



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

**EXTRACCIÓN Y EVALUACIÓN DEL COLORANTE NATURAL DE ACHIOTE
(*Bixa orellana* L.) COMO SUSTITUTO DEL COLORANTE E-102 AMARILLO
No. 5 (TARTRACINA) EN LA ELABORACIÓN DE UN *YOGURT***

Zoila Concepción Reyes Buenafe

Asesorado por la Inga. Telma Maricela Cano Morales

Coasesorado por el Ing. Mario José Mérida Meré

Guatemala, julio de 2015

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA



FACULTAD DE INGENIERÍA

**EXTRACCIÓN Y EVALUACIÓN DEL COLORANTE NATURAL DE ACHIOTE
(*Bixa orellana L.*) COMO SUSTITUTO DEL COLORANTE E-102 AMARILLO
No. 5 (TARTRACINA) EN LA ELABORACIÓN DE UN YOGURT**

TRABAJO DE GRADUACIÓN

PRESENTADO A LA JUNTA DIRECTIVA DE LA
FACULTAD DE INGENIERÍA
POR

ZOILA CONCEPCIÓN REYES BUENAFE

ASESORADO POR LA INGA. TELMA MARICELA CANO MORALES
COASESORADO POR EL ING. MARIO JOSÉ MÉRIDA MERÉ

AL CONFERÍRSELE EL TÍTULO DE

INGENIERA QUÍMICA

GUATEMALA, JULIO DE 2015

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE INGENIERÍA



NÓMINA DE JUNTA DIRECTIVA

DECANO	Ing. Pedro Antonio Aguilar Polanco
VOCAL I	Ing. Angel Roberto Sic García
VOCAL II	Ing. Pablo Christian de León Rodríguez
VOCAL III	Inga. Elvia Miriam Ruballos Samayoa
VOCAL IV	Br. Narda Lucía Pacay Barrientos
VOCAL V	Br. Walter Rafael Véliz Muñoz
SECRETARIA	Inga. Lesbia Magalí Herrera López

TRIBUNAL QUE PRACTICÓ EL EXAMEN GENERAL PRIVADO


DECANO	Ing. Murphy Olympo Paiz Recinos
EXAMINADORA	Inga. Casta Petrona Zeceña Zeceña
EXAMINADORA	Inga. Hilda Piedad Palma Ramos
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 EVALUACIÓN DEL COLORANTE NATURAL DE ACHIOTE
(*Bixa orellana* L.) COMO SUSTITUTO DEL COLORANTE E-102 AMARILLO
No. 5 (TARTRACINA) EN LA ELABORACIÓN DE UN YOGURT**

Tema que me fuera asignado por la Dirección de la Escuela de Ingeniería Química, con fecha 18 de enero de 2012.



Zoila Concepción Reyes Buenafe



Guatemala, 07 de Agosto de 2014

Ingeniero
Victor Manuel Monzón Valdez
Director Escuela de Ingeniería Química
Facultad de Ingeniería
Universidad de San Carlos de Guatemala
Presente.

Ingeniero Monzón:

Por medio de la presente HACEMOS CONSTAR que hemos revisado y dado nuestra aprobación al Informe Final del trabajo de graduación titulado "EXTRACCIÓN Y EVALUACIÓN DEL COLORANTE NATURAL DE ACHIOTE (*Bixa orellana* L.) COMO SUSTITUTO DEL COLORANTE E-102 AMARILLO No. 5 (TARTRACINA) EN LA ELABORACIÓN DE UN YOGURT", de la estudiante de Ingeniería Química Zoila Concepción Reyes Buenafe quien se identifica con el carné número 2003-13382.

Sin otro particular me suscribo de usted.

Atentamente,

Ing. Qca. Mario José Mérida Méndez
Coordinador
Laboratorio de Investigación
de Extractos Vegetales - LIEVE-
Asesor

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



Guatemala, 13 de noviembre de 2014
Ref. EIQ.TG-IF.057.2014

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

Estimado Ingeniero Monzón:

Como consta en el registro de evaluación del informe final EIQ-PRO-REG-007 correlativo **07-2012** 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: **Zoila Concepción Reyes Buenafe**.
Identificada con número de carné: **2003-13382**.
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 EVALUACIÓN DEL COLORANTE NATURAL DE ACHIOTE (*Bixa orellana* L.) COMO SUSTITUTO DEL COLORANTE E-102 AMARILLO No. 5 (TARTRACINA) EN LA ELABORACIÓN DE UN YOGURT

El Trabajo de Graduación ha sido asesorado por los Ingenieros Químicos: **Telma Maricela Cano Morales y Mario José Mérida Meré**.

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.

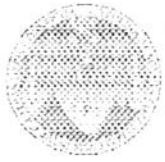
"ID Y ENSEÑAD A TODOS"


Inga. Hilda Piedad Palma de Martini
COORDINADORA DE TERNA
Tribunal de Revisión
Trabajo de Graduación



C.c.: archivo





Ref.EIQ.TG.083.2015

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, **ZOILA CONCEPCIÓN REYES BUENAFE** titulado: "EXTRACCIÓN Y EVALUACIÓN DEL COLORANTE NATURAL DE ACHIOTE (*BIXA ORELLANA L.*) COMO SUSTITUTO DEL COLORANTE E-102 AMARILLO NO. 5 (TARTRACINA) EN LA ELABORACIÓN DE UN YOGURT". 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"

Manuel Monzón



Ing. Víctor Manuel Monzón Valdez
DIRECTOR
Escuela de Ingeniería Química

Guatemala, junio 2015

Cc: Archivo
VMMV/ale



ACAAI





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 EVALUACIÓN DEL COLORANTE NATURAL DE ACHIOTE (*Bixa orellana L.*) COMO SUSTITUTO DEL COLORANTE E-102 AMARILLO No.5 (TARTRACINA) EN LA ELABORACIÓN DE UN YOGURT**, presentado por la estudiante universitaria: **Zoila Concepción Reyes Buenafe**, y después de haber culminado las revisiones previas bajo la responsabilidad de las instancias correspondientes, se autoriza la impresión del mismo.

IMPRÍMASE


Ing. Pedro Antonio Aguilar P.
DECANO



Guatemala, julio de 2015

/cc

ACTO QUE DEDICO A:

- Dios** Me ha permitido cumplir esta meta, siempre está a mi lado dándome sabiduría y fortaleza. Comprendo Señor, que todo sucede en tu tiempo.
- Virgen María** Mi madre del cielo y ejemplo a imitar.
- Mis padres** Víctor Antonio Reyes Cabrera y Zoila Buenafe Cárcamo de Reyes, siempre me han dado apoyo incondicional. Me siento orgullosa de que sean mis padres y le pido a Dios que los bendiga por ser tan buenos conmigo; son ejemplo de honestidad, esfuerzo y trabajo.
- Mi hermana** María de los Ángeles Reyes Buenafe, mi compañera en el camino de la vida y mi mejor amiga.
- Mi familia** Siempre me han dado buen ejemplo y me han brindado apoyo, en lo que he necesitado.

AGRADECIMIENTOS A:

- Dios** Por las bendiciones recibidas a lo largo de mi vida, por permitirme lograr este sueño.
- Mi padre** Víctor Antonio Reyes Cabrera, por el apoyo que me ha brindado durante toda mi vida, por tener sueños grandes para mí, animarme y confiar en mi capacidad.
- Mi madre** Zoila Buenafe Cárcamo de Reyes, por su apoyo, su amor y por los sacrificios que ha realizado por mí.
- Mi hermana** María de los Angeles Reyes Buenafe, por ser ejemplo de fortaleza, compartiendo alegrías y tristezas.
- Mi familia** Por el apoyo brindado.
- Nery Alejandro** Por su apoyo y compañía en estos últimos años.

Mis amigos

Sonia Méndez, Hilda Perén, Eddy Escobar, Rodolfo Rodríguez, Débora Santizo, Zulema Calderón, Isabel Amoretti, Dina Soto, Kimberly Icaza, Lesly Fuentes, Bárbara Martínez y Jennifer Bautista. Gracias por compartir conmigo momentos de alegría.

Universidad de San Carlos de Guatemala

Porque al pasar por sus aulas aprendí lecciones para la vida.

Mi asesora

Inga. Telma Maricela Cano Morales, por el apoyo brindado en la elaboración del presente trabajo de graduación.

Mi asesor

Ing. Mario José Mérida Meré, por la paciencia, apoyo brindado y enseñanzas.

Laboratorio de Investigación de Extractos Vegetales (LIXVE)

Por permitirme realizar la parte experimental del presente trabajo de graduación y apoyar la investigación científica en Guatemala.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES.....	V
LISTA DE SÍMBOLOS	IX
GLOSARIO	XI
OBJETIVOS.....	XV
HIPÓTESIS	XVI
INTRODUCCIÓN	XVII
1. ANTECEDENTES	1
2. MARCO TEÓRICO.....	5
2.1. Colorantes.....	5
2.1.1. Colorantes artificiales	5
2.1.1.1. Tartracina.....	6
2.1.2. Colorantes naturales.....	7
2.1.2.1. Colorante natural de achiote.....	7
2.1.3. Clasificación de los colorantes naturales.....	8
2.1.4. Colorantes carotenoides.....	9
2.2. El achiote.....	10
2.2.1. Clasificación taxonómica	11
2.2.2. Especies existentes en Guatemala.....	11
2.2.3. Descripción botánica	12
2.3. Métodos de extracción del colorante natural de achiote.....	17
2.3.1. Método tradicional	18
2.3.2. Extracción con álcali acuoso.....	18
2.3.3. Extracción con aceites vegetales.....	19

2.3.4.	Extracción con etanol	19
2.3.5.	Extracción con propilenglicol	19
3.	DISEÑO METODOLÓGICO.....	21
3.1.	Localización	21
3.2.	Variables	21
3.2.1.	Variables de la extracción a escala laboratorio	22
3.2.1.1.	Solvente	22
3.2.1.2.	Concentración del solvente	22
3.2.1.3.	Relación semilla/solvente	23
3.2.1.4.	Tiempo de agitación	23
3.2.1.5.	Velocidad de agitación	23
3.2.1.6.	pH.....	24
3.2.1.7.	Temperatura de secado	24
3.2.2.	Variables de extracción a escala planta piloto.....	25
3.2.3.	Variables en el proceso de aplicación de las pruebas de evaluación sensorial	26
3.2.3.1.	Tipo de colorante.....	26
3.2.3.2.	Número de panelistas	26
3.3.	Delimitación del campo de estudio.....	28
3.4.	Obtención de las muestras	29
3.5.	Recursos humanos	29
3.6.	Recursos materiales	30
3.6.1.	Recursos para la extracción a escala laboratorio	30
3.6.2.	Recursos para la extracción a escala planta piloto.....	34
3.7.	Técnicas cuantitativas y cualitativas de investigación.....	36
3.8.	Recolección y ordenamiento de la información.....	47

3.9.	Tabulación, ordenamiento y procesamiento de la información.....	52
3.10.	Análisis estadístico.....	57
4.	RESULTADOS.....	61
5.	INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS.....	67
	CONCLUSIONES.....	73
	RECOMENDACIONES.....	75
	BIBLIOGRAFÍA.....	77
	APÉNDICES.....	81

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

FIGURAS

1.	Molécula de tartracina	7
2.	Arbusto de achiote	12
3.	Ramas de achiote	13
4.	Hojas de achiote	13
5.	Frutos de achiote	14
6.	Frutos de achiote	15
7.	Semillas de achiote	16
8.	Achiote	18
9.	Delimitación del campo de estudio.....	28
10.	Plancha de calentamiento	31
11.	Balanza de humedad	32
12.	Balanza analítica digital.....	32
13.	Reactores.....	33
14.	Horno secador al vacío VWR.....	33
15.	Secador eléctrico	34
16.	Marmita con agitación	35
17.	Marmita con agitación (parte interna).....	35
18.	Balanza digital.....	36
19.	Diagrama de flujo de la extracción del colorante natural de achiote	38
20.	Distribución de Fisher.....	45
21.	Gráfica de distribución Anova	46
22.	Tabla de prueba triangular	47

23.	Rendimiento extractivo de colorante de achiote, a escala laboratorio.....	61
24.	Densidad del extracto colorante de achiote	62
25.	Índice de refracción del extracto colorante de achiote	63
26.	Porcentaje de bixina en el extracto colorante de achiote	65

TABLAS

I.	Clasificación taxonómica del achiote	11
II.	Componentes de la semilla de achiote	16
III.	Valor nutricional de la semilla de achiote	17
IV.	Variables de proceso de extracción del colorante natural de achiote a escala laboratorio	24
V.	Variables de proceso de extracción del colorante natural de achiote a escala planta piloto.....	25
VI.	Variables de proceso de aplicación de pruebas al consumidor	27
VII.	Tabla de tratamientos para análisis factorial.....	43
VIII.	Tabla de análisis de varianza Anova	44
IX.	Rendimiento extractivo de colorante natural de achiote, a escala laboratorio.....	48
X.	Densidad del extracto colorante de achiote, a escala laboratorio.....	49
XI.	Índice de refracción del extracto colorante de achiote, a escala laboratorio.....	50
XII.	Identificación de flavonoides por cromatografía en capa fina	51
XIII.	Porcentaje de bixina obtenido por medio de cuantificación de espectrofotometría visible a 475 nanómetros	51
XIV.	Resultados obtenidos en la prueba sensorial al consumidor, prueba triangular.....	52

XV.	Rendimiento extractivo del colorante natural de achiote, a escala laboratorio	53
XVI.	Densidad del extracto colorante de achiote, a escala laboratorio	54
XVII.	Índice de refracción del colorante natural de achiote, a escala laboratorio	55
XVIII.	Identificación de flavonoides por cromatografía en capa fina.....	56
XIX.	Porcentaje de bixina obtenido por medio de cuantificación de espectrofotometría visible a 475 nanómetros.....	56
XX.	Tratamientos para análisis factorial del rendimiento extractivo del colorante natural de achiote	57
XXI.	Análisis de varianza Anova del rendimiento extractivo del colorante natural de achiote, a escala laboratorio	58
XXII.	Análisis estadístico de prueba triangular al consumidor.....	59
XXIII.	Rendimiento extractivo de colorante natural de achiote a escala laboratorio	61
XXIV.	Densidad del extracto colorante de achiote, a escala laboratorio	62
XXV.	Índice de refracción del extracto colorante de achiote, a escala laboratorio	63
XXVI.	Identificación de flavonoides por cromatografía en capa fina.....	64
XXVII.	Porcentaje de bixina obtenido por medio de espectrofotometría visible a 475 nanómetros	64
XXVIII.	Rendimiento de la extracción de colorante natural de achiote a escala planta piloto, solvente agua y relación semilla-solvente 1:3	65
XXIX.	Análisis microbiológico	66
XXX.	Prueba triangular, sensorial al consumidor	66

LISTA DE SÍMBOLOS

Símbolo	Significado
A	Amperios
pH	Concentración de iones de hidrógeno
ρ	Densidad
°C	Grados Celsius
g	Gramos
Hz	Hertz
kg/L	Kilogramos por litro
mL	Mililitros
nm	Nanómetros
W	Peso
W_f	Peso final
W_o	Peso inicial
%	Porcentaje
%m/v	Porcentaje masa-volumen
rpm	Revoluciones por minuto
SST	Suma de cuadrados debido al tratamiento
SSE	Suma de cuadrados del error
V	Volts

GLOSARIO

Bixina	La Bixina pertenece a la familia de los carotenoides. Colorante amarillo soluble en aceite, insoluble en agua.
Carotenoides	También son llamados tetraterpenoides. Son pigmentos orgánicos que se encuentran en las plantas y otros organismos fotosintéticos. Brindan el color amarillo, anaranjado o rojo a algunos vegetales. Los carotenoides se clasifican en dos grupos: carotenos y xantofilas.
Colorante	Los colorantes son sustancias que se fijan en otras sustancias y las dotan de color de manera estable y permanente.
Cromatografía	Es una técnica que permite la separación de los componentes de una mezcla debido a la influencia de dos efectos contrapuestos: retención y desplazamiento.
Cromóforos	Grupo de átomos de una molécula responsables del color.

Flavonoides	Son pigmentos naturales presentes en vegetales. Brindan color amarillo y anaranjado a muchas especies botánicas. Se divide en cuatro grupos principales: flavonol, flavonona, calcuna y antocianina.
Índice de refracción	Relación entre la velocidad de la luz en el vacío y la velocidad de la luz en la sustancia o el medio transparente.
Maceración	Proceso de extracción sólido-líquido. Por medio de este método se extraen los principios activos de una planta, poniendo en contacto la planta con un solvente.
Nor Bixina	Colorante contenido en el achiote, insoluble en aceite y soluble en agua.

