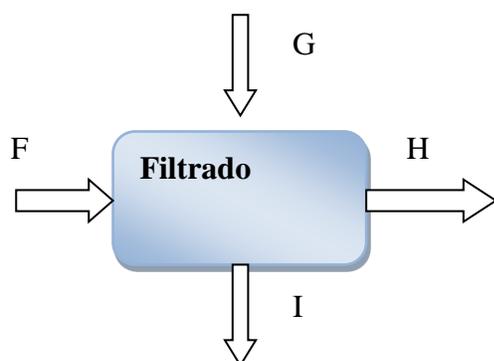
$$F = ? \quad \text{Colorante en pasta}$$

$$D + E = F$$

$$F = 51,25 \text{ g} + 26,50 \text{ g}$$

$$F = 77,75 \text{ g}$$

3.6.3 Balance en el proceso de Filtrado



Datos:

$$F = 77,75 \text{ g}$$

$$G = 10 \text{ g H}_2\text{O}$$

$$H = 27 \text{ ml de Na}_2\text{SO}_4 = 71,82 \text{ g}$$

$$m_{\text{papel filtro}} = 0,85 \text{ g}$$

$$I = ? \quad \text{Colorante en pasta}$$

$$F + G = H + I$$

$$I = F + G - H$$

$$I = 77,75 \text{ g} + 10 \text{ g} - 71,82 \text{ g}$$

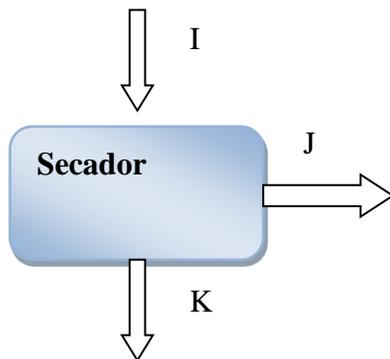
$$I = 15,93 \text{ g}$$

$$I = 15,93 \text{ g} - m_{\text{papel filtro}}$$

$$I = 15,93 \text{ g} - 0,85 \text{ g}$$

$$I = \mathbf{15,08 \text{ g}}$$

3.6.4 Balance en el proceso de Secado



Datos:

$$I = 15,08 \text{ g}$$

$$K = 1,91 \text{ g Extracto colorante}$$

$$J = ? \text{ Agua evaporada}$$

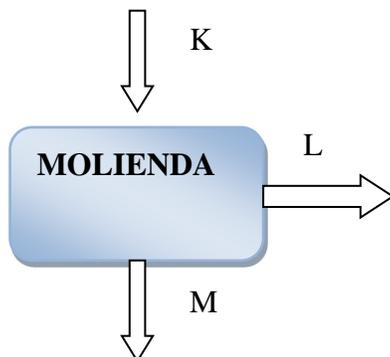
$$I = J + K$$

$$J = I - K$$

$$J = 15,08 \text{ g} - 1,91 \text{ g}$$

$$J = \mathbf{13,17 \text{ g}}$$

3.6.5 Balance en el proceso de Molido



Datos:

$K = 1,91 \text{ g}$

$M = 1,87 \text{ g}$ Colorante en polvo

$L = ?$ Perdidas

$K = L + M$

$L = K - M$

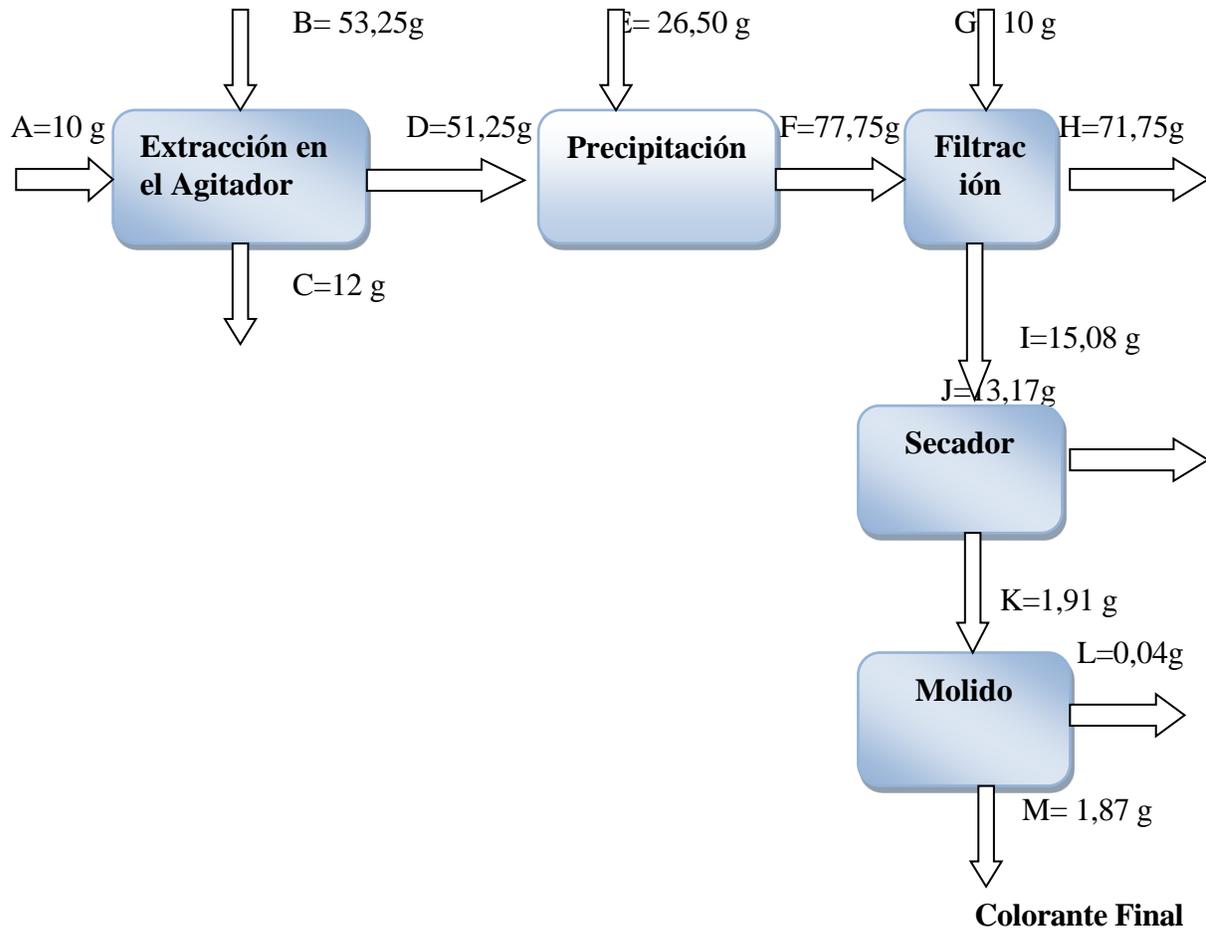
$L = 1,91 \text{ g} - 1,87 \text{ g} \quad \mathbf{L = 0,04 \text{ g}}$

