

664.3 <sup>Ucaldas</sup>  
665.3



665.35

Universidad Tecnica Particular de Loja  
BIBLIOTECA GENERAL

Revisado el 20-Feb-87

Valor \$ 200.00

Nó Clasificación 1987. C352 IA 30

664  
Colorantes de los alimentos  
Alimentación animal  
Aves

664.062  

---

664



**Universidad Técnica Particular de Loja**

*FACULTAD DE INGENIERIA EN INDUSTRIAS AGROPECUARIAS*

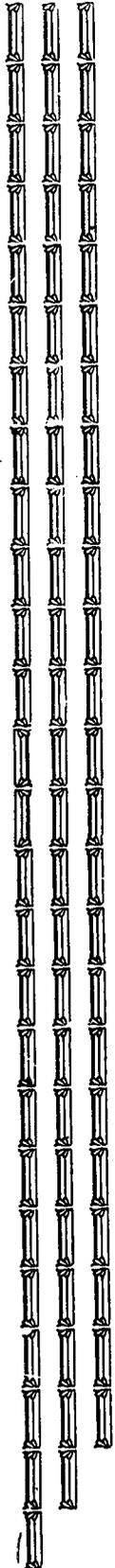
**EXTRACCION DE BIXINA CRISTALIZADA  
A PARTIR DE LA SEMILLA DE  
ACHIOTE Y SU APLICACION EN LA  
ALIMENTACION DE AVES**

*TESIS PREVIA A LA OBTENCION  
DEL TITULO DE INGENIERO EN  
INDUSTRIAS AGROPECUARIAS*

*Luis A. Castillo Monge  
Bolívar A. Pineda Serrano*

*DIRECTOR:  
Ing. Héctor Ramírez*

*LOJA - ECUADOR  
1987*





*Esta versión digital, ha sido acreditada bajo la licencia Creative Commons 4.0, CC BY-NY-SA: Reconocimiento-No comercial-Compartir igual; la cual permite copiar, distribuir y comunicar públicamente la obra, mientras se reconozca la autoría original, no se utilice con fines comerciales y se permiten obras derivadas, siempre que mantenga la misma licencia al ser divulgada. <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/deed.es>*

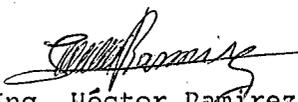
*Septiembre, 2017*

Ingeniero  
HECTOR RAMIREZ  
DIRECTOR DE TESIS

Catedrático de la Universidad Técnica Particular de Loja, Facultad de Ingeniería en Industrias Agropecuarias, Director de la Tesis: "EXTRACCION DE BIXINA CRISTALIZADA A PARTIR DE LA SEMILLA DE ACHIOTE Y SU APLICACION EN LA ALIMENTACION DE AVES", elaborada por los señores Bolívar Pineda S. y Luis Castillo M.

C E R T I F I C A:

Que el presente trabajo ha sido -  
prolijamente revisada, por lo tanto queda autorizada su presentación y sustentación.

  
Ing. Héctor Ramírez  
DIRECTOR

## A U T O R I A

El presente trabajo, así como las ideas y conceptos vertidos en él, - son de exclusiva responsabilidad de los autores.

LOS AUTORES

## DEDICATORIA

A Dios, a nuestros padres, hermanos y amigos que siempre estuvieron pre sentes en los momentos difíciles pa ra brindarnos todo su apoyo y nunca permitieron que se quebrante nues-- tra voluntad de superación y progre so ante la adversidad.

Bolívar

Luis

#### A G R A D E C I M I E N T O

Queremos dejar constancia de nuestra eterna gratitud a todos y cada uno de las personas que de alguna forma colaboraron con nuestro trabajo y - muy especialmente al Ing. Héctor Ramírez, Director de nuestra Tesis, a los Ingenieros Antonio Armijos y Jaime Guamán, asesores, quienes con sus importantes indicaciones supieron enrumbar correctamente la presente investigación.

LOS AUTORES

INDICE

" EXTRACCION DE BIXINA CRISTALIZADA A PARTIR DE LA SEMILLA DE  
ACHIOTE Y SU APLICACION EN LA ALIMENTACION DE AVES "

CERTIFICACION .....	ii
AUTORIA .....	iii
DEDICATORIA .....	iv
AGRADECIMIENTO .....	v
INDICE .....	vi
RESUMEN .....	vii
SUMMARY .....	vii

CAPITULO I

INTRODUCCIÓN

1.1. Objetivos y alcance del estudio .....	2
1.2. Inocuidad de la sustancia colorante de la semilla de achiote .	4
1.3. Importancia y usos de la sustancia colorante de la semilla - de achiote en productos de consumo humano y alimentos balan- ceados .....	5
1.4. Importancia y usos de la semilla de achiote luego de haber - sido extraída la sustancia colorante .....	6

CAPITULO II

ESTUDIO DEL MERCADO

2.1. Estudio de la oferta .....	8
2.1.1. Producción de achiote en el país .....	8
2.1.2. Producción de achiote en la provincia de Loja .....	11

2.1.3.	Producción de Bixina en el país para usos en alimentos de consumo animal ( balanceados ).....	12
2.1.4.	Importaciones de sustancias colorantes para uso en alimentos balanceados .....	13
2.1.5.	Alternativas de producción de Bixina .....	14

### CAPITULO III

#### ESTUDIOS DE LA DEMANDA ACTUAL Y FUTURA DE ACHIOTE

3.1.	Estudio de la demanda actual .....	16
3.1.1.	Proyección de la demanda de achiote en el país ..	19
3.1.2.	Proyección de la demanda de achiote en la provincia de Loja .....	21
3.1.3.	Estudio de la demanda de semilla de achiote en el país para uso en alimentos balanceados .....	23
3.1.4.	Estudio de la demanda de semilla de achiote en la provincia de Loja para uso en alimentos balanceados .....	26

### CAPITULO IV

#### PROCESO DE OBTENCION DE BIXINA CRISTALIZADA

4.1.	Estudio de las variedades de achiote en la provincia de Loja .....	30
4.1.1.	Posición taxonómica .....	31
4.1.2.	Características morfoanatómicas .....	32
4.1.3.	Variabilidad .....	33
4.2.	Determinación de la composición química y características físicas de las variedades de semilla de achiote .....	35

4.3.	Métodos empleados en la obtención de Bixina cristalizada de la semilla de achiote .....	40
4.3.1.	Descripción de las extracciones .....	42
4.3.1.1.	Método N <sup>o</sup> 1 .....	42
4.3.1.2.	Método N <sup>o</sup> 2 .....	43
4.3.1.3.	Método N <sup>o</sup> 3 .....	45
4.3.1.4.	Método N <sup>o</sup> 4 .....	46
4.4.	Selección del método de obtención de Bixina cristalizada a desarrollarse en presenta estudio .....	48
4.5.	Determinación de la puerza de la Bixina cristalizada - ( mediante análisis instrumental ) .....	52
4.6.	Resultados y determinación de la variedad más importante para la obtención de Bixina cristalizada .....	56
4.7.	Obtención de Bixina cristalizada para su aplicación en - aves .....	61
4.8.	Determinación y alternativas del uso del material protector de los cristales de Bixina .....	67

## CAPITULO V

### APLICACIÓN DE LA BIXINA CRISTALIZADA EN POLLOS DE ACABADO Y PONEDORAS.

5.1.	Objetivos de la aplicación de la Bixina en cristales ...	74
5.2.	Formulación comercial de los balanceados usados en pollos de acabado y ponedoras .....	75
5.3.	Sustitución total del pigmento comercial Carofil, tanto rojo como amarillo o del pigmento Lucantín CX en la fórmula comercial por Bixina cristalizada .....	79

5.4. Estimación muestral de aves para la formación de lotes - destinados al estudio .....	81
5.5. Experimentos con 4 niveles de dosificación de Bixina - cristalizada en pollos y ponedoras .....	84
5.6. Resultados de pigmentación en pollos de acabado mediante una encuesta de sensibilidad. Examen organoléptico ....	92
5.7. Resultados de pigmentación mediante standares en la yema de los huevos. Examen organoléptico .....	97
5.8. Resultados del contenido de $\beta$ -caroteno y vitamina <u>A</u> en - la yema de los huevos .....	104
5.9. Resultados comparativos con el balanceado comercial ....	106
5.10. Determinación de la dosis más efectiva de la Bixina en - los balanceados .....	107

## CAPITULO VI

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

6.1. Conclusiones y recomendaciones .....	109
---	-----

### ANEXOS

### BIBLIOGRAFIA

\*\*\*\*\*

INDICE DE CUADROS, DIAGRAMAS Y EQUIPOS

Cuadro N° 2.1.	Estimación de la superficie cosechada, producción y rendimiento de achiote en el Ecuador - ( resumen nacional ) .....	9
Cuadro N° 2.2.	Producción de la semilla de achiote en el país por provincias .....	10
Cuadro N° 3.1.	Consumo aparente de semilla de achiote en el país (1976-1979) .....	17
Cuadro N° 3.2.	Consumo aparente de semilla de achiote en la provincia de Loja ( 1980-1985 ) .....	19
Cuadro N° 3.3.	Proyección de la demanda de achiote en el país, para el consumo aparente y las exportaciones - ( 1976-1990 ) .....	20
Cuadro N° 3.4.	Proyección de la demanda de achiote en la provincia de Loja para el consumo aparente - ( 1980-1990 ) .....	22
Cuadro N° 3.5.	Consumo de alimentos balanceados y colorantes sintético para aves en el país (1974-1984) ...	24
Cuadro N° 3.6.	Proyección del consumo de balanceados y Bixina para aves y producción de achiote para este fin en el país (1986-1990) .....	26
Cuadro N° 3.7.	Consumo de alimentos balanceados y colorantes sintéticos para aves en la provincia de Loja - ( 1982-1986 ) .....	27
Cuadro N° 3.8.	Proyección del consumo de balanceados y Bixina para aves y producción de achiote para este fin en la provincia de Loja (1986-1990) .....	28

Cuadro N <sup>o</sup> 4.1.	Análisis químico de las semillas de achiote ...	39
Cuadro N <sup>o</sup> 4.2.	Rendimientos con los 4 métodos empleados en la obtención de Bixina cristalizada .....	51
Cuadro N <sup>o</sup> 4.3.	Selección del método de extracción .....	52
Cuadro N <sup>o</sup> 4.4.	Rendimiento en unidades de color a 470 nm y pureza en Bixina de los achiotes rojos y amarillo .....	59
Cuadro N <sup>o</sup> 4.5.	Rendimiento en unidades de color a 404 nm de los achiotes rojo y amarillo .....	60
Cuadro N <sup>o</sup> 4.6.	Degradación del $\beta$ -caroteno con el tiempo .....	67
Cuadro N <sup>o</sup> 5.1.	Distribución muestral de broilers .....	82
Cuadro N <sup>o</sup> 5.2.	Distribución de gallinas ponedoras .....	83
Cuadro N <sup>o</sup> 5.3.	Características iniciales del control de broilers .....	85
Cuadro N <sup>o</sup> 5.4.	Niveles de dosificación de Bixina en broilers..	87
Cuadro N <sup>o</sup> 5.5.	Primer nivel de dosificaciones de Bixina en ponedoras .....	88
Cuadro N <sup>o</sup> 5.6.	Segundo nivel de dosificaciones de Bixina en ponedoras .....	89
Cuadro N <sup>o</sup> 5.7.	Niveles de dosificación con achiote entero en ponedoras .....	90
Cuadro N <sup>o</sup> 5.8.	Tercer nivel de dosificación de Bixina en ponedoras .....	91
Cuadro N <sup>o</sup> 5.9.	Características finales del control de broilers ( 6 a 8 semanas ).....	92
Cuadro N <sup>o</sup> 5.10.	Resultados del efecto de pigmentación en broilers .....	96
Cuadro N <sup>o</sup> 5.11.	Coloración de la yema de los huevos y rendimiento en postura con el primer nivel de dosifica--	

	ciones de Bixina .....	98
Cuadro N <sup>o</sup> 5.12.	Coloración de la yema de los huevos y rendimiento en postura con el segundo nivel de dosificaciones de Bixina .....	100
Cuadro N <sup>o</sup> 5.13.	Coloración de la yema de los huevos y rendimiento en postura con niveles de dosificación de - achiote entero .....	102
Cuadro N <sup>o</sup> 5.14.	Coloración de la yema de los huevos y rendimiento en postura con el tercer nivel de dosificación de Bixina .....	103
Cuadro N <sup>o</sup> 5.15.	Contenido de vitamina <u>A</u> y $\beta$ -caroteno en la yema de huevo .....	104
Diagrama N <sup>o</sup> 4.1.	Diagrama de flujo de la extracción de Bixina ..	62
Diagrama N <sup>o</sup> 4.2.	Diagrama para la extracción con solvente .....	63
Diagrama N <sup>o</sup> 4.3.	Balace de materia de la extracción de Bixina..	69
Equipo N <sup>o</sup> 4.1.	Equipo utilizado en la recuperación del solvente .....	70
Equipo N <sup>o</sup> 4.2.	Equipo utilizado en la extracción de Bixina - cristalizada .....	71

## RESUMEN

La optimización de parámetros de extracción y métodos de obtención del colorante natural de origen vegetal ( BIXINA ), atóxico, en forma de cristales de mayor actividad pigmentante y que en mayor proporción se encuentra en la semilla de Bixa Orellana o comúnmente llamado Achiote. Así como su aplicación en la formulación de alimentos balanceados para aves, en sus formas broilers de acabado y ponedoras en producción de huevos, con fines a optimizar dosis capaces de igualar y superar los efectos de pigmentación de piel y tarsos en los broilers y en la yema de los huevos cuando se usan colorantes sintéticos como el producto comercial - Lucantín CX o Carofil rojo y amarillo, son los objetivos propuestos en la presente investigación científica.

Debido al inconveniente que presenta la semilla de Bixa Orellana como tal para ser introducida como componente del pienso, se objetivizó buscar una forma fácil de incorporación que permita una homogenización elevada con el resto de los componentes de la ración al igual que evitar la degradación del colorante ( Bixina ) y demás carotenoides como el  $\beta$ -caroteno, para lo cual se ha creído conveniente la obtención en cristales microscópicos como la forma más adecuada.

Para el estudio se dispuso de varios tipos de achiote, pero de-

new, it has a red or yellow tonality. The red annato has a better weariness in BIXINA 100 % pure equals to 3,86 % in the seed and a purity in the extraction of 69,39 % in total coloring refer to BIXINA.

Of all applied methods in the extraction and attention of the BIXINA in form of crystals, the better is which is used as solvent, the chloroform, which best conditions of operation are: hermetically closed - receivings; Extraction temperature 35-38 °C; numbers of extractions or washes (3); solvent proportion/seed 1,2/1 for the first extraction and 1/1 for the second extraction and third volume/volume; time of extraction 45 minutes c/u; velocity of the agitator 200-400 RPM.

The conditions of recovery of the solvent and crystallization of the BIXINA was made in an extractor of grass of multiple uses Working to corresponding empty to 151 mm Hg With a velocity of recuperation of 1,5 l / h. of chloroform. The obtained past contains crystals, to facilitate its formation we leave 39 h in repose, then we filter to empty and soplato with dry air to dry to 100 °C by one hour the obtained crystals finally.

When we realize the application evidences of BIXINA and comparison with synthetical colorings in birds, we obtained the following results: in consummate broilers we get to overcome the pigmentation of the hide and tarsu which had a good coloration therefore in consummate broilers as egg laying hens equal to a good yellow coloration with a dose of BIXINA of 2 to 4 g /100 kg of daily feed with a richness of the 10%

Al realizar las pruebas de aplicación de Bixina y comparación con colorantes sintéticos, con fines de pigmentación en aves, se obtuvieron los siguientes resultados: en broilers de acabado se logró superar la pigmentación de la piel y tarso dando una coloración "buena" tanto en pollos como en pollas equivalente a una intensa coloración amarilla con una dosis de Bixina de 2 a 4 g /100 Kg de balanceado con una riqueza del 10%. En la pigmentación de yemas de huevos obtenidos de gallinas de la raza Sexling, se logra igualar el tono del color a un valor de 12 en la escala de colores correspondiente a un tono amarillo naranja cuando se aplican dosis de 0,58% de Bixina del 100% de pureza.

El contenido de Vitamina A en la yema del huevo, aumenta en una cantidad de 417 UI en comparación con la cantidad que aporta el balanceado sin contener ningún colorante; este resultado es bajo con aquel que ejerce el colorante sintético, por lo que la protección de la Bixina contra las condiciones ambientales (luz y oxígeno) para evitar la degradación y la del  $\beta$ -caroteno es indispensable, al igual que las condiciones de trabajo.

A pesar de no corresponder en este trabajo la incorporación de semilla de achiote entero por las dificultades de su introducción al pienso, se realizaron pruebas de molido junto con otros componentes para evitar daños en la maquinaria, con el fin de probar dosis en esta forma, y resultó ser que cantidades comprendidas entre 1,5 y 3% ejercen tonos indeseables que sobrepasa el valor de 15 en la escala de colores; por lo que dosis de 0,75 a 1% se recomienda utilizar de semilla entera caso de no disponer de Bixina, para igualar el tono al valor de 12 en

la escala de colores.

La existencia de la gran demanda de alimentos balanceados, es un mercado prometedor para el consumo de Bixina, además de otras industrias alimenticias, por lo que basándose en los resultados obtenidos se puede realizar un estudio económico de producción de achiote y obtención de Bixina , tendientes por un lado a mejorar a la agricultura, sustituir importaciones, generar trabajo y fuente de riqueza de los inversionistas.

## SUMMARY

The optimization of extraction parameters and methods of obtention of the natural coloring of vegetable origin (BIXINA), atoxico, in form of crystals of higher pigmentant activity are found in the seed of Bixa Orellana or called annato in older quantity its application in the formulation of daily feed for consummate broilers and egg-laying hens to optimize dose able to equalize and overcome the effects of pigmentation of the hide and tarsus in the broilers and the bud of the eggs in case that use synthetical coloring as the commercial product red and yellow LUCANTIN CX or CAROFIL; these are the proposal objectives in the present scientific investigation.

The seed of Bixa Orellana shows inconvenient to be introduced as component for this reason we look for a easy form of incorporation that get a elevated homogenization with the rest of the components of the ration to avoid the degradation of the coloring (BIXINA) and other carotenoides as:  $\beta$ -caroteno, for this inconvenient they believe convenient the obtention of microscopic crystals as the better form.

For the study we dispose of many types of annato, but there is not a knowledge of these varieties. We work with two types of annato which notable difference is in the pigmentation that produce in case that is

new, it has a red or yellow tonality. The red annato has a better weariness in BIXINA 100 % pure equals to 3,86 % in the seed and a purity in the extraction of 69,39 % in total coloring refer to BIXINA.

Of all applied methods in the extraction and obtention of the BIXINA in form of crystals, the better is which is used as solvent, the chloroform, which best conditions of operation are: hermetically closed - receivings; Extraction temperature 35-38 °C; numbers of extractions or washes (3); solvent proportion/seed 1,2/1 for the first extraction and 1/1 for the second extraction and third volume/volume; time of extraction 45 minutes c/u; velocity of the agitator 200-400 RPM.

The conditions of recovery of the solvent and crystalization of the BIXINA was made in an extractor of grass of multiple uses Working to corresponding empty to 151 mm Hg With a velocity of recuperation of 1,5 l / h of chloroform. The obtained past contains crystals, to facilitate its formation we leave 39 h in repose, then we filter to empty and soplato with dry air to dry to 100 °C by one hour the obtained crystals finally.

When we realize the application evidences of BIXINA and comparison with synthetical colorings in birds, we obtained the following results: in consummate broilers we get to overcome the pigmentation of the hide and tarsu which had a good coloration therefore in consummate broilers as egg laying hens equal to a good yellow coloration with a dose of BIXINA of 2 to 4 g /100 kg of daily feed with a richness of the 10%



In the pigmentation of bud of eggs of hens of the race SEXLING, we apply get to equal to the tone of the color equal to 12 in the colors ladder corresponding to a yellow-orange tone in case that we apply dose of 0,58 % of BIXINA 100 % pure.

The content of A vitamine in the bud of the egg augments in a quantity of 417 UI in comparison with the quantity that causes the daily food without contain any coloring; this reason is indispensable the protection of the BIXINA against the ambiental conditions (light and oxygen) to avoid the degradation of the  $\beta$ - caroteno, to equal that the work conditions.

In spite of not corresponde the incorporation of seed of annato in this work for the difficult of its introduction to the daily feed, we realized evidences of fatigued with other components to avoid damages in the machinery, to prove dose in the form, the results were quantities between 1,5 and 3 % that exercise undesirable tones that exceed the value of 15 in the colors ladder.

The existence of the big demand of daily feed is a promising market for the consumption of BIXINA; moreover of others nourishing industries we based in the obtained results we can realize an economic study of production of annato and other obtention of BIXINA to improve the agriculture, sustitute importations, generate the workings and source of the riches of the investors.

## CAPÍTULO I

### INTRODUCCIÓN

## INTRODUCCIÓN

" El Achiote cuyo nombre botánico es BIXA ORELLANA, y conocido comunmente como: Anato, Aneto, Orlean, Atalo, Acote, Achuete, Bija, Annato y Terra Arellana, es un arbusto que crece rápidamente en la América Tropical ( Ecuador, Brasil, México, Guayanas, Costa Rica, etc. ). Es originario de los países americanos intertropicales, aunque su origen específico es incierto; conociéndose algunas teorías, entre ellas: el Botánico Triana atribuye su procedencia de la Nueva Granada, Secman atribuye su procedencia de México y Panamá, Meyer afirma que proviene de las Guayanas y Clauss asegura que es de Brasil, lo que se saca como conclusión que definitivamente es originario de América. El nombre Botánico de esta planta es histórico, el prefijo Bixa proviene del nombre con que lo llamaban los aborígenes de la América Tropical "Bischa", posteriormente en honor al descubridor del Amazonas Don Francisco de Orellana se le dió el nombre de Bixa Orellana".<sup>1</sup>

Desde épocas remotas los aborígenes usaban extensamente esta planta por su atrayente color y sus propiedades específicas; en el Ecuador, nativos de la selva lo usan para embadurnarse y pintarse el cuerpo, forman una coraza en su cabeza a base de frotar una masa con la semilla molida de achiote, como también para protegerse de los rayos ultra-

---

(1). Dr. Luis Cordero. Botánica. 1983

vióletas del sol y de las picaduras de los insectos. Los indios de sudamérica lo usan también para colorear sus alimentos mezclándolos con algunos aceites vegetales y para teñir los textiles. Este aspecto fue el que llamó más la atención de los primeros exploradores europeos.

Desde mediados de la década de los 70 se está industrializando una parte de la producción de achiote para la exportación en nuestro país en forma de concentrados que se llaman Norbixina y Bixina, según los pigmentos sean solubles en agua o aceite respectivamente, y según sean extraídos en medio ácido o alcalino respectivamente.

#### 1.1. OBJETIVOS Y ALCANCE DEL ESTUDIO.

El presente estudio científico con aplicación a la tecnología de los alimentos procesados, tienen como fin, entre otros, llegar a sustituir los colorantes sintéticos ( lucantín CX o carofil ) usados en la formulación de alimentos balanceados, por un colorante natural de origen vegetal que se halla localizado en la superficie de las semillas de Bixa Orellana. Los colorantes sintéticos usados en la actualidad están encaminados a ejercer una acción pigmentante en la piel y tarso de los broilers como también en la pigmentación de yemas de huevos, pero que resulta extremadamente antieconómico su uso en la actualidad.

El estudio realizado se lo ha centrado en la obtención del colorante de mayor actividad pigmentante; y, que además es el que se encuentra en mayor proporción en la semilla de Bixa Orellana, que es la BI XINA. La obtención del pigmento se lo hará en una forma capaz de que pueda ser fácilmente introducido junto con los demás componentes del

pienso, es así que se objetivizó el obtenerlo en forma cristalizada teniendo presente que sea soluble en grasas o aceites, ya que ellos son los responsables del transporte en el organismo de las aves.

Con el fin de hacerlo más comprensible el estudio realizado, se indica a continuación algunos de los objetivos propuestos para la investigación:

- Extraer la materia colorante de la semilla de Bixa Orellana.
- Determinar la variedad o tipo de achiote que más rendimiento proporcione tanto en material colorante como en Bixina.
- Obtener la principal materia colorante (Bixina) de la semilla de Bixa Orellana en forma cristalizada.
- Introducir la Bixina como sustituyente de pigmentos sintéticos usados en la actualidad en la elaboración de piensos para aves.

