

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA



**“CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DEL PROCESO DE
PRODUCCIÓN DE COLORANTE DE AÑIL (Indigofera Sp.)
EN EL SALVADOR”.**

PRESENTADO POR

ENDY KEVIN PADILLA RIVAS
WILSON EDUARDO SANTAMARÍA SEGOVIA

PARA OPTAR AL TÍTULO DE:

INGENIERO QUÍMICO

CIUDAD UNIVERSITARIA, DICIEMBRE DE 2003.

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTORA :

Dra. María Isabel Rodríguez

SECRETARIA GENERAL :

Licda. Lidia Margarita Muñoz Vela

FACULTAD DE INGENIERIA Y ARQUITECTURA

DECANO :

Ing. Mario Roberto Nieto Lovo

SECRETARIO :

Ing. Oscar Eduardo marroquín Hernández

ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA

DIRECTOR :

Ing. Fernando Teodoro Ramírez Zelaya

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE INGENIERIA Y ARQUITECTURA
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA

Trabajo de graduación previo a la opción al grado de:
INGENIERO QUÍMICO

Título :

“CARACTERIZACIÓN FISCOQUÍMICA DEL PROCESO DE
PRODUCCIÓN DE COLORANTE DE AÑIL (Indigofera Sp.)
EN EL SALVADOR”

Presentado por :

Endy Kevin Padilla Rivas
Wilson Eduardo Santamaría Segovia

Trabajo de Graduación aprobado por:

Docente Director :

Ing. Tania Torres Rivera

Docente Director :

Ing. Fernando Teodoro Ramírez Zelaya

Docente Director :

Ing. Ana Beatriz Lima de Zaldaña

San Salvador, Diciembre de 2003.

Trabajo de Graduación Aprobado por:

Docentes Directores:

Ing. Tania Torres Rivera

Ing. Fernando Teodoro Ramírez Zelaya

Ing. Ana Beatriz Lima de Zaldaña

AGRADECIMIENTOS

Por su colaboración y apoyo para el desarrollo de este trabajo de graduación nuestros agradecimientos a:

- Ing. Tania Torres Rivera
- Ing. Fernando Teodoro Ramírez Zelaya
- Ing. Ana Beatriz Lima de Zaldaña
- Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura
- Agencia Alemana de Cooperación Técnica para el Desarrollo (GTZ)
- Sra. Rhina de Rheman
- Dr. Rigoberto Ayala
- Ing. Delmy del Carmen Rico Peña

DEDICATORIA

A Dios Todopoderoso, por bendecirme cada día, por escucharme, iluminarme y darme fuerza para sobrellevar las contrariedades; a mis padres, Francisco Mauricio Padilla y Ana Edith de Padilla por su ejemplo, su completo apoyo y esfuerzo para darme la oportunidad de salir adelante en mis estudios, a ellos estoy infinitamente agradecido; a mis hermanos, Irvin y Emerson; a Gabriela por brindarme su apoyo y cariño; a mis maestros y amigos, Wilson, Cristo, Edwin, Mario, Lissette, Karla, Rocío, René, Manuel, Patty, Alejandro, Alexis, Carola, Lisandro, por permitirme compartir con ellos y solventar juntos las dificultades.

ENDY KEVIN PADILLA RIVAS

DEDICATORIA

En primer lugar quiero agradecerle a Dios todo poderoso por haberme permitido llegar hasta aquí.

A mi padre, José Mario Santamaría por la confianza incondicional que depositó en mi, sin importar los resultados que llegaran.

A mi madre, Elena Segovia por la paciencia de aguantarme en momentos de tensión académica.

A mis hermanos, Verónica, Rudy y Hugo, por que de alguna manera me permitieron seguir hasta el final de mi carrera.

A mi tía, Rosa Gladis cuyo apoyo fue tremendamente importante para soportar este camino tan difícil.

A todos los amigos de la U: Kevin, René, Manuel, Cristo, Edwin, Paty, Carola, Mario, Karlita, Lisette, Alejandro, Alexis, que fueron y seguirán siendo parte de mi vida, pues he compartido con ellos grandes alegrías y amargas tristezas.

A Morena del Rocio, una de las personas más especiales para mí, por haberme enseñado un nuevo enfoque de las cosas.

A FEPADE por haberme ayudado económicamente durante mi carrera.

Como pueden observar le debo mucho a mucha gente, por lo que he quedado endeudado para toda la vida, ojalá Dios me guíe para poder pagarle a ellos todo lo que me dieron.

Si me preguntaran cuales son las tres cosas que más recuerdo de estos últimos años, yo respondería:

1999 cuando mi tía Rosa me regaló mi primera computadora.

Enero 2002 cuando pude pasar Operaciones Unitarias III.

Septiembre 2002 por haberme dado cuenta de que cada quien tiene lo que merece.

WILSON EDUARDO SANTAMARÍA SEGOVIA

RESUMEN

La caracterización fisicoquímica del proceso de producción de colorante de añil, requiere de la evaluación del efecto o influencia ejercida por ciertos factores de gran importancia en la mayoría de reacciones químicas, sobre las ocurridas en las etapas de fermentación y oxigenación del proceso de extracción de dicho colorante natural. Para tal efecto se hace uso de herramientas estadísticas para el diseño del experimento y análisis de los datos obtenidos a nivel de laboratorio. El proceso experimental se divide en dos grandes etapas que son:

a) Etapa de cribado de variables: la cual tiene como objetivo determinar cuáles factores (dentro de varios probables) ejercen un efecto significativo sobre el proceso.

b) Etapa de optimización: está encaminada a conocer los niveles de cada factor cuyo efecto es significativo de tal manera que permita obtener un valor deseado u óptimo en la variable elegida como respuesta (porcentaje de indigotina en el colorante) para el proceso en estudio.

Para el inicio de la etapa de cribado de variables se estudió el efecto de los factores: temperatura, pH, tiempo y tipo de agua en un rango amplio de niveles para cada factor en el caso de los tres primeros y según el lugar de procedencia para el caso del último de ellos. Se aplicó por tanto el diseño factorial 2^3 dividido en bloques y con adición de puntos centrales, tanto para la etapa de fermentación como para la de oxigenación.

Los factores y niveles a estudiar en cada etapa del proceso, para el inicio del experimento de cribado de variables se resumen a continuación.

Etapa de fermentación.

- a) temperatura: ambiente, 35 y 50 °C
- b) pH: 5, 7 y 9
- c) tiempo: 15,18 y 21 hrs.

Etapa de oxigenación.

- a) temperatura: ambiente, 35 y 50 °C
- b) pH: 5, 7 y 9
- c) tiempo: 15,30 y 45 minutos.

Para ambas etapas, el diseño experimental es dividido en bloques según sea el lugar de procedencia del agua utilizada en el proceso, de esta forma se define:

- a) bloque 1: agua proveniente de nacimiento
- b) bloque 2: agua proveniente de pozo

Al realizar los experimentos y análisis estadísticos de los datos obtenidos para la etapa de fermentación se concluyó que en el rango estudiado no es posible descartar totalmente el efecto de ninguno de los factores por lo que se decidió aplicar nuevamente el diseño experimental antes mencionado para otro rango de niveles elegido en base a los resultados obtenidos de la primera serie de experimentos realizados.

Como resultado del cribado de variables para la etapa de oxigenación se obtuvo que el único factor cuyo efecto es significativo sobre el proceso es el pH, por lo que se decidió estudiar la influencia de este factor dentro de un rango más amplio, por separado para cada tipo de agua y con una disminución en el intervalo entre cada nivel estudiado, así, los nuevos experimentos se realizaron a las condiciones siguientes:

- ✓ pH: desde 4 hasta 11 con variación de 0.25

Los factores temperatura y tiempo se fijaron en valores convenientes ya que no son significativos sobre el proceso:

- ✓ Temperatura: ambiente
- ✓ Tiempo: 15 minutos

Según los resultados obtenidos, los valores de pH con los que se produce un mayor contenido de indigotina son:

- ✓ Proceso con agua de pozo: pH = 7.25
- ✓ % indigotina estimado = 32.62

- ✓ Proceso con agua de nacimiento: pH = 7.0
- ✓ % indigotina estimado = 31.36

Como siguiente paso en el estudio de la etapa de fermentación, se aplicó nuevamente el diseño factorial 2^3 dividido en bloques y con adición de puntos centrales utilizando los niveles siguientes:

- ✓ Temperatura: 40, 45, 50°C
- ✓ pH: 7, 7.5, 8
- ✓ Tiempo: 12, 15, 18 hrs.

De lo anterior pudo observarse que el efecto de la procedencia del agua no fue significativo y se eligieron nuevos niveles para los factores en la dirección en que se produce un aumento en la variable respuesta. Finalmente para encontrar los niveles de los factores que optimizan o aumentan el porcentaje de indigotina se aplicó un modelo de segundo orden diseñado por Box-Behnken, utilizando los niveles:

- ✓ Temperatura: 65, 70, 75 °C
- ✓ pH: 8, 8.75, 9.5
- ✓ Tiempo: 22, 25, 28 hrs.

Al realizar un análisis de superficie de respuesta se obtuvo que los niveles de los factores que optimizan el proceso para la etapa de fermentación son:

- ✓ Temperatura: 69 °C
- ✓ pH: 8.48
- ✓ Tiempo: 24.9 hrs

El porcentaje de indigotina estimado con estas condiciones es:

- ✓ Porcentaje de Indigotina = 47.79 %

INDICE

Contenido	Página
INTRODUCCIÓN	i
1.0 CONTEXTUALIZACIÓN DE LA CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DEL PROCESO DE PRODUCCIÓN DE COLORANTE DE AÑIL	1
1.1 Planteamiento del problema.....	1
1.2 Beneficios del cultivo del añil	2
1.3 Necesidad de experimentación	3
1.4 Objetivos de la investigación.....	4
1.5 Limitaciones	5
2.0 DESCRIPCIÓN BOTÁNICA DE LA PLANTA DE AÑIL	7
2.1 Descripción	7
2.2 Origen	8
2.3 Especies de Mesoamérica	8
2.4 Características de las variedades	8
2.4.1 Indigofera guatemalensis.....	8
2.4.2 Indigofera sufruticosa.....	8
2.5 Ciclo vegetativo	9
2.6 Factores agroecológicos	9
2.6.1 Clima	9
2.6.2 Clases de suelos	12
3.0 CONDICIONES ACTUALES	14
3.1 Descripción general del sub-sector añil.....	14
3.2 Número de Productores	14
3.3 Empleo Generado	16
3.4 Caracterización de la producción	16
3.5 Costos de producción.....	18
3.6 Superficie de cultivo	18
3.7 Rendimiento	19
3.8 Demanda nacional	20

3.9	Oferta nacional de tinte	20
3.10	Situación del comercio exterior	20
3.10.1	Importaciones y exportaciones.....	20
3.10.2	Precios	22
3.11	Productores nacionales.....	22
4.0	APLICACIÓN DE INGENIERIA PARA LA OPTIMIZACION DE PROCESOS	26
4.1	Importancia del diseño experimental.....	26
4.2	Lineamientos para el diseño de experimentos	28
4.2.1	Comprensión y planteamiento del problema	28
4.2.2	Elección de factores y niveles.....	28
4.2.3	Selección de la variable respuesta	29
4.2.4	Elección del diseño experimental	29
4.2.5	Realización del experimento.....	29
4.2.6	Análisis de datos.....	30
4.3	Diseño factorial 2^k	30
4.3.1	Conceptos en diseños factoriales	31
4.3.2	Ventajas y desventajas de los diseños factoriales.....	32
4.3.3	Diseño 2^3	33
4.3.4	Adición de puntos centrales al diseño 2^k	36
4.3.5	Diseño factorial 2^k en dos bloques.....	38
4.3.6	Análisis de datos en el diseño factorial.....	42
4.3.6.1	Análisis de varianza	42
4.3.6.2	Procedimiento de prueba de hipótesis	43
4.3.6.3	Prueba de idoneidad del modelo.....	46
4.3.6.4	Suposición de normalidad.....	46
4.4	Intervalos de confianza	48
4.5	Métodos y diseños de superficies de respuesta.....	49
4.5.1	Método de máxima pendiente en ascenso	50
4.5.2	Análisis de modelos cuadráticos.....	52
4.5.3	Diseños para ajustar el modelo de segundo orden.....	54

5.0	DESCRIPCIÓN DEL PROCESO EXPERIMENTAL	56
5.1	Metodología de la experimentación	56
5.2	Elección de factores	57
5.2.1	Control de factores	59
5.3	Descripción de la variable respuesta.....	60
5.4	Método analítico para la determinación del contenido de indigotina en el índigo natural	61
5.5	Descripción del método de extracción del colorante	63
6.0	ETAPA DE CRIBADO DE VARIABLES.....	67
6.1	Condiciones de experimentación. Etapa de cribado de variables	68
6.2	Resultados obtenidos. Etapa de fermentación.....	70
6.2.1	Análisis de resultados. Etapa de fermentación	71
6.2.2	Comportamiento del pH. Etapa de fermentación	74
6.3	Resultados obtenidos. Etapa de oxigenación	78
6.3.1	Análisis de resultados. Etapa de oxigenación	79
6.3.2	Comportamiento de pH. Etapa de oxigenación	81
7.0	ETAPA DE OPTIMIZACIÓN	85
7.1	Niveles fijos de factores utilizados en la etapa de optimización	85
7.2	Optimización de la etapa de oxigenación.....	85
7.2.1	Análisis de resultados. Etapa de oxigenación	87
7.2.2	Comportamiento de pH y pesos obtenidos de colorante. Etapa de oxigenación	90
7.3	Optimización de la etapa de fermentación	95
7.3.1	Desarrollo de la etapa de primer orden	95
7.3.1.1	Análisis de resultados para la etapa de primer orden	96
7.3.1.2	Método de máxima pendiente en ascenso.....	97
7.3.1.3	Control de pH y pesos obtenidos de colorante. Etapa de primer orden.....	98
7.3.2	Desarrollo de la etapa de segundo orden.....	102
7.3.2.1	Condiciones de experimentación para el modelo de segundo orden	103

7.3.2.2	Análisis de resultados para la etapa de segundo orden.....	106
7.3.2.3	Localización del punto estacionario	108
7.3.2.4	Control de pH y pesos obtenidos de colorante. Etapa de segundo orden	109
CONCLUSIONES.....		112
RECOMENDACIONES		115
REFERENCIAS.....		116
ANEXOS		117
ANEXO A. PROCEDIMIENTO PARA LA DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE INDIGOTINA EN EL ÍNDIGO NATURAL.....		118
ANEXO B. CURVA DE CALIBRACIÓN PARA EL ESPECTRONIC 20.....		121
ANEXO C. RESULTADOS DE DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE INDIGOTINA EN LABORATORIO CERTIFICADO.		122
ANEXO D. RESULTADOS DE ANALISIS FISICOQUÍMICO A MUESTRA DE AGUA A LA ENTRADA DEL PROCESO.		124
ANEXO E. RESULTADOS DE ANALISIS FISICOQUÍMICO A MUESTRA DE AGUA RESIDUAL DEL PROCESO.		125
ANEXO F. LUGAR DE MUESTREO DE AGUA Y DE LA PLANTA DE AÑIL UTILIZADA EN EL PROCESO.....		126

INDICE DE TABLAS

Tabla	Página
Tabla 3.1 Instituciones involucradas en la producción de añil y teñido.....	15
Tabla 3.2 Desarrollo de las exportaciones de añil 1997-2003.....	21
Tabla 3.3 Mercados actuales y potenciales de “Azules de El Salvador”.....	21
Tabla 3.4 El Salvador: porcentaje de indigotina y precio/kg. Año 2,002.....	22
Tabla 3.5 El Salvador: zonas productoras de añil por departamento municipio, cantón, área y productores (año 2,003).....	23
Tabla 4.1 Signos algebraicos para calcular los efectos en un diseño 2^3	34
Tabla 4.2 Signos algebraicos para calcular los efectos en un diseño 2^2	40
Tabla 4.3 Procedimiento de prueba de hipótesis.....	45
Tabla 4.4 Diseño de Box-Behnken para tres variables.....	55
Tabla 6.1 Diseño experimental del modelo factorial 2^3	67
Tabla 6.2 Niveles de factores. Etapa de fermentación.....	68
Tabla 6.3 Niveles de factores. Etapa de oxigenación.....	69
Tabla 6.4 Condiciones experimentales en la etapa de fermentación.....	69
Tabla 6.5 Condiciones experimentales en la etapa de oxigenación.....	70
Tabla 6.6 Resultados en la etapa de fermentación.....	70
Tabla 6.7 Análisis de varianza. Etapa de fermentación.....	71
Tabla 6.8 Control de pH. Etapa de fermentación.....	75
Tabla 6.9 Resultados en la etapa de oxigenación.....	78
Tabla 6.10 Análisis de varianza. Etapa de oxigenación.....	79
Tabla 6.11 Control de pH. Etapa de oxigenación.....	82
Tabla 7.1 Resultados obtenidos en la etapa de oxigenación.....	86
Tabla 7.2 Control de pH. Etapa de oxigenación. Fase de optimización.....	91
Tabla 7.3 Pesos obtenidos en la etapa de oxigenación. Fase de optimización.....	94
Tabla 7.4 Resultados obtenidos en la etapa de fermentación.....	96

Tabla 7.5 Análisis de varianza. Etapa de fermentación.....	97
Tabla 7.6 Ruta de ascenso.....	98
Tabla 7.7 Comportamiento de pH. Etapa de fermentación. Fase de optimización.....	99
Tabla 7.8 Pesos obtenidos en la etapa de fermentación. Fase de optimización.....	102
Tabla 7.9 Modelo de Box-Behnken.....	103
Tabla 7.10 Niveles extremos de factores para el modelo de Box-Behnken....	104
Tabla 7.11 Modelo de Box-Behnken y niveles de los factores.....	104
Tabla 7.12 Resultados obtenidos con el modelo de Box-Behnken.....	105
Tabla 7.13 Comportamiento de pH. Etapa de fermentación. Modelo de Box-Behnken.....	110
Tabla 7.14 Pesos obtenidos en la etapa de fermentación. Modelo de Box-Behnken.....	111

INDICE DE FIGURAS

Figura	Página
Figura 1.1 Esquema general del proceso de investigación.....	6
Figura 2.1 Planta de añil de la especie sufruticosa Mill.....	7
Figura 2.2 Zonas de vida de El Salvador.....	11
Figura 2.3 Clases de suelo en El Salvador.....	13
Figura 3.1 Distribución de productores de añil en El Salvador.....	25
Figura 4.1 Modelo general de un proceso o sistema.....	28
Figura 4.2 Diseño factorial 2^3	33
Figura 4.3 Diseño 2^2 con puntos centrales.....	38
Figura 4.4 Diseño 2^2 en dos bloques.....	39
Figura 4.5 Diseño 2^3 en dos bloques con ABC confundidas.....	41
Figura 4.6 Gráfica de contornos de una superficie de respuesta.....	50
Figura 4.7 Superficie de respuesta de primer orden y trayectoria de máxima pendiente en ascenso.....	52
Figura 5.1 Caracterización fisicoquímica de la etapa de fermentación.....	58
Figura 5.2 Caracterización fisicoquímica de la etapa de oxidación.....	58
Figura 5.3 Proceso de transformación de indicán a índigo.....	61
Figura 5.4 Proceso de transformación de índigo a indigocarmin.....	62
Figura 5.5 Determinación de absorbancia en muestras en Espectronic-20.....	63
Figura 5.6 Medición de pH.....	64
Figura 5.7 Proceso de oxigenación.....	65
Figura 5.8 Proceso de secado.....	66
Figura 6.1 Diagrama de pareto. Etapa de fermentación.....	72
Figura 6.2 Grafico de efectos principales. Etapa de fermentación.....	72
Figura 6.1 Comportamiento de pH. Muestras 1,2,3.....	74
Figura 6.2 Comportamiento de pH. Muestras 4,5,6.....	74
Figura 6.3 Gráfico de interacción de factores. Etapa de fermentación.....	73
Figura 6.4 Gráfico de probabilidad normal. Etapa de fermentación.....	74