Tabla III-5: Resultados del Balance de Materia

CORRIENTE	NOMBRES	VALORES (g)
A	Semillas de Achiote	10
B	Hidróxido de Sodio al 5 %	53,25
C	Semilla agotada Húmeda	12
D	Colorante en solución	51,25
E	Ácido Sulfúrico al 20 %	26,50
F	Colorante en pasta (Húmeda)	77,75
G	Agua de entrada	10
H	Solución de Na_2SO_4	71,82
I	Colorante en pasta	15,08
J	Agua Evaporada	13,17
K	Extracto colorante	1,91
L	Pérdidas	0,04
M	Extracto colorante en polvo	1,87

Fuente: Elaboración propia, 2017

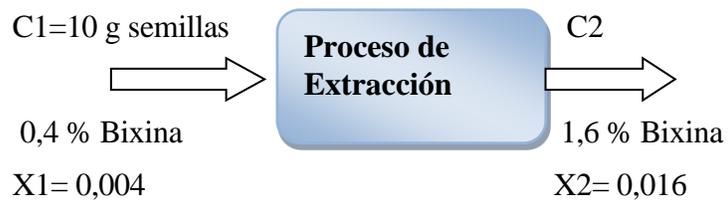
Valores de las corrientes del diagrama de bloques del proceso de extracción



Fuente: Elaboración propia, 2017

En el diagrama de bloques se observa el resultado de las diferentes corrientes del proceso de extracción; también se puede ver la masa del producto final en este caso Bixina donde se obtuvo en su máximo rendimiento del 18,70 %.

SEGUN LOS RESULTADOS DEL ANALISIS DE SEMILLAS DE ACHIOTE Y COLORANTE, OBTUVIMOS CUANTA BIXINA TIENE TANTO LA SEMILLA COMO EL PRODUCTO (Ver Anexo 2 y 6)



CAPÍTULO IV

EVALUACIÓN FINANCIERA DEL PROYECTO

4.1 Costos del Proyecto

Los costos del estudio para la extracción de Bixina (Colorante Natural), se presentan en los siguientes cuadros:

4.1.1 Costo materia prima y solventes

Cuadro IV-1: Detalle de costos materia prima y solvente

ITEM	DESCRIPCIÓN	UNIDAD	CANTIDAD	COSTO UNITARIO (BS)	COSTO TOTAL (BS)
1	Semillas de Achiote	gr	1000	0,04	40
2	Hidróxido de Sodio al 5 %	ml	950	0,20	190
3	Ácido Sulfúrico al 20 %	ml	400	0,30	120
SUBTOTAL					350 Bs

Fuente: Elaboración propia, 2017

4.1.2 Costos de materiales y equipos

Cuadro IV-2 Detalle de costos materiales y equipos

ITEM	DESCRIPCIÓN	UNIDAD	CANTIDAD	COSTO UNITARIO (BS)	COSTO TOTAL (BS)
1	Vasos de Precipitación	PZA	5	25	125
2	Probeta	PZA	1	75	75
3	Erlenmeyer	PZA	3	55	165
4	Embudos	PZA	3	20	60
5	Pipetas	PZA	3	27	81
6	Vidrios reloj	PZA	3	13	39
7	Varilla de vidrio	PZA	1	11	11
8	Mortero	PZA	1	100	100
9	Colador	PZA	1	6	6
10	Termómetro	PZA	1	40	40
11	Papel filtro	PZA	2	4	8
12	Bolsas plásticas con cierre hermético	PAQ.	1	7	7
SUBTOTAL					717 Bs

Fuente: Elaboración propia, 2017

4.1.3 Costos de análisis y pruebas de laboratorio

Cuadro IV-3: Detalle de costos análisis semillas de achiote

ITEM	DESCRIPCIÓN	UNIDAD	CANTIDAD	COSTO UNITARIO (BS)	COSTO TOTAL (BS)
1	Cenizas	PZA	1	50	50
2	Fibra	PZA	1	75	75
3	Materia grasa	PZA	1	60	60
4	Humedad	PZA	1	25	25
5	Hidratos de carbono	PZA	1	10	10
6	Proteína total	PZA	1	85	85
7	Valor energético	PZA	1	65	65
SUBTOTAL					370

Fuente: Elaboración propia, 2017

4.1.4 Costo Mano de Obra

Cuadro IV-4: Detalle de costos mano de obra

ITEM	DESCRIPCIÓN	UNIDAD	CANTIDAD	COSTO UNITARIO (BS)	COSTO TOTAL (BS)
1	Mano de obra	MESES	6	2000	12000
SUBTOTAL					12000 Bs

Fuente: Elaboración propia, 2017

4.1.5 Costos Material de Escritorio y otros

Cuadro IV-5: Detalle de costos material de escritorio

ITEM	DESCRIPCIÓN	UNIDAD	CANTIDAD	COSTO UNITARIO (BS)	COSTO TOTAL (BS)
1	Internet	GLB	1	300	300
2	Impresiones	GLB	1	500	500
3	Anillado	PZA	9	6	54
4	Empastado	PZA	3	55	165
5	Transporte	PASAJE	250	1	250
SUBTOTAL					1269 Bs

Fuente: Elaboración propia, 2017

4.1.6 Resumen de costo total del proyecto

Cuadro IV-6: Resumen de costos

DESCRIPCIÓN	COSTO TOTAL (BS)
Costos materia prima y solventes	350
Costos de materiales y equipos	717
Costos de análisis y pruebas de Laboratorio	370
Costo Mano de Obra	12000
Costo material de escritorio y otros	1269
TOTAL	14.706 Bs

Fuente: Elaboración propia, 2017

4.1.7 Cálculo del Costo por gramo de colorante

Datos:

Semillas de Achiote 1000 g = 40 Bs

Hidróxido de Sodio al 5 % 950 ml = 190 Bs

Ácido Sulfúrico al 20 % 400 ml = 120 Bs

$$m_{\text{semillas}} = 10 \text{ g}$$

$$V_{\text{solucion}} = 40 \text{ ml}$$

$$m_{\text{colorante}} = 1,87 \text{ g}$$

Sumando los ml de Hidróxido de Sodio y Ácido Sulfúrico nos dan el volumen y el Costo de la solución total:

$$V_{\text{solucion Total}} = 950 \text{ ml} + 400 \text{ ml} = 1350 \text{ ml}$$

$$\text{COSTO}_{\text{solucion Total}} = 190 \text{ Bs} + 120 \text{ Bs} = 310 \text{ Bs}$$