RESUMEN

El objetivo principal del presente trabajo de graduación fue extraer el colorante natural de achiote (*Bixa orellana L.*) y evaluar si es posible sustituir al colorante artificial amarillo 5 (tartracina) en la elaboración de un *yogurt*. El colorante fue extraído de las semillas de la planta de achiote, utilizando materia prima proveniente del municipio de San Miguel Tucurú, del departamento de Alta Verapaz. Se realizó la extracción del colorante de achiote utilizando como solventes: agua, solución acuosa de KOH al 1, 2 y 3 por ciento, a escala laboratorio. Para determinar el solvente que producía mayor rendimiento de extracción.

A nivel planta piloto se realizó la extracción del colorante natural, utilizando como solvente el que brindó mayor porcentaje de bixina extraído. Se aplicó el colorante natural de achiote extraído, a muestras de *yogurt* natural y el colorante de tartracina a otras muestras. Se comprobó que el *yogurt* que contiene colorante natural de achiote cumple con los requerimientos de un producto alimenticio, por medio de un análisis microbiológico que se llevó a cabo en el laboratorio LAFYM.

Finalmente se realizaron pruebas de evaluación sensorial orientadas al consumidor. Con el objeto de establecer si el consumidor percibe diferencia significativa entre el color del *yogurt* en el que se utilizó el colorante de achiote y el *yogurt* en el que se utilizó tartracina.

Se confirmó que la bixina es el principio activo del colorante de achiote, responsable de su color característico. El agua fue el solvente que proporcionó

mayor porcentaje de extracción de bixina. Finalmente, se logró establecer que el consumidor percibe una diferencia significativa entre el color, al utilizar el colorante natural de achiote y el colorante amarillo en un *yogurt*, con un 95 por ciento de confiabilidad.

OBJETIVOS

General

Extraer el colorante natural de achiote (*Bixa orellana L.*) y evaluar si el colorante extraído puede sustituir al colorante amarillo (tartracina) al aplicarlo en un *yogurt*.

Específicos

1. Identificar el solvente que produce mayor rendimiento al extraer el colorante natural de achiote.
2. Identificar los principios activos del colorante natural de achiote por medio de cromatografía en capa fina.
3. Identificar las propiedades fisicoquímicas del colorante natural de achiote por medio de un tamizaje fitoquímico.
4. Evaluar las propiedades del producto que contiene colorante natural de achiote, por medio de un análisis microbiológico.
5. Determinar si el consumidor percibe diferencia significativa entre el producto que contiene colorante natural de achiote y el que contiene tartracina, por medio de una prueba triangular.

HIPÓTESIS

Es factible la sustitución del colorante artificial amarillo tartracina por el colorante natural de achiote, en la elaboración de un *yogurt*.

- **Hipótesis estadística**

- Ho1: no existe diferencia significativa en el rendimiento de la extracción del colorante natural de achiote, al variar el solvente.
- Ho2: el consumidor no percibe diferencia significativa entre el producto que contiene colorante natural de achiote y el que contiene amarillo.

- **Hipótesis alternativa**

- Hi1: existe diferencia significativa en el rendimiento de la extracción del colorante natural de achiote, al variar el solvente.
- Hi2: el consumidor percibe diferencia significativa entre el producto que contiene el colorante de achiote y el que contiene amarillo.

INTRODUCCIÓN

En la industria alimenticia el color es una característica de gran importancia, puede provocar que el producto sea atractivo al consumidor o no. Sin embargo el uso de colorantes artificiales está siendo muy cuestionado y en países europeos se ha prohibido el uso de algunos colorantes artificiales.

El colorante amarillo (tartracina) es utilizado en la elaboración de dulces, bebidas, sopas instantáneas, *yogurt*, salmón y mermeladas, entre otros. No es recomendable el uso de la tartracina en exceso porque afecta a las personas alérgicas a la aspirina y algunos colorantes azoicos son cancerígenos. Al igual que todos los colorantes artificiales produce hiperactividad en los niños que consumen gran cantidad de productos que lo contiene.

En la actualidad existe una tendencia a buscar productos que sean amigables al medio ambiente y que no afecten la salud. Es por esta razón que se busca sustituir el uso de colorantes artificiales por colorantes naturales, como el colorante natural de achiote. Para que este tipo de colorante sea aceptado como materia prima, debe comprobarse que produce el color que se requiere, no afecta la salud, no afecta el medio ambiente y que el costo es menor.

Por esta razón, en el presente trabajo de graduación se realizó la extracción del colorante natural de achiote con tres solventes: agua, solución acuosa de KOH 1, 2 y 3 por ciento, a escala laboratorio. A escala planta piloto se extrajo el colorante de achiote utilizando como solvente agua. Finalmente se aplicó el colorante a muestras de *yogurt* y por medio de una prueba triangular al

consumidor se comprobó que no es posible sustituir al colorante artificial amarillo.

1. ANTECEDENTES

Sobre el tema de colorantes naturales existe una gran variedad de investigaciones realizadas, como las siguientes:

En 1992, en la Universidad Autónoma Metropolitana de México se realizó el proyecto titulado *Estudio de prefactibilidad y diseño de una planta industrial para la extracción del colorante derivado de la semilla del achiote (Bixa orellana Linn)* fue realizado por Francisco Javier Guzmán Mejía, Martín Salinas Castellanos y Víctor Manuel Quiroz Sosa. El objetivo principal era proyectar y diseñar una planta industrial para obtener colorante derivado de la semilla de achiote.

Los objetivos específicos eran: la sustitución del color artificial amarillo número 5 por bixina natural extraída de la semilla del achiote, seleccionar un método para la extracción del colorante, elaborar y aplicar un diseño experimental adecuado para optimizar el método de extracción. Se llegó a la conclusión que el proyecto desarrollado era factible y que de llevarse a cabo el inversionista recuperaría su capital en seis meses.

En el 2004, Byron Alfredo Quiñónez Figueroa realizó un trabajo de investigación titulado *Extracción de colorante de chile jalapeño (Capsicum annum L.) a nivel laboratorio con tres solventes*. El objetivo principal era extraer pigmentos colorantes del tipo carotenoides contenidos en el chile jalapeño (*Capsicum annum L.*) en estado maduro a nivel laboratorio con tres solventes. Para lograr este objetivo se utilizaron tres solventes: acetona, etanol y metanol con 5 repeticiones cada uno. Obteniendo mayor rendimiento en la

extracción del colorante al utilizar como solvente acetona y es económicamente factible. Se comprobó que los extractos de carotenoides obtenidos del chile jalapeño son químicamente parecidos con el colorante artificial rojo sudán.

En el 2005, Claudia Maribel Ac. Santa Cruz asesorada por la ingeniera Telma Maricela Cano Morales, realizó una investigación con el título *Extracción a nivel de laboratorio de aceite esencial crudo de pericón (Tagetes lucida Cav.) y utilización del desecho sólido para la extracción del colorante natural, para su uso en el teñido de fibras naturales*. Se realizó la extracción, a nivel laboratorio de aceite esencial de la planta de pericón empleando el método de extracción por arrastre con vapor en caldillo, con el equipo denominado Neoclevenger. Se utilizó el desecho sólido para la extracción del colorante natural empleando el método de extracción semicontinua en Soxhlet, con el fin de determinar con qué solvente se obtienen mejores rendimientos.

Como solventes se utilizaron acetona, metanol y etanol. Se logró llegar a las siguientes conclusiones: es factible extraer colorante natural del desecho sólido de pericón y estadísticamente no existe diferencia significativa entre los tres solventes, sin embargo se obtuvieron mejores resultados con etanol.

En el 2007, fue realizada una investigación con el siguiente título: *Extracción y caracterización fisicoquímica del extracto colorante de la corteza de aliso común (Alnus jorullensis Humboldt, Bonpland & Kunth), proveniente de San Lucas Sacatepéquez, Guatemala*. El autor es Mario Roberto Calderón Guevara, quien fue asesorado por la ingeniera Telma Maricela Cano Morales. Se usaron como extractores agua, etanol al 35 por ciento (v/v) y etanol al 70 por ciento (v/v) y 3 rangos de tamaño de partícula de corteza seca: entre 495 y 420 micrones, 420 y 297 micrones, entre 297 y 250 micrones.

Llegando a la conclusión que, el extracto con solvente etanólico al 35 por ciento (v/v) es el que presentó el doble de rendimiento con relación al agua. También que el tamaño de partícula influye significativamente en el rendimiento. Logrando mayor rendimiento con partículas de corteza molida entre 297 y 250 micrones.

En mayo del 2008, Edward Mario Augusto Guerrero Gutiérrez asesorado por la ingeniera Telma Maricela Cano Morales realizó el trabajo de investigación *Lixiviación parametrizada y caracterización fisicoquímica a nivel laboratorio del extracto colorante de la corteza del Quebracho (Lysiloma auritum (Schltdl) Benth) proveniente de Jocotán, Chiquimula*. El principal objetivo fue determinar el rendimiento del extracto en la corteza, la velocidad de agitación del sistema en revoluciones por minuto y el tiempo de contacto mínimo, que debe de tener el solvente respecto a la materia prima utilizada. El mayor rendimiento se obtuvo al utilizar como extracto el etanol al 70 por ciento (v/v). El tiempo de contacto entre el solvente y el sólido debe ser de 15 minutos.

En noviembre de 2008, se llevó a cabo el siguiente trabajo de investigación: *Lixiviación de colorantes del tipo flavonoides contenidos en la corteza de la especie forestal aliso (Alnus arguta (Schldl) Spach), utilizando dos solventes para su extracción, a nivel laboratorio* fue realizado por Genaro Francisco Barrera García asesorado por la ingeniera Telma Maricela Cano Morales. Para alcanzar los objetivos trazados se realizaron extracciones con el método de maceración dinámica a reflujo constante en función de la relación corteza seca/solución extractora de 1:10 (w/v), con períodos de extracción de dos horas a temperaturas de ebullición de cada solución extractora. Utilizando como soluciones extractoras agua, etanol al 35 por ciento, etanol al 50 por ciento y etanol al 70 por ciento. Concluyendo que al utilizar como solución

extractora etanol al 50 por ciento se obtuvieron índice de refracción y densidad mayores.

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Colorantes

Un colorante es una sustancia que al aplicarse a un material le da color de forma permanente. Los colorantes son solubles en el producto final. A diferencia de un pigmento que es insoluble en el material al que se desea dar color, necesitando un vehículo que lo adhiera.

Los materiales que tienen color absorben luz en la región visible del espectro, con una longitud de onda de 380 nanómetros (violeta) a 750 nanómetros (rojo). El color que se manifieste en el material será el complemento del que absorbe, ya que este color se resta de la luz reflejada. De esta manera el colorante que absorbe el amarillo tendrá color azul.

2.1.1. Colorantes artificiales

Los colorantes artificiales son un grupo de aditivos que han sido muy usados desde hace muchos años. Se han utilizado como colorantes artificiales pigmentos minerales y colorantes orgánicos sintéticos.

Las ventajas que presentan los colorantes artificiales son las siguientes: son más fáciles de usar que los colorantes naturales, la mayoría son más resistentes a tratamientos térmicos, variaciones de pH y menos sensibles a la luz que los colorantes naturales.

A pesar de todas estas ventajas son sustancias muy tóxicas que pueden tener efectos fatales para la salud, aunque no se ha comprobado son señalados de causar cáncer e hiperactividad en los niños. Además para emplearlos, deben estar certificados por la FDA o Secretaría de Salud.

Con el propósito de evitar el mal uso de los colorantes artificiales en los alimentos, muchos países han legislado prohibiendo los que consideran más tóxicos e indicando la cantidad máxima de ingestión diaria admisible (IDA) de cada colorante. Lamentablemente las leyes varían de un país a otro y los colorantes prohibidos en un país son aceptados en otros países.

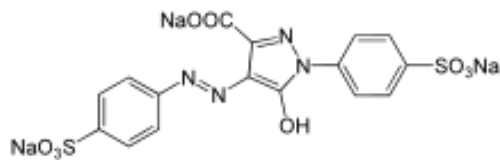
2.1.1.1. Tartracina

Es un colorante artificial de color amarillo que se presenta en polvo, forma parte de los colorantes azoicos, tiene un precio alto, es soluble en agua y se caracteriza por contener grupos azo. En Estado Unidos se le conoce con el código *FD&C Yellow#5*.

Este colorante es utilizado en alimentos y en medicamentos. Específicamente en la industria alimenticia se utiliza en sopas instantáneas, *yogurt*, chicles, caramelos, helados, mermeladas y derivados cárnicos.

Al ingerir dosis elevada de este colorante afecta a las personas alérgicas a la aspirina. Al consumirlo por largo tiempo puede causar cáncer e hiperactividad en los niños. Aunque lo anterior no se ha comprobado, en muchos países se ha limitado su uso.

Figura 1. **Molécula de tartracina**



Fuente: MIZOCH, Lukas. *Tartracina* <http://es.wikipedia.org/wiki/Tartracina>.

Consulta: 5 de abril de 2011.

2.1.2. Colorantes naturales

Son sustancias coloreadas que pueden ser de origen animal, vegetal o mineral. No deben causar daños a la salud de los consumidores y deben conferir color al alimento de forma permanente. Otro requisito de los colorantes naturales es que en el proceso de extracción no se debe causar daño al medio ambiente.

Algunas de las ventajas de los colorantes naturales son las siguientes: no requieren certificación para su uso, no afectan la salud y son biodegradables. Pero tiene como desventajas que en el mercado los colorantes naturales tienen precios mayores que los colorantes artificiales, la mayoría son sensibles a cambios térmicos y a la luz.

2.1.2.1. Colorante natural de achiote

Es un colorante muy importante, ya que tiene diversas aplicaciones. Sus constituyentes principales son la bixina y la nor-bixina. La bixina es un carotenoide carboxílico, es de color rojo oscuro y su fórmula empírica es $C_{25}H_{30}O_4$. Es liposoluble, es decir, insoluble en agua pero soluble en grasas y aceites.

La nor-bixina es un ácido dicarboxílico y su fórmula empírica es $C_{24}H_{28}O_4$. Se obtiene al saponificar el grupo éster metílico de la bixina. Es hidrosoluble, es decir, soluble en agua.

La coloración de la bixina y la nor-bixina se debe a la presencia de nueve cromóforos en sus moléculas. Los cromóforos son grupos químicos que hacen que los compuestos que los contienen absorban luz de determinada longitud de onda dentro de la región del espectro visible. La bixina y la nor-bixina en concentraciones bajas absorben el color azul de la luz blanca, transmitiendo el color amarillo que la complementa. La bixina y la nor-bixina en concentraciones altas absorben de la luz blanca una combinación de azul y verde, transmitiendo color rojo

2.1.3. Clasificación de los colorantes naturales

Los colorantes naturales se obtienen de especies animales o vegetales y brindan color de forma permanente. Según su composición química y el color que los caracteriza, se agrupan de la siguiente manera:

- Flavonoides: son colorantes amarillos y anaranjados. Muchas especies botánicas contienen flavonoides, casi el 50 por ciento de tintes naturales son flavonoides. Se dividen en cuatro grupos principales: flavonol, flavonona, calcona y antocianina. El perejil y el cártamo contiene colorantes flavonoides.
- Carotenoides: colorantes amarillos y anaranjados. Se dividen en dos grupos principales caroteno y xantofila. La zanahoria y el achiote contienen carotenoides.

- Quinonas: colorantes púrpura, escarlata, anaranjado y rojo siena. Se dividen en dos grupos: antraquinona y naftoquinona. La rubbia cochinilla y la hena se encuentran dentro de esta clasificación. Poseen buena resistencia a la luz solar.
- Derivados del indol (indigoides): colorantes azul y púrpura. Presentan la máxima resistencia a la luz y capacidad para fijarse sobre cualquier tipo de soporte. Un ejemplo de esta clasificación es el añil.
- Derivados de dihidropilano: colorantes rojo y violeta. Ejemplo: palo de Brasil.
- Derivados de delfinidina: colorantes azules. Ejemplo: hierba de pollo.
- Grupo betaleína: colorantes rojos. Se encuentran en el betabel o remolacha roja, la pitahaya y la tuna roja, entre otros.
- Grupo xantonas: colorantes amarillos. Su estructura es parecida a la de las quinonas. El mango contiene pigmentos amarillos de xantonas.
- Grupo clorofila: colorantes verdes provenientes de plantas verdes.
- Grupo tanino – pirogallo y catecol: colorante café proveniente del castaño.