Figura 6.5 Comportamiento de pH. Muestras 1,2,3.....	76
Figura 6.6 Comportamiento de pH. Muestras 4,5,6.....	76
Figura 6.7 Comportamiento de pH. Muestras 7,8,9.....	77
Figura 6.8 Comportamiento de pH. Muestras 10,11,12.....	78
Figura 6.9 Diagrama de pareto. Etapa de oxigenación.....	79
Figura 6.10 Gráfico de efectos principales. Etapa de oxigenación.....	80
Figura 6.11 Gráfico de interacción de factores. Etapa de oxigenación.....	80
Figura 6.12 Gráfico de probabilidad normal. Etapa de oxigenación	81
Figura 6.13 Comportamiento de pH. Muestras 1,2,3.....	82
Figura 6.14 Comportamiento de pH. Muestras 4,5,6.....	83
Figura 6.15 Comportamiento de pH. Muestras 7,8,9.....	83
Figura 6.16 Comportamiento de pH. Muestras 10,11,12.....	84
Figura 7.1 Resultados obtenidos. Agua de pozo.....	88
Figura 7.2 Resultados obtenidos. Agua de nacimiento.....	89
Figura 7.3 Comportamiento de pH. Muestras (4-7), agua de nacimiento.....	92
Figura 7.4 Comportamiento de pH. Muestras (8-11), agua de nacimiento.....	92
Figura 7.5 Comportamiento de pH. Muestras (4-7), agua de pozo.....	93
Figura 7.6 Comportamiento de pH. Muestras (8-11), agua de pozo.....	93
Figura 7.7 Comportamiento de pH. Muestras 1,2,3.....	100
Figura 7.8 Comportamiento de pH. Muestras 4,5,6.....	100
Figura 7.9 Comportamiento de pH. Muestras 7,8,9.....	101
Figura 7.10 Comportamiento de pH. Muestras 10,11,12.....	101
Figura 7.11 Superficie de respuesta Temperatura vrs pH.....	106
Figura 7.12 Superficie de respuesta Temperatura vrs tiempo.....	107
Figura 7.13 Superficie de respuesta pH vrs tiempo.....	107

INTRODUCCIÓN

Una de las características que un ingeniero debe poseer es saber observar e interpretar los fenómenos naturales con el objeto de poder concluir sobre el comportamiento de los mismos, sin embargo, un fenómeno puede también ser provocado en forma intencional permitiendo de esta manera reproducirlo cuantas veces sea necesario, estas repeticiones se pueden llevar a cabo manteniendo constante las variables involucradas y dejando variar únicamente aquellas en las cuales estamos interesados, con el objeto de poder establecer un comportamiento, facilitando en gran medida su análisis, sin embargo si el número de variables involucradas es grande la situación se complica, por lo que es necesario hacer uso de herramientas estadísticas las cuales pueden llegar a facilitar enormemente el trabajo.

El proceso de extracción del colorante de añil es el fenómeno global del presente estudio, de dicho proceso resultan fenómenos más específicos, tales como la fermentación y la oxidación.

Para cada uno se diseñará un proceso experimental independiente, con el objeto de que en una etapa posterior se puedan concatenar los resultados obtenidos, para luego, poder asegurar cuales son las condiciones óptimas de operación.

La falta de información sobre la extracción del colorante de añil permite tener un gran campo de investigación, de modo que los resultados obtenidos en el presente estudio son solamente una parte de ese inmenso universo, sin embargo la caracterización fisicoquímica es un punto clave, puesto que implica las condiciones mismas de operación.

1.0 CONTEXTUALIZACIÓN DE LA CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DEL PROCESO DE PRODUCCIÓN DE COLORANTE DE AÑIL

1.1 Planteamiento del problema

El proceso de extracción del colorante de la planta de añil (Indigofera Sp) ha sido realizado en nuestro país desde el siglo XVI, y ya en el siglo XVIII El Salvador se caracterizaba a nivel mundial por su producción.

El surgimiento de colorantes producidos sintéticamente en algunos países industrializados, provocó una considerable disminución de la demanda del colorante de añil en el mercado internacional, debido al bajo costo de producción de los primeros y sus similares características respecto a este colorante natural.

El añil o jiquilite es una planta que contiene la sustancia química conocida como “Indicán“, la cual es transformada en el principio activo del colorante índigo azul. El género indigofera consta de una gran cantidad de especies (aproximadamente 800) que pueden ser cultivadas sobre la tierra entre el nivel del mar y 1,650 m adecuándose bien a climas tropicales y cálidos, sin conocer con certeza el por qué sólo unas pocas de estas especies contienen indicán en gran proporción.

En El Salvador se cultivan principalmente dos variedades de planta de añil:

- a) *Indigofera guatemalensis* Moc.
- b) *Indigofera sufruticosa* Mill.

Recientemente se ha demostrado la potencialidad a nivel económico que este colorante natural posee debido a su gran aceptación en el mercado internacional. Esto se debe principalmente a la preferencia por la utilización de colorantes naturales sobre los artificiales y por lo atractivo de los materiales teñidos con el colorante natural.

Es por eso que en la actualidad dadas las condiciones favorables en nuestro país, algunas entidades como el Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA), el Consejo Nacional para la Cultura y las Artes (CONCULTURA) y la Asociación de Añileros de El Salvador (AZULES) están haciendo esfuerzos por impulsar el cultivo del añil y la extracción del colorante del mismo de modo que pueda obtenerse con ello una denominación de origen.

El tinte de añil natural se comercializa bajo diversas presentaciones, en cantidades pequeñas y en formas de extractos. En la gran industria, se importa en polvo a granel o embalado en bolsas plásticas.

Los consumidores del añil son empresas que manejan tintes para la industria textil, la industria cosmética, la industria artesanal, entre otras. El añil natural, es apto para el teñido en fibras, maderas, cuero, papel, cerámica, al mismo tiempo, que su color genera diversas tonalidades del azul.

1.2 Beneficios del cultivo del añil

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

- ✓ La recuperación de una identidad nacional: esto significa que se tiene la posibilidad de que El Salvador vuelva a ser conocido por la producción del colorante de añil de muy buena calidad.
- ✓ Disminución de la pobreza rural al involucrar personas para trabajar en el cultivo y proceso, convirtiéndose en una fuente de ingresos.
- ✓ Mejoramiento de la calidad de los suelos y recuperación de paisajes.

- ✓ Oportunidades de exportación para este producto: en el mercado internacional existe una amplia demanda para el colorante de añil por sus características naturales, siendo pagado a muy buenos precios que en países europeos son fijados en base al contenido de indigotina, sin embargo, países asiáticos demandan también del colorante sin precisar el porcentaje del principio activo.

1.3 Necesidad de experimentación

Los procesos de extracción del colorante de añil en la actualidad siguen siendo a nivel artesanal como en tiempos pasados, utilizando el método tradicional de obrajes involucrando solamente ciertas modificaciones basadas únicamente en la experiencia de los añileros y cuyas bondades sobre el proceso no han sido realmente indagadas.

El resurgimiento de una demanda en el mercado internacional para este colorante natural aunado al poder adquisitivo de diferentes países para su importación hacen necesario el desarrollo de un proceso de producción óptimo, es decir, un proceso que permita obtener mayores índices de producción, una mejora y regularidad en la calidad del producto y que minimice costos en el proceso productivo aprovechando al máximo los recursos de tiempo y materiales

Lo anterior deja en evidencia la clara necesidad del desarrollo de una investigación experimental formal, con el objeto de industrializar el proceso, logrando mayores niveles de eficiencia en la producción, reduciendo la variabilidad en la calidad del producto y aprovechando al máximo los recursos disponibles en el país permitiendo un desarrollo sustentable y sostenible.

Se vuelve necesario, por tanto, realizar una caracterización fisicoquímica del proceso de extracción del colorante de añil en sus etapas de fermentación y

oxigenación, evaluando el efecto que ejercen ciertos factores, así como también el establecimiento de la variable de calidad para dichas etapas.

Una vez determinados los efectos se debe optimizar el proceso en términos de dichas variables.

1.4 Objetivos de la investigación

General:

Determinar el efecto del pH, la temperatura, tiempo y tipo de agua sobre los procesos de fermentación y oxidación para la producción del colorante de la planta de añil (Indigofera Sp.) y de esta forma optimizar las características de calidad del colorante obtenido.

Específicos:

- ✓ Determinar el efecto del pH, la temperatura, tiempo y tipo de agua sobre el proceso de fermentación para la producción de indigotina como ingrediente activo del colorante obtenido por el procesamiento del añil.
- ✓ Determinar el efecto del pH, la temperatura, tiempo y tipo del agua sobre el proceso de oxidación para la producción de indigotina contenida en el colorante obtenido por el procesamiento del añil.
- ✓ Determinar los valores de pH, temperatura y tiempo así como el tipo de agua que permiten optimizar la variable de calidad (contenido de indigotina) para ambas etapas del proceso.

1.5 Limitaciones

- ✓ Se trabajará únicamente con la especie *Indigofera sufruticosa* Mill. para las pruebas realizadas debido a que se cuenta únicamente con esta especie en la hacienda “Los Nacimientos” en el momento de iniciar la investigación.
- ✓ La hoja de añil utilizada se recolectará de una misma zona geográfica, ubicada en el municipio de Suchitoto.
- ✓ Los tipos de agua estudiadas para el proceso incluyen únicamente la proveniente de pozo y nacimiento también ubicados en el municipio de Suchitoto. (ver Anexo F).

El proceso de investigación a implementar se resume en la figura 1.1.

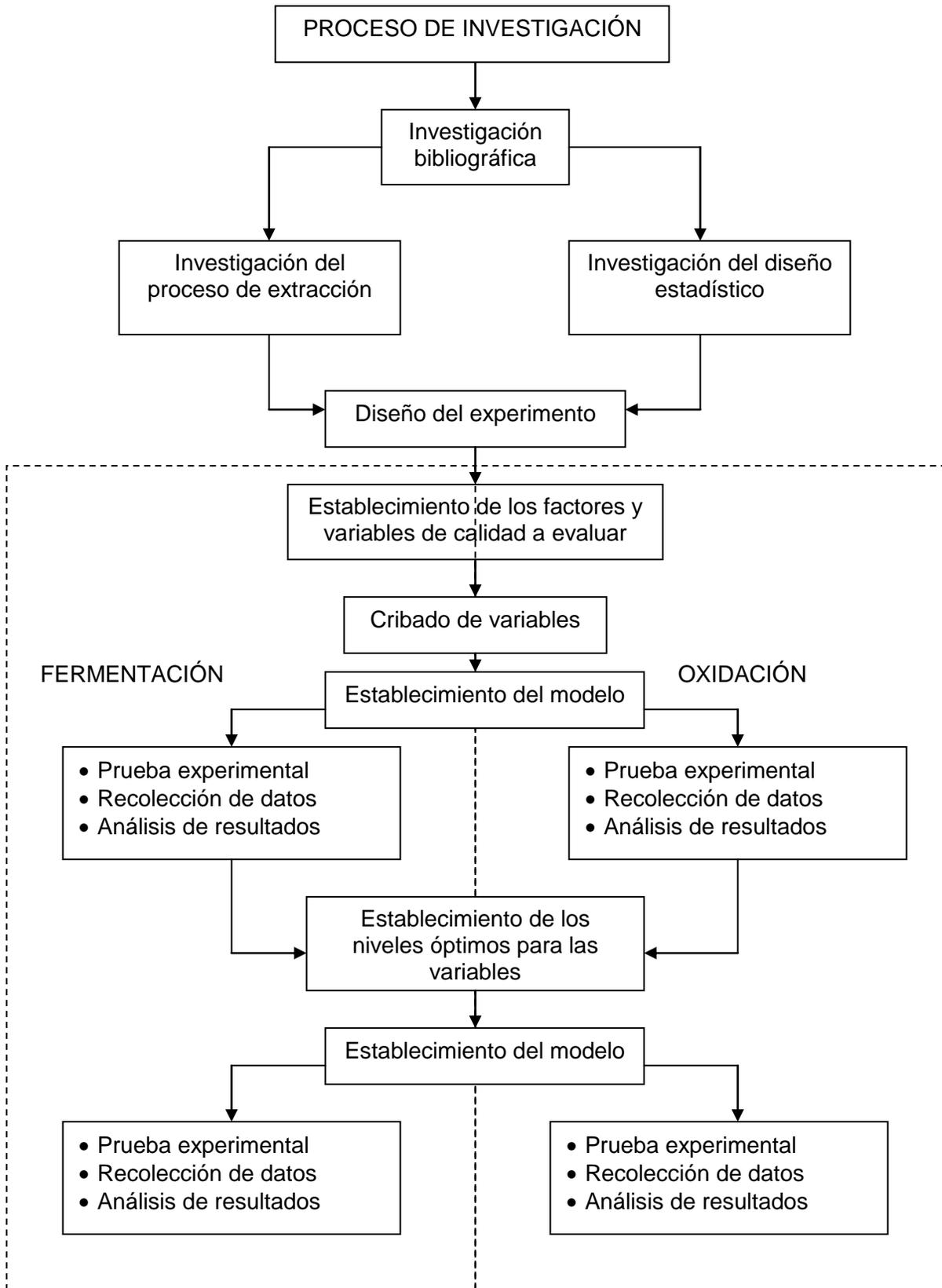


Figura 1.1 Esquema general del proceso de investigación.

2.0 DESCRIPCIÓN BOTÁNICA DE LA PLANTA DE AÑIL

2.1 Descripción

El añil es una planta herbácea, erecta de 1.5 a 2.0 metros de altura, poco ramificada, tallo angular, sub-leñoso y sus ramas están cubiertas de 10 a 12 hojas de color verde claro, dispuestas en pares regulares y su reproducción es sexual. La flor es color rojo claro y en racimos y el fruto es una vaina cilíndrica, tetraédrica, ligeramente comprimida que contienen de 5 a 7 semillas ovaladas, duras y oscuras, pertenece al Orden Fabaceae, Familia Leguminoseae, Género Indigofera. En la figura 2.1 se presenta una fotografía de la planta de añil de la especie sufruticosa Mill.

El género Indigofera consiste de casi 800 especies. Estas especies pueden crecer sobre la tierra entre el nivel del mar y 1,650 m. Alrededor de 600 pueden ser encontradas en África, cerca de 200 en Asia, 80 en América y entre 50 y 60 en Australia. Nadie puede explicar todavía por que sólo unas pocas de éstas tienen un alto contenido de Indicán, precursor de Índigo. (IICA 2,002).



Figura 2.1 Planta de añil de la especie sufruticosa Mill.

2.2 Origen

El añil o jiquilite es originario de Mesoamérica (Sur de México y Centro América), el cual, a su vez, da origen a la Indigotina, colorante natural, para diferentes usos, mundialmente apreciado por su calidad. A la llegada de los españoles a México en 1,521, ya los indios mexicanos y los pipiles, teñían sus telas con este tinte. (IICA 2,002).

2.3 Especies de Mesoamérica

- ✓ *Indigofera guatemalensis*
- ✓ *Indigofera suffruticosa*
- ✓ *Indigofera mucronata*
- ✓ *Indigofera lespedizoides*

Las especies *Indigofera guatemalensis* e *Indigofera suffruticosa*, fueron las más cultivadas durante la época colonial y son las que se están cultivando actualmente en las diferentes zonas productoras del país. (IICA 2,002).

2.4 Características de las variedades

2.4.1 *Indigofera guatemalensis*

Las ramificaciones inician a baja altura del suelo (10 a 20 cm), las flores son de color rojo claro, vainas cortas y rectas, hojas pequeñas y poca resistencia a la sequía. Necesita descope para inducirla a producir más ramas laterales.

2.4.2 *Indigofera suffruticosa*

Las ramificaciones se inician a unos 40 cm del suelo, las flores son de color rojo claro, las vainas son curvas y más largas que la *Indigofera guatemalensis* y

presentan dehiscencia, las hojas son grandes y presenta resistencia a la sequía, es una variedad arbustiva y no necesita descope. (IICA 2,002).

2.5 Ciclo vegetativo

El ciclo de la planta de añil es de cinco meses para su uso industrial, aunque al cesar la lluvia queda en latencia y reinicia su ciclo biológico al tener condiciones de humedad adecuadas. Al paso de los años, la planta se va tornando leñosa, por lo que se elimina al tercer año de producción. Sin embargo, algunos autores y productores, señalan que al tercer año, la planta se corta totalmente dejando el sistema radicular intacto y al caer las lluvias la planta brota con un nuevo tallo. (IICA 2,002).

2.6 Factores agroecológicos

2.6.1 Clima

El añil se ha cultivado desde los 100 metros sobre el nivel del mar (msnm), hasta los 1,000 msnm, y por lo tanto en zonas con diferentes volúmenes de precipitación, temperaturas y bio-temperaturas, que están en función de la zona de vida a que pertenezca la localidad. También se tienen evidencias de cultivos al nivel del mar. La figura 2.2 presenta las zonas de vida de El Salvador.

La escasez de humedad afecta la calidad y cantidad de la tinta, según reportes de la época colonial y contemporánea, aunque en la Zona Oriental, ADAZOES (Asociación de Añileros de la Zona Oriente de El Salvador) reportó poca o nula disminución en la producción durante la sequía del año 2,000.

De acuerdo a las zonas de vida el cultivo del añil se realiza en los siguientes sistemas: (IICA 2,002).

bs-T: Bosque seco tropical, alrededor del lago de Guija y Metapán en el departamento de Santa Ana y al Norte del departamento de San Vicente. Esta zona de vida presenta la menor cantidad de precipitación promedio anual, con bio-temperaturas mayores de 24°C

bh-T: Bosque húmedo tropical: Ubicado entre Sonsonate y La Libertad y al norte de San Francisco Gotera, en la cuenca del río Corola, entre los 450 – 700 metros sobre el nivel del mar y donde la precipitación es mayor a los 2000 mm al año.

bh-ST: Bosque húmedo subtropical: Es la principal zona de vida y comprende aproximadamente el 85% del territorio nacional donde la precipitación varía de los 1400 a 2000 mm anuales se subdivide en subzonas de la manera siguiente:

bh-S (c): Bosque húmedo subtropical caliente, que tiene elevaciones desde el nivel del mar hasta los 500 metros y temperaturas del aire mayores de 30°C.

bh-S (f): Bosque húmedo subtropical fresco, que tiene temperaturas del aire menores a 24°C., con elevaciones de los 500 a los 1500 msnm.

