

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE INGENIERÍA
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA



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

TESIS

PRESENTADA A LA JUNTA DIRECTIVA DE LA
FACULTAD DE INGENIERÍA
POR

JORGE MARIO LANZA GALINDO

AL CONFERÍRSELE EL TÍTULO DE
INGENIERO QUÍMICO

GUATEMALA, SEPTIEMBRE DE 1997



08
T(4096)

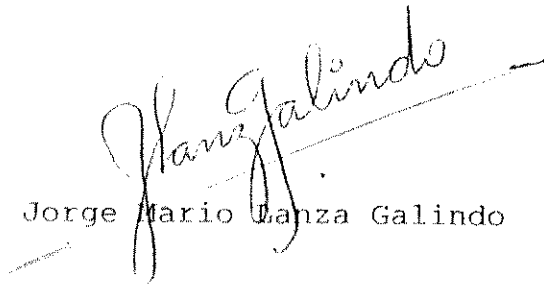
C.4

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

Cumpliendo con los preceptos que establece la ley de la Universidad de San Carlos de Guatemala, presento a su consideración el trabajo de tesis titulado:

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

tema que me fue asignado por la Dirección de Escuela de Ingeniería Química con fecha 28 de julio de 1997.


Jorge Mario Lanza Galindo

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE INGENIERÍA
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA



MIEMBROS DE JUNTA DIRECTIVA

DECANO	Ing. Herbert René Miranda Barrios
VOCAL 1o.	Ing. Miguel Ángel Sánchez Guerra
VOCAL 2o.	Ing. Jack Douglas Ibarra Solórzano
VOCAL 3o.	Ing. Juan Adolfo Echeverría Méndez
VOCAL 4o.	Br. Víctor Rafael Lobos Aldana
VOCAL 5o.	Br. Wagner Gustavo López Cáceres
SECRETARIO	Inga. Gilda Marina Castellanos de Illescas

TRIBUNAL QUE PRACTICÓ EL EXAMEN
GENERAL PRIVADO

DECANO	Ing. Julio Ismael González Podszueck
EXAMINADOR	Ing. Julio Alberto Rivera Palacios
EXAMINADOR	Ing. José Luis Azzari
EXAMINADOR	Ing. Cesar Alfonso García Guerra
SECRETARIO	Ing. Francisco Javier González López

Guatemala, 01 de septiembre de 1997

Ingeniero Julio Chávez Montúfar
Director de la Escuela de Ingeniería Química
Facultad de Ingeniería
Universidad de San Carlos de Guatemala
Presente

Estimado Ingeniero:

Tengo el gusto de comunicarle que he revisado el trabajo final de tesis titulado: **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**, que presenta el estudiante JORGE MARIO LANZA GALINDO; para optar al título de Ingeniero Químico. Y habiéndolo encontrado satisfactorio se da por aprobado para que pueda iniciar su trámite correspondiente.

Sin otro particular, le saluda atentamente.



Ing. Erick Danilo Tello Rendón
ASESOR



FACULTAD DE INGENIERIA

Escuelas de Ingeniería Civil, Ingeniería
Mecánica Industrial, Ingeniería Química,
Ingeniería Mecánica Eléctrica, Técnica
y Regional de Post-grado de Ingeniería
Sanitaria.

Ciudad Universitaria, zona 12
Guatemala, Centroamérica

Guatemala, 03 de septiembre de 1997

Ingeniero Julio Chávez Montúfar
Director de la Escuela de Ingeniería Química
Facultad de Ingeniería
Universidad de San Carlos de Guatemala
Presente

Estimado Ingeniero:

Hago de su conocimiento que he revisado el informe de tesis del estudiante JORGE MARIO LANZA GALINDO, titulado: **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;** dejo constancia de aprobación para proceder a la autorización del respectivo trabajo.

Agradeciendo la atención que se sirve dar a la presente me suscribo de usted.

Atentamente,

ID Y ENSEÑAD A TODOS

Inq. Oscar Rosal Higueros
REVISOR



FACULTAD DE INGENIERIA

Escuelas de Ingeniería Civil, Ingeniería
Mecánica Industrial, Ingeniería Química,
Ingeniería Mecánica Eléctrica, Técnica
y Regional de Post-grado de Ingeniería
Sanitaria.

Ciudad Universitaria, zona 12
Guatemala, Centroamérica

El Director de la Escuela de Ingeniería Química, Ing. Julio Chávez Montufar, después de conocer el dictamen del Asesor con el Visto Bueno del Jefe de Departamento, al trabajo del estudiante **Jorge Mario Lanza Galindo**, titulado: **OPTIMIZACION DEL TIEMPO DE LAVADO EN EL PROCESO DE EXTRACCION DE BIXINA CON ALCALI A PARTIR DE SEMILLAS DE ACHIOTE (Bixa orellana) DE DIFERENTE MADURACION**, procede a la autorización del mismo.


Ing. Julio Chávez Montufar
DIRECTOR
ESCUELA INGENIERIA QUIMICA



Guatemala, 24 de septiembre de 1,997.



FACULTAD DE INGENIERIA

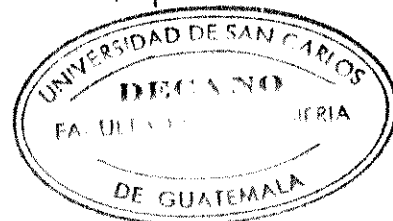
Escuelas de Ingeniería Civil, Ingeniería
Mecánica Industrial, Ingeniería Química,
Ingeniería Mecánica Eléctrica, Técnica
y Regional de Post-grado de Ingeniería
Sanitaria.

Ciudad Universitaria, zona 12
Guatemala, Centroamérica

El Decano de la Facultad de Ingeniería, luego de conocer la autorización por parte del Director de la Escuela de Ingeniería Química, al trabajo de Tesis titulado: **OPTIMIZACION DEL TIEMPO DE LAVADO EN EL PROCESO DE EXTRACCION DE BIXINA CON ALCALI A PARTIR DE SEMILLAS DE ACHIOTE (Bixa orellana) DE DIFERENTE MADURACION**, del estudiante **Jorge Mario Lanza Galindo**, procede a la autorización para la impresión de la misma.

IMPRIMASE:


Ing. Herbert Miranda Barrios
DECANO



Guatemala, 24 de septiembre de 1.997.

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por ser el acompañante de mi caminar, el amigo de siempre y que nunca falla, a Él le doy gracias por todo lo que me ha dado y permitido realizar.

A la Virgen María, consejera, amiga y la mano cariñosa que siempre está lista para ayudar. Gracias por interceder por mí.

A mis padres, por haberme dado la vida y estar conmigo en cada instante de mi vida.

A la Facultad de Ingeniería de la Universidad de San Carlos de Guatemala, por ser mi maestra.

A mi gran amigo Ingeniero Erick Danilo Tello Rendón, quien me brindó el apoyo incondicional en la realización de este trabajo.

Al Licenciado Gonzalo Enrique Mejía Retana, muy especialmente, por el apoyo en la elaboración y finalización de este trabajo de investigación.

ACTO QUE DEDICO

A: Mi esposa Blanca Aracely Salguero C.,
por el apoyo que me ha brinda-
do en cada momento.

Mi hijita María Fernanda, por ser mi
inspiración.

Mis padres Julio Francisco Lanza y
María Delfina Galindo Leal, en
honor a ellos.

Mis hermanas Silvia Lorena y Karla María,
porque han estado conmigo
material y espiritualmente.

Mis cuñados Carlos, Juancarlos, Vilma y
María del Rosario.

Mis sobrinos Silvia María, Carlos Andrés,
Karla Michelle, Cristian
Geovanni, Leonela, Cristina y
Alejandra.

Toda mi familia

ÍNDICE GENERAL

	Página
LISTA DE ILUSTRACIONES	i
SUMARIO	iii
GLOSARIO	iv
INTRODUCCIÓN	vi
1. ANTECEDENTES	1
1.1. Información general	1
1.2. Composición química	3
1.3. Algunos métodos de extracción del colorante	5
1.3.1. Extracción en el medio rural	5
1.3.2. Extracción con solvente orgánico	6
1.3.3. Extracción con álcali acuoso	7
1.4. Metodología	7
1.4.1. Universo del trabajo	7
1.4.2. Procedimiento	7
1.4.2.1. Limpieza	7
1.4.2.2. Método de extracción usado	8
2. RESULTADOS	10
2.1. Efectos promedio	10
2.2. Tipo de semilla	14
2.3. Tiempo de lavado vrs pureza del colorante	14
2.4. Tiempo de lavado vrs rendimiento del proceso	14
3. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	16
CONCLUSIONES	viii
RECOMENDACIONES	ix
BIBLIOGRAFÍA	x
APÉNDICES	xi

LISTA DE ILUSTRACIONES

	Página
Figura No. 1: Clasificación botánica del achiote	2
Figura No. 2: Estructura química de la bixina	3
Figura No. 3: Estructura química de la norbixina	3
Figura No. 4: Características fisicoquímicas de la bixina y de la norbixina	4
Figura No. 5: Reacción de esterificación de la bixina	4
Figura No. 6: Diagrama de flujo en el proceso de extracción de bixina a partir de semillas de achiote	9
Figura No. 7: Representación gráfica de los datos tabulados en la tabla No. 4	15
Figura No. 8: Representación gráfica de la variación de la pureza del colorante con respecto al tiempo para semilla de diferente maduración	18
Figura No. 9: Representación gráfica de la variación de la pureza del colorante con respecto al tiempo de lavado para semilla de achiote de 1995	19
Figura No.10: Representación gráfica de la variación de la pureza del colorante con respecto al tiempo de lavado para semilla de achiote de 1996	20
Figura No.11: Representación gráfica de la variación de la pureza del colorante con respecto al tiempo de lavado para semilla de achiote de 1997	21
Figura No.12; Representación gráfica de la variación del rendimiento con respecto al tiempo de lavado para semilla de diferente maduración	23

	Página
Figura No.13: Representación gráfica de la variación del rendimiento con respecto al tiempo de lavado para semilla de achiote de 1995	24
Figura No.14: Representación gráfica de la variación del rendimiento con respecto al tiempo de lavado para semilla de achiote de 1996	25
Figura No.15: Representación gráfica de la variación del rendimiento con respecto al tiempo de lavado para semilla de achiote de 1995	26
Tabla No. 1: Porcentaje de pureza y rendimiento para semillas de achiote del año 1995	11
Tabla No. 2: Porcentaje de pureza y rendimiento para semillas de achiote del año 1996	12
Tabla No. 3: Porcentaje de pureza y rendimiento para semillas de achiote del año 1997	13
Tabla No. 4: Contenido de bixina en la semilla de achiote de diferente maduración, años 1995, 1996 y 1997	15

SUMARIO

En el presente trabajo de investigación, se optimiza el tiempo de lavado en el proceso de extracción de bixina con álcali a partir de semillas de achiote, con el fin de mejorar el rendimiento del proceso y/o la pureza del colorante obtenido. Además se hace una comparación entre semillas de diferente maduración de los años 1995, 1996 y 1997 para establecer si existen diferencias entre ellas, bajo las mismas condiciones de experimentación y así determinar la mejor calidad de semilla.

