



Universidad de San Carlos de Guatemala  
Facultad de Ingeniería  
Escuela de Ingeniería Química

**EXTRACCIÓN Y CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DEL ÍNDIGO, EXTRACTO COLORANTE  
NATURAL OBTENIDO DE LAS HOJAS DE AÑIL (*Indigofera guatemalensis* Moc.) A TRAVÉS DE  
HIDRÓLISIS, VARIANDO EL TIEMPO DE OXIDACIÓN, A NIVEL LABORATORIO**

**Elena María Pineda Suárez**

Asesorado por la Inga. Telma Maricela Cano Morales

Coasesorado por el Ing. Mario José Mérida Meré

Guatemala, septiembre de 2012

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA



FACULTAD DE INGENIERÍA

**EXTRACCIÓN Y CARACTERIZACIÓN FISCOQUÍMICA DEL ÍNDIGO, EXTRACTO COLORANTE  
NATURAL OBTENIDO DE LAS HOJAS DE AÑIL (*Indigofera guatemalensis* Moc.) A TRAVÉS DE  
HIDRÓLISIS, VARIANDO EL TIEMPO DE OXIDACIÓN, A NIVEL LABORATORIO**

TRABAJO DE GRADUACIÓN

PRESENTADO A LA JUNTA DIRECTIVA DE LA  
FACULTAD DE INGENIERÍA

POR

**ELENA MARÍA PINEDA SUÁREZ**

ASESORADO POR LA INGA. TELMA MARICELA CANO MORALES

COASESORADO POR EL ING. MARIO JOSÉ MÉRIDA MERÉ

AL CONFERÍRSELE EL TÍTULO DE

**INGENIERA QUÍMICA**

GUATEMALA, SEPTIEMBRE DE 2012

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE INGENIERÍA



**NÓMINA DE JUNTA DIRECTIVA**

DECANO	Ing. Murphy Olympo Paiz Recinos
VOCAL I	Ing. Alfredo Enrique Beber Aceituno
VOCAL II	Ing. Pedro Antonio Aguilar Polanco
VOCAL III	Ing. Miguel Ángel Dávila
VOCAL IV	Br. Juan Carlos Molina Jiménez
VOCAL V	Br. Mario Maldonado Muralles
SECRETARIO	Ing. Hugo Humberto Rivera Pérez

**TRIBUNAL QUE PRACTICÓ EL EXAMEN GENERAL PRIVADO**

DECANO	Ing. Murphy Olympo Paiz Recinos
EXAMINADOR	Ing. Jorge Mario Estrada Asturias
EXAMINADOR	Ing. Manuel Galván Estrada
EXAMINADOR	Ing. Williams Guillermo Álvarez Mejía
SECRETARIO	Ing. Hugo Humberto Rivera Pérez

## HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

En cumplimiento con los preceptos que establece la ley de la Universidad de San Carlos de Guatemala, presento a su consideración mi trabajo de graduación titulado:

EXTRACCIÓN Y CARACTERIZACIÓN FISICOQUÍMICA DEL ÍNDIGO, EXTRACTO COLORANTE NATURAL OBTENIDO DE LAS HOJAS DE AÑIL (*Indigofera guatemalensis* Moc.) A TRAVÉS DE HIDRÓLISIS, VARIANDO EL TIEMPO DE OXIDACIÓN, A NIVEL LABORATORIO

Tema que me fuera asignado por la Dirección de la Escuela de Ingeniería Química, con fecha 25 de octubre de 2011.

  
Elena María Pineda Suárez



UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE INGENIERÍA  
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA  
Edificio T-5, Ciudad Universitaria, zona 12 - Guatemala, Centroamérica  
Teléfono directo: (502) 2418-9118 PBX 2418-8036 extensión 1699 Extensión 86214

Guatemala, 25 de Octubre de 2011  
Ref. EI.Q.TG.218.2011

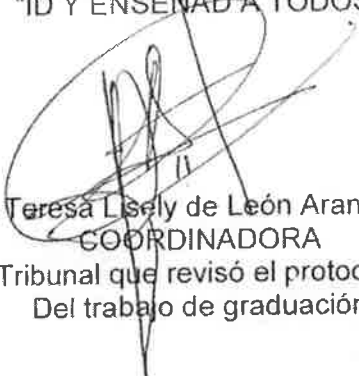
Ingeniero  
**Williams Guillermo Álvarez Mejía**  
DIRECTOR  
Escuela de Ingeniería Química  
Facultad de Ingeniería  
Presente.

Estimado Ingeniero Álvarez:

Como consta en el Acta TG- 912010-A-DI le informo que reunidos los Miembros del Tribunal nombrado por la Escuela de Ingeniería Química, se practicó la revisión del "**Diseño de Investigación**", para optar al título de INGENIERA QUÍMICA a la estudiante universitaria Elena María Pineda Suárez, identificada con carné No. **200611191**, titulado: "**EXTRACCIÓN Y CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DEL ÍNDIGO, EXTRACTO COLORANTE NATURAL OBTENIDO DE LAS HOJAS DE AÑIL (*Indigofera guatemalensis* Moc.) A TRAVÉS DE HIDRÓLISIS, VARIANDO EL TIEMPO DE OXIDACIÓN A NIVEL LABORATORIO**" el cual ha sido asesorado por la ingeniera Química **Telma Maricela Cano Morales**, como consta en el Acta.

Habiendo encontrado el protocolo **satisfactorio**, se procede a recomendarle autorice a la estudiante **Pineda Suárez**, proceder con la fase de ejecución del proyecto de investigación, del trabajo de graduación de acuerdo al cronograma aprobado.

"ID Y ENSEÑAR A TODOS"

  
Inga. **Teresa Lisely de León Arana**, M.Sc.  
COORDINADORA  
Tribunal que revisó el protocolo  
Del trabajo de graduación

C.c.: archivo



FORMANDO INGENIEROS QUÍMICOS EN GUATEMALA Desde 1939

  
ESCUELA DE  
INGENIERÍA QUÍMICA

  
ACAAI

Agencia Centroamericana de Acreditación de  
Programas de Arquitectura y de Ingeniería



Guatemala, 31 de Mayo de 2012

Ingeniero  
Williams Álvarez  
Director  
Escuela de Ingeniería Química  
Facultad de Ingeniería  
Universidad de San Carlos de Guatemala

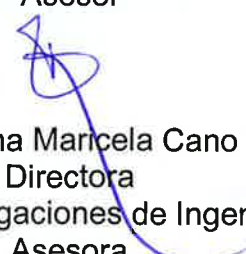
Ingeniero Álvarez:

Por medio de la presente HACEMOS CONSTAR que hemos revisado y dado nuestra aprobación al informe final del graduación titulado **“Extracción y caracterización fisicoquímica del índigo, extracto colorante natural obtenido de las hojas de añil (*Indigofera guatemalensis* Moc.) a través de hidrólisis, variando el tiempo de oxidación, a nivel laboratorio”**, de la estudiante de Ingeniería Química Elena María Pineda Suárez quien se identifica con el carné número 2006-11191.

Sin otro particular nos suscribimos de usted.

Atentamente,

  
Ing. Qco. Mario José Mérida Méndez  
Coordinador  
Laboratorio de Investigación  
de Extractos Vegetales -LIEXVE-  
Asesor

  
Inga. Qca. Telma Marcela Cano Morales  
Directora  
Centro de Investigaciones de Ingeniería / CII  
Asesora





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

Guatemala, 06 de agosto de 2012  
Ref. EI.Q.TG-IF.038.2012

Ingeniero  
**Víctor Manuel Monzón Valdez**  
DIRECTOR  
Escuela Ingeniería Química  
Facultad de Ingeniería

Estimado Ingeniero Monzón:

Como consta en el Acta TG-091-2010-IF le informo que reunidos los Miembros de la Terna nombrada por la Escuela de Ingeniería Química, se practicó la revisión del:

**INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADUACIÓN**

Solicitado por la estudiante universitaria: **Elena María Pineda Suárez**

Identificada con número de carné: **2006-11191**

Previo a optar al título de INGENIERA QUÍMICA.

Siguiendo los procedimientos de revisión interna de la Escuela de Ingeniería Química, los Miembros de la Terna han procedido a **APROBARLO** con el siguiente título:

**EXTRACCIÓN Y CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DEL ÍNDIGO, EXTRACTO  
COLORANTE NATURAL OBTENIDO DE LAS HOJAS DE AÑIL (*Indigofera  
guatemalensis* Moc.) A TRAVÉS DE HIDRÓLISIS, VARIANDO EL TIEMPO DE  
OXIDACIÓN, A NIVEL LABORATORIO**

El Trabajo de Graduación ha sido asesorado por la Ingeniera Química: **Telma Cano**.

Habiendo encontrado el referido informe final del trabajo de graduación **SATISFACTORIO**, se autoriza al estudiante, proceder con los trámites requeridos de acuerdo a las normas y procedimientos establecidos por la Facultad para su autorización e impresión.

"D Y ENSEÑAD A TODOS"

Ing. César Alfonso García Guerra  
COORDINADOR DE TERNA  
Tribunal de Revisión  
Trabajo de Graduación



ESCUELA DE  
INGENIERIA QUIMICA

C.c.: archivo

PROGRAMA DE INGENIERÍA QUÍMICA  
ACREDITADO POR  
Agencia Centroamericana de Acreditación de  
Programas de Arquitectura y de Ingeniería  
Periodo 2009 - 2012





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

Ref.EIQ.TG.343.2012

El Director de la Escuela de Ingeniería Química de la Universidad de San Carlos de Guatemala, luego de conocer el dictamen del Asesor y de los Miembros del Tribunal nombrado por la Escuela de Ingeniería Química para revisar el Informe del Trabajo de Graduación de la estudiante, **ELENA MARÍA PINEDA SUÁREZ** titulado: **"EXTRACCIÓN Y CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DEL ÍNDIGO, EXTRACTO COLORANTE NATURAL OBTENIDO DE LAS HOJAS DE AÑIL (*Indigofera guatemalensis* Moc.) A TRAVÉS DE HIDRÓLISIS, VARIANDO EL TIEMPO DE OXIDACIÓN, A NIVEL LABORATORIO"**.  
Procede a la autorización del mismo, ya que reúne el rigor, la secuencia, la pertinencia y la coherencia metodológica requerida.

*"Id y Enseñad a Todos"*

Ing. Víctor Manuel Monzón Valdez  
DIRECTOR  
Escuela de Ingeniería Química



Guatemala, septiembre de 2012

Cc: Archivo  
VMMV/ale





DTG. 462.2012

El Decano de la Facultad de Ingeniería de la Universidad de San Carlos de Guatemala, luego de conocer la aprobación por parte del Director de la Escuela de Ingeniería Química, al trabajo de graduación titulado: **EXTRACCIÓN Y CARACTERIZACIÓN FISICOQUÍMICA DEL ÍNDIGO, EXTRACTO COLORANTE NATURAL OBTENIDO DE LAS HOJAS DE AÑIL (*Indigofera guatemalensis* Moc.) A TRAVÉS DE HIDRÓLISIS, VARIANDO EL TIEMPO DE OXIDACIÓN, A NIVEL LABORATORIO**, presentado por la estudiante universitaria **Elena María Pineda Suárez**, autoriza la impresión del mismo.

IMPRÍMASE:

  
Ing. Murphy Olympo Paiz Recinos  
Decano



Guatemala, 25 de septiembre de 2012.

/gdech

## **ACTO QUE DEDICO A:**

- Dios** Por la vida, por protegerme y por el amor incondicional que me ha dado.
- Virgen María** Por ser fiel intercesora y acompañarme en mi camino.
- Mis padres** Francisco Alejandro y María Elena, por ser un ejemplo de vida este éxito es suyo. Los quiero.
- Mis hermanos** Ilse Alejandra y Francisco Alejandro por acompañarme en la jornada de la vida en donde hemos aprendido juntos. Soy feliz al tenerlos en mi vida, espero que superen esta meta. Los quiero.
- Mis abuelos** Julio César y María Elena, por ser ejemplos de sabiduría, paciencia y entrega incondicional.

## **AGRADECIMIENTOS A:**

- Dios** Por cada bendición que ha puesto en mi camino, especialmente por esta oportunidad que me ha dado.
- La Universidad de San Carlos de Guatemala** Por ser mi casa de estudios y darme la oportunidad de ser profesional.
- Mis padres** Francisco Alejandro Pineda Veliz y María Elena Suárez de Pineda por un hogar cálido, lleno de valores, educarme para la vida y darme la oportunidad de alcanzar mis metas y por apoyarme en cada paso que doy.
- Mis hermanos** Ilse Alejandra y Francisco Alejandro, por apoyarme en todo momento.
- Mis tíos** Julio César, Edna y Estuardo, por motivarme y por su cariño.
- Sergio Santiago** Por su apoyo, paciencia, consejos y sobre todo por su cariño.

**Mis amigas**

Que a lo largo de mi vida me han dado muestras de cariño y amistad, en especial a Susana Lizama, Geraldina García, Adriana Valle y Margarita López.

**Mi asesora**

Ingeniera Telma Maricela Cano Morales, por su valiosa asesoría en el transcurso de la elaboración de esta investigación.

**Lic. Pedro Jayes**

Por su apoyo y sus consejos durante el desarrollo del de esta investigación.

## ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES	VII
LISTA DE SÍMBOLOS	XI
GLOSARIO	XIII
RESUMEN	XVII
OBJETIVOS/HIPÓTESIS	XIX
INTRODUCCIÓN	XXIII
1. ANTECEDENTES	1
2. MARCO TEÓRICO	5
2.1. Características del añil ( <i>Indigofera guatemalensis</i> Moc.)	5
2.1.1. Ciclo vegetativo	7
2.1.2. Factores agroecológicos para su cultivo	7
2.1.2.1. Clima	7
2.1.2.2. Clases de suelo	8
2.2. Historia del colorante	8
2.3. Composición química	9
2.3.1. Contenido de indicán en la planta	10
2.4. Colorantes	12
2.4.1. Clasificación de colorantes	12
2.4.2. Colorantes en la industria	13
2.5. Extracción de colorante de las hojas de añil	14
2.5.1. Recolección	14
2.5.2. Fermentación	15
2.5.3. Oxidación	15

2.5.4.	Sedimentación	15
2.5.5.	Secado de extracto colorante	16
2.6.	Caracterización fisicoquímica	16
2.6.1.	Espectrofotometría	16
2.6.2.	Porcentaje de indigotina	18
2.7.	Precio	20
2.8.	Desarrollo sostenible	21
2.8.1.	Beneficios del cultivo del añil	21
2.8.2.	Enfoques del desarrollo sostenible	22
3.	DISEÑO METODOLÓGICO	23
3.1.	Variables	23
3.1.1.	Variable independiente	26
3.1.2.	Variables dependientes	26
3.2.	Delimitación del campo de estudio	27
3.3.	Recursos humanos disponibles	28
3.4.	Recursos materiales disponibles	28
3.4.1.	Materia prima y reactivos	29
3.4.2.	Plásticos	31
3.4.3.	Cristalería	32
3.4.4.	Material auxiliar	32
3.4.5.	Instrumentos de medición	32
3.4.6.	Equipo	34
3.5.	Diseño general	35
3.6.	Recolección y ordenamiento de la información	37
3.6.1.	Datos originales	38
3.6.1.1.	Datos para determinar el rendimiento en masa de extracto colorante	38

	3.6.1.2.	Datos para determinar el porcentaje en masa de indigotina	40
3.7.		Tabulación, ordenamiento y procesamiento de la información	44
	3.7.1.	Preparación de materia prima para la extracción	45
	3.7.2.	Procedimiento de fermentación del material vegetativo	45
	3.7.3.	Procedimiento de la oxidación en diferentes tiempos	46
	3.7.4.	Procedimiento de sedimentación	47
	3.7.5.	Procedimiento de secado	47
	3.7.6.	Procedimiento de recuperación del extracto colorante	47
	3.7.7.	Procedimiento para la determinación del rendimiento	48
	3.7.8.	Procedimiento para la caracterización fisicoquímica	48
	3.7.8.1.	Determinación de solvente a utilizar	48
	3.7.8.2.	Curva de calibración	49
	3.7.8.3.	Preparación de muestras en solución	51
	3.7.9.	Muestra de cálculo	53
	3.7.9.1.	Determinación del rendimiento en masa del extracto colorante	53
	3.7.9.2.	Determinación de la curva de calibración	55
	3.7.9.3.	Determinación de la concentración de indigotina en función de la curva de calibración	56

3.7.9.4.	Determinación de los gramos presentes de indigotina en las muestras	57
3.7.9.5.	Determinación del rendimiento porcentual en masa de la indigotina	58
3.7.9.6.	Análisis de varianza	59
3.7.10.	Datos calculados	62
3.7.10.1.	Determinación del rendimiento en masa del extracto colorante	62
3.7.10.2.	Determinación de la curva de calibración	63
3.7.10.3.	Determinación de la concentración en función de la curva de calibración	64
3.7.10.4.	Determinación de los gramos presentes de indigotina en las muestras	65
3.7.10.5.	Determinación del rendimiento porcentual en masa de la indigotina	66
3.8.	Análisis estadístico	67
3.8.1.	Determinación del rendimiento en masa del extracto colorante	74
3.8.1.1.	Análisis de varianza	74
3.8.2.	Determinación del porcentaje en masa de indigotina presente en el extracto colorante	76
3.8.2.1.	Análisis de varianza	77
4.	RESULTADOS	81
4.1.	Determinación del rendimiento en masa del extracto colorante	81



4.2.	Determinación del porcentaje en masa de indigotina presente en el extracto colorante	84
5.	INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS	89
5.1.	Determinación del rendimiento en masa del extracto colorante	89
5.2.	Determinación del porcentaje en masa de indigotina presente en el extracto colorante	90
	CONCLUSIONES	93
	RECOMENDACIONES	95
	BIBLIOGRAFÍA	97
	APÉNDICES	101



## ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

### FIGURAS

1.	<i>Indigofera sp.</i>	6
2.	Molécula de indicán	10
3.	Distribución del contenido de indicán como función de la posición de la hoja	11
4.	Clasificación de colorantes naturales	12
5.	Estructura de la indigotina	18
6.	Proceso de transformación de indicán a índigo	19
7.	Diseño general	35
8.	Rendimiento en masa para 30 minutos de tiempo de oxidación (porcentaje masa de colorante/masa de material vegetal)	81
9.	Rendimiento en masa para 60 minutos de tiempo de oxidación	82
10.	Rendimiento en masa para 90 minutos de tiempo de oxidación (porcentaje masa de colorante/masa de material vegetal)	82
11.	Rendimiento en masa en 120 minutos de tiempo de oxidación (porcentaje masa de colorante/masa de material vegetal)	83
12.	Comparación del rendimiento en 30, 60, 90 y 120 minutos	83
13.	Porcentaje masa indigotina/ masa de colorante en 30 minutos de tiempo de oxidación con un caudal de aire de 8,33 L/min	84
14.	Porcentaje masa indigotina/ masa de colorante en 60 minutos de tiempo de oxidación con un caudal de aire de 8,33 L/min	85
15.	Porcentaje masa indigotina/ masa de colorante en 90 minutos de tiempo de oxidación con un caudal de aire de 8,33 L/min	85

16.	Porcentaje masa indigotina/ masa de colorante en 120 minutos de tiempo de oxidación con un caudal de aire de 8,33 L/min	86
17.	Comparación masa de indigotina en 30, 60, 90 y 120 minutos con un caudal de aire de 8,33 L/min	86
18.	Comparación porcentaje masa indigotina/ masa de colorante en 30, 60, 90 y 120 minutos con un caudal de aire de 8,33 L/min	87

## **TABLAS**

I.	Porcentaje de indigotina y el precio por kilogramo	20
II.	Análisis de variables independientes de la extracción y caracterización fisicoquímica	23
III.	Análisis de variables dependientes de la extracción y caracterización fisicoquímica	24
IV.	Análisis de constantes de la extracción y caracterización fisicoquímica	24
V.	Valor de constantes de la extracción y caracterización fisicoquímica	25
VI.	Análisis de variables del ambiente externo durante la extracción	25
VII.	Valores de variables del ambiente externo durante la extracción	25
VIII.	Diseño de las variables y sus repeticiones	26
IX.	Relación de variables dependientes	27
X.	Diseño general del experimento	37
XI.	Nomenclatura de tratamientos	37
XII.	Diseño de tabulación de datos en función del tiempo de oxidación	38
XIII.	Masa de materia prima fresca	39

XIV.	Masa de bolsas de almacenamiento de extracto colorante	39
XV.	Masa total del extracto colorante	40
XVI.	Datos para la preparación de solución madre	41
XVII.	Datos para preparación de estándares	41
XVIII.	Datos de estándares en función de la indigotina	41
XIX.	Datos de absorbancias para estándares	42
XX.	Correlaciones del espectrofotómetro en función de los estándar	42
XXI.	Datos para preparación de muestras	43
XXII.	Datos del espectrofotómetro para las muestras en función de la curva de referencia	44
XXIII.	Resumen del cálculo de la varianza para el rendimiento en masa del extracto colorante	61
XXIV.	Datos de masa del extracto colorante	63
XXV.	Datos para curva estándar	64
XXVI.	Datos de regresión y correlación de la curva inicial	64
XXVII.	Datos calculados de concentración	65
XXVIII.	Datos calculados de masa	66
XXIX.	Datos calculados de indigotina	67
XXX.	Bloques al azar comparando t tratamiento y b bloques	69
XXXI.	Bloques al azar comparando 4 tratamientos y 3 bloques	69
XXXII.	Relación entre tratamientos y bloques con sus medias	71
XXXIII.	Modelo con 4 tratamientos y 3 bloques	71
XXXIV.	Análisis de varianza	73
XXXV.	Resumen del cálculo de la varianza para el rendimiento en masa del extracto colorante	76
XXXVI.	Resumen del cálculo de la varianza para el porcentaje de indigotina	78



## LISTA DE SÍMBOLOS

Símbolo	Significado
A	Absorbancia
Q	Caudal
cm	Centímetro
$\rho$	Densidad
$\beta_i$	Efecto del i-ésimo bloque o repetición
$\alpha_i$	Efecto del j-ésimo tiempo de oxidación
°C	Grado Celsius
g	Gramo
Hz	Hertz
L	Litro
M	Metro
msnm	Metros sobre el nivel del mar
mg	Miligramo
mL	Mililitro
mm	Milímetro
min	Minutos
M	Molaridad
ppm	Partes por millón
%	Porcentaje
pH	Potencial de hidrógeno
Hp	Potencia en <i>horse-power</i>
$\bar{X}$	Promedio
$\mu$	Promedio general de rendimiento

**T**

Temperatura

***Y<sub>ji</sub>***

Variable respuesta a evaluar (el rendimiento de extracto o de indigotina)



## **GLOSARIO**

<b>AZULES</b>	Asociación de Añileros El Salvador.
<b>CBD</b>	Convenio de Diversidad Biológica.
<b>Espectrofotómetro</b>	Instrumento que tiene la capacidad de manejar un haz de radiación electromagnética (REM), comúnmente denominado luz, separándolo en facilitar la identificación, calificación y cuantificación de su energía. Su eficiencia, resolución, sensibilidad y rango espectral, dependerán de las variables de diseño y de la selección de los componentes ópticos que lo conforman.
<b>GTZ</b>	Gesellschaft fur Technische Zusammenarbeit (Cooperación Técnica Alemana).
<b>Follaje</b>	Conjunto de hojas y ramas de un árbol, arbusto o planta.