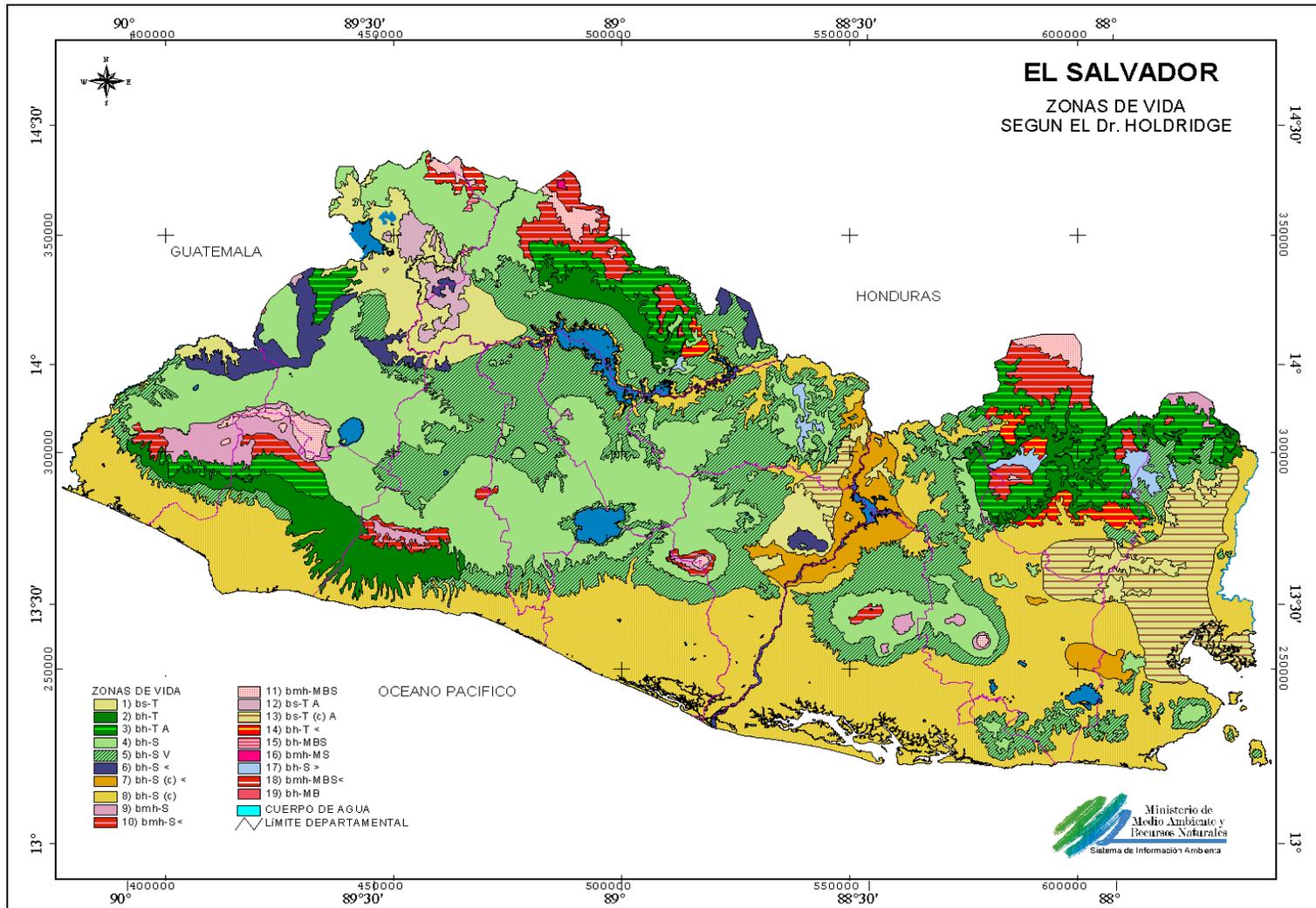


Figura 2.2 Zonas de vida de El Salvador.

2.6.2 Clases de suelos

En cuanto a los suelos, se reporta adaptabilidad a diferentes clases, sin embargo, hay coincidencias en cuanto a que deben tener buen drenaje, pero por ser un cultivo limpio puede erosionar los suelos, en virtud de lo cual, deberá estar limitado hasta la Clase IV, que son suelos con moderadas a fuertes pendientes y que por tal motivo deben establecerse obras de conservación. (IICA 2,002).

Además de las limitantes de clases de suelos, limitan el cultivo en su contenido y calidad de la tinta, los suelos muy arenosos con excesivo drenaje, los suelos orgánicos y los suelos arcillosos con mal drenaje, independientemente de la clase a que pertenezcan debido a que es un cultivo sensible a la sequía y a las inundaciones, según reportes. La figura 2.3 muestra las clases de suelo existentes en El Salvador.

Con excepción de los suelos inundables permanentemente y los inundables sujetos a las mareas, no se reportan cultivos, así como en aquellos suelos podzólicos y latosoles hidrohúmicos, situados al Norte del país. (IICA 2,002).

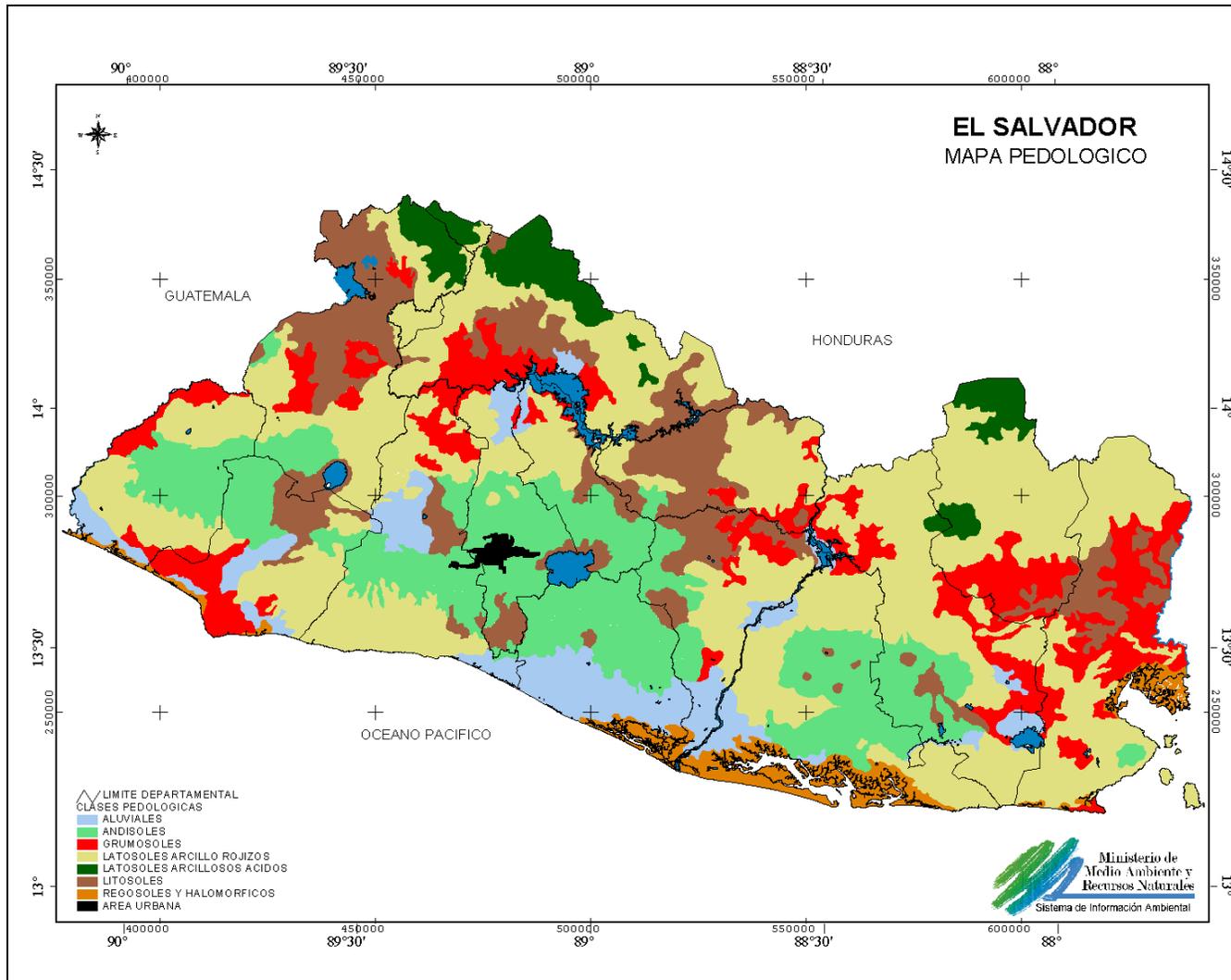


Figura 2.3 Clases de suelo en El Salvador.

3.0 CONDICIONES ACTUALES

3.1 Descripción general del sub-sector añil

En la época de la colonia la explotación del añil o jiquilite constituyó una pujante actividad económica para El Salvador. Sin embargo, su importancia en el comercio de colorantes cayó drásticamente debido al ingreso en el mercado de sustitutos sintéticos, cuyos precios más bajos y sus buenas propiedades para la industria definieron un posicionamiento mejor que el de los colorantes naturales.

En 1,992, el Consejo Nacional para la Cultura y las Artes (CONCULTURA) comienza a promover el Rescate Cultural del Añil, buscando transmitir la cultura y conocimiento de su cultivo y utilización artesanal. Posteriormente, en 1,995 la Agencia Alemana de Cooperación Técnica para el Desarrollo (GTZ) financió el apoyo técnico, de promoción y comercialización, utilizando como contraparte a la Asociación Salvadoreña de Agricultores y Procesadores de Productos no Tradicionales (AGRONATURA). Luego en 1,999, se incorpora el Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA), el Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG), Agrícola Industrial Salvadoreña (AGRISAL), y productores independientes. Constituyéndose así, el Grupo Añil con el IICA como ente Coordinador.

3.2 Número de Productores

La Asociación de Añileros está compuesta por 30 socios, de los cuales 16 son socios independientes, 2 asociaciones, una fundación y 4 empresas privadas. Una de estas empresas está conformada por dos cooperativas. La Asociación de Añileros de la Zona Oriente de El Salvador (ADAZOES) está constituida por 152 pequeños productores distribuidos en Usulután, San Miguel, La Unión y Morazán. La agencia para el Desarrollo Económico y Local (ADEL), en Morazán apoya a grupos de 15 productores ubicados en ese departamento.

La tabla 3.1 presenta un listado de instituciones que realizan la producción y teñido con el colorante de la planta de añil.

Actualmente los productores de añil son alrededor de 97. Hay un potencial de 889 productores que están organizándose en el oriente del país. La extracción del añil se realiza en 30 obrajes distribuidos en su mayor parte en la zona central. (IICA 2,002).

Tabla 3.1 Instituciones involucradas en la producción de añil y teñido.

Nombre de la Institución	Carácter	Resumen de ACTIVIDADES
AZULES	Grupo de productores	Producción, procesado y exportación
ADAZOES	Grupo de productores	Producción, procesado
COROBAN	Grupo de productores	Producción inicial
Sociedad Amigos de Cabañas	Grupo de productores	Producción inicial
MESOAMÉRICA Indigenista	Grupo de Productores	Producción Inicial
Chalatenango	Grupos de productores	Producción, procesado
MAPLE, S.A.	Producción, comercio y procesador	Compra de hoja seca, producción y procesado
Indigo Trading	Venta de artesanías	Teñido, venta de ropa y artesanías exclusivas con Añil
ECONATURE	Venta de artesanías	Teñido, venta de ropa y artesanías exclusivas con Añil
Artesanos de Nahuizalco	Artesanos	Telas tradicionales
Artesanos San Sebastián	Artesanos	Hamacas, colchas, hilos.
Parque Arqueológico Casa Blanca, Museo y Escuela Taller de Añil	Taller de capacitación en teñido con Añil y museo	Escuela taller de teñido con Añil, producción y procesado de la materia prima.
Taller Cantral de Teñido JICA-IICA	Capacitación en teñido con Añil	

3.3 Empleo Generado

La generación de empleo en este cultivo es muy alta. En la cadena productiva de la extracción del colorante de añil, la fase que requiere mayor mano de obra es la cosecha de la materia verde. Se estima que alrededor de 83 puestos de empleo a nivel nacional son generados directamente en las fases de cultivo y procesamiento del añil, y un promedio de generación de empleo para el primer año de 107 jornales por hectárea, el segundo año 171 jornales por hectárea y el tercer año 122 jornales por hectárea. Este cultivo se puede convertir en una fuente de trabajo para muchas personas que no tienen un empleo estable, al desarrollarlo de manera permanente. (IICA 2,002).

3.4 Caracterización de la producción

La mayoría de productores producen convencionalmente, es decir, haciendo uso de insumos químicos. Sin embargo, el añil es un cultivo poco propenso a ataques por plagas (algunos lepidópteros son las plagas de mayor incidencia), por lo que el uso de insecticidas o fungicidas es muy poco frecuente. Existen dos productores certificados como orgánicos. Se utiliza también las siembras en asocio con maíz, especialmente en la zona oriental.

Los procesos actualmente utilizados siguen siendo a nivel artesanal como en tiempos pasados, utilizando el método tradicional de obrajes solamente involucrando ciertas modificaciones basadas únicamente en la experiencia de los añileros y cuyas bondades sobre el proceso no han sido realmente indagadas.

Algunos productores que no cuentan con el capital necesario para invertir en la construcción de un obraje, realizan el procesamiento en barriles.

Los obrajes donde es procesado el añil consta de las siguientes etapas:

- a) *Corte de la planta*: se realiza de forma manual, considerando para ello la edad del cultivo y la especie a procesar.
- b) *Pesado de la hoja*: la planta se agrupa en manojos que son colocados en una balanza.
- c) *Etapa de fermentación*: la hoja es introducida y acomodada en una pila, se compacta y adiciona agua hasta ser cubierta, pudiendo colocar una especie de rejilla para evitar que la hoja flote. El tiempo de fermentación es determinado de forma empírica y oscila entre 16 y 18 horas.
- d) *Etapa de oxigenación*: este proceso puede ser realizado con la utilización de un compresor de aire o de forma manual por medio de paletas. La duración de esta etapa también es determinada empíricamente con la observación de un punto de corte y varía entre 2 y 3 horas.
- e) *Etapa de sedimentación*: el líquido se deja reposar por cierto tiempo hasta observar su clarificación en la parte superior. El sobrenadante es desechado y se conserva el precipitado que posteriormente es retirado manualmente con la utilización de recipientes.
- f) *Filtración en mantas*: el precipitado se coloca en mantas, dejando escurrir el exceso de agua. El tiempo de este proceso es de aproximadamente 22 horas.
- g) *Etapa de secado*: el residuo sólido contenido en la manta es retirado y expuesto al sol por un tiempo aproximado de 8 días.

- h) *Proceso de molienda*: el sólido seco se reduce de tamaño y es envasado en bolsas de polietileno negras de 50 kg de peso neto cada una. Estas bolsas se colocan en sacos para su exportación.

Lo anterior deja en evidencia la clara necesidad de llevar a cabo una investigación formal en diversos campos, con el objeto de industrializar el proceso, logrando mayores niveles de eficiencia en la producción, reduciendo la variabilidad en la calidad del producto y aprovechando al máximo los recursos disponibles en el país permitiendo un desarrollo sustentable.

Las disciplinas en las que se requiere de una indagación mas profunda son las siguientes:

- ✓ Ingeniería química
- ✓ Área agronómica
- ✓ Mercadeo y economía.

3.5 Costos de producción

Los costos de producción son muy variables, ya que los productores tienen diferentes sistemas de producción. Sin embargo de forma general se estiman costos mayores para el primer año de producción.

3.6 Superficie de cultivo

Según datos recopilados a través de información de las asociaciones, la superficie cultivada en el 2,002 fue de 112 ha: 58 ha. en la zona oriental, 32 ha. en la zona paracentral y 15.4 ha. en la zona occidental. (IICA 2,002).

Este es un cultivo que se adapta muy bien a las diferentes condiciones de los suelos del país, ya que a pesar de no existir una caracterización edafoclimática

que limite la frontera agrícola de este cultivo, la experiencia de los productores indican que los suelos pedregosos, de baja fertilidad, con pendientes desde fuertes a moderadas, de textura arcillosa – franco arenosa, arenas volcánicas, talpetate y con altas temperaturas, son muchas de las características que pueden garantizar altos rendimientos del añil. En ese sentido, El Salvador presenta las condiciones edáficas y agroclimáticas mínimas requeridas para la producción de este cultivo.

Para el resto de la región centroamericana, no se tienen información alguna del cultivo de añil. Esto obedece a que el añil ha estado en el olvido desde el siglo XVIII, a pesar de haber sido un cultivo que se comenzó a producir en Mesoamérica mucho tiempo antes de la llegada de los españoles, desde el sur de México hasta las costas de Nicaragua, siendo El Salvador de los mayores productores. (IICA 2,002).

3.7 Rendimiento

El rendimiento por manzana varía dependiendo tanto del manejo que el añil reciba en su fase agronómica y de procesamiento como de la edad del cultivo, ya que el añil es un cultivo perenne. En un cultivo de primer año se han observado rendimientos de 15 a 20 kg de tinta por manzana. En el segundo año aumenta a 25-35 kg., mientras que en el tercer año es de 20 a 25 kg. La rentabilidad neta por manzana del añil es de US\$814.00, pero se necesita cultivar como mínimo diez manzanas, ya que requiere una inversión inicial aproximada de US\$1,828.57 sólo en equipo sin contar la preparación de tierras, siembra, mantenimiento, cosecha y procesamiento, empaque y embarque del producto final. (IICA 2,002).

3.8 Demanda nacional

La mayor parte de la demanda del colorante, es realizada por artesanos quienes consumen alrededor de 650 kg. para el teñido de hilos, telas, ropa, tejidos artesanales y pinturas del tipo acuarelas. La demanda interna se presenta creciente en la medida que los artesanos utilizan y encuentran nuevas aplicaciones del añil, al mismo tiempo, en algunos meses hay problemas de abastecimiento por falta de producto.

El desarrollo de la demanda interna presenta tendencias positivas a los productores. De acuerdo a Econature, los precios internos son similares a los precios internacionales y hay escasez de producto. Esta situación limita fuertemente el desarrollo de las empresas teñidoras pues no logran llenar los pedidos grandes de prendas de vestir teñidas con añil. (IICA 2,002).

3.9 Oferta nacional de tinte

Para el año 2,002, la oferta de colorante se ha estimado aproximadamente de 1,500 kg; de este total, si se deduce el consumo interno la oferta exportable de tinte se reduce a 850 kg.

Se espera que la oferta aumente en la cosecha 2,003 a unos 3,000 kg. de acuerdo a las intenciones de siembra e incremento de la capacidad de obraje. (IICA 2,002).

3.10 Situación del comercio exterior

3.10.1 Importaciones y exportaciones

En el año 2,002 la Asociación de Añileros de El Salvador fue la única asociación que exportó su producto. Se exportaron 500 kg. a Alemania y 50 kg. a Francia. Los datos de exportación para otros años se presentan en la tabla 3.2. La tabla 3.3

muestra los mercados actuales y potenciales para la comercialización del colorante de añil.

Tabla 3.2 Desarrollo de las exportaciones de añil 1997-2003.

AÑO	PAÍS	CANTIDAD (kg)
1997	Turquía	30
1999	Suiza	60
2000	Suiza	100
2001	Alemania	500
2002	Alemania y Francia	550
2003 (Enero-Julio)		460

Fuente: Asociación de Añileros de El Salvador (Azules), 2,002.

Tabla 3.3 Mercados actuales y potenciales de “Azules de El Salvador”.

ACTUAL	POTENCIAL
Alemania	Japón
Suiza	Francia
El Salvador	Gran Bretaña
	Canadá
	USA.
	México
	Holanda
	Colombia
	Guatemala

Fuente: Asociación de Añileros de El Salvador (Azules), 2,002.

El añil seco está convirtiéndose en una opción de exportación de productos no tradicionales con alta demanda internacional, que además de generar empleos, perciben mayor rentabilidad que los cultivos tradicionales. Según la asesora del programa “Fortalece” de la Agencia Alemana de Cooperación Técnica para el Desarrollo, este organismo le apuesta al desarrollo local y por eso plantea un nuevo enfoque de trabajo a través de programas que contribuyan al fomento de la economía local.

3.10.2 Precios

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

El precio del añil de exportación de El Salvador, ha oscilado entre US\$35 a US\$45 por kg, de acuerdo a datos de productores y de la Asociación de Añileros de El Salvador -AZULES-. La norma para establecer el precio ha sido el pago de US\$1.00 por grado de Indigotina, así a mayor grado de concentración de Indigotina mayor precio. (IICA 2,002).