2.1.4. Colorantes carotenoides

Los colorantes carotenoides son los que causan el color amarillo, anaranjado o rojo de algunos alimentos vegetales y animales. Los carotenoides se dividen en dos grupos estructurales carotenos y xantofilas. Los carotenos

son hidrocarburos derivados del Isopreno. Las xantofilas son derivados oxigenados. En los vegetales se encuentran en los coroplastos pero más abundantemente en raíces, frutas y flores.

El esqueleto estructural básico de los carotenoides está formado por unidades de isopreno enlazados covalentemente, bien cabeza-cola, bien cola-cola; creándose moléculas simétricas. Derivando así, otros carotenoides de esta estructura primaria de 40 carbonos.

2.2. El achiote

Es un arbusto, su nombre científico es *Bixa orellana L.*, es nativo de las zonas tropicales de América y se desarrolla principalmente en climas tropicales y subtropicales. Se cree que el lugar de origen del achiote es la cuenca amazónica, porque se encontraron especies del mismo género en este lugar. Este es el motivo de que algunas personas piensen que su nombre científico, es en honor a Francisco de Orellana, descubridor del río Amazonas. Aunque en realidad se debe a que contiene gran cantidad de orellina, que es una materia colorante amarilla. También recibe el nombre de bija, achote, rucu, onoto, annato, abujo, achuete, acosi, acote, anoto, bicha, biza, caituco, onotillo, piatu y bixo, entre otros.

Dependiendo de las condiciones ecológicas en donde se encuentre, puede medir de 2 a 6 metros. Tiene una gran capacidad de adaptabilidad y es resistente a las sequías. Es capaz de producir cosechas abundantes en condiciones de poca lluvia, presentando una fuerte defoliación.

2.2.1. Clasificación taxonómica

El achiote pertenece a la familia Bixaceae y género Bixa. Las cuatro especies principales son: orellana, excelsa, platicarpa, arbórea y urucurana. La clasificación botánica del achiote se presenta a continuación:

Tabla I. **Clasificación taxonómica del achiote**

División	Spermatophyta
Subdivisión	Angiospermae
Clase	Dicotyledoneae
Subclase	Dialipetala
Orden	Guttiferales
Familia	Bixaceae
Género	Bixa
Especies	Orellana L; excelsa G. et.k; platicarpa R.et.p;arborea H.; Urucurana W.

Fuente: FIGUEROA, Neri. *Colección y caracterización de diferentes materiales de achiote (Bixa orellana L.) en los departamentos de Suchitepéquez, Retalhuleu y Guatemala.* p. 2.

2.2.2. Especies existentes en Guatemala

El achiote se cultiva principalmente en Alta Verapaz, Quiché, Petén y la costa sur. Según algunos investigadores, en Guatemala existen dos variedades de achiote.

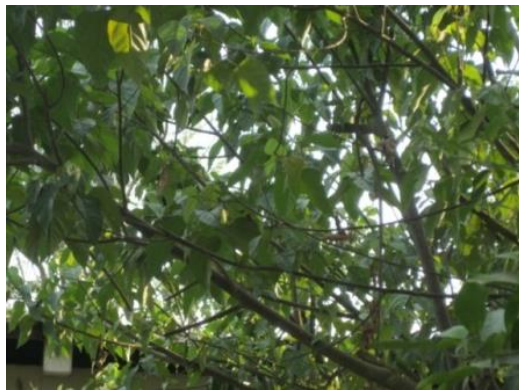
- Bixa orellana var, urucurana W.: su fruto tiene forma globosa o aplanada-globosa de varios tamaños y sus cápsulas tienen espinas largas y flexibles.

- Bixa orellana var. Leiocarpa (k): sus cápsulas son lisas y sin espinas.

2.2.3. Descripción botánica

El achiote es un arbusto muy frondoso y de copa baja y extendida. Sus ramas inician aproximadamente a un metro del suelo. Puede crecer hasta 5 o 6 metros. Resiste las sequías y con frecuencia produce abundantes cosechas en condiciones relativamente adversas.

Figura 2. **Arbusto de achiote**



Fuente: municipio de San Miguel Tucurú, Alta Verapaz.

- Raíz: su raíz principal es pivotante y tiene muchas raíces secundarias y terciarias. Sus raíces son leñosas y cilíndricas.
- Tallo: su tallo tiene de 20 a 30 centímetros de diámetro, es redondo y su ramificación es de tipo dicotómica. Su corteza está ligeramente fisurada y tiene numerosas lenticelas.
- Ramas: su coloración varía de verde a morado, son delgadas y tienden a leñosas.

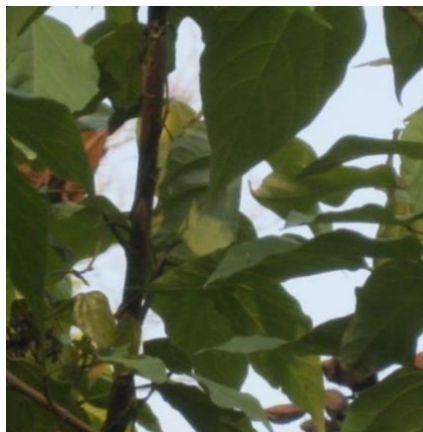
Figura 3. **Ramas de achiote**



Fuente: municipio de San Miguel Tucurú, Alta Verapaz.

- Hojas: son de forma acorazonada, grandes, cordiformes, de color verde pardo con algunas vetas rojizas y cuando son maduras de color verde oscuro. Tienen un peciolo de 4 a 6 centímetros de largo.

Figura 4. **Hojas de achiote**



Fuente: municipio de San Miguel Tucurú, Alta Verapaz.

- Flores: sus flores son hermafroditas de color blanco a rosado según la variedad de achiote de que se trate. Se presentan en panículas terminales al final de las ramas. Tienen numerosos estambres y ovario súpero unilocular.
- Frutos: son cápsulas que están cubiertas con espinas de diversos tamaños y durezas, dependiendo de la especie de achiote. En el interior el fruto tiene dos valvas que contienen las semillas. Si la cápsula tiene más espinas tendrá más semillas.

Figura 5. **Frutos de achiote**



Fuente: municipio de San Miguel Tucurú, Alta Verapaz.

Figura 6. **Frutos de achiote**



Fuente: municipio de San Miguel Tucurú, Alta Verapaz.

- **Semillas:** cada cápsula contiene de 30 a 60 semillas con un largo aproximado de 3 a 4 nanómetros. Son pequeñas, tienen formas y tamaños variables. Están cubiertas por una capa delgada o arilo que contiene el colorante. La bixina es el colorante principal presente en las semillas de achiote. La bixina es un carotenoide carboxílico con estructura similar a la del caroteno.

Figura 7. **Semillas de achiote**



Fuente: DE ALBA, Miguel Ángel. *Las Semillas del fin del mundo*. http://www.google.com.gt/imgres?imgurl=http://periodismoambiental.files.wordpress.com/2008/10/800px-urucum_bixa_orellana. Consulta: 5 de abril de 2011.

Los componentes de la semilla de achiote son los siguientes:

Tabla II. **Componentes de la semilla de achiote**

Componente	Porcentaje (%)
Celulasa	40 a 45
Humedad	20 a 28
Pigmentos	4 a 5.5
Azúcares	3.5 a 5.2
Aceite esencial	0.25 a 0.85
Siendo el colorante principal la bixina	

Fuente: FIGUEROA, Neri. *Colección y caracterización de diferentes materiales de achiote (Bixa orellana L.) en los departamentos de Suchitepéquez, Retalhuleu y Guatemala*. p. 4.

La semilla de achiote tiene un gran valor nutricional, contiene en mayor porcentaje vitamina A, como se puede ver en la siguiente tabla.

Tabla III. **Valor nutricional de la semilla de achiote**

Componente	Composición (mg/100g)
Calcio	7
Fósforo	10
Hierro	1.4
Vitamina A	45
Riboflavina	0.2
Niacina	1.46
Tiamina	0.39
Ácido Ascórbico	12.5

Fuente: DEVIA PINEDA, Jorge Enrique. *Planta piloto para obtener colorante de la semilla de achiote (Bixa orellana L.)*. p. 10.

2.3. Métodos de extracción del colorante natural de achiote

El método general, que se utiliza para la extracción del colorante natural de achiote es la lixiviación con solventes volátiles. El material fresco se pone en contacto con un solvente, en el que el colorante es soluble. El colorante se difunde en el solvente y posteriormente se separa del material sin colorante, por medio de filtración.

Los solventes que se utilizan deben cumplir con los siguientes requisitos:

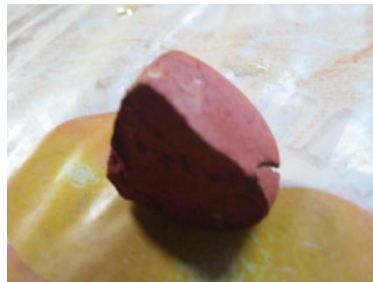
- Ser selectivo
- Tener bajo precio
- No ser inflamable
- Tener un bajo punto de ebullición
- Ser químicamente inerte

Dependiendo del solvente utilizado, se pueden dar los siguientes variantes, al método antes descrito.

2.3.1. Método tradicional

En el municipio de San Miguel Tucurú, Alta Verapaz, este es el método que se ha utilizado durante muchos años, sin embargo el rendimiento de extracción es muy pequeño y requiere demasiado tiempo por lo tanto no es recomendable para la extracción a nivel industrial. Para iniciar la extracción, a la semilla se le realizan lavados con agua caliente, dejándolas en remojo durante varios días. Después se separa la solución coloreada de las semillas por medio de una malla, la solución se concentra a fuego lento y cuando adquiere una forma de pasta, se coloca en moldes y se seca al sol.

Figura 8. **Achiote**



Fuente: municipio de San Miguel Tucurú, Alta Verapaz.

2.3.2. Extracción con álcali acuoso

Según estudios realizados anteriormente, este proceso de extracción brinda un mayor rendimiento y mejor calidad del colorante natural de achiote. La extracción inicia realizando lavados con solución alcalina a las semillas de achiote. Los extractos colorantes resultantes se unen y se neutralizan con

ácido sulfúrico, precipitando de esta manera el colorante. Posteriormente se filtra el colorante y si se desea colorante en polvo se seca a una temperatura menor a 60 grados Celsius, ya que si la temperatura es mayor degrada el colorante. La bixina contenida en las semillas de achiote es un ácido carboxílico que al agregarle álcali acuoso, forma sales de álcali soluble en agua, esto facilita la extracción del colorante.

2.3.3. Extracción con aceites vegetales

Este método es muy utilizado cuando el colorante se va a utilizar en lácteos o en alimentos, ya que es un solvente no tóxico. Para extraer el colorante se diluye en aceite caliente, obteniendo una solución concentrada.

2.3.4. Extracción con etanol

En este proceso se realizan cuatro lavados de las semillas de achiote con etanol, con el fin de extraer todo el colorante que contienen, con agitación constante. Finalmente se unen las soluciones coloreadas, se tamiza para separar las semillas y se seca el colorante obtenido.

2.3.5. Extracción con propilenglicol

Este proceso se realiza en frío, aprovechando la alta solubilidad que el colorante tiene en este solvente. Este proceso es empleado cuando el colorante es utilizado en lácteos.

3. DISEÑO METODOLÓGICO

3.1. Localización

La parte experimental de la investigación se realizó en la Universidad de San Carlos de Guatemala y en laboratorios químicos, específicamente en los siguientes laboratorios:

- Laboratorio de Investigación de Extractos Vegetales (LIEXVE), Sección de Química Industrial, Centro de Investigaciones de Ingeniería, Facultad de Ingeniería, Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Laboratorio de Investigación de Productos Naturales (LIPRONAT), Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Laboratorio de Análisis Físicoquímicos y Microbiológicos (LAFYM), Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Laboratorio de Análisis y Servicios, S. A. (LASER).

3.2. Variables

La extracción del colorante natural de achiote se realizó por medio del método de lixiviación con maceración dinámica. Durante el proceso se tomaron en cuenta las variables que afectan la extracción del colorante. Las variables

que se consideraron durante el proceso de extracción del colorante natural de achiote son las siguientes: el solvente, concentración de solvente, relación semilla/solvente, tiempo de agitación, velocidad de agitación, pH y temperatura de secado.

3.2.1. Variables de la extracción a escala laboratorio

La extracción a escala laboratorio se realizó con el objetivo de establecer el solvente que brinda mayor rendimiento. Para realizar la extracción a escala planta piloto utilizando el solvente más efectivo, reduciendo los costos.

3.2.1.1. Solvente

Existe una gran variedad de solventes utilizados para la extracción del colorante natural de achiote, entre ellos: agua, aceites vegetales, propilenglicol, etanol, hidróxido de potasio e hidróxido de sodio. Para la presente investigación se escogieron como solventes, agua, solución acuosa de KOH 1, 2 y 3 por ciento. Debido a que en estudios anteriores se ha comprobado que el hidróxido de potasio produce mayor rendimiento de extracción. También se buscaba realizar una comparación entre el rendimiento del solvente más utilizado (agua) con el hidróxido de potasio.

3.2.1.2. Concentración del solvente

La concentración del solvente es una de las variables muy determinantes dentro del proceso de extracción. Es una de las variables que influyen en el desprendimiento del colorante de las semillas. Las concentraciones elegidas para el hidróxido de potasio fueron 1, 2 y 3 por ciento masa/volumen. Las

concentraciones son bajas debido a que el colorante se utilizó en alimentos y porque se trata de una sustancia alcalina.

3.2.1.3. Relación semilla/solvente

La relación de la cantidad de semilla con el volumen de solvente utilizado, es otra variable que influye en el desprendimiento del colorante de la semilla de achiote. La relación elegida para esta investigación fue 1:3 gramos por mililitro, ya que en investigaciones anteriores es la relación que ha brindado mayor rendimiento.

3.2.1.4. Tiempo de agitación

El tiempo de agitación debe ser considerado, si no es suficiente puede causar que parte del colorante quede en las semillas sin desprenderse. Pero si el tiempo es demasiado grande puede causar que las semillas desprendan impurezas que pueden dañar el colorante extraído previamente. Se eligió como tiempo de agitación 45 minutos porque es considerado un tiempo medio, que evitó que se dieran algunos de los casos mencionados anteriormente.

3.2.1.5. Velocidad de agitación

Esta variable es considerada en la segunda aplicación de solvente a las semillas. La velocidad de agitación es inversamente proporcional al rendimiento de extracción, ya que a baja velocidad se obtiene un mayor rendimiento.

3.2.1.6. pH

En estudios previos, se ha determinado que se obtiene mayor rendimiento al mantener el pH del colorante en un rango 2-2,5 previo a la filtración. Para esto es necesario utilizar ácido sulfúrico.

3.2.1.7. Temperatura de secado

Si se quiere obtener colorante en polvo es necesario realizar una etapa de secado después de la filtración. Según la literatura es recomendable que esta temperatura no exceda los 60 grados Celsius, ya que a temperaturas mayores el colorante se degrada reduciendo automáticamente el rendimiento de la extracción. En la presente investigación se trabajó a una temperatura de 57 grados Celsius en esta etapa del proceso de extracción.

Tabla IV. **Variables de proceso de extracción del colorante natural de achiote a escala laboratorio**

No.	Variable	Dimensional	Factor potencial de diseño		Factores perturbado-res		Variable de respuesta
			Independiente	Dependiente	Monitoreable	No Monitoreable	
1	Solvente	-----	X		X		
2	Concentración de solvente	g/mL	X		X		
3	Relación semillas/solvente	g/mL	X		X		
4	Tiempo de agitación	minutos	X		X		
5	Velocidad de agitación	rpm	X		X		
6	Acidez	pH	X		X		
7	Temperatura de secado	°C	X		X		
8	Rendimiento de extracción	%		X	X		X

Fuente: elaboración propia.

3.2.2. Variables de extracción a escala planta piloto

El solvente que brindo mayor porcentaje de bixina en la extracción a escala laboratorio, fue el agua. La bixina es el principio activo del colorante de achiote, que le brinda el color que lo caracteriza. Por esta razón, a escala planta piloto se utilizó agua como solvente.