Para ello se utiliza el método de extracción alcalina acuosa, se recolectan semillas que tuvieran un porcentaje de bixina entre un rango de 1.65 y 1.85%, se hacen corridas experimentales en triplicado con un grado de confianza del 95%, y se analizan los resultados estadísticamente mediante un análisis de varianza de una vía para determinar el mejor tiempo de lavado en el cual la pureza del colorante sea la más adecuada.

Se llega a determinar como efectos promedio que la pureza del colorante y el rendimiento del proceso dependen del tiempo de lavado en el extractor.

GLOSARIO

Ácido: compuesto químico o sustancia pura que en solución posee un pH menor de 7, utilizado para la precipitación de la norbixina.

Álcali: compuesto químico o sustancia pura que en solución posee un pH mayor de 7, utilizado para remover el pigmento de las semillas de achiote.

Bixina: pigmento tipo carotenoide esterificado en un carboxilo terminal. Pigmento mayoritario presente en las semillas de achiote.

Esterificación: proceso químico por el cual un ácido carboxílico reacciona con un alcohol para ser convertido en un éster alquílico.

Hidróxido de potasio: sustancia pura conocida también como sosa cáustica, utilizada como medio para remover los pigmentos de la semilla de achiote.

Norbixina: pigmento tipo carotenoide que se obtiene de la hidrólisis alcalina de la bixina.

Orelína: pigmento secundario que se encuentra en las semillas de achiote.

pH: potencial hidrógeno, medida utilizada para diferenciar ácidos de bases.

Precipitación: proceso químico por el cual se produce una sal insoluble en solución; la cual tiende a sedimentar.

Procedimiento de Tukey (HSD): método estadístico utilizado en el análisis de varianza de una vía, para determinar diferencias significativas entre grupos.

Saponificación: proceso químico por el cual un éster alquílico al reaccionar con una base es disociado en un alcohol y un ácido carboxílico. También conocido como hidrólisis alcalina.

INTRODUCCIÓN

El achiote o *Bixa orellana* es uno de los más antiguos colorantes naturales que se conoce. 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.

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 a junio de cada año.

El uso de los colorantes naturales han adquirido una gran importancia actualmente, ya que están desplazando a los colorantes artificiales, por lo que la optimización de procesos como el que pretende este estudio es relevante, pues sugiere un mejor aprovechamiento de los recursos naturales y así ayudar a la transformación de productos agrícolas guatemaltecos, de manera que pueda exportarse un producto con mayor valor agregado.

Existen diferentes métodos de extracción del colorante, siendo el más común 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 ser más atractivo al consumidor, por precio, calidad y facilidad de uso.

El presente trabajo expone la optimización del tiempo de lavado en el proceso. Este análisis toma como muestra semillas de achiote (*Bixa orellana*) de diferentes cosechas, específicamente de los años 1995, 1996 y 1997, de las cuales se pretende mejorar el rendimiento y/o pureza del colorante que poseen (bixina). Además establecer si existen diferencias entre dichas semillas, bajo las mismas

condiciones de experimentación y así determinar la mejor calidad de la misma.

Se establece como hipótesis que el tiempo de lavado en el proceso de extracción de bixina con álcali a partir de semillas de achiote, puede ser optimizado para mejorar el rendimiento, y/o la pureza del colorante que se obtiene.

Finalmente, se interpretan los resultados estadísticamente mediante un análisis de varianza, y para ver los efectos de manera independiente se utiliza un análisis de varianza de una vía, mediante el paquete de computadora Statistical Package for Social Sciences (SPSS) versión 4.0 creado por IBM donde se llega a la determinar que la mejor semilla es la del presente año en donde a un tiempo de lavado de 6 minutos se obtiene la mayor pureza y rendimiento del colorante.

1. ANTECEDENTES

1.1. Información general

Antiguamente, la utilización de colorantes naturales en alimentos fue de gran importancia para el desarrollo de la humanidad, sin embargo el avance de la tecnología logró mediante la creación de colorantes artificiales, el desplazamiento de éstos dentro del mercado. Actualmente se han realizado estudios en los cuales se ha demostrado que los colorantes artificiales contienen sustancias dañinas al organismo, tales como las sales de bencen diazonio 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 lo constituye los colorantes obtenidos a partir del achiote (*Bixa orellana*), 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 orellina, a los cuales debe su nombre científico, *Bixa orellana*. (PINILLOS, 1985, p.7)

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 Kenya donde se utiliza como planta ornamental.

El achiote presenta una gran variedad de colores, desde árboles con tallos rojos, flores rosa 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 centímetros de perímetro, pero a pesar de estas diferencias

el pigmento producido no tiene variación en su estructura.
(CHAO, 1991, p.97)

El fruto del achiote 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 centímetros de ancho y 5 centímetros 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.

Eliminado el color, el residuo consiste en una semilla de color café y apariencia similar a la semilla de uva, que es rica en aceites, carbohidratos y proteínas. (WELLMANN, 1989, p.5). La clasificación botánica del achiote es la siguiente:

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

Figura No. 1: Clasificación Botánica del Achiote
(WELLMANN, 1989, p. 51)

1.2. Composición química

La bixina es un ácido carotenocarboxílico cuya fórmula empírica es $C_{27}H_{40}O_4$ y se conoce químicamente como metil hidrogenuro 9 cis 6-6 diapocaroteno 6-6 dioate, que pertenece a los lípidos por su estructura y sus características. Su estructura química es la siguiente:

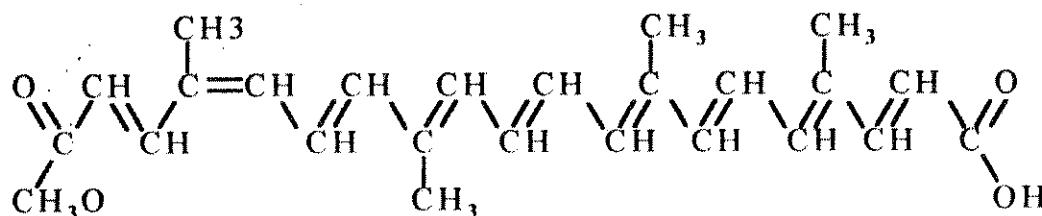


Figura No. 2: Estructura química de la bixina
(PINILLOS, 1985, p.6)

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 grasas y aceites.

La norbixina es un ácido dicarboxílico de fórmula empírica $C_{24}H_{28}O_4$, conocida químicamente como diapo 6-6 caroteno-dióico, 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:

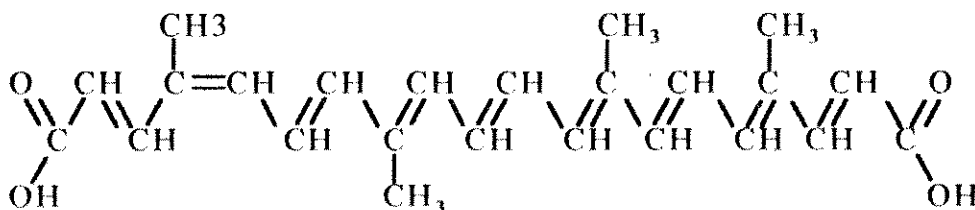


Figura No.3: Estructura química de la norbixina
(PINILLOS, 1985, p.6)

Las características fisicoquímicas de estos dos componentes principales, son las siguientes:

	BIXINA	NORBIXINA
Fórmula molecular	$C_{25}H_{30}O_4$	$C_{24}H_{28}O_4$
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 cloroforno, tiene absorbancia máxima a 439, 470 y 501 nm.	Diluido en agua, tiene absorbancia máxima a 453 y 482 nm.

Figura No.4: Características fisicoquímicas de la bixina y de la norbixina (PINILLOS, 1985, p.43)

La reacción de esterificación que se da para formar la nor-bixina es la siguiente:

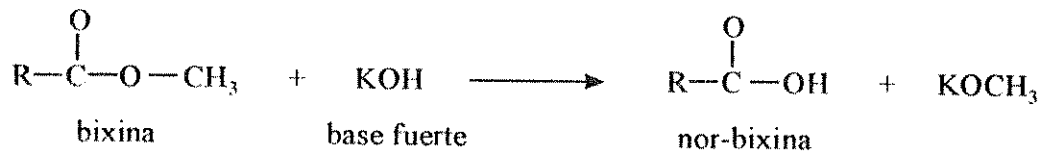


Figura No.5: Reacción de esterificación de la bixina (WELLMAN, 1989, p.7)

La bixina y nor-bixina al igual que todos los compuestos químicos coloreados, deben el tono rojo-amarillento a la presencia de cromóforos los cuales absorben luz de determinada longitud de onda dentro de la región del espectro visible; es decir, al absorber uno de los colores de la luz blanca transmiten el color complementario al absorbido. La bixina y la norbixina contienen 9 cromóforos que absorben el color azul de la luz blanca, los cuales transmiten los colores complementarios rojo y amarillo. En concentraciones altas la bixina y nor-bixina absorben de la luz una combinación de azul y verde, transmitiendo casi totalmente el color complementario rojo. (PINILLOS, 1985, pp.7-8).

1.3. Algunos métodos de extracción del colorante

El achiote se ha usado de muchas maneras: desde teñir ropa hasta pintarse el cuerpo. Pero el uso más conocido es el de darle color y un poquito de sabor a la comida. Aunque también contiene un poco de calcio, de fósforo y de vitamina A, así como algo de hierro y proteínas.

Varios trabajos han tratado sobre el procedimiento de extracción de los pigmentos de la semilla de achiote entre los que se pueden mencionar:

1.3.1. Extracción en el medio rural

Para alistar achiote, las semillas recién cosechadas se echan en un poco de agua y se amasan. Así se logra que las telitas se rompan y el achiote quede disuelto en el agua. Para que todo el achiote se desprenda, es preferible lavar varias veces las semillas en un pascón o colador, hasta que las semillas queden del todo limpias. Luego se cocina en el

achiote, ya sin semillas, durante media hora. Es recomendable ponerle una cucharada rasa de sal por cada litro de agua. Eso ayuda a conservar el achiote. Después se filtra y se pone a hervir de nuevo hasta que el agua se espese bien. Luego se pasa el caldo concentrado bien caliente por un filtro de manta y se deja escurrir de 1 a 2 días. Entonces queda como una masa. Ahora hay que medir o pesar esta masa para ponerle un preservante y así evitar que el achiote coja moho. En 3 cucharadas de agua se deshace una cucharada sopera rasa de Benzoato de Sodio. De esta solución se le pone 1 cucharada sopera rasa por cada kilo de masa de achiote. En otra olla se pone a calentar y derretir la manteca sin dejarla que hierva. A cada kilo de manteca se le puede poner un kilo de masa de achiote. Luego se deja enfriar, moviéndolo de vez en cuando. Cuando todavía está un poquito caliente, se envasa. (INGRAM, 1969, p.100)

1.3.2 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 mucho 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 utilizado necesariamente en productos o extractos acuoso. (INGRAM, 1969, pp. 101-102)

1.3.3. Extracción con álcali acuoso

En el estudio químico industrial presenta las etapas para obtener un extracto seco de achiote estandarizado con 25% de bixina y 5% de humedad, producto que presenta considerables ventajas respecto de la pasta tradicional. Las etapas son:

- a) extracción del colorante en la semilla de achiote en medio alcalino
- b) separación del extracto colorante y la semilla extraída
- c) precipitación ácida de la bixina
- d) filtración del precipitado de colorante
- e) secado del precipitado para la obtención de un extracto seco de achiote.