Por la gran demanda de alimentos balanceados en el mundo entero, encaminados a la producción de carne y huevos de aves; y, por la creación de un mercado promotor tanto para la semilla de Bixa Orellana como su pigmento colorante, hace que busquemos una tecnología apropiada para contribuir a la utilización de los recursos disponibles en las regiones donde no se disfruta de los alcances de la ciencia y la tecnología moderna, es así que se ha orientado el estudio a la optimización de los parámetros de extracción mediante un método adecuado y a la optimización de la dosis más efectiva a incorporarse en los piensos de broilers y ponedoras para que ejerza su acción pigmentante en forma eficiente.

## 1.2. INOCUIDAD DE LA SUSTANCIA COLORANTE DE LA SEMILLA DE ACHIOTE

La semilla de Achiote y su pigmento, no ha tenido en el Ecuador la importancia que debería tener dadas sus cualidades, que se reafirman con el incremento de la demanda en el mercado internacional especialmente en los últimos años; es así, que la oficina Federal de Nutrición, - Cosméticos y Drogas de los Estados Unidos por medio de la Ley 60 de 1960, prohibió el uso de ciertos colorantes artificiales derivados del Carbón y el Petróleo para artículos de consumo humano al comprobarse su toxicidad y se sugirió el empleo de colorantes derivados del achiote al comprobarse que estos eran atóxicos tanto en pruebas a corto como a largo plazo.

El gran porvenir para este cultivo está también justificado por una Ley internacional europea que prohíbe el empleo de los colorantes sintéticos en la coloración de los alimentos con excepción de la Bixa Orellana.

El uso que desde hace muchísimos años se le ha venido dando a las semillas de achiote como condimento en la preparación especialmente en lo que respecta a la presentación de diferentes comidas, habla por sí solo de su inocuidad, ya que ningún caso de enfermedad ha sido reportado por ser las semillas de achiote la causante. Es más, en la medicina popular se ha utilizado extensamente para aliviar dolores de cabeza curar males de garganta, ayudar en la cicatrización de heridas, curar el asma, quemaduras, etc.

La industria farmacéutica lo está acogiendo dado su atrayente colorido y principalmente por su inocuidad en la elaboración de jarabes y tabletas.

1.3. IMPORTANCIA Y USOS DE LA SUSTANCIA COLORANTE DE LA SEMILLA DE ACHIOTE EN PRODUCTOS DE CONSUMO HUMANO Y ALIMENTOS BALANCEADOS.

La materia colorante se usa extremadamente para colorear productos alimenticios e industriales tales como: quesos en sus diferentes tipos, mantequillas, margarinas, chocolates, arroz, jaleas, confitos, jabones, pomadas, barnices, harinas, en la industria de la panificación, helados, para mejorar la presentación de algunas comidas y cocidos. Por su importancia también se ha utilizado para teñir telas pero debido a la inestabilidad de su tinte su empleo ha sido muy limitado. Además, como se dijo anteriormente es muy importante su uso en medicina y en la industria farmacéutica.

En nuestro país, el uso de la sustancia colorante como tal, en la industria de los Alimentos Balanceados, especialmente para broilers y ponedoras, no ha sido aún concebido ni como fuente de pigmentación, ni como fuente de actividad vitamínica, debido al alto grado de dificultad para ser introducida en el pienso; esto se debe a que el achiote es un material céreo y en esa capa cerosa se encuentra el material pigmentante (Bixina), de tal manera que no permite que se triture la semilla totalmente, sino que únicamente sufra una compresión, no alcanzando un tamaño de partícula que facilite su incorporación y su total homogenización con el resto de los componentes del pienso; es por esto que el presente estudio tuvo como uno de sus principales objetivos obtener la Bixina en forma cristalizada para de esta manera facilitar su incorporación y un alto índice de mezclado.

Recientemente en algunos países como Puerto Rico y Brasil se ha

utilizado con éxito las semillas enteras de Bixa Orellana en la alimentación de aves de corral especialmente en gallinas para dar coloración a la yema del huevo, pero señalan su dificultad para introducirla al pienso.

#### 1.4. IMPORTANCIA Y USOS DE LA SEMILLA DE ACHIOTE LUEGO DE HABER SIDO EXTRAIDA LA SUSTANCIA COLORANTE.

La semilla de Bixa Orellana extraída la sustancia colorante, se usa como un sustituto alimenticio de los concentrados para aves por su alto contenido protéico y en carbohidratos, de ahí que en países en donde es necesario el maíz para el consumo humano (por lo que no puede fácilmente disponerse de él para elaborar balanceados), utilizan harina de achiote, yuca o camote como sustituyente parcial del maíz. "Experimentos realizados indican que la harina de achiote reemplaza satisfactoriamente de 30 a 50 % de maíz en raciones para pollitos".<sup>2</sup>

En la actualidad ya es posible obtener pequeñas cantidades de harina de achiote como producto secundario de la fabricación de concentrados de bixina y carotina, la misma que contiene aún actividad pigmentante y de vitamina A debido a que el proceso de extracción no remueve todo el material colorante. También puede ser usada la harina de achiote en la alimentación de gallinas ponedoras, "Es así que experimentos realizados en éstas determinó que la harina de achiote tiene más valor como fuente de actividad vitamínica y pigmentante que como fuente de carbohidratos y proteínas y determinaron que sustituyendo al maíz en un 6 % de la ración se logra obtener una coloración de la yema de huevo que corresponde al color amarillo standard, y trabajando con dosis más altas de harina de achiote ya produjeron un color indesea---

blo."2

- 
- (2). Instituto Agropecuario Nacional de Guatemala e Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá ( Trabajo E 26 ). Valor de las Harinas de Camote y Achiote en Raciones para Aves de Corral. Costa Rica. 1953.

## CAPÍTULO II

### ESTUDIO DEL MERCADO

## 2. ESTUDIO DEL MERCADO.

### 2.1. ESTUDIO DE LA OFERTA.

Por mercado se entiende el área donde se realizan las transacciones mercantiles y que en virtud de la ley natural de la oferta y la demanda, se fijan los precios.

Cabe indicar, que la oferta se refiere a las formas actuales y futuras en que la demanda actual y futura serán atendidas por la oferta actual y futura.

#### 2.1.1. Producción de Achiote en el País.

La producción de Bixa Orellana en el país, no ha tenido grandes perspectivas a pesar de ser un cultivo autóctono, por lo que no se lo explota en forma comercial y a pesar de que el Ecuador posee una diversidad de climas que son excepcionales para el desarrollo del cultivo. No se ha establecido ninguna política de investigación para fomentar este cultivo; en lo que se refiere a las técnicas de cultivo, estas son aún desconocidas en nuestro país como es: la forma de propagación, variedades, cuidados culturales, tratamiento del fruto, etc.

De acuerdo a estudios estadísticos realizados por la dirección General de Planificación del Ministerio de Agricultura y Ganadería, se

presenta a continuación un cuadro, que demuestra los índices de cultivo desde el año de 1976 a 1984 en el Ecuador.

CUADRO Nº 2.1

ESTIMACION DE LA SUPERFICIE COSECHADA, PRODUCCION Y RENDIMIENTO  
DE ACHIOTE EN EL ECUADOR ( RESUMEN NACIONAL )

AÑO	SUPERFICIE COSECHADA Has	PRODUCCION TM	RENDIMIENTO kg/Ha
1976	732	660	902
1977	625	539	862
1978	853	735	862
1979	1.101	958	870
1980	1.395	1.217	872
1981	1.498	1.317	879
1982	1.499	1.157	667
1983	1.357	953	702
1984	1.153	814	706

FUENTE : Boletines anuales del ministerio de Agricultura y ganadería.

ELABORACION : División de Informática y Estadística del MAG.

Con el fin de determinar en que regiones del país es donde existe la mayor producción de achiote, se presenta a continuación el cuadro Nº 2.2 en donde se indica la producción por provincias. Los datos son estudios estadísticos realizados por la Dirección General de Planificación del MAG y van desde los años de 1976 a 1984.

CUADRO N° 2.2

PRODUCCION DE SEMILLA DE ACHIOTE EN EL PAIS POR PROVINCIAS

PROVINCIAS	1976			1977			1978			1979			1980			1981			1982			1983			1984		
	SUP.	PRO.	REND.																								
	Has	TM	kg/Ha																								
Pichincha	50	45	900	---	---	---	3	2	726	17	30	811	35	29	829	70	58	892	70	57	814	70	56	800	70	54	771
Cotopaxi	---	---	---	---	---	---	---	---	---	22	17	773	20	18	907	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Esmeraldas	20	18	900	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Manabí	312	281	900	---	---	---	290	238	820	343	293	854	640	587	870	774	681	880	774	522	674	772	438	567	778	494	635
Los Ríos	120	108	900	111	167	1505	100	96	960	159	145	912	160	147	920	150	135	900	150	135	900	100	90	900	40	28	700
Guayas	200	180	900	394	263	668	350	301	860	399	341	874	380	327	860	380	331	870	375	326	869	300	270	900	220	199	905
El Oro	20	18	900	120	109	808	100	98	890	150	132	880	120	109	910	115	104	900	120	108	900	80	72	900	25	23	920
Napo	5	5	1000	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Pastaza	2	2	1000	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
M. Santiago	2	2	1000	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	9	8	870	10	9	900	20	16	800	10	9	900
Z. Chinchí.	1	1	1000	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

FUENTE: Boletines Anuales del Ministerio de Agricultura y Ganaderia

ELABORACION: División de Información y Estadística del MAG.

Como se puede apreciar en los cuadros ( 1 y 2 ), la producción es baja pero se destaca la costa, especialmente Manabí y Guayas. Cabe indicar que aquellas zonas de Quito como Santo Domingo de los Colorados y la zona Oriental del país que posee climas y suelos que son altamente productivos no exista producción de achiote.

Los rendimientos oscilan entre los 600 a 1500 kg/ha de semilla fresca. Estos rendimientos se los puede considerar bajos, si se toma en cuenta " Que en plantaciones bien establecidas y con buen manejo se pueden obtener 2000-2500 o más kilogramos por hectárea".<sup>3</sup>

La mayor parte de la producción de achiote proviene de arbustos que no comprenden cultivos intensivos sino más bien son plantas al estado silvestre y que están ubicados en números limitados ( 3 - 5-10 ) alrededor de caseríos tanto en el Oriente como en el Occidente. Como cultivo verdaderamente dicho existen 100 hectáreas de propiedad de la Industria Extractos Andinos que procesa el achiote en la zona de Pastaza y que es de uso exclusivo de la empresa. Este sembrío fue realizado por los años de 1983 por lo que no consta en los datos anteriormente indicados ya que su primera cosecha se la realiza alrededor de los dos años de sembrado.

#### 2.1.2. Producción de Achiote en la Provincia de Loja.

La división de Informática y Estadística del MAG, en los censos de producción de productos agrícolas, especialmente en lo que se refiere al achiote, producto de interés para este trabajo no

---

(3). Jorge Arce P. *El Achiote. Generalidades sobre su cultivo. Costa Rica. 1982.*

ha obtenido datos, capaz de poder ser estimados y que reflejen que existe producción significativa en la provincia de Loja. Este hecho pudo constatarse al haber recorrido las zonas de Catacocha, la Toma, el Tambo, Vilcabamba, Malacatus, Landangui, Carimanga y Macará; que por las características de su suelo, clima y pluviometría se creía la existencia de cultivares, no resultando así, sino únicamente existencias de plantaciones en número de 1-2-3 en algunos huertos y que la mayor parte de la producción esta destinada al consumo de la familia de esos lugares, existiendo una poquísima cantidad de la producción para comercializarla con el mismo fin en las zonas pobladas de la provincia de Loja. Es más en una visita efectuada a la zona de Zamora Chinchipe, algunos pobladores con los que se tubo charlas, indicaron que parte de la producción de estos sectores se comercializaba en la provincia de Loja.

### 2.1.3. Producción de Bixina en el País para usos en Alimentos de Consumo Animal ( Balanceados ).

" INEXA " ( Industria Extractora Compañía Anónima ) localizada en la ciudad de Quito, cuyo Gerente General es el Químico Industrial Dr. Luis W. Levy, esta industrializando una parte de la producción de achiote específicamente para la exportación como producto semielaborado, produciendo a base de un proceso de extracción con éter, concentrados puros que contienen del 60-70 % de pigmentos totales referidos a Bixina; estos concentrados son la Bixina y Norbixina según los pigmentos sean solubles en aceite o agua respectivamente. Por el año de 1983 se proceso 20 TM de achiote en esta industria obteniendo 900 kg de Bixina del 60-70 %, en los años siguientes la obtención de Bixina aumento a 1000 kg.

Otra empresa industrial llamada Extractos Andinos localizada - también en Quito procesa el achiote para la producción de Bixina y Norbixina. El Gerente General de esta Empresa es el Ing. Augusto Berneo. Esta industria debe estar procesando al rededor de 90 TM anuales de achiote obteniendo aproximadamente 4500 kg de Bixina del 98 %; así también como la industria anteriormente anotada toda la producción está - destinada a la exportación.

La producción de Bixina del país es usada en el exterior para colorear productos alimenticios de consumo humano como queso, mantoquilla, margarina, en productos farmacéuticos, etc., pero no se ha introducido su aplicación en alimentos balanceados para aves. En nuestro país la aplicación en alimentos balanceados no ha sido considerado.

#### 2.1.4. Importaciones de Sustancias Colorantes para uso en Alimentos Balanceados.

En la actualidad, la industria de los balanceados para aves se encuentra usando con fines de pigmentación de la piel y tarso de los broilers como para la coloración de las yemas de los huevos colorantes de origen sintético como el Carofil rojo y amarillo usados para ponedoras y pollos de carne respectivamente; otro producto de uso más reciente llamado comercialmente Lucantin CX, tiene el mismo fin. Ambos productos son importados y distribuidos por la firma BASF reconocida mundialmente.

Refiriendonos específicamente al producto Lucantin CX, éste se denomina a la Citranaxantina en polvo seco al 10 %, este compuesto sintético pertenece al grupo de apo-carotenoides que contienen oxígeno.

La sustancia pura es recubierta y estabilizada adicionalmente con gela  
tina y carbohidratos. Este compuesto además de su actividad pigmentante  
te posee efecto de vitamina A. Actualmente su uso resulta antieconómico  
co siendo su precio de \$ 12.500,00 sucres el kg conteniendo 10 % de -  
sustancia activa.

De esta manera podemos darnos cuenta de la dependencia tecnológica  
gica a que estamos sometidos y es por esta razón entre otras por las -  
cuales los Organismos Estatales deben incentivar y facilitar la investi  
gación científica a fin de sustituir las importaciones.

#### 2.1.5. Alternativas de Producción de Bixina.

El desarrollo industrial del país, básicamente -  
para su progreso económico, tiene principalmente como objetivo el trans  
formar y multiplicar el valor de sus propios recursos naturales. Es -  
así que presentamos esta investigación con miras a interesar con él a  
Organismos Estatales, Agricultores y Empresarios Privados como una indu  
stria futura fuente de riqueza, para lo cual sería interesante el de  
sarrollo de este cultivo, que a más de no necesitar de mayor cuidado ,  
es prácticamente perenne y se paraliza la producción únicamente dos mo  
ses al año.

La gran demanda mundial de alimentos de consumo humano y animal  
mal hace pensar en la intensificación del cultivo y en la creación dede  
tecnologías apropiadas de extracción de Bixina. Para el Ecuador, prese  
nta enormes ventajas la industrialización del achiote, por una parte  
poseemos la materia prima y suelos adecuados para su intensificación y  
por otra se evitarán las costosas importaciones de colorantes sintético

cos que actualmente están cayendo en desuso debido a sus propiedades tóxicas.

Las perspectivas de producción de Bixina son excelentes, dada la gran demanda de alimentos balanceados con lo que las dos industrias - que extraen este pigmento no avanzarían a cubrir las ofertas de las industrias de los balanceados.

### CAPÍTULO III

#### ESTUDIO DE LA DEMANDA ACTUAL Y FUTURA DE ACHIOTE



### 3.- ESTUDIOS DE LA DEMANDA ACTUAL Y FUTURA DE ACHIOTE.

#### 3.1. ESTUDIO DE LA DEMANDA ACTUAL.

La demanda se refiere a los aspectos relacionados con la existencia de la necesidad del bien que se desea producir.

Debido a que este estudio, tiene únicamente el carácter de investigación científica y no un proyecto económico en su área de influencia y dentro de ciertos niveles de precios, no se profundizará en estos aspectos.

##### a. Consumo Aparente de Semilla de Achiote en el País.

De acuerdo a datos estadísticos, obtenidos en los anuarios de comercio exterior del Banco Central del Ecuador, el consumo aparente en el país es de la siguiente forma:

CUADRO N° 3.1

CONSUMO APARENTE DE SEMILLA DE ACHIOTE EN EL PAIS  
1976-1979

AÑOS	PRODUCCION NACIONAL TM	EXPORTACION TM	CONSUMO APARENTE TM
1976	660	461	199
1977	539	189	350
1978	735	186	548
1979	958	147	811

FUENTE : Anuarios de Comercio Exterior del Banco Central del Ecuador.

ELABORADO : Banco Central del Ecuador.

Debido a no encontrarse información desglosada para los años siguientes a 1979 no se pudo analizar su consumo ya que el achiote se halla constando dentro de otros productos; de ahí que por no suponer o hacer estimaciones que más bien llevarían a errores, dejamos como está indicado.

Del análisis de este cuadro, podemos indicar que en 1976 la semilla de achiote se exportó en un 70 % para los años siguientes este porcentaje fue disminuyendo de 35 %, 25 %, 15 % respectivamente. Además de las exportaciones, el consumo de achiote en el país no corresponde únicamente al consumo per cápita, sino que tanto INEXA como Extractos Andinos procesan 20 y 96 TM anuales respectivamente para la producción de Bixina y Norbixina. Una mínima parte de la producción de achiote se utiliza en

la producción de refrito, el mismo que estaría dentro del consumo aparente.

b. Consumo Aparente de Semilla de Achiote en la Provincia de Loja.

La demanda actual de achiote en la provincia de Loja es únicamente de consumo en la preparación de comidas. Por encuestas realizadas, se ha sacado como conclusión que aproximadamente son 50 gramos/mes lo que consume una familia de 5 miembros. Además existe en la ciudad de Loja una Industria denominada INE ( Industria Nacional de Especerías ) de propiedad del Sr. Manuel Godoy, que procesa la semilla de achiote para la obtención de refrito y que tiene su mercado de consumo tanto en Loja como Cuenca, El Oro, Guayas y Quito, por lo que estimamos que destina aproximadamente un 25 % de la producción a la provincia de Loja.

El cuadro N° 3.2 indica una estimación de lo que fue el consumo de achiote, desde los años de 1980 a 1985.

CUADRO N° 3.2.

CONSUMO APARENTE DE SEMILLA DE ACHIOTE EN LA PROVINCIA DE LOJA  
1980-1985

AÑO	CONSUMO DE ACHIOTE kg	APORTE DE INE AL CONSUMO DE LOJA EN UN 25% kg	CONSUMO TOTAL APA- RENTE EN LA PROVIN- CIA DE LOJA kg
1980	3078	----	3078
1981	3145	----	3145
1982	3214	----	3214
1983	3282	488	3770
1984	3348	613	3961
1985	3376	625	4001

Estos datos del consumo de achiote, fueron estimados en base a la población percapita de la provincia de Loja.

FUENTE: Encuestas Realizadas a Consumidores.

ELABORADO: Los autores del presente trabajo.

3.1.1. Proyección de la Demanda de Achiote en el País.

Con los datos del cuadro N° 3.1. referido al consumo aparente en el país y a las exportaciones de semilla de achiote, se procederá a realizar su tendencia, caracterizada por un movimiento lento que se produce a largo plazo; esta tendencia se la desarrollará usando el método de ajuste de mínimos cuadrados y cuyo desarrollo se lo indicará en el ANEXO A. Con la ecuación obtenida se ajustará los datos desde 1976 a 1990.

CUADRO N° 3.3.

PROYECCION DE LA DEMANDA DE ACHIOTE EN EL PAIS, PARA EL CONSUMO APARENTE  
Y LAS EXPORTACIONES

1976-1990

AÑO	CONSUMO APARENTE TM (yc)	EXPORTACIONES TM (yc)
1976	207,45	387,45
1977	387,15	292,95
1978	566,85	198,45
1979	746,55	103,95
1980	926,25	9,45
1981	1.105,95	- 85,05
1982	1.285,65	- 179,55
1983	1.465,35	- 274,05
1984	1.645,05	- 368,55
1985	1.824,75	- 463,05
1986	2.004,45	- 557,55
1987	2.184,15	- 652,05
1988	2.363,85	- 746,55
1989	2.543,55	- 841,05
1990	2.723,22	- 935,55

FUENTE: Anuarios de Comercio Exterior del Banco Central del Ecuador.

ELABORADO: Los Autores del Presente Trabajo.

De acuerdo a la proyección realizada, el país tendrá que producir más achiote para cubrir el consumo de la población, así como para que sigan procesando las industrias transformadoras de este producto; es decir que el consumo esta creciendo anualmente (con respecto al año anterior) así, para 1986 en un 9,8 %, 1987 en 8,96 %, 1988 en 8,2 %, en

1989 en 7,6 %, en 1990 en 7 %.

Así mismo, respecto de las exportaciones de semilla como tal, estas se suscitan de acuerdo a la proyección únicamente hasta 1980, de ahí que más bien el país debería estar importando para cubrir la demanda, pero no existe información en este sentido por lo que se concluye que toda la producción es consumida y transformada por el país y además debe estar ingresando fortuitamente el achiote al país.

### 3.1.2. Proyección de la Demanda de Achiote en la Provincia de Loja.

Con los datos del cuadro N° 3.2. referidos al consumo de achiote en la provincia de Loja y aplicando el método de ajuste de tendencia histórica ( mínimos cuadrados ) se realizará su proyección desde 1980 a 1990. El procedimiento seguido se indica en el ANEXO A.

CUADRO N° 3.4.

PROYECCION DE LA DEMANDA DE ACHIOTE EN LA PROVINCIA DE LOJA PARA EL CON-  
SUMO APARENTE  
1980-1990

AÑO	CONSUMO APARENTE kg (yc)
1980	2984
1981	3202
1982	3419
1983	3637
1984	3855
1985	4072
1986	4290
1987	4508
1988	4726
1989	4943
1990	5161

FUENTE: Encuestas Realizadas a Consumidores.

ELABORADO: Los Autores del Presente Trabajo.

De acuerdo a la tendencia histórica de los datos del consumo aparente, estos se hallan aumentando en función del aumento poblacional de la siguiente forma: para 1986 aumentará en un 5,4 % con respecto al año anterior, para 1987 en un 5,1 % del año anterior, para 1988 en un 4,8 %, para 1989 en un 4,6 %, y para 1990 en un 4,4 %. Se concluye del análisis que la producción de achiote debe aumentar para cubrir la deman-

da de la provincia de Loja.

3.1.3. Estudio de la Demanda de Semilla de Achiote en el País para uso en Alimentos Balanceados.

Para realizar este estudio de la posible demanda de achiote para uso en alimentos balanceados de broilers de acabado y ponedoras en producción, se cree conveniente realizar previamente un estudio histórico de la producción de estos y de la cantidad de colorante sintético usado, que en cierta forma nos indicará la dependencia a la que está sometido este sector de la producción y el costo de adquisición que resulta pagar por estos colorantes.

Debido a que la pigmentación de la yema de los huevos y de los broilers son de acuerdo a los deseos de los productores de balanceados con el fin de obtener tal o cual pigmentación, es difícil determinar cual es la dosificación que realizan, pero tomando en cuenta las recomendaciones de la casa distribuidora de Lucantin CX llamada BASF, indica que para obtener una coloración promedio de 13,7 valor este del abanico de colores de la yema de huevo debe añadirse 45 g/Tn de Lucantin CX; además para obtener una "buena" pigmentación (intensa coloración amarilla) en los broilers se recomienda usar 30 g/Tn de Lucantin CX. Si esto se está cumpliendo en las casas productoras de balanceados, asumiremos estos datos para efectos de cálculo de la demanda de este colorante.

Además, puesto que lo que interesa es la producción de balanceados para broilers de acabado y ponedoras en producción que resulta ser de 29 % y 13 % respectivamente de la producción total, usaremos estos datos para efectos de cálculo.