Tabla V. **Variables de proceso de extracción del colorante natural de achiote a escala planta piloto**

No.	Variable	Dimensional	Factor potencial de diseño		Factores perturbadores		Variable de respuesta
			Independiente	Dependiente	Monitoreable	No Monitoreable	
1	Solvente	-----	X		X		
2	Concentración de solvente	Kg/L	X		X		
3	Relación semillas/solvente	Kg/L	X		X		
4	Tiempo de agitación	minutos	X		X		
5	Velocidad de agitación	rpm	X		X		
6	Acidez	pH	X		X		
7	Temperatura de secado	°C	X		X		
8	Rendimiento de extracción	%		X	X		X

Fuente: elaboración propia.

3.2.3. Variables en el proceso de aplicación de las pruebas de evaluación sensorial

La prueba de evaluación sensorial al consumidor se realizó para determinar si percibía alguna diferencia entre el producto que contenía colorante natural de achiote y el que contenía colorante artificial.

3.2.3.1. Tipo de colorante

A unas muestras de *yogurt* natural se les aplicó como colorante amarillo y a otras muestras el colorante natural de achiote. Con la encuesta se pretendía descubrir si el consumidor percibía diferencia significativa entre el color que brinda la tartracina y el del colorante natural de achiote en el *yogurt*.

3.2.3.2. Número de panelistas

La encuesta se realizó con 10 panelistas no instruidos. A cada panelista se le proporcionaron 3 muestras identificadas con un número de tres dígitos. Dos muestras contenían el mismo colorante y debían identificar cuál muestra tenía un colorante diferente.

Tabla VI. **Variables de proceso de aplicación de pruebas al consumidor**

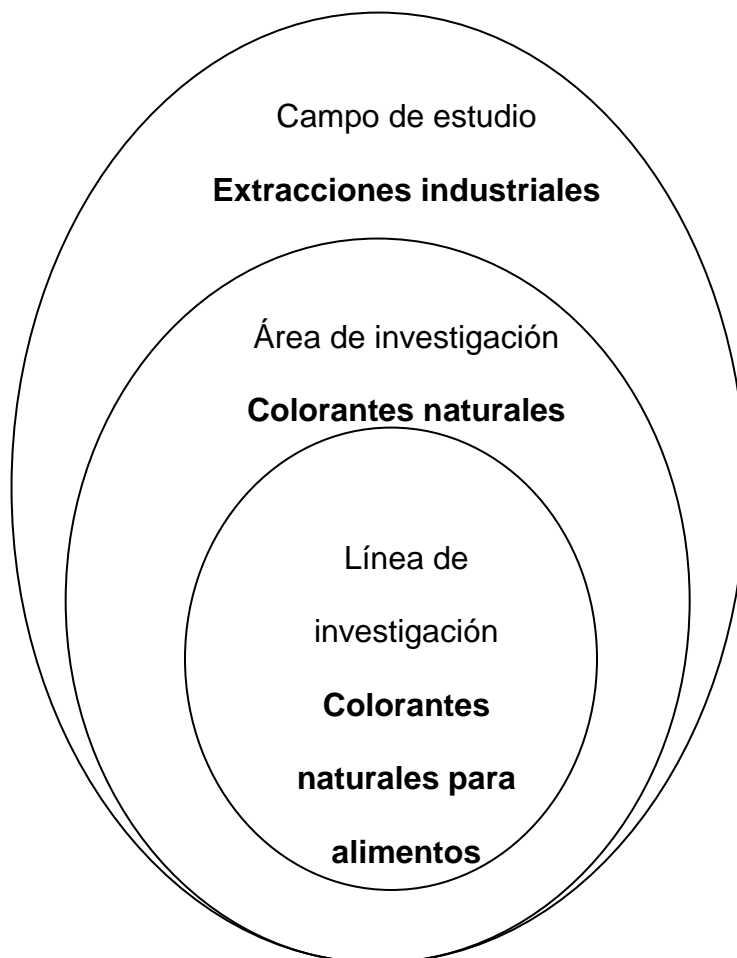
No.	Variable	Dimensional	Factor potencial de diseño		Factores perturbadores		Variable de respuesta
			Independiente	Dependiente	Monitoreable	No Monitoreable	
1	Tipo de colorante	-----	X		X		
2	Número de panelistas	-----	X		X		
3	Número de respuestas correctas	-----	X		X		X

Fuente: elaboración propia.

3.3. Delimitación del campo de estudio

La investigación que se realizó es de tipo experimental – descriptivo, ya que se planteó hipótesis y se realizó un análisis profundo de las mismas. El campo de estudio se relaciona con las extracciones industriales, específicamente a extracción de colorantes naturales para alimentos.

Figura 9. **Delimitación del campo de estudio**



Fuente: elaboración propia.

3.4. Obtención de las muestras

La materia prima vegetal fue obtenida en el municipio de San Miguel Tucurú del departamento de Alta Verapaz. Está localizado a 208 kilómetros de la ciudad capital de Guatemala y tiene una altitud de 476 metros sobre el nivel del mar. Predomina el clima cálido húmedo que favorece el crecimiento de las plantas de achiote.

Se recolectaron las vainas de achiote para obtener después las semillas. En el laboratorio se realizó la extracción del colorante natural de achiote por medio del método de lixiviación con maceración dinámica, con solventes: agua, solución acuosa de KOH 1, 2 y 3 por ciento. A escala planta piloto se realizó la extracción del colorante natural utilizando como solvente agua y finalmente se aplicó el colorante a muestras de yogurt para comprobar si puede sustituir al colorante amarillo, por medio de una prueba triangular al consumidor.

3.5. Recursos humanos

Son las personas que se involucran en el desarrollo de la investigación, aportando conocimientos, esfuerzo y trabajo. El recurso humano que participó en el presente trabajo de investigación es:

Realizadora: Zoila Concepción Reyes Buenafe

Asesora: Inga. Qca. Telma Maricela Cano Morales

Coasesor: Ing. Qco. Mario José Mérida Meré

3.6. Recursos materiales

Comprende la materia prima, cristalería, reactivos y equipos utilizados en el desarrollo de la parte experimental de la investigación. Tanto a escala laboratorio como a escala planta piloto.

3.6.1. Recursos para la extracción a escala laboratorio

Son los recursos materiales que se utilizaron en el laboratorio durante la extracción del colorante de achiote. Comprende la materia prima, reactivos, cristalería y equipo.

- Materia prima
 - Semillas de achiote
 - Hidróxido de potasio
 - Ácido sulfúrico
 - Agua desmineralizada

- Cristalería
 - Balones
 - Erlenmeyers
 - Micropipetas
 - Varillas de agitación
 - Embudo
 - Probetas graduadas
 - Frascos opacos
 - Kitasatos

- Matracas de cuello corto con esmeril
 - Pipetas
 - Picnómetro
- Equipo

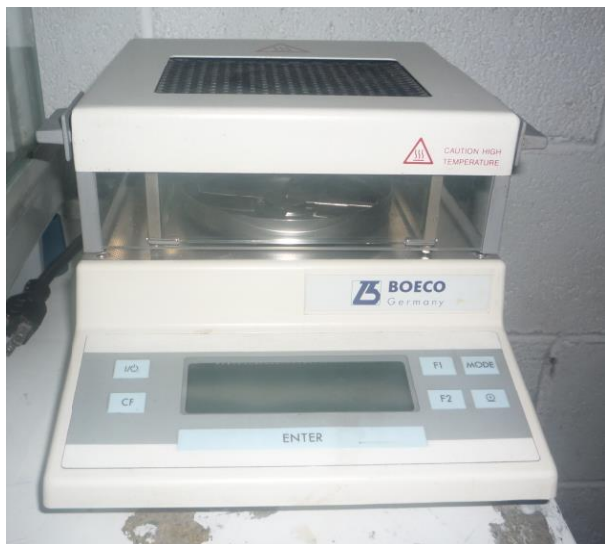
Figura 10. **Plancha de calentamiento**



Marca: VWR
Modelo: PC-620
Voltaje: 120V
Frecuencia: 60 Hz
Potencia: 3 W
Hecha en Estados Unidos

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

Figura 11. **Balanza de humedad**



Marca BOECO
Hecha en Alemania

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

Figura 12. **Balanza analítica digital**



Marca: Adventurer
Serie: G1231202040133
Voltaje: 8 a 14.5 V
Frecuencia: 50 / 60 Hz
Máxima Capacidad: 150 g
Lectura Mínima: 0,001 g
Hecha en Estados Unidos

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

Figura 13. Reactores



Marca: Wheaton
US Patente # 3572,651
Hecho en Estados Unidos

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

Figura 14. Horno secador al vacío VWR



Marca: VWR
Modelo: 1415 M
Número de Serie: 1201101
Capacidad: 0.6 pies
cúbicos
Frecuencia: 60 Hz
Corriente: 4A

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

3.6.2. Recursos para la extracción a escala planta piloto

Son los recursos materiales que se utilizaron en la planta piloto para el proceso de extracción del colorante de achiote. Comprende la materia prima, reactivos y equipo.

- Materia prima
 - Semillas de achiote
 - Agua desmineralizada
- Equipo

Figura 15. **Secador eléctrico**



Secador eléctrico de bandejas
Flujo transversal

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

Figura 16. **Marmita con agitación**



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

Figura 17. **Marmita con agitación (parte interna)**



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

Figura 18. **Balanza digital**



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

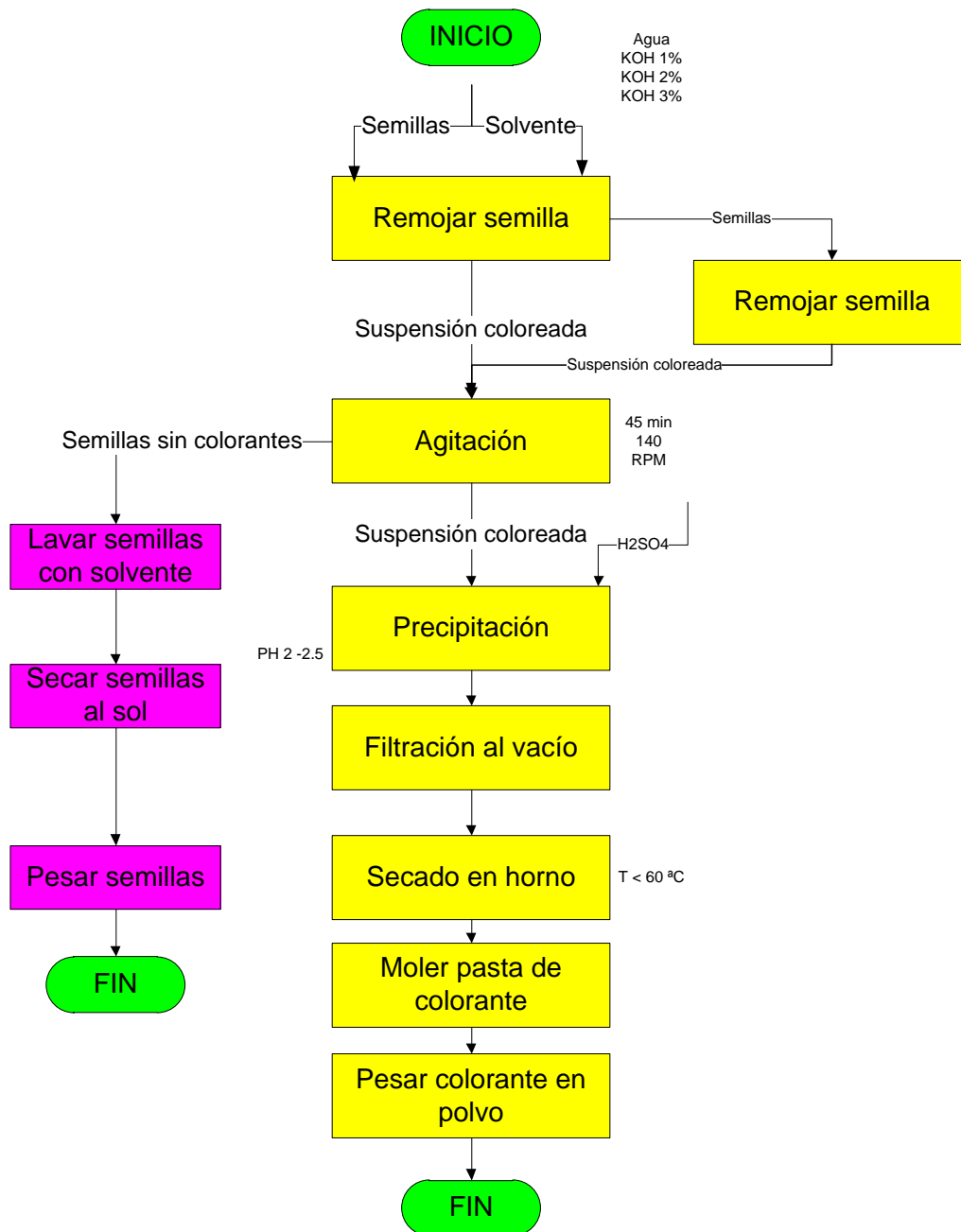
3.7. Técnicas cuantitativas y cualitativas de investigación

Durante la investigación se utilizaron técnicas cuantitativas en la extracción del colorante natural, las técnicas cualitativas en el análisis de cromatografía en capa fina, espectrofotometría visible y en las pruebas sensoriales. Para la evaluación del rendimiento del colorante natural de achiote, se utilizaron las siguientes técnicas cuantitativas de la investigación:

- Extracción del colorante natural de achiote
 - Se colocaron 100 gramos de semilla fresca de achiote en un *beacker*.
 - Se añadieron 300 mililitros de solvente, en relación 1,3 semilla - solvente.

- Se dejó en maceración estática por 12 horas.
- Se separaron las semillas del extracto colorante de achiote.
- A las semillas se le agregaron 300 mililitros de solvente.
- Agitación por 45 minutos.
- Separación de las semillas del extracto colorante.
- Unión de los extractos colorantes de las dos etapas.
- Se agregó ácido sulfúrico al 10 por ciento masa/volumen.
- Filtración del colorante natural de achiote.
- Secado del colorante de achiote a una temperatura de 50 grados centígrados.
- Se determinó el peso del colorante extraído con una balanza digital.
- El rendimiento se obtuvo al dividir el peso del colorante entre el peso de materia prima y multiplicarlo por 100.

Figura 19. Diagrama de flujo de la extracción del colorante natural de achiote



Fuente: elaboración propia.

- Densidad de colorante natural de achiote
 - Se determinó el peso tara del picnómetro, con una balanza digital.
 - Se colocó el colorante de achiote en un picnómetro con la ayuda de una micropipeta.
 - Después se tapó el picnómetro para que el colorante ocupara el volumen total del picnómetro.
 - Se determinó la masa del colorante de achiote utilizando una balanza digital.
 - La masa del colorante de achiote se obtuvo al restarle el peso tara del picnómetro.
 - La densidad se estableció al dividir la masa del colorante dentro del volumen del picnómetro.

- Índice de refracción
 - Se limpió el prisma utilizando etanol y agua desmineralizada.
 - Se utilizó una micropipeta para agregar 2 gotas de colorante natural de achiote al prisma.
 - Se encendió la lámpara pulsando el interruptor de lado izquierdo y se ajustó para obtener el brillo correcto en el prisma de medición.
 - Se observó por el ocular y se ajustó hasta aparecer una línea clara y definida en el campo de visión, utilizando la perilla de compensación.
 - Se ajustó claro oscuro al centro, girando la perilla de medición alineando la línea delimitadora.
 - Se movió el interruptor de la parte inferior izquierda y se leyó la escala superior.

- Análisis de cromatografía en capa fina

Preparación de la muestra

- Se colocaron 100 miligramos de extracto colorante de achiote en 1 mililitro de metanol.
- Se agitó fuertemente la solución, en un *vortex*.
- Las soluciones fueron filtradas.
- La solución filtrada se colocó en un tubo de ensayo con tapón.

Preparación de las soluciones estándar

- Se colocaron 5 miligramos de estándar en un *beacker*.
- Se mezcló con 10 mililitros de metanol y se agitó para homogenizar la solución.
- Las soluciones fueron colocadas en recipientes cerrados y debidamente identificadas.

Preparación de la fase móvil

- Se colocaron en un *beacker* 50 mililitros de acetato de etilo, 5,5 mililitros de ácido fórmico, 5,5 mililitros de ácido acético glacial y 13,5 mililitros de agua.
- Se tapó la solución para evitar la evaporación.
- Se agitó con utilizando un agitador magnético durante 5 minutos.
- Se colocó la mezcla en una cámara cromatográfica.