1.4. Metodología

1.4.1. Universo del trabajo

En el presente estudio, se recolectaron semillas de achiote de la región del norte del país, que se encuentren en un rango de contenido de bixina entre 1.65 y 1.85%, de 3 cosechas diferentes (1995, 1996 y 1997); este rango se verifica por medio de espectrofotometría. (Ver Apéndice 1)

1.4.2. Procedimiento

1.4.2.1. Limpieza

Previo a la utilización del achiote para la extracción del colorante, éste debe ser cuidadosamente limpiado para eliminar residuos, basuras, piedras, o cualquier materia

extraña que posteriormente pueda bajar la pureza del producto final.

En nuestro medio, las limpiadoras utilizadas son de cedazos en desnivel con uno o varios pasos. En algunas ocasiones cuentan con ventiladores para la eliminación de polvo y materiales de menor densidad que la semilla.

1.4.2.2. Método de extracción usado

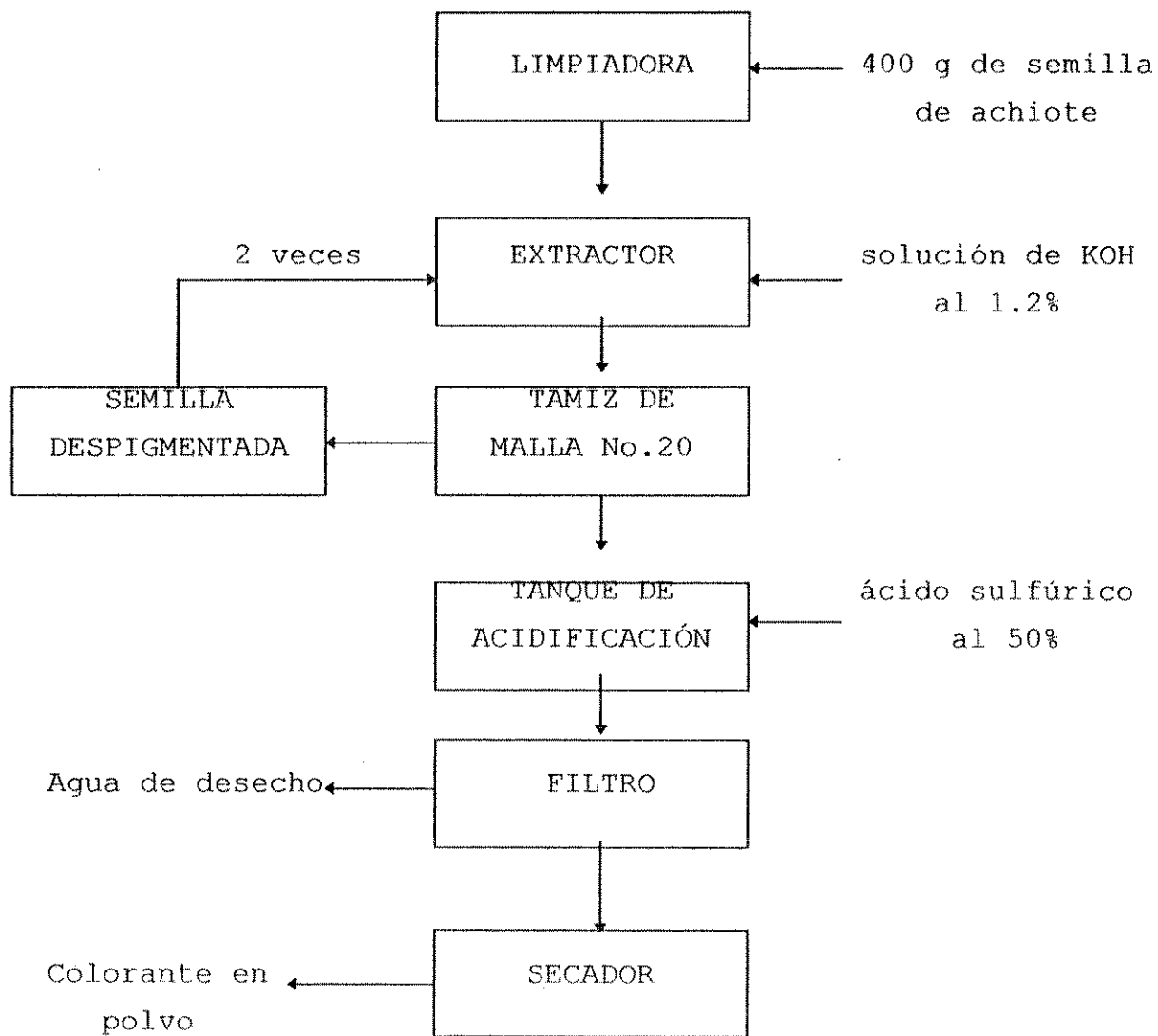
El proceso utilizado es el método de extracción con álcali y se realiza agregando una cantidad de semilla especificada en el diagrama de flujo (Ver figura No.6) o bien una cantidad proporcional al tamaño del extractor, el cual de preferencia debe ser de acero inoxidable.

En el extractor se agrega un litro de una solución de hidróxido de potasio por cada kilo de semilla a procesar. Las semillas se agitan lentamente durante un tiempo predeterminado y posteriormente son colocadas en un tamiz para separar el colorante en solución de las semillas despigmentadas. Se repite el proceso dando una segunda lavada con solución de hidróxido de potasio, con el objeto de que la semilla quede con la menor cantidad de colorante posible.

La solución obtenida se transporta a un tanque en el cual se concentra por neutralización con un exceso de ácido fuerte, el cual puede ser ácido sulfúrico. Esto da como resultado la precipitación de la bixina la cual es insoluble en agua. Este precipitado se hace fluir a través de un filtro y se coloca en bandejas para ser sometido a un proceso de secado.

El polvo de achiote obtenido se analiza mediante espectrofotometría, para analizar la pureza. (ver apéndice 2)

Figura No.6: Diagrama de flujo en el proceso de extracción de bixina a partir de semillas de achiote



La principal razón para emplear este método es para proveer de un colorante adecuado para productos que utilizan como base aceite o grasa, como es el caso de la margarina.

2. RESULTADOS

Los resultados de los análisis se tabulan en las tablas No. 1, 2 y 3 las cuales dan el porcentaje de pureza con que se obtiene el colorante, así como; el porcentaje de rendimiento obtenido en el proceso, cuando se varía el tiempo de lavado en el extractor desde 1 hasta 10 minutos. Esto se hace para semillas de diferente maduración de los años 1995, 1996 y 1997.

Todas las corridas se realizan en triplicado y se analiza estadísticamente por un análisis de varianza. Para ver los efectos de manera independiente se utiliza un análisis de varianza de una vía, mediante el paquete de computadora Statistical Package for Social Sciences (SPSS) versión 4.0 creado por IBM, el cual designa a "p" como la significancia del efecto del parámetro de estudio y se interpreta que cuando $p < 0.005$ es altamente significativo; si $p < 0.01$ es significativo y si $p > 0.01$ el parámetro no es significativo. La corrida del programa cuando se analiza la pureza del colorante, el tiempo de lavado y el tipo de semilla, se muestra en el apéndice 3.

2.1. Efectos promedio

Se realiza un análisis de varianza donde se encuentra:

- a) La pureza del colorante depende del tiempo de lavado en el extractor. ($p < 0.001$)
- b) El rendimiento del proceso depende del tiempo de lavado en el extractor. ($p < 0.001$)

TABLA No. 1
 PORCENTAJE DE PUREZA Y RENDIMIENTO PARA
 SEMILLA DE ACHIOTE (COSECHA 1995)

Tiempo (min) de lavado	Porcentaje de pureza			Porcentaje de rendimiento		
	Corrida 1	Corrida 2	Corrida 3	Corrida 1	Corrida 2	Corrida 3
1	19.74	21.60	20.67	5.73	5.70	5.72
2	20.61	20.15	20.44	5.29	5.29	5.26
3	19.22	19.10	19.45	5.83	5.88	5.82
4	18.12	19.34	18.47	6.17	6.13	6.17
5	19.45	19.10	19.63	5.83	5.86	5.83
6	18.12	17.94	18.87	5.89	5.85	5.87
7	19.74	20.09	20.15	5.92	5.93	5.90
8	18.99	18.76	19.39	5.88	5.87	5.89
9	18.70	18.41	19.05	6.42	6.40	6.42
10	19.16	20.38	19.74	6.21	6.20	6.22

TABLA No. 2
 PORCENTAJE DE PUREZA Y RENDIMIENTO PARA
 SEMILLA DE ACHIOTE (COSECHA 1996)

Tiempo (min) de lavado	Porcentaje de pureza			Porcentaje de rendimiento		
	Corrida 1	Corrida 2	Corrida 3	Corrida 1	Corrida 2	Corrida 3
1	19.74	19.74	20.03	5.90	5.92	5.88
2	20.67	20.61	21.89	6.10	6.10	6.12
3	19.39	19.51	19.86	6.28	6.27	6.25
4	21.43	21.66	21.31	6.53	6.50	6.52
5	21.31	20.96	20.79	6.38	6.37	6.40
6	20.67	20.90	20.85	6.46	6.45	6.47
7	21.95	21.08	21.43	6.12	6.09	6.13
8	20.85	20.61	21.43	6.55	6.56	6.55
9	20.44	20.56	21.14	6.32	6.34	6.33
10	20.96	20.27	20.50	6.67	6.65	6.64

TABLA No. 3
 PORCENTAJE DE PUREZA Y RENDIMIENTO PARA
 SEMILLA DE ACHIOTE (COSECHA 1997)

Tiempo (min) de lavado	Porcentaje de pureza			Porcentaje de rendimiento		
	Corrida 1	Corrida 2	Corrida 3	Corrida 1	Corrida 2	Corrida 3
1	25.61	26.25	28.19	4.33	4.38	4.34
2	24.39	24.97	25.14	4.52	4.53	4.50
3	24.10	24.56	24.91	4.83	4.85	4.84
4	22.65	23.75	24.85	4.83	4.84	4.83
5	24.33	22.59	23.58	5.15	5.20	5.17
6	26.71	27.29	26.71	5.49	5.47	5.48
7	25.03	26.94	25.20	5.26	5.23	5.26
8	22.94	25.20	24.10	5.08	5.07	5.09
9	23.29	23.63	24.13	5.18	5.18	5.19
10	24.39	24.62	25.20	4.97	4.99	5.00

2.2. Tipo de semilla

Cada muestra de semilla, de las 3 diferentes cosechas, se analiza 10 veces y los resultados se presentan en la tabla No.4. Al graficarse, (ver figura No.7) se observa que varía en alto grado el contenido de bixina en la semilla aunque sea la misma muestra, por lo que existe un efecto del tipo de semilla sobre la pureza y el rendimiento del producto final.