La tabla 3.4 presenta una relación entre concentración de Indigotina y precio.

Tabla 3.4 El Salvador: porcentaje de indigotina y precio/kg. Año 2,002.

% DE INDIGOTINA	PRECIO EN US\$/kg
20	17.50
30	26.25
40	35.00
45	39.38
50	43.75
60	52.50

Fuente: Estimación en base a informe de Mercado de colorantes naturales y AZULES.

3.11 Productores nacionales

La tabla 3.5 presenta los municipios en los cuales se ha localizado a productores de añil.

Puede observarse que las mayores zonas de cultivo, se desarrollan en el oriente de El Salvador (figura 3.1). Según las evidencias, la expansión de las áreas no representa problema pues los datos históricos nos muestran que el añil se puede

sembrar en todo el territorio nacional, hasta alturas de 1,000 metros sobre el nivel del mar.

Finalmente, las zonas de cultivo actual presentan evidencias de los cultivos de la época colonial pues se han encontrado restos de obrajes en todos los sitios de producción. (IICA 2,002).

Tabla 3.5 El Salvador: zonas productoras de añil por departamento, municipio, cantón, área y productores (año 2,003).

DEPTO.	MUNICIPIO	CANTON	AREA HECTAREAS (Has.)	PRODUCTORES
San Miguel	San Miguel	El Niño	3.54	Varios
	San Miguel	San Antonio Silva	7.07	Miguel Espinal
	El Delirio		14.14	
	Moncagua	Platanar	3.54	Pedro Portillo
	Chapeltique	San Pedro	1.41	Cooperativa
	Sesori		*	
	Ciudad Barrios		*	
	Chinameca		*	
	Nueva Guadalupe		*	
	Chirilagua	Chilanguera	2.12	Francisco Romero
Usulután	Jiquilisco	Tierra Blanca	21.21	Fernando Argueta
	San Fco. Javier	Santa Fe	3.54	Lucio Rodríguez
	Mercedes Umaña		*	
	Santiago de María		*	
	Ozatlán		*	
	Berlín		*	
La Unión	El Carmen	Olomega	3.54	Varios
Morazán	San Simón		12.73	Varios
	San Fco. Gotera	Cacahuatalejo	35.36	Varios

DEPTO.	MUNICIPIO	CANTON	AREA HECTAREAS (Has.)	PRODUCTORES
	San Fco. Gotera	El Triunfo	7.07	Varios
	Lolotiquillo	El Manzanillo	7.07	Miguel Espinal
	Sociedad	El Pital	2.12	Varios
	Joateca	San José	12.73	Dos productores
	Corinto		2.82	Varios **
	Oscicala		2.82	Varios **
Cabañas	Guacotecti		31.82*	34 productores
	Cinquera		4.24*	
	Tejutepeque		17.5	Varios
Santa Ana	Metapán		14.14	
	Chalchuapa		2.10	Varios
	Texistepeque		8.49	
	Santa Ana	El Sauce	16.0	
La Libertad	S. José Villanueva	S.Juan Buenavista	8.49	
San Salvador	San Salvador	El Paisnal	14.14	
Chalatenango	Nombre de Jesús		4.24	
	Las Flores	Guancorita	3.54	
	Nueva Concepción		28.0	
La Paz	El rosario		4.9	Un productor

*comunidades interesadas en producir Añil

**Atendidos por CRS

Fuente: Visitas de Campo

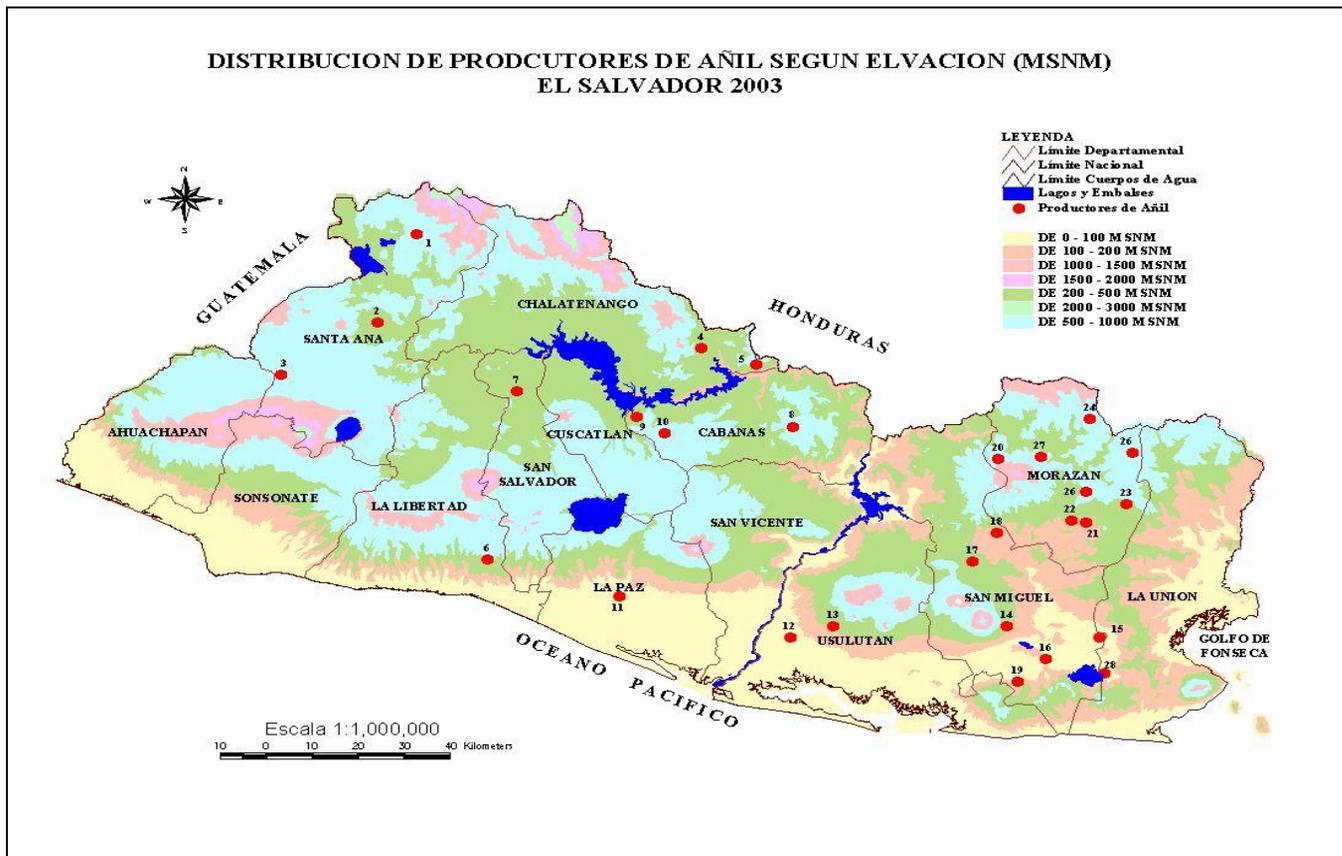


Figura 3.1 Distribución de productores de añil en El Salvador.

4.0 APLICACIÓN DE INGENIERIA PARA LA OPTIMIZACION DE PROCESOS

La ingeniería química proporciona herramientas para poder ser capaces de entender el comportamiento y naturaleza química de los procesos y además aplica los principios de ingeniería y economía que permiten conocer la forma “óptima” para el desarrollo de tales procesos.

En otras palabras, la tarea del ingeniero es la de reconocer los problemas y encarar su solución con eficacia y eficiencia. Para lograr la eficiencia de un proceso productivo se requiere de una optimización del mismo determinando las mejores condiciones operativas. Al ser desconocidas tales condiciones se vuelve necesario la aplicación del diseño experimental, el cual permite la realización de un estudio planificado, con la utilización de una cantidad mínima de recursos, y es muy efectivo para lograr un mayor conocimiento del proceso y acarrear de esa manera grandes beneficios para quien lo realiza.

4.1 Importancia del diseño experimental

La investigación experimental es la base del desarrollo de la ciencia y del conocimiento que permite descubrir algo acerca de un proceso en particular. Realizar una experimentación diseñada significa desarrollar pruebas en las que se provocan cambios deliberadamente en las variables de entrada de un proceso con el objeto de forzar la aparición de efectos no conocidos e identificar las causas de los cambios ocurridos en la variable respuesta. (Montgomery, 1,991, cap.1).

El estudio de un proceso puede esquematizarse según la figura 4.1

La aplicación del diseño experimental cuando se tiene un conocimiento no estadístico del problema o proceso de interés puede traer como resultado:

- ✓ La determinación de los factores que dan un aporte significativo, es decir la magnitud del efecto de tales factores sobre la variable respuesta seleccionada para un proceso.
- ✓ La determinación de las relaciones funcionales que existen entre los factores y las respuestas de un proceso.
- ✓ La determinación de los valores o niveles de los factores que inducen a un valor óptimo en la variable respuesta de un proceso.

Lo anterior significa que es posible realizar la depuración de un proceso para mejorar su eficiencia y eficacia con un mínimo de recursos invertidos.

Algunas de las ventajas de la aplicación de un diseño experimental son las siguientes (Cochran, 1,963, cap. 1):

- ✓ Mejora en el ordenamiento y planificación del proceso investigativo.
- ✓ Menor variabilidad y mayor apego a los factores que afectan a la variable respuesta.
- ✓ Menor tiempo de desarrollo y ejecución.
- ✓ Menores costos globales.

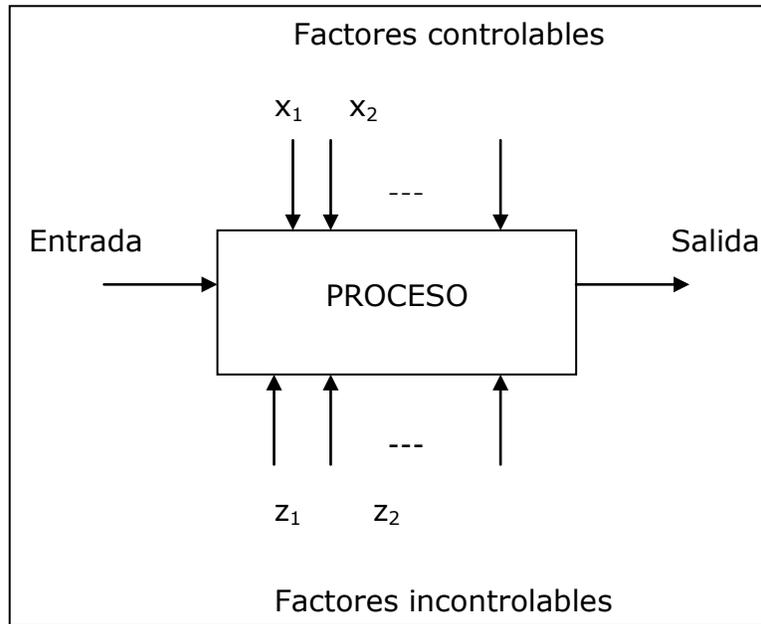


Figura 4.1 Modelo general de un proceso o sistema.

4.2 Lineamientos para el diseño de experimentos

Los siguientes son los pasos recomendados en el diseño y análisis experimental. (Montgomery, 1991, cap.1).

4.2.1 Comprensión y planteamiento del problema

Es indispensable desarrollar todas las ideas sobre los objetivos del experimento. Es importante la inclusión de las opiniones de todas las partes involucradas en el proceso. Se requiere de un planteamiento claro del problema.

4.2.2 Elección de factores y niveles

Debe elegirse los factores que serán variantes en el experimento, y la región de interés para cada variable. Debe seleccionarse el número de niveles (comúnmente

se utilizan dos en la etapa inicial de la investigación) y los valores de éstos a utilizar para cada factor en el experimento así como el intervalo de variación entre ellos.

4.2.3 Selección de la variable respuesta

Se debe estar seguro que la variable dependiente o variable respuesta que sea seleccionada provea información de utilidad acerca del proceso en estudio, además debe conocerse y aplicar correctamente su forma de medición.

4.2.4 Elección del diseño experimental

La selección del diseño se hace en base a los objetivos experimentales, es decir al número de factores cuyo efecto se estudiará sobre el proceso; además debe determinarse si hay implicado bloqueo u otras restricciones de aleatorización. El análisis por bloque es una técnica que permite aumentar la precisión del experimento. Un bloque es una porción del material experimental que sea más homogénea que el total del material. Al realizarse un análisis por bloque se hacen las comparaciones entre las condiciones de interés del experimento dentro de cada bloque.

4.2.5 Realización del experimento

La regla de oro en el desarrollo de esta etapa es:

“No invertir nunca todo el presupuesto en un primer conjunto de experimentos y usar en su diseño toda la información previa disponible”.

Un principio básico requerido para la validez de la experimentación es el hecho de que las pruebas sean realizadas en orden aleatorio. La aleatorización es la piedra angular que fundamenta el uso de los métodos estadísticos en el diseño de

experimentos. Se entiende por aleatorización el hecho de que tanto la asignación del material experimental como el orden en el que se realizan las pruebas individuales o ensayos se determinan aleatoriamente, para lograr independencia.

4.2.6 Análisis de datos

En esta etapa son empleados ciertos métodos estadísticos que proporcionan las directrices para la validez y veracidad de los datos colectados. Los métodos estadísticos permiten obtener el probable error de una conclusión, es decir, asignar un nivel de confiabilidad a los resultados. La principal ventaja de los métodos estadísticos es que agregan objetividad al proceso de toma de decisiones.

El método más aplicable para el análisis de datos es el ANALISIS DE VARIANZA, que consiste en analizar la variación en una respuesta y asignar proporciones (componentes) de esa variación a cada una de las variables del conjunto de variables independientes controlables o no.

4.3 Diseño factorial 2^k

Los diseños factoriales son ampliamente utilizados en experimentos en los que intervienen varios factores para estudiar el efecto conjunto de éstos sobre una respuesta. Existen varios casos especiales del diseño factorial general que resultan importantes porque se usan ampliamente en el trabajo de investigación, y porque constituyen la base para otros diseños de gran valor práctico. El más importante de estos casos especiales ocurre cuando se tienen k factores, cada uno con dos niveles. Estos niveles pueden ser cuantitativos como sería el caso de dos valores de temperatura, presión o tiempo. También pueden ser cualitativos como sería el caso de dos máquinas, dos operadores, los niveles “superior” e “inferior” de un factor o, quizás, la ausencia o presencia de un factor. Una réplica

completa de tal diseño requiere que se recopilen $2 \times 2 \times \dots \times 2 = 2^k$ observaciones y se conoce como diseño factorial 2^k .

Este tipo de diseño supone, 1) que los factores son fijos, 2) que los diseños son completamente aleatorizados, 3) que se satisface la suposición usual de normalidad. (Montgomery, 1,991, cap.9)

El diseño 2^k es particularmente útil en las primeras fases del trabajo experimental, cuando es probable que hayan muchos factores por investigar. Conlleva el menor número de corridas con las cuales pueden estudiarse k factores en un diseño factorial completo. Debido a que sólo hay dos niveles para cada factor, debe suponerse que la respuesta es aproximadamente lineal en el intervalo de los niveles elegidos para los factores. (Montgomery, 1,991, cap.9)

Los diferentes pasos para efectuar un diseño factorial pueden resumirse como los siguientes (Cochran, 1,963, cap. 1):

1. Planificar y definir el diseño.
2. Recolectar los datos
3. Estimar los efectos
4. Definir la significancia de los efectos

4.3.1 Conceptos en diseños factoriales

Algunos conceptos de importancia en diseños factoriales son:

Efectos principales: los efectos principales de un factor dado son siempre función de la respuesta o resultado medio en los distintos niveles de dicho factor.

Efectos de interacción o interacción: es cuando en dos o más variables el efecto de una de ellas sobre la respuesta depende de los niveles de las otras (efectos de n orden)

4.3.2 Ventajas y desventajas de los diseños factoriales

Las siguientes son algunas ventajas y desventajas que presentan los diseños factoriales (Cochran, 1,963, cap. 1):

Ventajas

- ✓ Son más eficientes que los experimentos de un factor a la vez. Permitiendo además la determinación de los efectos interactivos.
- ✓ Permiten estimar los efectos de un factor en diversos niveles de los otros factores.
- ✓ Proporcionan una información completa de cada factor.
- ✓ Representan un ahorro considerable de tiempo y material dedicado a la investigación.

Desventajas

- ✓ Conforme aumentan las combinaciones de los tratamientos, el error experimental también se aumenta, ya que pueden existir mayores problemas y causas de error en la ejecución de las actividades y en la toma de datos, por lo tanto, se necesita personal capacitado para su ejecución.
- ✓ El análisis estadístico es más complicado y más difícil de interpretar.

4.3.3 Diseño 2^3

Cuando se encuentran en estudio tres factores A, B, C cada uno con dos niveles, el diseño se conoce como diseño factorial 2^3 , las ocho combinaciones de tratamientos pueden representarse gráficamente mediante un cubo, tal como se muestra en la figura 4.2. El orden estándar de las combinaciones de tratamientos es (1), a, b, ab, c, ac, bc y abc. Las letras minúsculas también representan los totales de las n observaciones recopiladas bajo la combinación particular de tratamientos. (Montgomery, 1,991, cap.9)

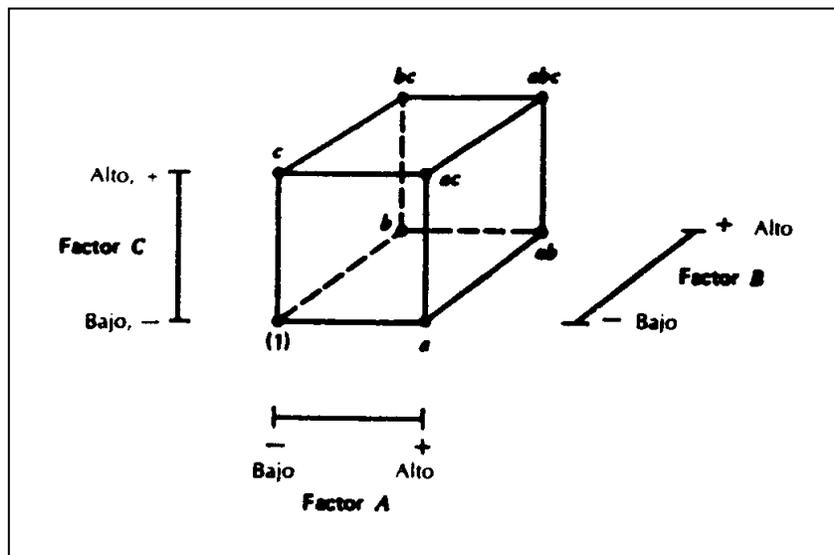


Figura 4.2 Diseño factorial 2^3 .

Existen tres notaciones distintas que se usan ampliamente para las corridas o ejecuciones en el diseño 2^k . La primera es la notación “+ , -”, a menudo llamada “geométrica”, tal como lo muestra la tabla 4.1. La segunda consiste en el uso de letras minúsculas para identificar las combinaciones de tratamientos. En la tercera notación se utilizan los dígitos 1 y 0 para denotar los niveles alto y bajo del factor respectivamente. (Montgomery, 1,991, cap.9)

Tabla 4.1 Signos algebraicos para calcular los efectos en un diseño 2³.