Preparación de la placa cromatográfica

- Se cortó una placa de 10 cm x 18 cm de un cromatofolio de aluminio de silicie gel y se realizó lo siguiente.
- Se trazó con lápiz, una línea horizontal un centímetro arriba de la parte inferior de la placa.
- Se marcaron en la línea horizontal, 17 puntos, dejando 1 centímetro de separación entre cada uno.
- Se inyectaron con un capilar 5 microlitros de cada solución preparada (muestra + metanol), en cada punto y soluciones estándar.
- Se tuvo cuidado de que la muestra fuera pequeña.

Desarrollo de la placa cromatográfica

- Se colocó la placa dentro de la cámara que contenía la fase móvil.
 - Se dejó que las líneas que aparecían, llegaran a una distancia de 2 centímetros abajo del borde superior de la placa.
 - Se retiró la placa y se colocó en la campana de extracción, para que secase la fase móvil.
 - Se roció la placa con solución reveladora.
 - Se observaron con luz ultravioleta los puntos que coincidían con los puntos de las soluciones estándar, identificando de esta manera la presencia de colorantes tipo flavonoides.
- Espectrofotometría visible
 - Se pesaron 25 miligramos de cada muestra de colorante de achiote.
 - Se colocaron en un tubo de ensayo.
 - Se mezcló con metanol y se homogenizó la mezcla.

- La mezcla se trasladó a un balón aforado de 25 mililitros.
 - Se aforó con más metanol.
 - Las soluciones fueron analizadas en un espectrofotómetro donde se obtuvieron las gráficas que muestran la relación entre absorbancia vs longitud de onda, para determinar el porcentaje de bixina de cada muestra.
- Prueba sensorial al consumidor triangular
 - A 10 panelistas no intruidos se les presentaron 3 muestras de *yogurt*.
 - Las muestras estaban numeradas con tres dígitos.
 - Dos de las muestras tenían el mismo colorante.
 - Los panelistas debían marcar en la encuesta, el número de muestra que tenía un colorante diferente.

3.7.1. Análisis estadístico de los datos

En la primera parte se realizaron extracciones del colorante de achiote a nivel laboratorio, utilizando cuatro solventes diferentes. El objetivo principal de esta parte era identificar el solvente que produce mayor rendimiento de extracción para utilizarlo posteriormente, a escala planta piloto. Por medio del método Anova se realizó un análisis de varianza, para determinar si existe diferencia significativa entre los rendimientos de extracción con un nivel de confianza del 95 por ciento.

El modelo del experimento es aleatorio de un solo factor con cuatro diferentes solventes, tres repeticiones y un total de doce corridas. Para determinar el número de corridas que se iban a realizar experimentalmente se realizó el siguiente análisis:

a= una especie para analizar

k = 4 solventes

n= 3 repeticiones

Número total de tratamientos = (3) (3) (1) = 12

Tabla VII. **Tabla de tratamientos para análisis factorial**

Solvente repetición	Solvente A	Solvente B	Solvente C	Solvente D	Total	Media
1	X _{1A}	X _{1B}	X _{1C}	X _{1D}	X ₁	X̄ ₁
2	X _{2A}	X _{2B}	X _{2C}	X _{2D}	X ₂	X̄ ₂
3	X _{3A}	X _{3B}	X _{3C}	X _{3D}	X ₃	X̄ ₃
Total	X _A	X _B	X _C	X _D	ΣX _T	
Media	X̄ _A	X̄ _B	X̄ _C	X̄ _D		X̄ _T

Fuente: MENDOZA APAZA, Fernando. *Anova de recepción de señales celulares en el medio ambiente* <http://www.monografias.com/trabajos29/recepcion-senales-celulares/recepcion-senales-celulares.shtml#Comentarios>. Consulta: 5 de abril de 2011.

Para comprobar las hipótesis planteadas en el presente trabajo de investigación se utilizó el método Anova, se utilizaron las siguientes ecuaciones:

$$F_{n1 \times 2} = \frac{\frac{SST}{k-1}}{\frac{SSE}{n-k}} = \frac{MST}{MSE} \quad \text{(Ecuación 3)}$$

$$\text{Suma de cuadrados total: } SStotal = \sum X^2 - \frac{(\sum X)^2}{n} \quad \text{(Ecuación 4)}$$

$$\text{Suma de cuadrados debido al tratamiento: } SST = \sum \left(\frac{T_c^2}{n_c} \right) - \frac{(\sum X)^2}{n} \quad \text{(Ecuación 5)}$$

$$\text{Suma del cuadrado del error: } SSE = SStotal - SST \quad \text{(Ecuación 6)}$$

Tabla VIII. **Tabla de análisis de varianza Anova**

Fuente de Variación	Grados de Libertad	Suma de cuadrados	Media de cuadrados	F (calculado)	F (Crítico)
Tratamientos	k-1	SST	$SST/(k-1)=MST$	MST/MSE	Tabla
Error	N-k	SSE	$SSE/(n-k)=MSE$		
Total	N-1	SS Total			

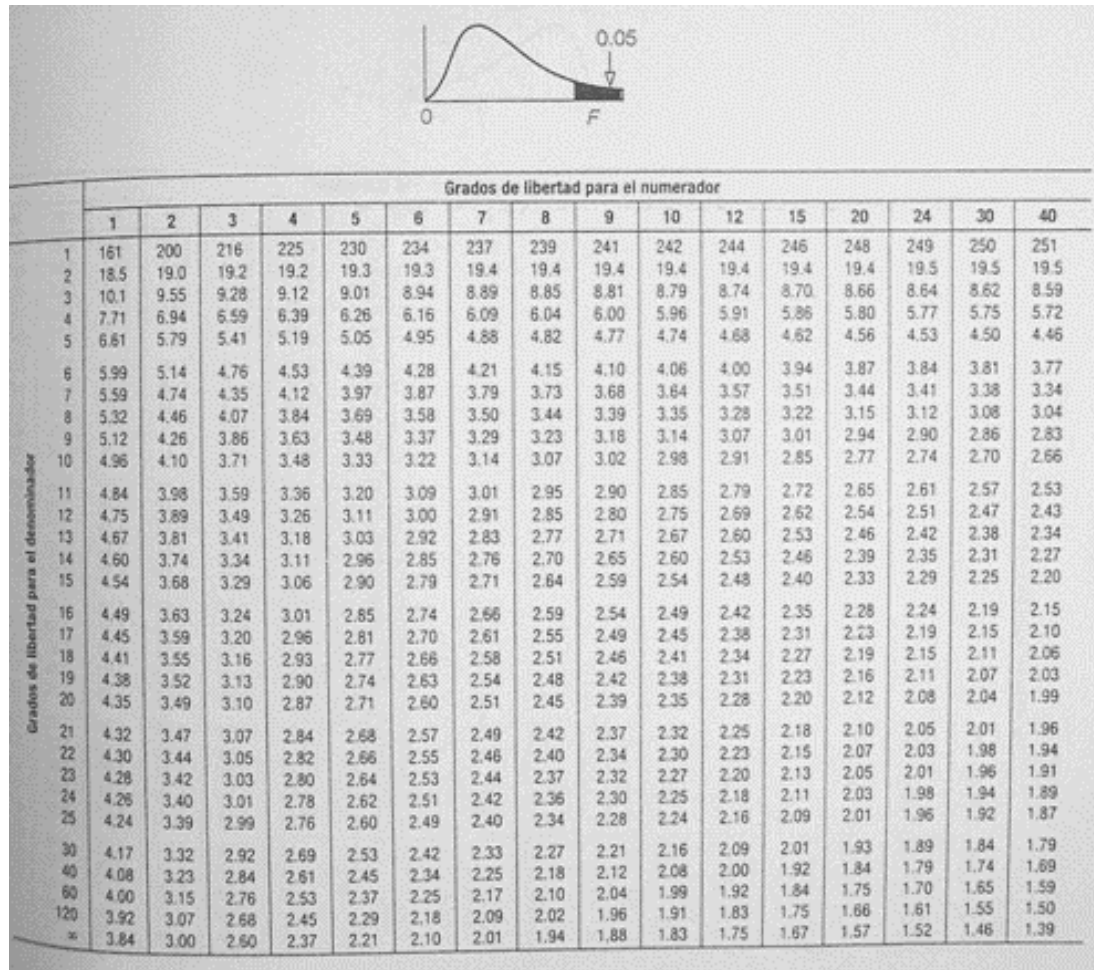
Fuente: MENDOZA APAZA, Fernando. *Anova de recepción de señales celulares en el medio ambiente* <http://www.monografias.com/trabajos29/recepcion-senales-celulares/recepcion-senales-celulares.shtml#Comentarios>. Consulta: 5 de abril de 2011.

El F crítico se buscó en las tablas de Anova con un nivel de significancia de 0,05 por ciento y con los siguientes grados de libertad.

$$K - 1 = 4 - 1 = 3$$

$$N - k = 12 - 4 = 8$$

Figura 20. Distribución de Fisher



Fuente: MENDOZA APAZA, Fernando. *Anova de recepción de señales celulares en el medio ambiente* <http://www.monografias.com/trabajos29/recepcion-senales-celulares/recepcion-senales-celulares.shtml#Comentarios>. Consulta: 5 de abril de 2011.

El F crítico es igual a 4,07, es decir que si los datos que se obtengan experimentalmente brindan un F calculado mayor de este valor, se rechazará la hipótesis nula.

Figura 21. Gráfica de distribución Anova



Fuente: MENDOZA APAZA, Fernando. *Anova de recepción de señales celulares en el medio ambiente* <http://www.monografias.com/trabajos29/recepcion-senales-celulares/recepcion-senales-celulares.shtml#Comentarios>. Consulta: 5 de abril de 2011.

En la segunda parte, se realizó una prueba sensorial al consumidor, específicamente una prueba triangular en la que se buscaba determinar si existe diferencia significativa entre el *yogurt* que contenía colorante amarillo no. 5 y el que contenía colorante natural de achiote. Para lograrlo la encuesta fue aplicada a 10 panelistas, con una confiabilidad de 95 por ciento si se obtienen como mínimo 7 respuestas correctas se establecerá que existe diferencia significativa entre los dos productos, como lo indica la siguiente figura.

Figura 22. **Tabla de prueba triangular**

Número de respuestas correctas necesarias para establecer diferencia significativa			
Numero de Juicios	Nivel de Significancia		
	5%	1%	0.1%
7	5	6	7
8	6	7	8
9	6	7	8
10	7	8	9
11	7	8	9
12	8	9	10
13	8	9	10
14	9	10	11
15	9	10	12
16	10	11	12
17	10	11	13
18	10	12	13
19	11	12	14
20	11	13	14
21	12	13	15
22	12	14	15
23	13	14	16
24	13	14	16
25	13	15	17

Fuente: HERNÁNDEZ ALARCÓN, Elizabeth. *Evaluación sensorial*. p. 99.

3.8. **Recolección y ordenamiento de la información**

Durante la parte experimental del presente trabajo de investigación se ordenaron y recolectaron los datos obtenidos de rendimiento de extracción de colorante natural de achiote, densidad e índice de refracción y respuestas brindadas en la prueba sensorial al consumidor.

Tabla IX. **Rendimiento extractivo de colorante natural de achiote, a escala laboratorio**

Solvente	Corrida	Peso de semilla (g)	Peso del extracto colorante(g)	Rendimiento (%)
Agua	1	100	1,93	1,93
	2	100	0,15	0,15
	3	100	2,16	2,16
KOH 1 %	1	100	3,76	3,76
	2	100	3,28	3,28
	3	100	1,60	1,60
KOH 2 %	1	100	5,46	5,46
	2	100	5,75	5,75
	3	100	7,80	7,80
KOH 3 %	1	100	5,03	5,03
	2	100	5,00	5,00
	3	100	5,40	5,40

Fuente: elaboración propia.

Tabla X. **Densidad del extracto colorante de achiote, a escala laboratorio**

Solvente	Corrida	Densidad (g/mL)
Agua	1	0,8961
	2	1,0063
	3	1,0071
KOH 1 %	1	1,0106
	2	1,0115
	3	1,0125
KOH 2 %	1	1,0262
	2	1,0263
	3	1,0275
KOH 3 %	1	1,0172
	2	1,0209
	3	1,0219

Fuente: elaboración propia.

Tabla XI. **Índice de refracción del extracto colorante de achiote, a escala laboratorio**

Solvente	Corrida	Índice de Refracción
Agua	1	1,3370
	2	1,3350
	3	1,3360
KOH 1 %	1	1,3620
	2	1,3720
	3	1,3750
KOH 2 %	1	1,4430
	2	1,4460
	3	1,3420
KOH 3 %	1	1,5745
	2	1,5650
	3	1,5720

Fuente: elaboración propia.

Tabla XII. **Identificación de flavonoides por cromatografía en capa fina**

Solvente	Estándar			
	Quercetina	Rutina	Ácido clorogénico	Ácido cafeico
Agua	-	-	-	-
KOH 1 %	-	-	-	-
KOH 2 %	-	-	-	-
KOH 3 %	-	-	-	-

Positivo + negativo -

Fuente: elaboración propia.

Tabla XIII. **Porcentaje de bixina obtenido por medio de cuantificación de espectrofotometría visible a 475 nanómetros**

Solvente	Porcentaje de Bixina
Agua	22,70
Solución acuosa KOH 1 %	14,86
Solución acuosa KOH 2 %	13,50
Solución acuosa KOH 3 %	14,45

Fuente: elaboración propia.

Tabla XIV. **Resultados obtenidos en la prueba sensorial al consumidor, prueba triangular**

Respuesta	Número de panelistas
Correcta	10
Incorrecta	0

Fuente: elaboración propia.

3.9. Tabulación, ordenamiento y procesamiento de la información

En el presente trabajo de graduación se tabularon, ordenaron y procesaron los datos obtenidos en la medición del rendimiento de extracción de colorante natural de achiote, densidad, índice de refracción y respuestas brindadas por los panelistas en la prueba sensorial al consumidor. Obteniendo de esta manera, las siguientes tablas:

Tabla XV. Rendimiento extractivo del colorante natural de achiote, a escala laboratorio

Solvente	Corrida	Peso de semilla (g)	Peso del extracto colorante (g)	Rendimiento (%)	\bar{X}	$\pm \sigma$
Agua	1	100	1,93	1,93	1,41	1,10
	2	100	0,15	0,15		
	3	100	2,16	2,16		
KOH 1 %	1	100	3,76	3,76	2,88	1,13
	2	100	3,28	3,28		
	3	100	1,60	1,60		
KOH 2 %	1	100	5,46	5,46	6,34	1,28
	2	100	5,75	5,75		
	3	100	7,80	7,80		
KOH 3 %	1	100	5,03	5,03	5,40	0,22
	2	100	5,00	5,00		
	3	100	5,40	5,40		

Fuente: elaboración propia.

Tabla XVI. **Densidad del extracto colorante de achiote, a escala laboratorio**

Solvente	Corrida	Densidad (g/mL)	\bar{X}	$\pm \sigma$
Agua	1	0,8961	0,97	0,064
	2	1,0063		
	3	1,0071		
KOH 1 %	1	1,0106	1,01	0,001
	2	1,0115		
	3	1,0125		
KOH 2 %	1	1,0262	1,03	0,001
	2	1,0263		
	3	1,0275		
KOH 3 %	1	1,0172	1,02	0,002
	2	1,0209		
	3	1,0219		

Fuente: elaboración propia.

Tabla XVII. **Índice de refracción del colorante natural de achiote, a escala laboratorio**

Solvente	Corrida	Índice de Refracción	\bar{X}	$\pm \sigma$
Agua	1	1,3370	1,34	0.001
	2	1,3350		
	3	1,3360		
KOH 1 %	1	1,3620	1,37	0.007
	2	1,3720		
	3	1,3750		
KOH 2 %	1	1,4430	1,41	0.059
	2	1,4460		
	3	1,3420		
KOH 3 %	1	1,5745	1,57	0.005
	2	1,5650		
	3	1,5720		

Fuente: elaboración propia.

Tabla XVIII. **Identificación de flavonoides por cromatografía en capa fina**

Solvente	Identificación de Flavonoides	Información adicional
Agua	Negativo	Anexo 1
Solución acuosa KOH 1 %	Negativo	
Solución acuosa KOH 2 %	Negativo	
Solución acuosa KOH 3 %	Negativo	

Fuente: elaboración propia.

Tabla XIX. **Porcentaje de bixina obtenido por medio de cuantificación de espectrofotometría visible a 475 nanómetros**

Solvente	Porcentaje de Bixina	Información adicional
Agua	22,70	Anexo 2
Solución acuosa KOH 1 %	14,86	
Solución acuosa KOH 2 %	13,50	
Solución acuosa KOH 3 %	14,45	

Fuente: elaboración propia.