**Hidrólisis**

Reacción ácido-base entre una sustancia, típicamente una sal y agua. Esta reacción es importante por el gran número de contextos en los que el agua actúa como disolvente. También se aplica a algunas reacciones ácido-base en las que participa el agua y se rompe un enlace covalente.

**LIEXVE**

Laboratorio de Investigación de Extractos Vegetales.

**Lixiviación**

Eliminación de una fracción soluble, en forma de solución, a partir de una fase sólida permeable e insoluble a la cual está asociada. La separación implica, normalmente la disolución selectiva, con difusión o sin ella, pero en el caso extremo del lavado simple, consiste sólo en el desplazamiento (con alguna mezcla) de un líquido intersticial por otro, con el que es miscible.

**Obraje**

Piletas en donde se realiza el proceso artesanal de la producción de añil.

**Oxidación**

Reacción química a partir de la cual un átomo, ion o molécula cede electrones; entonces se dice que aumenta su estado de oxidación.

**Principio activo**

Sustancia a la cual se debe el efecto farmacológico de un medicamento, y su uso se remonta a la prehistoria, en un principio eran hierbas y sustancias naturales, luego en los últimos siglos se fueron aislando los componentes de las plantas, y en el siglo XX se logró identificar la estructura de muchos de ellos. La actividad de un principio activo varía debido a la naturaleza de éste, pero siempre está relacionado a la cantidad ingerida o absorbida.

**Reducción**

Proceso electroquímico por el cual un átomo o ion gana electrones. Implica la disminución de su estado de oxidación. Este proceso es contrario al de oxidación.

**Secado**

Operación unitaria de transferencia de masa de contacto gas-sólido, donde la humedad contenida en el sólido se transfiere por evaporación hacia la fase gaseosa, con base a la diferencia entre la presión de vapor ejercida por el sólido húmedo y la presión parcial de vapor de la corriente gaseosa.

**SPSS**

Statistical Package for the Social Science (Paquete Estadístico para las Ciencias Sociales).

**Tendales**

Forma artesanal de disposición para el secado del añil.

**UAI**

Unidad de Análisis Instrumental.

## RESUMEN

El propósito del presente trabajo de investigación fue extraer y caracterizar fisicoquímicamente el índigo, extracto colorante obtenido de las hojas de añil (*Indigofera guatemalensis* Moc.) a diferentes tiempos de oxidación y determinar si la variación del tiempo de oxidación incide significativamente en el rendimiento y en el porcentaje de indigotina. Se extrajo como un colorante sólido, utilizando un diseño de bloques al azar con cuatro diferentes tiempos de oxidación; realizándose observaciones para cada uno de los tratamientos y sus 3 repeticiones, para un total de 12 unidades experimentales.

El extracto colorante se obtuvo a partir de la planta de añil (*Indigofera guatemalensis* Moc.), siendo ésta, materia prima nacional; ubicada en el municipio de Jocotengango, Chiquimula. En la sección de Química Industrial del Centro de Investigaciones de Ingeniería de la Universidad de San Carlos de Guatemala, en el Laboratorio de Investigación de Extractos Vegetales LIEXVE, se realizó el proceso de extracción del añil y en la Unidad de Análisis Instrumental de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia se determinó el porcentaje de indigotina por espectrofotometría aplicando la metodología de UV-Visible.

Determinándose que el tiempo de oxidación incide significativamente en el rendimiento en masa del extracto colorante y en el porcentaje de indigotina, siendo 120 minutos el tiempo de oxidación en donde se obtiene la mayor cantidad de extracto colorante, el rendimiento en masa promedio es 0,36% y el porcentaje de indigotina promedio es 30,66%. Se calculó el coeficiente de variación siendo para ambos casos menor o igual al 10%.

## OBJETIVOS

### General

Evaluar el rendimiento y características fisicoquímicas del índigo, extracto colorante natural obtenido de las hojas de añil (*Indigofera guatemalensis* Moc.) a través de hidrólisis variando el tiempo de oxidación, a nivel laboratorio.

### Específicos

1. Comparar el rendimiento en masa de extracto colorante a nivel laboratorio del índigo, a través de hidrólisis en 30, 60, 90 y 120 minutos de oxidación durante la extracción.
2. Determinar el porcentaje de indigotina en el extracto colorante, para evaluar la pureza del mismo por medio de espectrofotometría, obtenido a través de hidrólisis en 30, 60, 90 y 120 minutos de oxidación durante la extracción.

# HIPÓTESIS

## Hipótesis de la investigación

Existe diferencia significativa en las propiedades fisicoquímicas del índigo, extracto colorante natural obtenido de las hojas de añil (*Indigofera guatemalensis* Moc.), variando el tiempo de oxidación a nivel laboratorio.

## Hipótesis estadística

### Hipótesis nula (H<sub>0</sub>)

1. El porcentaje de rendimiento en masa no varía significativamente en función de 30, 60, 90 y 120 minutos de tiempo de oxidación durante la extracción.
2. El porcentaje de indigotina en masa presente en el extracto no varía significativamente en función de 30, 60, 90 y 120 minutos de tiempo de oxidación durante la extracción.



### Hipótesis alternativa (Ha)

1. El porcentaje de rendimiento en masa varía significativamente en función de 30, 60, 90 y 120 minutos de tiempo de oxidación durante la extracción.
2. El porcentaje de indigotina en masa presente en el extracto varía significativamente en función de 30, 60, 90 y 120 minutos de tiempo de oxidación durante la extracción.



## INTRODUCCIÓN

Las plantas han sido un recurso fundamental para los seres humanos por miles de años, ya que han formado parte de su principal fuente para diversas actividades. Además de esto, en todas las culturas, también se han empleado en otros aspectos de la vida cotidiana, religiosa y ceremonial. Alcanzando la utilización en la industria y la exportación en diversos mercados, tal es el caso del añil (*Indigofera guatemalensis* Moc.), planta de la cual se obtiene extracto colorante, mediante los procesos de fermentación oxidación y separación.

En el presente estudio se caracterizó fisicoquímicamente el índigo, que se obtuvo por medio de extracciones con diversas repeticiones variando los tiempos de oxidación a nivel laboratorio, para determinar si incide en el porcentaje de indigotina; cuyo valor se determinó por medio de espectrofotometría.

Algunos ejemplos de reactivación de la explotación del añil se están dando ya en Guatemala, alrededor de 50 personas pertenecientes a once comunidades del municipio de Barillas (Yula, Chancolín y Espíritu de Ixcán), en Huehuetenango y siete del municipio de Playa Grande (Kaibil Balam, Flor del Norte, Xalbal, etc.), en Quiché y en el municipio de Jocotán, Chiquimula, empezaron a cultivar y a realizar el proceso de extracción del añil con el fin de obtener beneficios económicos.

Existe la oportunidad de exportación a países como Turquía, Suiza, Alemania, Francia y Japón, quienes prefieren los extractos naturales reemplazando a los sintéticos para sus diversas actividades, debido a que dicho material es amigable con el ambiente. Otro mercado latente es el producto terminado aplicado; como blusas, manteles, pañuelos, bufandas, etc. que son parte del valor agregado que se da al añil.

## 1. ANTECEDENTES

Los antecedentes sobre el extracto colorante añil hacen énfasis en el mejoramiento del proceso de extracción y aplicación artesanal. Entre los principales estudios se encuentran:

- José Colocho en el 2003 en San Salvador, realizó la investigación sobre alternativas técnico-prácticas para reducir el tiempo de extracción de pigmentos sólidos de añil (*Indigofera, sp.*), se analizó y comparó períodos de fermentación de 6, 12 y 18 horas, estableciendo que el rendimiento relativo en 18 horas es mayor y, que respecto al porcentaje de indigotina el período óptimo es de 12 horas, tomando este último como significativo debido a que la indigotina es el parámetro que indica pureza y que da color índigo.
- Cristo José Hernández de la Escuela de Ingeniería Química de la Facultad de Ingeniería y Arquitectura de la Universidad de El Salvador presentó el proyecto: Evaluación de las variables de secado para la conservación de las hojas de la planta de añil (*Indigofera, sp.*), con el propósito de conservar la planta añil, para que la materia prima pueda estar disponible.

Los resultados obtenidos en la investigación indican que existe diferencia en el porcentaje de indigotina obtenido en función del tipo de secado de hoja. El secado en estufa sin circulación de aire produce el comportamiento más estable en cuanto a contenido de indigotina, a temperaturas de 38 y 45 °C con respecto al secado solar y secado artificial de bandejas. En el secado solar se produce un decaimiento más significativo en el porcentaje de indigotina del colorante. Además, en el secador de bandejas se observa que a la menor temperatura se presentan los mayores rendimientos en el porcentaje de indigotina. Determinando que el material seco tiene menor porcentaje de indigotina.

- Rafael Landaverde, Loida Santos y Delmi Sibrián en el 2006 realizaron la caracterización y evaluación de sostenibilidad del cultivo de añil de la asociación de añileros de El Salvador y como resultado establecen que el cultivo del añil tiene mayor porcentaje de indigotina si se desarrolla en zonas donde predominan los suelos andisoles, si existen temperaturas entre los 25 - 35 °C, con elevaciones de 200-400 msnm y con precipitaciones que alcanzan los 1 200 mm de lluvias en el año.

Además, la relación beneficio/costo (B/C) representa altas utilidades al productor, si se desarrolla adecuadamente.

- Gabriela González en el 2007, en la Universidad de San Carlos, Facultad de Ingeniería desarrolló el estudio de un proceso biotecnológico para la decoloración de efluentes textiles de azul índigo, planteando como antecedente la contaminación que produce el colorante sintético utilizado en la industria.

- Manuel Rubio en 1976 en El Salvador, relata la historia del añil o xiquilite en Centroamérica, evidenciando la presencia de dicho extracto colorante en la época colonial. Actualmente la manera artesanal de extracción es similar y ha tenido pocas modificaciones.





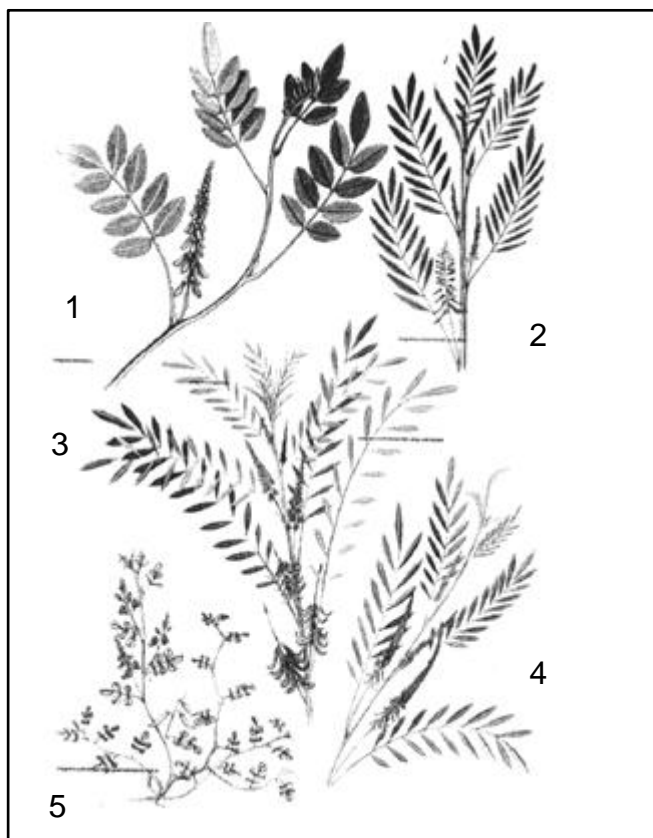
## 2. MARCO TEÓRICO

### 2.1. Características del añil (*Indigofera guatemalensis* Moc.)

El añil es un arbusto esbelto 1 a 2 metros de altura, poco ramificado, tallo angular, subleñoso y sus ramas están cubiertas de 10 a 12 hojas de color verde claro, dispuestas en pares regulares y su reproducción es sexual. Las flores densas y numerosas de color rojo claro o rosado y en racimos el fruto es una vaina cilíndrica, tetraédrica. Ligeramente comprimida que contiene de 5 a 7 semillas ovaladas, duras y oscuras, pertenece al orden *Fabaceae*, familia *Leguminoseae*, género *Indigofera*, especie *Guatemalensis*.

El género *Indigofera* consite en casi 800 especies. Éstas pueden crecer sobre la tierra entre el nivel del mar y 1 650 metros. Alrededor de 600 pueden ser encontradas en África, cerca de 200 en Asia, 80 en América y entre 50 y 60 en Australia. No existe explicación científica de por qué sólo unas pocas especies tienen alto contenido de indicán precursor del índigo; como es el caso de la *Indigofera guatemalensis* Moc.

Figura 1. *Indigofera sp.*



Fuente: SANDOVAL-SALAS, Fabiola. Caracterisation de la production et optimisation du processus d'extraction des colorants de la plante de añil (*Indigofera suffruticosa* MILL.) p. 19

En la figura 1 se muestran las principales especies del género *Indigofera*. (1) *Indigofera tinctoria* L. (2) *Indigorefa arreacta* Hoschst. (3) *Indigofera suffruticosa* Mill Sbsp. *suffruticosa* (4) *Indigofera argétea* L. (5) *Indigofera suffruticosa guatemalensis* Moc.

### **2.1.1. Ciclo vegetativo**

El ciclo de la planta de añil en general es de cinco meses para su uso, aunque al cesar la lluvia reinicia su ciclo biológico si las condiciones de humedad son adecuadas. Al paso de los años, la planta se va tornando leñosa, por lo que se elimina al tercer año de producción. Sin embargo, algunos productores señalan que al tercer año, la planta se corta totalmente dejando el sistema radicular intacto y al caer las lluvias la planta brota con un nuevo tallo.

### **2.1.2. Factores agroecológicos para su cultivo**

Existen condiciones necesarias para el adecuado crecimiento de la planta, las mismas promueven la presencia de colorante en la planta.

#### **2.1.2.1. Clima**

El añil se ha cultivado desde los 100 metros sobre el nivel del mar (msnm), hasta los 1 000 msnm, y por lo tanto en zonas con diferentes volúmenes de precipitación, temperaturas y biotemperaturas, que están en función de la zona de vida a que pertenezca la localidad. También se tienen evidencias de cultivos al nivel del mar. Según Landaverde en su estudio de caracterización y evaluación de la sostenibilidad del cultivo del añil, indica que la escasez de humedad afecta directamente en la calidad y cantidad de colorante según reportes de la época colonial y contemporánea.

### **2.1.2.2. Clases de suelo**

En cuanto a los suelos, se reporta adaptabilidad a diferentes clases, sin embargo, es preferible que exista un buen drenaje sin ser suelos arenosos u orgánicos por ser sensible fenómenos hidrológicos extremos.

Se debe tomar en cuenta que es un cultivo limpio y puede erosionar los suelos, por tanto debe ser limitado.

## **2.2. Historia del colorante**

Cristina Guirola en su documento de Tintes naturales, indica que el añil era un colorante natural, utilizado para darle color a los textiles desde épocas antiguas. El colorante fue utilizado por los romanos que lo llamaron *indicum* (indio), de donde se formó la palabra índigo, los árabes tomaron la palabra de sánscrito *nil* y la convirtieron en añil (color azul).

A la India se le considera como patria del añil, en la actualidad es el mayor productor mundial. El añil en América se conocía y procesaba desde la época prehispánica para teñir indumentarias y en las ceremonias rituales.

De acuerdo a Ruth Quintanilla en la Guía técnica de procesamiento del añil en El Salvador hace referencia a la importancia del cultivo hasta finales del siglo XIX, cuando Bayer en 1897 lanza al mercado la anilina como colorante sintético. No obstante el añil artificial no ha logrado sustituir del todo al natural. En los años recientes al descubrirse algunos efectos nocivos de los colorantes artificiales, el mundo está volviendo a los colorantes naturales, y entre estos se encuentra el añil, con una producción reducida pero una demanda que va en aumento.

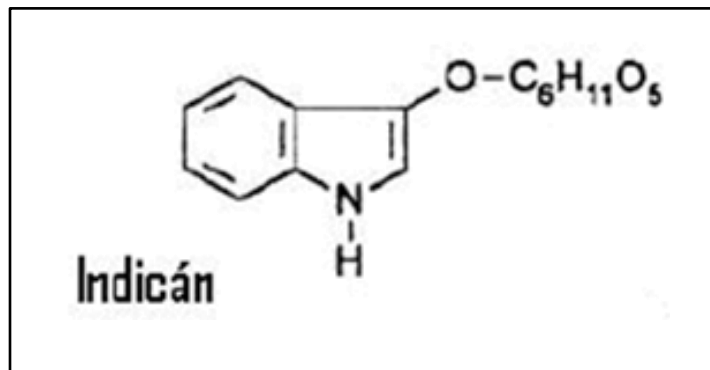
### **2.3. Composición química**

El componente principal del índigo natural es la indigotina, porque es el que da color. Según Quintanilla el añil de mejor clase contiene más de 60% indigotina, el de clase mediana 40 a 50% y el de clase inferior menos de 20%. Otros componentes presentes son el rojo de índigo (indirrubina), pardo de índigo, cola de índigo, agua y cenizas que consisten principalmente en carbonatos de calcio y de magnesio, alúmina y óxido de hierro.

Por lo tanto, la variable respuesta a registrar en el presente trabajo de investigación será el contenido de indigotina presente en el añil extraído, ya que la buena calidad del mismo depende de esta variable. El índigo se encuentra en el cultivo de añil en forma de indicán  $C_{14}H_{17}O_6N + 2H_2O$  descubierto por E. Schunck.

El indicán: es un glucósido que por hidrólisis (por fermentación o cambio de pH) se descompone en glucosa e indoxil. Este último al oxidarse se transforma en indigotina. En la figura 2 se muestra la molécula de indicán.

Figura 2. **Molécula de indicán**



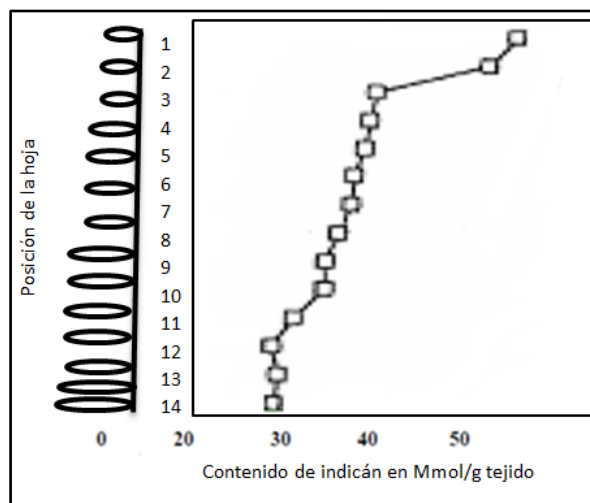
Fuente: SANDOVAL-SALAS, Fabiola. Caracterisation de la production et optimisation du processus d'extraction des colorants de la plante de añil (*Indigofera suffruticosa* MILL.) p. 34

### 2.3.1. **Contenido de indicán en la planta**

El contenido de indicán se acumula en las hojas de la planta y no en otros tejidos como flores, raíces, tallos o semillas. El indicán se encuentra en las hojas de la planta dentro de los protoplastos y vacuolas de las células. El contenido promedio de indicán por vacuola y por protoplasto es de 1,4 y 1,1 pmol.