2.3. Tiempo de lavado vrs pureza del colorante

El tiempo de lavado se varía con el objetivo de establecer si se obtiene un producto final con mayor pureza y se determina que existe una diferencia significativa entre las 3 semillas ($p < 0.001$). Además se manifiesta un efecto del tiempo de lavado sobre la pureza del extracto en cada uno de los tipos de semilla ($p < 0.0001$, $p < 0.0001$ y $p < 0.0003$).

2.4. Tiempo de lavado vrs rendimiento del proceso

Al aumentar el tiempo de lavado se produce un aumento en el rendimiento del proceso y estadísticamente se determina que existe diferencia significativa entre las 3 semillas ($p < 0.001$). Además se produce un efecto del tiempo de lavado sobre el rendimiento del proceso; en cada uno de los tipos de semilla ($p < 0.0001$, $p < 0.0001$ y $p < 0.0001$).

TABLA No. 4
CONTENIDO DE BIXINA EN LA SEMILLA DE ACHIOTE
DE DIFERENTE MADURACIÓN, AÑOS 1995, 1996 Y 1997

Muestreo	Semilla 95	Semilla 96	Semilla 97
1	1.67%	1.64%	1.84%
2	1.70%	1.91%	1.84%
3	1.61%	1.80%	1.85%
4	1.62%	1.85%	1.95%
5	1.65%	1.84%	1.95%
6	1.57%	1.84%	1.88%
7	1.71%	1.95%	1.85%
8	1.62%	1.95%	1.86%
9	1.66%	1.94%	1.86%
10	1.66%	1.88%	1.88%

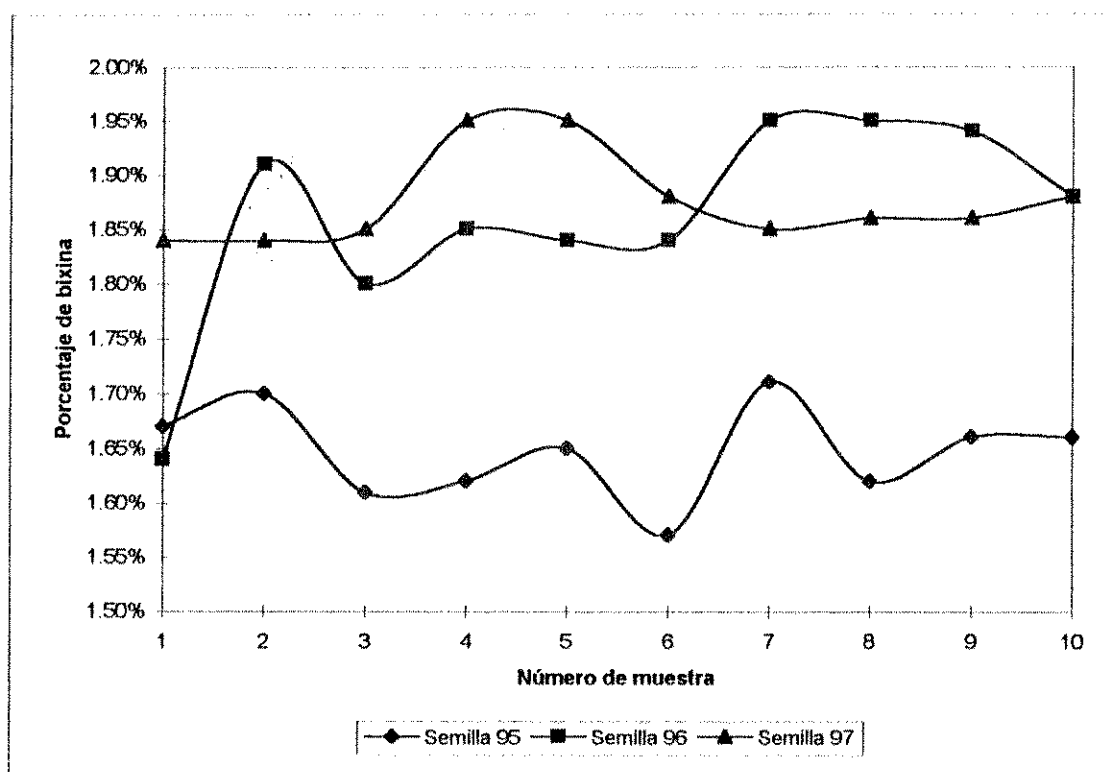


Figura No. 7: Representación gráfica de los datos tabulados en la tabla No. 4

3. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Para la realización del presente trabajo de investigación, se seleccionan semillas de achiote de diferente maduración, específicamente de las cosechas de los años 1995, 1996 y 1997; a las cuales se les determina el contenido de bixina (ver apéndice 1), haciendo un muestreo de 10 datos para determinar la estabilidad de la muestra. Los datos están presentados en la sección de resultados en la tabla No. 4 y la representación gráfica de los mismos en la figura No. 7. Se observa que el comportamiento del porcentaje de bixina vrs el número de muestra, tiene una tendencia más estable para la semilla de las cosechas de 1995 y 1997, ya que el colorante en la primera se degrada por el tiempo que ha transcurrido y al extraerlo se recupera lo poco que le queda; mientras que la segunda por ser de cosecha reciente todo el colorante se encuentra disponible para la extracción. La semilla de la cosecha de 1996 se encuentra en una etapa de transición en donde algunas veces se logra extraer colorante en menor o mayor cantidad; por lo que varían mucho los resultados.

En general, se puede decir que los resultados que nos dan los métodos que se utilizan para analizar tanto el contenido de bixina en la semilla como la pureza del colorante obtenido, no son puntuales sino que se mantienen en un rango corto de variación; es decir, que si se analiza la misma muestra varias veces, aunque sea lo más homogénea posible, el resultado nunca será el mismo.

En casos muy especiales dentro de un trabajo de investigación experimental como éste, no se puede discutir sobre resultados exactos; sino simplemente de tendencias generales que produce una variable bajo una determinada condición de experimentación. Tal es el caso de la figura No. 8 en donde se representa la variación que tiene la

pureza del colorante con respecto al tiempo de lavado de la semilla. Se nota significativamente el aumento de pureza para la semilla de la cosecha de 1997 y la disminución respectiva para las cosechas de 1996 y 1995. Con esto se puede decir que si se utilizan semillas de cosechas recientes en el proceso, mejor es la pureza que se obtiene en el colorante.

Como se mencionó en capítulos anteriores, para el análisis estadístico se realizó un análisis de varianza de una vía; mediante un paquete de computadora denominado Statistical Package for Social Sciences (SPSS) versión 4.0 creado por la compañía de computación IBM, el cual proporciona resultados gráficos de las variables en estudio. En el apéndice 3 se muestra como funciona el SPSS para proporcionar los resultados en el análisis de la pureza del colorante con relación al tiempo de lavado. De igual forma se hace para el rendimiento.

Las figuras No. 9, 10 y 11 muestran la variación de la pureza con respecto al tiempo de lavado la semilla de los años 1995, 1996 y 1997 respectivamente, se denota por letras o combinación de ellas, el o los grupos significativamente diferentes; es decir, por la letra "A" el mejor tiempo de lavado en donde la pureza del colorante es máxima, por "B" el tiempo que le sigue, así sucesivamente dependiendo del número de casos que el programa determine sean semejantes. Cuando se muestra la notación "***" significa que el programa determina que ese tiempo de lavado en particular pertenece a más de dos grupos y no tiene valor dentro del estudio. Por ejemplo en la figura No. 11 se observa que el tiempo de lavado a 1 y a 6 minutos (grupo A), son los mejores para el proceso de extracción del colorante ya que la pureza que se obtiene es máxima en estos puntos.

FIGURA No. 8

REPRESENTACIÓN GRÁFICA DE LA VARIACIÓN DE LA PUREZA DEL COLORANTE CON RESPECTO AL TIEMPO DE LAVADO PARA SEMILLA DE DIFERENTE MADURACIÓN