CUADRO Nº 3.5.

CONSUMO DE ALIMENTOS BALANCEADOS Y COLORANTES SINTETICO PARA AVES EN EL  
PAIS  
1974-1984

AÑO	PRODUCCION TO- TAL DE BALANC. TM	BROILERS DE ACABADO TM	PONEDORAS EN PRODUCCION... TM	LUCANTIN CX kg
1974	74000	21460	9620	1165,5
1975	90000	26100	11700	1417,5
1976	135000	39150	17550	2126,3
1977	190000	55100	24700	2992,5
1978	200000	58000	26000	3150,0
1979	300000	87000	39000	4725,0
1980	365000	105850	47450	5748,8
1981	400000	116000	52000	6300,0
1982	500000	145000	65000	7875,0
1983	350000	101500	45500	5512,5
1984	500000	145000	65000	7875,0

FUENTE: Estimaciones del Departamento de Nutrición Animal. MAG

ELABORADO: Los Autores del Presente Trabajo.

Como se puede visualizar el consumo del colorante sintético en el sector balanceados es elevado, ya que la mayor producción de balanceados está destinada a la alimentación de aves, por lo que el consumo de colorantes también se hace elevado.

En 1984 el costo por kilogramo de Lucantin CX de 10 % de colo--

rante activo fue de \$ 9.200,00 sucres y si relacionamos la cantidad consumida en ese año que fue de 7875 kg, con el costo por kg, tendríamos - que se ha pagado aproximadamente \$ 72'450.000.00 sucres. En la actualidad el costo por kg es de \$ 12.500,00 sucres que si se hiciera una proyección futura de la producción de balanceados, el costo pasaría de los 100 millones de sucres por la adquisición de colorante sintético.

Con estos antecedentes se realizará a continuación un estudio de proyección de lo que sería el consumo de alimentos balanceados para aves y en base a esto el posible consumo de Bixina que es el colorante obtenido del achiote en la investigación.

La concentración del colorante del achiote obtenido es del 46,54 % de pigmentos totales referidos a Bixina.

En base a las dosificaciones probadas que se mencionan en el capítulo V y tomando en cuenta las dosis más efectivas de Bixina tanto para broilers de acabado y ponedoras en producción que fue de: 0,4297 g /100 kg de balanceado y 271 g /100 kg de balanceado respectivamente , con 46,54 % de pureza en Bixina o su equivalente que es de 0,199 g /100 kg de balanceado en Broilers y 126 g /100 kg de balanceado en ponedoras con Bixina del 100 % de pureza; con esto último se realizará el cálculo correspondiente del consumo de este colorante y la producción de achiote que debería destinarse para este uso, sabiendo además que el achiote entero contiene 4,5 % de Bixina al 0 % de humedad. La ecuación de proyección obtenida por mínimos cuadrados se indica en el ANEXO A.

CUADRO N° 3.6.

PROYECCION DEL CONSUMO DE BALANCEADOS Y BIXINA PARA AVES Y PRODUCCION  
DE ACHIOTE PARA ESTE FIN EN EL PAIS

1986-1990

AÑO	PROD. TO TAL DE - BALANCE. TM (YC)	BROILERS ACABADO TM	PONEDORAS EN PROD. TM	BIXINA TM	PROD. ACHI TM
1986	590818	171337	76806	97,118	2158
1987	634909	184124	82538	104,364	2319
1988	679000	196910	88270	111,612	2489
1989	723091	209696	94002	118,860	2644
1990	767182	222483	99734	126,108	2800

FUENTE: Estimaciones del Departamento de Nutrición Animal del MAG.

ELABORADO: Los Autores del Presente Trabajo.

Como se puede visualizar en el cuadro anterior el consumo de Bixina sería elevado para lo cual se tendría prácticamente que duplicar la producción actual de achiote a fin de poder cubrir la necesidad.

3.1.4. Estudio de la Demanda de Semilla de Achiote en la Provincia de Loja para uso en alimentos balanceados.

Al igual que al punto (3.1.3.) se realizará previamente un estudio histórico de la producción de balanceados y de la cantidad de colorante sintético usado.

Siendo la UTPL ( Universidad Técnica Particular de Loja ) el -  
 productor potencial de alimentos balanceados, que cubre en la actuali--  
 dad casi toda la oferta del mercado de la provincia de Loja, nos referire  
 mos exclusivamente a ésta.

Por información propia de los Jefes de Producción y Control de  
 calidad de la Planta de Balanceados de la UTPL, indicaron que tanto pa-  
 ra broilers de acabado como para ponedoras en producción dosificaban -  
 10 g/Tn de Lucantin CX o lo que es lo mismo 1 g/100 kg de Lucantin CX.

Con los datos obtenidos de los archivos de la Planta de Balan-  
 ceados de la UTPL referidos a la producción de balanceados desde los -  
 años 1982 a 1986 se elabora a continuación el cuadro N° 3.7.

CUADRO N° 3.7.

CONSUMO DE ALIMENTOS BALANCEADOS Y COLORANTES SINTETICOS PARA AVES EN  
 LA PROVINCIA DE LOJA  
 1982-1986

AÑO	BROILERS DE ACABADO kg	PONEDORAS EN PRODUCCION kg	LUNCANTIN CX kg
1982	98201	60594	1,588
1983	197797	75401	2,732
1984	107716	98640	2,064
1985	438800	81080	5,199
1986*	518240	83000	6,012

FUENTE: Archivos de producción de la planta de balanceados de la UTPL.

ELABORACIÓN: Los Autores del Presente Trabajo.

\* Debido a que se obtuvo datos de la producción de balanceados pa-  
 ra pollos de acabado y ponedoras en producción hasta Septiembre  
 bro de 1986, se realizó una estimación para los tres meses restantes -  
 basandonos en la producción mensual de los meses de Junio, Julio y -  
 Agosto.

De este cuadro, se aprecia que los dos últimos 2 años el consumo de colorante sintético se ha duplicado y triplicado en relación directa con el consumo de balanceados.

Con los datos de este cuadro N° 3.7. que sirve de antecedente para proyectarnos y así mismo como se indica en el punto (3.1.3.); tomando en consideración las dosificaciones efectivas de Bixina que se mencionan en el capítulo V, se realiza en el cuadro siguiente, el cálculo del consumo de Bixina y la producción de achiote que debería destinarse a producciones futuras de balanceados para aves. La obtención de la ecuación se indica en el ANEXO A.

CUADRO N° 3.8.

PROYECCION DEL CONSUMO DE BALANCEADOS Y BIXINA PARA AVES Y PRODUCCION  
DE ACHIOTE PARA ESTE FIN EN LA PROVINCIA DE LOJA  
1986-1990

AÑO	BROILERS ACABADO kg (Yc)	PONEDORAS PRODUCCION kg (yc)	BIXINA kg	PROD. ACHIOTE kg
1986	488367	89841	114,172	2537
1987	596475	94890	120,748	2683
1988	704583	99939	127,325	2829
1989	812691	104989	133,903	2976
1990	920799	110038	140,480	3122

FUENTE: Archivos de Producción de la Planta de Balanceados de la -  
UTPL.

ELABORADO: Los Autores del Presente Trabajo.

De acuerdo al cuadro anterior que reflejaría la necesidad de producción de achiote y considerando que la provincia de Loja no produce achiote, sería importante el cultivo de 3 Has para cubrir la demanda de achiote únicamente en el sector balanceado producido por la UTPL.

## CAPÍTULO IV

### PROCESO DE OBTENCIÓN DE BIXINA CRISTALIZADA

#### 4. PROCESO DE OBTENCIÓN DE BIXINA CRISTALIZADA.

##### 4.1. ESTUDIO DE LAS VARIEDADES DE ACHIOTE EN LA PROVINCIA DE LOJA.

No existen datos estadísticos sobre la producción de achiote en la Provincia de Loja, esto es debido a que la cantidad que se cultiva en las diferentes zonas es utilizado únicamente para el consumo familiar siendo muy esporádicos los cultivos comerciales por lo que no es considerada una zona de producción de este cultivo. A pesar de esto se ha creído conveniente realizar un estudio sobre las diferentes variedades o tipos de achiote que existen en la Provincia de Loja el mismo que servirá para seleccionar el cultivo que presente mejores condiciones para la extracción del colorante activo. Aparte de esto, la investigación servirá de referencia para tecnificar y seleccionar las mejores zonas de cultivo para una posible futura industrialización del achiote en la Provincia de Loja.

Las zonas en donde es frecuente el cultivo de Bixa Orellana son: " Malacatus con una altura de 1600 m, una temperatura promedio de 21 °C y humedad relativa de 65 %; Vilcabamba con una altura de 1670 m, una temperatura promedio de 20 °C y humedad relativa de 67 %; Landangui con una altura de 1660 m, una temperatura promedio de 20 °C y humedad relativa de 65 %; Catamayo con una altura de 1400 m, una temperatura

promedio de 24 °C y humedad relativa de 40 % ".<sup>4</sup>

Además se realizó un estudio de una parte de la provincia de Zamora Chinchipe ( Sumbi, Yanzatza) que puede aportar con una variedad de buenas características para la extracción de materia colorante y - además porque resulta cercana a la Provincia de Loja. " Zamora tiene una altura de 1240 m, una temperatura promedio de 22 °C y humedad relativa de 80 % ".<sup>4</sup>

Se debe indicar que no es posible clasificar específicamente como variedad a cada tipo de achiote encontrado porque no existe un estudio profundo que permita comparar y asegurar que se trata de diferentes variedades. Por lo tanto la clasificación se la hará de acuerdo a las características notables que presente cada tipo encontrado.

A continuación se presenta la posición taxonómica, algunas características morfoanatómicas y la variabilidad de los tipos encontrados en las diferentes zonas en donde es más frecuente el cultivo de Bixa Orellana.

#### 4.1.1. Posición Taxonómica.

La taxonomía del achiote es la siguiente.

Reyno : Vegetal  
 División : Spermatophyta  
 Clase : Angiosperma

---

(4). " Guía Turística del Ecuador ". Tomo III. 1982

Subclase : Dicotiledonea  
 Orden : Violales  
 Suborde : Cistineae  
 Familia : Bixaceas  
 Género : Bixa  
 Especies : B. Orellana, Linneo (es la especie -  
 más conocida).

B. Shporrocarpa, Triana  
 B. Upatensis, Grossundy  
 B. Azara, Ruíz y Pavón  
 B. Platicarpa, Ruíz y Pavón  
 B. Urucurana  
 B. Arborea, Huber  
 B. Exelsa, Gleason y Krokoff

#### 4.1.2. Características Morfoanatómicas.

El achiote es un árbol bajo, de copa redonda, que generalmente alcanza 10 m de altura. De la corteza del tronco y ramas brota un látex rojo.

Hojas.- Las hojas son acorazonadas, olípticas, etc. alternadas, miden 10-20 cm de largo y de 8-12 cm de ancho; son palminervadas, borde entero, base redondeada y ápice agudo.

Flores.- Se agrupan en panículas terminales. El cáliz se forma de cinco sépalos cortos y duros; la corola de cinco pétalos abovados, cóncavos de 1-2 cm de largo que varía -

de rosado a blanco según el cultivar. Los estambres son muy numerosos, el gineceo tiene el ovario elipsoidal supero, y termina en un estilo - sencillo a veces doblado.

Frutos.- El fruto es una cápsula dehiscente, hemisférica, ovoide, elipsoidal o cónica, cubierta de espinas largas y suaves ( estado verde ) y tíasas ( estado seco ), lisa en algunos casos por mutaciones. Son rojas o verdes en la madurez y se abren en dos valvas. Las paredes son delgadas y en el lado interno de cada valva hay una placenta que se prolonga en forma de una membrana blanca adherida en parte a la pared del fruto. Cada placenta lleva numerosas semillas obcónicas o piramidales de 3-4 mm de largo recubiertas por una membrana fina y blancuzca. Debajo de éstas hay una capa de parónquima acuosa que contiene el tinte el cual conforme madura el fruto aparece en la superficie de las semillas en papilas rojas que llegan a cubrirlas por completo.

#### 4.1.3. Variabilidad.

El achiote presenta una amplia variación, según las condiciones ecológicas en que se desarrolla. Los tipos difieren por el color de las flores, forma del fruto, color del tinte (rojo o amarillo). En los especímenes botánicos colectados en la provincia de Loja y Zamora Chinchipe se han podido detectar algunos tipos cuyas características más diferenciales son: Color de las flores, forma de la cápsula, presencia o ausencia de pelos en la cápsula y color del colorante. No se puede afirmar con certeza si se trata de variedades o ecotipos, esto necesita de un análisis profundo a nivel de plantaciones de toda la Provincia. Los tipos de achiote encontrados son:

Tipo N<sup>o</sup> 1.

Flores.- Blanca, cinco pétalos obovados, cóncavos, de dos cm de largo, numerosos estambres de color blanco amarillento, anteras amarillo pálido.

Cápsula .- Hirsutas, pelos densos de 1 cm de largo, forma acorazonada de 4,5 cm de largo por 4 cm de ancho. Colorante rojo.

Tipo N<sup>o</sup> 2.

Flores.- Blancas, cinco pétalos obovados de 3 cm de largo por 1,5 cm de ancho, estambres blancos, anteras de color café claro.

Cápsula.- Hirsutas, pelos densos de 1 cm de largo, forma hemisférica de 4 por 4 cm. Color rojo amarillento.

Tipo N<sup>o</sup> 3.

Flores.- Blanco-rosadas, cinco pétalos, numerosos estambres amarillo rosados, anteras blanco amarillentas.

Cápsula.- Semiachatadas y cónicas, ápice agudo, 5 cm de largo por 2,5 cm de ancho, hirsuta, semilla con colorante rojo.

Tipo N<sup>o</sup> 4.

Flores.- Blanco rosadas, cinco pétalos obovados, numerosos es  
tambres blanco amarillento, anteras amarillo pálido.

Cápsula.- Semi glabras, achatadas y alargadas, ápice agudo, se  
millas con colorante rojo amarillento.

Tipo N<sup>o</sup> 5.

Flores.- Blancas, cinco pétalos de 3 cm de largo con punta--  
ciones rosadas, numerosos estambres de color blanco\_  
amarillento, anteras de color café.

Cápsula.- Pequeñas, alargadas, ápice agudo, superficie áspera  
semi glabras, 4 cm de largo por 2,5 cm de ancho. Se  
millas con colorante rojo.

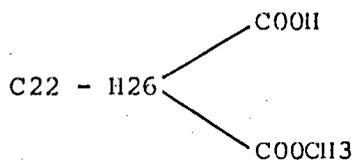
En forma general, para la continuación del presente estudio se  
clasificará a los diferentes tipos de achiote encontrados únicamente de  
acuerdo al tinte que presenta la semilla fresca, sea esta amarilla que  
será un tipo o roja que será otro tipo.

#### 4.2. DETERMINACION DE LA COMPOSICION QUIMICA Y CARACTERISTICAS FISICAS DE LAS VARIEDADES DE SEMILLA DE ACHIOTE.

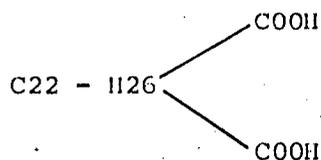
" La pulpa que recubre la semilla es ligeramente pegajosa o re-  
sinosa, de color rojo o bermellón y es la fuente de lo que se conoce co  
mercialmente como "Bixina", también contiene Orellina (materia colorante

amarilla), resina, aceite volátil y aceite graso.

La bixina es un colorante orgánico de origen vegetal que constituye uno de los más importantes carotenoides de que está constituido el material córico que rodea la semilla de achiote. Su composición y fórmula fue establecida por Heiduschka y Panzer como:  $C_{25}H_{30}O_4$ . El producto precipitado forma cristales rómbicos de color rojo parduzco con punto de fusión de  $198\text{ }^{\circ}\text{C}$ , y bandas de absorción de 503 y 469,5 a 439 milimicrones, en cloroformo. Las primeras investigaciones establecieron que la Bixina contiene un grupo metoxilo, y un hidroxilo puesto que se obtiene primeramente una sal monopotásica por tratamientos con hidróxido de potasio diluido; y después una sal bipotásica que se forma más lentamente. La última con ácidos no produce Bixina, sino un nuevo compuesto, la Norbixina la cual no contiene ya grupo metoxilo. Por otro lado, la Bixina se puede metilar para dar metil Bixina, así que es probable que ambos hidroxilos pertenezcan a grupos carboxilos y que la fórmula de la Bixina se pueda parcialmente estructurar como:

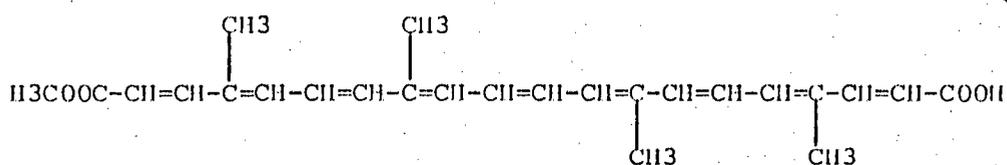


Bixina (peso molecular: 394,54)

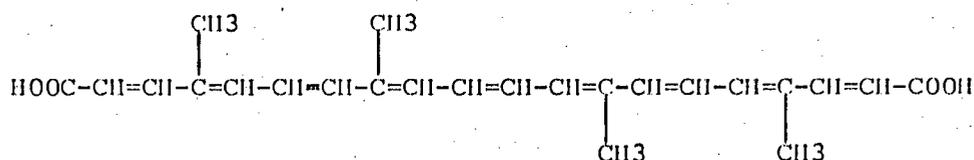


Norbixina ( peso molecular: 380,48)

Y cuya fórmula estructural es la siguiente:



Bixina



Norbixina

La Bixina se encuentra en sus dos formas isoméricas (Cis y trans bixina). Siendo la forma Cis asimétrica e inestable y la forma Trans simétrica y estable.

El contenido total de pigmentos es una medida de toda la fuerza-colorante del producto. Regularmente se lo expresa en porcentaje de Bixina o referido a ésta que es la mejor medida de calidad del producto. La identificación de los componentes del colorante se realiza generalmente por métodos espectrofotométricos.

Los carotenoides en general se consideran como derivados isoprenos de alto peso molecular, inestables ante cambios térmicos, susceptibles a la luz y de fácil oxidación en presencia de aire". <sup>5</sup>

Un análisis básico inmediato de las semillas de achiote muestra los resultados que se indican en el cuadro 4.1. El análisis se lo realizó en semillas enteras y en semillas a las cuales ya se les extrajo el colorante, esto con el fin de demostrar que luego de extraído el colorante

(5). Alfredo Monge. "Factibilidad Industrial del Achiote". 1967, págs. 39-46

aún puede ser utilizada la semilla. A los diferentes tipos de achiote encontrados se los ha clasificado por el color que presentan las semillas en rojo y amarillo y el estudio posterior se regirá a esta clasificación.

CUADRO N<sup>o</sup> 4.1.

ANALISIS QUIMICO DE LAS SEMILLAS DE ACHIOTE

SEMILLAS ENTERAS		
	ROJO	AMARILLO
Humedad	12,5 %	12,2 %
Proteína	12 %	13 %
Grasa	4,2 %	4,8 %
Fibra - bruta	14,9 %	16,9 %
Cenizas	4,2 %	4,9 %

SEMILLAS SIN COLORANTE		
	ROJO	AMARILLO
Humedad	10,5 %	9 %
Proteína	15 %	15,7 %
Grasa	2,2 %	1,7 %
Fibra - bruta	26,1 %	25,4 %
Cenizas	7,8 %	7,9 %

FUENTE: Datos experimentales obtenidos en el laboratorio.  
ELABORADO: Los Autores del Presente Trabajo

El análisis físico dió los siguientes resultados para ambos tipos de achiote.

Densidad aparente : 0,644 kg/l  
 Granulometría : 3-4 mm  
 Impurezas : 0,643 %

Insectos.- Presencia de 3 insectos (hormigas y gorgojos) por 150 g de semilla analizada y sólo en aquellas semillas deficientemente almacenadas.

Por otro lado, según análisis del Instituto de Nutrición de México, la semilla de achiote tiene principios vitamínicos y minerales, - el análisis publicado es el siguiente, sobre la base de 100 g de semilla seca.

Calcio	229,00 mg
Hierro	6,46 mg
Fósforo	220,00 mg
Carbohidratos	55,50 g
Tiamina	0,39 mg
Riboflavina	0,22 mg
Niacina	1,46 mg
Acido ascórbico	12,50 mg

De esta composición se desprende el alto valor nutritivo de la semilla de achiote especialmente en carbohidratos y en vitamina C.

Las características organolépticas del achiote son las siguientes

tes.

Aspecto : Semilla entera, sanas, maduras y desecadas.  
 Color : Rojo Oscuro y rojo anaranjado.  
 Olor : Propio  
 Sabor : Propio

Los métodos empleados en los análisis físicos y químicos de las semillas de achiote se detallan en el ANEXO B.

#### 4.3. METODOS EMPLEADOS EN LA OBTENCION DE BIXINA CRISTALIZADA DE LA SEMILLA DE ACHIOTE.

" Una extracción es un fenómeno de transferencia de masa donde se ponen en contacto la materia a extraer y el solvente que retira la materia útil objeto de la extracción. Por extracción se aislan y purifican numerosos productos comerciales como: vitaminas, alcaloides, grasas, colorantes, etc.; y, los solventes más comunes son: agua, éter de petróleo, etanol, hexano, benceno, cloroformo, etc. Existen diferentes tipos de extracción, pero refiriéndonos exclusivamente a la extracción de sólidos con líquidos, diremos que es la disolución en un disolvente apropiado de un componente o grupo de componentes que forman parte de un sólido, el cual contiene otros componentes insolubles, la operación se conoce como percolación, lavado o lexivación; la transferencia de masa tiene lugar en el sentido sólido-líquido ".<sup>6</sup>

---

(6). J.P. Schwars. *Métodos físicos de química orgánica*. 1968.

La extracción a realizar en el presente estudio ( separación - de la materia colorante de la semilla de achiote ) con los diferentes - solventes líquidos es un caso típico de extracción sólido-líquido o lixiviación.

Un aspecto fundamental en la extracción es la selección cuidada del solvente que incide en la eficiencia del proceso y en los costos de producción. Otro aspecto importante a tener en cuenta es la eliminación total del solvente en el producto final ya que va a ser usado, en nuestro caso, para consumo animal y no debe tener efectos secundarios negativos.

" Las operaciones de extracción van acompañadas normalmente de otros pasos subsiguientes hasta obtener el producto final. Los pasos - son los siguientes: extracción, filtración, recuperación del solvente, refinación de la pasta colorante de Bixina obtenida".<sup>7</sup> Estos pasos se muestran en el diagrama 4.1.

En general, en toda extracción se debe tener en cuenta los siguientes aspectos que intervienen en la velocidad de extracción:

- " a. Tamaño y estado de las partículas ( en el caso de las se millas la humedad, densidad, forma, etc.)
- b. Naturaleza del solvente ( que permita la solubilidad de los colorantes en el solvente )
- c. Temperatura. ✓
- d. Agitación.
- e. Forma de extracción ( semillas enteras ) ✓

f. Relación solvente/semilla ".<sup>7</sup>4.3.1. Descripción de las Extracciones.

Tomando en cuenta que el colorante se encuentra recubriendo a las semillas, las extracciones se efectuaron en base a semillas enteras para evitar que el solvente se distribuya sobre zonas donde no hay materia colorante.

## 4.3.1.1. Método N° 1

El procedimiento utilizado en esta primera extracción fue el siguiente.

- " La semilla entera en primer lugar pasa por una limpieza previa a través de una serie de tamices para eliminar las impurezas y seleccionar al mismo tiempo un tamaño uniforme de semillas.
- A 2 kg de achiote se calientan con 3,33 kg de alcohol del 80 % a 80 °C agitando constantemente por 30-45 minutos para que exista rozamiento entre las semillas y por tanto mejor extracción.
- Adicionar 200 g de sosa calcinada mientras se continúa la agitación.
- Filtrar en caliente prensando las semillas para extraer toda la materia colorante y el solvente que contienen.

---

(7). ASS Federal Register. " Extract of annato used in food or drug" 1963.