Durante el desarrollo de la planta, el contenido de indicán varía. Antes de los ocho días de crecimiento de la planta no se puede detectar indicán. Es hasta que se desarrollan las hojas que se puede encontrar. Ruth de Quintanilla en su estudio determinó que las hojas jóvenes presentan mayor contenido de indicán. La figura 3 muestra que la primera y segunda hoja desde la parte superior son las que tienen mayor contenido de dicha sustancia.

Figura 3. **Distribución del contenido de indicán como función de la posición de la hoja**



Fuente: DE QUINTANILLA, Ruth. *Guía técnica: procesamiento del añil en El Salvador* p. 17.

La posición 1 representa la hoja más alta en la planta. Los valores que se refieren al contenido de indigotina en la planta son promedio de 5 experimentos. El factor masa de agua presenta una tendencia de aumentar el porcentaje de indigotina cuando sus niveles tienden al mínimo, mientras que el efecto de los factores tipo de hoja y tiempo de oxigenación aumenta cuando sus niveles tienden al máximo.

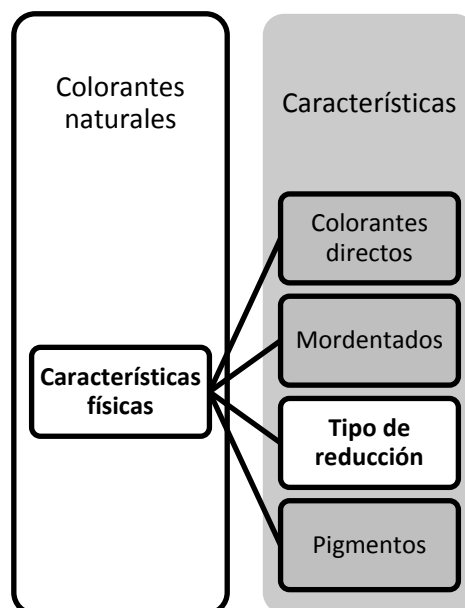
## 2.4. Colorantes

Sustancias coloreadas capaces de teñir fibras vegetales y animales. Para que un colorante sea útil, debe ser estable y capaz de unirse fuertemente a la fibra y soportar la luz.

### 2.4.1. Clasificación de colorantes

Yoshiko agrupa los colorantes naturales en diferentes formas: por tipo de teñido, composición química, características físicas, entre otras. Debido a que en el presente estudio se tomarán en cuenta las características físicas en la figura 4 se muestra su clasificación con base en dicho criterio.

Figura 4. **Clasificación de colorantes naturales**



Fuente: YOSHIKO, Shatira. *Clasificación de colorantes*

<[http://catarina.udlap.mx/u\\_dl\\_a/tales/documentos/meiq/perez\\_l\\_oa/capitulo4.pdf](http://catarina.udlap.mx/u_dl_a/tales/documentos/meiq/perez_l_oa/capitulo4.pdf)>

[Consulta: 8 de agosto de 2010].



Los colorantes de tipo de reducción son derivados del Indol, estas materias colorantes se encuentran en el interior de los cuerpos vegetales o animales, pero insolubles, para darles solubilidad, se les aplica una sustancia reductora, obteniéndose una solución incolora que al oxidarse aparece el color, tal es el caso del añil.

#### **2.4.2. Colorantes en la industria**

A partir del desarrollo de los colorantes sintéticos se desarrolló una amplia gama de colores así como una industria en constante aumento, pero en los últimos años las legislaciones de diferentes países han cambiado a una tendencia ecológica, el uso de colorantes naturales en las industrias de cuero y textil ha iniciado ya su aplicación por lo que el añil tiene una importancia incipiente, que se refleja en el incremento de la demanda del mismo generando problemas de abastecimiento.

El aumento en el uso de colorantes naturales se ha dado porque son biodegradables, tienen baja toxicidad y se pueden aplicar en fibras naturales o sintéticas.

Hay una notoria desvinculación entre los adelantos tecnológicos y a la producción artesanal. La medición del color, la igualación de colores, su repetibilidad, etc. son temas donde los avances tecnológicos podrían beneficiar la producción artesanal. Por lo que es importante desarrollar procesos en donde se determine la importancia de cada una de las etapas, contribuyendo al desarrollo del colorante en textiles.

## **2.5. Extracción de colorante de las hojas de añil**

El proceso para la extracción del añil se basa en la lixiviación del material vegetativo, a continuación se detalla cada una de las etapas para obtener el extracto colorante en estado sólido.

### **2.5.1. Recolección**

“La materia prima para el proceso de extracción de añil es el follaje de la planta, debe ser cuidadosamente seleccionada porque el punto óptimo de madurez determina la calidad de la tinta<sup>1</sup>”.

La materia verde debe cortarse en el primer año de siembra del cultivo entre agosto y septiembre, cuando la planta tiene una la altura de 1 a 2 m y está en periodo de floración. “Se corta a una altura de 30 a 40 cm del suelo, sin dañar el tronco, para que pueda dar nuevos brotes<sup>2</sup>”.

Para el corte, también puede tomarse como parámetro la coloración amarilla de las hojas en la parte inferior de la planta. “Pasado este período el contenido de indigotina que se obtenga puede disminuir. El segundo corte puede realizarse cuarenta y cinco días después del primero<sup>3</sup>”.

---

<sup>1</sup> DE QUINTANILLA, Ruth. *Guía técnica: Procesamiento del añil en El Salvador*. 19 p.

<sup>2</sup> *Ibíd.*

<sup>3</sup> *Ibíd.*

En el segundo y tercer año se puede iniciar la cosecha en junio-julio hasta septiembre-octubre. Tomando el mismo criterio de coloración de la hoja, la materia prima de mejor calidad proviene del primer corte del segundo año, debido a que según la experiencia de los artesanos es en donde se obtiene el mayor porcentaje de indigotina. Se recolectará de 5:00 a.m. a 9:00 a.m., para evitar pérdidas de humedad y marchitamiento de la planta.

### **2.5.2. Fermentación**

En esta etapa se extrae el principio precursor del extracto colorante, “el indicán, el cual se transforma en indoxil, es llamado añil blanco, componente precursor del extracto, se agrega hidróxido de calcio para favorecer la hidrólisis<sup>4</sup>”.

### **2.5.3. Oxidación**

En esta etapa “se promueve una reacción redox en la que la el indoxil se combina con oxígeno, corresponde con un aumento de cargas positivas del átomo debido a una pérdida de electrones que da origen al índigo y se obtiene el color azulado del extracto final<sup>5</sup>”.

### **2.5.4. Sedimentación**

Operación en la que el extracto insoluble se deposita en el fondo del recipiente facilitando la separación física.

---

<sup>4</sup> COLOCHO, José Luis [et al.]. *Alternativas técnico-prácticas para reducir el tiempo de extracción de pigmentos sólidos del añil (indigofera sp.)*. 9 p.

<sup>5</sup> *Ibíd.*

### **2.5.5. Secado de extracto colorante**

Operación necesaria para quitar la humedad y obtener el extracto colorante en polvo. Se puede utilizar algún sistema que facilite el secado, para el proceso en el laboratorio se puede emplear un secador de flujo transversal, lo que disminuye el tiempo de secado. Se debe tomar en cuenta, además no sobrepasar los 40 °C para no degradar el color en las moléculas del extracto colorante.

## **2.6. Caracterización fisicoquímica**

La caracterización fisicoquímica consiste en la determinación de las propiedades de extracto, en el presente estudio de investigación se determina el contenido de indigotina como la variable principal que define la calidad del extracto.

### **2.6.1. Espectrofotometría**

Es el método de análisis óptico más usado en las investigaciones químicas, es un instrumento que permite comparar la radiación absorbida o transmitida por una solución que contiene una cantidad desconocida de soluto, y una que contiene una cantidad conocida de la misma sustancia.

Todas las sustancias pueden absorber energía radiante, aun el vidrio que parece ser completamente transparente absorbe radiación de longitudes de ondas que no pertenecen al espectro visible; el agua absorbe fuertemente en la región del infrarrojo.

La absorción de las radiaciones ultravioletas, visibles e infrarrojas depende de la estructura de las moléculas, y es característica para cada sustancia química.

Cuando la luz atraviesa una sustancia, parte de la energía es absorbida, el color de las sustancias se debe a que éstas absorben ciertas longitudes de onda de la luz blanca que incide sobre ellas y solo dejan pasar a los ojos, aquellas longitudes de onda no absorbidas.

La espectrofotometría ultravioleta-visible usa haces de radiación del espectro electromagnético, en el rango UV de 80 a 400 nm, principalmente de 200 a 400 nm y en el de la luz visible de 400 a 800 nm, por lo que es de gran utilidad para caracterizar los materiales en la región ultravioleta y visible del espectro.

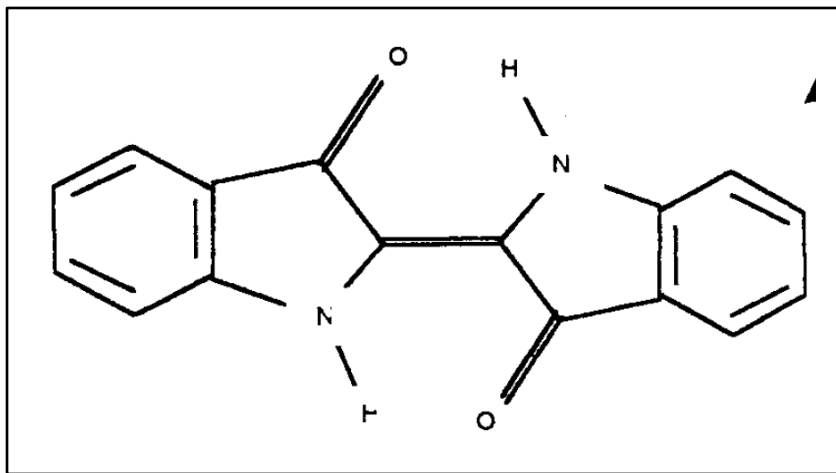
Al campo de luz UV de 200 a 400 nm se le conoce también, como rango de UV cercano, la espectrofotometría visible solamente usa el rango del campo electromagnético de la luz visible, de 400 a 800 nm. En la que la indigotina se encuentra en un rango de 600 a 620 nm.

Además, el hecho de que la absorbancia y transmitancia de luz depende tanto de la cantidad de la concentración y de la distancia recorrida. La ley de Beer declara que la cantidad de luz, absorbida por un cuerpo depende de la concentración en la solución, principio en el que se fundamenta la caracterización de la presente investigación.

### 2.6.2. Porcentaje de indigotina

La variable seleccionada como respuesta para la caracterización en la etapa de oxigenación es el porcentaje de indigotina contenido en el índigo natural; la indigotina es el principio activo y componente principal del colorante; en la figura 5 se muestra su estructura.

Figura 5. Estructura de la indigotina

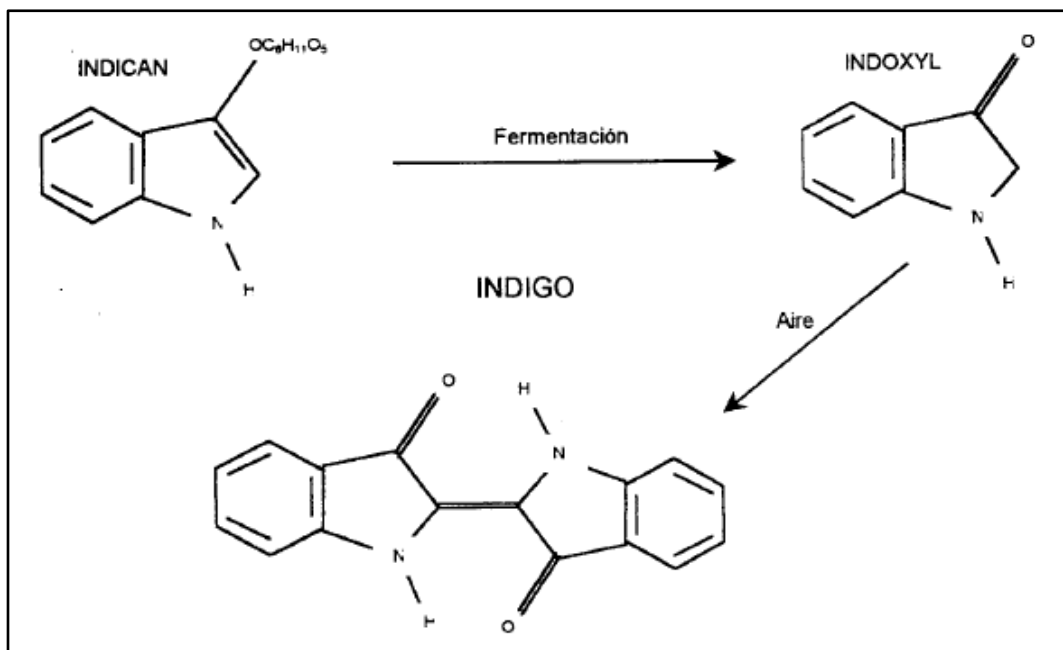


Fuente: SANDOVAL-SALAS, Fabiola. Caracterisation de la production et optimisation du processus d'extraction des colorants de la plante de añil (*Indigofera suffruticosa* MILL.) p. 19

Se selecciona el contenido de indigotina como la variable respuesta, porque de la misma depende la buena calidad del índigo y el precio fijado en el mercado internacional.

“La indigotina se produce a partir del indicán que es un componente existente en forma natural en la planta de añil ( $C_{14}H_{17}O_6N + 2H_2O$ ), el indicán que es un glucósido de indoxilo se descompone en indoxil y glucosa por medio de un proceso de fermentación, el indoxil al reaccionar con el oxígeno es transformado en indigotina<sup>6</sup>”, el proceso se puede esquematizar según la figura 6.

Figura 6. **Proceso de transformación de indicán a índigo**



Fuente: SANDOVAL-SALAS, Fabiola. Caracterisation de la production et optimisation du processus d'extraction des colorants de la plante de añil (*Indigofera suffruticosa* MILL.) p. 34

<sup>6</sup> DE QUINTANILLA, Ruth. *Guía técnica: Procesamiento del añil en El Salvador*. p. 19.

Por espectrofotometría se determina la absorbancia específica de la indigotina, valor que al ser comparado con el de un estándar permite determinar la concentración del principio activo.

## 2.7. Precio

Los precios del añil, al igual que la mayoría de productos agropecuarios, tiene amplios márgenes entre el precio al productor y el precio al consumidor minorista.

El precio del añil de exportación, ha oscilado entre US\$35,00 a US\$45,00 por kilogramo lo que se aproxima en US\$1,00 por grado de indigotina, así a mayor grado de concentración de indigotina mayor precio. La tabla I presenta una relación entre concentración de Indigotina y precio.

Tabla I. **Porcentaje de indigotina y el precio por kilogramo**

<b>Porcentaje de indigotina (%)</b>	<b>Precio US\$/kg</b>
20	17,50
30	26,25
40	35,00
45	39,38
50	43,75
60	52,50

Fuente: LANDAVERDE, Rafael, [et al.] *Caracterización y evaluación de la sostenibilidad del cultivo del añil (Indigofera, sp.), de la asociación de añileros de El Salvador.* p. 22.



## **2.8. Desarrollo sostenible**

Las características positivas del añil deben reflejarse en la buena gestión y desarrollo sostenible desde la industria, hasta cada uno de los puntos de incidencia, a continuación se desarrollan elementos que le dan éstas características al colorante natural.

### **2.8.1. Beneficios del cultivo del añil**

A nivel nacional, los beneficios generados con el cultivo del añil para la obtención del colorante natural pueden ser:

- La recuperación de una identidad nacional: esto significa la posibilidad de que Guatemala vuelva a ser conocida por la producción del colorante de añil de muy buena calidad.
- Disminución de la pobreza rural al involucrar personas para trabajar en el cultivo y proceso, convirtiéndose en una fuente de ingresos.
- Mejoramiento de la calidad de los suelos y recuperación de paisajes.
- Oportunidades de exportación para este producto: “en el mercado internacional existe una amplia demanda para el colorante de añil por sus características naturales, siendo pagado a muy buenos precios que en países europeos son fijados con base en el contenido de indigotina; sin embargo, países asiáticos demandan también del colorante sin precisar el porcentaje del principio activo<sup>7</sup>”.

---

<sup>7</sup> DE QUINTANILLA, Ruth. *Guía técnica: Procesamiento del añil en El Salvador*. 19 p.

## **2.8.2. Enfoques del desarrollo sostenible**

“El desarrollo sostenible tiene tres enfoques: la visión del economista, la perspectiva agronómica y ecológica, y el punto de vista sociológico. El desarrollo sostenible desde las dos primeras perspectivas se muestra como un concepto y estrategia alternativa, que reclama la revisión de los intercambios entre los recursos y los objetivos del crecimiento económico. En un enfoque transitorio del Banco Mundial, desde la perspectiva de los economistas, el desarrollo es sostenible a nivel económico, ecológico y social”<sup>8</sup>

En lo económico se hace referencia al crecimiento, la eficiencia del capital y a los recursos e inversiones; en lo ecológico se tiene presente la integridad del ecosistema, su capacidad de carga y la conservación de los recursos naturales y de la biodiversidad.

En lo social, la atención se pone en la equidad, la participación, la movilidad social, la cohesión social, la identidad cultural, y el desarrollo institucional.

---

<sup>8</sup> DE QUINTANILLA, Ruth. *Guía técnica: Procesamiento del añil en El Salvador*. 19 p.

### 3. DISEÑO METODOLÓGICO

#### 3.1. Variables

El trabajo que se realizó está dividido en dos etapas significativas, la primera de extracción y la segunda de análisis fisicoquímico. Con base en los objetivos de la investigación, a continuación se presentan las variables independientes y dependientes, durante el proceso de extracción y análisis.

Tabla II. **Análisis de variables independientes de la extracción y caracterización fisicoquímica**

No.	Variable	Unidad	Factor potencial de diseño		Factores perturbadores	
			Constante	Variable	Controlable	No controlable
1	Tiempo de oxidación $t_{ox}$	Minutos		X	X	

Fuente: elaboración propia.

Tabla III. **Análisis de variables dependientes de la extracción y caracterización fisicoquímica**

No.	Variable	Unidades	Factor potencial de diseño		Factor perturbador	
			Constante	Variable	Controlable	No controlable
1	Porcentaje de extracto	%		X		X
2	Porcentaje de indigotina	%		X		X

Fuente: elaboración propia.

Tabla IV. **Análisis de constantes de la extracción y caracterización fisicoquímica**

No.	Variable	Unidades	Factor potencial de diseño		Factor perturbador	
			Constante	Variable	Controlable	No controlable
1	Tiempo de fermentación	horas	X		X	
2	Cantidad de muestra	gramos	X		X	
3	pH	pH	X		X	
4	Caudal de aire	L/min	X		X	

Fuente: elaboración propia.

Tabla V. **Valor de constantes de la extracción y caracterización fisicoquímica**

No.	Variable	Unidades	Unidades
1	Tiempo de fermentación	12	horas
2	Cantidad de muestra	151,200	gramos
3	pH	7,5	-
4	Caudal del aire	8,33	L/min

Fuente: elaboración propia.

Tabla VI. **Análisis de variables del ambiente externo durante la extracción**

No.	Variable	Unidades	Factor potencial de diseño		Factor perturbador	
			Constante	Variable	Controlable	No controlable
1	Temperatura	°C	X			X

Fuente: elaboración propia.

Tabla VII. **Valores de variables del ambiente externo durante la extracción**

No.	Variable	Valor	Unidades
1	Temperatura	Temperatura ambiente	°C

Fuente: elaboración propia.

### 3.1.1. Variable independiente

En la extracción y caracterización fisicoquímica es la variable independiente, se variarán cuatro tiempos de oxidación (30, 60, 90 y 120 minutos), durante el proceso de extracción con tres repeticiones en función de la significancia de los resultados.

Tabla VIII. Diseño de las variables y sus repeticiones

No.	Tiempo de oxidación (minutos)	Repeticiones		
1	30	$t_{OX11}$	$t_{OX12}$	$t_{OX13}$
2	60	$t_{OX21}$	$t_{OX22}$	$t_{OX23}$
3	90	$t_{OX31}$	$t_{OX32}$	$t_{OX33}$
4	120	$t_{OX41}$	$t_{OX42}$	$t_{OX43}$

Fuente: elaboración propia.

### 3.1.2. Variables dependientes

Las variables de respuesta durante la experimentación son el porcentaje en masa del extracto colorante y el porcentaje en masa de la indigotina presente.

- Porcentaje en masa de extracto colorante: se pesó y determinó como el rendimiento en masa del extracto colorante.
- Porcentaje en masa de Indigotina: se determinó por medio de espectrofotometría.