Realizamos la regla de tres para obtener el costo por los 40 ml de solución usados en el proceso:

$$1350 \text{ ml de solución} \longrightarrow 310 \text{ Bs}$$

$$40 \text{ ml de solución} \longrightarrow X$$

$$X = \frac{40 \text{ ml} * 310 \text{ Bs}}{1350 \text{ ml}}$$

$$X = 9,18 \text{ Bs}$$

$$\text{COSTO}_{\text{Solucion Total}} = \mathbf{9,18 \text{ Bs}}$$

Realizamos la regla de tres para obtener el costo por los 10 g de semillas usados en el proceso:

$$1000 \text{ g de semillas} \longrightarrow 40 \text{ Bs}$$

$$10 \text{ g de semillas} \longrightarrow X$$

$$X = \frac{10 \text{ g} * 40 \text{ Bs}}{1000 \text{ g}}$$

$$X = 0,40 \text{ Bs}$$

$$\text{COSTO}_{\text{semillas}} = \mathbf{0,40 \text{ Bs}}$$

Para calcular el costo de los 1,87 g obtenidos en el proceso primero se suma los costos de la solución y las semillas de achiote usadas:

$$\text{COSTO}_{\text{PROCESO}} = \text{COSTO}_{\text{Solucion Total}} + \text{COSTO}_{\text{semillas}}$$

$$\text{COSTO}_{\text{PROCESO}} = 9,18 \text{ Bs} + 0,40 \text{ Bs}$$

$$\text{COSTO}_{\text{PROCESO}} = \mathbf{9,58 \text{ Bs}}$$

Realizamos la regla de tres para obtener el costo por gramo de colorante:

$$1,87 \text{ g de colorante} \longrightarrow 9,58 \text{ Bs}$$

$$1 \text{ g de colorante} \longrightarrow X$$

$$X = \frac{1 \text{ g} * 9,58 \text{ Bs}}{1,87 \text{ g}}$$

$$X = 5,12 \text{ Bs}$$

$$\text{COSTO}_{\text{colorante}} = \mathbf{5,12 \text{ Bs}} \text{ por gramo de colorante}$$

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

De acuerdo a los objetivos planteados para el presente trabajo de investigación y a los resultados obtenidos, se llega a las siguientes conclusiones:

- Las semillas de Achiote del Municipio de Bermejo del departamento de Tarija tienen las siguientes propiedades fisicoquímicas: cenizas 4,38 %, fibra 12,46 %, materia grasa 4,48 %, Humedad 9,05 %, Hidratos de Carbono 69,41 %, proteína total 12,68 % y un valor energético de 368,68 %; cabe decir que dichas propiedades pueden variar dependiendo del lugar, clima, suelo, etc. Estos resultados se obtuvieron gracias al laboratorio de CEANID de la UAJMS.
- El proceso tecnológico usado fue adecuado a escala laboratorio, no se presentó problemas de índole mayor, cada etapa se llevó a cabo de manera correcta, las corrientes del proceso se calcularon mediante un balance general de materia; también cabe decir que las pérdidas fueron insignificantes, según el balance de materia realizado en el proceso de extracción, las pérdidas fueron de 0,04 gramos.
- Las variables del proceso se seleccionaron de acuerdo al diseño experimental de 2^3 ; teniendo como variables que influyen en el proceso de extracción: temperatura, tiempo y relación semilla- solvente.

Las condiciones óptimas de extracción son: Temperatura 60 °C, tiempo 30 min y relación semilla: solvente 1:4, correspondientes a los niveles máximos de cada variable.

- El rendimiento máximo del proceso de extracción fue de 18,70 % de colorante extraído mediante el proceso seleccionado usando como solvente NaOH al 5 % para los lavados y H_2SO_4 al 20 % para precipitar la solución.
Obteniéndose de 10 g de semilla de achiote 1,87 g de colorante en polvo.

- La Bixina obtenida en el proceso de extracción tiene un color naranja-rojizo característico de un colorante natural, con una humedad de 11,26 % según resultados determinados en CEANID (Centro de Análisis, Investigación y Desarrollo).

5.2 Recomendaciones

- Para futuros estudios sobre la extracción de Bixina evitar trabajar con temperaturas superiores a los 70 °C, ya que las semillas de achiote se pueden desintegrar; ocasionando que los aceites de las mismas se mezclen con la solución coloreada.
- Se recomienda hacer estudios de prefactibilidad para la implementación de una planta de colorante natural en el departamento de Tarija.
- Realizar iniciativas para el cultivo de Achiote, ya que actualmente es una planta que se produce en forma silvestre en lugares cálidos como ser el Municipio de Bermejo.
- Se recomienda realizar el proceso de secado en un secador al vacío, para evitar que el colorante en polvo se quemé, lo cual puede notarse cuando el colorante toma un color marrón oscuro.
- Usar otros solventes en la extracción de colorante para verificar el mejor rendimiento que se puede obtener.
- Realizar trabajos de investigación para el mejor aprovechamiento y las diferentes aplicaciones de la Bixina; como en las industrias textiles y farmacéuticas.
- Para futuros proyectos realizar un análisis o pruebas de laboratorio para mantener el color intenso y rojo que se observa antes de la etapa de secado; ya que el rojo intenso es característico de un colorante natural, en este caso Bixina a partir de las semillas de achiote.

- El ácido es importante en la extracción de colorante, es decir influye en el color de la Bixina, por lo que se recomienda realizar ensayos para saber cuánto de ácido adicionar para mantener el rojo intenso.
- En la obtención de colorante, al mezclar el hidróxido de sodio con ácido sulfúrico se forma una sal, se recomendaría para futuros proyectos realizar análisis para conocer cuánto de sal nos queda en el producto final es decir en el colorante.

Bibliografía

- [1] **Aguilar Mamani Christian A. (2011)** *Extracción Del Colorante Del Achiote*. Fecha de consulta 10 de octubre de 2017, **de:** <https://es.scribd.com/doc/136716466/Extraccion-Del-Colorante-Del-Achiote>
- [2] **BOLIVIA - Instituto Nacional de Estadística (2012-2013)** *UNIDADES DE PRODUCCIÓN AGROPECUARIA Y SUPERFICIE*. Fecha de consulta 27 de junio de 2016 **de:** http://www.ine.gob.bo/pdf/cna_BOLIVIA_final.pdf
- [3] **BOLIVIA LAND (2009)** *Estudio de mercado Achiote, color esperanza La Paz*. Fecha de consulta 10 de septiembre de 2016, **de:** http://www.bolivianland.net/UserFiles/File/Dest1Comun/Bolivia-Articulos-Export/Annato-Achiote-Urucu_Esp.pdf
- [4] *Colorante-achiote-perfil-mercado.pdf*. Fecha de consulta 25 de mayo de 2016, **de:** http://www.bolivianland.net/UserFiles/File/Dest1Comun/Bolivia-Articulos-Export/Annato-Achiote-Urucu_Esp.pdf
- [5] **CCBOL GROUP SRL**. Fecha de consulta 4 de octubre de 2016, **de:** <http://www.ccbolgroup.com/achiote.html>
- [6] **CEANID (2016)**. *Centro de Análisis, Investigación y Desarrollo*. Fecha de consulta 4 de noviembre de 2016.
- [7] **Chavarría E.** *Extracción de Colorantes, Universidad Nacional de Cajamarca Perú*. Fecha de consulta 22 de octubre de 2016, **de:** <http://es.slideshare.net/ELVISCHAVARRICHOLAN/extraccin-de-colorantes>
- [8] **EcuRed.2005**. *Hidróxido de Sodio*. Fecha de consulta 2 de noviembre de 2016, **de:** https://www.ecured.cu/Hidr%C3%B3xido_de_Sodio
- [9] *El achiote puede llegar a EEUU y a Países Bajos-AGRONOMIA*. Fecha de consulta 4 de junio del 2016, **de:** <http://agroingenieroblogspot.com/2009/05/el-achiote-puede-llegar-EEUU-y-paises.html>
- [10] **Edgar 181 (SEP. 2009)** *chemical structure of cis-bixin*. Fecha de consulta 30 de junio de 2016, **de:** <https://es.wikipedia.org/wiki/Bixina>