- Posteriormente se lixivia con 3,33 kg de alcohol del 60 % también caliente para terminar de extraer los residuos de semilla colorante.
- Los líquidos resultantes se mezclan, se les añade la mitad de su volumen de agua y se precipita la mezcla con una disolución concentrada de carbonato de sodio ( 12 g disueltos en 10-15 ml. de agua).
- Luego de tres semanas se escurre el precipitado cristalino de bixinato de sodio formado  $[(C_{25}H_{29}Na)_5 + 2H_2O]$
- Al bixinato de sodio formado se lo disuelve en alcohol del 60 % a una temperatura de 70-80°C y se precipita nuevamente con disolución de carbonato de sodio dejando algunos días para que recristalice. Esto se realiza con el fin de purificar los cristales.
- Se deslie en alcohol diluido el bixinato de sodio así formado de manera que resulta una papilla, se descompone con ácido clorhídrico concentrado y se recoge, lava y seca la Bixina precipitada ".<sup>8</sup>

El mismo procedimiento fue utilizado para ambos tipos de adiote. El resultado fue una pasta difícil de manejar adecuadamente en donde existe una deficiente cristalización de la Bixina que además se encuentra mezclada con otros colorante. Los rendimientos obtenidos se presentan en el cuadro 4.2.

#### 4.3.1.2. Método N° 2

En este método las semilla son previamente machacadas parcialmente evitando que se destruyan los granos, esto para ayu-

dar en el desprendimiento del colorante. El proceso es el siguiente.

- " A 2 kg de achiote se le añade agua hirviente en una proporción de 300 a 400 % de la cantidad inicial de semilla y se somete a una agitación continua por 20-25 minutos.
- Se deja en maceración por una semana o si es necesario por más tiempo hasta que se observa una casi total extracción del colorante.
- Luego de este tiempo se agita fuertemente la mezcla y se filtra.
- Al filtrado se lo deja decantar por 12 días en un lugar obscuro. Durante este tiempo se produce una fermentación lo que hace que precipite la materia colorante.
- Al cabo de 12 días se decanta el líquido claro que sobrenada y el precipitado es desecado a la sombra con aire caliente ".<sup>8</sup>

Igual método se utilizó para ambos tipos de achiote. El resultado de esta extracción fue una pasta colorante que contiene una mezcla de todos los colorantes existentes en la semilla de achiote incluida la Bixina, que luego de desecarla se puede pulverizar para un fácil manejo del producto. Sin embargo, no existe la formación de cristales de Bixina y para poderlos obtener se debe aplicar otro método de purificación de la Bixina. Los rendimientos de este método de extracción se presentan en el cuadro 4.2.

## 4.3.1.3. Método N° 3

El fundamento de este método es utilizar alcohol como único solvente extractor. Se trabajó con dos concentraciones de alcohol: 90 y 85 %. Las extracciones se las realizó simultáneamente.

El proceso seguido es el que a continuación se anota.

- " La extracción se la realizó en un equipo tipo Soxhlet en cuyo recipiente se pesó 15 g de semilla.
- Adicionar 46 ml de solvente ( lo que da una relación solvente/semilla de 1,96:1 en volumen/volumen ).
- Calentar a 65 °C y mantener en agitación por espacio de 1 hora y 40 minutos.
- Filtrar para separar las semillas y el solvente que contiene el colorante.
- Recuperar el solvente mediante destilación a baja temperatura.
- La pasta así obtenida es desecada en estufa a 40 °C hasta eliminar todo el solvente ".<sup>8</sup>

El resultado de este método de extracción fue una pasta c<sup>é</sup>rea

---

(8). " Anales de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Politécnica del Ecuador". 1970.

con la formación de ciertos cristales de Bixina de difícil manejo por el material que los envuelve haciéndose necesario purificar los cristales existentes con nuevos lavados de alcohol. La recuperación del solvente fue de hasta un 86 %. Los rendimientos se presenta en el cuadro 4.2.

#### 4.3.1.4. Método N° 4

En la presente extracción se utilizó como único solvente el cloroformo. Se empleó el mismo equipo de extracción soxhlet utilizado en el método anterior.

Nos propusimos realizar una extracción total del colorante sin importar los lavados que tenga que hacerse y se trabajó bajo las siguientes características:

- Agitación continua
- Lavados sucesivos con cloroformo fresco cada vez.
- Temperatura de extracción 30-40 °C.
- Vaciados sucesivos por filtración luego de 45 minutos de agitación.

El total de lavados realizados fue de 6 y las características de la extracción es:

- Peso de semilla entera: 14,9991 g
- Relación Solvente/semilla 1,2:1 para la primera lavada, 1:1 de la 2da a la 5ta y para la sexta es de 0,64:1
- Tiempo de extracción : 45 minutos cada lavado
- Temperatura de extracción 30-40 °C

- Agitación constante y fuerte.

A continuación se detalla cada una de los lavados obtenidos de achiote amarillo.

Nº DE LAVADOS	VOLUMEN DE CLORO FORMO UTILIZADO	VOLUMEN DE EXTRAC TO RECOGIDO
1.	27,948 ml.	23,3 ml.
2	23,290 ml	19,7 ml
3	23,290 ml	19,8 ml
4	23,290 ml	19,5 ml
5	23,290 ml.	19,8 ml
6	15 ml	12,7 ml
TOTAL	136,108 ml	114,8 ml

La pérdida de solvente en toda la extracción es de 21,3 ml equivalente a 15,65 %.

La cantidad de cloroformo recuperado de un total de 114,8 ml de extracto es de 108,56 ml equivalente a 94,6 %.

La pérdida total de solvente es de 27,54 ml equivalente a 20,24 %.

El filtrado se lo realiza a vacío no muy fuerte.

Igual procedimiento se utilizó en la extracción del colorante -

en el achiote rojo. El resultado de este método de extracción es que los dos primeros lavados son sumamente potentes, el torcoro disminuye notablemente para en los 3 últimos ser muy bajo. Esto se demuestra claramente en el cuadro 4.4. en donde se observa como va disminuyendo las unidades de color después de cada lavado. Igual cosa sucedió en ambos tipos de semilla. La semilla extraída casi no contiene colorante, quedando únicamente algo en las endiduras porque hasta ahí no llega el frotamiento entre las semillas producido por la agitación. La extracción fue mucho más rápida y efectiva que los métodos anteriores, pudiendo disminuirse los lavados hasta el tercero únicamente, puesto que los otros no extraen una cantidad considerable de materia colorante. La pasta obtenida presenta una gran cantidad de cristales amorfos de color rojo oscuro, a estos cristales se les realizó una purificación lavándolos nuevamente con cloroformo y filtrando a vacío, esto se puede hacer varias veces según la pureza que se desee obtener. Para obtener la Bixina en cristales, a la pasta se la deseca por 12 horas al ambiente y en estufa a 100 °C por 1 hora y luego se la muele. Los rendimientos se presentan en el cuadro 4.2.

Existen varios métodos más para realizar la extracción de materia colorante y de Bixina, pero hemos considerado que estos son los que presentan más ventajas para cumplir con el trabajo que nos hemos propuesto que es el de obtener Bixina en forma cristalizada.

#### 4.4. SELECCION DEL METODO DE OBTENCION DE BIXINA CRISTALIZADA A DESARROLLARSE EN EL PRESENTE ESTUDIO.

Para seleccionar el método más adecuado ( de los ensayados ) para la obtención de Bixina en forma cristalizada, que se vaya a aplicar en -

el presente estudio, debemos considerar algunos aspectos y requisitos importantes que deben cumplirse.

- La Bixina Obtenida debe estar en forma cristalizada.
- Deberá tratar de obtenerse el máximo rendimiento en Bixina cristalizada.
- El producto final deberá ser fácilmente manejable para darle el uso que se desea.
- La Bixina obtenida no deberá contener residuos tóxicos por los reactivos utilizados en la extracción, ya que va a ser utilizada en la formulación de balanceados.
- La pureza final del producto (en Bixina) deberá ser elevada.
- La semilla residual debe estar en condiciones de ser utilizada.
- El solvente utilizado debe ser fácilmente recuperable y tener un costo bajo.

Considerando todos estos aspectos vamos a valorar cada uno de los métodos empleados en la obtención de la Bixina cristalizada y luego vamos a seleccionar el que resulte más conveniente. Para ello nos vamos a valer de un modelo matemático indicado en el cuadro 4.3. Para la elaboración del cuadro 4.3. y para asignar los citados puntajes se procedió de la siguiente manera:

Se fijó una escala de calificación de 0 a 14 puntos con las siguientes especificaciones en base a las buenas características de extracción de cada método y a las observaciones hechas por los experimentadores durante los ensayos.

- 2 puntos para la formación de cristales de Bixina.
- 2 puntos para un buen rendimiento.
- 2 puntos para la fácil recuperación y bajo costo del solvente.
- 2 puntos para un fácil manejo del producto final.
- 2 puntos para la no toxicidad residual en el producto final.
- 2 puntos para la pureza en Bixina del producto final.
- 2 puntos para el uso de la semilla extraída el colorante.

Observando el puntaje total del cuadro 4.3 se concluye que el método más apropiado para realizar la extracción de la Bixina en forma cristalizada, es el cuarto en donde se utiliza como único solvente para la extracción el cloroformo. Por lo tanto, este será el método que se utilice para realizar la extracción final de Bixina que va a ser utilizada en la formulación de balanceados que contempla el presente trabajo.

En los rendimientos indicados en el cuadro 4.2. se muestra el porcentaje de Bixina o de colorante total obtenido según el método empleado. Así, en el primer método se obtiene directamente Bixina, por tanto el rendimiento no puede expresarse como colorante total. En el segundo método se obtiene el colorante total sin la formación de cristales de Bixina y en esa forma se expresa el rendimiento. En el tercero y cuarto métodos se obtiene en primer lugar una pasta colorante total en la que se puede observar la presencia de cristales que luego fueron purificados.

CUADRO N° 4.2.

RENDIMIENTOS CON LOS CUATRO METODOS EMPLEADOS EN LA OBTENCION DE  
BIXINA CRISTALIZADA

METODO	BIXINA OBTENIDA (g)		RENDIMIENTO EN BIXINA (%)		COLORANTE TOTAL (g)		RENDIMIENTO EN COLORANTE TOTAL (%)		SEMILLA USADA (g)	
	Amarillo	Rojo	Amarillo	Rojo	Amarillo	Rojo	Amarillo	Rojo	Amarillo	Rojo
1	7,340	9,96	0,395	0,49	--	--	--	--	2000	2000
2	--	--	--	--	123,4	117,4	6,17	5,87	2000	2000
3 *	0,423	0,42	2,822	2,78	1,693	1,671	11,28	11,14	15	15
3 **	0,222	0,21	2,248	2,14	0,888	0,848	8,99	8,58	9,8	9,8
4	0,938	0,85	6,250	5,56	2,353	2,905	15,69	19,41	14,9	14,9

FUENTE: Datos Experimentales obtenidos en el laboratorio.

ELABORADO: Los Autores del Presente Trabajo.

Los rendimientos están referidos a un contenido del 12 % de humedad.

\* Con alcohol de 90 % como único solvente.

\*\* Con alcohol de 85 % como único solvente.

CUADRO N° 4.3.

## SELECCION DEL METODO DE EXTRACCION

METODO	N° 1	N° 2	N° 3	N° 4
Formación de cristales	1	0	1	2
Rendimiento	1	1	2	2
Fácil recuperación y - bajo costo del solven- te	0	2	2	1
Fácil manejo del pro-- ducto final	1	2	1	2
No toxicidad del produc- to final	1	2	2	2
Pureza en Bixina del - producto	1	0	1	2
Uso de la semilla sin colorante	0	2	2	2
TOTAL PUNTOS	6	9	11	13

FUENTE: Datos experimentales obtenidos durante las pruebas.

ELABORADO: Los Autores del Presente Trabajo.

## 4.5. DETERMINACION DE LA PUREZA DE LA BIXINA CRISTALIZADA

( MEDIANTE ANALISIS INSTRUMENTAL )

" Los complejos espectros de absorción dados por diferentes - preparaciones de soluciones de achiote, nos indican que considerables - cantidades de otros pigmentos diferentes a la Bixina, están presentes en estos productos. Además, estos pigmentos no están presentes en la semi- lla de achiote, sino que son el resultado de una formación posterior, en

el período que corresponde a la extracción.

Los porcentajes de Bixina y de sus productos de isomerización y degradación en los preparados comerciales de colorantes de achiote, - depende sobre todo de las condiciones de manufactura y del tipo de proceso. Es así que estas preparaciones a menudo muestran marcadas diferencias en sus propiedades colorantes, en el porcentaje predominante de pigmentos amarillos, rojo oscuros, etc.

Intensamente ha sido estudiada la posibilidad de determinar el contenido total de pigmentos en los preparados de achiote por métodos - espectrofotométricos directos.

Afortunadamente desde el punto de vista espectrofotométrico, - la Bixina y sus productos de transformación, pueden agruparse en dos - clases de determinaciones combinadas. La primera incluye a la Bixina y sus isómeros, la cual presenta una absorción máxima a 500 y 470 milimicrones ( en cloroformo ). La segunda clase esta comprendida por los - pigmentos amarillos, con una absorción máxima de los 404 y 428 milimicrones en el mismo solvente. Es así que los pigmentos amarillos pueden ser determinados juntos a una misma longitud de onda, y la Bixina y sus isómeros en otra. La absorción máxima a los 500 milimicrones es la más recomendada para esta valoración, sobre todo al tomar en cuenta que los - pigmentos amarillos no se absorben a esta longitud de onda. Los pig- - mentos amarillos pueden ser determinados a los 404 milimicrones, pero - puede hacerse una corrección de la absorción de la Bixina a esta longitud de onda.

De esta manera se ha establecido los valores de 404 y 500 mili

micrones para realizar las mediciones de absorción.

La Bixina a una longitud de onda de 501 milimicrones, tiene una absorción equivalente a 282,6 . La absorción máxima de sus isómeros a esta longitud de onda es similar, por tal motivo, este valor se lo ha considerado aceptable para una determinación combinada. La absorción de los pigmentos amarillos es desconocida, más por propósitos de ésta determinación, se asume que la máxima absorción a 404 milimicrones, es de sistema similar a la de la Bixina a 501 milimicrones.

El contenido de pigmentos totales referidos a Bixina es calculado de la siguiente forma:

Se hace una dilución en cloroformo de una bien determinada porción del extracto obtenido (Bixina), de tal manera que pueda ser detectado en el espectrofotómetro en la región comprendida entre los 600 y 400 milimicrones. Se mide luego la absorción a 404 y 500 milimicrones. Se suman estos valores y del total se descuentan la corrección referida a la absorción a 404 milimicrones que es igual a 0,256 por la absorción a 500 milimicrones. El valor 0,256 es el resultado de la relación entre la absorción a 404 y 500 milimicrones.

La absorción total referida a Bixina será entonces:

$$PT = (\Lambda_{500} + \Lambda_{404} - 0,256 \times \Lambda_{500}) \cdot \frac{1}{282,6} \cdot \frac{V}{1000} \cdot \frac{100}{W} \cdot \frac{V_2}{V_1} \cdot \frac{1}{L} \%$$

En donde : PT = Pigmentos totales referidos a Bixina

A = Absorbancia ( a esas longitudes de onda )



W = Peso de Semillas o de material pigmentante tomado para el análisis ( Bixina ) ( g )

V = Volumen de extracto de cloroformo en el que se ha diluido la muestra (ml).

V1 = Volumen de la muestra pequeña de extracto o el volumen a diluir (ml)

V2 = Volumen al cual V1 es diluido para la lectura espectrofotométrica (ml).

L = Longitud de la celda de medición (cm) ".<sup>9</sup>

Para determinar la pureza de la Bixina cristalizada obtenida mediante la extracción de cloroformo, aplicaremos entonces el método y fórmula anteriormente descritos. El detalle de estos cálculos se presentan en el ANEXO C.

Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

	PT ( referidos a Bixina )
ACHIOTE ROJO	69,3971 %
ACHIOTE AMARILLO	54,0480 %

La pureza de los cristales obtenidos en el presente trabajo se pueden aumentar hasta el nivel que se crea conveniente realizando nuevos lavados (purificaciones) con cloroformo.

---

(9). D. V. Dendy, "Journal of the AOAC". 1960

4.6. RESULTADOS Y DETERMINACION DE LA VARIEDAD DE ACHIOTE MAS IMPORTANTE PARA LA OBTENCION DE BIXINA CRISTALIZADA.

Con el fin de realizar la extracción final de Bixina cristalizada que va a ser utilizada en la formulación de balanceado, es necesario determinar cual de los dos tipos de achiote estudiados, presenta las mejores características para el efecto. Fundamentalmente para seleccionar el tipo de achiote vamos a tomar en cuenta cual tiene un mayor rendimiento y mayor pureza en Bixina, y también en colorante total. Para ello nos vamos a valer de una medida basada en las unidades de color que tengan cada tipo de achiote y luego un análisis de la pureza de la Bixina obtenida.

" Para determinar las unidades de color nos vamos a valer de la siguiente fórmula:

$$UC = ( D.O \times d ) \cdot \frac{V1}{n}$$

En donde: UC = Unidades de color

D.O = Densidad óptica (absorción) del extracto a 470 - milimicrones.

D = Dilución necesaria para la lectura en el espectrofotómetro.

V1 = Volumen total del extracto.

n = Mililitros de muestra a diluir".<sup>5</sup>

---

(5). Alfredo Monge. "Factibilidad Industrial del Achiote". 1967

El análisis se lo hizo en los extractos de colorante obtenidos en la extracción de Bixina por el método N° 4. Los rendimientos se presentan en los cuadros N° 4.4.

Según ese cuadro, se tiene 27'929.539 unidades de color por - los 14,9991 g. de semilla utilizados en la extracción de achiote amari- llo, contra 27'078.721 unidades de color por los 14,968 g. de semilla\_ utilizados en la extracción de achiote rojo. Esto da un valor de - 1'874.465,7 unidades de color por g. de achiote amarillo, contra - 1'817.363,8 unidades de color por g. de achiote rojo. Lo que quiere de de cir que la mayor cantidad de pigmentos colorantes existen en la va-- riedad de achiote amarillo.

Tomando en cuenta estos resultados, el tipo de achiote amarillo contiene la mayor cantidad de pigmentos totales; es decir pigmentos rojos y amarillos ya que la longitud de onda a la que fue leída la absor**absor**bancia es a 470 nm, longitud considerada de máxima absorción para la Bixina. Pero considerando que lo que interesa es Bixina ( pigmentos ro- jos ) y no pigmentos amarillos, indicaremos en el cuadro N° 4.5. la cantidad de U.C. ( unidades de color ) a la longitud de onda de 404 nm, - longitud que corresponde a la máxima absorción de pigmentos amarillos. Los datos fueron obtenidos de los mismos extractos, diluciones y ml a - diluir indicados en el cuadro N° 4.4, por lo que únicamente en el cua-- dro N° 4.5. indicaremos los resultados.

De los resultados del cuadro N° 4.5. se tiene 11'822.193 UC de pigmentos amarillos en el tipo de achiote amarillo y 11'475.118 UC de - pigmentos amarillos en el tipo de achiote rojo, por lo que podemos dar- nos cuenta que el achiote amarillo contiene una mayor cantidad de pig--

mentos amarillos lo que va a influir en obtener un rendimiento menor en Bixina del 100 % de pureza si se usa achiote amarillo cosa, que la demostraremos seguidamente.

Por consiguiente el tipo de achiote amarillo queda descartado puesto que no interesa obtener la mayor cantidad de pigmentos totales, sino que interesa unicamente el carotenoide Bixina.

La selección del tipo de achiote rojo se confirma si se observa los rendimientos y se relaciona la cantidad de Bixina obtenida de cada tipo de achiote a 100 % de pureza. Los resultados que se obtengan serán:

	RENDIMIENTO EN BIXINA %	PUREZA %	BIXINA DEL 100 % %
ACHIOTE ROJO	5,565	69,39	3,8615
ACHIOTE AMARILLO	6,250	54,04	3,3775

Esto indica que el tipo de achiote rojo presenta un mayor rendimiento en Bixina del 100 %, con lo que se confirma de esta manera la selección del achiote rojo.

CUADRO N° 4.4.

RENDIMIENTO EN UNIDADES DE COLOR A 470 nm Y PUREZA EN BIXINA DE LOS  
ACHIOTES ROJO Y AMARILLO

ACHIOTE AMARILLO					
LAVADO	EXTRACTO ml	DILUCION	D.O. a 470 nm	ml A DI LUIR	UC
1	23	1:2000	2,244	0,005	20'914.080
2	19,7	1:1000	2,426	0,01	4'779.220
3	19,8	1:500	1,888	0,02	934.560
4	19,5	1:500	1,212	0,02	592.538
5	19,8	1:500	0,720	0,02	356.400
6	12,7	1:500	1,111	0,02	352.741
					27'929.539

ACHIOTE ROJO					
LAVADO	EXTRACTO ml	DILUCION	D.O. a 470 nm	ml A DI LUIR.	UC
1	23	1:2000	2,244	0,005	20'644.800
2	19,5	1:1000	2,356	0,01	4'594.200
3	19,5	1:500	1,989	0,02	969.637
4	19,2	1:500	0,927	0,02	444.959
5	19	1:500	0,511	0,02	242.725
6	12	1:500	0,608	0,02	182.400
					27'078.721

## PUREZA EN BIXINA DE LOS ACHIOTES

ACHIOTE ROJO	69,39 %
ACHIOTE AMARILLO	54,04 %

FUENTE: Datos experimentales obtenidos en el laboratorio.

ELABORADO: Los Autores del presente trabajo.

## CUADRO N° 4.5.

RENDIMIENTO EN UNIDADES DE COLOR A 404 nm DE LOS ACHIOTES ROJO Y  
AMARILLO

EXTRACTO	ACHIOTE AMARILLO D.O a 404 nm	UC	ACHIOTE ROJO D.O a 404 nm	UC
1	1,008	9'394.560	0,999	9'190.800
2	0,864	1'702.080	0.860	1'677.000
3	0,614	303.930	0.651	317.362,5
4	0,392	191.100	0,306	146.880
5	0,238	117.810	0,173	82.175
6	0,355	<u>112.712,5</u>	0,203	<u>60.900</u>
		11'822.192,5		11'475.117,5

FUENTE: Datos Experimentales Obtenidos en el Laboratorio

ELABORADO: Los Autores del Presente Trabajo.

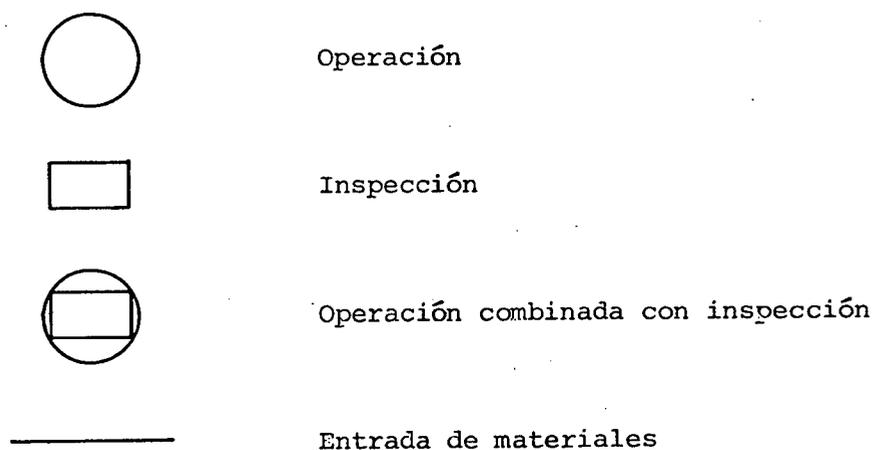
#### 4.7. OBTENCION DE BIXINA CRISTALIZADA PARA SU APLICACION EN AVES.

Con el fin de disponer de Bixina cristalizada en una cantidad que permita probar las dosificaciones óptimas en broilers y ponedoras , se realizará la extracción final en un microfermentador de 4 lit de ca pacidad. Para la recuperación del solvente y primera cristalización se utilizará un extractor de grasa de uso múltiple con vacío, de una capacidad en el balón de 12 lit.

El microfermentador es un equipo herméticamente cerrado, que - dispone de controles para regular la temperatura, velocidad de agitación, tiempo de agitación y un agitador central que sirve de abrasivo para un mayor rozamiento entre las semillas.

Los esquemas correspondientes, se muestran al final del capítu lo y por ser de usos múltiples, se indicará únicamente las partes utili zadas.