Tabla IX. **Relación de variables dependientes**

<b>Repetición</b>	<b>Porcentaje en masa de extracto colorante</b>	<b>Porcentaje en masa de la indigotina</b>
t <sub>OX11</sub>	% m/m t <sub>OX11</sub>	% ind t <sub>OX11</sub>
t <sub>OX12</sub>	% m/m t <sub>OX12</sub>	% ind t <sub>OX12</sub>
t <sub>OX13</sub>	% m/m t <sub>OX13</sub>	% ind t <sub>OX13</sub>
t <sub>OX21</sub>	% m/m t <sub>OX21</sub>	% ind t <sub>OX21</sub>
t <sub>OX22</sub>	% m/m t <sub>OX22</sub>	% ind t <sub>OX22</sub>
t <sub>OX23</sub>	% m/m t <sub>OX23</sub>	% ind t <sub>OX23</sub>
t <sub>OX31</sub>	% m/m t <sub>OX31</sub>	% ind t <sub>OX31</sub>
t <sub>OX32</sub>	% m/m t <sub>OX32</sub>	% ind t <sub>OX32</sub>
t <sub>OX33</sub>	% m/m t <sub>OX33</sub>	% ind t <sub>OX33</sub>
t <sub>OX41</sub>	% m/m t <sub>OX41</sub>	% ind t <sub>OX41</sub>
t <sub>OX42</sub>	% m/m t <sub>OX42</sub>	% ind t <sub>OX42</sub>
t <sub>OX43</sub>	% m/m t <sub>OX43</sub>	% ind t <sub>OX43</sub>

Fuente: elaboración propia.

### 3.2. **Delimitación del campo de estudio**

- Industria: textil.
- Proceso: extracción de colorante de las hojas de añil (*Indigofera guatemalensis* Moc.)
- Etapa del proceso: caracterización fisicoquímica, por medio de espectrofotometría.

- Ubicación: en el municipio de Jocotán del departamento de Chiquimula, Guatemala, se obtuvo la materia prima. La extracción se llevó a cabo en el Laboratorio de Investigación de Extractos Vegetales (LIEXVE), del Centro de Investigaciones de la Facultad de Ingeniería, de la Universidad de San Carlos de Guatemala. La caracterización fisicoquímica se realizó en la Unidad de Análisis Instrumental (UAI), de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

### **3.3. Recursos humanos disponibles**

- Persona que realiza el estudio: Elena María Pineda Suárez
- Asesora: Ingeniera Química Telma Maricela Cano Morales. (Colegiada No. 433)
- Coasesor: Ingeniero Químico Mario José Mérida Meré (Colegiado No. 1411)

### **3.4. Recursos materiales disponibles**

Son todos los que se utilizaron para durante la extracción y caracterización del colorante obtenido de las hojas de añil (*Indigofera guatemalensis* Moc.).



### 3.4.1. Materia prima y reactivos

- Hojas de añil (*Indigofera guatemalensis* Moc.)
  
- Hidróxido de calcio, grado reactivo, marca Merck
  - Fórmula molecular:  $\text{Ca(OH)}_2$
  - Masa molar: 74.03 g/mol
  - Estado: sólido
  - Apariencia: blanco plateado en polvo
  - Característica: base
  
- Cloroformo, grado reactivo, marca Merck
  - Fórmula molecular:  $\text{CHCl}_3$
  - Masa molar: 119,38 g/mol
  - Constante dieléctrica: 4,8
  - Estado: líquido
  - Apariencia: incoloro
  - Característica: orgánico

- Metanol, grado reactivo, marca Merck
  - Fórmula molecular:  $\text{CH}_3\text{OH}$
  - Masa molar: 32,04 g/mol
  - Constante dieléctrica: 33,6
  - Estado: líquido
  - Apariencia: incoloro
  - Característica: orgánico
  
- Etanol, grado reactivo, marca Merck
  - Fórmula molecular:  $\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$
  - Masa molar: 46,07 g/mol
  - Constante dieléctrica: 24,3
  - Estado: líquido
  - Apariencia: incoloro
  - Característica: orgánico
  
- Acetona, grado reactivo, marca Merck
  - Formula molecular:  $\text{C}_3\text{H}_6\text{O}$
  - Masa molar: 46,07 g/mol
  - Constante dieléctrica: 21,00
  - Estado: líquido
  - Apariencia: incoloro
  - Característica: orgánico

- Agua desmineralizada, marca Salvavidas®
  - Fórmula molecular:  $H_2O$
  - Masa molar: 18,02 g/mol
  - Estado: líquido
  - Apariencia: incoloro
  - Característica: inocuo
  
- Aire
  - Formula molecular
    - \* Su composición está basada en nitrógeno y oxígeno
  - Masa Molar --
  - Estado gaseoso
  - Apariencia incoloro
  - Característica inocuo
  - Caudal 8,33 L/min
    - \* Se utilizó una bomba de pecera con caudal constante

### 3.4.2. Plásticos

- Recipientes plásticos para guardar materia prima fresca
- Recipientes plásticos para llevar a cabo la fermentación
- Recipientes plásticos con tapadera para sedimentar
- Recipientes para guardar materia prima fresca
- Pizeta

### **3.4.3. Cristalería**

- Probetas de 50 ml y 100 ml
- Pipetas volumétricas
- Beakers de 25, 100, 500 ml
- Balones aforados de 100 y 250 ml
- Erlenmeyers 125 ml
- Ampolla de decantación 1 l
- Varillas de agitación
- Embudo
- Perlas de ebullición
- Mortero de porcelana

### **3.4.4. Material auxiliar**

- Espátula
- Tijeras
- Soporte universal
- Bolsas plásticas Ziploc®
- Material de identificación

### **3.4.5. Instrumentos de medición**

- Termómetro

- Balanza analítica  
Marca: Adventur  
Serie: G1231202040133  
Voltaje 8-14,5 V  
Frecuencia: 50/60 Hz  
Máxima capacidad: 150 g  
Lectura mínima: 0,0001 g  
Incerteza:  $\pm 0,00005$  g  
Hecha en USA
- Potenciómetro  
Marca: Orión Research  
Voltaje: 120V/110V  
Lectura mínima: 0,01  
Lectura máxima: 14,00  
Incerteza:  $\pm 0,005$   
Calibración: respecto a estándares de soluciones buffer con pH de 4, 7 y 14. La operación se realiza cada vez que se utilizará, colocando los valores en función del estándar.
- Espectrofotómetro  
Marca: Agilent Technologies  
Modelo: Cary 50

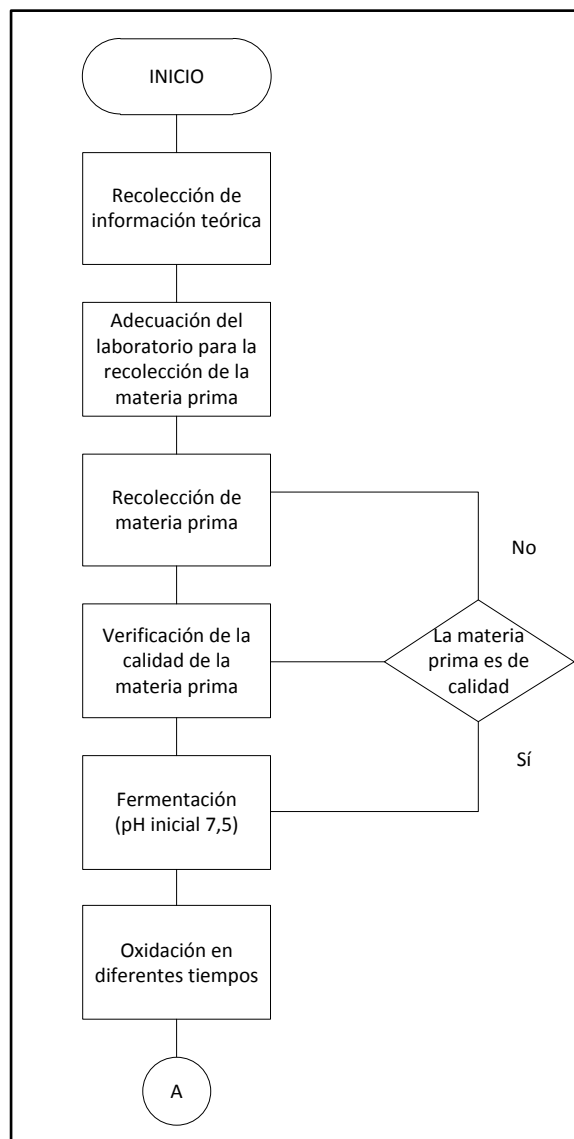
### **3.4.6. Equipo**

- Secador de bandejas de flujo transversal  
Marca: Premlab  
Voltaje 230 V  
Flujo: ajustable  
Máxima capacidad: 40 kg aproximadamente
  
- Bomba de pecera  
Marca: Marquis  
Modelo: fsp 1800  
Voltaje: 110V  
Frecuencia: 60 Hz  
Cabeza máxima: 1,2 m  
Caudal máximo: 1 000 l/h equivalente 8,33 l/min

### 3.5. Diseño general

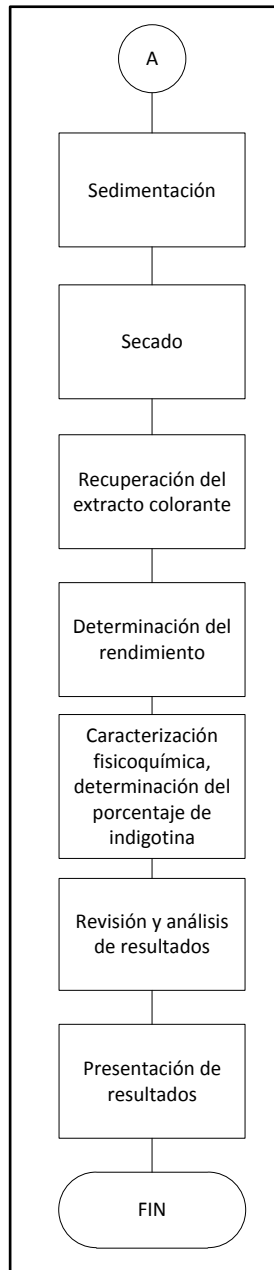
La técnica cualitativa es una explicación secuencial y ordenada del proceso de extracción y caracterización del extracto colorante.

Figura 7. Diseño general



Fuente: elaboración propia.

Continuación de la figura 7



Fuente: elaboración propia.



### 3.6. Recolección y ordenamiento de la información

Para la evaluación se utilizará un diseño en bloques al azar, evaluando el efecto que tiene la variación del tiempo de oxidación (cuatro tiempos de oxidación, con tres repeticiones para cada tiempo) sobre el rendimiento obtenido de extracto colorante de añil (índigo) y el porcentaje en masa de indigotina. Como resultado se tendrán doce unidades experimentales.

Tabla X. **Diseño general del experimento**

<b>Repetición</b>	<b>Tiempo de oxidación</b>			
<b>1</b>	$t_{OX2}$	$t_{OX1}$	$t_{OX4}$	$t_{OX3}$
<b>2</b>	$t_{OX4}$	$t_{OX3}$	$t_{OX1}$	$t_{OX2}$
<b>3</b>	$t_{OX2}$	$t_{OX1}$	$t_{OX4}$	$t_{OX3}$

Fuente: elaboración propia.

Donde  $t_{OXn}$ , representa cada uno de los tiempos de oxidación a los cuales se llevará a cabo dicho experimento cuya nomenclatura se muestra en la tabla XI.

Tabla XI. **Nomenclatura de tratamientos**

<b>Nomenclatura</b>	<b>Tiempo de oxidación (minutos)</b>
$t_{OX1}$	30
$t_{OX2}$	60
$t_{OX3}$	90
$t_{OX4}$	120

Fuente: elaboración propia.

Complementando la literal con la repetición para fines de experimentación, por ejemplo  $t_{OX11}$ , tiempo de oxidación de 30 minutos, primera repetición.

### 3.6.1. Datos originales

Los datos originales se obtuvieron durante la extracción y caracterización fisicoquímica, del extracto colorante obtenido de las hojas de añil (*Indigofera guatemalensis* Moc.).

#### 3.6.1.1. Datos para determinar el rendimiento en masa de extracto colorante

El diseño de bloques al azar implica un reordenamiento en la tabulación de datos, se realizará en función de cada tiempo de oxidación.

Tabla XII. **Diseño de tabulación de datos en función del tiempo de oxidación**

<b>Tratamiento</b>	<b>Repetición</b>		
$t_{OX1}$	$t_{OX11}$	$t_{OX12}$	$t_{OX13}$
$t_{OX2}$	$t_{OX21}$	$t_{OX22}$	$t_{OX23}$
$t_{OX3}$	$t_{OX31}$	$t_{OX32}$	$t_{OX33}$
$t_{OX4}$	$t_{OX41}$	$t_{OX42}$	$t_{OX43}$

Fuente: elaboración propia.

Tabla XIII. **Masa de materia prima fresca**

<b>Muestra</b>	<b>Masa añil fresco (g)</b>
t <sub>OX11</sub>	151,2000
t <sub>OX12</sub>	
t <sub>OX13</sub>	
t <sub>OX21</sub>	
t <sub>OX22</sub>	
t <sub>OX23</sub>	
t <sub>OX31</sub>	
t <sub>OX32</sub>	
t <sub>OX33</sub>	
t <sub>OX41</sub>	
t <sub>OX42</sub>	
t <sub>OX43</sub>	

Fuente: elaboración propia, basado en datos experimentales.

Tabla XIV. **Masa de bolsas de almacenamiento de extracto colorante**

<b>Muestra</b>	<b>Bolsa de almacenamiento</b>
t <sub>OX11</sub>	1,9933
t <sub>OX12</sub>	2,0004
t <sub>OX13</sub>	1,9060
t <sub>OX21</sub>	2,0085
t <sub>OX22</sub>	1,9970
t <sub>OX23</sub>	1,9933
t <sub>OX31</sub>	2,0023
t <sub>OX32</sub>	2,0159
t <sub>OX33</sub>	2,0064
t <sub>OX41</sub>	2,0038
t <sub>OX42</sub>	1,9871
t <sub>OX43</sub>	2,0256

Fuente: elaboración propia, basado en datos experimentales.

Tabla XV. **Masa total del extracto colorante**

<b>Muestra</b>	<b>Bolsa y extracto</b>
t <sub>OX11</sub>	2,2732
t <sub>OX12</sub>	2,2240
t <sub>OX13</sub>	2,0751
t <sub>OX21</sub>	2,2899
t <sub>OX22</sub>	2,2755
t <sub>OX23</sub>	2,2732
t <sub>OX31</sub>	2,3077
t <sub>OX32</sub>	2,3093
t <sub>OX33</sub>	2,3064
t <sub>OX41</sub>	2,6156
t <sub>OX42</sub>	2,5151
t <sub>OX43</sub>	2,5097

Fuente: elaboración propia, basado en datos experimentales.

### **3.6.1.2. Datos para determinar el porcentaje en masa de indigotina**

Aplicando la metodología analítica por espectrofotometría se determinó la concentración de indigotina presente en las muestras.

Tabla XVI. **Datos para la preparación de solución madre**

<b>Solución</b>	<b>Masa g</b>	<b>Volumen mL</b>	<b>Concentración ppm</b>
Madre	0,0018	100	18

Fuente: elaboración propia, basado en datos experimentales.

Tabla XVII. **Datos para preparación de estándares**

<b>Estándar</b>	<b>Volumen de solución madre mL</b>	<b>Volumen total mL</b>	<b>Concentración ppm</b>
01	5	50	1,80
02	10		3,60
03	15		5,40

Fuente: elaboración propia, basado en datos experimentales.

Tabla XVIII. **Datos de estándares en función de la indigotina**

<b>Estándar</b>	<b>Concentración ppm</b>	<b>Pureza</b>	<b>Concentración de indigotina ppm</b>
01	1,80	98%	1,7640
02	3,60		3,5280
03	5,40		5,2920

Fuente: elaboración propia, basado en datos experimentales.

Tabla XIX. **Datos de absorbancias para estándares**

<b>Estándar</b>	<b>Concentración de indigotina ppm</b>	<b>Absorbancias</b>
01	1,7640	0,06939
02	3,5280	0,17160
03	5,2920	0,26974

Fuente: elaboración propia, basado en datos experimentales.

Tabla XX. **Correlaciones del espectrofotómetro en función de los  
estándar**

<b>Metodología</b>	<b>Estándar lineal</b>
<b>Ecuación</b>	$C=K1*A$
<b>Coefficiente K1</b>	20,13900
<b>Std Dev</b>	0,86294
<b>Std Dev OfCal</b>	0,28230

Fuente: elaboración propia, basado en datos experimentales.

Tabla XXI. **Datos para preparación de muestras**

<b>Solución</b>	<b>Masa g</b>	<b>Volumen mL</b>
t <sub>OX11</sub>	0,0019	100
t <sub>OX12</sub>	0,0019	
t <sub>OX13</sub>	0,0018	
t <sub>OX21</sub>	0,0012	
t <sub>OX22</sub>	0,0013	
t <sub>OX23</sub>	0,0013	
t <sub>OX31</sub>	0,0014	
t <sub>OX32</sub>	0,0015	
t <sub>OX33</sub>	0,0013	
t <sub>OX41</sub>	0,0015	
t <sub>OX42</sub>	0,0015	
t <sub>OX43</sub>	0,0016	

Fuente: elaboración propia, basado en datos experimentales

Tabla XXII. **Datos del espectrofotómetro para las muestras en función de la curva de referencia**

<b>Solución</b>	<b>Absorbancia</b>
t <sub>OX11</sub>	0,18984
t <sub>OX12</sub>	0,19937
t <sub>OX13</sub>	0,17035
t <sub>OX21</sub>	0,19977
t <sub>OX22</sub>	0,21248
t <sub>OX23</sub>	0,20147
t <sub>OX31</sub>	0,21082
t <sub>OX32</sub>	0,22435
t <sub>OX33</sub>	0,19391
t <sub>OX41</sub>	0,23584
t <sub>OX42</sub>	0,22319
t <sub>OX43</sub>	0,24124

Fuente: elaboración propia, basado en datos experimentales.

### **3.7. Tabulación, ordenamiento y procesamiento de la información**

Son todos los datos obtenidos a partir de los resultados experimentales al realizar la extracción y caracterización fisicoquímica del extracto colorante, obtenido de las hojas de añil (*Indigofera guatemalensis* Moc.) y se tabulan en tablas y gráficas para su comprensión y evaluación.



### **3.7.1. Preparación de materia prima para la extracción**

La materia prima para el proceso de obtención de añil (*Indigofera guatemalensis* Moc.), se seleccionó cuidadosamente para su procesamiento, pues el punto de madurez de la planta incide en el rendimiento del principio activo del extracto.

La materia prima se obtuvo a las 9:00 de la mañana en el municipio de Jocotenango, Chiquimula, Guatemala, proveniente del segundo año de siembra del cultivo en el mes de octubre, la plantación en promedio tenía una altura entre 1 y 1,5 m y tenían flor, con un machete a una altura de 35 cm del suelo se cortó, posteriormente se trasladó al Laboratorio de Investigación de Extractos Vegetales, donde se tomó una porción homogénea y de hojas que no tuvieran decoloraciones, manchas o cualquier daños físicos observable.

### **3.7.2. Procedimiento de fermentación del material vegetativo**

Consistió en la extracción del colorante del material vegetativo, los tratamientos para esta etapa son iguales en todas las repeticiones.

Para iniciar el proceso de fermentación se realizó el siguiente procedimiento:

- a) Medición de un volumen de 1,00 L.
- b) Se pesó 151,200 g de material vegetativo.
- c) Se pesó 0,1200 g de hidróxido de calcio.

Después se agregó el material medido y pesado en un recipiente plástico con capacidad de dos litros del mismo color para cada tratamiento, facilitando la experimentación y se colocó la tapadera de forma vertical insertada en el recipiente para evitar que el material vegetativo flotara, se dejó fermentar durante 12 horas a temperatura ambiente.

Al finalizar el proceso, el agua pasó de incolora a un color verde-amarillento, con una capa oropel; lo anterior como indicativo que el principio precursor del extracto colorante, se encuentra en el agua. Se separó el material vegetativo con colador y la solución rica se depositó nuevamente en recipientes plásticos. El material vegetativo utilizado en esta etapa se descartó.

### **3.7.3. Procedimiento de la oxidación en diferentes tiempos**

Consistió en oxidar el indoxil contenido en la solución madre obteniendo el extracto colorante.

La solución rica en indoxil contenida en un recipiente plástico se hizo pasar por una bomba de pecera, colocada al lado con flujo constante de 8,33 l/min. Las burbujas de oxígeno, por diferencia de densidad, ascienden en la solución debido a su tamaño, y a las diferencias de presión explotan y oxidan la molécula. Cada uno de los tratamientos se oxigenaron a 30, 60, 90 y 120 minutos respectivamente, con tres repeticiones cada uno.

La solución color verde-amarillento pasó a color índigo con partículas sólidas en suspensión.

#### **3.7.4. Procedimiento de sedimentación**

Por gravedad, el extracto colorante (partículas suspendidas color índigo) se depositó en el fondo de la solución oxigenada; dejándolo en reposo durante 10 horas, hasta que no se observó partículas en suspensión.

El extracto depositado es color índigo y la solución oxigenada cambió a café claro; se eliminó la mayor parte del agua.