3.10. Análisis estadístico

En la primera parte para determinar que solvente brinda mayor rendimiento de extracción de colorante natural de achiote, se realizó un análisis de varianza.

- Rendimiento extractivo del colorante natural de achiote a escala laboratorio

Tabla XX. **Tratamientos para análisis factorial del rendimiento extractivo del colorante natural de achiote**

Solvente	Solvente	Solvente	Solvente	Solvente	Total	Media
repetición	A	B	C	D		
1	1,93	3,76	5,46	5,03	16,18	4,05
2	0,15	3,28	5,75	5,00	14,18	3,55
3	2,16	1,60	7,80	5,40	16,96	4,24
Total	4,24	8,64	19,01	15,43	47,32	
Media	1,41	2,88	6,34	5,14		3,95

Fuente: elaboración propia.

Tabla XXI. **Análisis de varianza Anova del rendimiento extractivo del colorante natural de achiote, a escala laboratorio**

Fuente de Variación	Grados de Libertad	Suma de cuadrados	Media de cuadrados	F (calculado)	F (crítica)
Tratamientos	3	44,0989	14,6996	14,09	4,07
Error	8	8,3466	1,0433		
Total	11	52,4455			

Fuente: elaboración propia.

Se realizó un análisis de varianza (Anova), para determinar la aceptación o rechazo de las hipótesis estadísticas, los resultados se analizaron mediante una distribución de Fisher con un 95 por ciento de confiabilidad comparando F calculada con F crítica, según los siguientes criterios:

- F calculada mayor que F crítica, se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa.
- F calculada menor que F crítica, se acepta la hipótesis nula y se rechaza la hipótesis alternativa.
- Prueba triangular al consumidor

En la segunda parte se realizó una prueba triangular al consumidor en donde se aplicó una encuesta a 10 panelistas, obteniendo los siguientes resultados.

Tabla XXII. **Análisis estadístico de prueba triangular al consumidor**

Número de panelistas	Número mínimo de respuestas correctas para establecer diferencia significativa	Respuestas correctas obtenidas	Respuesta
10	7	0	Rechazo de hipótesis nula Aceptación de hipótesis alternativa

Fuente: elaboración propia.

4. RESULTADOS

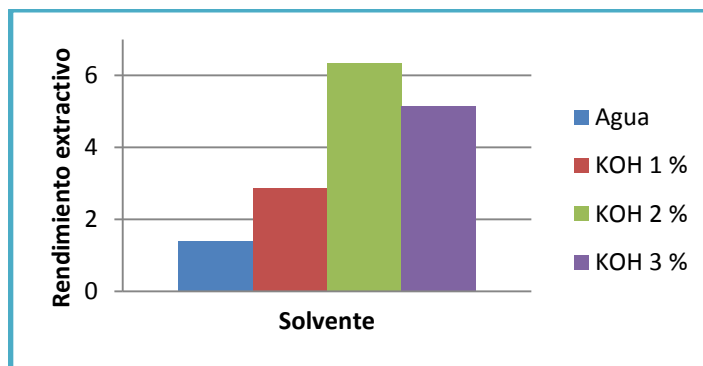
Se presentan a continuación las figuras y gráficas de los resultados obtenidos en la extracción del colorante natural de achiote a escala laboratorio, escala planta piloto, propiedades fisicoquímicas y en la prueba sensorial al consumidor del colorante aplicado en un *yogurt*.

Tabla XXIII. **Rendimiento extractivo de colorante natural de achiote a escala laboratorio**

Solvente	Rendimiento (%)
Agua	2,08 ± 0,13
Solución acuosa KOH 1 %	3,44 ± 0,27
Solución acuosa KOH 2 %	5,57 ± 0,16
Solución acuosa KOH 3 %	5,14 ± 0,22

Fuente: elaboración propia.

Figura 23. **Rendimiento extractivo de colorante de achiote, a escala laboratorio**



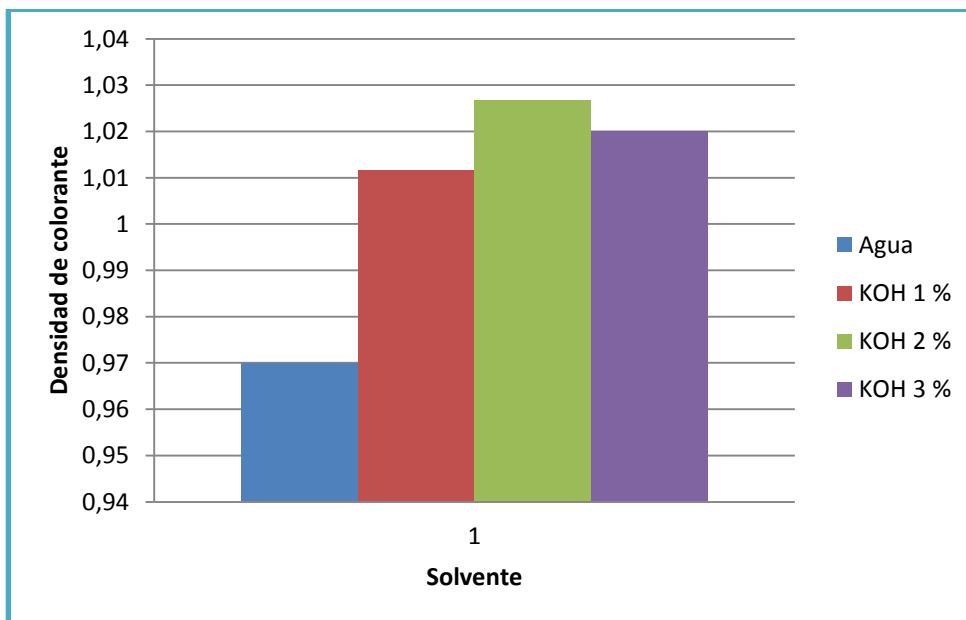
Fuente: elaboración propia.

Tabla XXIV. **Densidad del extracto colorante de achiote, a escala laboratorio**

Solvente	Densidad (g/mL)
Agua	0,970 ± 0,064
Solución acuosa KOH 1 %	1,012 ± 0,001
Solución acuosa KOH 2 %	1,026 ± 0,001
Solución acuosa KOH 3 %	1,020 ± 0,003

Fuente: elaboración propia.

Figura 24. **Densidad del extracto colorante de achiote**



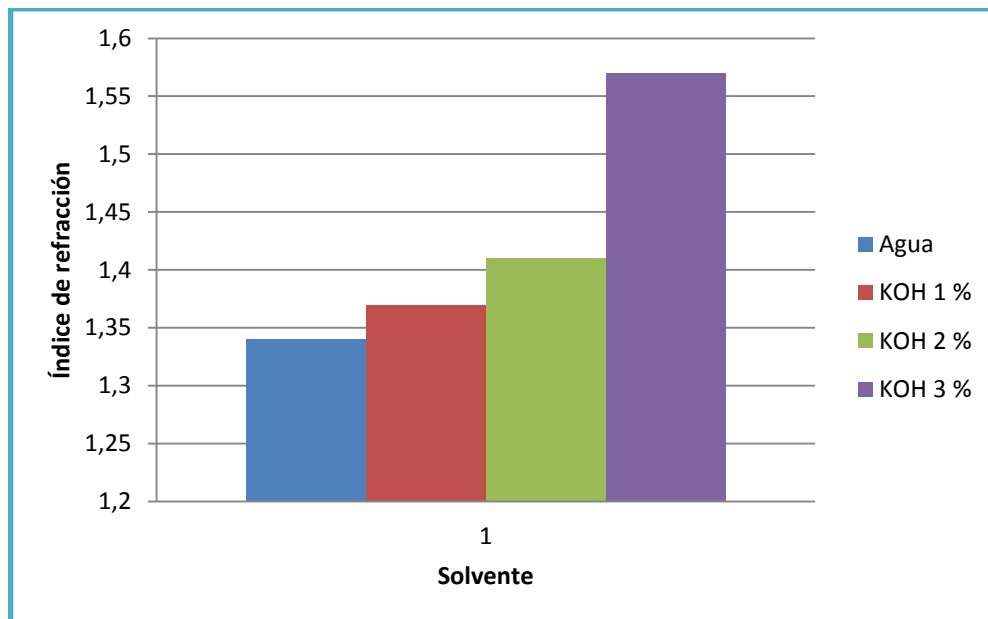
Fuente: elaboración propia.

Tabla XXV. **Índice de refracción del extracto colorante de achiote, a escala laboratorio**

Solvente	Índice de Refracción
Agua	1,336 ± 0,001
Solución acuosa KOH 1 %	1,370 ± 0,007
Solución acuosa KOH 2 %	1,410 ± 0,059
Solución acuosa KOH 3 %	1,571 ± 0,005

Fuente: elaboración propia.

Figura 25. **Índice de refracción del extracto colorante de achiote**



Fuente: elaboración propia.

Tabla XXVI. **Identificación de flavonoides por cromatografía en capa fina**

Solvente	Identificación de Flavonoides
Agua	Negativo
Solución acuosa KOH 1 %	Negativo
Solución acuosa KOH 2 %	Negativo
Solución acuosa KOH 3 %	Negativo

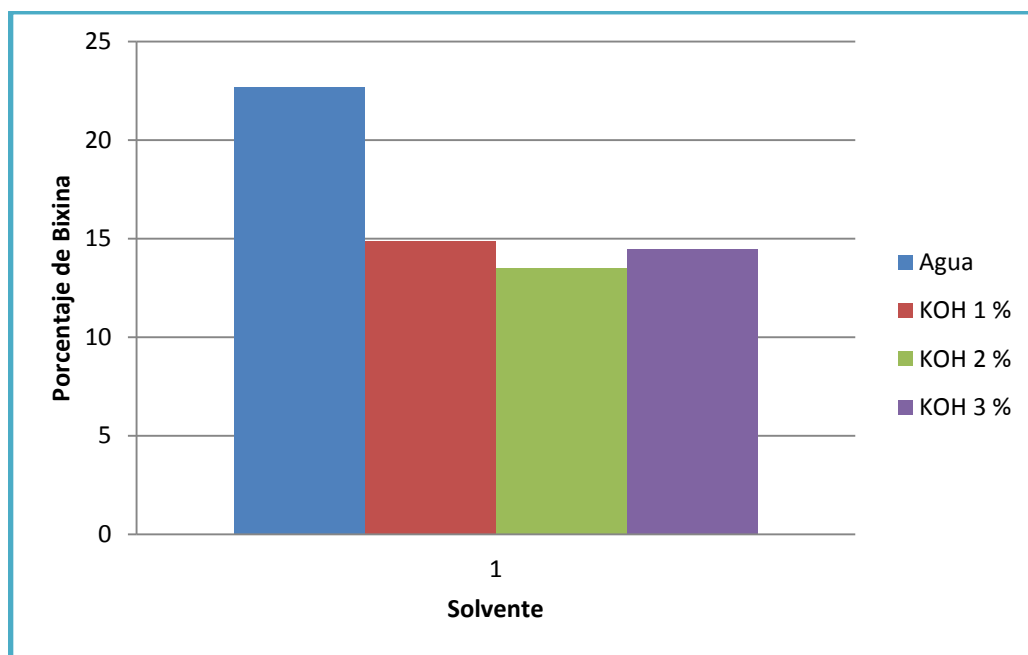
Fuente: elaboración propia.

Tabla XXVII. **Porcentaje de bixina obtenido por medio de espectrofotometría visible a 475 nanómetros**

Solvente	Porcentaje de Bixina
Agua	22,70
Solución acuosa KOH 1 %	14,86
Solución acuosa KOH 2 %	13,50
Solución acuosa KOH 3 %	14,45

Fuente: elaboración propia.

Figura 26. **Porcentaje de bixina en el extracto colorante de achiote**



Fuente: elaboración propia.

Tabla XXVIII. **Rendimiento de la extracción de colorante natural de achiote a escala planta piloto, solvente agua y relación semilla-solvente 1:3**

Rendimiento	
Lote de semilla de achiote	10 Kg
Solvente (Agua)	30 L
Colorante extraído	0,03206 Kg
Rendimiento	0,3206 %

Fuente: elaboración propia.

Tabla XXIX. **Análisis microbiológico**

Análisis	Resultado
Recuento de coliformes totales	< 3 NMP/g
Recuento de coliformes fecales	< 3 NMP/g
Aislamiento e identificación de <i>Escherichia coli</i>	Ausencia
Conclusión	La muestra satisface los criterios de calidad

Fuente: elaboración propia.

Tabla XXX. **Prueba triangular, sensorial al consumidor**

Número de panelistas	10
Número mínimo de respuestas correctas para establecer diferencia significativa	7
Número de respuestas correctas	0
Resultado	Aceptación de hipótesis alternativa

Fuente: elaboración propia.

5. INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

La presente investigación a nivel de trabajo de graduación tuvo como objetivo principal extraer el colorante natural de achiote y evaluar si puede sustituir al colorante amarillo (tartracina) al aplicarlo a un *yogurt*. Las semillas de achiote fueron recolectadas en el municipio de San Miguel Tucurú del departamento de Alta Verapaz, en las casas de la localidad. Está a 476 kilómetros sobre el nivel del mar y predomina el clima cálido húmedo que favorece el desarrollo de plantaciones de achiote. La cosecha de achiote se recolecta en los meses de febrero y marzo, se cortaron las vainas de donde posteriormente se obtuvieron las semillas.

Para lograr los objetivos planteados se realizó la extracción de colorante natural de achiote por medio del método de maceración dinámica (lixiviación sólido - líquido). En la primera etapa se extrajo el colorante con cuatro diferentes solventes agua, solución acuosa de hidróxido de potasio 1, 2 y 3 por ciento, a escala laboratorio; para determinar el solvente que brinda mayor rendimiento extractivo, analizar los principios activos del colorante y las propiedades fisicoquímicas.

En la tabla XXIII es posible observar que el agua fue el solvente que brindó el menor rendimiento extractivo igual a $1,41 \pm 1,10$ por ciento y la solución acuosa de KOH al 2 por ciento fue el solvente de mayor rendimiento extractivo de $6,34 \pm 1,28$ por ciento. La figura 23 muestra una gráfica que permite observar la tendencia del rendimiento extractivo en función del porcentaje de hidróxido de potasio, utilizado como solvente. El modelo matemático que representa esta relación es el siguiente $y = -0,665 x^2 +$

$3,45967x + 1,0813$ un polinomio de grado dos equivalente a una gráfica curva que presenta un punto máximo.

Para establecer este punto el polinomio se igualó a cero y se determinó que según la tendencia de los datos obtenidos en el laboratorio, el máximo rendimiento extractivo utilizando como solvente una solución acuosa de hidróxido de potasio igual a 2,62 por ciento masa/volumen. El modelo matemático tiene un coeficiente de determinación (R^2) igual a 0,65, por lo tanto, describe de forma adecuada el comportamiento del rendimiento extractivo en dependencia de la concentración de hidróxido de potasio utilizada en la extracción del colorante.

En la figura 23 se observa que al incrementarse la concentración de hidróxido de potasio aumenta el rendimiento extractivo hasta alcanzar un punto máximo, después de este punto la tendencia es contraria. La primera parte de la gráfica se debe a que durante la extracción del colorante natural de achiote se da una reacción de hidrólisis alcalina en donde la Bixina (insoluble en agua) contenida en las semillas de achiote se transforma en una sal de ácido dicarboxílico que recibe el nombre de: norbixina, (soluble en agua). El aumento de iones hidroxilo en la solución favorece esta reacción y por consiguiente la extracción de pigmentos colorantes.

Después de alcanzar el punto máximo en la gráfica y al aumentar la concentración de hidróxido de potasio en el solvente, el rendimiento extractivo se reduce. Esto se debe a que los principales pigmentos presentes en las semillas de achiote son carotenoides, que se caracterizan por su elevado grado de insaturación, favoreciendo reacciones colaterales como la isomeración y oxidación.

La tabla XXI contiene el análisis de varianza Anova de los rendimientos extractivos obtenidos en el laboratorio. Se realizó un análisis estadístico unifactorial y las muestras fueron extraídas en orden aleatorio para reducir el error. Con los datos teóricos y utilizando la distribución de Fisher se estableció una F crítica igual a 4,07, según el análisis de los datos obtenidos en el laboratorio se llegó a obtener una F calculada igual a 14,09. Como la F calculada es mayor que la F crítica se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa. Afirmando de esta manera, que el rendimiento de extracción del colorante natural de achiote tiene diferencia significativa en relación con el solvente que se utiliza, con un 95 por ciento de certeza.