[11] *Frutos abiertos de onoto con las semillas en su interior*. Fecha de consulta 15 de mayo de 2016, **de:** http://www.rioja.com.pe/noticia_conoces-achiote-te-contamos-usos-propiedades-medicinales.html

[12] **Guzmán F.J., Salinas M. y Quiroz V.M. (1992)** *Estudio de Prefactibilidad y diseño de una planta industrial para la Extracción del colorante derivado de la semilla del Achiote (Bixa Orellana)*. Fecha de consulta 12 de junio de 2016, **de:** <http://148.206.53.84/tesiuami/UAM6908.pdf>

[13] **Huerta L.D.C. Y Ostos R.R. (Marzo 2014)** *Estudio de Prefactibilidad de una Empresa Productora y Comercializadora de Bixina dirigido al Mercado de Japón*. Fecha de consulta 25 de junio de 2016, **de:** http://tesis.pucp.edu.pe/repositorio/bitstream/handle/123456789/5380/HUERTA_LUCERO_ESTUDIO_PRE_FACTIBILIDAD_EMPRESA_PRODUCTORA_COMERCIALIZADO_RA_BIXINA_JAPON.pdf?sequence=1

[14] **H₂SO₄**. *Ácido sulfúrico*. Fecha de consulta 27 de noviembre de 2016, **de:** https://es.wikipedia.org/wiki/%C3%81cido_sulf%C3%BArico

[15] **IBCE (2009)** *productos con potencial exportador*. Fecha de consulta 15 de mayo de 2016, **de:** <http://ibce.org.bo/images/publicaciones/exportemos29.pdf>

[16] **INDEC**. *Aspectos Básicos de la Elaboración de Ácido Sulfúrico*. Fecha de consulta 27 de noviembre de 2016, **de:** http://www.indec.cl/man_asp.html

[17] **INE (2008)** *ENCUESTA NACIONAL AGROPECUARIA V2 PDF*. Fecha de consulta 30 de abril del 2016, **de:** <http://webine.ine.gob.bo/ine/sites/default/files/documentos/publicaciones/Encuesta NacionalAgropecuariaV2.pdf>

[18] **Lanza, J.M. (1997)** *Optimización del tiempo de lavado en el proceso de extracción de Bixina con álcali a partir de semillas de achiote (bixaOrellana) de Diferente Maduración*. Fecha de consulta 30 de abril, de 2016, **de:** http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/08/08_0605_Q.pdf

[19] **MEDELLIN**. *Componentes del achiote*. Fecha de consulta 25 de mayo de 2016, **de:** <http://www.vermail.net/> y Universidad Nacional de Medellín.

- [20] **RAMIREZ, RUIZ ERICK.** *Metodología de la investigación.* Tarija- Bolivia 2009.
- [21] **Rojas, J.O. (2002).** *Producción de Extractos Colorantes a partir de Semillas de Achiote (Bixa Orellana) a Nivel Planta Piloto.* Investigación aplicada (Licenciado en Ing. Química). Universidad Mayor de San Simón, Facultad de Ciencias y Tecnología. Cochabamba (Bolivia).
- [22] **Rueda, L.M. y Niño, M.J. (2004)** *Diseño de una planta piloto para la producción de Bixina a partir del achiote.* Fecha de consulta 25 de abril de 2016, **de:**<http://repositorio.uis.edu.co/jspui/bitstream/123456789/6932/2/112754.pdf>
- Susana R.** *Plantas tintóreas americanas: "El Rocú".* Fecha de consulta 10 de octubre de 2016, **de:** <http://www.herbotecnia.com.ar/aut-bixa.html>
- [23] **TECO Técnica Ecológica, S.A. San José, Costa Rica (2005)** *Aplicaciones del Achiote.* Fecha de consulta 12 de noviembre de 2017, **de:** <http://www.rainforestcolors.com/annattoaplicaciones.html>
- [24] **Universidad Nacional Toribio Rodríguez De Mendoza (2012)** *Extracción de Colorante (Bixina) a partir de semillas de Achiote (Bixa Orellana L.).* Fecha de consulta 20 de mayo de 2016, **de:**<https://es.scribd.com/doc/138814552/Extraccion-de-Bixina-de-Achiote>

ANEXOS

ANEXO 1

FOTOGRAFIAS DEL ACHIOTE EN BERMEJO

Figura 1: Árbol de Achiote



Fuente: elaboración propia, 2016

Figura 2: Flor del achiote



Fuente: elaboración propia, 2016



Fuente: elaboración propia, 2016

Figura 3: Semillas del achiote



Fuente: elaboración propia, 2016



Fuente: elaboración propia, 2016

ANEXO 2

ANALISIS FISICOQUIMICO DE LAS SEMILLAS DE ACHIOTE



UNIVERSIDAD AUTONOMA "JUAN MISAEL SARACHO"
 FACULTAD DE "CIENCIAS Y TECNOLOGIA"
 CENTRO DE ANALISIS, INVESTIGACION Y DESARROLLO "CEANID"
 Laboratorio Oficial del Ministerio de Salud y Deportes
 Red de Laboratorios Oficiales de Análisis de Alimentos
 Red Nacional de Laboratorios de Micronutrientes
 Laboratorio Oficial del "SENASAG"

CEANID-FOR-88
 Versión 01
 Fecha de emisión: 2016-10-31



INFORME DE ENSAYO

I. INFORMACIÓN DEL SOLICITANTE

Cliente:	Janeth Alejandra Medina Colque		
Solicitante:	Janeth Alejandra Medina Colque		
Dirección:	Av. Los Molles N° 051 - Barrio Mendez Arcos		
Teléfono/Fax:	76190236	Correo-e	Código AL 296/16

II. INFORMACIÓN DE LA MUESTRA

Descripción de la muestra:	Semillas de achote		
Código de muestreo:	****	Fecha de vencimiento:	*****
Fecha y hora de muestreo:	2016-10-24	Hrs. 15:30	Lote: *****
Procedencia (Localidad/Prov/ Dpto)	Tarija - Cercado - Tarija Bolivia		
Lugar de muestreo:	Cercado		
Responsable de muestreo:	Janeth Alejandra Medina Colque		
Código de la muestra:	863 FQ 555	Fecha de recepción de la muestra:	2016-10-25
Cantidad recibida:	250 g	Fecha de ejecución de ensayo:	De 2016-10-25 al 2016-11-04

III. RESULTADOS

PARÁMETRO	TECNICA y/o MÉTODO DE ENSAYO	UNIDAD	RESULTADO
Cenizas	NB 39034:10	%	4,38
Fibra	Gravimétrico	%	12,46
Materia Grasa	NB 313019:06	%	4,48
Humedad	NB 313010:05	%	9,05
Hidratos de carbono	Cálculo	%	69,41
Proteína total (Nx6,25)	NB/ISO 8968-1:08	%	12,68
Valor energético	Cálculo	Kcal/100 g	368,68