#### **3.7.5. Procedimiento de secado**

El extracto colorante con los residuos de solución oxigenada se colocó en las bandejas del secador de flujo transversal, debidamente identificadas. La temperatura se mantuvo entre 40 y 45 °C en un período de 48 horas. Se rotaron las bandejas para homogenizar el flujo de sacado en cada uno de los tratamientos.

El material depositado se secó en las bandejas con una apariencia sólida.

#### **3.7.6. Procedimiento de recuperación del extracto colorante**

Luego de la evaporación se recuperó el extracto colorante con espátula, en bolsas previamente pesadas e identificadas.

El extracto se encuentra en estado sólido y de color índigo intenso, almacenado en bolsas.

### **3.7.7. Procedimiento para la determinación del rendimiento**

Las bolsas que contenían el extracto colorante debidamente identificadas, se pesaron en la balanza, con el objetivo de determinar la cantidad de extracto colorante obtenido. Se estableció una relación con el material vegetativo agregado en la fermentación, determinándose y se determinó el rendimiento en masa del extracto colorante.

### **3.7.8. Procedimiento para la caracterización fisicoquímica**

Se determinó el porcentaje de indigotina como parámetro fisicoquímico, porque es el principio activo en el que se basa la calidad del extracto colorante, para ello se utilizó un espectrofotómetro de UV visible, estableciéndose 620 nm como la longitud de onda de referencia, en función del colorante.

Además se realizó una lectura del solvente puro para determinar si existía interferencia para la determinación espectrofotométrica, generando un blanco comprobando que se podía utilizar en el rango de medición.

#### **3.7.8.1. Determinación de solvente a utilizar**

Para realizar mediciones UV visibles, es necesario solubilizar el extracto colorante que se encuentra en estado sólido, para ello se determinó el solvente adecuado a través del siguiente procedimiento.

- a) En un tubo de ensayo de 10 mL, se pesó 0,00010 g.
- b) Se agregó 10 mL de solvente y se colocó el tapón.

- c) Introduciéndolo en baño ultrasónico durante 5 minutos.
- d) Se observó si estaba presente material sólido.
- e) Pudiéndose determinar que el solvente no presentaba partículas sólidas suspendidas.

### **3.7.8.2. Curva de calibración**

Para determinar el porcentaje de indigotina presente en la muestra, se comparó con un estándar de indigotina al 98%, se preparó una solución madre con una concentración de 18 ppm, en función de la solubilidad en cloroformo. A continuación se detalla el procedimiento de preparación.

- a) En un balón de 100 ml clase A, se pesó 0,0018 g.
- b) Agregándose 50 ml de cloroformo, colocándole el tapón.
- c) Se introdujo en baño ultrasónico durante 5 minutos, para facilitar la disolución.
- d) Se aforó hasta los 100 ml.
- e) Cubriéndose con papel aluminio para evitar la degradación del extracto colorante en la muestra.

A partir de la solución madre se prepararon 3 soluciones, a concentraciones de 1,8, 3,6 y 5,4 ppm de la siguiente forma:

- a) Se midió en una pipeta serológica un volumen de 5, 10 y 15 ml.
- b) Introduciéndose en un balón aforado de 50 ml respectivamente.
- c) Se aforó hasta 50 ml respectivamente.
- d) Cubriéndose con papel aluminio y se etiquetó.

La curva estándar inicial debe incluir un blanco reactivo, denominado línea base del blanco, para ello se introdujo cloroformo en una celda de 1 cm y se configuró como tal en el espectrofotómetro. Para la solución estándar preparada se determina la longitud de onda máxima, ésta será la longitud de onda a la que se obtiene una mayor lectura de absorbancia para dicha solución, utilizando el espectrofotómetro (este valor puede variar entre 600-610 nm).

El dato del blanco se utilizó como un punto en la curva generada. Debido a que el estándar se encuentra al 98% de pureza se relacionó con las concentraciones y se definieron como 1,764, 3,528 y 5,292 respectivamente.

Se realizó la medición de las soluciones estándar.

- a) Se agregó cada una de las soluciones a la celda del espectrofotómetro, previo lavado con la misma solución, para evitar dilución o contaminación del estándar.
- b) Se ingresó la concentración respectiva, previamente calculada.
- c) Se ingresó los datos de cada muestra en el espectrofotómetro.

- d) Al finalizar las 3 mediciones, el programa del espectrofotómetro ajustó una ecuación con los datos respectivos, la concentración en función de la absorbancia, con una correlación que parte de la concentración 0.
- e) Guardándose la curva de calibración en el software del espectrofotómetro.
- f) Se comprobó la curva establecida por el software.

### **3.7.8.3. Preparación de muestras en solución**

El extracto colorante está en estado sólido, para realizar la medición espectrofotométrica deben prepararse soluciones, como se describe a continuación.

- a) En un balón de 100mL clase A, se pesó una masa entre 0,0010 y 0,0025 g.
- b) Se anotó la masa para cada una de las muestras.
- c) Agregándose 50 mL de cloroformo al balón que contiene la muestra.
- d) Se introdujo en baño ultrasónico durante 5 minutos, para facilitar la disolución.
- e) Se aforó hasta los 100 mL.
- f) Cubriéndose con papel aluminio para evitar la degradación del extracto colorante en la muestra.

- g) Identificándose cada una de las muestras.
- h) Se encendieron las lámparas del espectrofotómetro.
- i) El espectrofotómetro se configuró para realizar mediciones de muestras respecto a la curva de calibración generada con anterioridad.
- j) Se lavó con solvente la celda de 1 cm en la que se realiza la medición espectrofotométrica.
- k) Se lavó 3 veces con la muestra a medir la celda para evitar diluciones o contaminación.
- l) Llenándose la celda de 1 cm con la muestra y se midió la absorbancia.
- m) Grabar en el software el dato, además de tabularlo manualmente.
- n) Repetir el procedimiento con los 4 tratamientos y 3 repeticiones.
- o) Apagar el instrumento.

Debido a que la comparación se realiza con una curva de calibración que contiene concentraciones, se obtienen datos de concentración en la medición, hubo comprobación con cálculo manual, en la sección de muestra de cálculo se detalla la obtención de cada uno de ellos.



### 3.7.9. Muestra de cálculo

La muestra de cálculo indica las fórmulas que se utilizaron para la obtención de los resultados, a partir de los datos obtenidos experimentalmente al extraer y determinar el porcentaje de indigotina presente en el extracto colorante obtenido de las hojas de añil (*Indigofera guatemalensis* Moc.)

#### 3.7.9.1. Determinación del rendimiento en masa del extracto colorante

Para la determinación del rendimiento en masa del extracto colorante es importante conocer la cantidad de material vegetativo utilizado para la extracción de cada una de las corridas, así como las masas finales respectivas. Se calculan dichos datos de la siguiente forma:

$$m_c = m_{cb} - m_b \quad (\text{Ecuación 1})$$

Donde:

$m_c$  = es la masa neta del colorante (g)

$m_{cb}$  = masa del colorante y la bolsa (g)

$m_b$  = masa de la bolsa (g)

Ejemplo:

Los datos mostrados a continuación corresponden a la repetición  $t_{OX11}$ . De igual forma se calcularon los datos para las demás repeticiones.

$$m_c = 2,2732g - 1,9933g$$

$$m_c = 0,2799 g$$

Los datos calculados para las otras repeticiones se encuentran en la sección de datos calculados.

La relación para determinar el rendimiento se muestra a continuación;

$$\%R = \frac{m_c}{m_v} * 100 \quad (\text{Ecuación 2})$$

Donde:

$\%R$  = es el rendimiento en masa del extracto colorante (%)

$m_c$  = masa del colorante (g)

$m_v$  = masa del material vegetativo (g)

Ejemplo:

Los datos mostrados a continuación corresponden a la repetición t<sub>OX11</sub>. De igual forma se calcularon los datos para las demás repeticiones.

$$\%R = \frac{0,2799}{151,2000} * 100$$

$$\%R = 0,1851\%$$

Los datos calculados para las otras repeticiones se encuentran en la sección de datos calculados.

### 3.7.9.2. Determinación de la curva de calibración

Para la determinación la curva de calibración se consideró la lectura de absorbancias para cada una de las soluciones estándar preparadas, a partir de:

$$m = \frac{n \sum AC - \sum A \sum C}{n \sum C^2 - (\sum c)^2} \quad (\text{Ecuación 3})$$

$$b = \frac{\sum A}{n} - m \frac{\sum C}{n} \quad (\text{Ecuación 4})$$

Donde:

$m$  = la pendiente de la curva de calibración (denominada factor de calibración).

$b$  = la intersección del valor de absorbancia o del eje y.

$n$  = el número de observaciones.

En el análisis se procesó las muestras y el valor de absorbancia, para el blanco se igualó a cero, se calculó con base en la siguiente ecuación:

$$C = \frac{A}{\text{factor de calibración}} \quad (\text{Ecuación 5})$$

El factor de calibración es igual a la pendiente calculada para la regresión de los valores, aunque estos cálculos pueden realizarse manualmente, se utilizó datos que el espectrofotómetro indicó y se comparó con el software Microsoft Excel® para dicho fin, la ecuación obtenida fue:

$$C = 20,1390 A$$

Donde:

$C$  = concentración (ppm)

$A$  = absorbancia

Los datos de cálculo para dicha ecuación se muestran en la sección de datos calculados.

### **3.7.9.3. Determinación de la concentración de indigotina en función de la curva de calibración**

La determinación de la concentración en función de la curva de calibración se obtiene por el espectrofotómetro.

$$C = 20,1390 A \quad (\text{Ecuación 6})$$

Donde:

$C$  = concentración (ppm)

$A$  = absorbancia

Ejemplo:

Los datos mostrados a continuación corresponden a la repetición  $t_{OX11}$ . De igual forma se calcularon los datos para las demás repeticiones.

$$C = 20,1390 (0,18984)$$

$$C = 3,8231 \text{ ppm}$$

Los datos calculados para las otras repeticiones se encuentran en la sección de datos calculados.

#### **3.7.9.4. Determinación de los gramos presentes de indigotina en las muestras**

Se determinó los gramos de indigotina presente en función de las relaciones establecidas:

$$g_i = C * 0,0001 \quad (\text{Ecuación 7})$$

Donde:

$g_i$  = gramos de indigotina (g)

$C$  = concentración (ppm)

Ejemplo:

Los datos mostrados a continuación corresponden a la repetición  $t_{OX11}$ . De igual forma se calcularon los datos para las demás repeticiones.

$$g_i = 3,8231 * 0.0001$$

$$g_i = 3,8231 * 10^{-4} g$$

Los datos calculados para las otras repeticiones se encuentran en la sección de datos calculados.

### 3.7.9.5. Determinación del rendimiento porcentual en masa de la indigotina

El valor establecido en el estudio es el rendimiento porcentual de la indigotina, para ello se relacionó la masa presente de indigotina en los gramos añadidos en cada una de las muestras durante la preparación, se calculó con la ecuación que se muestra a continuación;

$$\%ind = \frac{m_i}{m_c} * 100 \quad (\text{Ecuación 8})$$

Donde:

$\%ind$  = porcentaje de indigotina (%)

$m_i$  = masa de indigotina (g)

$m_c$  = masa del colorante en cada muestra (g)

Ejemplo:

Los datos mostrados a continuación corresponden a la repetición t<sub>OX11</sub>. De igual forma se calcularon los datos para las demás repeticiones.

$$\%ind = \frac{3,8231 * 10^{-4}g}{0,0029g} * 100$$

$$\%ind = 20,12\%$$

Los datos calculados para las otras repeticiones se encuentran en la sección de datos calculados.

### **3.7.9.6. Análisis de varianza**

- Hipótesis nula
  - El porcentaje de rendimiento en masa no varía significativamente en función de 30, 60, 90 y 120 minutos de tiempo de oxidación durante la extracción.
  - El porcentaje de indigotina en masa presente en el extracto no varía significativamente en función de 30, 60, 90 y 120 minutos de tiempo de oxidación durante la extracción.
- Hipótesis alternativa
  - El porcentaje de rendimiento en masa varía significativamente en función de 30, 60, 90 y 120 minutos de tiempo de oxidación durante la extracción.
  - El porcentaje de indigotina en masa presente en el extracto varía significativamente en función de 30, 60, 90 y 120 minutos de tiempo durante la oxidación.

Ejemplo:

En el caso del porcentaje de rendimiento en masa el análisis de varianza será:

- Hipótesis nula

El porcentaje de rendimiento en masa no varía significativamente en función de 30, 60, 90 y 120 minutos de tiempo de oxidación durante la extracción.

- Hipótesis alternativa

El porcentaje de rendimiento en masa varía significativamente en función de 30, 60, 90 y 120 minutos de tiempo de oxidación durante la extracción.

- Nivel de significancia

$$\alpha = 0,05$$

- Grados de libertad

$$Gl = k - 1$$

$$Gl = 3 - 1 = 2$$

Donde:

$Gl$  = grados de libertad

$k$  = número de muestras

- Gran media ( $\bar{X}$ )

La gran media de todos los elementos de todas las muestras se calcula con la siguiente ecuación:



$$\bar{X} = \frac{\sum_{i=1}^{n_1} X_i + \sum_{i=1}^{n_2} X_i + \dots + \sum_{i=1}^k X_i}{\sum_{i=1}^k n_i} \quad (\text{Ecuación 9})$$

Donde:

$X_i$  = elementos

- Estadístico crítico (Fc)

Con 2 grados de libertad, con gran media igual a 0,2224,  $F = 51,21$ .

Tabla XXIII. **Resumen del cálculo de la varianza para el rendimiento en masa del extracto colorante**

Origen	gl	Suma de cuadrados	Media cuadrática	F	P
Corrida	2	0,00337	0,00168	51,21	0,0001
Tiempo de oxidación	3	0,07758	0,02586		
Error	6	0,00303	0,00050		
<b>Total</b>	11				

Fuente: elaboración propia.

- Resultado

En referencia a las medias observadas, basado en que si  $\rho \leq 0,05$ , en el análisis  $\rho = 0,0001$ ,  $H_0$  se rechaza.

- **Conclusión**

El porcentaje de rendimiento en masa varía significativamente en función de 30, 60, 90 y 120 minutos de tiempo de oxidación durante la extracción.

Los resultados obtenidos para las otras especies se encuentran en la sección de análisis estadístico.

### **3.7.10. Datos calculados**

Los datos calculados son los que se obtienen a partir del desarrollo de las fórmulas planteadas en la sección de muestra de cálculo. A continuación se muestra una serie de tablas con los resultados obtenidos.

#### **3.7.10.1. Determinación del rendimiento en masa del extracto colorante**

La determinación de la masa del extracto colorante es neta a partir de los gramos del material vegetativo, así como los gramos de colorante obtenido en cada una de las repeticiones.

Tabla XXIV. **Datos de masa del extracto colorante**

<b>Muestra</b>	<b>Material vegetativo</b>	<b>Masa de la bolsa</b>	<b>Masa de la bolsa y colorante</b>	<b>Masa de colorante</b>	<b>% Rendimiento</b>
11	151,2000	1,9933	2,2732	0,2799	0,19
12	151,2000	2,0004	2,2240	0,2236	0,15
13	151,2000	1,9060	2,0751	0,1691	0,11
21	151,2000	2,0085	2,2899	0,2814	0,19
22	151,2000	1,9970	2,2755	0,2785	0,18
23	151,2000	1,9933	2,2732	0,2799	0,19
31	151,2000	2,0023	2,3077	0,3054	0,20
32	151,2000	2,0159	2,3093	0,2934	0,19
33	151,2000	2,0064	2,3064	0,3000	0,20
41	151,2000	2,0038	2,6156	0,6118	0,40
42	151,2000	1,9871	2,5151	0,5280	0,35
43	151,2000	2,0256	2,5097	0,4841	0,32

Fuente: elaboración propia, basado en muestra de cálculo.

### **3.7.10.2. Determinación de la curva de calibración**

Los datos iniciales de la correlación se muestran en las tablas XXV y XXVI.

Tabla XXV. **Datos para curva estándar**

<b>Concentración ppm</b>	<b>Absorbancia</b>
0	0,01189
1,76400	0,06939
3,52800	0,17160
5,29200	0,26974

Fuente: elaboración propia, basado en muestra de cálculo.

Tabla XXVI. **Datos de regresión y correlación de la curva inicial**

<b>Parámetro</b>	<b>Valor</b>
m	0,04965
b	0.00071
R <sup>2</sup>	0.98632

Fuente: elaboración propia, basado en muestra de cálculo.

### **3.7.10.3. Determinación de la concentración en función de la curva de calibración**

La concentración presente en función de la curva de calibración se muestran en la tabla XXVII.

Tabla XXVII. **Datos calculados de concentración**

<b>Muestra</b>	<b>g</b>	<b>Absorbancia</b>	<b>Concentración ppm</b>
11	0,0019	0,1898	3,8231
12	0,0019	0,1994	4,0150
13	0,0018	0,1704	3,4306
21	0,0012	0,1998	4,0232
22	0,0013	0,2125	4,2589
23	0,0013	0,2015	4,0574
31	0,0014	0,2108	4,2456
32	0,0015	0,2244	4,5180
33	0,0013	0,1939	3,9050
41	0,0015	0,2358	4,7496
42	0,0015	0,2232	4,4947
43	0,0016	0,2412	4,8583

Fuente: elaboración propia, basado en muestra de cálculo.

#### **3.7.10.4. Determinación de los gramos presentes de indigotina en las muestras**

El cálculo de los gramos para su relación posterior porcentual se describe en la tabla XXVIII.

Tabla XXVIII. Datos calculados de masa

Muestra	g	Concentración ppm	Absorbancia	g ind	Promedio g ind
11	0,0019	3,8231	0,1898	3,8231E-04	3,7562E-04
12	0,0019	4,0150	0,1994	4,0150E-04	
13	0,0018	3,4306	0,1704	3,4306E-04	
21	0,0012	4,0232	0,1998	4,0232E-04	4,1132E-04
22	0,0013	4,2589	0,2125	4,2589E-04	
23	0,0013	4,0574	0,2015	4,0574E-04	
31	0,0014	4,2456	0,2108	4,2456E-04	4,2229E-04
32	0,0015	4,5180	0,2244	4,5180E-04	
33	0,0013	3,9050	0,1939	3,9050E-04	
41	0,0015	4,7496	0,2358	4,7496E-04	4,7009E-04
42	0,0015	4,4947	0,2232	4,4947E-04	
43	0,0016	4,8583	0,2412	4,8583E-04	

Fuente: elaboración propia, basado en muestra de cálculo.

### 3.7.10.5. Determinación del rendimiento porcentual en masa de la indigotina

Se relacionó la indigotina presente con los gramos en cada una de las muestras y se determinó el porcentaje de indigotina. Ver tabla XXVIII.

Tabla XXIX. **Datos calculados de indigotina**

<b>Muestra</b>	<b>g</b>	<b>Concentración ppm</b>	<b>Absorbancia</b>	<b>% ind</b>	<b>Promedio % ind</b>
11	0,0019	3,8231	0,1898	20,12	20,10
12	0,0019	4,0150	0,1994	21,13	
13	0,0018	3,4306	0,1704	19,06	
21	0,0012	4,0232	0,1998	33,53	32,50
22	0,0013	4,2589	0,2125	32,76	
23	0,0013	4,0574	0,2015	31,21	
31	0,0014	4,2456	0,2108	30,33	30,16
32	0,0015	4,5180	0,2244	30,12	
33	0,0013	3,9050	0,1939	30,04	
41	0,0015	4,7496	0,2358	31,66	30,66
42	0,0015	4,4947	0,2232	29,96	
43	0,0016	4,8583	0,2412	30,36	

Fuente: elaboración propia, basado en muestra de cálculo.

### **3.8. Análisis estadístico**

Para evaluar si la evidencia empírica obtenida respalda o no la hipótesis planteada se realizó un análisis de varianza: para el rendimiento y el contenido de indigotina.

De acuerdo al resultado del análisis de varianza se evaluará si la respuesta obtenida se puede modelar mediante la estimación de un polinomio que explique el rendimiento en función del tiempo de oxidación, para ello se utiliza la técnica de los polinomios ortogonales.

En el experimento a realizar, la variabilidad proveniente de un factor de ruido puede afectar los resultados. Un factor de ruido es un factor que probablemente tiene un efecto en la respuesta, pero que no es de interés estudiar. Si el factor de ruido es desconocido y no controlable, la solución es la aleatorización, que tiende a distribuir los niveles y efectos de este factor entre todas las repeticiones.

Al utilizar bloques, es una forma de reducir y controlar la varianza del error experimental para tener mayor precisión. En el diseño completamente al azar se supone que las unidades experimentales son relativamente homogéneas con respecto a factores que afectan la variable de respuesta.

Cualquier factor que afecte la variable de respuesta y que varíe entre unidades experimentales, aumentará la varianza del error experimental y disminuirá la precisión de las comparaciones.

Se tienen  $t$  tratamientos que se requieren comparar  $b$  bloques como se muestra en la tabla XXX.



Tabla XXX. **Bloques al azar comparando t tratamiento y b bloques**

<b>Bloque 1</b>	<b>Bloque 2</b>	<b>...</b>	<b>Bloque b</b>
$y_{11}$	$y_{12}$	...	$y_{1b}$
$y_{21}$	$y_{22}$	...	$y_{2b}$
...	...	...	...
...	...	...	...
...	...	...	...
$y_{t1}$	$y_{t2}$	...	$y_{tb}$

Fuente: *Diseño de bloques al azar.*

<<http://www.dpye.iimas.unam.mx/patricia/indexer/bloques.pdf>>

[Consulta: 8 de agosto de 2010].