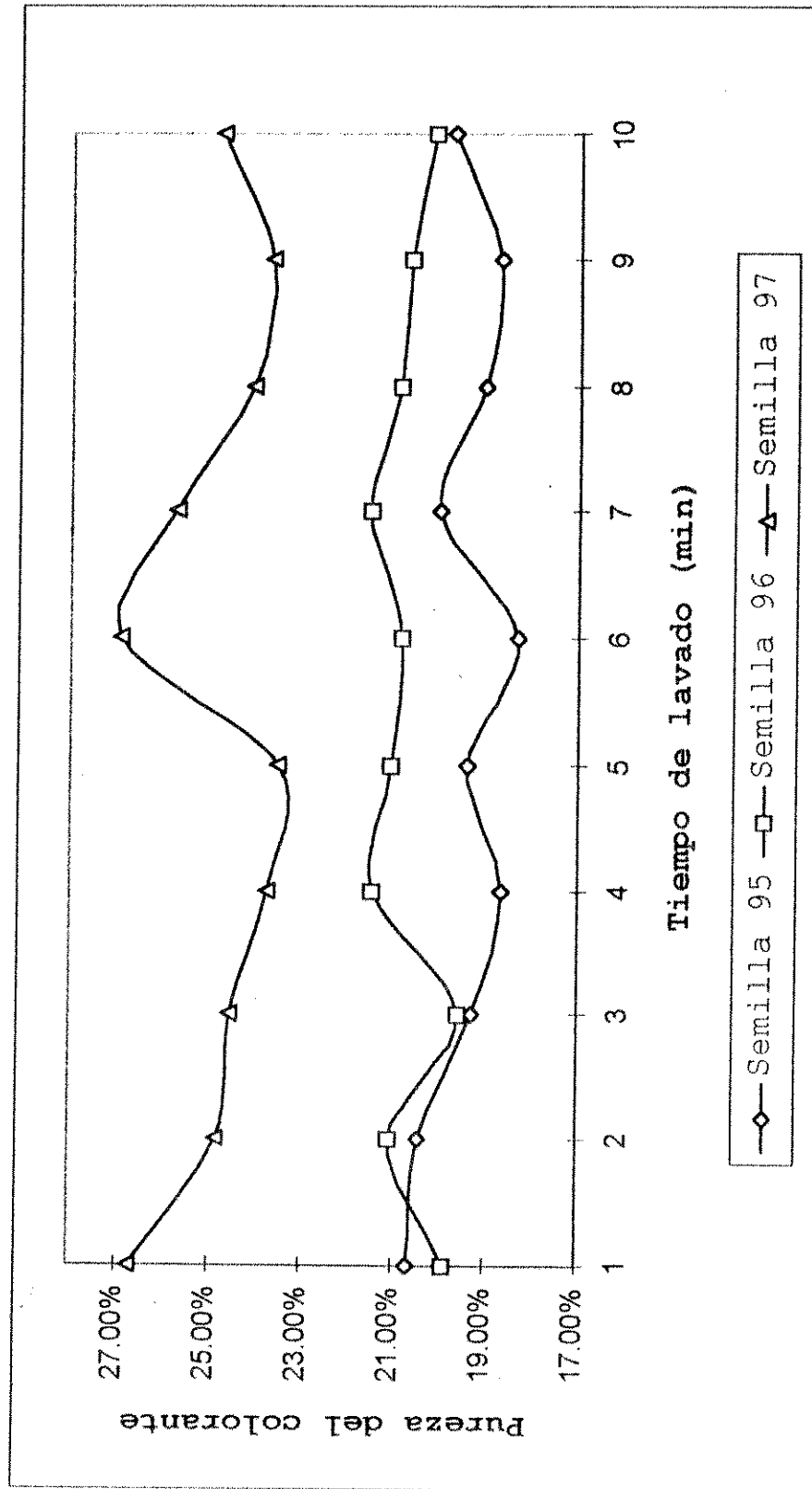


FIGURA No. 9

REPRESENTACIÓN GRÁFICA DE LA VARIACIÓN DE LA PUREZA DEL COLORANTE CON RESPECTO AL TIEMPO DE LAVADO PARA SEMILLA DE ACHIOTE DE 1995

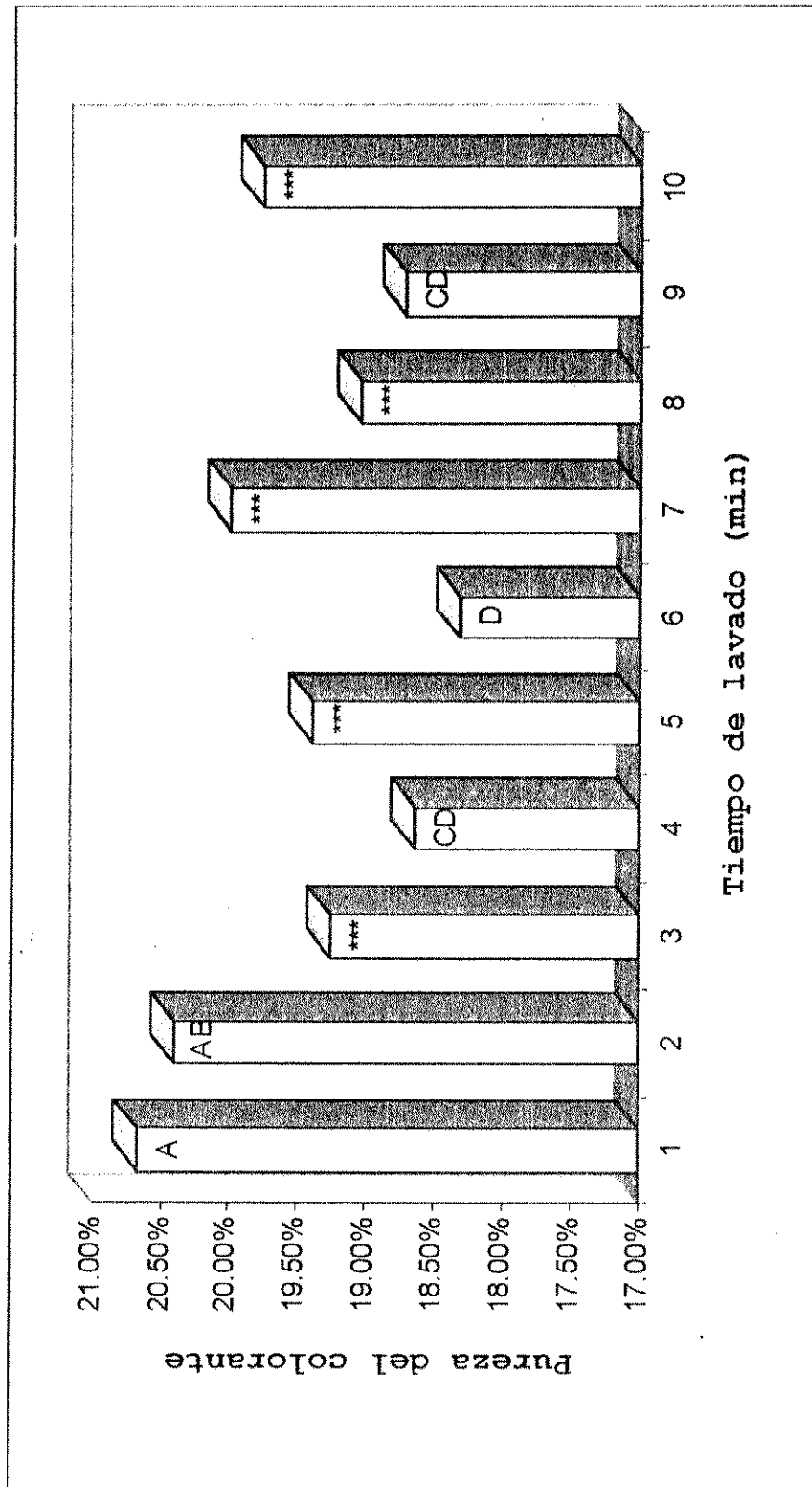


FIGURA No. 10

REPRESENTACIÓN GRÁFICA DE LA VARIACIÓN DE LA PUREZA DEL COLORANTE CON RESPECTO AL TIEMPO DE LAVADO PARA SEMILLA DE ACHIOTE DE 1996

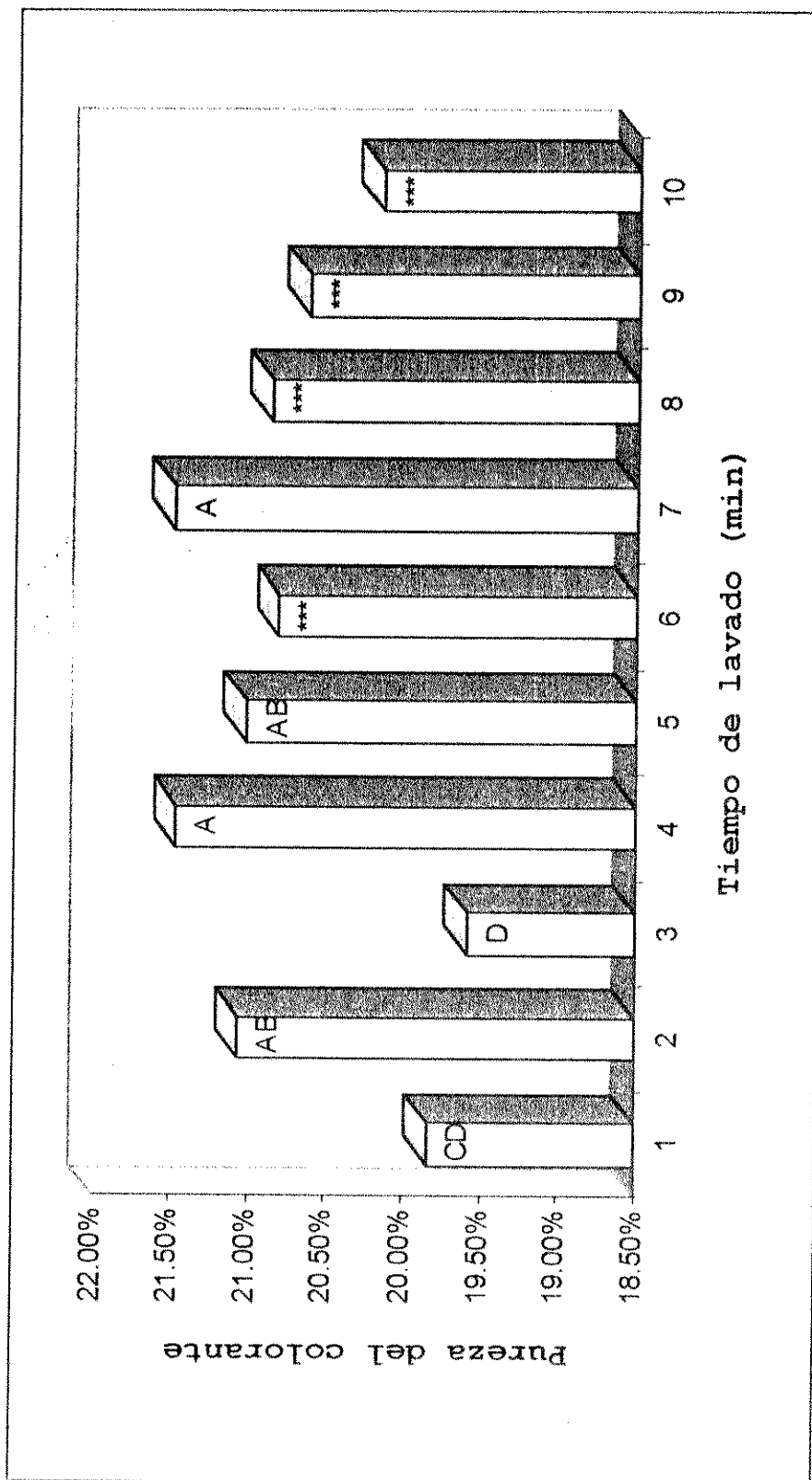
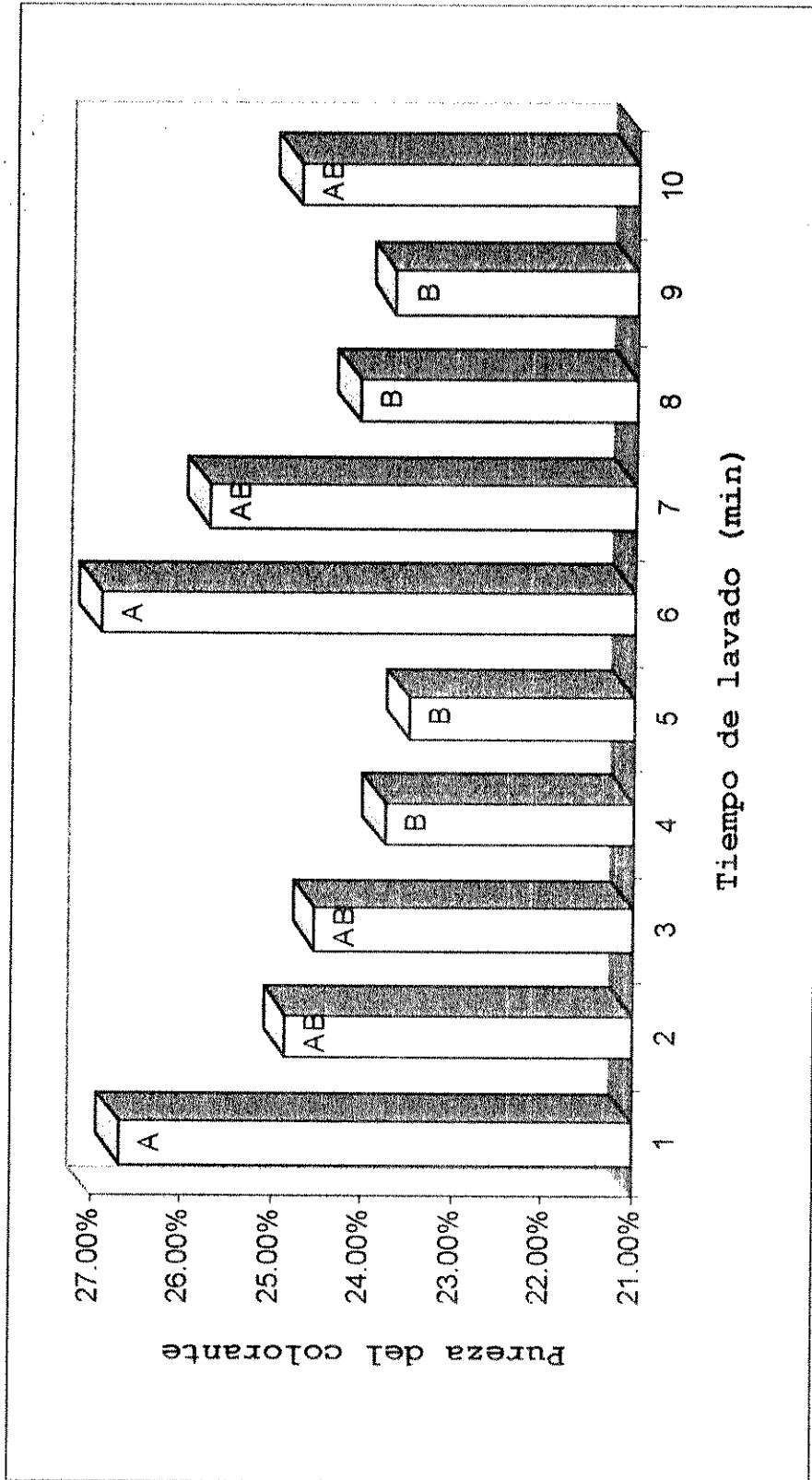