NB: Norma Boliviana %: Porcentaje Kcal: Kilocalorías
 ISO: Organización Internacional de Normalización (*): No se observa desarrollo de colonias

- 1) Los resultados reportados se remiten a la muestra ensayada en el Laboratorio
- 2) El presente informe solo puede ser reproducido en forma parcial y/o total, con la autorización del CEANID
- 3) Los datos de la muestra y el muestreo, fueron suministrados por el cliente

Tarija, 04 de noviembre de 2016

Ing. Adalid Aceituno Cáceres
 JEFE DEL CEANID



Original: Cliente
 Copia: CEANID

Dirección: Campus Universitario Facultad de Ciencias y Tecnología Zona "El Tejar" Tel. (591) (4) 6645648
 Fax: (591) (4) 6643403 - Email: ceanid@uajms.edu.bo - Casilla 51 - TARIJA - BOLIVIA

Página 1 de 1

Fuente: CEANID (Centro de Análisis, Investigación y Desarrollo), 2016

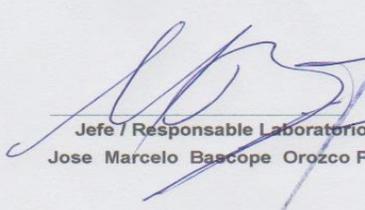
INFORME DE ANÁLISIS DE INVESTIGACION

CODIGO MUESTRA:	CIQ-B-11-119-I
Datos del solicitante	
Nombre del Solicitante	Yaneth Alejandra Medina
Empresa	Yaneth Alejandra Medina
Dirección	-
Departamento	Tarija
Datos de la Muestra	
Procedencia de la muestra	Tarija
Producto	Semillas de achiote
Tipo o marca	-
Cantidad	105 g
Código de Muestra	-
Fecha de elaboración	-
Fecha de vencimiento	-
Lote	-
Fecha de muestreo	-
Responsable de muestreo	Cliente
Condiciones de recepción de muestra	
Fecha de recepción	23-11-2017
Fecha de análisis	27-11-2017 -8-12-17
Fecha de elaboración de informe	09-12-2017
Aspecto	Sólido
Color	Rojo
Envase	Bolsa plastica
Responsable de la recepcion:	Disvania Flores
Observaciones:	-

Item	Parámetros	Unidad	Método de Ensayos	Límite de Detección	Resultado
1	Bixina	%	HPLC-UV	0.01	4.25

Los resultados corresponden a las muestras recibidas y ensayadas en el Laboratorio de Análisis Químicos

LD Limite de Detección


Jefe / Responsable Laboratorio
 Jose Marcelo Bascope Orozco PhD


ANEXO 3

TAXONOMIA DE LAS SEMILLAS DE ACHIOTE



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA "JUAN MISAEL SARACHO"

Facultad de Ciencias Agrícolas y Forestales

HERBARIO UNIVERSITARIO (T. B.)

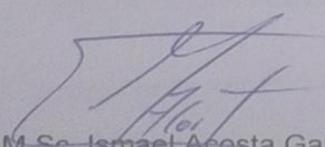


Campus* El Tejar* - Telf. (591)-66-43121 - Fax: (591)-66-43403 - P.O. BOX 51 Tarija - Bolivia

Tarija, 25 de julio de 2017

Taxonomía del cultivo de achiote, a favor de la señorita Yaneth Alejandra Medina Colque, para su trabajo de Tesis de Grado en la Facultad de Ciencias y Tecnología:

Reino: Vegetal.
Phylum: Telemophytae.
División: Tracheophytae.
Subdivisión: Anthophyta.
Clase: Angiospermae.
Subclase: Dicotyledoneae
Grado Evolutivo: Archichlamydeae
Grupo de Ordenes: Corolinos
Orden: Parietales
Familia: Bixaceae
Nombre científico: *Bixa orellana* L.
Nombre común: Achiote - Urucú


Ing. M.Sc. Ismael Acosta Galarza
Encargado Herbario Universitario

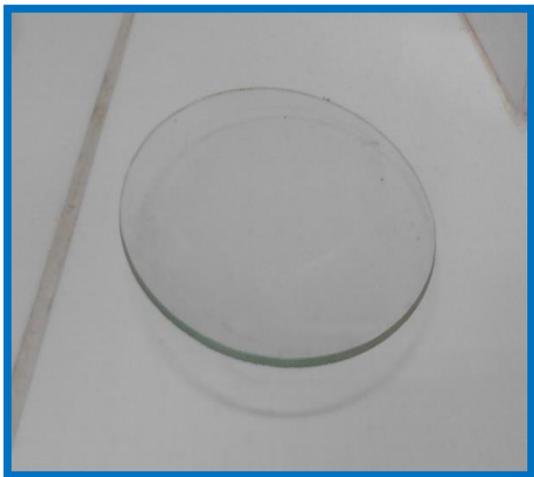


Fuente: HERBARIO UNIVERSITARIO (T.B.), Facultad de Ciencias Agrícolas y Forestales, 2017