El diseño de bloques (completos) al azar implica que en cada tratamiento bloque hay una sola observación de cada tratamiento. El orden en que se corren los tratamientos dentro de cada bloque es aleatorio. Para el procedimiento experimental en el presente trabajo de investigación:

Tabla XXXI. **Bloques al azar comparando 4 tratamientos y 3 bloques**

<b>Bloque 1</b>	<b>Bloque 2</b>	<b>Bloque 3</b>
$y_{11}$	$y_{12}$	$y_{13}$
$y_{21}$	$y_{22}$	$y_{23}$
$y_{31}$	$y_{32}$	$y_{33}$
$y_{41}$	$y_{42}$	$y_{43}$

Fuente: *Diseño de bloques al azar.*

<<http://www.dpye.iimas.unam.mx/patricia/indexer/bloques.pdf>>

[Consulta: 8 de agosto de 2010].

El modelo estadístico para este diseño es:

$$Y_{ij} = \mu + \beta_i + \alpha_j + \varepsilon_{ij}$$

Donde:

$Y_{ij}$  = es la variable respuesta a evaluar (el rendimiento de extracto o de indigotina)

$\mu$  = es el promedio general del rendimiento

$\beta_i$  = es el efecto del i-ésimo bloque o repetición

$\alpha_j$  = es el efecto del j-ésimo tiempo de oxidación

$\varepsilon_{ij}$  = es el error experimental asociado a la ij-ésima unidad experimental

Se supone que los efectos de tratamientos y bloque son aditivos. La aditividad significa que no hay interacción entre tratamientos y bloques. Es decir; la relación entre los tratamientos es la misma en cada uno de los bloques.

Tabla XXXII. **Relación entre tratamientos y bloques con sus medias**

Tratamiento	Bloque				Medias de tratamientos
	1	2	...	b	
1	$y_{11}$	$y_{12}$	...	$y_{1b}$	$\bar{y}_1$
2	$y_{21}$	$y_{22}$	...	$y_{2b}$	$\bar{y}_2$
...	...	...	...	...	...
...	...	...	...	...	...
t	$y_{t1}$	$y_{t2}$	...	$y_{tb}$	$\bar{y}_t$
<b>Medias de bloque</b>	$\bar{y}_{.1}$	$\bar{y}_{.2}$	...	$\bar{y}_{.b}$	$\bar{y}_{..}$

Fuente: *Diseño de bloques al azar.*

<<http://www.dpye.iimas.unam.mx/patricia/indexer/bloques.pdf>>

[Consulta: 8 de agosto de 2010].

Tabla XXXIII. **Modelo con 4 tratamientos y 3 bloques**

Tratamiento	Bloque			Medias de tratamientos
	1	2	3	
1	$y_{11}$	$y_{12}$	$y_{13}$	$\bar{y}_1$
2	$y_{21}$	$y_{22}$	$y_{23}$	$\bar{y}_2$
3	$y_{31}$	$y_{32}$	$y_{33}$	$\bar{y}_3$
4	$y_{41}$	$y_{42}$	$y_{43}$	$\bar{y}_4$
<b>Medias de bloque</b>	$\bar{y}_{.1}$	$\bar{y}_{.2}$	$\bar{y}_{.3}$	$\bar{y}$

Fuente: *Diseño de bloques al azar.*

<<http://www.dpye.iimas.unam.mx/patricia/indexer/bloques.pdf>>

[Consulta: 8 de agosto de 2010].

El análisis de varianza para este diseño se basa en una descomposición de variabilidad de las observaciones.

$$y_{ij} - \bar{y}_{...} = (y_{ij} - \bar{y}_i - \bar{y}_j + \bar{y}_{...}) + (\bar{y}_i - \bar{y}_{...}) + (\bar{y}_j - \bar{y}_{...})$$

**desviación total =  
desviación debida al error + desviación debida a tratamientos  
+ desviación debida a bloques**

$$\begin{aligned} \sum_{i=1}^t \sum_{j=1}^b (y_{ij} - \bar{y}_{...})^2 \\ = b \sum_{i=1}^t (\bar{y}_i - \bar{y}_{...})^2 + t \sum_{j=1}^b (\bar{y}_j - \bar{y}_{...})^2 + \sum_{i=1}^t \sum_{j=1}^b (y_{ij} - \bar{y}_i - \bar{y}_j + \bar{y}_{...})^2 \end{aligned}$$

$$SS_{total} = SS_{trat} + SS_{bloque} + SS_{error}$$

$$bt - 1 = (t - 1) + (b - 1) + (b - 1)(t - 1)$$

Suponiendo normalidad en los errores se demostrará que:

$$\frac{SS_{total}}{\sigma^2}, \frac{SS_{bloques}}{\sigma^2}, \frac{SS_E}{\sigma^2}$$

Son variables independientes con distribución  $\chi^2$  con sus correspondientes grados de libertad.

Tabla XXXIV. **Análisis de varianza**

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados (SS)	Media cuadrática (CM)
Tratamientos	$t - 1$	$b \sum_{i=1}^t (\bar{y}_i - \bar{y}_{...})^2$	$\frac{SS_{trat}}{(t - 1)}$
Bloques	$b - 1$	$t \sum_{j=1}^b (\bar{y}_j - \bar{y}_{...})^2$	$\frac{SS_{bloques}}{(b - 1)}$
Error	$(t - 1)(b - 1)$	$\sum_{i=1}^t \sum_{j=1}^b (y_{ij} - \bar{y}_i - \bar{y}_j + \bar{y}_{...})^2$	$\frac{SS_E}{(t - 1)(b - 1)}$
Total	$bt - 1$	$\sum_{i=1}^t \sum_{j=1}^b (y_{ij} - \bar{y}_{..})^2$	

Fuente: *Diseño de bloques al azar.*

<<http://www.dpye.iimas.unam.mx/patricia/indexer/bloques.pdf>>

[Consulta: 8 de agosto de 2010].

La hipótesis nula de ningún efecto de tratamiento se prueba mediante la razón de Fisher, que se define como:

$$F = \frac{CM_{\text{Tratamientos}}}{CM_E} \quad (\text{Ecuación 10})$$

Donde:

$CM_{\text{tratamientos}}$  = media cuadrática de los tratamientos

$CM_E$  = es la media cuadrática del error

Para un nivel de confianza  $\alpha = 0,05$  y con 2 grados de libertad para tratamientos y para 3 bloques. Si  $F_c > F_{t-1,(t-1)(b-1)}^\alpha$  se rechaza  $H_0$ ;  $\tau_1 = \tau_2 = \dots = \tau_t = 0$

### **3.8.1. Determinación del rendimiento en masa del extracto colorante**

En función de los datos obtenidos para el rendimiento en masa del extracto colorante se realizó un análisis de varianza y se evaluó con la prueba de Fischer.

#### **3.8.1.1. Análisis de varianza**

- Hipótesis nula

El porcentaje de rendimiento en masa no varía significativamente en función de 30, 60, 90 y 120 minutos de tiempo de oxidación durante la extracción.

- Hipótesis alternativa

El porcentaje de rendimiento en masa varía significativamente en función de 30, 60, 90 y 120 minutos de tiempo de oxidación durante la extracción.

- Nivel de significancia

$$\alpha = 0,05$$

- Grados de libertad

$$Gl = k - 1$$

$$Gl = 3 - 1 = 2$$

Donde:

$Gl$  = grados de libertad

$k$  = número de muestras

- Gran media ( $\bar{X}$ )

La gran media de todos los elementos de todas las muestras se calcula con la siguiente ecuación:

$$\bar{X} = \frac{\sum_{i=1}^{n_1} X_i + \sum_{i=1}^{n_2} X_i + \dots + \sum_{i=1}^k X_i}{\sum_{i=1}^k n_i} \quad (\text{Ecuación 11})$$

Donde:

$X_i$  = elementos

- Estadístico crítico (F)

Con 2 grados de libertad, con gran media igual a 0,2224,  $F = 51,21$ .

Tabla XXXV. **Resumen del cálculo de la varianza para el rendimiento en masa del extracto colorante**

Origen	gl	Suma de cuadrados	Media cuadrática	F	P
Corrida	2	0,00337	0,00168	51,21	0,0001
Tiempo de oxidación	3	0,07758	0,02586		
Error	6	0,00303	0,00050		
Total	11				

Fuente: elaboración propia.

- Resultado

En referencia a las medias observadas, basado en que si  $\rho \leq 0,05$  la hipótesis nula se rechaza, en el análisis  $\rho = 0,0001$ ,  $H_0$  se rechaza.

- Conclusión

El porcentaje de rendimiento en masa varía significativamente en función de 30, 60, 90 y 120 minutos de tiempo de oxidación durante la extracción.

### **3.8.2. Determinación del porcentaje en masa de indigotina presente en el extracto colorante**

En función de los datos obtenidos para porcentaje de indigotina del extracto colorante se realizó un análisis de varianza y evaluándose con la prueba de Fischer.



### 3.8.2.1. Análisis de varianza

- Hipótesis nula

El porcentaje de indigotina en masa presente en el extracto no varía significativamente en función de 30, 60, 90 y 120 minutos de tiempo de oxidación durante la extracción.

- Hipótesis alternativa

El porcentaje de indigotina en masa presente en el extracto varía significativamente en función de 30, 60, 90 y 120 minutos de tiempo durante la oxidación.

- Nivel de significancia

$$\alpha = 0,05$$

- Grados de libertad

$$Gl = k - 1$$

$$Gl = 3 - 1 = 2$$

Donde:

$Gl$  = grados de libertad

$k$  = número de muestras

- Gran media ( $\bar{X}$ )

La gran media de todos los elementos de todas las muestras se calcula con la siguiente ecuación:

$$\bar{X} = \frac{\sum_{i=1}^{n_1} X_i + \sum_{i=1}^{n_2} X_i + \dots + \sum_{i=1}^k X_i}{\sum_{i=1}^k n_i} \quad (\text{Ecuación 12})$$

Donde:

$X_i$  = elementos

- Estadístico crítico (F)

Con 2 grados de libertad, con gran media igual a 28,357, F = 167,55

Tabla XXXVI. **Resumen del cálculo de la varianza para el porcentaje de indigotina**

Origen	gl	Suma de cuadrados	Media cuadrática	F	P
Corrida	2	3,194	1,5972	167,55	0,0000
Tiempo de oxidación	3	281,553	93,8510		
Error	6	3,361	0,5601		
Total	11				

Fuente: elaboración propia.

- Resultado

En referencia a las medias observadas, basado en que si  $\rho \leq 0,05$  la hipótesis nula se rechaza, en el análisis  $\rho = 0,0000$  ,  $H_0$  se rechaza.

- Conclusión

El porcentaje de indigotina en masa presente en el extracto varía significativamente en función de 30, 60, 90 y 120 minutos de tiempo durante la oxidación.

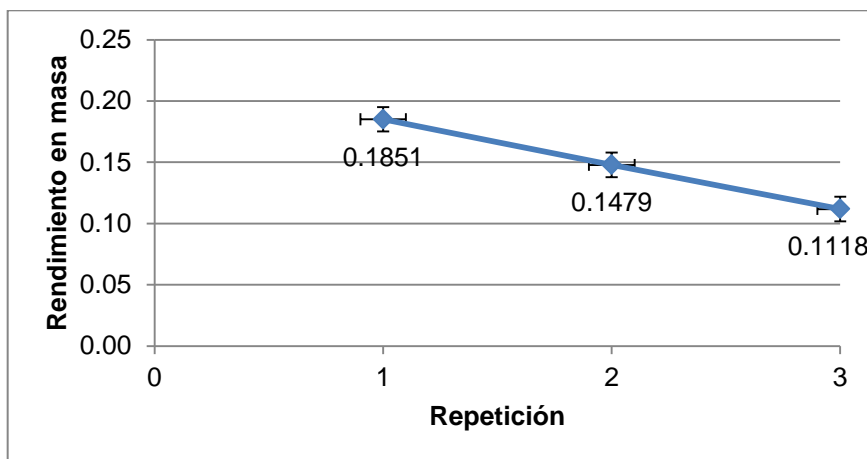


## 4. RESULTADOS

### 4.1. Determinación del rendimiento en masa del extracto colorante

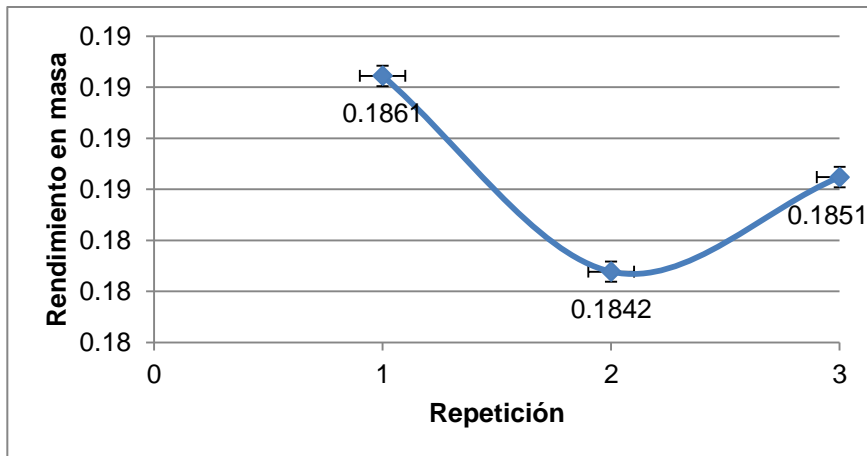
Durante la etapa de fermentación el pH inicial fue de 7,5. Se analizó la diferencia en el rendimiento en masa del extracto colorante variando el tiempo de oxidación en 30, 60, 90 y 120 minutos. Los resultados se muestran de la figura 8 a la 12.

Figura 8. Rendimiento en masa para 30 minutos de tiempo de oxidación (porcentaje masa de colorante/masa de material vegetal)



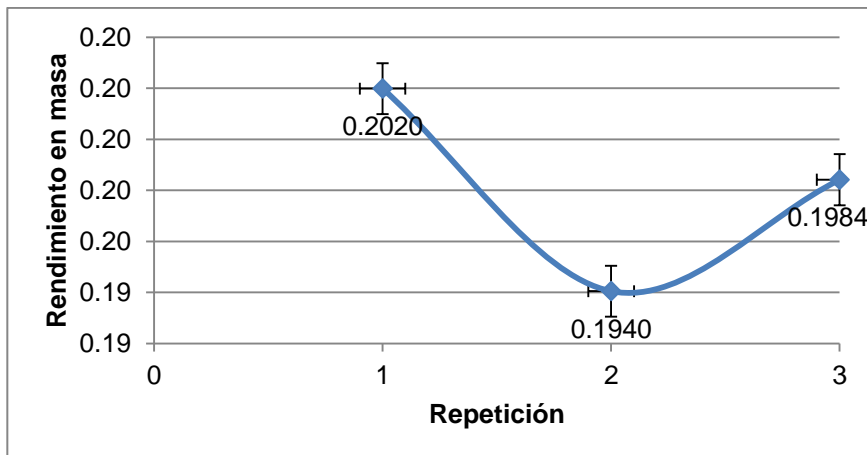
Fuente: elaboración propia

Figura 9. Rendimiento en masa para 60 minutos de tiempo de oxidación (porcentaje masa de colorante/masa de material vegetal)



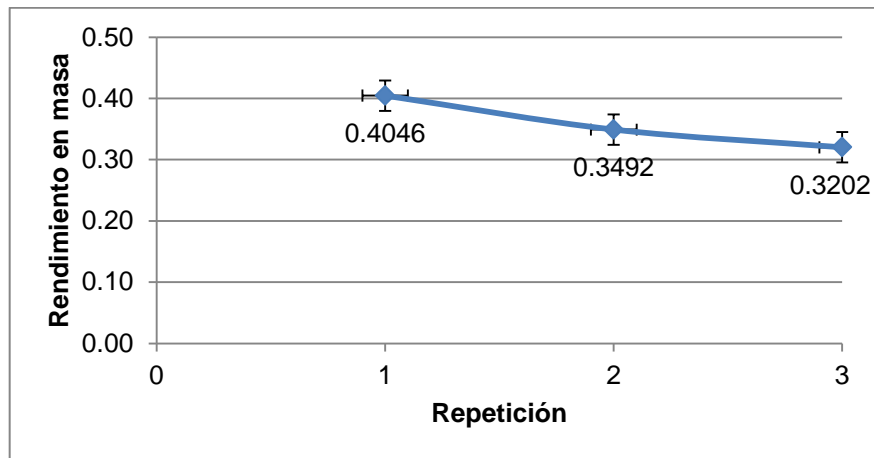
Fuente: elaboración propia

Figura 10. Rendimiento en masa para 90 minutos de tiempo de oxidación (porcentaje masa de colorante/masa de material vegetal)



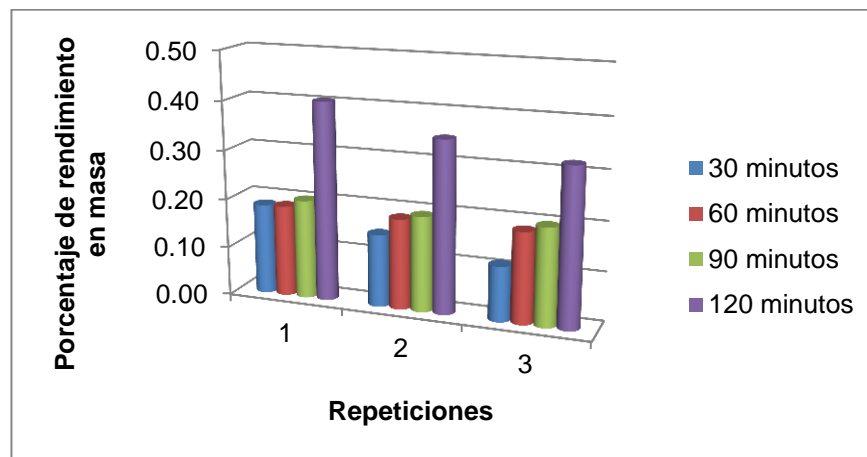
Fuente: elaboración propia

Figura 11. Rendimiento en masa en 120 minutos de tiempo de oxidación (porcentaje masa de colorante/masa de material vegetal)



Fuente: elaboración propia

Figura 12. Comparación del rendimiento en 30, 60, 90 y 120 minutos (porcentaje masa de colorante/masa de material vegetal)

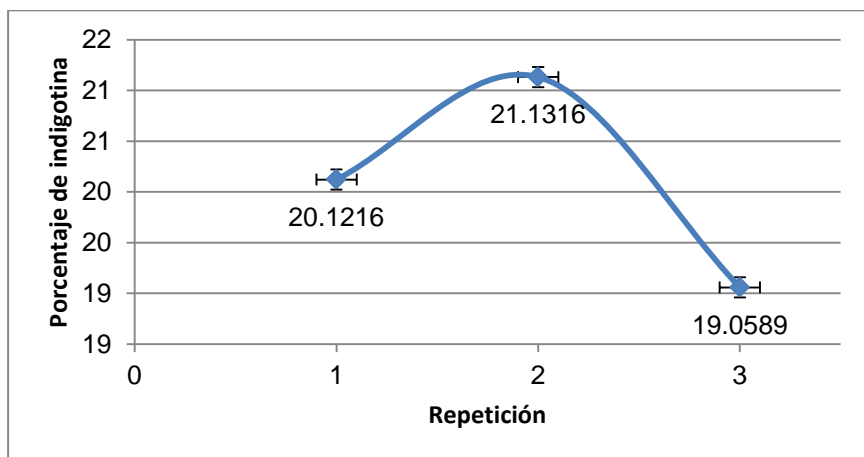


Fuente: elaboración propia

#### 4.2. Determinación del porcentaje en masa de indigotina presente en el extracto colorante

Realización del análisis de la diferencia del porcentaje de indigotina variando el tiempo de oxidación en 30, 60, 90 y 120 minutos. Los resultados se muestran en las figuras de la 13 a la 18.