A	B	C	AB	AC	BC	ABC	Combinación de tratamientos
-	-	-	+	+	+	-	(1)
+	-	-	-	-	+	+	A
-	+	-	-	+	-	+	B
+	+	-	+	-	-	-	Ab
-	-	+	+	-	-	+	C
+	-	+	-	+	-	-	Ac
-	+	+	-	-	+	-	Bc
+	+	+	+	+	+	+	Abc

Existen 7 grados de libertad entre las ocho combinaciones de tratamientos en el diseño 2³. Tres de esos grados de libertad se asocian con los principales efectos de A, B, C. Cuatro se asocian con interacciones (AB, AC, BC y ABC), uno para cada una.

Consideremos que se estiman los efectos principales, primeramente de A. El efecto de A cuando B y C están en el nivel bajo es $[ab-b]/n$. El efecto de A cuando C esta en el nivel alto y B en el bajo es $[ac-c]/n$, por último, el efecto de A cuando B y C están ambos en el nivel alto es $[abc-bc]/n$. De este modo, el efecto promedio de A es simplemente el promedio de estos cuatro efectos. (Montgomery, 1,991, cap.9):

$$A = \frac{1}{4n} [a - (1) + ab - b + ac - c + abc - bc] \quad (4.1)$$

Como se dijo, el efecto de A es simplemente el promedio de las cuatro corridas en que A se encuentra en el nivel alto ($y_{A+ prom}$) menos el promedio de las cuatro corridas en que A esta en nivel bajo ($y_{A- prom}$), es decir

$$A = y_{A+prom} - y_{A-prom}$$

$$A = \frac{a + ab + ac + abc}{4n} - \frac{(1) + b + c + bc}{4n} \quad (4.2)$$

Esta ecuación puede reagruparse como sigue:

$$A = \frac{1}{4n} [a + ab + ac + abc - (1) - b - c - bc] \quad (4.3)$$

En forma similar, se estima el efecto de B y C.

Los efectos de interacción de dos factores pueden calcularse fácilmente. Una media de la interacción AB es la diferencia entre los efectos promedios de A a los dos niveles de B. Por convención, la mitad de esta diferencia se denomina interacción AB. En términos matemáticos,

<u>B</u>	<u>Efecto promedio de A</u>
Alto(+)	$\frac{[(abc - bc) + (ab - b)]}{2n}$
Bajo(-)	$\frac{\{(ac - c) + [a - (1)]\}}{2n}$
Diferencia	$\frac{[abc - bc + ab - b - ac + c - a + (1)]}{2n}$

Dado que la interacción AB es la mitad de esta diferencia,

$$AB = \frac{[abc - bc + ab - b - ac + c - a + (1)]}{4n} \quad (4.4)$$

Se puede expresar la ecuación anterior como sigue:

$$AB = \frac{abc + ab + c + (1)}{4n} - \frac{bc + b + ac + a}{4n} \quad (4.5)$$

Aplicando un razonamiento similar, las interacciones AC y BC son

$$AC = \frac{[(1) - a + b - ab - c + ac - bc + abc]}{4n} \quad (4.6)$$

$$BC = \frac{[(1) + a - b - ab - c - ac + bc + abc]}{4n} \quad (4.7)$$

4.3.4 Adición de puntos centrales al diseño 2^k

Un motivo de preocupación potencial en el uso de diseños factoriales de dos niveles es la suposición de linealidad en los efectos de los factores. Por supuesto, es innecesaria la linealidad perfecta, y el sistema 2^k funcionará bastante bien incluso cuando la suposición de linealidad se cumpla sólo de manera aproximada. Existe sin embargo un método para replicar ciertos puntos en un diseño factorial 2^k , lo cual protegerá contra la curvatura además de permitir obtener estimaciones de error independientes. Dicho método consiste en agregar *puntos centrales* al diseño 2^k , para lo cual se hacen n réplicas en los puntos $x_i = 0$ ($i = 1, 2, \dots, k$). Un motivo importante para agregar las corridas de réplica en el centro del diseño es que los puntos centrales no influyen en las estimaciones usuales de los efectos en un diseño 2^k . Se supone que los k factores son cuantitativos. (Montgomery, 1,991, cap.9).

Para ilustrar el método, considérese un diseño 2^2 con una observación en cada uno de los puntos factoriales $(-, -)$, $(+, -)$, $(-, +)$ y $(+, +)$ y n_C observaciones en los puntos centrales $(0, 0)$. En la figura 4.3 se ilustra la situación. Sea $y_{F\text{ prom}}$ el promedio de las cuatro corridas en los cuatro puntos factoriales y se $y_{C\text{ prom}}$ el promedio de las n_C corridas en el punto central. Si la diferencia $y_{F\text{ prom}} - y_{C\text{ prom}}$ es pequeña, entonces los puntos centrales se encuentran en el plano que pasa por los puntos factoriales (o cerca de él), y no hay curvatura. Por otro lado, si $y_{F\text{ prom}} - y_{C\text{ prom}}$ es grande, entonces existe curvatura. Una suma de cuadrados para la curvatura con un solo grado de libertad esta dada por

$$SS_{\text{Curvatura}} = \frac{n_F n_C (y_{F\text{prom}} - y_{C\text{prom}})^2}{n_F + n_C}$$

donde, en general, n_F es el número de puntos en el diseño factorial. Esta cantidad puede compararse con el cuadrado medio de error para probar la curvatura. Mas específicamente, cuando se agregan puntos al centro del diseño 2^k , el modelo que podemos estar tratando es

$$y = \beta_0 + \sum_{j=1}^k \beta_j x_j + \sum_{i < j} \beta_{ij} x_i x_j + \sum_{j=1}^k \beta_{jj} x_j^2 + \epsilon$$

donde β_{ij} son efectos cuadráticos puros. La prueba en busca de curvatura en realidad prueba la hipótesis

$$H_0: \sum_{j=1}^k \beta_{ij} = 0$$

$$H_1: \sum_{j=1}^k \beta_{ij} \neq 0$$

Además si los puntos factoriales del diseño no son replicados, es posible emplear los n_C puntos centrales para construir una estimación del error con $n_C - 1$ grados de libertad. (Montgomery, 1,991, cap.9).

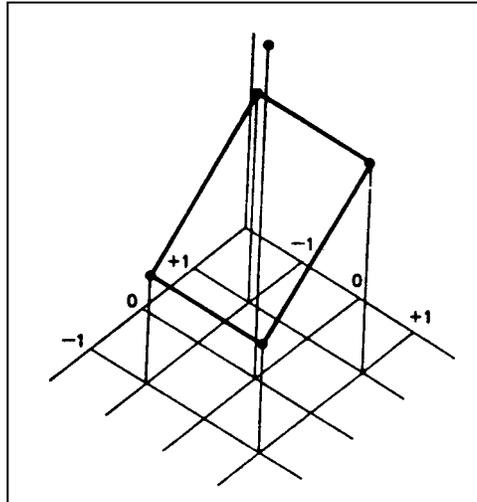


Figura 4.3 Diseño 2^2 con puntos centrales.

4.3.5 Diseño factorial 2^k en dos bloques

Supóngase que se desea correr una sola réplica del diseño 2^2 . Cada una de las $2^2 = 4$ combinaciones de tratamientos requiere una cantidad de materia prima, por ejemplo, y cada lote de materia prima es suficiente sólo para la prueba de dos combinaciones de tratamientos. Por tanto, se requieren dos lotes de materia prima. Si estos lotes se tratan como bloques, entonces debemos asignar dos de las cuatro combinaciones de tratamientos a cada bloque. (Montgomery, 1,991, cap.10).

La figura 4.4 presenta un diseño posible para este problema. La representación geométrica, figura 4.4-a, indica que las combinaciones de tratamientos en diagonales opuestas se asignan a diferentes bloques. Obsérvese en la figura 4.4-b que el bloque 1 contiene las combinaciones de tratamientos (1) y ab, y que el

bloque 2 contiene a y b. Por supuesto, el orden en que se corren las combinaciones dentro de un bloque se determina al azar. También se determinaría al azar cual bloque se corre primero. Supóngase que estimamos los efectos principales de A y B como si no se hubieran formado bloques. A partir de las ecuaciones para las estimaciones de los efectos de cada factor en un modelo 2^2 análogas a la ecuación 4.1 para el diseño 2^3 , se obtiene

$$A = \frac{1}{2}[ab + a - b - (1)] \quad (4.8)$$

$$B = \frac{1}{2}[ab + b - a - (1)] \quad (4.9)$$

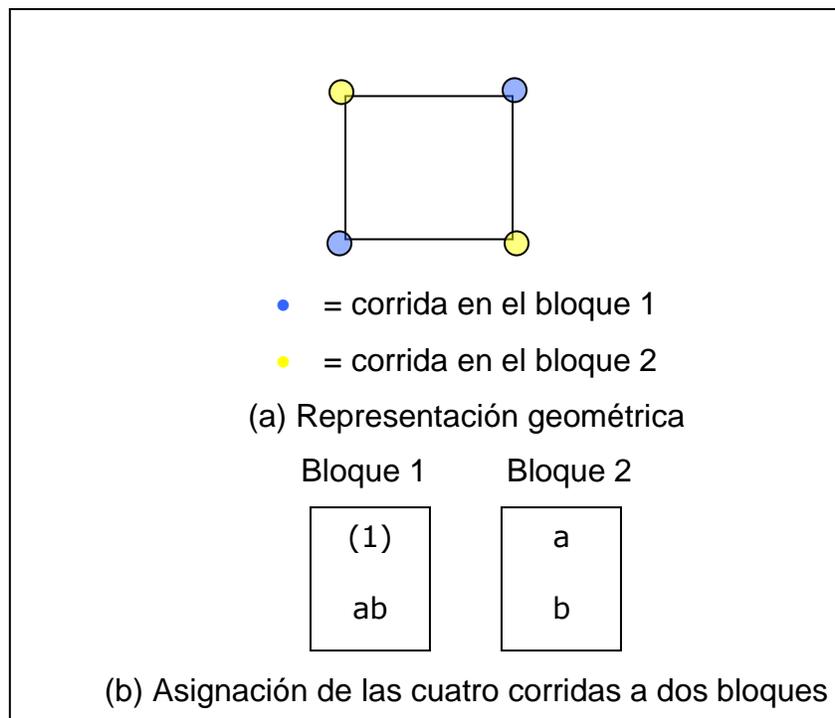


Figura. 4.4 Diseño 2^2 en dos bloques. (a) Representación geométrica.
 (b) Asignación de las cuatro corridas a dos bloques.

Debe notarse que tanto A como B no se afectan por la existencia de los bloques, ya que en cada estimación hay una combinación de tratamientos positiva y una

negativa de cada bloque. En otras palabras, cualquier diferencia entre los bloques 1 y 2 tiende a cancelarse.

Se considera ahora la interacción AB

$$AB = \frac{1}{2}[ab + (1) - a - b] \quad (4.10)$$

Como las dos combinaciones de tratamientos con el signo positivo [ab y (1)] están en el bloque 1, y las dos con signo negativo [a y b] en el bloque 2, el efecto del bloque y de la interacción resultan idénticos. En otras palabras, AB se confunde con los bloques.

A partir de la tabla 4.2 se puede apreciar que las combinaciones de tratamientos con signo positivo para AB se asignan al bloque 1 y las que tienen signo negativo se asignan al bloque 2. Usualmente las interacciones de mayor orden se confunden con los bloques. (Montgomery, 1991, cap.10).

Tabla 4.2 Signos algebraicos para calcular los efectos en un diseño 2^2 .

Combinación de tratamientos	A	B	AB
(1)	-	-	+
a	+	-	-
b	-	+	-
ab	+	+	+

Este esquema puede usarse para confundir cualquier diseño 2^k en dos bloques. Para un diseño 2^3 los bloques se confunden con la interacción ABC; en base a la

tabla de signos positivos y negativos para este diseño (Tabla 4.1), las combinaciones de tratamiento de ABC con signos negativos deben asignarse al bloque 1, mientras que las que tienen signos positivos al bloque 2. Dentro de cada bloque las combinaciones de tratamientos se utilizan en forma aleatoria.

El diseño que resulta se muestra en la figura 4.5.

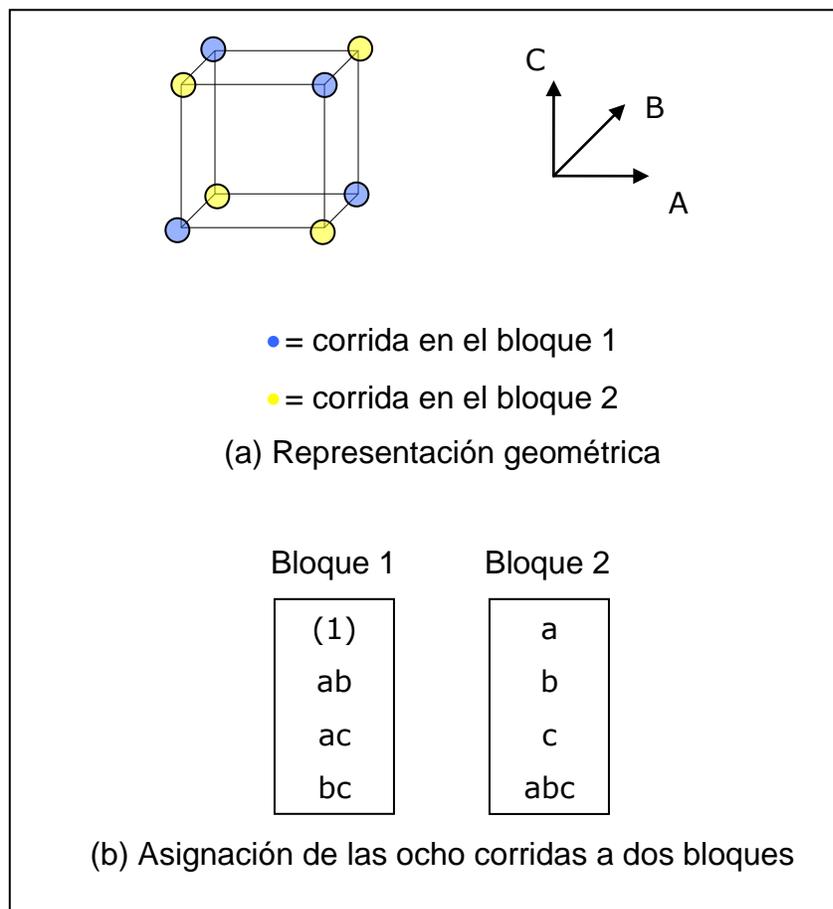


Figura 4.5 Diseño 2^3 en dos bloques con ABC confundidas. (a) Representación geométrica. (b) Asignación de las ocho corridas a dos bloques.

4.3.6 Análisis de datos en el diseño factorial

El análisis de datos en diseños factoriales puede enfocarse en los siguientes pasos (Cochran, 1,963, cap. 1):

- ✓ La estimación de los efectos para todos los tipos de diseños factoriales puede lograrse a través del análisis de la varianza. Para los diseños a dos niveles la estimación de los efectos puede hacerse a través del algoritmo de Yates.
- ✓ La determinación de la significancia de los efectos puede hacerse para todos los tipos de diseños factoriales a través del análisis de la varianza mediante pruebas de hipótesis. En el caso de diseños a dos niveles la determinación de la significación de los efectos puede lograrse a través de medios gráficos representando la distribución de los efectos en papel probabilístico normal, o mediante gráficas de Pareto. Otro método es el del cálculo del error estándar de los efectos.
- ✓ La prueba de idoneidad del modelo para todos los tipos de diseños factoriales puede lograrse a través del análisis de residuos.

4.3.6.1 Análisis de varianza

El objetivo de la investigación será probar hipótesis apropiadas con respecto a los efectos del tratamiento y hacer una estimación de ellos. Para probar las hipótesis se supone que los errores son variables aleatorias con distribución normal, con media cero y varianza constante para todos los niveles del factor (σ^2).

Se requiere que el experimento se efectúe en forma aleatoria, de manera que el medio ambiente en el que se usan los tratamientos (llamados a menudo unidades experimentales) sea lo más uniforme posible.

Si los niveles son seleccionados específicamente por el experimentador. En este caso, se desea probar hipótesis sobre las medias de los tratamientos y las conclusiones sólo se aplican a los niveles del factor considerado en el análisis. Las conclusiones no pueden hacerse extensivas a tratamientos similares que no hayan sido considerados específicamente. También es deseable estimar los parámetros del modelo (la media global de todas las observaciones, el efecto de cada uno de los tratamientos o niveles de los factores y de sus interacciones y la componente aleatoria del error para cada observación,). Este modelo se denomina modelo de efectos fijos.

Si los niveles son una muestra aleatoria de una población mayor de niveles, el modelo se conoce como de efectos aleatorios, en este caso es deseable generalizar las conclusiones (basadas en la muestra de tratamientos), a todos los tratamientos de la población, ya sea que hayan sido considerados o no. En este caso no resulta útil conocer los valores de los tratamientos individuales, en su lugar se prueban hipótesis con referencia a la variabilidad de los efectos de cada tratamiento y se interpreta dicha variabilidad.

Debido a que al realizar la presente experimentación, los niveles de los factores serán fijados en base al criterio del experimentador, será aplicado el análisis del modelo de efectos fijos.

4.3.6.2 Procedimiento de prueba de hipótesis

La prueba de hipótesis consiste en evaluar el estadístico F_o^1 para los efectos principales y las interacciones, éste se define como la razón:

$$F_o = [SC_{TRATAMIENTOS} / (a-1)] / [SC_{ERROR} / (N-a)] \quad (4.11)$$

$$F_o = CM_{TRATAMIENTOS} / CM_{ERROR} \quad (4.12)$$

¹ Estadístico utilizado para determinar si un efecto es significado

Si la hipótesis nula es verdadera, F_0 tiene una distribución F con $a-1$ y $N-a$ grados de libertad.

Criterio de decisión: Si el valor del estadístico es demasiado grande debe rechazarse la hipótesis de que los efectos de cada uno de los niveles o tratamientos es igual a cero, es decir:

Si:

$$F_0 > F_{\alpha, a-1, N-a}$$

La tabla 4.3 muestra el procedimiento de prueba de hipótesis.

Definición de términos.

- Suma de cuadrados

$$\checkmark \quad SC_{TOTAL} = \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^n y_{ij}^2 - \left(\frac{y_{..}^2}{N}\right)$$

$$\checkmark \quad SC_{TRATAMIENTOS} = \sum_{i=1}^a \left(\frac{y_i^2}{n}\right) - \left(\frac{y_{..}^2}{N}\right)$$

$$\checkmark \quad SC_{ERROR} = SC_{TOTAL} - SC_{TRATAMIENTOS}$$

- Media de cuadrados

$$\checkmark \quad CM_{TRATAMIENTOS} = \frac{SC_{TRATAMIENTOS}}{a-1}$$

$$\checkmark \quad CM_{ERROR} = \frac{SC_{ERROR}}{N-a}$$

Donde: SC: suma de cuadrados

CM: media de cuadrados

N: número total de observaciones

a: número de niveles o tratamientos

Tabla 4.3 Procedimiento de prueba de hipótesis.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media de cuadrados ²	F
A	SCA	a-1	CMA	CMA/ CME
B	SCB	b-1	CMB	CMB/CME
C	SCC	c-1	CMC	CMC/ CME
AB	SCAB	(a-1)(b-1)	CMAB	CMAB/ CME
AC	SCAC	(a-1)(c-1)	CMAC	CMAC/ CME
BC	SCBC	(b-1)(c-1)	CMBC	CMBC/ CME
ABC	SCABC	(a-1)(b-1)(c-1)	CMABC	CMABC/CME
Error	SCError	abc(n-1)	CMError	
Total	SCTotal	Abcn-1		

Notación.