La densidad es una propiedad intensiva de la materia, es decir, que es una característica particular de la sustancia sin importar la cantidad de muestra con que se cuente. En la tabla XXVI, se encuentra la densidad de los extractos colorantes obtenidos en el laboratorio los valores varían de $0,9698 \pm 0,064$ gramos por mililitro a $1,0267 \pm 0,001$ gramos por mililitro. Es decir que la densidad del colorante de achiote es ligeramente superior a la del agua.

El índice de refracción es el coeficiente entre la velocidad de la luz en el vacío y la velocidad de la luz en un medio determinado, en este caso el colorante de achiote. La tabla XXV, contiene los índices de refracción determinados en el laboratorio que están comprendidos en el intervalo de $1,34 \pm 0,001$ a $1,57 \pm 0,005$. Los resultados obtenidos, del índice de refracción indican que la velocidad de la luz en el vacío es mayor a la velocidad de la luz en el colorante de achiote.

Se realizó un análisis de cromatografía en capa fina al colorante natural de achiote en donde la presencia de flavonoides fue negativa. Asimismo, se realizó un estudio de espectrofotometría visible a 475 nanómetros, en donde se

identificó la presencia de bixina que es un carotenoide. Este resultado coincide con la teoría en donde se afirma que la bixina es el principal componente del colorante de achiote. Pues la bixina es el principio activo que le da el color amarillo-rojo al achiote.

En la tabla XXVII se muestran los porcentajes de Bixina obtenidos por medio de una cuantificación de espectrofotometría visible a 475 nanómetros, con cada uno de los solventes utilizados en el laboratorio. Los resultados demostraron que utilizando como solvente agua el colorante tiene un mayor porcentaje de bixina igual a 22,70 por ciento y el menor porcentaje se obtuvo al utilizar como solvente solución acuosa KOH 2 por ciento igual a 13,50 por ciento. Tomando en cuenta lo anterior se tomó la decisión de utilizar agua como solvente en la extracción a escala planta piloto, porque brinda un mayor porcentaje de bixina, es más efectivo, menos tóxico y económico.

La tabla XXVIII muestra los resultados de la extracción de colorante natural de achiote a escala planta piloto utilizando como solvente agua, con una relación semilla-solvente 1:3. El rendimiento fue muy bajo pues se utilizaron 10 kilogramos de semilla de achiote fresco y se obtuvieron únicamente 0,03206 kilogramos de colorante natural de achiote. Esto se debió a que en la extracción a escala planta piloto no se contó con el sistema al vacío para realizar la filtración, como en el laboratorio. Por lo tanto se realizó la filtración por gravedad, perdiendo de esta manera colorante.

El colorante natural de achiote extraído a escala planta piloto se aplicó a una muestra *yogurt* natural y posteriormente se le realizó un análisis microbiológico en el laboratorio LAFYM, los resultados fueron positivos y determinaron ausencia de *Escherichia Coli*, coliformes totales y coliformes fecales menores a los parámetros establecidos por la ley. Estableciendo de esta

manera, que el producto que contiene colorante natural de achiote reúne los requisitos mínimos para ser ingerido por los consumidores. Estos resultados se muestran en la tabla XXXII.

Finalmente, se realizó una prueba sensorial al consumidor, prueba triangular. En la tabla XXIX se encuentran los resultados obtenidos en esta prueba, en donde 10 personas percibieron la diferencia entre los productos que contenían los dos tipos de colorante. Debían de identificar la diferencia entre los colorantes menos de 7 personas para aceptar la hipótesis nula. Por lo que se aceptó la hipótesis alternativa, afirmando que para el consumidor, con un 95 por ciento de confianza, existe diferencia significativa entre el producto que contiene colorante natural de achiote y el producto que contiene colorante amarillo. Esto se debió a que el colorante de achiote proporcionó un color rosado al *yogurt*, esto se debe al alto contenido de bixina que contiene el colorante. Podría utilizarse para sustituir a un colorante rojo.

CONCLUSIONES

1. El mayor rendimiento extractivo obtenido en el laboratorio fue igual a 6,34 \pm 1,28 por ciento y se obtuvo al utilizar como solvente solución acuosa de hidróxido de potasio al 2 por ciento masa por volumen.
2. Existe diferencia significativa entre los rendimientos de extracción de colorante natural de achiote, al variar la concentración de hidróxido de potasio en el solvente utilizado.
3. El colorante natural de achiote, obtenido en el laboratorio, no contiene flavonoides.
4. Mediante espectrofotometría visible se comprobó que la bixina es el componente principal del colorante natural de achiote obtenido en el laboratorio.
5. El colorante natural de achiote que contiene mayor porcentaje de bixina, es el obtenido al utilizar como solvente agua.
6. El colorante natural de achiote extraído, utilizando como solvente agua, tiene una densidad promedio igual a 0,9698 gramos por mililitro y un índice de refracción promedio de 1,34.
7. El producto que contiene colorante natural de Achiote, satisface los criterios de calidad, según análisis microbiológico.

8. El mayor porcentaje de bixina en el extracto colorante de achiote, se obtuvo al utilizar como solvente agua y fue igual a 22,70 por ciento.
9. El consumidor percibe diferencia significativa entre el producto que contiene colorante natural de achiote y el producto que contiene colorante amarillo, con un 95 por ciento de confiabilidad.

RECOMENDACIONES

1. Aplicar los extractos colorantes de achiote en el proceso de tinción de fibras naturales como lana y algodón.
2. Aplicar los extractos colorantes de achiote para sustituir a un colorante rojo.
3. Realizar la extracción de colorante natural de achiote, con otros solventes para comparar rendimientos.

BIBLIOGRAFÍA

1. BARRERA, Genaro. *Lixiviación de colorantes del tipo flavonoides obtenidos en la corteza de la especie forestal aliso (Alnus arguta (Schldl) Spach), utilizando dos solventes para su extracción, a nivel laboratorio*. Trabajo de graduación de Ing. Química, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ingeniería, 2008. 112 p.
2. CALDERÓN, Mario. *Extracción y caracterización fisicoquímica del extracto colorante de la corteza de aliso común (Alnus Jorullensis Humboldt, Bonpland & Kunth), proveniente de San Lucas Sacatepéquez, Guatemala*. Trabajo de graduación de Ing. Química, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ingeniería, 2007. 134 p.
3. DEVIA, Jorge. *Planta piloto para obtener colorante de semilla de achote (Bixa orellana)*. Trabajo de graduación, Universidad EAFIT Medellín Colombia, 2003. 22 p.
4. FIGUEROA, Neri. *Colección y caracterización de diferentes materiales de achote (Bixa orellana L.) en los departamentos de Suchitepéquez y Retalhuleu*. Trabajo de graduación, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Agronomía, 1995. 54 p.
5. GUERRERO, Mario. *Lixiviación parametrizada y caracterización fisicoquímica a nivel laboratorio del extracto colorante de la*

corteza de Quebracho (Lysiloma auritum (Schld) Benth) proveniente de Jocotán, Chiquimula, Guatemala. Trabajo de graduación de Ing. Química, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ingeniería, 2008. 170 p.

6. GUZMÁN, Francisco. *Estudio de prefactibilidad y diseño de una planta industrial para la extracción del colorante derivado de la semilla de achiote (Bixa orellana Linn).* Trabajo de graduación, Universidad Autónoma Metropolitana México, 1992. 20 p.
7. WANTTS, B.M. *Métodos sensoriales básicos para la evaluación de alimentos.* Ottawa Canada: Internacional Development Research Centre, 1992. 36 p.
8. WITTCOFE, Harold. *Productos químicos industriales.* México: Limusa, 2008. 483 p.
9. QUIÑONEZ, Byron. *Extracción de colorante de chile jalapeño (Capsicum Annan L.) a nivel laboratorio con tres solvente.* Trabajo de graduación de Ing. Química, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ingeniería, 2004. 69 p.
10. SANTA CRUZ, Claudia. *Extracción a nivel laboratorio de aceite esencia crudo de pericón (Tagetes lucida Cav.) y utilización del desecho sólido para la extracción del colorante natural, para su uso en el teñido de fibras naturales.* Trabajo de graduación de Ing. Química, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ingeniería, 2005. 131 p.

11. TAMMIME, A.Y. *Yogur ciencia y tecnología*. España: Acribia, 1991. 82 p.
12. ZOLEZZI, Octavio. [en línea].<http://www.perucondor.com/articulos/es_achiote02htm> [5 de abril de 2011].

APÉNDICES

Apéndice 1. Encuesta de prueba sensorial al consumidor

PRUEBA TRIANGULAR

NOMBRE: _____ **FECHA** _____

NOMBRE DEL PRODUCTO _____

Frente a usted hay tres muestras de *yogurt* dos son iguales y uno diferente, saboree cada una con cuidado y marque con una X la muestra diferente.

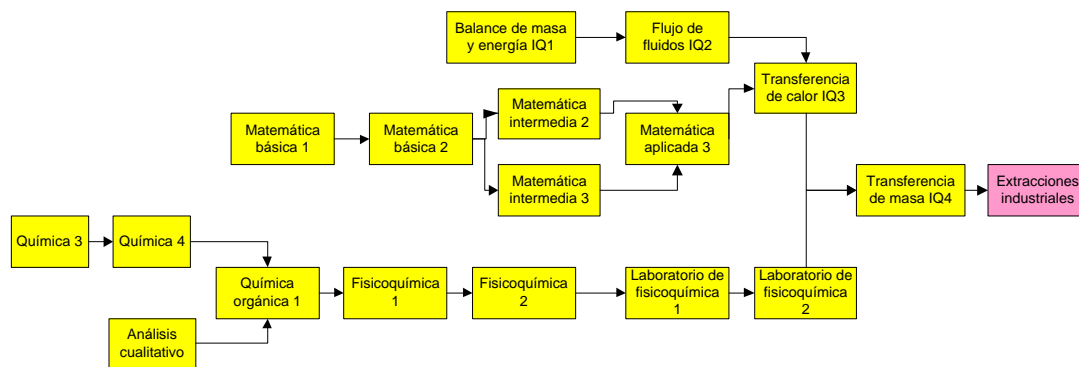
Muestras	Muestra diferente
369	
267	
468	

COMENTARIOS:

¡Gracias por su colaboración!

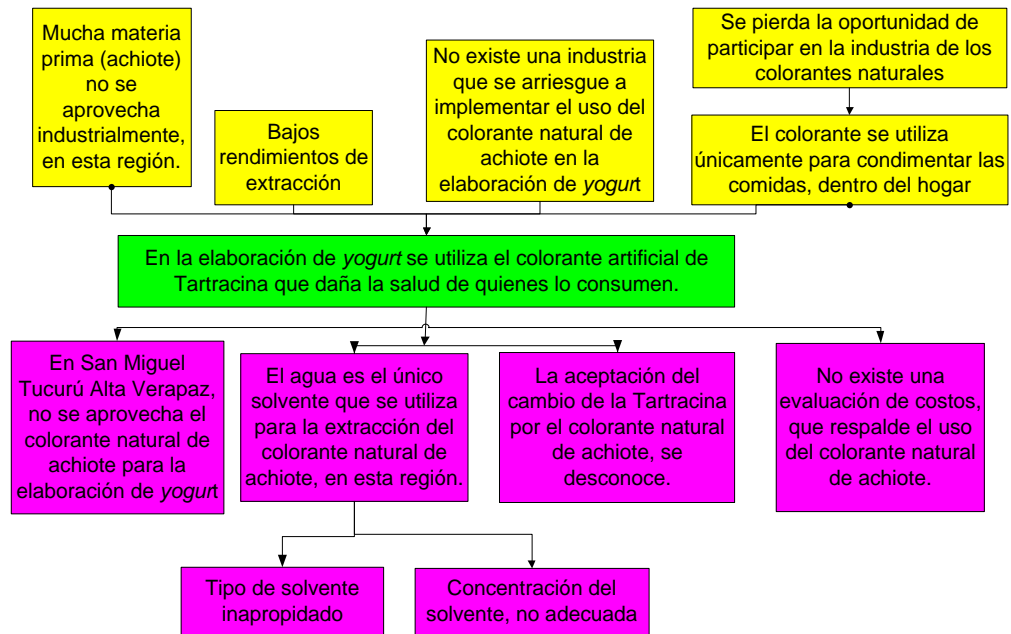
Fuente: elaboración propia.

Apéndice 2. Requisitos académicos



Fuente: elaboración propia

Apéndice 3. Diagrama de árbol



Fuente: elaboración propia.

Apéndice 4. Recolección de materia prima, achiote, en el municipio de San Miguel Tucurú, Alta Verapaz



Continuación del apéndice 4.

Vainas de achiote recolectadas



Continuación del apéndice 4.

Achiote recolectado



Fuente: municipio de San Miguel Tucurú, Alta Verapaz.

Apéndice 5. Método tradicional de extracción colorante natural de achiote, en una casa del municipio de San Miguel Tucurú, Alta Verapaz



Continuación del apéndice 5.

Método tradicional de extracción



Fuente: municipio de San Miguel Tucurú, Alta Verapaz.

Apéndice 6. Obtención de las semillas de las vainas de achiote.



Fuente: municipio de San Miguel Tucurú, Alta Verapaz.

Apéndice 7. Extracción de colorante natural de achiote a escala laboratorio



Continuación del apéndice 7.

Agitación de semillas con solvente



Separación del extracto colorante de las semillas de achiote



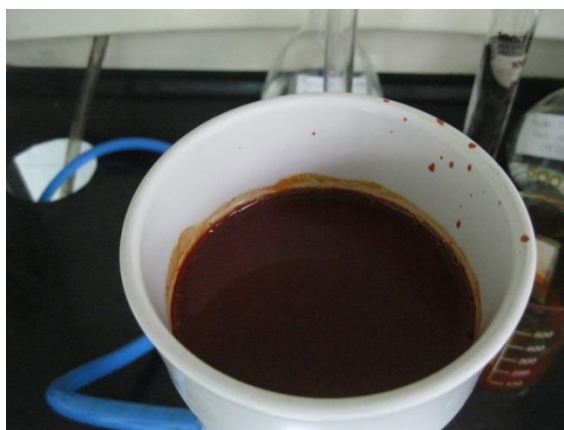
Continuación del apéndice 7.

Precipitación de colorante de achiote, después de agregar el ácido sulfúrico



Continuación del apéndice 7.

Filtración al vacío del extracto colorante de achiote



Fuente: Laboratorio de Investigación de Extractos Vegetales LIEXVE.

Apéndice 8. Extracción de colorante natural de achiote a escala planta piloto

Materia prima, semillas de achiote



Tamizaje de semillas de achiote



Continuación del apéndice 8.

Semillas de achiote con solvente en maceración estática



Semillas de achiote separadas del primer extracto colorante



Semillas de achiote y solvente, en maceración dinámica



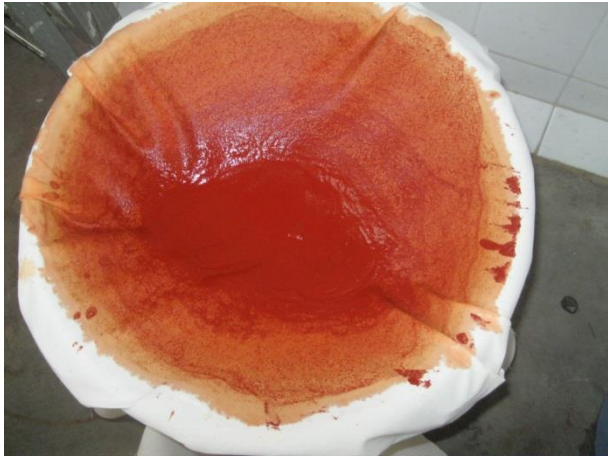
Continuación del apéndice 8.

Separación del extracto colorante de las semillas

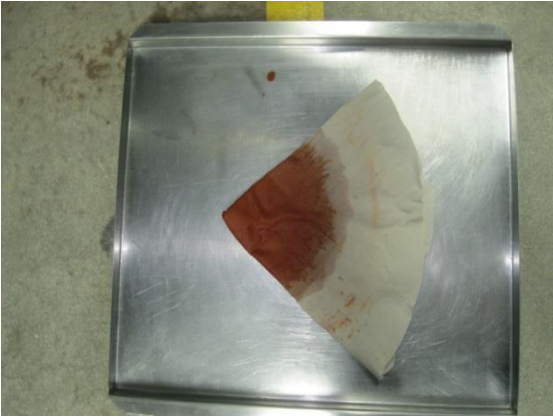


Continuación del apéndice 8.