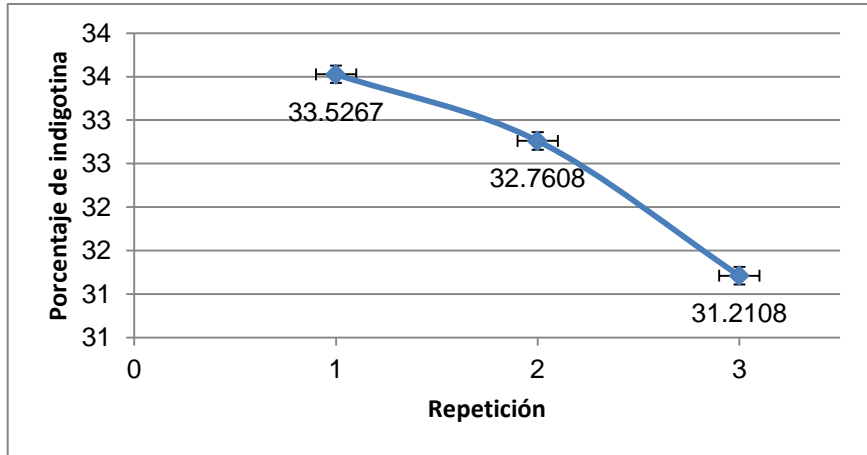
Figura 13. **Porcentaje masa indigotina/ masa de colorante en 30 minutos de tiempo de oxidación con un caudal de aire de 8,33 L/min**



Fuente: elaboración propia

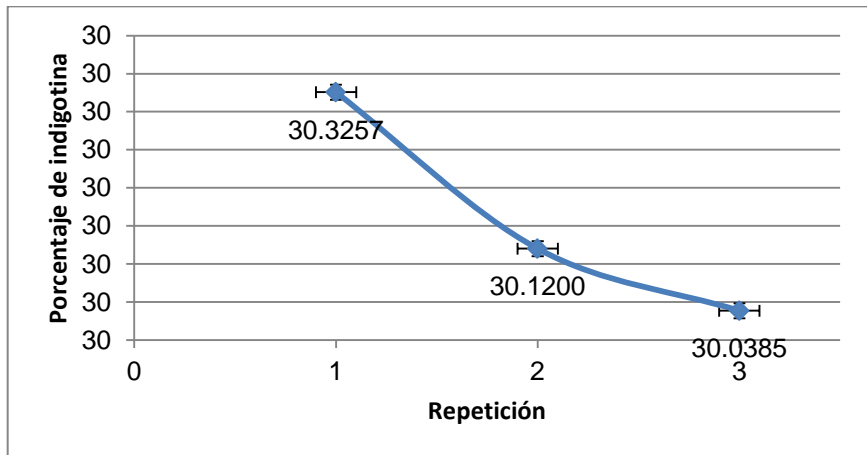


Figura 14. **Porcentaje masa indigotina/ masa de colorante en 60 minutos de tiempo de oxidación con un caudal de aire de 8,33 L/min**



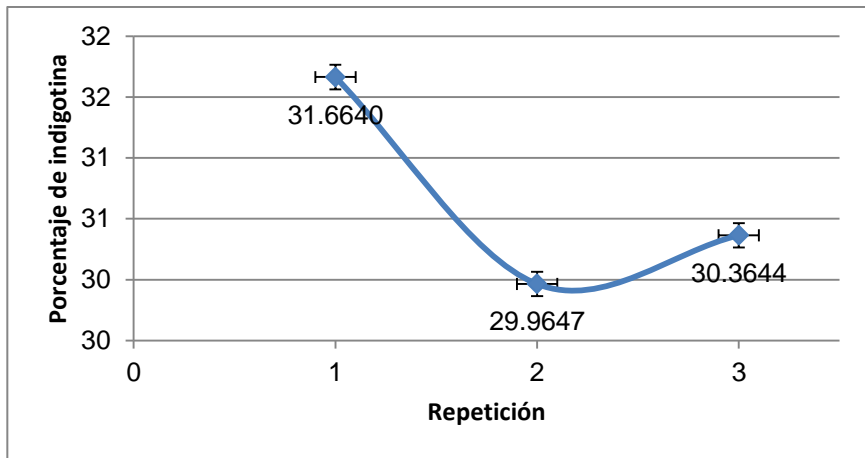
Fuente: elaboración propia

Figura 15. **Porcentaje masa indigotina/ masa de colorante en 90 minutos de tiempo de oxidación con un caudal de aire de 8,33 L/min**



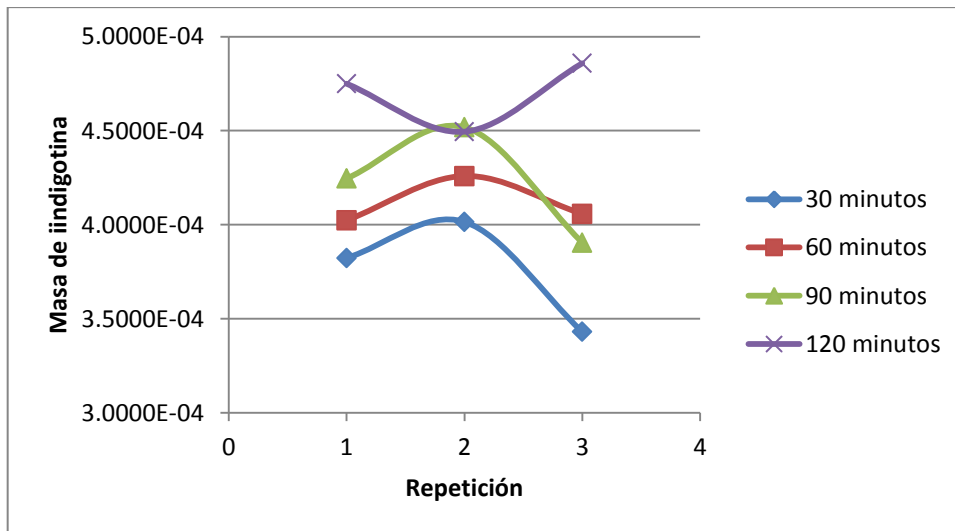
Fuente: elaboración propia

Figura 16. **Porcentaje masa indigotina/ masa de colorante en 120 minutos de tiempo de oxidación con un caudal de aire de 8,33 L/min**



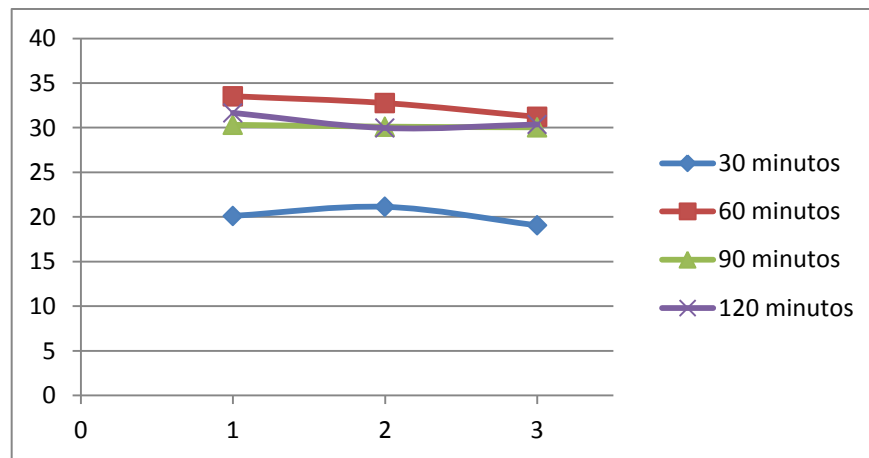
Fuente: elaboración propia

Figura 17. **Comparación masa de indigotina en 30, 60, 90 y 120 minutos con un caudal de aire de 8,33 L/min**



Fuente: elaboración propia

Figura 18. **Comparación porcentaje masa indigotina/ masa de colorante en 30, 60, 90 y 120 minutos con un caudal de aire de 8,33 L/min**



Fuente: elaboración propia



## 5. INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

El proceso de extracción y determinación del porcentaje de indigotina del extracto colorante obtenido de las hojas de añil (*Indigofera guatemalensis*, Moc.) se evaluó en función de diferentes tiempos de oxidación.

### 5.1. Determinación del rendimiento en masa del extracto colorante

La determinación del rendimiento en masa del extracto colorante, se realizó comparando cada una de las repeticiones de 30, 60, 90 y 120 minutos de tiempo de oxidación a temperatura ambiente. Se realizó la prueba de Fischer, la que rechazó la hipótesis nula, indicando que existe diferencia significativa en el rendimiento en masa del extracto colorante. El análisis de varianza por el método de Tukey comparó todos los tratamientos y demostró que sí existe diferencia significativa en el rendimiento en uno de los tiempos de oxidación al 95% de nivel de confianza.

Con base en el análisis anteriormente mencionado, se determinó que el tiempo de oxidación de 120 minutos durante la extracción es el que tiene diferencia significativa respecto a los demás tiempos de oxidación en función del rendimiento en masa del extracto colorante, en promedio se obtiene 0,36%. Entre los tiempos de oxidación de 30, 60 y 90 no existe diferencia significativa, los rendimientos en promedio obtenidos son de 0,15%, 0,19% y 0,20% respectivamente, mostrando un aumento gradual de la cantidad de extracto colorante al aumentar el tiempo de oxidación.

Determinación de la consistencia de los datos en función de la relación establecida, el coeficiente de variación es de 10,10% lo que indica que existe congruencia y el error no es significativo en los resultados obtenidos.

## **5.2. Determinación del porcentaje en masa de indigotina presente en el extracto colorante**

Realización análisis del porcentaje de indigotina, porque es el principio activo en el extracto colorante y del mismo depende la calidad del colorante, el análisis se llevó a cabo por espectrofotometría UV- visible. Para realizar el análisis se determinó la solubilidad del colorante en agua, metanol, etanol, acetona y cloroformo; siendo éste último el que presentó condiciones para la realización de las lecturas con el espectrofotómetro, al comparar las constantes dieléctricas el cloroformo es el que tiene menor momento dipolar por lo que promueve en función de las propiedades del colorante la disolución del mismo.

Preparación de una curva de calibración a partir de un estándar de indigotina al 98% de pureza, las soluciones estándar así como las muestras se trabajaron en ausencia de luz, porque se determinó que el colorante tiende a degradarse con el contacto de la luz. La curva correlacionó la absorbancia y la concentración en base a la Ley de Beer, en referencia a dicha curva se realizó las mediciones respectivas con cada una de las muestras, determinando la absorbancia en cada una de las muestras. A través de estequiometría se relacionó con la masa inicial con la que se preparó cada una de las muestras y se determinó el porcentaje en masa de indigotina respectivamente.

Al realizar la prueba de Fischer, se rechazó la hipótesis nula porque la probabilidad (P) tiende a 0 y se acepta la hipótesis alternativa que indica que existe diferencia significativa en el porcentaje de indigotina en función del tiempo de oxidación, el análisis de varianza por la prueba de Tukey indica que existen diferencias significativas alternas a un nivel de confianza del 95%.

En función de dicho análisis existe diferencia significativa entre el tiempo de oxidación de 30 minutos respecto a los demás tratamientos y entre 60 y 90 minutos también. Para 90 y 120 minutos no existe diferencia significativa al igual que para 60 y 120 minutos. El tiempo de oxidación en el que se obtiene mayor cantidad de indigotina es en 120 minutos, por lo que se considera el tiempo recomendable de oxidación.

Determinación del coeficiente de varianza para el análisis del porcentaje de indigotina es de 2,64% lo que indica consistencia en los datos presentados para el análisis estadístico.





## CONCLUSIONES

1. El rendimiento en masa del extracto colorante obtenido de las hojas de añil, aumenta en función del tiempo de oxidación, se obtuvo un rendimiento promedio de 0,36% en 120 minutos de oxidación.
2. No existe diferencia significativa en el rendimiento en masa del extracto colorante en 30, 60 y 90 minutos de oxidación.
3. El porcentaje de indigotina promedio es del 32,50% y 30,66% para 60 y 120 minutos de tiempo de oxidación respectivamente y no existe diferencia significativa al aplicar la prueba de Tukey.
4. El tiempo de oxidación en el que se obtiene mayor cantidad de indigotina en función de la masa de extracto colorante es en 120 minutos.



## RECOMENDACIONES

1. Realizar otros estudios en donde se evalúe el rendimiento del extracto colorante a partir de material vegetativo seco.
2. Evaluar más tiempos de oxidación, para determinar el punto en el que la cantidad de colorante empieza a disminuir.
3. Evaluar la adición de coadyuvantes durante el proceso de lixiviación, para aumentar la cantidad de principio activo en la solución madre.
4. Ejecutar pruebas químicas y de tinción del colorante.
5. Si el colorante se encuentra en disolución, cubrir los contenedores, para evitar el contacto con la luz y la degradación de la misma.
6. Controlar el pH durante la fermentación, para identificar si la alcalinidad disminuye.



## BIBLIOGRAFÍA

1. BATRES, Carlos. *Las evidencias de la industria añilera en la cuenca Copán-Ch'orti*. [en línea]. <[http://www.famsi.org/reports/03101es/53batres\\_batres/53batres\\_batres.p](http://www.famsi.org/reports/03101es/53batres_batres/53batres_batres.p)>. [Consulta: 5 de junio de 2010].
2. BROWN, Theodore; LEMAY Eugene; BURSTEN, Bruce. *Química la ciencia central*. 3a ed. México: Pearson Education, 2004. 350 p.
3. CALVO, Miguel. *Colorantes* [en línea].<<http://milksoci.unizar.es/bioquimica/temas/aditivos/colorartif.html>> [Consulta: 5 de junio de 2010].
4. COLOCHO, Jose Luis; HURTARTE Margarita; GARCÍA, Francisco. *Alternativas técnico-prácticas para reducir el tiempo de extracción de pigmentos sólidos del añil (Indigofera sp.)*. El Salvador: Cooperación de fortalecimiento de la economía y el empleo GTZ/ Ministerio de Economía, 2003. 41 p.
5. DE QUINTANILLA, Ruth Emilia. *Guía técnica de procesamiento del añil en El Salvador*. San Salvador IICA/ Cooperación Técnica Alemana Proyecto Fomento de la Competitividad de las Empresas Rurales del Maraños y Añil en El Salvador. 2005. vol 2. 64 p.

6. GONZÁLEZ, Gabriela Alejandra. *Estudio de un proceso biotecnológico para la decoloración de efluentes textiles de azul índigo*. Trabajo de graduación de Ing. Química. Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ingeniería, 2007. 150 p.
7. GUIROLA, Cristina. *Tintes naturales, su uso en Mesoamérica desde la época prehispánica*. México: Asociación FLAAR Mesoamérica, 2010. 10 p.
8. HERNÁNDEZ, Cristo; PÉREZ, Edwin. *Evaluación de las variables de secado para la conservación de las hojas de la planta del añil (Indigofera, sp.)*. Trabajo de graduación de Ing. Química. Universidad de El Salvador, Facultad de Ingeniería. 2003. 167 p.
9. LANDAVERDE, Rafael; SANTOS, Loida; SIBRIÁN, Delmi. *Caracterización y evaluación de la sostenibilidad del cultivo del añil (Indigofera sp.) de la asociación de añileros de El Salvador*. Trabajo de graduación de Ing. Agrónomo. San Salvador. Universidad de El Salvador, 2006. 117 p.
10. McCABE, Warren L.; SMITH Julian; HARRIOT Peter. *Operaciones unitarias en Ingeniería Química*. 4a ed. México: McGraw-Hill, 2000. 1114 p.
11. PACHECO, José. *El añil: historia de un cultivo olvidado en Venezuela*. Tesis Doctor en Economía. Barcelona, España: Universidad Autónoma de Barcelona, 2000. 399 p.

12. PERRY, Robert H; GREEN Don W. *Manual del ingeniero químico*. 7a ed. México: McGraw-Hill, 1999. 1000 p.
13. RODRÍGUEZ, Arturo; RAMÍREZ, Fernando; ZULETA, José. *Modernización del procesamiento del añil en El Salvador*. El Salvador: IICA, 2003. 25 p.
14. ROJAS, Andrés; MALDONADO, Felipe; PÉREZ, Omar. *Cinética y extracción de colorantes*. Puebla. México: Universidad Américas-Puebla, Puebla, Departamento de Ingeniería Industrial y Textil, 2008. 22 p.
15. SANDOVAL SALAS, Fabiola. *Caracterisation de la production et optimisation du processus d'extraction des colorants de la plante de añil (Indigofera suffruticosa MILL)*. Tesis (Doctor en Ciencias de los Recursos Agrícolas). Toulouse, Francia: Instituto Nacional Politécnica de Toulouse, 2005. 169 p.
16. SKOOG, Douglas. *Análisis instrumental*. México: McGraw-Hill, 1999. 545 p.
17. STANDLEY, Paul; STEYERMARK, Julian. *Flora of Guatemala*. Estados Unidos : Chicago Natural History Museum, 1946. vol 24, p. 267-268.
18. TREYBAL, Robert E. *Operaciones de transferencia de masa*. 2a ed. México: McGraw-Hill, 2000. 862 p.

19. YOSHIKO, Shitara. *Clasificación de los colorantes naturales* [en línea].  
<[http://catarina.udlap.mx/u\\_dl\\_a/tales/documentos/meiq/perez\\_l\\_oa/capitulo4.pdf](http://catarina.udlap.mx/u_dl_a/tales/documentos/meiq/perez_l_oa/capitulo4.pdf) [Consulta: 9 de septiembre de 2010].



## **APÉNDICES**



Apéndice 1. **Cronograma**

ACTIVIDAD	MES 1				MES 2				MES 3				MES 4			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Corrección y aprobación del protocolo	■	■	■													
Inicio de la investigación		■	■													
Recolección de datos teóricos			■	■												
Obtención de la materia prima				■												
Organización de material y equipo (LIEXVE)				■	■	■	■									
Análisis químico						■	■	■								
Interpretación y conclusiones finales									■	■	■	■				
Período de correcciones												■	■	■		
Presentación y aprobación final															■	■

Fuente: elaboración propia.

Apéndice 2. **Costos para la obtención de la materia prima**

<b>Cantidad</b>	<b>Descripción</b>	<b>Costo (Quetzalez)</b>
140 Km	Combustible a Q.30.00/ galón (35 Km/ galón)	Q.150,00
1 tiempo	Alimentación, Q.30.00	Q.30,00
10 lb de hojas	Añil	Q.100,00
<b>Sub-total</b>		<b>Q.280,00</b>

Fuente: elaboración propia.

Apéndice 3. **Costos de cristalería**

<b>Cantidad</b>	<b>Cristalería</b>	<b>Descripción</b>	<b>Costo (Quetzalez)</b>
2	Probetas	Vidrio 50 mL	1 000,00
2	Probetas	Vidrio 100 mL	508,00
1	Pipetas volumétricas	Vidrio 25 mL	44,50
2	Balones aforados	Vidrio 100 mL	300,00
2	Balones aforados	Vidrio 250 mL	500,00
4	Erlenmeyer	Vidrio 125 mL	300,00
3	Beackers	Vidrio 25mL	90,00
3	Beackers	Vidrio 100mL	90,00
4	Varillas de agitación	Vidrio	50,00
2	Embudos	Vidrio	100,00
1	Espátula	Mango de madera, y metal	62,00
1	Pizeta	Polietileno	23,52
1	Parafilm	Rollo	245,00
2	Morteros	Porcelana	350,00
1	Termómetro	Mercurio	150,00
<b>Sub-total</b>			<b>Q.3 813,02</b>

Fuente: elaboración propia.

Apéndice 4. **Costos de equipo**

<b>Cantidad</b>	<b>Equipo</b>	<b>Descripción</b>	<b>Costo (Quetzalez)</b>
1	Balanza analítica	Marca: Adventur serie: G1231202040133	1 839,50
1	Baño ultrasónico	Marca Fischer	1 945,58
1	Campana de extracción	Marca Serproma de motor con capacidad de ¼ Hp	3 675,70
1	Potenciómetro	Marca Orión Researh	750,00
1	Espectrofotómetro	Agilent (valor de análisis)	2 000,00
<b>Sub-total</b>			<b>Q.10 210,78</b>

Fuente: elaboración propia.

Apéndice 5. **Costes de reactivos**

<b>Cantidad</b>	<b>Reactivo</b>	<b>Cantidad</b>	<b>Costo (Quetzalez)</b>
1	Hidróxido de calcio	30 g	50,00
2	Cloroformo	4 L	
<b>Sub-total</b>			<b>Q.50,00</b>

Fuente: elaboración propia.

Apéndice 6. **Costo de energía eléctrica**

<b>Equipo</b>	<b>Potencia (Watts)</b>	<b>No. de horas</b>	<b>KW-H totales</b>	<b>Costo kW- H</b>	<b>Costo Q.</b>
Balanza analítica	12	12	25	1.67	35,07
Plancha de calentamiento	1113	24	87.64	1.67	146,36
Potenciómetro	15	10	0.07	1.67	0,12
Campana de extracción	900	2	15	1.67	25,05
Espectrofotómetro	900	20	87.64	1.67	146,36
				<b>Sub-total</b>	<b>Q.352,96</b>

Fuente: elaboración propia.

Apéndice 7. **Costos varios**

<b>Cantidad</b>	<b>Artículo</b>	<b>Descripción</b>	<b>Costo (Quetzales)</b>
10	Recipientes	Botes plásticos con tapadera	300,00
4	Tapones	De hule para erlenmeyer	50,00
1	Perlas de agitación	Frasco	700,00
2	Yardas	Manta de algodón	20,00
1	Caja	Bolsas ziploc®	10,00
1	Maskintape	-	6,75
1	Marcador	-	12,30
1	Tijeras	-	15,70
1	Mascarillas	Caja	98,75
1	Guantes látex	Caja	70,00
<b>Sub-total</b>			<b>Q.1 283,50</b>

Fuente: elaboración propia.



Apéndice 8. **Costos totales**

<b>Descripción</b>	<b>Sub-Totales (Quetzales)</b>
Materia prima	Q280,00
Cristalería	Q3 813,02
Equipo	Q10 210,78
Reactivos	Q50,00
Energía eléctrica	Q352,96
Varios	Q1 283,50
<b>TOTAL</b>	<b>Q.15 990,26</b>

Fuente: elaboración propia.