- ✓ SCTotal: suma de cuadrados total
- ✓ SCA : suma de cuadrados del factor A
- ✓ SCB : suma de cuadrados del factor B
- ✓ SCAB: suma de cuadrados de la interacción de los factores A y B
- ✓ SCAC: suma de cuadrados de la interacción de los factores A y C
- ✓ SCBC: suma de cuadrados de la interacción de los factores B y C
- ✓ SCABC: suma de cuadrados de la interacción de los factores A,B y C
- ✓ SCError : suma de cuadrados del error
- ✓ a, b, c número de niveles del factor A, B, C respectivamente
- ✓ $i = 1, 2, \dots, a$ (número de niveles o tratamientos)
- ✓ $j = 1, 2, \dots, n$ (número de replicas)
- ✓ y_{ij} : es la (ij)-ésima observación
- ✓ $y_{..}$: es la suma total de todas las observaciones
- ✓ y_i : es la i-ésima observación

² CM representa de media de cuadrados para cada fuente de variación

4.3.6.3 Prueba de idoneidad del modelo

Las herramientas principales para el diagnóstico están basadas en el análisis de residuos. Los residuos en el modelo de un factor vienen dados como:

$$e_{ij} = y_{ij} - y_{i \text{ prom}} \quad (4.13)$$

Es decir, los residuos del i -ésimo (e_{ij}) tratamiento se determinan restando el promedio del tratamiento a cada observación dentro del tratamiento ($y_{i \text{ prom}}$).

La comprobación de idoneidad del modelo consiste en graficar los residuos tal como se realiza en el cuerpo del trabajo. Se recomienda que tal comprobación de diagnóstico sea un paso de rutina en cada proyecto.

Si el modelo es correcto y las suposiciones se satisfacen, los residuos no deben poseer ningún patrón, y no deben estar relacionados con ninguna variable incluyendo la respuesta y_{ij} , (Cochran, 1,963, cap. 1).

4.3.6.4 Suposición de normalidad

Un procedimiento útil para comprobar la suposición de normalidad de los residuos es construir una gráfica de probabilidad normal de los residuos, en ella se observan los aspectos siguientes (Cochran, 1,963, cap. 1):

1. Si los residuos tienen un comportamiento lineal se comprueba la normalidad.
2. En general, desviaciones moderadas de la normalidad no tienen mucha importancia en el análisis de varianza de efectos fijos. Se dice que un análisis de varianza es consistente o robusto con la suposición de normalidad, porque la

prueba F se ve muy poco afectada en este caso. El modelo de efectos aleatorios se ve más afectado por la no normalidad.

3. Un defecto que a menudo se muestra en las gráficas de probabilidad normal es un residuo que es mucho mayor que los otros (residuo inusitado). La presencia de uno o más residuos inusitados puede distorsionar seriamente el análisis de varianza, por lo que cuando se detecta uno en potencia debe realizarse una cuidadosa investigación. Una forma informal para detectar residuos distanciados es el análisis de los residuos estandarizados (D_{ij}):

$$D_{ij} = e_{ij} / (CM_{ERROR})^2 \quad (4.14)$$

Si los residuos son normales, los residuos estandarizados deben ser aproximadamente normales con media cero y varianza igual a uno. Por lo tanto es aplicable la regla empírica general a los residuos estandarizados. Un residuo a una distancia mayor que 3 o 4 desviaciones estándar del origen es potencialmente un residuo distanciado.

Si el modelo es correcto y las suposiciones se satisfacen, los residuos no deben poseer ningún patrón, y no deben estar relacionados con ninguna variable incluyendo la respuesta y_{ij} . Una comprobación sencilla consiste en graficar los residuos contra los valores ajustados y_{ij} . En esta gráfica no debe observarse ningún patrón obvio.

En dicha gráfica se observa los siguientes aspectos de importancia:

1. Algunas veces la varianza de las observaciones aumenta a medida que la magnitud de las observaciones lo hace (o disminuye). Esto resulta cuando el error es proporcional a la magnitud de la observación. Si este es el caso, Los residuos aumentan a medida que y_{ij} lo hace, y la grafica de los errores contra los valores predichos tiene forma de embudo.

2. La varianza variable también ocurre en casos cuyos datos no tienen una distribución normal y están sesgados.

3. Si la suposición de homogeneidad no se cumple, la prueba F es sólo ligeramente afectada en los modelos balanceados de efectos fijos. Sin embargo, el problema es serio en el caso desbalanceado y el de efectos aleatorios.

4.4 Intervalos de confianza

A pesar de ser un procedimiento útil, la prueba de hipótesis no siempre muestra la historia completa. A menudo es preferible proporcionar un intervalo que se espera contenga el valor del parámetro a parámetros bajo estudio. Estos intervalos se conocen como *intervalos de confianza*. En muchos experimentos en ingeniería e industria, el investigador sabe de antemano que existe diferencia entre las medias μ_1 y μ_2 ; por lo tanto, interesa poco probar la hipótesis $\mu_1 = \mu_2$. Usualmente, el experimentador se mostrará más interesado en un intervalo de confianza para las medias $\mu_1 - \mu_2$. (Montgomery, 1991, cap.2).

Con objeto de definir un intervalo de confianza supongamos que θ es un parámetro desconocido. Para obtener una estimación del intervalo de θ se necesita la determinación de dos estadísticos L y U de manera que el enunciado de probabilidad

$$P(L \leq \theta \leq U) = 1 - \alpha \quad (4.15)$$

sea verdadero. El intervalo

$$L \leq \theta \leq U \quad (4.16)$$

se denomina *intervalo de confianza* de $100(1-\alpha)$ por ciento para el parámetro θ .

Para interpretar este intervalo debe tomarse en cuenta que si en muestras aleatorias repetidas, se consideran un gran número de estos intervalos, el $100(1-\alpha)$ por ciento de ellos contendrá el valor verdadero de θ . Las estadísticas L y U se conocen como los *límites superior e inferior de confianza*, respectivamente, y $1-\alpha$ se denomina *coeficiente de confianza*. La ecuación (4.16) se llama intervalo de confianza de 95% de θ si $\alpha = 0.05$. Hay que notar que los intervalos de confianza poseen una interpretación de frecuencia; esto indica que no se sabe si la proposición es verdadera para una muestra específica. Lo cierto es que el método que se usa para obtener el intervalo de confianza ofrecerá proposiciones correctas en el $100(1-\alpha)$ por ciento de las ocasiones. (Montgomery, 1,991, cap.2).

4.5 Métodos y diseños de superficies de respuesta

La metodología de Superficies de Respuesta (RSM) es una técnica secuencial. A menudo, cuando se considera un punto sobre la superficie de respuesta alejado del óptimo, como las condiciones de operación actuales de la figura 4.6, el polinomio de primer grado es apropiado porque existe poca curvatura en el sistema. En este caso, el objetivo consiste en guiar al experimentador rápida y eficientemente a la cercanía general del punto óptimo. Una vez que se ha determinado la región del punto óptimo, puede emplearse un modelo más elaborado, como por ejemplo una superficie de respuesta de segundo grado y realizar un análisis para localizar el punto óptimo. A partir de la figura 4.6 se observa que el análisis de la superficie de respuesta puede interpretarse como el “ascenso a una loma”, donde la cima representa el punto de respuesta máxima. Si el óptimo real es un punto de respuesta mínima, se puede pensar en el “descenso hacia un valle”. (Montgomery, 1,991, cap.16).

El objetivo eventual de la RSM consiste en determinar las condiciones de operación óptima para un sistema, o determinar la región del espacio de los factores en la que se satisfacen las condiciones de operación

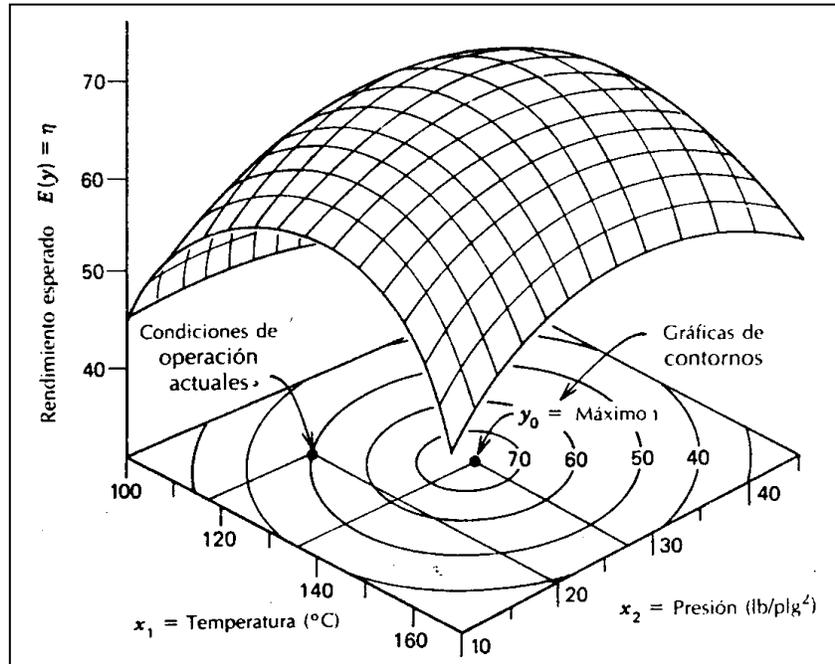


Figura 4.6 Gráfica de contornos de una superficie de respuesta.

La RSM no se usa principalmente para obtener un mayor entendimiento del mecanismo físico del sistema, a pesar de que la RSM puede ser útil para adquirir dicho conocimiento. Más aún, debe observarse que el “óptimo” de la RSM se utiliza en un sentido especial. Los procedimientos de la RSM para “escalar una loma” garantizan la convergencia sólo hacia un óptimo relativo. (Montgomery, 1991, cap.16).

4.5.1 Método de máxima pendiente en ascenso

Con frecuencia la estimación inicial de las condiciones de operación óptimas para un sistema estará alejado del óptimo real. En tales circunstancias, el objetivo del experimento es moverse rápidamente a la vecindad general del otro. Se desea usar un procedimiento experimental simple y económicamente eficiente. En la lejanía de un óptimo, generalmente se supone que el modelo de primer orden es

una aproximación adecuada a la superficie real en regiones pequeñas de las variables independientes. (Montgomery, 1991, cap.16).

El *método de máxima pendiente con ascenso* es un procedimiento para recorrer secuencialmente a lo largo de la trayectoria de máxima pendiente; en otras palabras en la dirección de máximo incremento de la respuesta. Por supuesto, si se desea la minimización se hablará del *método de máxima pendiente en descenso*. El modelo de primer orden ajustado es:

$$y = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \dots + \beta_k x_k + \varepsilon$$

y la superficie de respuesta, o sea las curvas de nivel de la variable respuesta (y) consta de una serie de rectas paralelas, como se muestra en la figura 4.7 la dirección de ascenso máximo es aquella en la que y aumenta mas rápidamente. Esta dirección es paralela a la normal de la superficie de respuesta ajustada. Por lo regular, la *trayectoria de máxima pendiente en ascenso* se toma como la recta que atraviesa el centro de la región de interés y es normal a la superficie ajustada. Por lo tanto, como a los incrementos a lo largo de la trayectoria son proporcionales a los coeficientes de regresión (β). El tamaño del incremento lo determina el experimentador con base a su experiencia con el proceso u otras consideraciones básicas. Los experimentos se llevan a cabo a lo largo de la trayectoria de máximo ascenso hasta que deje de observarse un incremento adicional en la respuesta. Entonces puede ajustarse un modelo de primer orden, determinar una nueva trayectoria de ascenso máximo y continuar con el procedimiento. Por último, el experimentador llegará a la cercanía del óptimo usualmente esto sucede cuando ocurre una falta de ajuste al modelo de primer orden. En tal momento los experimentos adicionales, que corresponden a la aplicación de un modelo de segundo orden, se llevan a cabo para obtener una estimación mas precisa del óptimo. (Montgomery, 1991, cap.16).

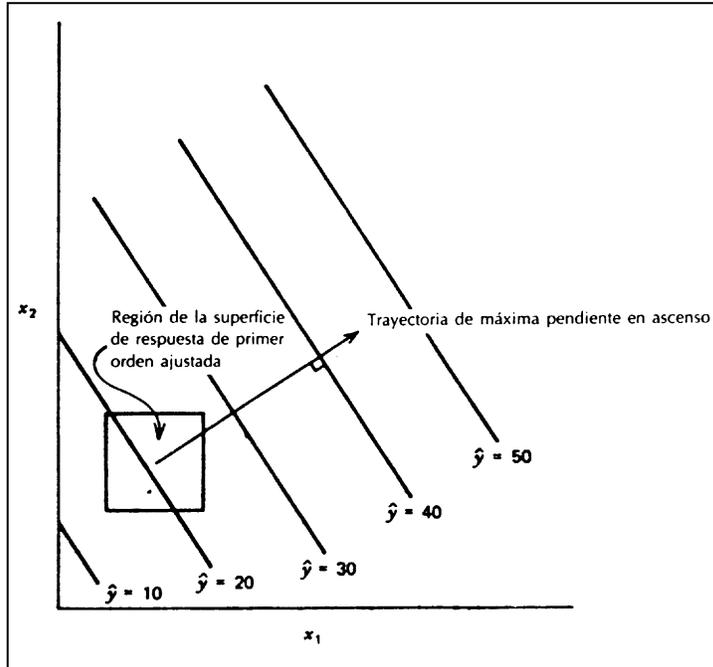


Figura 4.7 Superficie de respuesta de primer orden y trayectoria de máxima pendiente en ascenso.

4.5.2 Análisis de modelos cuadráticos

Por lo general por la curvatura de la superficie real, el experimentador requiere de un modelo cuyo grado sea mayor o igual a 2, para aproximar la respuesta cuando se encuentra relativamente cerca del óptimo. En la mayoría de los casos, el modelo de segundo orden es adecuado (ecuación 4.17)

$$y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i x_i + \sum_{i < j} \beta_{ij} x_i x_j + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} x_i^2 + \epsilon \quad (4.17)$$

En la sección 4.5.3 se demostrará la forma de utilizar este modelo ajustado a fin de hallar el conjunto óptimo de condiciones de trabajo para los factores en estudio y caracterizar la naturaleza de la superficie de respuesta.

Localización del punto estacionario.

Supongamos que se desea determinar los niveles de x_1, x_2, \dots, x_k que maximizan la respuesta predicha. Este máximo, si existe, será el conjunto de x_1, x_2, \dots, x_k , tal que las derivadas parciales $\partial y / \partial x_1 = \partial y / \partial x_2 = \dots = \partial y / \partial x_k = 0$. Dicho punto, es decir $x_{1,0}, x_{2,0}, \dots, x_{k,0}$, se denomina *punto estacionario*. El punto estacionario podría representar (1) un punto de respuesta máxima, (2) un punto de respuesta mínima, o bien (3) un punto silla. (Montgomery, 1991, cap.16).

Puede obtenerse una solución general para el punto estacionario. Usando la notación matricial para el modelo de segundo orden se tiene

$$y = \beta_0 + x'b + x'Bx$$

en donde

$$x = \begin{bmatrix} x_1 \\ x_2 \\ \cdot \\ \cdot \\ x_k \end{bmatrix} \quad \mathbf{b} = \begin{bmatrix} \beta_1 \\ \beta_2 \\ \cdot \\ \cdot \\ \beta_k \end{bmatrix} \quad y \quad \mathbf{B} = \begin{bmatrix} \beta_{11} & \beta_{12}/2 & \cdot & \cdot & \beta_{1k}/2 \\ & \beta_{22} & \cdot & \cdot & \beta_{2k}/2 \\ & & \cdot & & \\ \text{sim} & & & \cdot & \\ & & & & \beta_{kk} \end{bmatrix}$$

En otras palabras, \mathbf{b} es el vector ($k \times 1$) de coeficientes de regresión de primer orden, y \mathbf{B} es una matriz simétrica ($k \times k$) cuya diagonal principal está formada por los coeficientes de los términos cuadráticos puros (β_{ii}), mientras que los elementos fuera de esta diagonal corresponden a un medio del valor de los coeficientes cuadráticos mixtos (β_{ij} , $i \neq j$). La derivada de y_{prom} con respecto al vector \mathbf{x} igualada a $\mathbf{0}$ es

$$\frac{\partial y}{\partial x} = b + 2Bx = 0 \quad (4.18)$$

el punto estacionario es la solución de la ecuación 4.18, o bien

$$x_0 = -\frac{1}{2}B^{-1}b \quad (4.19)$$

Más aún, sustituyendo la ecuación 4.19 se puede determinar la respuesta predicha en el punto estacionario como

$$y_0 = \beta_0 + \frac{1}{2}x_0'b \quad (4.20)$$

4.5.3 Diseños para ajustar el modelo de segundo orden.

Un diseño experimental para ajustar un modelo de segundo orden debe tener por lo menos tres niveles de cada factor. Existen muchos diseños que podrían emplearse para ajustar un modelo de segundo orden, así que elegir un modelo apropiado es útil como objeto de establecer un criterio de diseño. Para el modelo de primer orden la *ortogonalidad* es la propiedad de diseño óptima ya que minimiza la variancia de los coeficientes de regresión. La ortogonalidad también es deseada en los casos de primer orden debido a que resulta ser una propiedad muy conveniente para la variancia de la respuesta predicha. Se dice que un diseño experimental es *rotatable* o girable si la variancia de la respuesta predicha en algún punto cualquiera es función sólo de la distancia al punto hasta al centro de diseño y no es una función de dirección. Además, un diseño con esta propiedad dejará sin cambio la variancia de la respuesta cuando el diseño se haga rotar alrededor del centro (0, 0, ...,0); de aquí el nombre de *diseño rotatable*. La rotabilidad es una propiedad muy importante en la elección de un diseño de superficie de respuesta. Dado que la finalidad de la RSM es la optimización y se desconoce la localización del óptimo antes de correr el experimento, tiene sentido usar un diseño que proporcione estimaciones igualmente precisas en todas direcciones. (Montgomery, 1,991, cap.16).

Uno de los diseños para el análisis de modelos de segundo orden que cumple con las características de Ortogonalidad y Rotabilidad y que además consta de un número relativamente pequeño de experimentos es el modelo propuesto por Box y Behnken. Éste es un modelo para ajustar superficies de respuesta utilizando tres niveles para cada factor; se forma combinando factoriales 2^k con diseños de bloques incompletos.

La tabla 4.4 presenta un diseño de tres variables de Box-Behnken.

Tabla 4.4 Diseño de Box-Behnken para tres variables.

Corrida	x_1	x_2	x_3
1	-1	-1	0
2	-1	1	0
3	1	-1	0
4	1	1	0
5	-1	0	-1
6	-1	0	1
7	1	0	-1
8	1	0	1
9	0	-1	-1
10	0	-1	1
11	0	1	-1
12	0	1	1
13	0	0	0
14	0	0	0
15	0	0	0

5.0 DESCRIPCIÓN DEL PROCESO EXPERIMENTAL

5.1 Metodología de la experimentación

El proceso de investigación experimental a desarrollar consta de dos etapas aplicadas tanto al proceso de Fermentación como al de Oxidación.

a) Etapa de cribado de variables.

Es una etapa de análisis general que permite conocer cuáles variables y combinaciones de éstas son más significativas para el proceso, mediante la realización de una cantidad relativamente pequeña de experimentos. Este análisis es realizado para un intervalo amplio de posibles niveles con los que sería razonable trabajar para cada factor.

b) Etapa de Optimización.

El resultado de esta etapa es conocer la combinación de niveles de los distintos factores que son significativos en el proceso y que permiten obtener una respuesta óptima. En el desarrollo de esta etapa será aplicado un modelo adecuado a los resultados obtenidos en la etapa de cribado de variables. Aquí se desarrolla un análisis de superficie de respuesta, el cual es una técnica matemática y estadística útil para modelar y analizar problemas en los que la respuesta de interés (contenido de indigotina) es afectada por varios factores y el objetivo es optimizar esa respuesta. Para la realización de esta etapa se seleccionan nuevos niveles para cada factor en base a los resultados obtenidos en la etapa de cribado de variables, posteriormente se concluirá sobre el total de niveles estudiados, aquellos con los que se obtiene el mayor porcentaje de indigotina en el índigo natural.