ANEXO 4

MATERIALES Y EQUIPOS USADOS

Materiales



Vidrio reloj



Termómetro



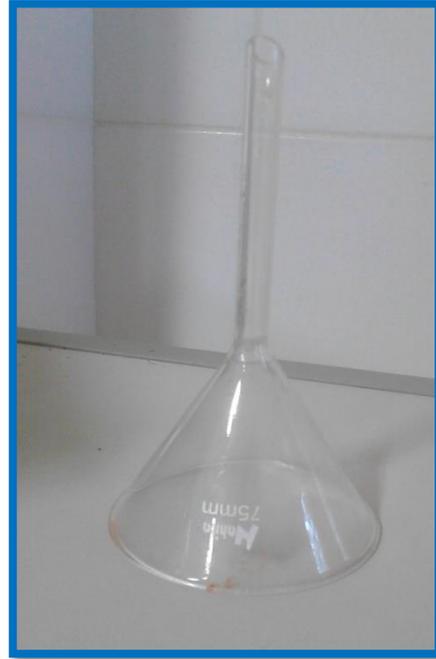
Vaso de precipitación



Probeta



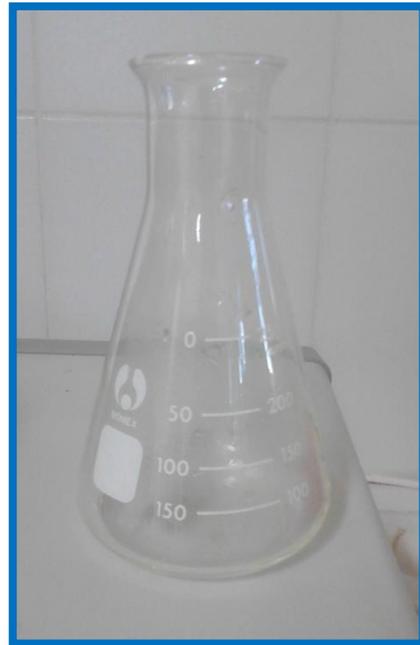
Pipetas



Embudo



Mortero



Erlenmeyer

Equipos



Balanza Analítica



Agitador Magnético



Estufa

ANEXO 5

PROCESO DE OBTENCION DE BIXINA

1. Limpieza de las semillas de achiote



Fuente: elaboración propia, 2018

2. Pesado



Fuente: elaboración propia, 2018

3. Etapa de Extracción



Fuente: elaboración propia, 2018

4. Precipitación de la Solución Rojiza



Fuente: elaboración propia, 2017



Fuente: elaboración propia, 2018

5. Etapa de Filtrado y lavado



Fuente: elaboración propia, 2018



Fuente: elaboración propia, 2018

6. Etapa de Secado



Fuente: elaboración propia, 2018

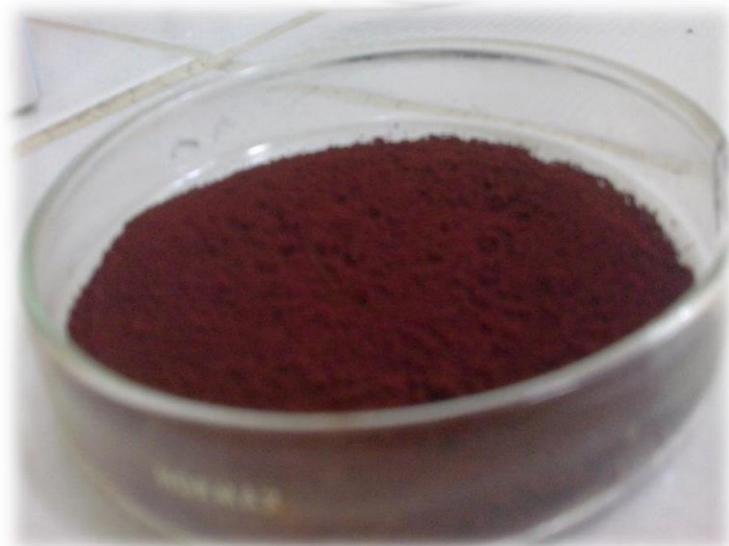


Fuente: elaboración propia, 2018

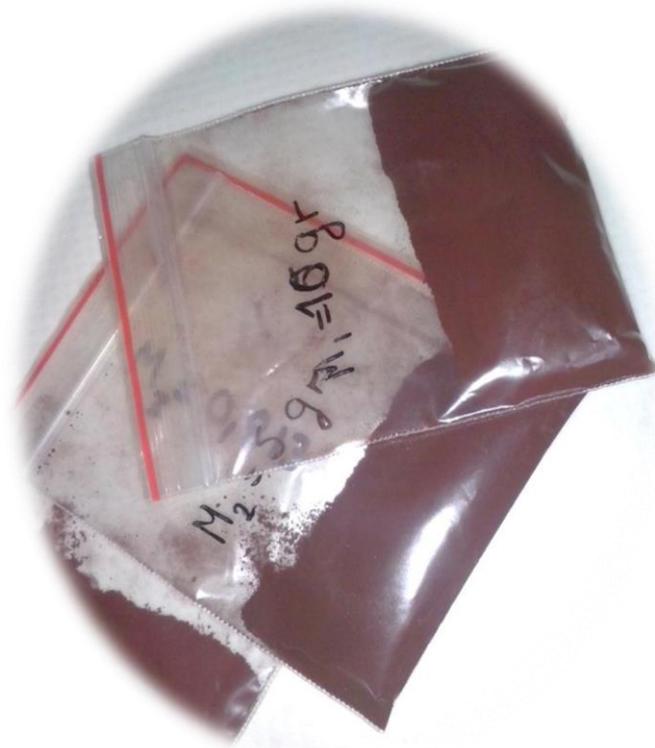
7. Molido



Fuente: elaboración propia, 2018



Fuente: elaboración propia, 2018



Fuente: elaboración propia, 2018

ANEXO 6

ANALISIS DEL COLORANTE (BIXINA)

INFORME DE ANÁLISIS DE INVESTIGACION

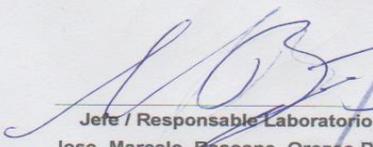
CODIGO MUESTRA:	CIQ-B-11-120-I
Datos del solicitante	
Nombre del Solicitante	Yaneth Alejandra Medina
Empresa	Yaneth Alejandra Medina
Dirección	-
Departamento	Tarija
Datos de la Muestra	
Procedencia de la muestra	Tarija
Producto	Colorante natural
Tipo o marca	-
Cantidad	12 g
Código de Muestra	-
Fecha de elaboración	-
Fecha de vencimiento	-
Lote	-
Fecha de muestreo	-
Responsable de muestreo	Cliente
Condiciones de recepción de muestra	
Fecha de recepción	23-11-2017
Fecha de análisis	27-11-2017 -8-12-17
Fecha de elaboración de informe	09-12-2017
Aspecto	Sólido
Color	Rojo
Envase	Bolsa plastica
Responsable de la recepción:	Disvania Flores
Observaciones:	-

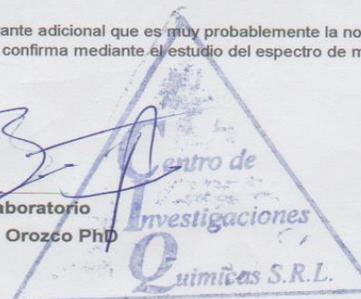
Item	Parámetros	Unidad	Método de Ensayos	Límite de Detección	Resultado
1	Bixina	%	HPLC-UV	0.01	10.38

Los resultados corresponden a las muestras recibidas y ensayadas en el Laboratorio de Análisis Químicos

LD Límite de Detección

Observe que el colorante natural presenta otra substancia colorante adicional que es muy probablemente la norbixina debido a la similitud de los espectros de absorcion UV. Esta suposicion se confirma mediante el estudio del espectro de masas vea documentacion de respaldo