A continuación se indicará el diagrama ( 4.1. ) de flujo de - extracción de la Bixina, cuyo lenguaje de la simbología es el siguiente:



## Línea de flujo del proceso

Así mismo en el diagrama ( 4.2. ) se indica para una mejor comprensión la extracción con el solvente cloroformo utilizado en la obtención de la Bixina cristalizada

DIAGRAMA N° 4.1.

## DIAGRAMA DE FLUJO DE LA EXTRACCION DE BIXINA

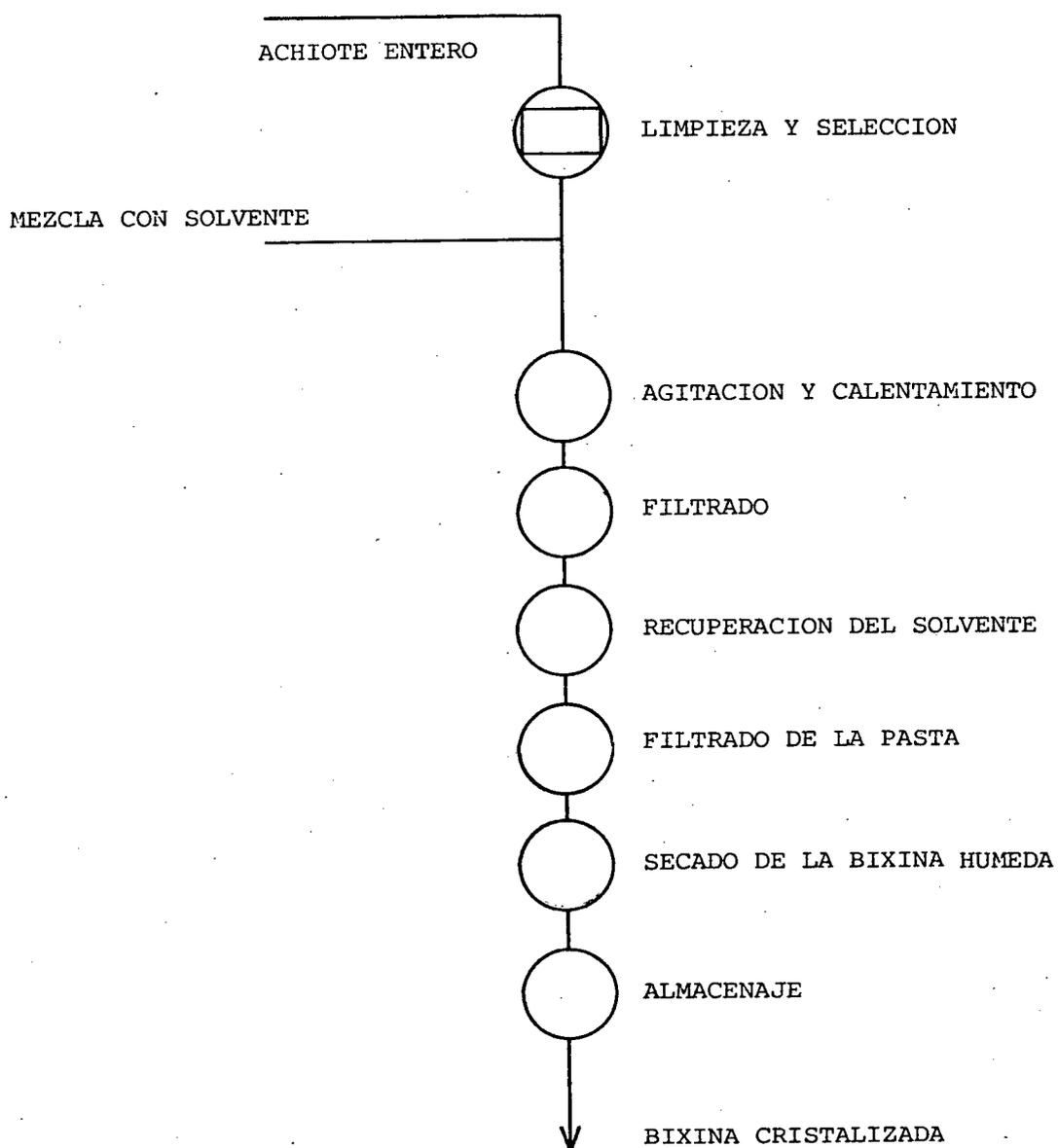
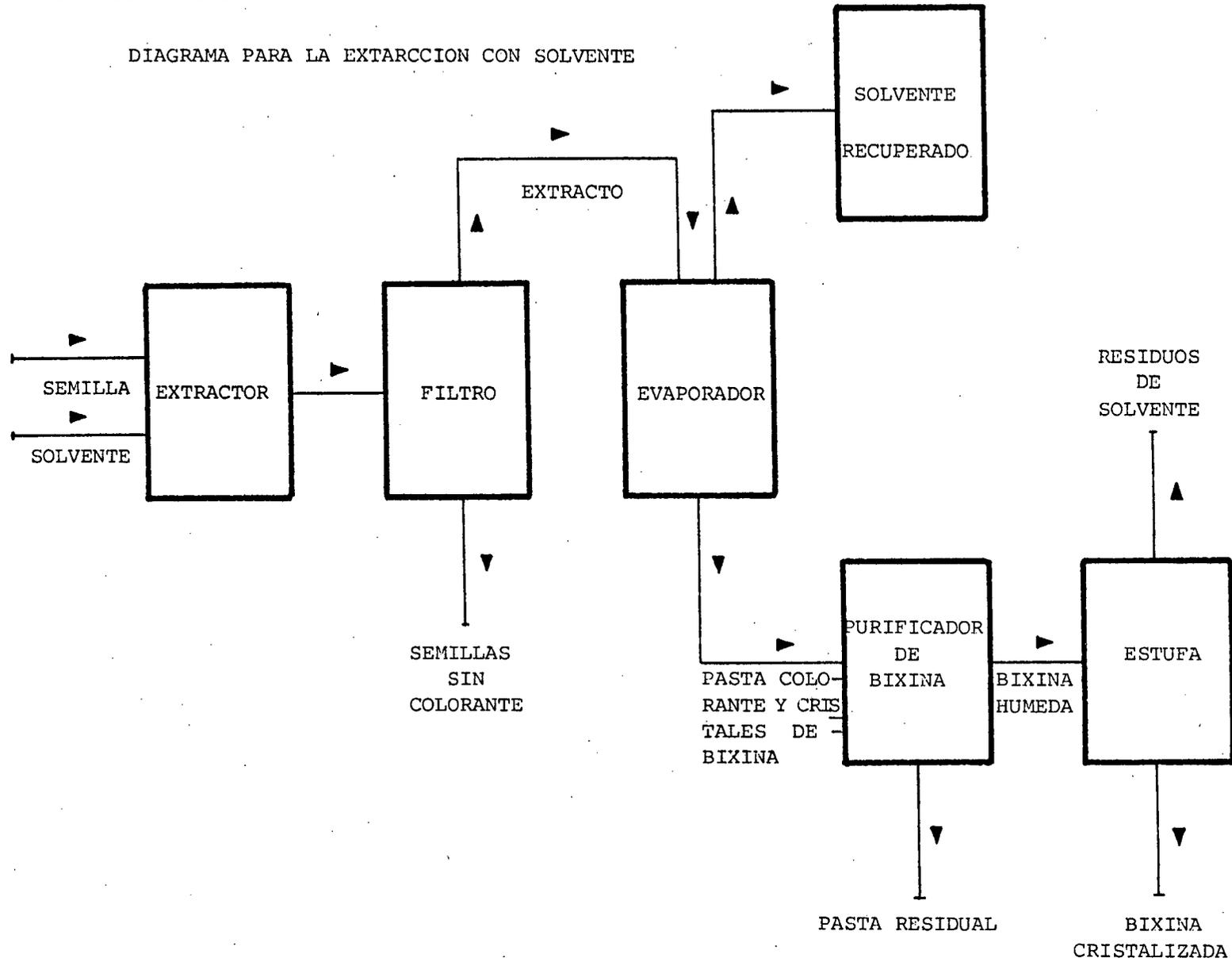


DIAGRAMA Nº 4.2.

DIAGRAMA PARA LA EXTARCCION CON SOLVENTE



El achiote presenta las siguientes características particulares: color rojo oscuro, tamaño grande y mediano de las semillas, densidad 0,628 g /ml.

Se trabajó con 750 g de semillas y las características de cada una de las tres extracciones son:

#### Primera Extracción.

- Relación solvente/semilla: 1,2:1 ( volumen/volumen )
- Temperatura de extracción: 35-38 °C
- Velocidad de agitación: 400 r.p.m.
- Tiempo de extracción: 45 minutos.
- Solvente empleado: 1433 ml.
- Extracto obtenido: 1280 ml

#### Segunda Extracción.

- Relación solvente/semilla: 1:1 ( volumen/volumen )
- Temperatura de extracción: 35-38 °C.
- Velocidad de agitación: 150-200 r.p.m.
- Tiempo de extracción: 45 minutos.
- Solvente empleado: 1194 ml
- Extracto obtenido: 1020 ml

#### Tercera Extracción.

- Relación solvente/semilla: 0,753:1 ( volumen/volumen )
- Temperatura de extracción: 35-38 °C

- Velocidad de extracción: \*
- Tiempo de extracción: 45 minutos.
- Solvente empleado: 900 ml
- Extracto obtenido: 700 ml

La extracción del solvente y la cristalización de la Bixina - llevada a cabo en el extractor de grasa, presenta las siguientes características.

- El tiempo de recuperación fue de 2 horas a 151 mm de Hg de vacío.
- Existieron pérdidas debido a que no se logra sellar herméticamente el equipo, de ahí que no se pudo mantener la presión de vacío por lo que se tenía que mantener la bomba en funcionamiento durante todo el tiempo de recuperación. Durante la recuperación del solvente se va notando ya, en las paredes del balón, la formación de cristales ( precipitación ).
- De un total de solvente utilizado, equivalente a 3527 ml para las tres extracciones, se obtuvo un total de extracto de 3000 ml ( pérdidas debidas a filtración ), del cual se recuperó 2800 ml de solvente.
- Luego de la recuperación se dejó por 39 horas en reposo a temperatura ambiente la pasta obtenida que fue en un total

---

\* En la tercera extracción, el agitador del equipo empezó a fallar y la agitación se paraba constantemente por lo que no se tuvo la eficiencia esperada. Debido a esto las semillas aún contenían algo de colorante a extraer, sin embargo, la cantidad extraída fue suficiente para realizar las pruebas posteriores.

de 120,4 g

- Con el fin de producir la cristalización más fácilmente se filtró a vacío obteniéndose 35,68 g de pasta residual con una riqueza de 11,4 % en Bixina y 71,58 g de Bixina húmeda que luego de secarla por 17 horas a temperatura ambiente, a la sombra y con aire forzado, y luego por una hora a 100 °C pesó 51,35 g con una pureza de 46,54 %.
- El rendimiento en Bixina del 100 % de pureza y 12 % de humedad incluida la pasta residual fue de 3,8 %.
- El rendimiento en Bixina del 100 % de riqueza y 0 % de humedad incluida la pasta residual fue de 4,3 %.

Estos rendimientos indican un aceptable rango de eficiencia en la extracción total, teniendo en cuenta las dificultades que se pasaron en la tercera extracción. En el diagrama ( 4.3 ) que se presenta al final del capítulo, se indica un balance de materia en la extracción de Bixina cristalizada.

La Bixina obtenida presenta las siguientes características en cuanto a la solubilidad y caracterización.

SOLVENTE	Cloroformo	Alcohol	Eter	Agua	Aceite 37°C	Caracterización*
SOLUBILIDAD	Elevada (Bixina)	Moderada (Bixina)	Moderada (Bixina)	Parc. (Orelli na)	Elevada (Bixina)	+

\* Trantando 0,1 gr de materia colorante en solución alcohólica con 0,5ml de ácido sulfúrico concentrado, se produce una coloración azul que caracteriza la presencia de Bixina. Al añadir una pequeña cantidad de agua, la coloración se torna en verde intenso.

#### 4.8. DETERMINACION Y ALTERNATIVAS DEL USO DEL MATERIAL PROTECTOR DE LOS CRISTALES DE BIXINA.

El achiote contiene tres pigmentos principales que son: el  $\beta$ -caroteno, la Norbixina y la Bixina, siendo este último el que se encuentra en mayor proporción. La Bixina es un carotenoide resistente al calor ( hasta antes de su punto de fusión que es de 198 °C ), resiste los cambios de pH, es permeable por ser soluble en grasas, pero es sensible a la oxidación y también se degrada con la luz.

En el cuadro 4.6. se presenta la forma como se degrada uno de los 3 pigmentos principales del achiote, el  $\beta$ -caroteno, cuando es expuesto a la luz solar y a la presencia del oxígeno ambiental en el transcurso de 4 meses.

CUADRO N° 4.6.

#### DEGRADACION DEL $\beta$ -CAROTENO CON EL TIEMPO

FECHA	CONCENTRACION DE LA MUESTRA (p.p.m.)	%
1985.11.25	2963,69	0,296
1985.12.10	2123,01	0,213
1986.01.10	1411,11	0,141
1986.01.25	1336,14	0,134
1986.04.03	392,85	0,039

FUENTE: Trabajo de Investigación Científico Tecnológico. - Facultad de Ingeniería en Industrias Agropecuarias de la Universidad Técnica Particular de Loja.

ELABORADO: Egresadas Norma Inga A. y Juana Velásquez T.

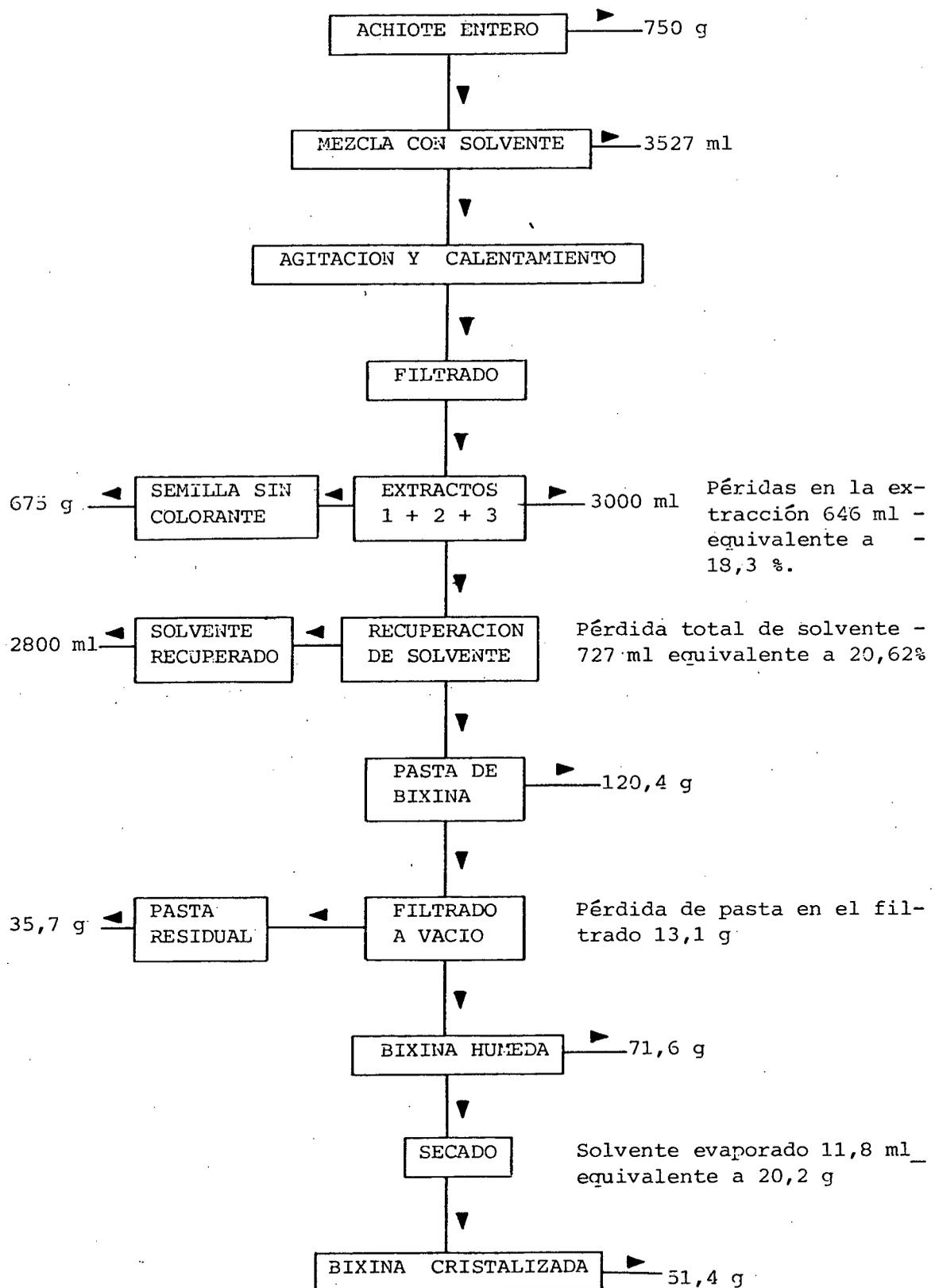
Con el fin de proteger a la Bixina contra la degradación se pensó en buscar un material de relleno inerte que podría ser gelatina, carbohidratos (almidón), alfarina deshidratada y desengrasada etc. Sustancias que no contienen grasas puesto que si se utiliza un material que la contiene puede producirse un enranciamiento de dicha grasa con lo cual se degradaría y perdería también el colorante.

Por la bibliografía consultada y de acuerdo a las características que presenta el colorante, se consideró que para proteger a la Bixina de la degradación por la luz y la oxidación del aire, no es tan indispensable que se utilice un material de relleno, aunque eso aseguraría más su conservación y mejoraría su comercialización, sino que es suficiente con que el producto se conserve en frascos ámbar oscuros y herméticos que no permitan el paso de la luz ni del aire ambiental como un antioxidante como el BHT. Por esta razón la protección de la Bixina cristalizada se la puede hacer con el material de relleno cuando se vaya a comercializar en gran escala únicamente y cuando se vaya a extender su almacenamiento por largo tiempo.

Para la aplicación de un material de relleno se sugiere utilizar un recubrimiento hecho a base de gelatina e hidratos de carbono combinado con antioxidantes eficaces. Para conseguir un buen deslizamiento y evitar la formación de grumos, las partículas incrustadas se proveen además de un revestimiento de almidón el mismo que debido a la facilidad con que sus partículas envuelven a los cristales de Bixina les da una mayor protección que otros materiales envolventes. Para el almacenaje se recomienda hacerlo en envases bien sellados y en lugar fresco y seco. Después de cada toma los envases deberán volverse a sellar cuidadosamente.

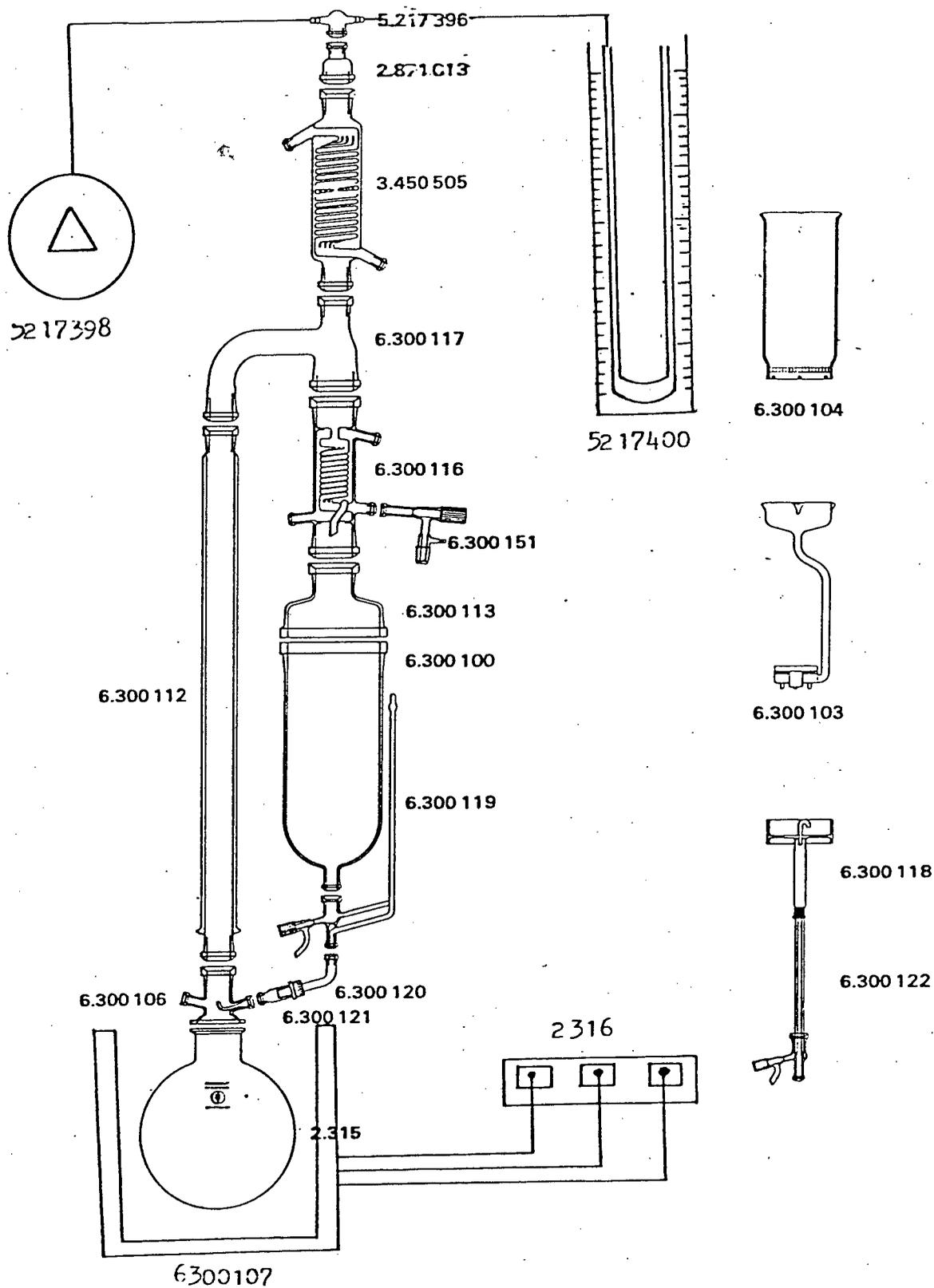
DIAGRAMA N° 4.3.