FIGURA No. 11

REPRESENTACIÓN GRÁFICA DE LA VARIACIÓN DE LA PUREZA DEL COLORANTE CON RESPECTO AL TIEMPO DE LAVADO PARA SEMILLA DE ACHIOTE DE 1997



Los tiempos de lavado a los minutos 4, 5, 8 y 9 son malos (grupo B), ya que proporcionan la pureza más baja dentro del proceso y finalmente los tiempos de lavado a los minutos 2, 3, 7 y 10 (grupo AB) están en una etapa intermedia en la cual la pureza del colorante ni es buena ni es mala.

Con relación al rendimiento del colorante dentro del proceso, se observa en la figura No. 12 que rinde más la semilla de la cosecha de 1995, en menor escala la de 1996 y por último la de 1997 no por eso se dice que es mejor utilizar semillas de años anteriores, ya que el requerimiento del mercado actual, demanda colorante de achiote de alta pureza. Lo que sucede es que en el momento de la extracción en semillas de cosechas pasadas se desprende mayor cantidad de impurezas y eso hace que el rendimiento se eleve y la pureza baje.

Las figuras No. 13, 14 y 15 muestran en forma gráfica la variación del rendimiento del colorante con respecto al tiempo de lavado para las semillas de las cosechas de 1995, 1996 y 1997 respectivamente. En las figuras No. 13 y 14 se observa que el mejor tiempo de lavado es a los minutos 9 y 10. Es claro que mientras mayor tiempo de lavado se le da a la semilla dentro del extractor mayor será el rendimiento pero se estará extrayendo mayor cantidad de impurezas, grasas y otros colorantes que posee la semilla; los cuales son indeseables en el producto final ya que degradan la pureza del mismo.

En la figura No. 15 se muestra que el mejor tiempo de lavado se encuentra al minuto 6 que es donde se obtiene el mayor rendimiento del colorante. Si se compara este resultado con el de la pureza de la figura No. 11 donde los mejores tiempos de lavado fueron a los minutos 1 y 6, se determina finalmente que para obtener un buen colorante de

FIGURA No. 12

REPRESENTACIÓN GRÁFICA DE LA VARIACIÓN DEL RENDIMIENTO CON RESPECTO AL TIEMPO DE LAVADO PARA SEMILLA DE DIFERENTE MADURACIÓN