5.2 Elección de factores

En el diseño de procesos productivos en los que intervienen cambios de tipo químico, es decir, en los que unas sustancias se transforman en otras por un reordenamiento de los átomos como lo son la etapa de Fermentación y Oxigenación en el proceso de producción de colorante de añil, se requiere de un conocimiento fisicoquímico del comportamiento de las reacciones ocurridas. El comportamiento de las reacciones químicas, la orientación y velocidad con que se producen está determinado por ciertos factores o variables, siendo entre ellos los más importantes la temperatura del medio, el pH, el tiempo y la presencia de sustancias que puedan inhibir o acelerar la reacción.

La temperatura está relacionada directamente con la constante de equilibrio de una reacción química, la cual no es más que un indicador de las cantidades o concentraciones que se puedan formar de algunos productos de interés como lo es la indigotina dentro del índigo natural.

El pH del medio en el que se desarrolla una reacción es determinante debido a que ciertas reacciones se ven favorecidas o inhibidas en medios ácidos o básicos. Por otro lado, las reacciones en las que intervienen microorganismos vivos tales como las de fermentación son especialmente afectadas por esta variable ya que ésta condiciona en gran medida la actividad de tales microorganismos.

El desarrollo de las reacciones químicas puede darse en su totalidad en períodos muy cortos o muy largos de tiempo y luego de que esto ocurre la reacción puede revertirse y ocasionar una desaparición de los productos, por ello es importante conocer el tiempo que la reacción requiere para completarse de tal forma que se produzca la cantidad de producto deseada.

La presencia de algunas sustancias en el medio en que se efectúa una reacción puede afectar su desarrollo, es por ello que se vuelve necesario conocer si los

componentes del agua utilizada en el proceso, según su procedencia, son influyentes en el desarrollo de las reacciones ocurridas.

El proceso experimental general a aplicar tanto para la etapa de cribado de variables como para la de optimización se esquematiza en las figuras 5.1 y 5.2.

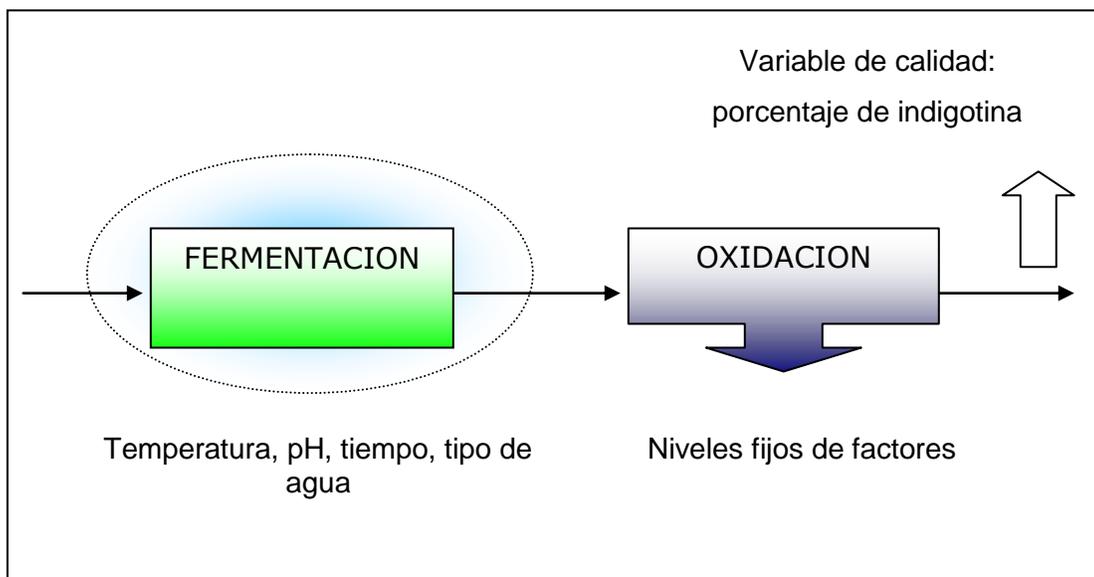


Figura 5.1 Caracterización fisicoquímica de la etapa de fermentación.

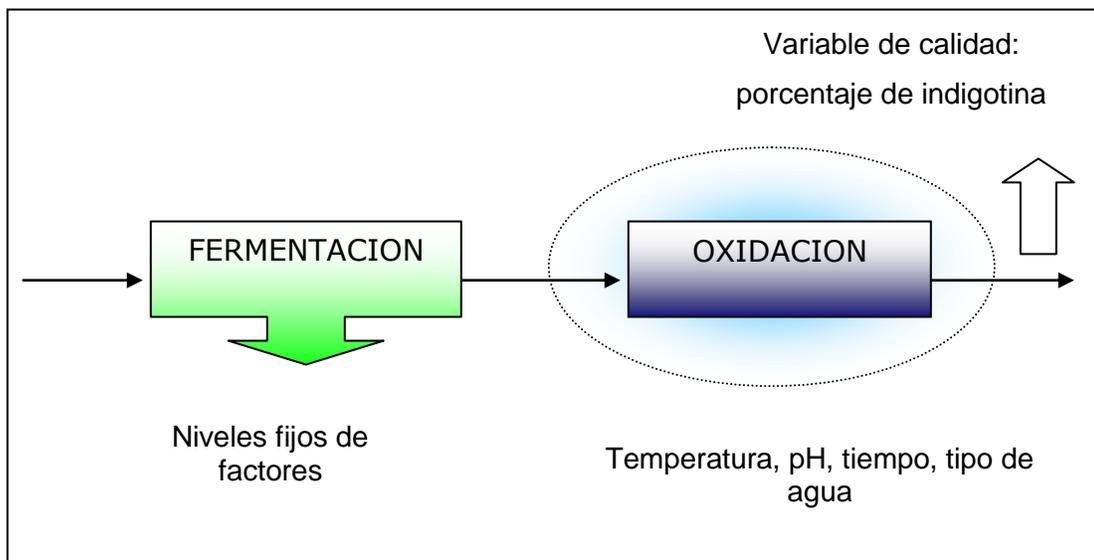


Figura 5.2 Caracterización fisicoquímica de la etapa de oxidación.

Como se indica en la figura 5.1, cuando se realiza la caracterización fisicoquímica de la etapa de fermentación, la etapa de oxigenación es operada a niveles fijos establecidos para cada uno de los factores, éstos niveles son:

- ✓ **Temperatura: Ambiente**
- ✓ **Tiempo: 45 minutos**
- ✓ **pH: natural contenido en el agua de proceso**

De igual forma, para caracterizar la etapa de oxigenación, la etapa de fermentación se opera a los siguientes niveles:

- ✓ **Temperatura: Ambiente**
- ✓ **tiempo: 18 hrs.**
- ✓ **pH: natural contenido en el agua de proceso**

Estos niveles de los factores son los utilizados en la fase de cribado de variables y han sido determinados en base a los utilizados actualmente en los obrajes artesanales de producción de añil. En el caso del tiempo para la etapa de oxigenación, los niveles se han fijado en base a los resultados obtenidos por Lima Sagastume, Orellana Claros y Morales Castillo (UES 2,002).

Los niveles fijos de los factores con los que se operan la etapa de fermentación y oxigenación en el desarrollo de la fase de optimización serán establecidos en base a los resultados obtenidos en la etapa de cribado de variables y se especifican en la sección 7.1

5.2.1 Control de factores

El procedimiento para mantener un nivel constante para cada uno de los factores se detalla a continuación:

- ✓ **Temperatura:** Este factor es controlado colocando la muestra en un baño de maría tratando de mantener constante el nivel de temperatura en el desarrollo del proceso.

- ✓ **pH:** Este factor es regulado con adición de una solución diluida de HCl al 5% v/v y una solución diluida de NaOH al 5% p/v, según sea el pH que se desea alcanzar.

- ✓ **Tiempo:** Ambas etapas se efectúan para diferentes niveles de tiempos establecidos.

5.3 Descripción de la variable respuesta

La variable seleccionada como respuesta para la caracterización tanto de la etapa de fermentación como la de oxigenación es el porcentaje de indigotina contenido en el índigo natural; la indigotina es el principio activo y componente principal del colorante. Otros componentes son el rojo de índigo (indirrubina), el pardo de índigo, cola de índigo, agua y cenizas que consisten principalmente en carbonato de calcio y de magnesio, alúmina y óxido de hierro.

Se selecciona el contenido de indigotina como la variable respuesta ya que de ella depende la buena calidad del índigo y el precio fijado en el mercado internacional.

La indigotina se produce a partir del indicán que es un componente existente en forma natural en la planta de añil ($C_{14}H_{17}O_6N + 2H_2O$), el indicán que es un glucósido de indoxilo se descompone en indoxil y glucosa por medio de un proceso de fermentación, el indoxil al reaccionar con el oxígeno es transformado en indigotina, el proceso se puede esquematizar según la figura 5.3:

5.4 Método analítico para la determinación del contenido de indigotina en el índigo natural

El índigo es tratado con ácido sulfúrico para transformarlo en indigocarmín, logrando de esta manera convertirlo de una forma no soluble a una forma soluble en agua.

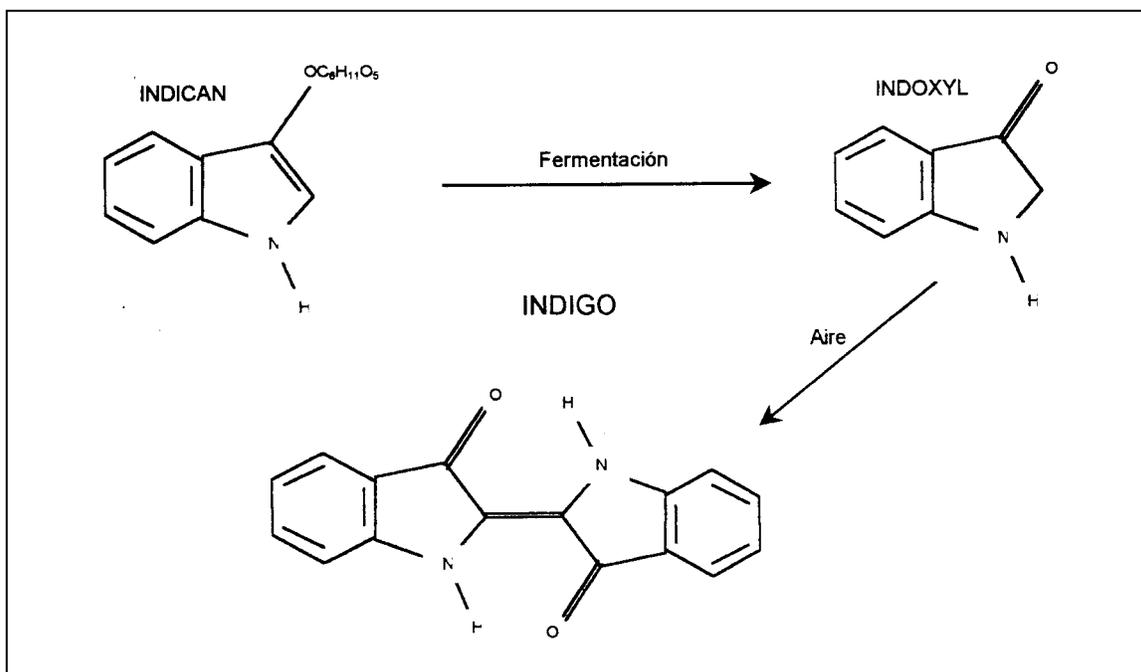


Figura 5.3 Proceso de transformación de indicán a índigo.

Por espectrofotometría se determina la absorbancia específica del indigocarmín soluble en agua para la muestra, valor que al ser comparado con el de un estándar permite determinar la concentración del principio activo del colorante (ver anexo A).

La reacción química ocurrida en este proceso se muestra en la figura 5.4.

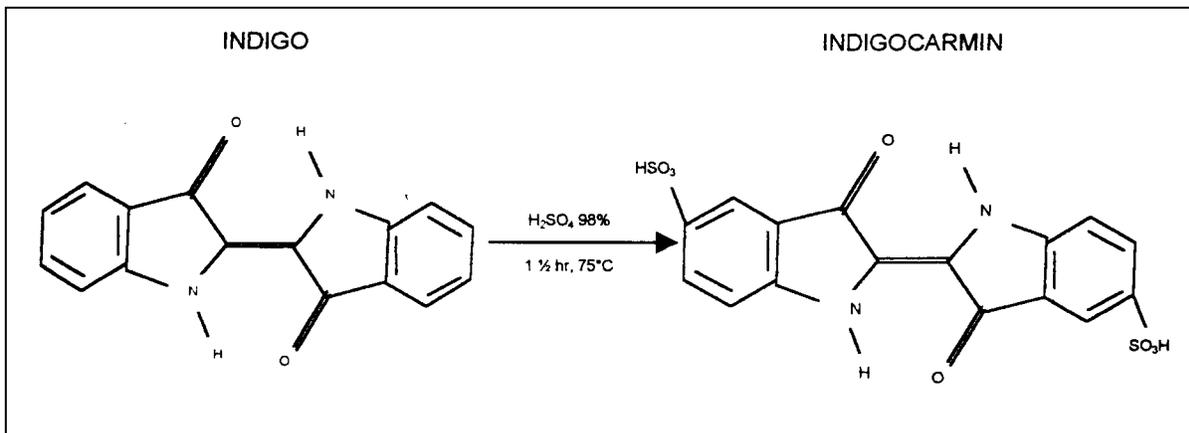


Figura 5.4 Proceso de transformación de índigo a indigocarmin.

La curva de calibración obtenida en esta investigación para el espectronic 20 (ver anexo B) para una longitud de onda de 600 nm es la siguiente:

$$\text{Concentración (ppm)} = 15.56608146 * \text{Abs} + 30.99713619$$

El coeficiente de regresión obtenido para esta tendencia es:

$$r = 0.999$$

Luego, las lecturas de Absorbancia obtenidas para cada muestra en estudio (ver figura 5.5) son sustituidas en esta ecuación de regresión para obtener la concentración de indigotina en la muestra en partes por millón. Posteriormente el porcentaje en peso de indigotina en el polvo de índigo se obtiene mediante la ecuación siguiente:

$$\% \text{Ind.} = \frac{\text{ppm} \times \text{vol} \times f.d. \times 100}{W_m \times 10^6}$$

en donde:

ppm = concentración de la muestra

vol. = volumen de la solución de reserva (250 mL)

f.d. = factor de dilución

W_m = peso de la muestra

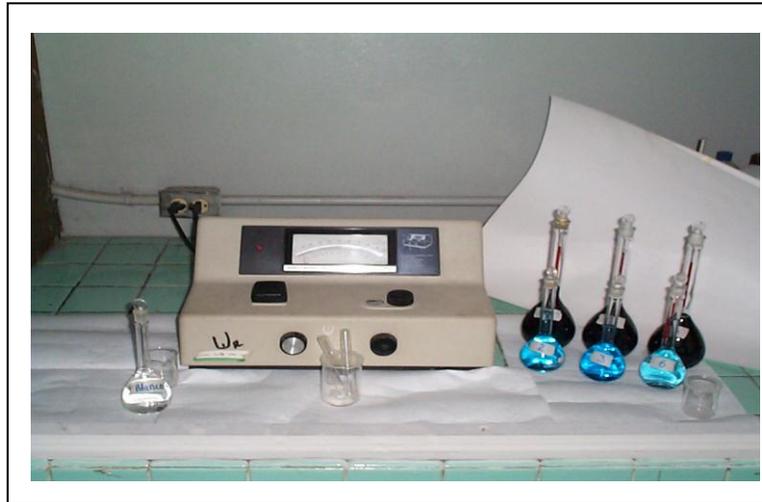


Figura 5.5 Determinación de absorbancia en muestras en Espectronic-20.

5.5 Descripción del método de extracción del colorante

El procedimiento experimental seguido para la extracción del colorante fue el siguiente:

- i. Para todas las pruebas, se utilizó la relación en peso hoja-agua de 1:20. En cada prueba experimental se pesó una cantidad de hoja (separada del tallo de la planta) de 50 g, y se midió un volumen de agua de 1 litro.
- ii. La hoja pesada, se somete a un prelavado y escurrido para remover el polvo presente en la superficie de la hoja.
- iii. Posteriormente, las cantidades especificadas de hoja y agua son mezcladas en un beaker de 2 litros para dar inicio a la etapa de fermentación en la que cada muestra es controlada a diferentes condiciones o niveles en los factores

estudiados (figura 5.6). El recipiente es cubierto de forma adecuada de modo que se evite en lo posible el contacto de la muestra con el oxígeno del aire.



Figura 5.6 Medición de pH.

- iv. Una vez transcurrido el tiempo de fermentación correspondiente a cada muestra, la hoja es separada del agua trasladando esta última a otro recipiente a través de un colador, realizando además un escurrido de la hoja.
- v. El agua obtenida es sometida al proceso de oxigenación. El oxígeno es suministrado por un compresor de aire con un flujo regulado de $20 \text{ cm}^3/\text{s}$, como se muestra en la figura 5.7. El proceso es realizado controlando el nivel de cada factor en estudio.



Figura 5.7 Proceso de oxigenación.

- vi. La muestra oxigenada se deja en reposo por un tiempo aproximado de una hora para alcanzar una estabilización; en este período ocurre una sedimentación del sólido formado en la etapa de oxigenación.
- vii. La muestra es centrifugada por un tiempo de 5 minutos a una velocidad de 2.5×10^3 RPM.
- viii. El sólido separado en forma de pasta es secado en una estufa a una temperatura de $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante un tiempo aproximado de 18 a 20 horas (figura 5.8).



Figura 5.8 Proceso de secado.

- ix. Una vez obtenido el polvo seco se procede a la medición del contenido de indigotina, proceso detallado en el anexo A.

6.0 ETAPA DE CRIBADO DE VARIABLES

Dado que los factores cuyo efecto quiere ser evaluado en el proceso son 3 y se cuenta con dos fuentes de material experimental en cuanto al tipo de agua, el análisis se llevará a cabo aplicando un modelo factorial 2^3 en dos bloques, adicionando además, cuatro puntos centrales tal como se presenta en la tabla 6.1.

El modelo factorial 2^3 significa que se analiza el efecto de tres factores (Temperatura, tiempo, pH), a dos niveles distintos (un máximo y un mínimo).

Tabla 6.1 Diseño experimental del modelo factorial 2^3 .

EXPERIMENTO	BLOQUE	FACTOR A	FACTOR B	FACTOR C
1	1	0	0	0
2	1	-1	1	1
3	1	-1	-1	-1
4	2	-1	1	-1
5	2	-1	-1	1
6	2	0	0	0
7	1	0	0	0
8	1	1	1	-1
9	1	1	-1	1
10	2	1	-1	-1
11	2	1	1	1
12	2	0	0	0

En donde:

- Factor A : Temperatura
- Factor B : pH
- Factor C : Tiempo
- Bloque 1 : Agua proveniente de nacimiento
- Bloque 2 : Agua proveniente de pozo

6.1 Condiciones de experimentación. Etapa de cribado de variables

Los niveles a analizar para cada uno de los factores dentro de la etapa de colado de variables para la etapa de fermentación y oxigenación, son los especificados en las tablas 6.2 y 6.3 respectivamente. El modelo factorial a aplicar con los respectivos niveles de los factores para cada etapa del proceso se resume en las tablas 6.4 y 6.5.

Tabla 6.2 Niveles de factores. Etapa de fermentación.