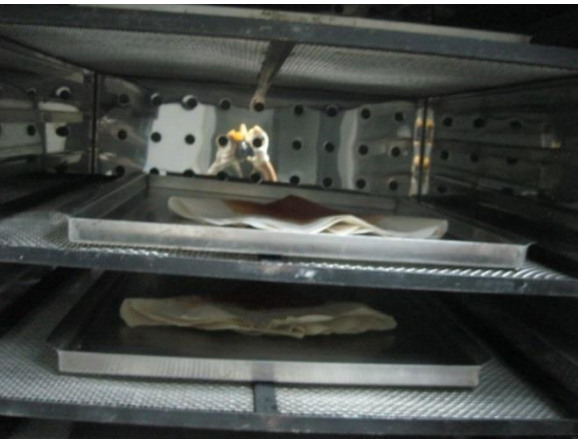
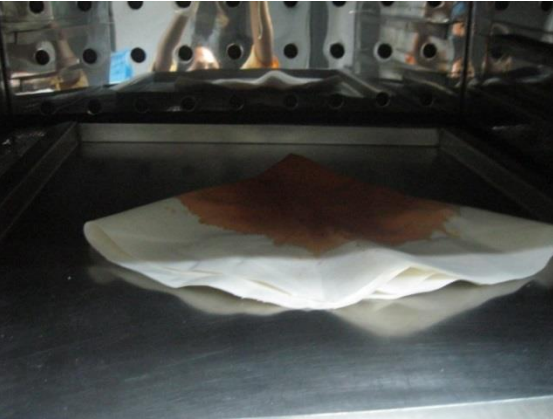
Filtración por gravedad, del extracto colorante



Continuación del apéndice 8



Secado del colorante de achiote



Continuación del apéndice 8



Envasado del colorante natural de achiote



Continuación del apéndice 8



Fuente: Laboratorio de Investigación de Extractos Vegetales LIEXVE.

ANEXOS

Anexo 1. Identificación de flavonoides por medio de cromatografía en capa fina



Fuente: Laboratorio de Investigación de Productos Naturales, LIPRONAT, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, USAC.

Anexo 2. Identificación de porcentaje de Bixina por medio de espectrofotometría visible

Solvente: agua

LASER Laboratorio de Análisis y Servicios, S. A.
 5a. Avenida 2-84, Zona 1, Lomas de Portugal, Mixco, Guatemala, 01057
 Tels.: 2438-5863, 2438-5873 y 2438-5883 FAX: 2438 7385
 E-mail: lablaser@grupolaser.com

Informe de análisis 184691-13

Nombre de la muestra:	Colorante natural de achiote, solvente agua
Empresa:	Ing. Zoila Reyes
Fecha de recepción:	2013-03-12
Recipiente:	Envase vidrio
Número de lote:	s/n
Cantidad recibida:	4 x 500 miligramos
Fecha de fabricación:	s/n
Fecha vencimiento:	s/n

Análisis químico

Resultados:

Unidad de contenido	Cada 100 gramos
---------------------	-----------------

Análisis solicitado	Resultado	Dimensional	Valor porcentual		
Bixina	22.70	gramos	22.70		
Análisis	Metodología		MIL	Fecha finalización del análisis	Analista
Bixina	Cuantificación por espectrofotometría visible a 475 nanómetros.		11.510.029	2013-04-05	NG

Observaciones:
 El análisis corresponde a la muestra tal y como se recibió.

LABORATORIO DE ANALISIS Y SERVICIOS, S.A.
LASER

Lic. Jorge Mario Guebara E.
 Responsable
 Jefe de Laboratorio

223,272 201

Fuente: Laboratorio de Análisis y Servicios, S. A.

Continuación del anexo 2.

Identificación de bixina por medio de espectrofotometría visible a 475 nanómetros, solvente: solución acuosa KOH 1 por ciento

LASER Laboratorio de Análisis y Servicios, S. A.
 5a. Avenida 2-84, Zona 1, Lomas de Portugal, Mixco, Guatemala, 01057
 Tels.: 2438-5863, 2438-5873 y 2438-5883 FAX: 2438 7385
 E-mail: lablaser@grupolaser.com

Informe de análisis 184692-13

Nombre de la muestra:	Colorante natural de achiote, solvente solución acuosa KOH 1 %
Empresa:	Ing. Zoila Reyes
Fecha de recepción:	2013-03-12
Recipiente:	Envase vidrio
Número de lote:	s/n
Cantidad recibida:	4 x 500 miligramos
Fecha de fabricación:	s/n
Fecha vencimiento:	s/n

Análisis químico

Resultados:

Unidad de contenido	Cada 100 gramos
---------------------	-----------------

Análisis solicitado	Resultado	Dimensional	Valor porcentual		
Bixina	14.86	gramos	14.86		
Análisis	Metodología	MIL	Fecha finalización del análisis	Analista	
Bixina	Cuantificación por espectrofotometría visible a 475 nanómetros.	11.510.029	2013-04-05	NG	

Observaciones:
 El análisis corresponde a la muestra tal y como se recibió.

LABORATORIO DE ANALISIS Y SERVICIOS, S. A.
LASER

Lic. Jorge Mario Guerra
 Responsable
 Jefe de Laboratorio

223.273

Fuente: Laboratorio de Análisis y Servicios, S. A.

Continuación del anexo 2.

Identificación de bixina por medio de espectrofotometría visible a 475 nanómetros, solvente: solución acuosa KOH 2 por ciento

LASER Laboratorio de Análisis y Servicios, S. A.
 5a. Avenida 2-84, Zona 1, Lomas de Portugal, Mixco, Guatemala, 01057
 Tels.: 2438-5863, 2438-5873 y 2438-5883 FAX: 2438 7385
 E-mail: lablaser@grupolaser.com

Informe de análisis 184693-13

Nombre de la muestra:	Colorante natural de achiote, solvente solución acuosa KOH 2 %
Empresa:	Ing. Zoila Reyes
Fecha de recepción:	2013-03-12
Recipiente:	Envase vidrio
Número de lote:	s/n
Cantidad recibida:	4 x 500 miligramos
Fecha de fabricación:	s/n
Fecha vencimiento:	s/n

Análisis químico

Resultados:

Unidad de contenido	Cada 100 gramos
---------------------	-----------------

Análisis solicitado	Resultado	Dimensional	Valor porcentual		
Bixina	13.50	gramos	13.50		

Análisis	Metodología	MIL	Fecha finalización del análisis	Analista
Bixina	Cuantificación por espectrofotometría visible a 475 nanómetros.	11.510.029	2013-04-05	NG

Observaciones:
 El análisis corresponde a la muestra tal y como se recibió.

LABORATORIO DE ANALISIS Y SERVICIOS, S.A.
LASER

Lic. Jorge Mario Cordero E.
 Responsable

Fuente: Laboratorio de Análisis y Servicios, S. A.

Continuación del anexo 2.

Identificación de bixina por medio de espectrofotometría visible a 475 nanómetros, solvente: solución acuosa KOH 3 por ciento

LASER Laboratorio de Análisis y Servicios, S. A.
 5a. Avenida 2-84, Zona 1, Lomas de Portugal, Mixco, Guatemala, 01057
 Tels.: 2438-5863, 2438-5873 y 2438-5883 FAX: 2438 7385
 E-mail: lablaser@grupolaser.com

Informe de análisis 184694-13

Nombre de la muestra:	Colorante natural de achiote, solvente solución acuosa KOH 3 %
Empresa:	Ing. Zoila Reyes
Fecha de recepción:	2013-03-12
Recipiente:	Envase vidrio
Número de lote:	s/n
Cantidad recibida:	4 x 500 miligramos
Fecha de fabricación:	s/n
Fecha vencimiento:	s/n

Análisis químico

Resultados:

Unidad de contenido	Cada 100 gramos
---------------------	-----------------

Análisis solicitado	Resultado	Dimensional	Valor porcentual		
Bixina	14.45	gramos	14.45		

Análisis	Metodología	MIL	Fecha finalización del análisis	Analista
Bixina	Cuantificación por espectrofotometría visible a 475 nanómetros.	11.510.029	2013-04-05	NG

Observaciones:
 El análisis corresponde a la muestra tal y como se recibió.

LABORATORIO DE ANALISIS Y SERVICIOS, S. A.
LASER

Lic. Jorge Mario Guerra
 Responsable
 Jefe de Laboratorio

3,275

Fuente: Laboratorio de Análisis y Servicios, S. A.

Anexo 3. Análisis microbiológico de muestra de yogurt con colorante natural de achiote

Universidad de San Carlos de Guatemala

 Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia
 Laboratorio de Análisis Físicoquímicos y Microbiológicos LAFYM
Informe de Resultados de Análisis Microbiológico en Alimentos

No. de ingreso:	1354	No. De muestra:	1 (unidad)
Dirigido a:	<i>Zoila Concepción Reyes</i>	Responsable de la toma de muestra:	Personal ajeno al LAFYM
Nombre del producto:	Yogurt natural con pigmento de achiote	Fecha y Hora de toma de muestra:	29/08/13
		Fecha y Hora ingreso al laboratorio	29/08/13
Lote:	Sin número de lote	Inicio del análisis	29/08/13

ANÁLISIS	RESULTADO	DIMENSIONAL
Recuento de Coliformes Totales	< 3 NMP/g	NMP/g (Caldo Lactosado, caldo BVB, 48 horas incubación 35° ± 0.5°C)
Recuento de Coliformes fecales	< 3 NMP/g	NMP/g (Caldo Lactosado, caldo EC, 48 horas incubación 44° ± 0.5°C)
Aislamiento e Identificación de <i>Escherichia coli</i>	Ausencia	NMP/g (Caldo Lactosado, caldo EC, 48 horas incubación 44° ± 0.5°C, IMVIC)

Límites recomendados RTCA 67.04.50:08
 Coliformes fecales: < 3 NMP/g

Conclusiones:
 La muestra recibida y analizada en el laboratorio, satisface los criterios de calidad.

*Métodos de Referencia: BAM, APHA
 *Prohibida la parcial o total reproducción por el cliente u otra persona, sin la debida autorización escrita por parte del laboratorio LAFYM
 *Estos informe pertenecen única y exclusivamente a la muestra descrita, tal y como fue recibida en el laboratorio.

I. Nomenclatura utilizada:
 UFC/g Unidades Formadoras de Colonia por gramo


 Claudia Garcia, QB
 Analista




 Lida Ana Rada de Garcia, QB
 Garantía de calidad

3^a Calle 6-47 zona 1
 Teefax: 22531319
 lafymusac@intelnatt.com


 Química Bióloga
 Col. 2533

Fuente: Laboratorio de Análisis Físicoquímicos y Microbiológico LAFYM.

Anexo 4. Informe de resultados obtenidos en la extracción de Colorante de achiote, en el Laboratorio de Investigación de Extractos Vegetales (LIEXVE)



CENTRO DE INVESTIGACIONES DE INGENIERIA
FACULTAD DE INGENIERIA
UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA



O.T. No. 30186
No. Informe LIEXVE-QI 19-2013

Interesado: Zolla Concepción Reyes Buenafe, Carnet No. 2003-13382.
Proyecto: Trabajo de Graduación: "Extracción y evaluación del colorante natural de achiote (*Bixa orellana* L.) como sustituto del colorante E-102 amarillo No.5 tartracina, en la elaboración de un yogurt."
Muestra: 1 lote de semilla de achiote.
Fecha: Guatemala, 25 de noviembre de 2013.

Se obtuvieron los rendimientos de la extracción de colorante de achiote, utilizando semilla fresca y entera con cuatro diferentes solventes, agua, solución acuosa de hidróxido de potasio al 1%, 2% y 3% m/v. Con una relación semilla-solvente de 1:3.

RESULTADOS

Tabla No.1. Porcentaje de rendimiento de extracto colorante de achiote extraído con diferentes solventes a escala laboratorio.

Porcentaje de rendimiento de extracto colorante de achiote* (%)				
Solvente	R1	R2	R3	Promedio $\pm \sigma$
Agua	1.93	0.15	2.16	1.41 \pm 1.10
Solución acuosa de KOH 1%	3.76	3.28	1.60	2.88 \pm 1.13
Solución acuosa de KOH 2%	5.46	5.75	7.80	6.34 \pm 1.28
Solución acuosa de KOH 3%	5.03	5.00	5.40	5.14 \pm 0.22

*Muestra proporcionada por el interesado

Tabla No.2. Índice de refracción de colorante de achiote extraído con diferentes solventes a escala laboratorio

Índice de refracción				
Solvente	R1	R2	R3	Promedio $\pm \sigma$
Agua	1.3370	1.3350	1.3380	1.34 \pm 0.001
Solución acuosa de KOH 1%	1.3620	1.3720	1.3750	1.37 \pm 0.007
Solución acuosa de KOH 2%	1.4430	1.4460	1.3420	1.41 \pm 0.059
Solución acuosa de KOH 3%	1.5745	1.5650	1.5720	1.57 \pm 0.005

*Muestra proporcionada por el interesado

Página 1 de 4

Continuación del anexo 4.



CENTRO DE INVESTIGACIONES DE INGENIERIA
FACULTAD DE INGENIERIA
UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA



Tabla No. 3. Densidad de extracto colorante de achiote, extraído con diferentes solventes, a escala laboratorio.

Densidad (g/mL)				
Solvente	R1	R2	R3	Promedio $\pm \sigma$
Agua	0.8961	1.0063	1.0071	0.97 \pm 0.064
Solución acuosa de KOH 1%	1.0106	1.0115	1.0125	1.01 \pm 0.001
Solución acuosa de KOH 2%	1.0262	1.0263	1.0275	1.03 \pm 0.001
Solución acuosa de KOH 3%	1.0172	1.0209	1.0219	1.02 \pm 0.002

*Muestra proporcionada por el interesado

Tabla No. 4. Porcentaje de rendimiento de extracto colorante de achiote, a escala planta piloto.

Porcentaje de rendimiento de extracto colorante de achiote (%)			
Solvente	Lote (Kg)	Volumen del Solvente (L)	Rendimiento (%)
Agua	10	30	0.3206

*Muestra proporcionada por el interesado

ANEXOS

Figura No. 1. Obtención del fruto y semilla de achiote.



Página 2 de 4

Continuación del anexo 4.



CENTRO DE INVESTIGACIONES DE INGENIERIA
FACULTAD DE INGENIERIA
UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA



Figura No. 2. Preparación de las muestras de semilla de achiote con solvente.



Figura No. 3. Separación del extracto colorante obtenido de las semillas de achiote.



Figura No.4. Precipitación del colorante de achiote agregando ácido sulfúrico al 10% m/v y filtración al vacío.



Continuación del anexo 4.



CENTRO DE INVESTIGACIONES DE INGENIERIA
FACULTAD DE INGENIERIA
UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA



Figura No. 5. Maceración dinámica para obtención de extracto colorante de achiote a escala planta piloto, utilizando relación semilla-solvente 1:3 a 45 rpm y filtración por gravedad.

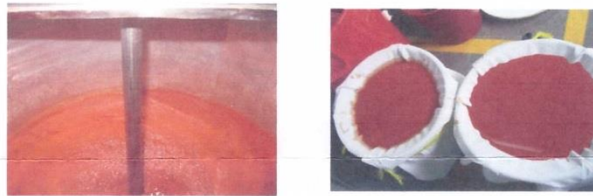
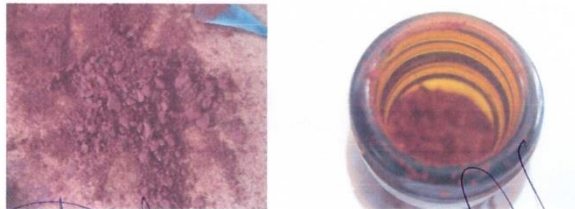


Figura No. 6. Extracto colorante de achiote en polvo, obtenido a escala planta piloto



Ing. Qco. Mario José Mérida Méxé
COORDINADOR
Laboratorio de Investigación de Extractos Vegetales
-LIXVE-
Sección Química Industrial CII/USAC

Vo.Bo. Ing. Qco. Cesar Alfonso García
JEFE
Sección Química Industrial CII/USAC



Vo.Bo. Inga. Qca. Telma Maricela Cano Morales
DIRECTORA
Centro de Investigaciones de Ingeniería CII/USAC

Fuente: Laboratorio de Investigación de Extractos Vegetales.