Apéndice 9. **Balanza semianalítica**



Fuente: Laboratorio de Investigación de Extractos Vegetales (LIEXVE).

Apéndice 10. **Secador de bandejas de flujo transversal**



Fuente: Laboratorio de Investigación de Extractos Vegetales (LIEXVE).

Apéndice 11. **Potenciómetro**



Fuente: Laboratorio de Investigación de Extractos Vegetales (LIEXVE).

Apéndice 12. **Espectrofotómetro y control por computadora**



Fuente: Unidad de análisis instrumental (UAI)

Apéndice 13. **Plantación de ñil**



Fuente: Jocotenango, Chiquimula, Guatemala.

Apéndice 14. **Hojas de añil**



Fuente: Jocotenango, Chiquimula, Guatemala.

Apéndice 15. **Recolección de las hojas de añil**



Fuente: Jocotenango, Chiquimula, Guatemala.



## Apéndice 16. Fermentación



Fuente: Laboratorio de Investigación de Extractos Vegetales (LIEXVE).

## Apéndice 17. Separación de material vegetative



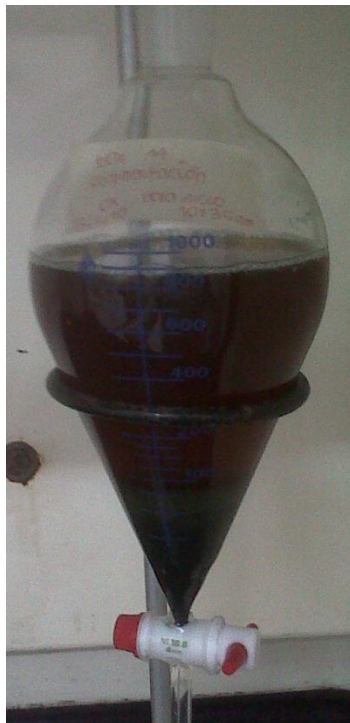
Fuente: Laboratorio de Investigación de Extractos Vegetales (LIEXVE).

Apéndice 18. **Oxidación**



Fuente: Laboratorio de Investigación de Extractos Vegetales (LIECVE).

Apéndice 19. **Sedimentación**



Fuente: Laboratorio de Investigación de Extractos Vegetales (LIECVE).

Apéndice 20. **Secado de extracto colorante**



Fuente: Laboratorio de Investigación de Extractos Vegetales (LIEXVE).

Apéndice 21. **Recuperación del extracto colorante**



Fuente: Laboratorio de Investigación de Extractos Vegetales (LIEXVE).

Apéndice 22. **Determinación de solvente a utilizar**



Fuente: Unidad de análisis instrumental (UAI).

Apéndice 23. **Preparación de estándares para curva de calibración**



Fuente: Unidad de análisis instrumental (UAI).

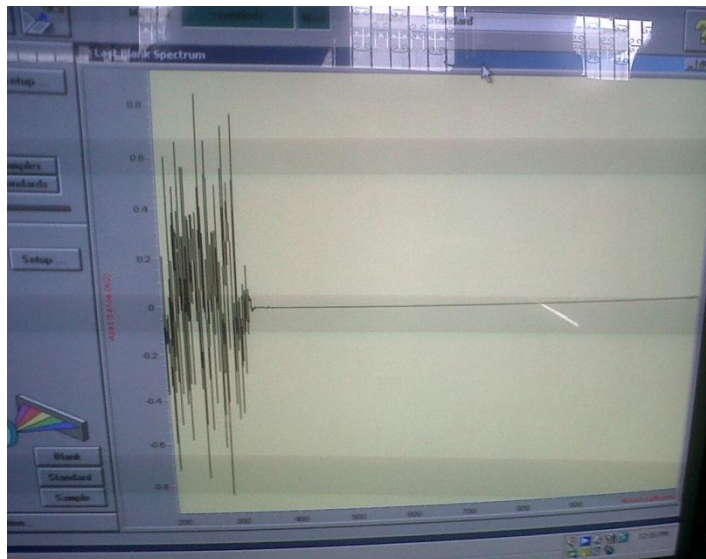


## Apéndice 24. Solución madre y estándar



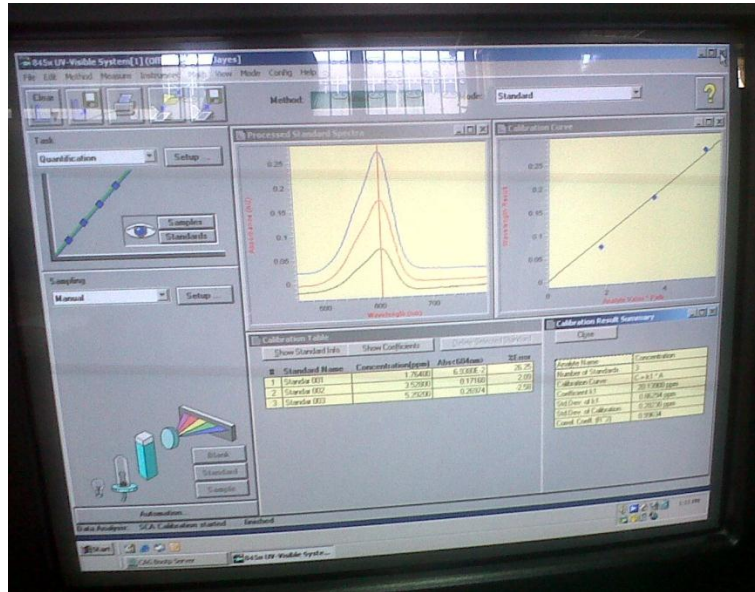
Fuente: Unidad de análisis instrumental (UAI).

## Apéndice 25. Blanco de solvente



Fuente: Unidad de análisis instrumental (UAI).

## Apéndice 26. Curva de calibración



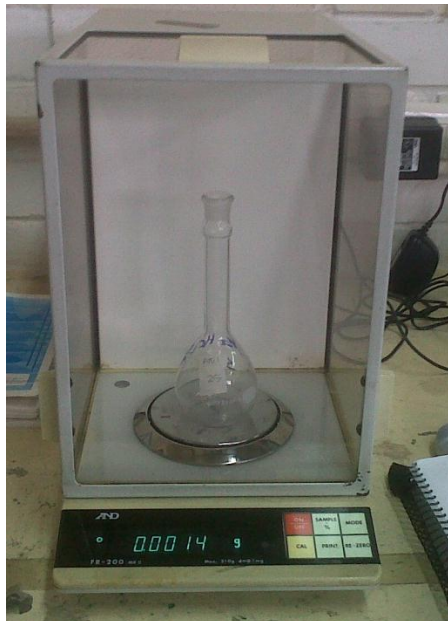
Fuente: Unidad de análisis instrumental (UAI).

## Apéndice 27. Identificación de balones de muestras



Fuente: Unidad de análisis instrumental (UAI).

Apéndice 28. **Pesaje de muestras**



Fuente: Unidad de análisis instrumental (UAI).

Apéndice 29. **Baño ultrasónico**



Fuente: Unidad de análisis instrumental (UAI).

Apéndice 30. **Muestras para medición**



Fuente: Unidad de análisis instrumental (UAI).

Apéndice 31. **Medición espectrofotométrica**



Fuente: Unidad de análisis instrumental (UAI).

## Apéndice 32. **Ficha de seguridad del cloroformo**

### **1. Identificación de peligros**

Los principales peligros y riesgos al trabajar con el cloroformo es debido a que es un carcinógeno humano potencial

#### **1.1. Peligros fisicoquímicos**

A pesar de ser un producto no inflamable, los contenedores donde se encuentra almacenado el cloroformo explotan con calor. Además, al calentarse, libera fosgeno, cloruro de hidrógeno, cloro y óxidos de carbono y cloro, los cuales son corrosivos y muy tóxicos.

#### **1.2. Peligros ambientales**

El cloroformo puede causar daños en el agua y en el ambiente.

#### **1.3. Peligros para la salud humana**

Está clasificado como moderadamente tóxico; sin embargo, está considerado como posible carcinogénico humano. Una probable dosis letal para humanos es de 0,5 a 5 g /Kg puede causar una muerte rápida, atribuida a paro cardiaco y una muerte lenta por daño al hígado y riñón. Debe evitarse que personas alcohólicas, con problemas graves nutricionales, de hígado, riñón y sistema nervioso central, utilicen este producto.

## **2. Manipulación y almacenamiento**

Al trabajar con cloroformo, además de conocer el adecuado equipo de protección personal es necesario conocer la manipulación y almacenamiento adecuado.

### **2.1. Manipulación**

Manipular y abrir el recipiente con prudencia, evitando que se derrame dentro de una campana de extracción. Procurar buena ventilación. Los envases que hayan sido parcialmente utilizados deben volverse a cerrar herméticamente después de su uso y devolverse al almacén. Los envases vacíos pueden contener residuos, por lo que deben manipularse como si estuvieran llenos.

### **2.2. Almacenamiento**

Los recipientes que contienen este producto deben ser almacenados en lugares alejados de la luz directa del sol, ya que se descompone lentamente a productos como el fosgeno.

## **3. Controles de exposición y protección personal**

### **3.1. Control de fugas y derrames**

Utilizar bata, lentes de seguridad y guantes o el equipo de seguridad que sea necesario, dependiendo de la magnitud del siniestro. Mantener el material alejado de fuentes de agua y drenajes



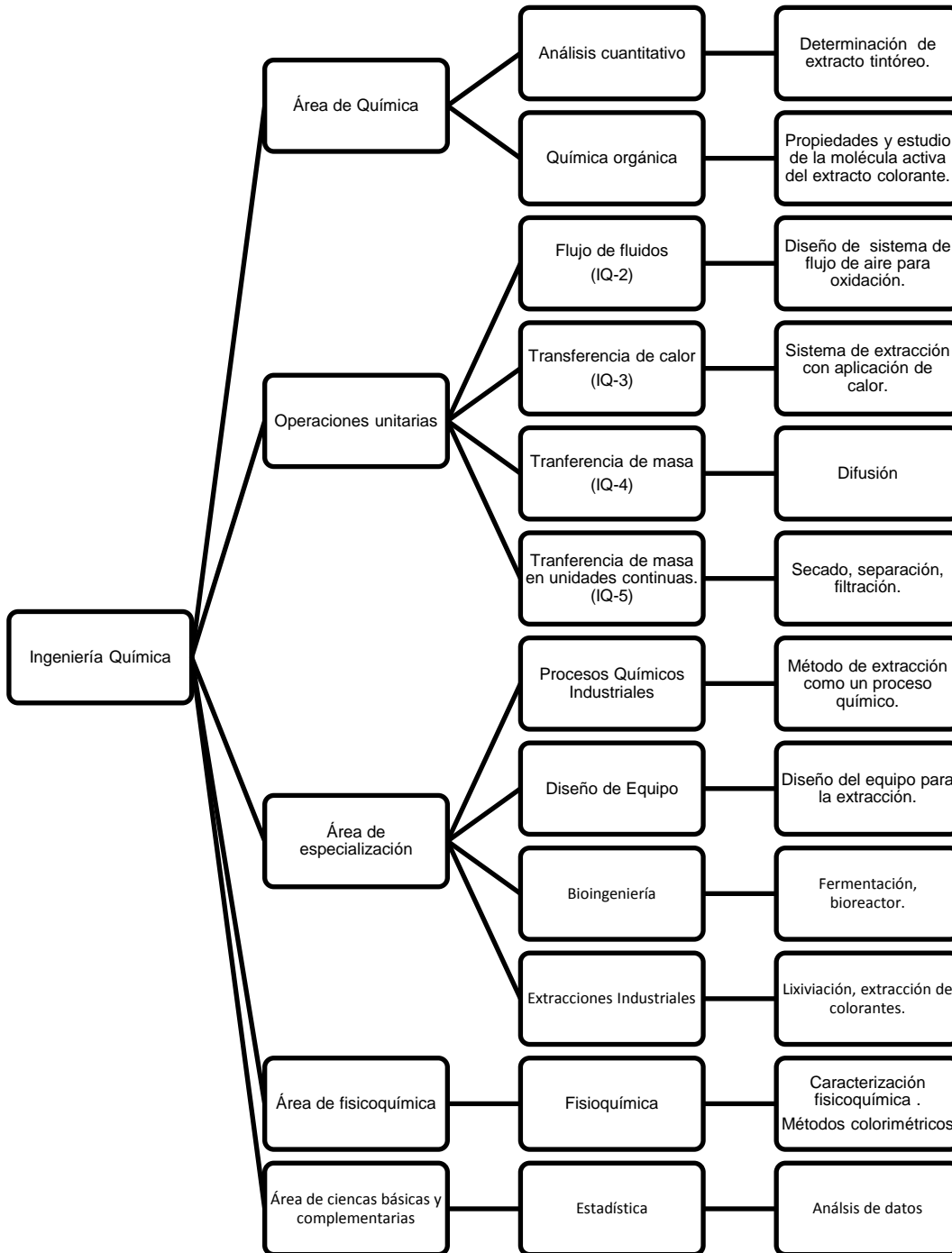
El líquido derramado puede absorberse con cemento y para inmovilizar el derrame, se utilizan agentes gelantes universales. Para almacenar el agua de desecho, utilizar recipientes especializados o excavar un foso y absorber con sacos de arena o succionadores. Para el agua contaminada puede utilizarse carbón activado, en regiones de 10 ppm o más, aplicarlo, en una proporción 10:1 carbón activado/derrame.

### **3.2. Controles de fuego**

Utilizar equipo de respiración autónoma y ropa de protección adecuada, dependiendo de la magnitud del incendio. Recordar, que a pesar de que el compuesto es no inflamable, los productos de descomposición por calentamiento (entre ellos fosgeno) son muy peligrosos.

Mover los recipientes fuera del área de fuego cuando sea posible. Atacar el fuego desde una distancia segura. El agua utilizada para controlar el fuego no debe tirarse al drenaje por lo que, si es necesario, debe construirse un dique para contenerla y tratarla posteriormente. Para incendios pequeños pueden utilizarse extinguidores de polvo químico seco, dióxido de carbono, agua, neblina o espuma.

Apéndice 33. **Tabla de requisitos académicos**



Fuente: elaboración propia.





**Apéndice 35. Resultados de análisis estadístico del rendimiento en masa del extracto colorante**

Statistix 9.0  
08:23:55 a.m.

29/05/2012,

**Randomized Complete Block AOV Table for RENDIMIEN**

Source	DF	SS	MS	F	P
Corrida	2	0.00337	0.00168		
T Oxidación	3	0.07758	0.02586	51.21	0.0001
Error	6	0.00303	0.00050		
Total	11				

Grand Mean 0.2224 CV 10.10

**Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of RENDIMIEN for Tratamien**

T Oxidación (minutos)	Mean	Homogeneous Groups
120	0.3580	A
90	0.1982	B
60	0.1851	B
30	0.1483	B

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 0.0183  
 Critical Q Value 4.897 Critical Value for Comparison 0.0635  
 Error term used: Corrida\*Tratamien, 6 DF  
 There are 2 groups (A and B) in which the means are not significantly different from one another.

Statistix 9.0  
08:31:54 a.m.

29/05/2012,

**Polynomial Contrasts of RENDIMIEN by Tratamien**

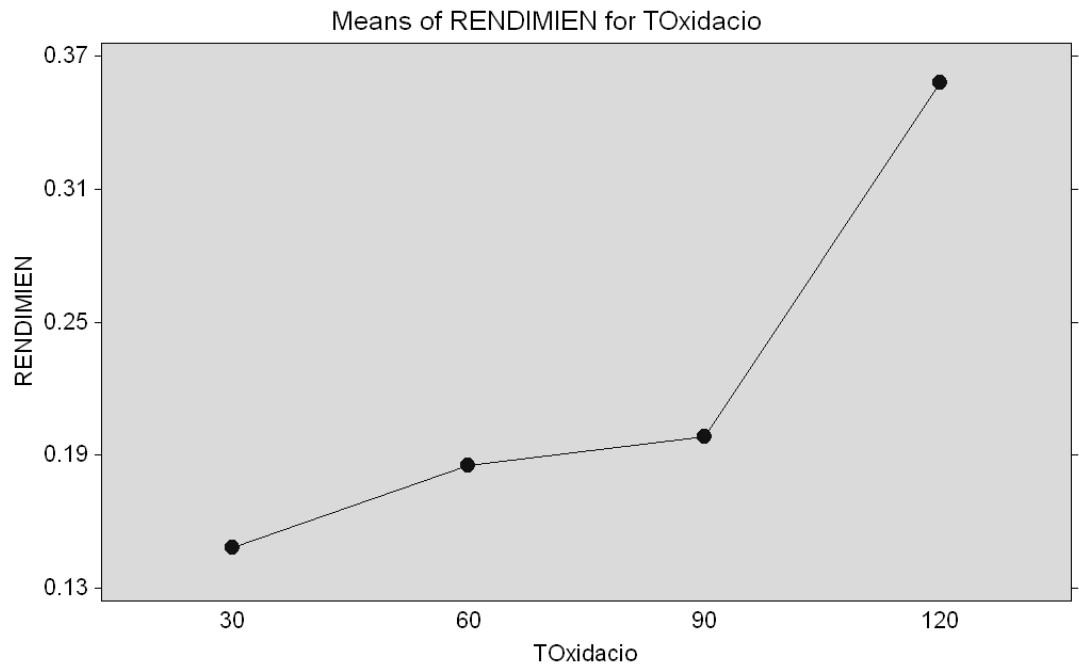
Degree = 1, Linear Trend

Contrast	0.1436	SS (Contrast)	0.0619
Scheffe's F	40.84	P (Scheffe's F)	0.0002
T-Statistic	11.07	P (T-Statistic)	0.0000
SE (Contrast)	0.0130		

Degree = 2, Quadratic Trend

Contrast	0.0615	SS (Contrast)	0.0113
Scheffe's F	7.49	P (Scheffe's F)	0.0188
T-Statistic	4.74	P (T-Statistic)	0.0032
SE (Contrast)	0.0130		

Error term used: Corrida\*Tratamien, 6 DF



Fuente: elaboración propia.

**Apéndice 36. Resultados de análisis estadístico del porcentaje de indigotina**

Statistix 9.0  
08:37:32 a.m.

29/05/2012,

**Randomized Complete Block AOV Table for Indigotin**

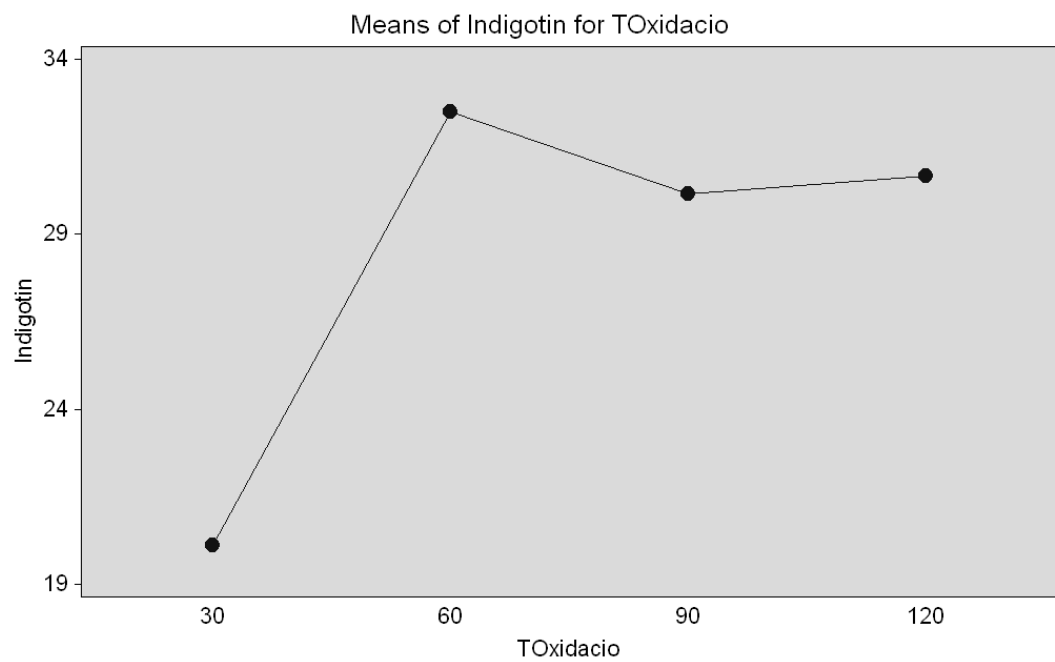
Source	DF	SS	MS	F	P
Corrida	2	3.194	1.5972		
TOxidacio	3	281.553	93.8510	167.55	0.0000
Error	6	3.361	0.5601		
Total	11				

Grand Mean 28.357      CV 2.64

**Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of Indigotin for TOxidacio**

TOxidacio	Mean	Homogeneous Groups
60	32.499	A
120	30.664	AB
90	30.161	B
30	20.104	C

Alpha                                      0.05                      Standard Error for Comparison      0.6111  
 Critical Q Value      4.897                      Critical Value for Comparison      2.1162  
 Error term used: Corrida\*TOxidacio, 6 DF  
 There are 3 groups (A, B, etc.) in which the means  
 are not significantly different from one another.



Fuente: elaboración propia.