Jefe / Responsable Laboratorio
Jose Marcelo Bascope Orozco PhD



Condiciones HPLC

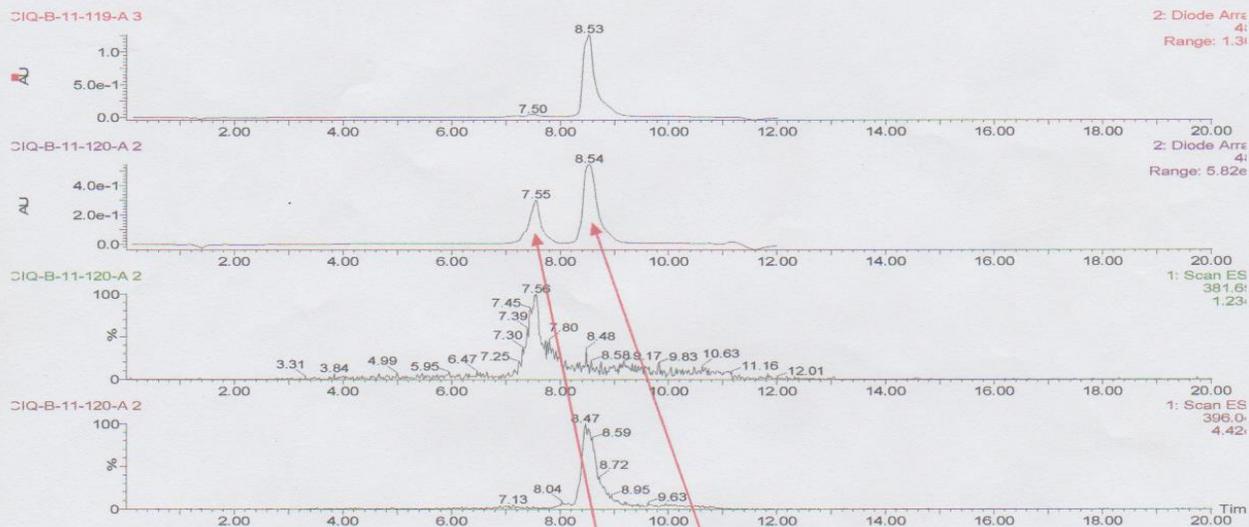
Equipo: Waters alliance 2695-DAD
Columna: Lichrospher C-18 encapad

Flujo: 0.25 ml/min

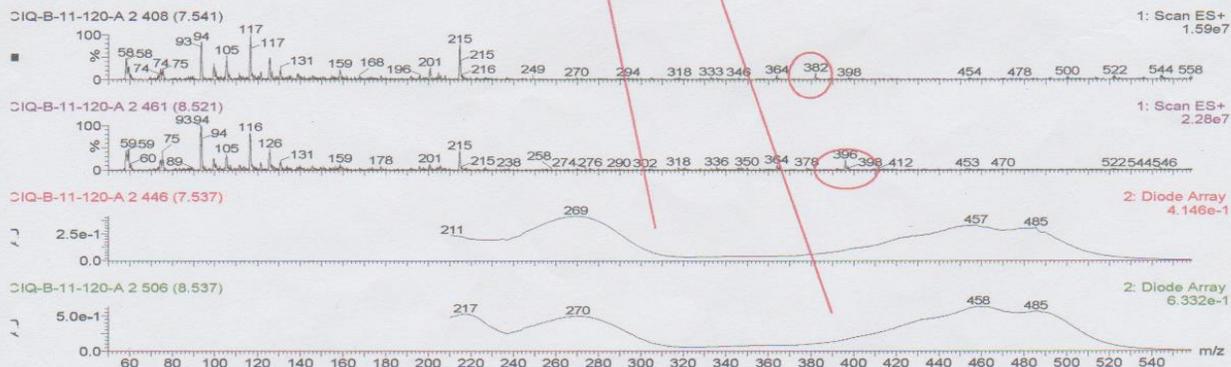
Fase movil gradiente		
T (min)	H2O (%)	EOTH (%)
0.0	100	0
0.1	95	5
7	0	100
9	0	100

Acquired Data: DICIEMBRE 2017

Semillas de achiote (119-I) Colorante natural (120-I)
Cromatogramas



Espectros UV y espectros de masas confirmación de bixina y norbixina



Fuente: CIQ (Centro de Investigaciones Químicas) Cochabamba, 2017



UNIVERSIDAD AUTONOMA "JUAN MISAEL SARACHO"
CENTRO DE ANALISIS, INVESTIGACION Y DESARROLLO "CEANID"
Laboratorio Oficial del Ministerio de Salud y Deportes
Red de Laboratorios Oficiales de Análisis de Alimentos
Red Nacional de Laboratorios de Micronutrientes
Laboratorio Oficial del "SENASAG"



INFORME DE ANÁLISIS DE LABORATORIO

I. INFORMACIÓN DEL SOLICITANTE

Cliente:	Yaneth Medina Colque			
Solicitante:	Yaneth Medina Colque			
Dirección:	Calle Los Molles s/n - Barrio Mendez Arcos			
Teléfono/Fax:	76190236	Correo-e:	*****	Código: AL 198/18

II. INFORMACIÓN DE LA MUESTRA

Descripción de la muestra:	Colorante natural en polvo (Bixina)		
Fecha y hora de muestreo:	2018-07-17		
Procedencia:	Tarija - Cercado - Tarija - Bolivia		
Lugar de muestreo:	Lugar de elaboración		
Responsable de muestreo:	Yaneth Medina Colque		
Código de la muestra:	662 FQ 425	Fecha de recepción de la muestra:	2018-07-31
Cantidad recibida:	10 g	Fecha de análisis de la muestra:	Del 2018-07-31 al 2018-08-09

III. RESULTADOS

PARÁMETRO	TECNICA y/o MÉTODO DE ENSAYO	UNIDAD	RESULTADO	LIMITES PERMISIBLES		REFERENCIA DE LOS LIMITES
				Min.	Max.	
Ceniza	NB 39034:10	%	27,71	Sin Referencia		Sin Referencia
Humedad	NB 313010:05	%	11,26	Sin Referencia		Sin Referencia
pH (20°C) (solución 2%)	NB 38028:2006		1,23	Sin Referencia		Sin Referencia