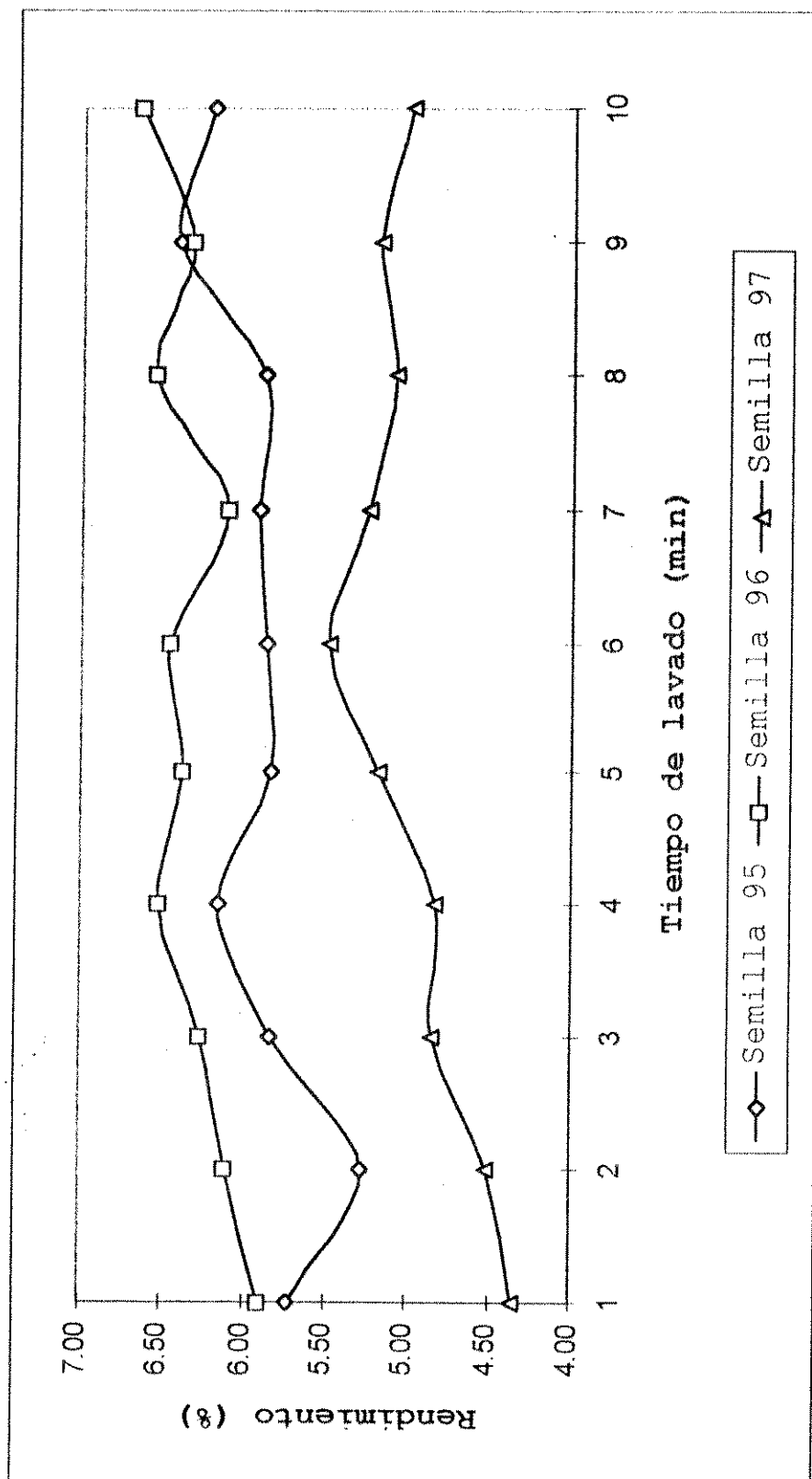


FIGURA No. 13

REPRESENTACIÓN GRÁFICA DE LA VARIACIÓN DEL RENDIMIENTO CON RESPECTO AL TIEMPO DE LAVADO PARA SEMILLA DE ACHIOTE DE 1995

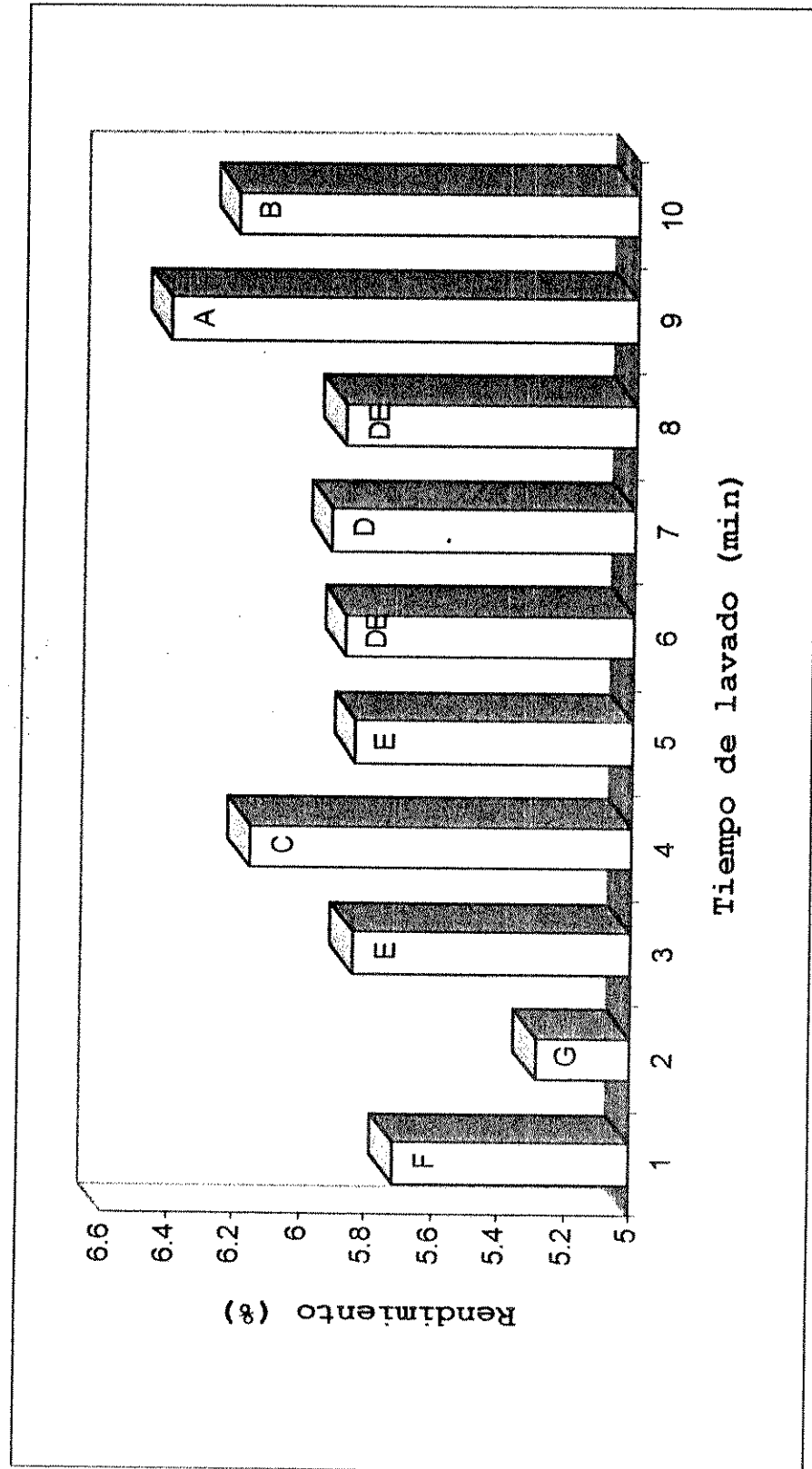


FIGURA No. 14

REPRESENTACIÓN GRÁFICA DE LA VARIACIÓN DEL RENDIMIENTO
CON RESPECTO AL TIEMPO DE LAVADO PARA SEMILLA DE ACHIOTE DE 1996

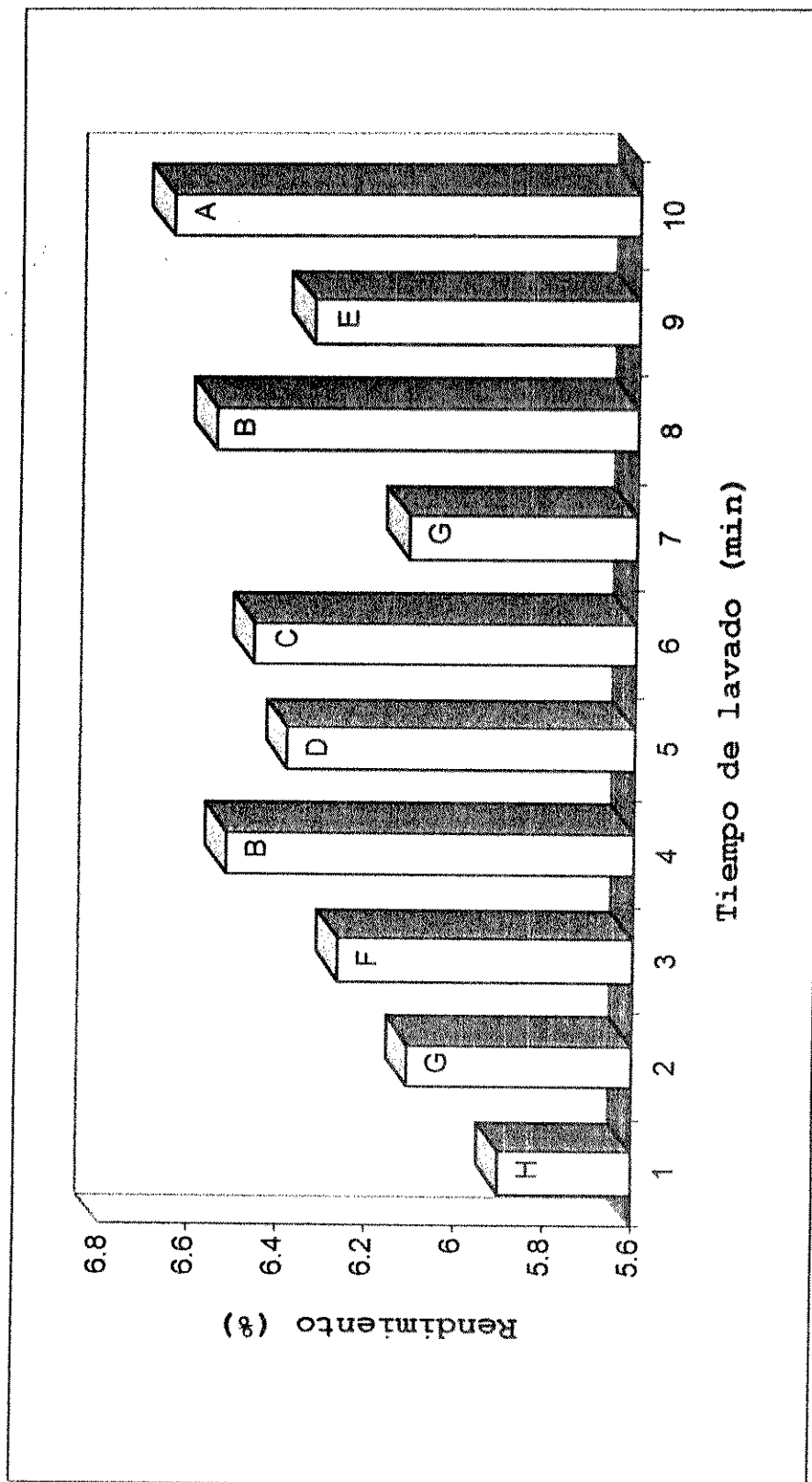
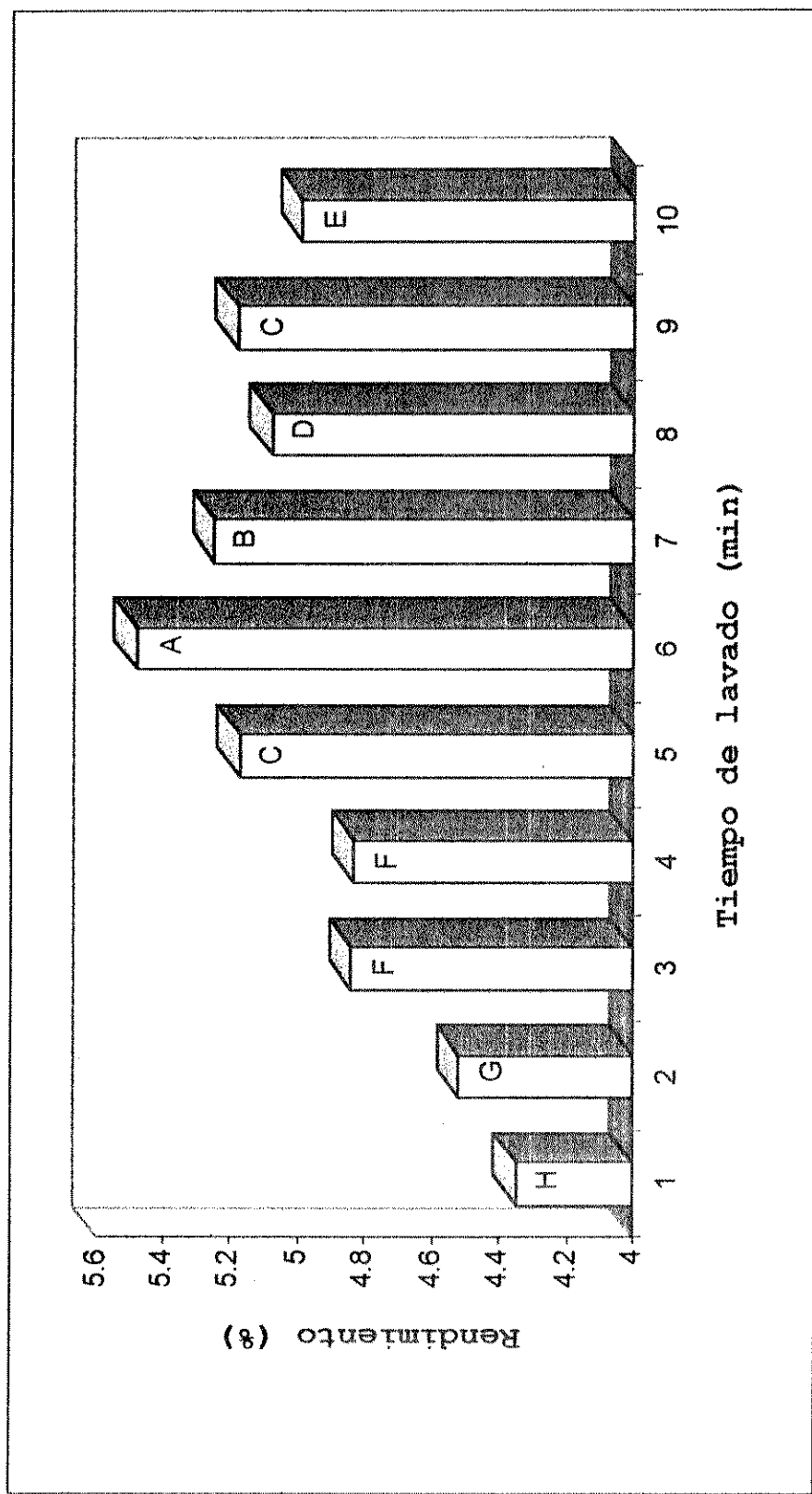


FIGURA No. 15

REPRESENTACIÓN GRÁFICA DE LA VARIACIÓN DEL RENDIMIENTO CON RESPECTO AL TIEMPO DE LAVADO PARA SEMILLA DE ACHIOTE DE 1997



achiote se debe de extraer de semillas recientes y con un tiempo de lavado en el extractor de 6 minutos para tener el mayor rendimiento con la mejor pureza del colorante.

CONCLUSIONES

1. El tiempo óptimo de lavado en el proceso de extracción de bixina con álcali a partir de semillas de achiote es de 6 minutos con semillas de cosecha reciente.
2. Si se procesan semillas de achiote de cosechas recientes, se obtiene una mejor pureza del colorante pero disminuye su porcentaje de rendimiento.
3. De los métodos que se utilizan para analizar tanto el contenido de bixina en la semilla como la pureza del colorante obtenido, no se obtienen resultados puntuales sino que sugieren un rango de variación.
4. Analítica y estadísticamente se verificó la existencia de diferencias al procesar semillas de cosechas anteriores con la del año en curso, bajo las mismas condiciones de experimentación.