## BALANCE DE MATERIA DE LA EXTRACCION DE BIXINA



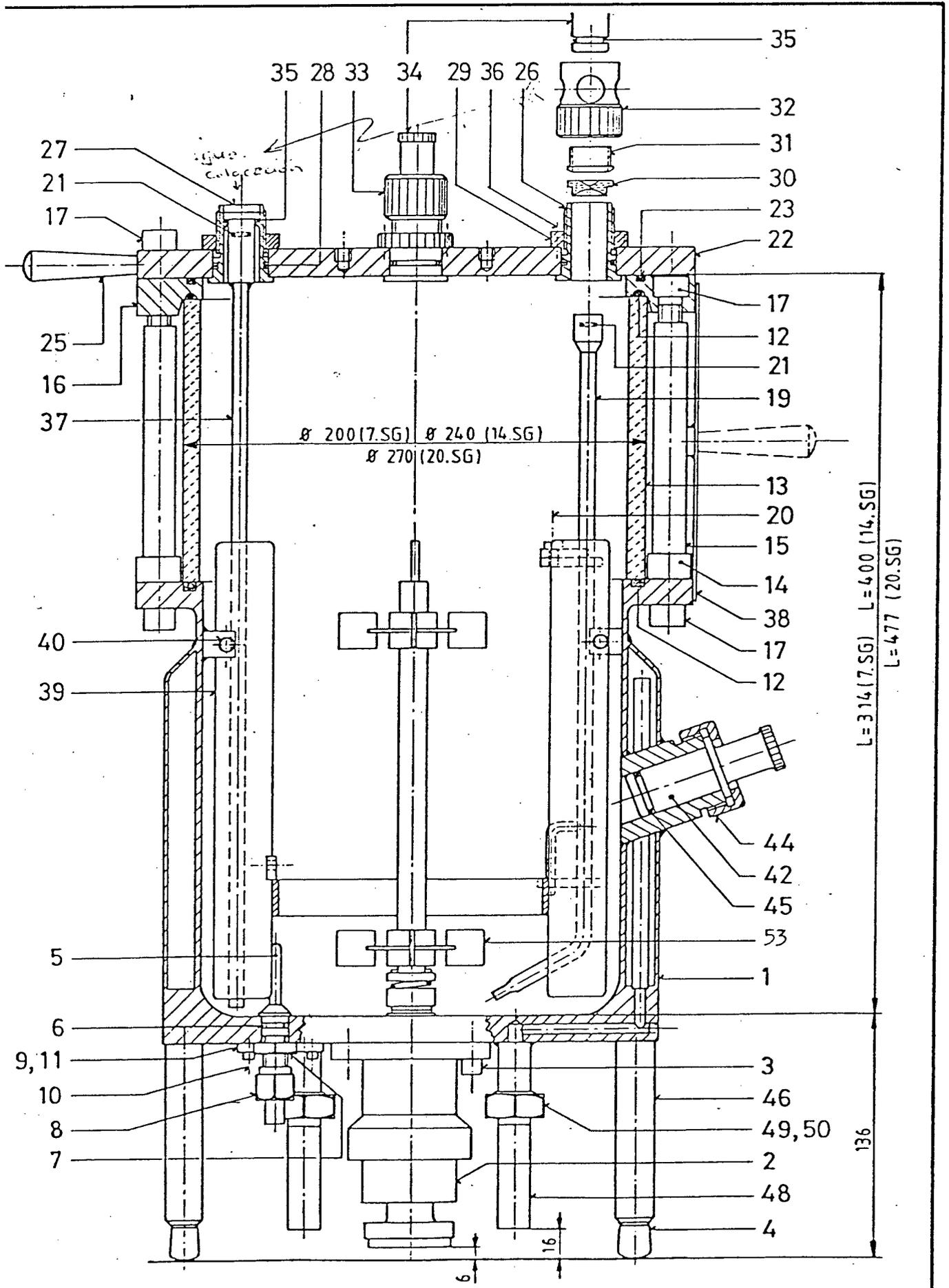
EQUIPO N<sup>o</sup> 4.1.

EQUIPO UTILIZADO EN LA RESUPERACION DE SOLVENTE



EQUIPO N<sup>o</sup> 4.2.

EQUIPO UTILIZADO EN LA EXTRACCION DE BIXINA CRISTALIZADA



Los equipos utilizados tanto para la extracción de bixina cristalizada como para la recuperación del solvente son de múltiple uso, - de tal manera que a continuación se señalarán únicamente las partes - que fueron utilizadas durante los procesos respectivos.

RECUPERADOR DE SOLVENTES

Bomba de vacío	:	5217398
Adaptador para conexiones	:	5217396
Válvula de seguridad	:	2871013
Refrigerante	:	3450505 y 6200116
Válvula de unión	:	6300117
Válvula de escape	:	6300151
Tapa reservoria	:	6300113
Reservorio de extracción	:	6300100
Tubo sifón	:	6300119
Codo de unión	:	6300120
Tubo de conexión	:	6300121
Balón de recuperación	:	2315
Baño maría	:	6300107
Adaptador para conexión TRK VI	:	2316
Manómetro	:	5217400

EXTRACTOR DE COLORANTES.

Tapón hermético	:	34
Agarradera	:	25
Soportes	:	46
Agitador	:	53

Casco de seguridad	:	39
Soporte del agitador	:	2
Vasija de extracción	:	1
Paso de vapor (doble camisa)	:	37
Tapa hermética	:	22
Paso de vapor	:	8

CAPÍTULO V

APLICACIÓN DE LA BIXINA CRISTALIZADA EN POLLOS DE  
ACABADO Y Ponedoras

## 5. APLICACIÓN DE LA BIXINA CRISTALIZADA EN POLLOS DE ACABADO Y Ponedoras.

### 5.1. OBJETIVOS DE LA APLICACION DE LA BIXINA EN CRISTALES.

Debido a que la introducción de la Bixina en alimentos balanceados en nuestro país no se ha llevado a cabo hasta la actualidad, ni como fuente de pigmentación, ni como fuente de actividad vitamínica ( ya que es una excelente fuente de  $\beta$ -caroteno ), por carecer de métodos que permitan su fácil manipulación y sobre todo una distribución homogénea en todo el pienso; con el presente estudio trataremos de darle un nuevo enfoque y una nueva aplicación a este colorante natural que es justamente su introducción en alimentos balanceados en forma cristalizada permitiendo de esta manera una fácil manipulación y distribución en el pienso, así como permitir mantener las condiciones de calidad de la materia colorante como son: evitar la degradación prematura de los carotenoides principales correspondientes a la Bixina y  $\beta$ -caroteno, cosa que ocurriría al usar semillas enteras por el mayor tiempo que estas pasan a expensas de las condiciones ambientales y de manipulación rigurosa.

Uno de los primeros temas al abordar la comercialización, necesariamente es el referido a los precios de los alimentos balanceados, que además deben reunir las mejores condiciones de calidad y ventajas -

en la alimentación animal.

Fundamentalmente, al aplicar la Bixina cristalizada en la alimentación de aves, se trata de igualar en primer lugar y luego superar los rendimientos de calidad en cuanto a pigmentación se refiere, que se obtienen al aplicar los pigmentos comerciales sintéticos Lucatin CX o Carofil ( rojo y amarillo ), que se utilizan actualmente en pollos de acabado y ponedoras en producción.

#### 5.2. FORMULACION COMERCIAL DE LOS BALANCEADOS USADOS EN POLLOS DE ACABADO Y PONEDORAS.

" Existen numerosos factores que determinan a los alimentos que estos sean adecuados para la formulación de balanceados, el primero y probablemente el más importante es la relación del contenido de proteína y energía con el precio. La calidad de la proteína y de los contenidos de vitaminas y minerales también deben ser considerados, en ciertos casos la presencia de algunas sustancias pueden limitar su uso, por ejemplo excesiva fibra, sustancias tóxicas o componentes que pueden dar lugar a una baja palatabilidad. Los probables efectos de materias primas cuyas propiedades físicas y conservación determinan las propiedades del producto final, y la posibilidad de que algunos materiales causen dificultades en la manufactura deben ser tomados en cuenta.

Obviamente que las empresas deben evitar al máximo los problemas y deben trabajar con materiales de alta calidad. El control de calidad de los materiales asegura un buen producto final y además establece las proporciones máximas que se pueden dosificar.

Otro propósito muy importante es proveer la información requerida para producir las formulaciones a más bajo costo.

Estas son las bases fundamentales que utilizan las industrias procesadoras de alimentos balanceados con el fin de obtener productos con la mayor calidad y el más bajo costo".<sup>10</sup>

Las fórmulas que normalmente se vienen produciendo en la Planta de Balanceados de la Universidad Técnica Particular de Loja y que serán las que posteriormente utilizaremos para sustituir el pigmento sintético Lucatin CX o Carofil ( rojo y amarillo ) por la Bixina cristalizada, se exponen a continuación.

---

(10). Ing. Antonio Armijos. "Folleto informativo de la Planta de Balanceados de la U.T.P.L.". 1985.



FORMULA USADA PARA ALIMENTACION DE BROILERS DE ACABADO

INGREDIENTES	PORCENTAJE
Maíz	72,5
Torta de soya	5
Harina de pescado	6
Afrecho de trigo	9
Torta de algodón	3
Palmiste	2
Caliza	1,2
Fosfato	0,8
Premix-300	0,3
Cosixtac	0,1
Furazol	0,05
Terramix ( TM 50 )	0,045
Sulfato ferroso	0,003
Sal	0,25
Lucatin CX o Carofil	<u>0,001</u>
TOTAL	100,249 %

FUENTE: Planta de Balanceados de U.T.P.L.  
ELABORADO: Ing. Gonzálo Pizarro

La fórmula presentada aporta con con 18,5 % de proteína cruda\_ como mínimo, 9 % de grasa cruda como máximo, y 6 % de fibra cruda como máximo.

## FORMULA USADA PARA ALIMENTACION DE PONEDORAS EN PRODUCCION

INGREDIENTES	PORCENTAJE
Maíz	62
Torta de soya	11
Harina de pescado	7
Afrecho de trigo	8
Torta de palmiste	2
Bentonita	0,8
Caliza	7,7
Fosfato	0,8
Sal	0,275
Premix - 300	0,250
Furazol	0,050
Terramix ( TM 50 )	0,045
Lucatin CX o Carofil	<u>0,001</u>
	TOTAL 99,921 %

FUENTE: Planta de Balanceados de U.T.P.L.

ELABORADO: Ing. Gonzálo Pizarro.

La fórmula presentada aporta con 17 % de proteína cruda como -  
mínimo, 5 % de grasa cruda como máximo, y 5,5 % de fibra cruda como -  
máximo.

5.3. SUSTITUCION TOTAL DEL PIGMENTO COMERCIAL CAROFIL, TANTO ROJO COMO AMARILLO O DEL PIGMENTO LUCATIN CX EN LA FORMULA COMERCIAL POR BIXINA CRISTALIZADA.

Del color de la yema tienen los consumidores ideas concretas, desean un color amarillo intenso ( amarillo dorado ). En el caso de los broilers, el consumidor prefiere el matiz amarillo anaranjado de la piel y de sus patas.

El color de la yema y de la piel de los broilers es determinado por la cantidad y el tipo de pigmentos depositados y asimilados, también llamados carotenoides o xantófilos. " Asi la cantidad de colorante a adicionar se encuentra relacionado con la cantidad de xantófilos que aporten los demás ingredientes del alimento compuesto; y, será menor el colorante a adicionar cuando mayor sea la cantidad de xantófilos presentes y viceversa ".<sup>11</sup>

" En plantas y animales los carotenoides o xantófilos están muy propagados como colorantes rojos, amarillos o violetas. La estructura de 270 carotenoides es conocida pero solo pocos son los apropiados para la pigmentación de la yema de los huevos y de la piel de los broilers. Los carotenoides naturales que provienen principalmente del maíz y de harina verde ingeridos con los alimentos compuestos para animales, son en primera línea el pigmento amarillo Luteína y el pigmento rojo Zeaxantina. Ellos no abatecen por lo general para conseguir el color deseado por el consumidor para la yema de huevo o la

---

(11). BASF. " Folleto informativo de la BASF, Carotenoides sintéticos ". 1983.

piel de los broilers. En la crianza intensiva de animales domésticos se necesita por esta razón alimentos compuestos con los que se compensa el déficit mediante la adición de carotenoides sintéticos".<sup>12</sup>

Actualmente se viene utilizando como material pigmentante en la formulación de balanceados dos pigmentos que son: el Lucantin CX - cuyo elemento activo es la Citranaxanthin que se encuentra en una proporción del 10 % en el producto comercial y que se utiliza en una cantidad de 1 g por cada 100 kg de mezcla de balanceado tanto en broilers como en ponedoras.

El otro pigmento es el Carofil cuyo elemento activo es la Cantaxantina, que se encuentra en una proporción del 10 % en el producto comercial. Existen dos tipos de colorantes en el Carofil el rojo y el amarillo que se utilizan indistintamente en la formulación comercial de broilers y de ponedoras en una cantidad de 1 g de Carofil por cada 100 kg de mezcla de balanceado.

La sustitución de stos pigmentos se los hará en forma total y no parcial, esto con el fin de averiguar cual es la fuerza del colorante vegetal Bixina y ver hasta que niveles es posible su sustitución. Por otro lado, se trata de igualar y luego mejorar los resultados que hasta el momento se obtiene con los colorantes sintéticos.

La concentración de Bixina que se va a utilizar para realizar la sustitución será la misma que tienen los pigmentos comerciales, es decir, 10 % de colorante activo en la fórmula comercial.

---

(12). S. Scholtyssek. " Manuel de Avicultura Moderna ". 1970.

De las fórmulas comerciales de balanceados anteriormente señaladas, la única variación que se hará será en los pigmentos que se utilizan comercialmente por el obtenido en el presente estudio, que es la Bixina cristalizada, que variará según los ensayos en diferentes proporciones. Estas variaciones se presentan en el punto 5.5.

#### 5.4 ESTIMACION MUESTRAL DE AVES PARA LA FORMACION DE LOTES - DESTINADOS AL ESTUDIO.

Con el fin de que la información final que se obtenga sea confiable y representativa, nos vamos a valer de una estimación muestral para la formación de lotes que servirán para el estudio de la aplicación del colorante obtenido.

La crianza del los broilers se empezó desde un día de nacidos en un total de 100 aves. La división en los lotes se la hizo a partir de la sexta semana hasta el final de la octava, que es el período de acabado que comprende la alimentación con el colorante Bixina. Debido a que se trabajó con 4 dosis distintas del colorante, se dividió así mismo en 4 lotes ( uno para cada dosificación ), más un blanco o testigo. Inicialmente se pensó dividir los lotes con 20 aves cada uno, pero hasta el final de la quinta semana existió una mortalidad del 13 %, entonces se tuvo que hacer la división en lotes de 17 aves cada uno excepto el blanco que tuvo 19 aves.

Para efectos de determinar el índice de conversión, el consumo de alimento, la variación de color, etc. Del número total de cada lote se tomó 5 aves como muestra representativa para efectos de determinar la variación de esos factores; dentro de este número se escogió po

llos y pollas para ver el cambio de color también de acuerdo al sexo.

Por otro lado se debe considerar la mortalidad o la posibilidad de que alguna ave no resulte con condiciones adecuadas para ser representativa durante el período de prueba. Si esto llegara a presentarse, se eliminará esa ave y las demás servirán para determinar el rendimiento promedio; esto en el caso de ser una sola ave si son más, bien se podrá reemplazar tales aves con las que existen en el resto del lote, pues todas se encuentran sometidas a las mismas pruebas.

La forma como se hizo la distribución de los broilers se presenta en el cuadro 5.1.

CUADRO N° 5.1.

DISTRIBUCION MUESTRAL DE BROILERS

LOTE	1	2	3	4	5
NUMERO DE AVES POR LOTE	17	17	17	17	19
MUESTRA REPRESENTATIVA POR LOTE	5	5	5	5	5

FUENTE: Datos experimentales obtenidos durante las pruebas.  
ELABORADO: Los Autores del presente trabajo.

Para el estudio en el caso de las gallinas ponedoras, se traba-

jó con aves en producción normal en un total de 69 aves, y también se realizó pruebas con 4 niveles de dosificación y un blanco. De tal manera que también se tubo 4 lotes con 4 aves cada uno y el blanco estaba formado por el resto de gallinas que no intervienen en las dosificaciones que son en número de 53.

Las aves se encuentran con un nivel de producción normal de 82 %, lo que indica un promedio de postura diario de 3 huevos por cada lote; y, del blanco se tomarán 2 huevos diarios número que será suficiente para realizar las pruebas de pigmentación.

La forma como se hizo la distribución de las gallinas ponedoras se presentan en el cuadro 5.2.

CUADRO N° 5.2.

DISTRIBUCION MUESTRAL DE GALLINAS PONEDORAS

LOTE	1	2	3	4	5
NUMERO DE AVES POR LOTE	4	4	4	4	53
NUMERO APROXI- MADO DE HUEVOS POR DIA	3	3	3	3	2

FUENTE: Datos experimentales obtenidos durante las pruebas.  
ELABORADO: Los Autores del presente trabajo.

5.5. EXPERIMENTOS CON 4 NIVELES DE DOSIFICACION DE BIXINA -  
CRISTALIZADA EN POLLOS Y PONEDORAS.

Las condiciones de crianza tanto en los broilers como de las gallinas fueron las óptimas, es decir, con la temperatura, el espacio, los comederos, los bebederos, los nidales, etc., edecuadamente equipados.

Las pruebas se realizaron en el caso de los broilers durante su período de acabado, es decir, desde el inicio de la sexta semana hasta el final de la octava; y, en las gallinas tuvo una duración de 10 días cada prueba.

Como elementos comparativos o pruebas en blanco fueron usadas en primer lugar el balanceado comercial que contiene 1 g de Lucantín CX del 10 % de pureza por cada 100 kg de mezcla, y luego fue usada la fórmula comercial sin contener ningún aditivo colorante sino únicamente el maíz que entra mayoritariamente en la fórmula se encargará de darle la pigmentación que resulte a la yema de los huevos. Para el caso de los broilers, se utilizó solo un blanco que contiene la fórmula comercial con 1 g de Lucantín CX con el 10 % de pureza por cada 100 kg de mezcla.

Las aves, tanto broilers como ponedoras, presentan las siguientes características iniciales antes de empezar las pruebas de dosificación.

## BROILERS.

Se trabajó con un número inicial de 100 pollitos sin dividirlos en lotes. Las características del control se presentan en el cuadro 5.3.

## CUADRO Nº 5.3.

## CARACTERISTICAS INICIALES DEL CONTROL DE BROILERS.

EDAD ( S )	PESO (g/p)	GANANCIA (g/s/p)	CONSUMO DE ALIM. (g/s/p)	INDICE DE CONVERSIÓN	MORTALI- DAD.
0	47,00	---	---	----	---
2	259,76	212,76	382,4	1,797	-
3	592,21	332,45	647,1	1,946	2
4	941,20	348,99	727,3	2,084 /	5
5	1322,19	381,00	1090,9	2,863 /	6

En donde: S = semanas  
g = gramos  
p = pollos

FUENTE: Datos experimentales obtenidos durante las pruebas.  
ELABORADO: Los Autores del presente trabajo.

## PONEDORAS.

Edad : 8 1/2 meses

Postura : La empezaron a partir de los 4 1/2 meses de edad.

Raza : Sexling

Rendimiento promedio en postura: 82 %

Las pruebas se realizaron con 4 niveles de dosificación de Bixi na cristalizada tanto para broilers como para ponedoras. Las variaciones de la cantidad de colorante a ponerse en cada dosis se presentan en los cuadros 5.4. y 5.5.

Se consideró que esos niveles eran lo suficientemente amplios para abarcar todas las posibilidades en cuanto a la variación de la pig mentación. Esto resulto cierto en los broilers más no en las gallinas, de ahí que fue necesario realizar varios ensayos más como se indica en el cuadro 5.6. y más adelante. Los resultados de las pruebas se muestran en el punto 5.7.

Se debe indicar por otro lado que las causas de la mortalidad de los pollitos fueron las que normalmente se producen, es decir, paro cardíaco, ascitis, etc. Y en ningún caso por causas debidas a un mal cuidado de las aves o por el pienso que se esta administrando, etc.

Las dosis de Bixina a probar se hicieron relacionandolas con la cantidad de Lucantín CX que normalmente se pone en la fórmula comercial. Y la cantidad de pienso a preparar se calculó de acuerdo al núme ro de aves existentes en cada lote y de acuerdo al consumo diario o se manal de alimento por ave.

BROILERS.

Preparamos 50 kg de balanceado por cada dosis y la cantidad -

de Bixina del 46,54 % de riqueza a reemplazar en la fórmula comercial - anotada en el punto 5.2. es la siguiente para cada dosis.

CUADRO N° 5.4.

NIVELES DE DOSIFICACION DE BIXINA EN BROILERS

BIXINA (g)	EQUIVALENCIA EN DOSIS COMERCIALES DE LUCAN- TIN CX.
0,107	una vez
0,215	dos veces
0,318	tres veces
0,636	seis veces

Con estos valores se llega a dosis de Bixina equivalentes al 10 % de pureza.

FUENTE: Datos experimentales obtenidos durante las pruebas.  
ELABORADO: Los Autores del presente trabajo.

PONEDORAS.

Preparamos 20 kg de balanceado para cada dosis y la cantidad de Bixina del 46, 54 % de pureza a reemplazar en la fórmula comercial - anotada en el punto 5.2. es la siguiente para cada dosis.

CUADRO N° 5.5.

## PRIMER NIVEL DE DOSIFICACIONES DE BIXINA EN PONEDORAS

BIXINA ( g )	EQUIVALENCIA EN DOSIS COMERCIALES DE LUCAN- TIN CX
0,0435	una vez
0,0850	dos veces
0,1280	tres veces
0,2540	seis veces

Con estos valores se llega a dosis de Bixina equivalentes al 10 % de pureza.

FUENTE: Datos experimentales obtenidos durante las pruebas.

ELABORADO: Los Autores del presente trabajo.

Debido a que no se logró obtener los tonos de color deseados - en la yema de los huevos con estas dosificaciones, fue necesario preparar dosis más fuertes. Estas dosis se presentan en el cuadro 5.6 teniendo en cuenta que la fórmula de balanceado es la misma, variando únicamente la concentración del colorante como en los casos anteriores.

Preparamos 15 kg. de balanceado para cada dosis y la cantidad de Bixina del 46,54 % de pureza a reemplazar en la fórmula comercial - anotada en el punto 5.2. es la siguiente para cada dosis.

CUADRO N° 5.6.

## SEGUNDO NIVEL DE DOSIFICACIONES DE BIXINA EN PONEDORAS

BIXINA (g)	EQUIVALENCIA EN DOSIS COMERCIALES DE LUCAN- TIN CX
0,29	nueve veces
0,38	doce veces
0,48	quince veces
0,58	diez y ocho veces

Con estos valores se llega a dosis de Bixina equivalentes al 10 % de pureza.

FUENTE: Datos Experimentales Obtenidas Durante las Pruebas  
ELABORADO: Los Autores del Presente Trabajo.

En este punto del trabajo de experimentación, se hizo, una prueba utilizando balanceado comercial sin ningún aditivo colorante, siendo éste otro parámetro que se va a utilizar para comparar la coloración con las dosis de Bixina que se van utilizando.

Con estas dosis ( cuadro N° 5.6.), tampoco se logró obtener un tono de color aceptable, por lo que se justifica utilizar otra forma de dosificar, la misma que consistió en incorporar al balanceado dosis de -achiote entero y molido como sustituto del maíz en la misma proporción - que ingresa en la fórmula general como se indica en el cuadro ( N° 5.7.). Se utilizó el mismo tipo de achiote que se empleo en la extracción de Bixina.

CUADRO Nº 5.7.

## NIVELES DE DOSIFICACION CON ACHIOTE ENTERO EN PONEDORAS

ACHIOTE ENTERO	BALANCEADO	EQUIVALENCIA EN BIXINA DEL 100 % PUREZA
kg	kg	g
1,5	100	67,5
3,0	100	135,0

FUENTE: datos Experimentales Obtenidos Durante las Pruebas.  
ELABORADO: Los Autores del Presente Trabajo.

Se preparó 10 Kg de balanceado para cada dosis. Para la dosis de 1,5 % se agregó 150 g de achiote entero con el 12 % de humedad en los 10 kg de balanceado. Esto equivale a poner 6,75 g de Bixina del 100 %. Este último cálculo se lo realizó de la siguiente manera:

En la extracción final de Bixina se determinó que existe un rendimiento del 4,3 % de Bixina del 100 % con 0 % de humedad. Ahora se considera más el 0,2 % por creer que esa proporción pudo quedarse en la semilla luego de la extracción, entonces:

En 100 kg de achiote ----- 4,5 kg de Bixina  
 En 1,5 kg de achiote ----- X  
 X = 67,5 g de Bixina del 100 % de pureza

En 100 kg de mezcla ----- 67,5 g de Bixina  
 En 10 kg de mezcla ----- X

$X = 6,75 \text{ g}$  de Bixina del 100 % de pureza.

Para la dosis de 3 % se agrego 300 g de achote entero con el 12 % de humedad en los 10 kg de balanceado. Esto equivale a poner 13,5 g de Bixina del 100 % de pureza por el mismo cálculo anterior.

Los resultados obtenidos con estas dosis, nos van a servir para saber cual sería la cantidad real de Bixina del 100 % de pureza que se debe agregar para obtener un tono de color ya adecuado y esperado, puesto que aqui ya se tuvo buenos resultados como se puede observar en el cuadro 5.14.

Es así que luego de saber esos resultados, preparamos una última dosis con la Bixina extraída como se indica en el cuadro 5.8.

CUADRO N° 5.8.

TERCER NIVEL DE DOSIFICACION DE BIXINA EN PONEDORAS

BIXINA DEL 46,54 % (g)	BALANCEADO (kg)	EQUIVALENCIA EN BIXINA DEL 100 % DE PUREZA ( g )
125,5	100	58,38

FUENTE: Datos Experimentales Obtenidos Durante las Pruebas  
ELABORADO: Los Autores del Presente Trabajo.