NB: Norma Boliviana

% : Porcentaje

Tarija, 09 de agosto del 2018

Ing. Adalid Aceituno Cáceres
JEFE DEL CEANID



Original: Cliente

Copia: CEANID

Fuente: CEANID (Centro de Análisis, Investigación y Desarrollo), 2018

ANEXO 7

TABLA DE FISHER

TABLA DE FISHER PARA UN NIVEL DE CONFIANZA DEL 99%

$$1 - \alpha = 0.99$$

v_1 = grados de libertad del numerador

$$1 - \alpha = P(F \leq f_{\alpha, v_1, v_2})$$

v_2 = grados de libertad del denominador

$v_2 \backslash v_1$	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
1	4052.185	4999.340	5403.534	5624.257	5763.955	5858.950	5928.334	5980.954	6022.397	6055.925	6083.399	6106.682	6125.774	6143.004	6156.974	6170.012	6181.188	6191.432	6200.746	6208.682
2	98.502	99.000	99.164	99.251	99.302	99.331	99.357	99.375	99.390	99.397	99.408	99.419	99.422	99.426	99.433	99.437	99.441	99.444	99.448	99.448
3	34.116	30.816	29.457	28.710	28.237	27.911	27.671	27.489	27.345	27.228	27.132	27.052	26.983	26.924	26.872	26.826	26.786	26.751	26.719	26.690
4	21.198	18.000	16.694	15.977	15.522	15.207	14.976	14.799	14.659	14.546	14.452	14.374	14.306	14.249	14.198	14.154	14.114	14.079	14.048	14.019
5	16.258	13.274	12.060	11.392	10.967	10.672	10.456	10.289	10.158	10.051	9.963	9.888	9.825	9.770	9.722	9.680	9.643	9.609	9.580	9.553
6	13.745	10.925	9.780	9.148	8.746	8.466	8.260	8.102	7.976	7.874	7.790	7.718	7.657	7.605	7.559	7.519	7.483	7.451	7.422	7.396
7	12.246	9.547	8.451	7.847	7.460	7.191	6.993	6.840	6.719	6.620	6.538	6.469	6.410	6.359	6.314	6.275	6.240	6.209	6.181	6.155
8	11.259	8.649	7.591	7.006	6.632	6.371	6.178	6.029	5.911	5.814	5.734	5.667	5.609	5.559	5.515	5.477	5.442	5.412	5.384	5.359
9	10.562	8.022	6.992	6.422	6.057	5.802	5.613	5.467	5.351	5.257	5.178	5.111	5.055	5.005	4.962	4.924	4.890	4.860	4.833	4.808
10	10.044	7.558	6.552	5.994	5.636	5.386	5.200	5.057	4.942	4.849	4.772	4.706	4.650	4.601	4.558	4.520	4.487	4.457	4.430	4.405
11	9.648	7.206	6.217	5.668	5.316	5.069	4.886	4.744	4.632	4.539	4.462	4.397	4.342	4.293	4.251	4.213	4.180	4.150	4.123	4.099
12	9.330	6.927	5.953	5.412	5.064	4.821	4.640	4.498	4.388	4.296	4.220	4.155	4.100	4.052	4.010	3.972	3.939	3.910	3.883	3.858
13	9.074	6.701	5.739	5.205	4.862	4.620	4.441	4.302	4.191	4.100	4.025	3.960	3.905	3.857	3.815	3.778	3.745	3.716	3.689	3.665
14	8.862	6.515	5.564	5.035	4.695	4.456	4.278	4.140	4.030	3.939	3.864	3.800	3.745	3.698	3.656	3.619	3.586	3.556	3.529	3.505
15	8.683	6.359	5.417	4.893	4.556	4.318	4.142	4.004	3.895	3.805	3.730	3.666	3.612	3.564	3.522	3.485	3.452	3.423	3.396	3.372
16	8.531	6.226	5.292	4.773	4.437	4.202	4.026	3.890	3.780	3.691	3.616	3.553	3.498	3.451	3.409	3.372	3.339	3.310	3.283	3.259
17	8.400	6.112	5.185	4.669	4.336	4.101	3.927	3.791	3.682	3.593	3.518	3.455	3.401	3.353	3.312	3.275	3.242	3.212	3.186	3.162
18	8.285	6.013	5.092	4.579	4.248	4.015	3.841	3.705	3.597	3.508	3.434	3.371	3.316	3.269	3.227	3.190	3.158	3.128	3.101	3.077
19	8.185	5.926	5.010	4.500	4.171	3.939	3.765	3.631	3.523	3.434	3.360	3.297	3.242	3.195	3.153	3.116	3.084	3.054	3.027	3.003
20	8.096	5.849	4.938	4.431	4.103	3.871	3.699	3.564	3.457	3.368	3.294	3.231	3.177	3.130	3.088	3.051	3.018	2.989	2.962	2.938
21	8.017	5.780	4.874	4.369	4.042	3.812	3.640	3.506	3.398	3.310	3.236	3.173	3.119	3.072	3.030	2.993	2.960	2.931	2.904	2.880
22	7.945	5.719	4.817	4.313	3.986	3.758	3.587	3.453	3.346	3.258	3.184	3.121	3.067	3.019	2.978	2.941	2.908	2.879	2.852	2.827
23	7.881	5.664	4.765	4.264	3.939	3.710	3.539	3.406	3.299	3.211	3.137	3.074	3.020	2.973	2.931	2.894	2.861	2.832	2.805	2.780
24	7.823	5.614	4.718	4.218	3.895	3.667	3.496	3.363	3.256	3.168	3.094	3.032	2.977	2.930	2.889	2.852	2.819	2.789	2.762	2.738
25	7.770	5.568	4.675	4.177	3.855	3.627	3.457	3.324	3.217	3.129	3.056	2.993	2.939	2.892	2.850	2.813	2.780	2.751	2.724	2.699
26	7.721	5.526	4.637	4.140	3.818	3.591	3.421	3.288	3.182	3.094	3.021	2.958	2.904	2.857	2.815	2.778	2.745	2.715	2.688	2.664
27	7.677	5.488	4.601	4.106	3.785	3.558	3.388	3.256	3.149	3.062	2.988	2.926	2.872	2.824	2.783	2.746	2.713	2.683	2.656	2.632
28	7.636	5.453	4.568	4.074	3.754	3.528	3.358	3.226	3.120	3.032	2.959	2.896	2.842	2.795	2.753	2.716	2.683	2.653	2.626	2.602
29	7.598	5.420	4.538	4.045	3.725	3.499	3.330	3.198	3.092	3.005	2.931	2.868	2.814	2.767	2.726	2.689	2.656	2.626	2.599	2.574
30	7.562	5.390	4.510	4.018	3.699	3.473	3.305	3.173	3.067	2.979	2.906	2.843	2.789	2.742	2.700	2.663	2.630	2.600	2.573	2.549
40	7.314	5.178	4.313	3.828	3.514	3.291	3.124	2.993	2.888	2.801	2.727	2.665	2.611	2.563	2.522	2.484	2.451	2.421	2.394	2.369
50	7.171	5.057	4.199	3.720	3.408	3.186	3.020	2.890	2.785	2.698	2.625	2.563	2.508	2.461	2.419	2.382	2.348	2.318	2.290	2.265
60	7.077	4.977	4.126	3.649	3.339	3.119	2.953	2.823	2.718	2.632	2.559	2.496	2.442	2.394	2.352	2.315	2.281	2.251	2.223	2.198
70	7.011	4.922	4.074	3.600	3.291	3.071	2.906	2.777	2.672	2.585	2.512	2.450	2.395	2.348	2.306	2.268	2.234	2.204	2.176	2.150
80	6.963	4.881	4.036	3.563	3.255	3.036	2.871	2.742	2.637	2.551	2.478	2.415	2.361	2.313	2.271	2.233	2.199	2.169	2.141	2.115
90	6.925	4.849	4.007	3.535	3.228	3.009	2.845	2.715	2.611	2.524	2.451	2.389	2.334	2.286	2.244	2.206	2.172	2.142	2.114	2.088
100	6.895	4.824	3.984	3.513	3.206	2.988	2.823	2.694	2.590	2.503	2.430	2.368	2.313	2.265	2.223	2.185	2.151	2.120	2.092	2.067
200	6.763	4.713	3.881	3.414	3.110	2.893	2.730	2.601	2.497	2.411	2.338	2.275	2.220	2.172	2.129	2.091	2.057	2.026	1.997	1.971
500	6.686	4.648	3.821	3.357	3.054	2.838	2.675	2.547	2.443	2.356	2.283	2.220	2.166	2.117	2.075	2.036	2.002	1.970	1.942	1.915
1000	6.680	4.626	3.801	3.338	3.036	2.820	2.657	2.529	2.425	2.339	2.265	2.203	2.148	2.099	2.056	2.018	1.983	1.952	1.923	1.897

Elaborada por Irene Patricia Valdez y Alfaro.