RECOMENDACIONES

1. Realizar un estudio dejando fija la variable del tiempo de lavado y variar la concentración de la solución de lavado, concentración de ácido sulfúrico y tiempo de precipitación.
2. Realizar el mismo tipo de estudio a través de otros métodos de extracción para comparar los resultados y presentar opciones a empresas que deseen introducirse en el campo de los colorantes naturales.
3. Realizar un estudio de estabilidad acelerada o normal para determinar el porcentaje de degradación al cual puede llegar la bixina y así proporcionar al consumidor una fecha exacta de expiración.

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central

BIBLIOGRAFÍA

1. CHAO, R. "Annatto Extract Composition". **Journal of Food Science**. Núm 66 Estados Unidos (1991). p. 97
2. DENDY, D. **The Annatto Tree East African Agricultural and Forestry Journal**. Estados Unidos: 1966. 76 pp.
3. ENGEL, C. "Bixin and Norbixin". **Leatherhead Food R. A. Scientific & Technical Survey**. Vol. 1, Núm. 117. Estados Unidos (1979). pp. 5-7
4. HERELD, Peter. **Confectionery and Beverages Natural Colors for Foods**. Estados Unidos: 1995. 1250 pp.
5. INGRAM J. y B. Francis. "Annatto and its pigments". **Tropical Science**. Vol. 11. Estados Unidos (1969). pp. 97-102
6. PINILLOS, Mario Rolando. **Rendimiento de bixina extraída de la semilla de achiote cultivada en Guatemala**. (tesis: Facultad de Ingeniería, USAC) Guatemala, 1985, 50 pp.
7. REITH, J. F. y J. W. Gielen. "Properties of Bixin and Norbixin and the Composition of Annatto Extracts". **Journal of Food Science**. Vol. 36, Núm 97. Estados Unidos (1971). pp. 861-864.
8. WARNER JENKINSON. **Costumer Service Information**. Annatto Colours. Estados Unidos 1997.
9. WELLMANN, Deborah. **Factibilidad de instalar en Guatemala una planta productora de colorante liposoluble a partir de la semilla de achiote**. (tesis: Facultad de Ingeniería, USAC) Guatemala, 1989, 60 pp.

APÉNDICES

APÉNDICE 1

ANÁLISIS DEL CONTENIDO DE BIXINA EN LA SEMILLA

- a) Pesar 25 gramos de semilla
- b) Hervir la semilla con una solución de jabón para semillas.
- c) Enfriamiento
- d) Hacer diluciones 1:100 (v/v) y 2:100 (v/v)
- e) Obtener la lectura de absorbancia a 482 nm en un espectrofotómetro de un haz con una celda de vidrio óptico de 1 cm de paso.

SOLUCIÓN DE JABÓN PARA SEMILLAS

- a) 150 ml de solución de jabón de aceite de castor
- b) 421 ml de KOH al 45%
- c) Agregar agua desionizada hasta aforar a 1 galón
- d) Agitar hasta que la solución sea transparente.

SOLUCIÓN DE JABÓN DE ACEITE DE CASTOR

- a) 290 ml de aceite de castor
- b) 100 ml de KOH al 45%
- c) 190 ml de agua desionizada
- d) Calentar agitando la mezcla hasta que la solución sea transparente.

(WARNER JENKINSON, 1997)

APÉNDICE 2

ANÁLISIS DEL CONTENIDO DE BIXINA EN EL
COLORANTE SÓLIDO EN POLVO

- a) Pesar 1 gramo de muestra.
- b) Agregar agua e hidróxido de potasio al 45%
- c) Calentamiento a 90°C
- d) Enfriamiento
- e) Hacer diluciones 4:100 (v/v) y 1:100 (v/v).
- f) Obtener la lectura de absorbancia a 482 nm en un espectrofotómetro de un haz con una celda de vidrio óptico de 1 cm de paso.

(WARNER JENKINSON, 1997)

APÉNDICE 3

Translate from 'a:pureza.wk1' /fieldnames.
ANOVA /variables PUREZA by tiempo(1,10) semilla (1,3).

*** ANÁLISIS DE VARIANZA ***

Fuente de variación	PUREZA		Promedio de cuadrados	F	Significancia of F
	Suma de cuadrados	GL			
Efectos principales	504.921	11	45.902	130.673	.000
TIEMPO	22.471	9	2.497	7.108	.000
SEMILLA	482.449	2	241.225	686.715	.000
Interacción de 2-vías	45.532	18	2.530	7.201	.000
TIEMPO SEMILLA	45.532	18	2.530	7.201	.000
Explicación	550.453	29	18.981	54.035	.000
Residual	21.076	60	.351		
Total	571.529	89	6.422		

process if (semilla=1).
ONEWAY /variables PUREZA by tiempo(1,10) /ranges tukey.

----- U N A V Í A -----

Variable PUREZA
Por Variable TIEMPO

Análisis de varianza

Fuente	G.L.	Suma de cuadrados	Promedio de cuadrados	Razón de F	Probab. de F
Entre grupos	9	16.3779	1.8198	7.9571	.0001
Dentro de grupos	20		4.5739	.2287	
Total	29		20.9518		

Test de rango multiple

Procedimiento Tukey-HSD
Rangos para el nivel 0.050

5.01 5.01 5.01 5.01 5.01 5.01 5.01 5.01 5.01

Los rangos anteriores son tablas de rangos.
El valor que realmente se compara con Mean(J)-Mean(I) es..
.3382 * Rango * Sqrt(1/N(I) + 1/N(J))

(*) Denota pares de grupos significativamente diferentes en el nivel 0.050

18.3100	Grp 6		
18.6433	Grp 4		
18.7200	Grp 9		
19.0467	Grp 8		
19.2567	Grp 3		
19.3933	Grp 5		
19.7600	Grp10	*	
19.9933	Grp 7	*	
20.4000	Grp 2	* * *	
20.6700	Grp 1	* * * * *	

SUBGRUPO 1

Grupo	Grp 6	Grp 4	Grp 9	Grp 8	Grp 3	Grp 5
promedio	18.3100	18.6433	18.7200	19.0467	19.2567	19.3933

SUBGRUPO 2

Grupo	Grp 4	Grp 9	Grp 8	Grp 3	Grp 5	Grp 10
promedio	18.6433	18.7200	19.0467	19.2567	19.3933	19.7600

Grupo	Grp 7
promedio	19.9933

SUBGRUPO 3

Grupo	Grp 8	Grp 3	Grp 5	Grp 10	Grp 7	Grp 2
promedio	19.0467	19.2567	19.3933	19.7600	19.9933	20.4000

SUBGRUPO 4

Grupo	Grp 5	Grp 10	Grp 7	Grp 2	Grp 1
promedio	19.3933	19.7600	19.9933	20.4000	20.6700

process if (semilla=2).

ONEWAY /variables PUREZA by tiempo(1,10) /ranges tukey.

- - - - - U N A V Í A - - - - -

Variable PUREZA
Por Variable TIEMPO

Análisis de varianza

Fuente	G.L.	Suma de cuadrados	Promedio de cuadrados	Razón de F	Probab. de F
Entre grupos	9	11.2883	1.2543	9.6824	.0000
Dentro de grupos	20	2.5908	.1295		
Total	29	13.8791			

Test de rango multiple

Procedimiento Tukey-HSD
Rangos para el nivel 0.050

5.01 5.01 5.01 5.01 5.01 5.01 5.01 5.01 5.01

Los rangos anteriores son tablas de rangos.
El valor que realmente se compara con Mean(J)-Mean(I) es..
.2545 * Range * Sqrt(1/N(I) + 1/N(J))

(*) Denota pares de grupos significativamente diferentes en el nivel 0.050

Promedio	Grupo	
19.5867	Grp 3	
19.8367	Grp 1	
20.1533	Grp10	
20.6333	Grp 9	*
20.8067	Grp 6	*
20.8667	Grp 8	*
21.0200	Grp 5	**
21.0567	Grp 2	**
21.4667	Grp 4	***
21.4867	Grp 7	***

SUBGRUPO 1

Grupo	Grp 3	Grp 1	Grp 10
promedio	19.5867	19.8367	20.1533

SUBGRUPO 2

Grupo	Grp 1	Grp 10	Grp 9	Grp 6	Grp 8
promedio	19.8367	20.1533	20.6333	20.8067	20.8667

SUBGRUPO 3

Grupo	Grp 10	Grp 9	Grp 6	Grp 8	Grp 5	Grp 2
promedio	20.1533	20.6333	20.8067	20.8667	21.0200	21.0567

SUBGRUPO 4

Grupo	Grp 9	Grp 6	Grp 8	Grp 5	Grp 2	Grp 4
promedio	20.6333	20.8067	20.8667	21.0200	21.0567	21.4667

Grupo	Grp 7
promedio	21.4867

process if (semilla=3).
ONEWAY /variables PUREZA by tiempo(1,10) /ranges tukey.

----- U N A V I A -----

Variable PUREZA
 Por Variable TIEMPO

Análisis de Varianza

Fuente	G.L.	Suma de cuadrados	Promedio de cuadrados	Razón de F	Probab. de F
Entre grupos	9	40.3369	4.4819	6.4433	.0003
Dentro de grupos	20	13.9117	.6956		
Total	29	54.2486			

Test de rango multiple

Procedimiento Tukey-HSD
 Rangos para el nivel 0.050

5.01 5.01 5.01 5.01 5.01 5.01 5.01 5.01 5.01

Los rangos anteriores son tablas de rangos.
 El valor que realmente se compara con $\text{Mean}(J) - \text{Mean}(I)$ es..
 $.5897 * \text{Range} * \text{Sqrt}(1/N(I) + 1/N(J))$

(*) Denota pares de grupos significativamente diferentes en el nivel 0.050

Promedio	Grupo	
23.5000	Grp 5	
23.6833	Grp 9	
23.7500	Grp 4	
24.0800	Grp 8	
24.5233	Grp 3	
24.7367	Grp10	
24.8333	Grp 2	
25.7233	Grp 7	
26.6833	Grp 1	* * * *
26.9033	Grp 6	* * * *

SUBGRUPO 1

Grupo	Grp 5	Grp 9	Grp 4	Grp 8	Grp 3	Grp 10
promedio	23.5000	23.6833	23.7500	24.0800	24.5233	24.7367

Grupo	Grp 2	Grp 7
promedio	24.8333	25.7233

SUBGRUPO 2

Grupo	Grp 3	Grp 10	Grp 2	Grp 7	Grp 1	Grp 6
promedio	24.5233	24.7367	24.8333	25.7233	26.6833	26.9033