Para ello preparamos 13 kg de mezcla a la que se le agregó 16,32 g de Bixina del 46,54 % de pureza lo que equivale a poner 7,59 g

de Bixina del 100 de pureza. Los resultados de todas estas pruebas se presentan en el punto 5.7.

5.6. RESULTADOS DE PIGMENTACION EN POLLOS DE ACABADO MEDIANTE UNA ENCUESTA DE SENSIBILIDAD. EXAMEN ORGANOLEPTICO.

Las características finales de los broilers luego de terminar con las dosificaciones son las siguientes.

CUADRO N° 5.9

CARACTERISTICAS FINALES DEL CONTROL DE BROILERS

( 6 a 8 semanas )

GRUPO 1 ( con 1 vez la dosis comercial )					
EDAD (S)	PESO (g/p)	GANANCIA (g/s/p)	CONSUMO DE ALIM. (g/s/p)	INDICE DE CONVERSION	MORTALIDAD
6	1781,25	459,06	1134,76	2,472	---
7	2272,72	491,47	1229,36	2,501	2
8	2992,42	719,70	1287,60	1,789	---

## GRUPO 2 ( con 2 veces la dosis comercial )

EDAD (S)	PESO (g/p)	GANANCIA (g/s/p)	CONSUMO DE ALIM. (g/s/p)	INDICE DE CONVERSION	MORTALIDAD
6	1738,64	416,45	1167,22	2,802	-
7	2216,47	477,83	1262,30	2,641	1
8	2769,88	553,41	1372,72	2,481	-

## GRUPO 3 ( con 3 veces la dosis comercial )

EDAD (S)	PESO (g/p)	GANANCIA (g/s/p)	CONSUMO DE ALIM. (g/s/p)	INDICE DE CONVERSION	MORTALIDAD
6	1806,82	484,63	1134,76	2,341	1
7	2596,59	789,77	1299,43	1,645	-
8	3117,04	520,45	1372,72	2,637	-

## GRUPO 4 ( con 6 veces la dosis comercial )

EDAD (S)	PESO (g/p)	GANANCIA (g/s/p)	CONSUMO DE ALIM. (g/s/p)	INDICE DE CONVERSION	MORTALID.
6	1857,95	535,76	1187,22	2,216	-
7	2500,00	632,05	1207,80	1,881	-
8	3004,26	504,26	1372,72	2,722	-

## GRUPO 5 (con la dosis comercial de Lucantín CX )

EDAD (s)	PESO (g/p)	GANANCIA (g/s/p)	CONSUMO DE ALIM. (g/s/p)	INDICE DE CONVERSION	MORTALIDAD
6	1790,34	468,15	1180,14	2,520	-
7	2247,06	456,72	1277,27	2,796	1
8	2743,18	496,12	1311,47	2,643	-

En donde: S = semanas  
g = gramos  
p = pollo

FUENTE: Datos Experimentales Obtenidos Durante las Pruebas.  
ELABORADO: Los Autores del Presente Trabajo.

Estos datos indican una evolución normal de los broilers durante la fase de experimentación. La mortalidad fue más baja que durante el período inicial y las causas en ningún momento fueron debidas al colorante usado, sino que fueron causas normales que se presentan en cualquier criadero de aves.

Para valorar los resultados de pigmentación de la piel y tarso de los broilers nos vamos a valer de una encuesta de sensibilidad realizada con personas entendidas en la materia. La valoración se hará en los pollos en pie y luego del sacrificio. En este punto se debe considerar un factor muy importante que influye en la coloración de los pollos sacrificados; este factor es la temperatura del agua para realizar el pelado. Nos propusimos determinar cual es el tiempo óptimo de pelado manteniendo constante la temperatura de 75 °C que también se determinó como óptima, pues a menor temperatura se dificulta el pelado y a mayor temperatura se destruye la piel. Para determinar el tiempo óptimo

se probó con 3 parámetros, teniendo en cuenta como mejoraba la tonalidad en cada ensayo, se calificó de la siguiente manera:

Regular : Aceptable coloración amarilla  
 Bueno : Satisfactoria coloración amarilla  
 Muy bueno: Buena coloración amarilla

Los resultados de los ensayos son los siguientes:

Con 40 segundos de escaldado : REGULAR  
 Con 50 segundos de escaldado : BUENO  
 Con 60 segundos de escaldado : MUY BUENO

Una vez determinados estos parámetros óptimos para el pelado vamos a valorar el color de los broilers tanto en vivo como luego del sacrificio. Para ello se estableció la siguiente escala que indica el efecto de pigmentación.

Deficiente : Bajo tono amarillo pálido  
 Satisfactorio : Notable coloración amarilla  
 Bueno : Intensa coloración amarilla  
 Muy Bueno : Optimo tono amarillo anaranjado.

Los resultados de la pigmentación en los broilers se presentan en el cuadro 5.10.

CUADRO N° 5.10.

## RESULTADOS DEL EFECTO DE PIGMENTACION EN BROILERS

EFECTO DE PIGMENTACION EN LOS BROILERS EN VIVO										
GRUPO	1(1 vez)		2(2 veces)		3(3 veces)		4(6 veces)		5(blanco)	
	pollo	polla	pollo	polla	pollo	polla	pollo	polla	pollo	polla
TONO	Defi.	Defi.	Bueno	Bueno	Sat.	Sat.	Sat.	Bueno	Def.	Def.

## EFECTO DE PIGMENTACION EN LOS BROILERS SACRIFICADOS

GRUPO	1(1 vez)		2(2 veces)		3(3 veces)		4(6 veces)		5(blanco)	
	pollo	polla	pollo	polla	pollo	polla	pollo	polla	pollo	polla
TONO	Sat.	Sat.	Bueno	Sat.	Bueno	Sat.	Bueno	Bueno	Sat.	Sat.

FUENTE: datos Experimentales Obtenidos Durante las Pruebas.  
 ELABORADO: Los Autores del Presente Trabajo.

Según estos resultados se llega a mejorar el color de la piel y tarso de los broilers a partir de la segunda dosificación, es decir, a partir de la aplicación de Bixina en una proporción equivalente a 2 g de colorante del 10 % de pureza por cada 100 kg de mezcla de balanceado. La aplicación de las dosis de 3 a 6 g por 100 kg también tiene resultados positivos, pero en el sentido de rentabilidad y costos, la dosis de 2g /100 kg es la más favorable.

5.7. RESULTADOS DE PIGMENTACION MEDIANTE ESTANDARES EN LA YEMA DE LOS HUEVOS. EXAMEN ORGANOLEPTICO.

" El color de la yema de los huevos obedece a los carotenoides de la ración. se trata principalmente de los xantófilos Luteína y Zeaxantina que con sus componentes coloreados de amarillo y rojo prestan a la yema su estimado tono amarillo dorado. La adecuada combinación de estos componentes cromáticos permite lograr una buena coloración de la yema en el transcurso de 10 días. Son de desear 80 mg /kg de xantófilo total, de la que 40 mg /kg debe ser Luteína y 20 mg /kg de zeaxantina. El maíz amarillo que entra mayoritariamente en el balanceado contiene 17 mg /kg de xantófilos totales de los cuales 10 mg /kg son de Luteína y 4 mg /kg son de Zeaxantina. Esto demuestra que solo los alimentos no son suficiente para aportar la cantidad requerida de xantófilos para colorear adecuadamente la yema del huevo. Por eso es que existen los extractos mixtos de preparación industrial con tasas muy altas de carotenoides, así como preparados sintéticos que tienen la ventaja de llevar componentes coloreados, mientras que las sustancias naturales portadoras de color sufren en su almacenamiento pérdidas.

La categorización del color de la yema puede llevarse a cabo con escala de colores o por determinación fotométrica siendo más recomendable hacerlo con la escala de colores ".<sup>12</sup>

El análisis se lo realizó mediante una escala de colores establecida por la empresa Alemana BASF de reconocido prestigio mundial. En cada dosificación se hizo pruebas durante 10 días. Los resultados se

---

(12). S.Scholtyssek. " Manual de Avicultura Moderna ". 1970.

presentan en los cuadros 5.11-5.12-5.13 y 5.14 indicandose también los rendimientos en postura que tienen las gallinas durante las pruebas, exceptuando a las que se utilizaron como blanco, pues nosotros hemos considerado el resto de gallinas existentes en el galpón que son en número de 53 para el efecto y de este número tomamos 2 huevos diarios para realizar las comparaciones.

La escala de colores tiene valores comprendidos entre 6 y 15 - aumentando el valor conforme aumenta el tono de la yema, yendo desde el tono amarillo pálido, amarillo naranja o dorado y amarillo fuerte.

CUADRO N° 5.11.

COLORACION DE LA YEMA DE LOS HUEVOS Y RENDIMIENTO EN POSTURA CON EL PRIMER NIVEL DE DOSIFICACIONES DE BIXINA

COLORACION DE LA YEMA DE HUEVO					
GRUPO	1(vez)	2(2 veces)	3(3 veces)	4(6 veces)	5(con Luc)
DIA					
1	9	9	8	9	11
2	10	9-10	9	10-11	12
3	8	9	9-10	10-11	11
4	9	10	9	10	12
5	9	9	9-10	10	11
6	10	9-10	9-10	10-11	11
7	10	9-10	9	9-10	12
8	9	9	8	9	12
9	8	8	7	9	11-12
10	8- 9	8	7- 8	9	11-12

## RENDIMIENTO EN POSTURA

GRUPO	1(1 vez)	2(2 veces)	3(3 veces)	4( 6 veces)	5(Luc.)
DIA					
1	2	2	2	2	2
2	2	3	4	4	2
3	4	3	2	4	2
4	2	3	3	4	2
5	2	3	4	3	2
6	3	4	4	3	2
7	3	4	2	3	2
8	4	4	4	3	2
9	4	4	4	3	2
10	2	4	2	4	2
PROMEDIO EN %	70	85	77	80	-

FUENTE: Datos Experimentales Obtenidos Durante las Pruebas.  
ELABORADO: Los Autores del Presente Trabajo.

Estos resultados indican que no se logra igualar el color que se está obteniendo al utilizar el Lucantín CX, por tanto, se necesita una dosis más fuerte para colorear la yema de huevo hasta alcanzar esos niveles. En cuanto al rendimiento en postura, se observa un nivel normal lo que indica que no existe ningún problema por el cambio realizado.

La segunda prueba se hizo utilizando dosis de Bixina equivalentes a 9, 12, 15 y 18 veces más que la dosis original de 1 g /100 kg de

Lucantín CX. Además, para esta prueba nos propusimos determinar la forma como va disminuyendo y hasta donde rebaja el color de la yema al administrar el balanceado sin la adición de ningún colorante, sino únicamente con los carotenoides que aportan los ingredientes de la ración. El análisis de huevos que tienen en la ración el Lucantín CX ya no es necesario hacerlo porque se mantiene en la misma forma o sigue la misma variación mostrada en la primera prueba. Los resultados de la pigmentación de la yema y los rendimientos de esta segunda prueba se presentan en el cuadro 5.12. Para la prueba en blanco, es decir, sin la adición de colorantes se utilizaron 3 gallinas separadas aparte.

CUADRO N° 5.12.

COLORACION DE LA YEMA DE LOS HUEVOS Y RENDIMIENTO EN POSTURA CON EL  
SEGUNDO NIVEL DE DOSIFICACIONES DE BIXINA

COLORACION DE LA YEMA DE HUEVO					
GRUPO	1(9 veces)	2(12 veces)	3(15 veces)	4(18 Veces)	5(sin.col)
DIA					
1	8	7	11	9	12
2	7	7- 8	11	8- 9	12
3	10	8- 9	10	8- 9	11-12
4	10	9-10	8- 9	10	11
5	8	7- 8	8- 9	8- 9	10-11
6	10	8- 9	8- 9	9	11
7	9	8	8- 9	8	10
8	8	9	9	7- 8	9
9	9	9	8- 9	8- 9	8- 9
10	9	9	9	9	8

## RENDIMIENTO EN POSTURA

GRUPO	1(9 veces)	2(12 Veces)	3(15 veces)	4(18 Veces)	5(sin col.)
DIA					
1	4	3	4	3	1
2	2	3	4	4	2
3	2	4	3	4	3
4	3	4	3	4	2
5	2	2	2	4	2
6	3	4	4	4	3
7	2	3	3	2	1
8	3	2	3	3	2
9	2	4	3	2	2
10	3	4	4	4	2
PROMEDIO EN %	65	82	82	85	-

FUENTE: Datos Experimentales Obtenidos Durante las Pruebas.  
ELABORADO: Los Autores del Presente Trabajo.

Como se puede observar en los cuadros, aun no se logra obtener un color ideal que iguale al que se obtiene utilizando la fórmula comercial con Lucantín CX. Debido a esto realizamos otro tipo de prueba utilizando el achiote entero en un porcentaje de 1,5 y 3 % como sustituto de igual proporción de maíz. Luego, de acuerdo a los resultados de pigmentación sabremos que cantidad de Bixina como tal se debe utilizar para obtener el color deseado. Este cálculo se lo muestra en el punto 5.5. De acuerdo a este cálculo, se debe agregar 0,5838 % de Bixina -



del 100% de pureza en la ración de balanceado para obtener un tono adecuado. Así lo indican los resultados que se presentan en el cuadro 5.13. y 5.14.

CUADRO N° 5.13.

COLORACION DE LA YEMA DE LOS HUEVOS Y RENDIMIENTO EN POSTURA CON NIVELES DE DOSIFICACION DE ACHIOTE ENTERO

COLORACION DE LA YEMA DE HUEVO Y POSTURA				
DIAS	COLOR CON 1.5 %	POSTURA CON 1,5 %	COLOR CON 3 %	POSTURA CON 3 %
1	7- 8	2	8- 9	3
2	11-12	2	12-13	3
3	12-13	3	15	2
4	13-14	1	> 15	2
5	> 15	3	> 15	3
6	> 15	3	> 15	3
7	> 15	3	> 15	3
8	> 15	3	> 15	2
9	> 15	3	> 15	2
10	> 15	2	> 15	3
PROMEDIO EN %		62		65

FUENTE: Datos Experimentales Obtenidos Durante las Pruebas.  
ELABORADO: Los Autores del Presente Trabajo.

CUADRO 5.14.

COLORACION DE LA YEMA DE LOS HUEVOS Y RENDIMIENTO EN POSTURA CON EL  
 TERCER NIVEL DE DOSIFICACION DE BIXINA

DIAS	COLOR CON 0,5838 % DE BIXINA	POSTURA CON 0,5838 DE - BIXINA
1	7- 8	4
2	10-11	3
3	10	2
4	11-12	4
5	10-11	2
6	12	3
7	11-12	2
8	11	3
9	12	3
10	12	4
PROMEDIO EN %		75

FUENTE: Datos Experimentales Obtenidos durante las pruebas.  
 ELABORADO: Los Autores del Presente Trabajo.

Con esta última dosis si se logra obtener un tono de color -  
 igual al que se obtiene utilizando Lucantín CX. Los resultados de cam-  
 bio de color se dieron a partir del segundo día de administrado el ba--  
 lanceado con el colorante. Todos los huevos recolectados fueron quebra-  
 dos y sus yemas comparadas con la escala de colores inmediatamente lue-  
 go de la postura. El color finalmente obtenido fue de un tono amarillo

anaranjado pasando previamente por un amarillo pálido que es el tono normal de los huevos de granja.

Al administrar el achiote se obtuvo colores demasiado elevados que prácticamente eran indeseable. De ahí que para hacer la dosificación final con Bixina se rebajó hasta un equivalente a 1,3 % de achiote entero con lo cual dió el tono ideal que finalmente se quería obtener.

#### 5.8. RESULTADOS DEL CONTENIDO DE $\beta$ -CAROTENO Y VITAMINA A EN LA YEMA DE LOS HUEVOS.

Los huevos cuyo contenido en vitamina A y  $\beta$ -caroteno van a ser analizados, son aquellos que corresponden a una dosificación que contiene el nivel óptimo de Bixina para colorear la yema, esto es, 0,5838 % de colorante del 100 % de pureza; la dosificación comercial con Lucantín CX; y, sin la adición de ningún colorante. Por cada muestra se realizaron dos análisis instrumentales con el fin de asegurar un buen resultado de los mismos. Los resultados se muestran en el cuadro 5.15., y el método de análisis se enuncia en el ANEXO D.

CUADRO 5.15.

CONTENIDO DE VITAMINA A Y  $\beta$ -CAROTENO EN LA YEMA DE HUEVO

MUESTRA	RESULTADO DE $\beta$ -CAROTENO - EN p.p.m.	RESULTADO DE VITAMINA A - EN USP	RESULTADO DE VITAMINA A - EN UI
Con Lucantín	388	646.666,66	155.200
Con Bixina	280	466.666,66	112.000
Sin colorante	278,82	464.704,90	111.529,2

FUENTE: Laboratorio de Análisis Instrumental de la U.T.P.L.

ELABORADO: Ing. Jaime Guamán

1 mg de  $\beta$ -caroteno = 4000 UI de Vitamina A.

1 g de  $\beta$ -caroteno = 1.666.666,66 USP de Vitamina A

Según este cuadro, se puede observar que el aditivo colorante-sintético Lucantín CX aporta con una mayor cantidad de Vitamina A y  $\beta$ -caroteno lo cual demuestra que posee un considerable efecto vitamínico, pues, según la casa productora de este colorante, de 10 g de Lucantín CX se puede transformar hasta aproximadamente un millón de UI de Vitamina A. Al aplicar altas dosis de Lucantín CX puede tener un efecto antagónico la simultánea aplicación de Vitamina A, es decir que se reduce la eficacia del carotenoide. Por esta razón se recomienda en casos de elevada dosificación de Lucantín CX ( a partir de 60 g /tn. de alimento ), reducir la dosis normal de Vitamina A.

Luego se tiene que los huevos obtenidos al aplicar Bixina en la alimentación de aves, también contienen Vitamina A y  $\beta$ -caroteno, pero en menor proporción lo cual demuestra que el carotenoide aparte de -

ser un colorante también tiene un efecto vitamínico que sirve tanto al ave que aprovecha parte de su efecto y al huevo que asimila el resto.

Los huevos obtenidos sin la adición de ningún colorante en la dieta alimenticia tiene un contenido de Vitamina A y  $\beta$ -caroteno más bajo que las dos anteriores dosificaciones, cuyo valor ha sido conseguido únicamente por lo que aportan los ingredientes de la mezcla y cierta parte por aditivos sintéticos que complementan el valor nutritivo del balanceado.

#### 5.9. RESULTADOS COMPARATIVOS CON EL BALANCEADO COMERCIAL.

Los resultados comparativos con el balanceado comercial son hechos en base al tono de color obtenido al probar las diferentes dosis de Bixina cristalizada.

El Pigmento es mayormente asimilado y por tanto el color es más acentuado en los pollos que en las pollas. La tonalidad obtenida en la piel y tarso de los broilers alimentados con balanceado comercial que contiene Lucantín CX, según se observa en el cuadro de resultados de pigmentación, corresponde a una calificación DEFICIENTE en los broilers en vivo y tanto en pollos como en pollas. En los broilers sacrificados se tiene una calificación de SATISFACTORIO tanto en pollos como en pollas. El tono se mejora con un adecuado escaldado.

Los broilers alimentados con el balanceado que contiene las diferentes dosis de Bixina mejoraron notablemente, pues se obtuvieron calificaciones de SATISFACTORIO y BUENO en los broilers vivos y sacrificados y tanto en pollos como en pollas. Esto se puede apreciar me-

mejor en los resultados de pigmentación presentados en los cuadros 5.9 y 5.10.

En el caso del tono de las yemas de los huevos, con el balanceado comercial que contiene Lucantín CX, se tiene colores de hasta un nivel de 12 en la escala de colores. Cuando se dió la alimentación con balanceado que no contenía ningún pigmento se llegó hasta un nivel de 8 en la escala de colores. Y al alimentar las aves con Bixina en una proporción del 0,5838 % de colorante del 100 % de pureza, se logró igualar el tono de color obtenido con el balanceado comercial, es decir, que se tuvo un nivel de 12 en la escala de colores.

Consecuentemente se concluye que en el caso de los broilers se logró mejorar el tono de color obtenido utilizando balanceado comercial que contiene Lucantín CX. Y en el caso de la yema de los huevos se logró igualar el tono de color obtenido con el balanceado comercial que contiene Lucantín CX.

En lo que se refiere a los niveles de crecimiento y producción en los broilers y ponedoras respectivamente, se debe indicar que estos siguieron un curso normal sin ninguna alteración y similar al que estaban siguiendo antes de la administración del pigmento. Esto indica que no existió ningún problema debido a la aplicación del colorante obtenido, Bixina.

#### 5.10. DETERMINACION DE DOSIS MAS EFECTIVA DE BIXINA EN LOS BALANCEADOS.

De acuerdo a los resultados presentados anteriormente se con-

cluye que la dosis más efectiva de Bixina cristalizada a utilizar en los balanceados comerciales sustituyendo al Lucantín CX para mejorar el color de la aves, en el caso de los broilers es de 2 g /100 kg con una pureza del 10 % pudiendo extenderse hasta 4 g /100 kg con igual pureza con el fin de asegurar una buena pigmentación. Las dosis más elevadas de Bixina van a mejorar el color pero en una proporción menor comparada con lo que se mejora al utilizar las dosis que se recomienda.

En el caso de las ponedoras no resulta ideal dosificar Bixina en una proporción de 0,5838 % con el 100 % de pureza puesto que es muy elevada esa cantidad comparada con lo que se utiliza al emplear Lucantín CX. Por tanto, en este caso se recomienda utilizar achiote entero y molido en una proporción de 0,75 a 1 % como sustituto del maíz para obtener tonos de color similares o incluso más elevados ( dependiendo de la proporción usada ), que los obtenidos con la dosis comercial de Lucantín CX y con la dosis óptima de Bixina. Dosis más elevadas de achiote entero dan lugar a yemas con un color indeseable.

## CAPÍTULO VI

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

## 6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.

1. La variedad de achiote seleccionada para realizar la extracción de la Bixina cristalizada, es la que presenta un tinte rojizo - cuando está en un estado fresco; esto por poseer un mayor rendi- miento y pureza en el colorante a extraer.
2. Teniendo en cuenta que la materia colorante del achiote se en-- cuentra distribuida en la superficie de la semilla, se obtienen mayores rendimientos en la extracción cuando ésta se ha secado\_ previamente por alrededor de un contenido de humedad del 12 % y cuando se la trata directamente es decir sin someterla a molien da; a través de un sistema de extracción discontinuo con agita-- ción y calentamiento.
3. De los ensayar del laboratorio para escoger el método más apro-- piado, la extracción utilizando cloroformo como único solvente, resulta ser el más óptimo por su eficiencia en la extracción, - por la fácil formación de los cristales, por sus característi-- cas de buen solvente, por su fácil eliminación posterior del - producto final, por la utilidad que se le puede dar a la semi-- lla residual, etc.
4. Además pudo establecerse que las condiciones óptimas de opera--

ción son las siguiente: temperatura de extracción 35-38 °C; número de extracciones: tres (3); proporción solvente-semilla 1,2/1 para la primera extracción y 1/1 para la segunda y tercera; tiempo de extracción: 45 minutos cada una; velocidad de extracción: de 200-400 r.p.m., aunque puede ser mayor ya que mientras más fuerte es la agitación, más rápida es la extracción.

5. La eficiencia de recuperación del solvente cloroformo, es de 79,38 %, pudiendose mejorar el rendimiento con el uso de equipos adecuados que no permitan fugas.
6. El rendimiento de Bixina del 100 % y 0% de humedad es de 4,3% respecto a la semilla tratada.
7. La pureza de la Bixina obtenida en su primera cristalización es de 46,54 %, aunque puede aumentarsela disolviendo los cristales obtenidos nuevamente con cloroformo y recristalizándose, pero en esta investigación se consideró adecuada esa pureza por presentar condiciones óptimas para el manejo y homogenización con el resto de los componentes del pienso.
8. La aplicación de la Bixina en forma de cristales microscópicos ( laminillas microscópicas ) al balanceado es con el fin de que exista una distribución homogénea en el pienso y por otro lado se trata de que no exista una degradación de los pigmentos colorantes principalmente la Bixina y el  $\beta$ -caroteno, puesto que cuando éstos se encuentran en la semilla de Bixa Ore--

llana sufren una degradación más rápida.

9. La pigmentación en la piel y tarso de los broilers se logra me jo ra r u t i l i z a n d o u t i l i z a n d o B i x i n a c o m o s u s t i t u t o d e l c o l o r a n t e s i n t e t i c o L u c a n t i n C X e n u n a p r o p o r c i o n d e 2 a 4 g / 100 kg co n u n a r i q u e d e l 10 %. E n l a y e m a d e l o s h u e v o s s e l o g r a i g u a r e l t o n o d e c o l o r a l q u e n o r m a l m e n t e s o b t i e n e s o b t i e n e s o b t i e n d o u t i l i z a n d o L u c a n t i n C X, co n a p l i c a c i o n d e B i x i n a c o n a p r o p o r c i o n d e 0,5838 % co n 100 % d e p u r e z a. C o n d o s i s d e 0,75 a 1 % d e a c h i o t e e n t e r o y m o l i d o co m o s u s t i t u t o d e l m a i z s e l o g r a o b t e n e r o s t o n o s i g u a r e l v a l o r d e 12 e n l a e s c a l a e s c a l a B A S F.
10. Es imprescindible que la semilla a ser usada para la extracción de Bixina reúna algunas características de calidad, fundamentadas éstas, en un secado de las semillas fresca en corrientes de aire caliente a 40 °C y a la sombra con el fin de evitar la degradación del pigmento. Mientras más oportunamente se realicen estas operaciones más rendimiento y calidad del colorante se obtendrá.
11. La semilla de achiote posee 2963 p.p.m. de  $\beta$ -caroteno, y su contenido en la yema de huevo es de 280 p.p.m; este valor último no corresponde al aportado únicamente por el achiote, sino también por los demás componentes del pienso, de ahí que hay que tener cuidado y aplicar lo indicado en el literal anterior, ya que el achiote ejerce acción vitamínica.
12. La pérdida del solvente tanto durante la extracción como duran

- te la recuperación se puede disminuir notablemente si se utiliza un equipo de extracción que tenga un sistema de filtración y de descarga que permita recoger los extractos sin tener que sacar la semilla y que pasen estos directamente al recuperador del solvente que sea herméticamente cerrado y que trabaje a alto vacío considerando pérdidas de hasta un 2 % como máximo.
13. En el Ecuador a pesar de que existen condiciones geográficas óptimas para el desarrollo de este cultivo, solo existen algunas explotaciones agrícolas antitécnicas, por lo que se recomienda una política agrícola a nivel de investigación, fomento y crédito que garantice el desarrollo de este cultivo.
  14. Con el fin de lograr un mejor almacenamiento del producto se recomienda purificar más la Bixina, esto permite ahorrar espacio para almacenar, una mejor comercialización abaratando costos de transporte y fácil manejo del producto; para lo cual el producto se guardará en frascos ámbar de color oscuro y hermético o en su defecto fundas recubiertas interiormente con una capa de aluminio.
  15. Se recomienda intensificar la investigación alrededor de la utilización y posible demanda de la semilla exenta de materia colorante por ser rica en carbohidratos y proteína.
  16. Por haber tenido el presente trabajo únicamente el carácter de investigación científica, es necesario basándose en los resultados positivos obtenidos, realizar un estudio económico de producción de achiote y obtención de Bixina y determinar la reali-

dad de su factibilidad. Por otro lado no sólo el sector balan  
ceados sería su mercado potencial, sino también otras indus--  
trias alimentarias, al igual que el mercado internacional en -  
donde tiene una acogida muy grande por su efecto atóxico.

ANEXOS

## ANEXO A

### ANEXO A.1.

OBTENCION DE LA ECUACION POR MINIMOS CUADRADOS PARA LA PROYECCION DEL CONSUMO APARENTE DE SEMILLA DE ACHIOTE EN EL PAIS ( PARA LA ELAVORACION DEL CUADRO N° 3.3.)

AÑO	X	CONSUMO APARENTE TM (Y)	$x = X - \bar{X}$	$y = Y - \bar{Y}$	$x^2$	$x \cdot y$
1976	0	199	- 1,5	- 278	2,25	298,5
1977	1	350	- 0,5	- 127	0,25	63,5
1978	2	548	0,5	71	0,25	35,5
1979	3	811	1,5	334	2,25	501,0
$\Sigma X = 6$		$\Sigma Y = 1908$	$\bar{x} = 0,0$		$\Sigma x^2 = 5,00$	$\Sigma xy = 898,5$

Sacando:  $\bar{X} = \frac{\Sigma X}{N} = \frac{6}{4} = 1,5$

$N = 4$

$\bar{Y} = \frac{\Sigma Y}{N} = \frac{1908}{4} = 477$

Reemplazando los datos en la ecuación de proyección se tiene:

$$y_c = \bar{y} + \frac{\Sigma xy}{\Sigma x^2} \cdot x$$

$$y_c = 477 + \frac{898,5}{5} \cdot x$$

---

$y_c = 477 + 179,7 x$       que es la ecuación de proyección

ANEXO A.2.

OBTENCION DE LA ECUACION POR MINIMOS CUADRADOS PARA LA PROYECCION DE LAS EXPORTACIONES DE SEMILLA DE ACHIOTE ( PARA LA ELABORACION DEL CUADRO N° 3.3.)

AÑO	X	EXPORT TM (Y)	$x=X-\bar{X}$	$y=Y-\bar{Y}$	$x^2$	$x \cdot y$
1976	0	461	- 1,5	215,3	2,25	- 322,95
1977	1	189	- 0,5	- 56,7	0,25	28,35
1978	2	186	0,5	- 59,7	0,25	- 29,85
1979	3	147	1,5	- 98,7	2,25	- 148,05
$\Sigma X=6$		$\Sigma Y=983$	$x=0,0$		$\Sigma x^2=5,00$	$\Sigma xy=- 472,50$

$$\text{Sacando: } \bar{X} = \frac{\Sigma X}{N} = \frac{6}{4} = 1,5$$

$$N = 4$$

$$\bar{Y} = \frac{\Sigma Y}{N} = \frac{983}{4} = 245,7$$

Reemplazando los datos en la ecuación de proyección se tiene:

$$y_c = \bar{Y} + \frac{\Sigma xy}{\Sigma x^2} \cdot x$$

$$y_c = 245,7 + \left(\frac{-472,5}{5}\right) \cdot x$$

---


$$y_c = 245,7 - 94,5 \cdot x \quad \text{que es la ecuación de proyección.}$$

ANEXO A.3.

OBTENCION DE LA ECUACION POR MINIMOS CUADRADOS PARA LA PROYECCION DE LA DEMANDA DE ACHIOTE EN LA PROVINCIA DE LOJA REFERIDO AL CONSUMO APARENTE ( PARA LA ELABORACION DEL CUADRO N° 3.4.)

AÑO	X	CONSUMO APARENTE kg (Y)	$x=X-\bar{X}$	$y=Y-\bar{Y}$	$x^2$	$x \cdot y$
1980	0	3078	- 2,5	- 450,17	6,25	1125,43
1981	1	3145	- 1,5	- 383,17	2,25	574,76
1982	2	3214	- 0,5	- 314,17	0,25	157,09
1983	3	3770	0,5	241,83	0,25	120,92
1984	4	3961	1,5	432,83	2,25	649,25
1985	5	4001	2,5	472,83	6,25	1182,08
$\Sigma X=15$		$\Sigma Y=21169$	$x=0,0$		$\Sigma x^2=17,5$	$\Sigma xy=3809,53$

$$\text{Sacando: } \bar{x} = \frac{\Sigma X}{N} = \frac{15}{6} = 2,5$$

$$N = 6$$

$$\bar{Y} = \frac{\Sigma Y}{N} = \frac{21169}{6} = 3528,17$$

Reemplazando los datos en la ecuación de proyección se tiene:

$$Y_c = \bar{Y} + \frac{\Sigma x \cdot y}{\Sigma x^2} \cdot x$$

$$Y_c = 3528,17 + \frac{3809,53}{17,5} \cdot x$$

---


$$Y_c = 3528,17 + 217,69 x$$

que es la ecuación de proyección.

ANEXO A.4.

PROYECCION DEL CONSUMO DE BALANCEADOS Y BIXINA PARA AVES Y PRODUCCION DE ACHIOTE PARA ESTE FIN ( PARA LA ELABORACION DEL CUADRO N° 3.6.)

AÑO	X	PRODUCCION TOTAL DE - BALANCEAD. TM (Y)	$x=X-\bar{X}$	$y=Y-\bar{Y}$	$x^2$	$x \cdot y$
1974	0	74000	-5	-208181,82	25	1040909,10
1975	1	90000	-4	-192181,82	16	768727,28
1976	2	135000	-3	-147181,82	9	441545,46
1977	3	190000	-2	- 92181,82	4	184363,64
1978	4	200000	-1	- 82181,82	1	82181,82
1979	5	300000	0	17818,18	0	0
1980	6	365000	1	82818,18	1	82818,18
1981	7	400000	2	117818,18	4	235636,36
1982	8	500000	3	217818,18	9	653454,54
1983	9	350000	4	67818,18	16	271272,73
1984	10	500000	5	217818,18	25	1089090,90
$\Sigma X=55$		$\Sigma Y=3104000$	0		$\Sigma x^2=110$	$\Sigma xy=4850000,00$

Sacando:  $\bar{X} = \frac{\Sigma X}{N} = \frac{55}{11} = 5$

$N = 11$

$\bar{Y} = \frac{\Sigma Y}{N} = \frac{3104000}{11} = 282181,82$

Reemplazando los datos en la ecuación de proyección, se tiene:



$$Y_c = \bar{Y} + \frac{\sum x \cdot y}{\sum x^2} \cdot x$$

$$Y_c = 282181,82 + \frac{4850000}{110} \cdot x$$

---

$$Y_c = 282181,82 + 44090,9 x$$

---

que es la ecuación de -  
proyección.

ANEXO A.5.

PROYECCION DEL CONSUMO DE BALANCEADOS Y BIXINA PARA AVES Y PRODUCCION DE ACHIOTE PARA ESTE FIN EN LA PROVINCIA DE LOJA ( PARA LA ELABORACION DEL CUADRO N° 3.8.)

ECUACION DE PROYECCION PARA BALANCEADO DE ACABADO (BROILERS). ( PARA LA ELABORACION DEL CUADRO N° 3.8.)

AÑO	X	BROILERS DE ACABA. kg (Y)	x=X- $\bar{X}$	y=Y- $\bar{Y}$	x <sup>2</sup>	x.y
1982	0	98201	- 2	-173949,8	4	347899,6
1983	1	197797	- 1	- 74353,8	1	74353,8
1984	2	107716	0	-164434,8	0	0
1985	3	438800	1	166649,2	1	166649,2
1986	4	518240	2	246089,2	4	492178,4
		$\Sigma X=10$	$\Sigma Y=1360754$	x=0	$\Sigma x^2=10$	$\Sigma xy=1081081,0$

Sacando:  $\bar{X} = \frac{\Sigma X}{N} = \frac{10}{5} = 2$

N = 5

$\bar{Y} = \frac{\Sigma Y}{N} = \frac{1360754}{5} = 272150,8$

Reemplazando los datos en la ecuación de proyección, se tiene:

$$Y_c = \bar{Y} + \frac{\Sigma xy}{\Sigma x^2} \cdot x$$

$$Y_c = 272150,8 + \frac{1081081}{10} \cdot x$$

---


$$Y_c = 272150,8 + 108108,1 x$$

que es la ecuación de proyección.

ANEXO A. 6.

ECUACION DE PROYECCION PARA BALANCEADO DE PONEDORAS EN PRODUCCION (PARA LA ELABORACION DEL CUADRO N° 3.8.)

AÑO	X	PONEDORAS EN PRODUC. kg (Y)	$x=X-\bar{X}$	$y=Y-\bar{Y}$	$x^2$	$x \cdot y$
1982	0	60594	- 2	-19149	4	38298
1983	1	75401	- 1	- 4342	1	4342
1984	2	98640	0	18897	0	0
1985	3	81080	1	1337	1	1337
1986	4	83000	2	3257	4	6514
$\Sigma X=10$		$\Sigma Y=398715$	$x=0$		$\Sigma x^2=10$	$\Sigma xy=50491$

Sacando:  $\bar{X} = \frac{\Sigma X}{N} = \frac{10}{5} = 2$

$N = 5$

$\bar{Y} = \frac{\Sigma Y}{N} = \frac{398715}{5} = 79743$

Reemplazando los datos en la ecuación de proyección, se tiene:

$$Y_c = \bar{Y} + \frac{\Sigma x \cdot y}{\Sigma x^2} \cdot x$$

$$Y_c = 79743 + \frac{50491}{10} \cdot x$$

---


$$Y_c = 79743 + 5049,1 x$$


---

que es la ecuación de proyección.

## ANEXO B

### ANEXO B.1.

#### DETERMINACION DE HUMEDAD.

Para el efecto se utiliza una lámpara ULTRA X que se basa en de terminar la humedad por diferencia de peso. Se procede de la siguiente manera.

- Se encera el aparato, con la perilla en rojo, y con una pesa diseñada para el efecto.
- Colocar la muestra en el recipiente que contiene el equipo , hasta que la columna marque cero cuando la perilla éste en negro, entonces se habrá pesado 10 g.
- Encender el equipo y darle la intensidad y tiempo necesario hasta que se estabilice la pluma. La lectura es dada directamente en porcentaje.

### ANEXO B.2.

#### DETERMINACION DE PROTEINA.

Para esta determinación se utiliza el analizador KJELTEC AUTO - 1030. El fundamento de este análisis se basa en la determinación de proteína que se lleva a cabo por combustión líquida con ácido sulfúrico con

centrado en la que se convierte el nitrógeno primero en sulfato amónico y finalmente en amoniaco, el amoniaco formado se destila y se titula con una disolución ácida normalizada.

### ANEXO B.3.

#### DETERMINACION DE GRASA.

Para el efecto se utiliza el extractor de grasa RAFATEX. El procedimiento es el siguiente.

- Los balones de extracción son colocados en la estufa a  $100 \pm 5$  °C por una hora. Transferir al desecador y pesar cuando haya alcanzado la temperatura ambiente.
- Los dedales de extracción son tarados antes de pesar la muestra y el peso de muestra es de acuerdo al contenido de grasa que se sospecha así:

Contenido de grasa	Peso de muestra
0 - 4 %	2 g
más del 4 %	1 g

- Pesada la muestra coloque los dedales en un soporte diseñado para el efecto, tápelos con algodón y llévelos a la estufa a 130-135 °C por 75 minutos o hasta que la muestra este seca.
- Terminado el tiempo de secado, permita que se enfrie por 5

minutos luego coloque los dedales en el Rafatec mediante un clip adosado para el efecto.

- Registre el peso de la tara del balón de extracción seco y añada 50 ml de éter dietílico. Luego conéctelo a éste al Rafatec. Abra la llave de agua fría para que circule a través de los condensadores, seguidamente encienda los calentadores.
- Los dedales de extracción deberán permanecer sumergidos en el éter durante 15 minutos desde que empieza a ebullición el solvente.
- Transcurrido los primeros 15 minutos, los dedales de extracción son elevados a su posición más alta para que la extracción se realice por lavado por otros 30 minutos.
- Desconecte los balones de extracción y evapore el éter en baño de agua caliente o en plancha ligeramente caliente.
- Seque el balón de extracción en una estufa de 105 °C por 2 horas o 130-135 °C por 75 minutos. Permita que se deseque en el desecador y pese el balón conteniendo la grasa.

Cálculo: El incremento en peso en el balón de extracción es igual a la cantidad de grasa.

$$\% \text{ de grasa en la muestra} = \frac{\text{Cantidad de grasa} \times 100}{\text{Cantidad de muestra}}$$

ANEXO B 4.

DETERMINACION DE FIBRA.

Se utiliza para el efecto el equipo FIBRATEX. Se procede así:

En primer lugar la muestra debe ser desengrasada y molida con criba de 1 mm. El equipo usado es el sistema Fibrattec.

- Pese de 1 a 1,5 g de muestra.
- Añada 150 ml de solución de ácido sulfúrico precalentado, - en las columnas de ebullición y caliente a ebullición por - 30 minutos.
- Filtre y lave el residuo por 3 veces en agua caliente.
- Añada 150 ml de solución de hidróxido de potasio precalentado y caliente a ebullición, añada algunas gotas de antiespumante. Hervir por 30 minutos.
- Filtre y lave el residuo con agua caliente por 3 veces. - Luego lave con acetona por 3 veces.
- Seque en estufa a 130 °C por 1 hora y luego pese. (W1).
- Lleve los crisoles a la mufla a 500 °C (cenizas).
- Pese las cenizas. (W2).

Cálculo: La diferencia entre la muestra digerida y seca y las cenizas da la cantidad de fibra.

$$\% \text{ fibra} = \frac{(W1 - W2) \times 100}{\text{Peso de la muestra}}$$

ANEXO B.5.

#### DETERMINACION DE CENIZAS.

Para el efecto se utiliza una Mufla. Se procede de la siguiente manera:

- Calentar el crisol de porcelana vacío en la mufla ajustada a  $550 \pm 15$  °C durante 30 minutos. Enfriar en el desecador y pesar con aproximación de 0,1 mg .
- Transferir el crisol y pesar con aproximación de 0,1 mg: una cantidad equivalente a 2,5 g de muestra bien homogenizada.
- Colocar el crisol con su contenido sobre una plancha caliente hasta incineración sin que se formen llamas. Una combustión demasiado activa puede ocasionar pérdidas de cenizas o conducir a que se fundan y formen inclusiones de carbono que no se incineran.
- Introducir el crisol en la mufla a  $550 \pm 15$  °C hasta obtener cenizas de un color grisáceo blanco.

- Sacar de la mufla el crisol con la muestra, se deja enfriar en el desecador y pesar tan pronto haya alcanzado la temperatura ambiente.

Cálculos: La cantidad de cenizas resulta de la diferencia - entre el crisol vacío y el crisol más cenizas.

$$\% \text{ de cenizas} = \frac{\text{peso de cenizas}}{\text{peso de muestra}} \times 100$$

## ANEXO C

ANEXO C.1.

CALCULO DE LA PUREZA DE LA BIXINA. ( CUADRO 4.4.)

La fórmula a aplicar es:

$$PT \text{ (referidos a bixina)} = (A_{500} + A_{404} - 0,256 \cdot A_{500}) \cdot \frac{1}{282,6} \cdot \frac{V}{1000} \cdot \frac{100}{W} \cdot \frac{V2}{V1} \cdot \frac{1}{L} \%$$

En donde:

A = Es la absorbancia (a esas longitudes de onda)

W = Es el peso de semillas o el material pigmentante tomado para el análisis (Bixina) (g) .

V = Es el volumen de extracto de cloroformo en el que se a de diluir la muestra (ml) .

V1 = Es el volumen de la muestra pequeña de extracto o el volumen a diluir (ml) .

V2 = Es el volumen al cual V1 es diluido para la lectura espectrofotométrica (ml) .

L = Es la longitud de la celda (cm) .

Para el achiote rojo el cálculo será:

DATOS.

$A_{404}$  de la muestra = 0,07

$$A_{500} \text{ de la muestra} = 0,147$$

$$A_{404} \text{ del cloroformo puro} = 0,041$$

$$A_{500} \text{ del cloroformo puro} = 0,041$$

$$A_{404} \text{ real ( } A_{404} \text{ de la muestra - } A_{404} \text{ del cloroformo puro )} \\ = 0,029$$

$$A_{500} \text{ real ( } A_{500} \text{ de la muestra - } A_{500} \text{ del cloroformo puro )} \\ = 0,106$$

$$V = 100 \text{ ml}$$

$$W = 0,0055 \text{ g}$$

$$V_2 = 10 \text{ ml}$$

$$V_1 = 0,1 \text{ ml}$$

$$L = 1 \text{ cm}$$

$$PT \text{ (ref. a Bixina)} = [(0,106+0,029)-0,256(0,106)] \cdot \frac{1}{282,6} \cdot \frac{100}{1000} \cdot \frac{100}{0,0055} \cdot \frac{10}{0,1} \cdot \frac{1}{1} \\ = 69,3971 \%$$

Para el achiote amarillo el cálculo es similar, y teniendo los siguientes datos.

$$A_{404} \text{ de la muestra} = 0,063$$

$$A_{500} \text{ de la muestra} = 0,122$$

$$A_{404} \text{ del cloroformo puro} = 0,04$$

$$A_{500} \text{ del cloroformo puro} = 0,04$$

$$A_{404} \text{ real} = 0,023$$

$$A_{500} \text{ real} = 0,082$$

$$V = 100 \text{ ml}$$

$$W = 0,0055 \text{ g}$$

$$V_2 = 10 \text{ ml}$$

$V_1 = 0,1 \text{ ml}$

$L = 1 \text{ cm}$

PT ( referidos a Bixina ) = 54,048 %

Se tiene un porcentaje de pureza de 54,048 %

De igual manera se realizó el cálculo del porcentaje de pureza del achiote rojo en la extracción final teniendose el resultado de - 46,54 %.

## ANEXO D

ANEXO D.1. METODO DE ANALISIS DE  $\beta$ -CAROTENO EN LA YEMA DE HUEVO.

PREPARACION DE LA SOLUCION STANDARD DE  $\beta$ -CAROTENO.- El  $\beta$ -caroteno puede ser obtenido de Hoffmann-La Roche, 340 Kingland Rd, Nutley, NJ 07110. La pureza exacta es dada por cada lote. La concentración es estable por 3 meses bajo refrigeración.

(1) Solución Stock.- Se puede preparar una solución Stock con una concentración de 6  $\mu\text{g}$  /ml con 1,5  $\mu\text{g}$  de  $\beta$ -caroteno. Transferir a un frasco volumétrico de 250 ml con acetona y diluir el volumen con acetona.

(2) Solución Standard de Trabajo.- Diluir a 100 ml con acetona 10, 20, 30, 45, 60 y 75 ml de solución Stock para obtener soluciones conteniendo 0,6; 1,2; 1,8; 2,7; 3,6 y 4,5  $\mu\text{g}$  /ml.

Usar acetona como blanco.

Las soluciones son estables por una semana en la obscuridad y bajo refrigeración .

DETERMINACION.- Pese la muestra conteniendo 1 g de yema sólida ( 1 g de yema sólida equivale a 2,5 g de

yema líquida ), en un frasco de 150 ml, adicione 1-2 ml de acetona , -  
mezcle y filtre ( adicione 2,5 ml de agua después de la acetona para -  
productos que contienen azúcar o sal ), en papel filtro whatman Nº 4 o  
su equivalente, lavar el sobrante del papel con sucesivas pequeñas can-  
tidades de acetona. Recoja el filtrado en un frasco volumétrico de -  
100 ml. Diluir al volumen en acetona. Determinar la absorbancia tan  
rápido como sea posible. Reportar el resultado en  $\mu\text{g}$  de  $\beta$ -caroteno\_  
por g de muestra.



## BIBLIOGRAFÍA

1. ANALES de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad -  
Politécnica del Ecuador. 1970. págs. 464-475.
2. ARCE, P. Jorge. El Achiote. Generalidades Sobre su Cultivo. Costa -  
Rica. 1982. pág. 7.
3. ARMIJOS, Antonio. Folleto Informativo de la Planta de Balanceados\_  
de la Universidad Técnica Particular de Loja. -  
1985. pág. 6'
4. ASS, Federal Register. Extract of Annato Used in Food or Drug. -  
C.A. 59.5684c.1963. págs. 59-65.
5. BASF, Folleto Informativo. Carotenoides Sintéticos. 1983. pág.3-8
6. CORDERO, Luis. Dr. Botánica. 1983
7. DENDY, D.V. Journal of the AOAC. 1960. Volumen 17. págs. 320-350.
8. ECUADOR Guía Turística. Tomo III. 1982. págs. 20-70.
9. INSTITUTO Agronómico Nacional e INSTITUTO de Nutrición de Centro -  
América y Panamá. Valor de las Harinas de Camote y Achio\_  
te en Raciones para Aves de Corral. 1953. págs. 163-166.
10. MONGE, Alfredo. Factibilidad Industrial del Achiote. Instituto Po-  
litécnico Nacional. Ecuador. 1967. págs. 23-26.
11. SCHOLTYSSEK, S. Manual de Avicultura Moderna. 1970. Traducido del\_  
Aleman por el Dr. Jaime Esain Escobar. Editorial -  
Acribia. Saragosa. España. págs. 54-60.
12. SCHWARZ, J.P. Métodos Físicos de Química Orgánica. 1968. Editorial  
Acribia. Saragosa. España. Primera Edición. pág. 156