TEMPERATURA	Máximo	1	50 ° C
	Medio	0	35 ° C
	Mínimo	-1	Ambiente
pH	Máximo	1	9
	Medio	0	7
	Mínimo	-1	5
TIEMPO	Máximo	1	21 horas
	Medio	0	18 horas
	Mínimo	-1	15 horas

Tabla 6.3 Niveles de factores. Etapa de oxigenación.

TEMPERATURA	Máximo	1	50 ° C
	Medio	0	35 ° C
	Mínimo	-1	Ambiente
pH	Máximo	1	9
	Medio	0	7
	Mínimo	-1	5
TIEMPO	Máximo	1	45 minutos
	Medio	0	30 minutos
	Mínimo	-1	15 minutos

Tabla 6.4 Condiciones experimentales en la etapa de fermentación.

MUESTRA	TIPO DE AGUA	TEMPERATURA (°C)	pH	TIEMPO (horas)
1	Nacimiento	35	7	18
2	Nacimiento	Ambiente	9	21
3	Nacimiento	Ambiente	5	15
4	Pozo	Ambiente	9	15
5	Pozo	Ambiente	5	21
6	Pozo	35	7	18
7	Nacimiento	35	7	18
8	Nacimiento	50	9	15
9	Nacimiento	50	5	21
10	Pozo	50	5	15
11	Pozo	50	9	21
12	Pozo	35	7	18

Tabla 6.5 Condiciones experimentales en la etapa de oxigenación.

MUESTRA	TIPO DE AGUA	TEMPERATURA (°C)	pH	TIEMPO (min)
1	Nacimiento	35	7	30
2	Nacimiento	Ambiente	9	45
3	Nacimiento	Ambiente	5	15
4	Pozo	Ambiente	9	15
5	Pozo	Ambiente	5	45
6	Pozo	35	7	30
7	Nacimiento	35	7	30
8	Nacimiento	50	9	15
9	Nacimiento	50	5	45
10	Pozo	50	5	15
11	Pozo	50	9	45
12	Pozo	35	7	30

6.2 Resultados obtenidos. Etapa de fermentación.

Al realizar los experimentos según el diseño especificado en la tabla 6.4 se obtienen los resultados que se presentan en la tabla 6.6.

Tabla 6.6 Resultados en la etapa de fermentación.

MUESTRA		%T		PROM	%A	ppm	% indigotina
	1	2	3				
1	63.5	64.0	63.0	63.5	-1.8	1.9	23.6
2	74.0	74.5	74.5	74.3	-1.9	2.3	28.7
3	89.0	85.5	88.5	87.7	-1.9	1.6	20.2
4	60.0	60.0	59.5	59.8	-1.8	1.6	20.3

MUESTRA		%T		PROM	%A	ppm	% indigotina
5	85.5	86.5	87.0	86.3	-1.9	0.8	10.4
6	65.0	63.5	63.0	63.8	-1.8	1.6	19.6
7	63.8	63.0	63.8	63.5	-1.8	1.7	21.9
8	76.8	77.0	76.2	76.7	-1.9	2.2	27.8
9	74.5	72.5	73.5	73.5	-1.9	2.6	31.9
10	72.0	72.5	73.0	72.5	-1.9	1.7	21.3
11	71.2	71.5	72.2	71.6	-1.9	1.9	23.9
12	63.5	63.4	64.0	63.6	-1.8	1.7	21.9

6.2.1 Análisis de resultados. Etapa de fermentación

Para conocer cuáles de los factores evaluados son significativos sobre el proceso, se realiza un análisis estadístico cuyos resultados se presentan en la tabla 6. 7. Además los resultados obtenidos se han analizado por diferentes métodos para un nivel de significancia de 0.05, tal como se detalla en las figuras 6.1, 6.2, 6.3 y 6.4.

Tabla 6.7 Análisis de varianza. Etapa de fermentación.

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media de cuadrados	F	P
A: T	80.0112	1	80.0112	10.47	0.0318
B: pH	35.7012	1	35.7012	4.67	0.0968
C: tiempo	3.51125	1	3.51125	0.46	0.5351
AB	49.5013	1	49.5013	6.48	0.0637
AC	8.20125	1	8.20125	1.07	0.3588
BC	1.71125	1	1.71125	0.22	0.6608
Bloque	117.813	1	117.813	15.41	0.0172
Error puro	30.5792	4	7.64479		
Total (corr.)	327.03	11			

Del análisis de varianza se observa que el factor temperatura y el efecto de bloque son los más significativos para el desarrollo de la etapa de fermentación ($P < 0.05$).

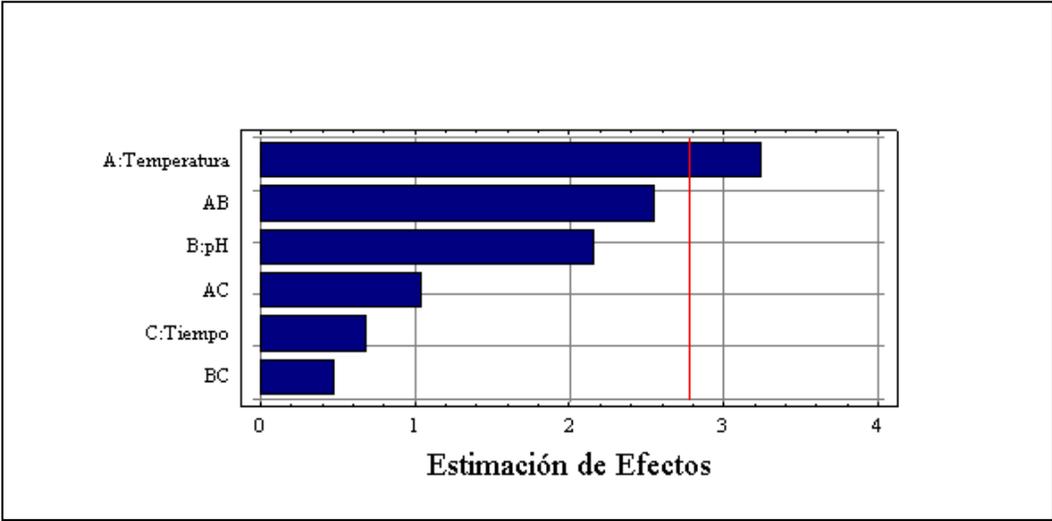


Figura 6.1 Diagrama de Pareto. Etapa de fermentación.

A partir de este diagrama puede observarse que la temperatura es el factor cuyo efecto es más significativo en la etapa de fermentación, ya que sobrepasa la línea de nivel de significancia.

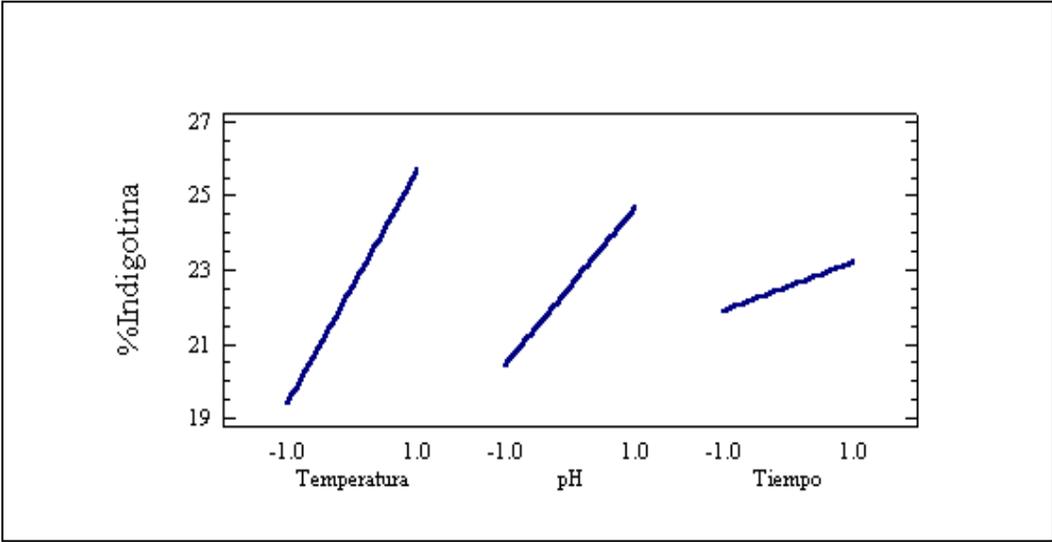


Figura 6.2 Grafico de efectos principales. Etapa de fermentación.

Del gráfico de efectos principales puede observarse lo siguiente para cada uno de los factores:

- ✓ **Temperatura:** Presenta una pendiente positiva de gran magnitud, por lo que es razonable afirmar que a medida que se aumentan los niveles de este factor se ve incrementado el contenido de indigotina en el polvo obtenido.
- ✓ **pH:** Exhibe también una pendiente positiva muy significativa, concluyéndose que los niveles altos de este factor permiten obtener mayores porcentajes de indigotina.
- ✓ **Tiempo:** Debido a que se aprecia una pendiente suave para este factor, se considera no significativo sobre el contenido de indigotina, en el intervalo de niveles estudiado ya que éste último no presenta una gran variación cuando se trabaja con el nivel alto o bajo de este factor.

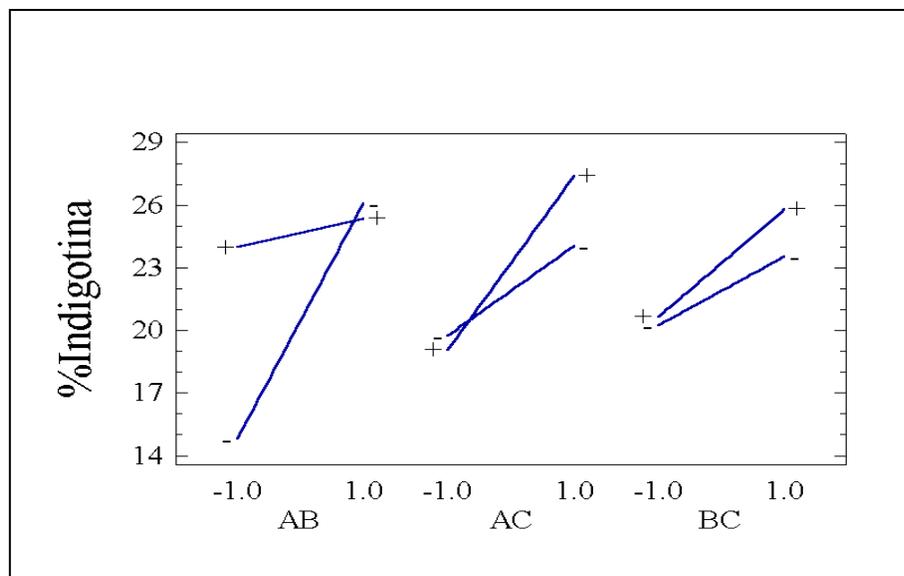


Figura 6.3 Gráfico de interacción de factores. Etapa de fermentación.

De éste gráfico se observa que los factores pH y temperatura interaccionan en sus niveles altos, alcanzando los mayores contenidos de indigotina en dichos niveles;

la interacción temperatura y tiempo se presenta en sus niveles bajos alcanzando los menores porcentajes de indigotina; el pH y el tiempo no interactúan.

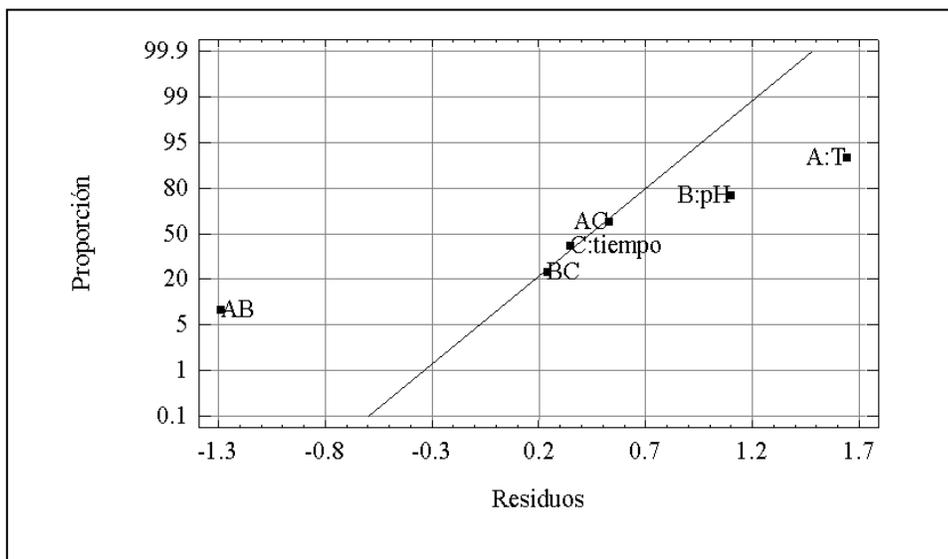


Figura 6.4 Gráfico de probabilidad normal. Etapa de fermentación.

Del gráfico de probabilidad normal puede concluirse que el efecto correspondiente a los factores temperatura e interacción temperatura y pH (AB) son los más significativos en el desarrollo de la etapa fermentativa puesto que estos puntos se encuentra considerablemente distanciados de la línea recta. El factor pH también se observa alejado de la misma, por lo que se considera a éste como el tercero en significancia.

6.2.2 Comportamiento del pH. Etapa de fermentación

Durante la realización del proceso, el factor pH es monitoreado y regulado hasta el valor deseado para cada muestra. En la tabla 6.8 se muestra la variación natural del pH durante el tiempo de duración de cada experimento.

Tabla 6.8 Control de pH. Etapa de fermentación.

MUESTRA	tiempo (Horas) ³																
	0	2	4	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	18	20	21
1	7.02	7.32	7.19		6.97				6.15		6.29		6.65				
2	8.99	8.9	8.83	8.77		8.82		8.99		8.86				8.89	8.93	8.56	
3	5	6.42	5.17	5.48				5.79		4.99		4.57					
4	9	8.65	8.84	8.92				8.17		8.92		8.74					
5	5.01	6.25	6.18	6		5.43		5.09		5.19				5.17	4.92	4.51	
6	7.02	7.01	7.13		6.99				6.36		6.24		6.49				
7	6.99	7.66	6.96	6.93			6.96										
8	9.01	8.07	8.56	8.6				8.64		8.88							
9	4.98	6.19		5.82		5.21		5.33		5.03					3.87		
10	5	5.66		5.54		5.32				5.33							
11	9	7.9		8.34		8.76				8.85				9		7.08	
12	7	7.27	7.08		6.99												

75

³ El color representa la duración del experimento.

Las figuras 6.5, 6.6, 6.7 y 6.8 presentan gráficamente este comportamiento a través del tiempo y hacen notar la importancia del monitoreo y ajuste del pH hacia un valor deseado a lo largo del desarrollo del proceso de extracción del colorante.

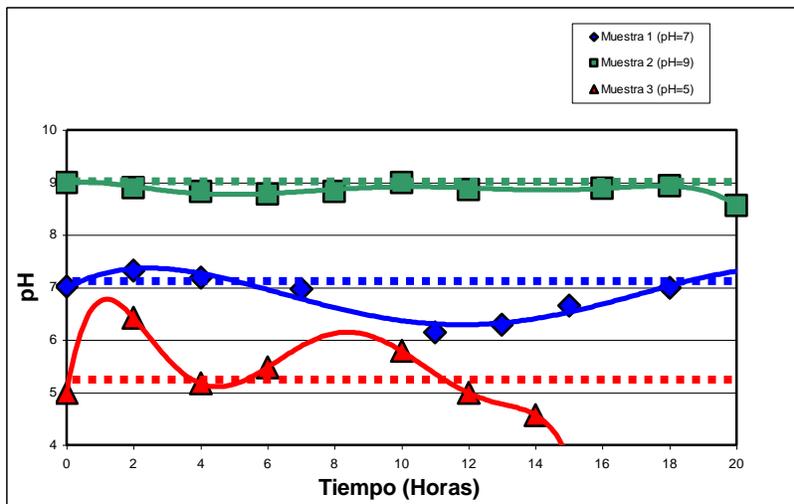


Figura 6.5 Comportamiento de pH. Muestras 1,2,3.

De la figura 6.5 se observa que para la muestra 2 (pH = 9) existe una buena estabilidad del pH; la muestra 1 (pH = 7) presenta inicialmente una tendencia hacia un pH alcalino, sin embargo, posteriormente la tendencia cambia hacia una disminución de pH ; en la muestra 3 (pH = 5) inicialmente se observa una fuerte tendencia a incrementar el pH la cual disminuye a medida transcurre el experimento.

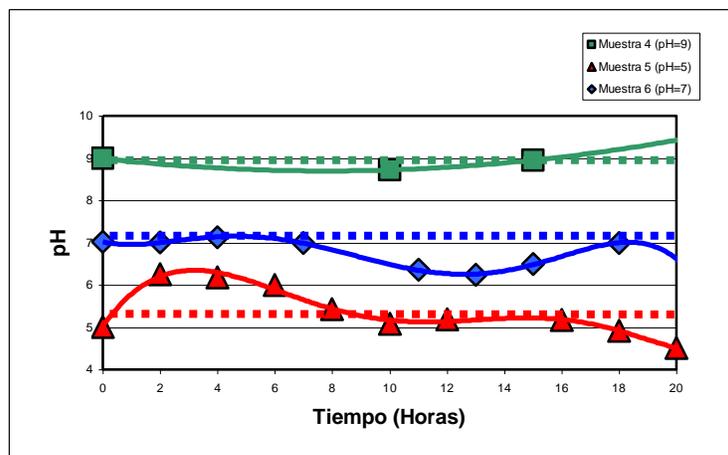


Figura 6.6 Comportamiento de pH. Muestras 4,5,6.

La figura 6.6 también demuestra que para la muestra 5 (pH = 5) se presenta una notable tendencia a incrementar el pH al inicio del experimento la cual posteriormente disminuye; las muestra 4 y 6 correspondientes a los pH 9 y 7 respectivamente presentan igual comportamiento que las muestra ya analizadas con igual valor de pH.

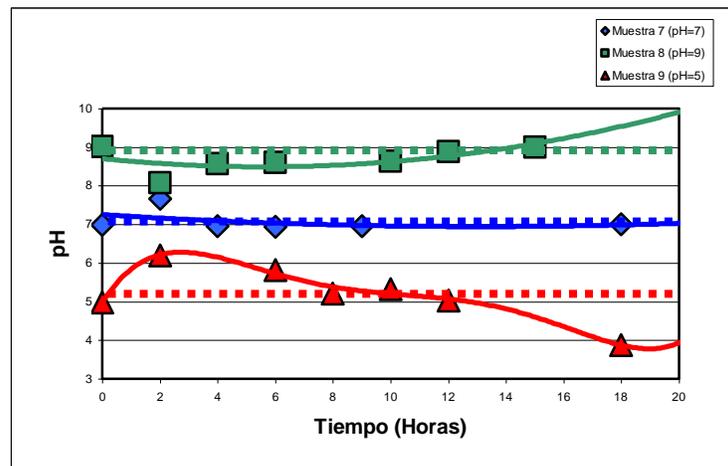


Figura 6.7 Comportamiento de pH. Muestras 7,8,9.

De la figura 6.7 se observa que las muestras 7 y 8 con pH 7 y 9 respectivamente tienden a un pH en común formándose un cuello al inicio del experimento; la muestra con pH de 5 (muestra 9) al igual que en los gráficos anteriores comienza con una tendencia a incrementar el pH para posteriormente y en forma gradual tender a la acidez.

De la figura 6.8 se observa que en forma general las tres muestras tienden a alcanzar un valor de pH neutro al inicio y al final del experimento.

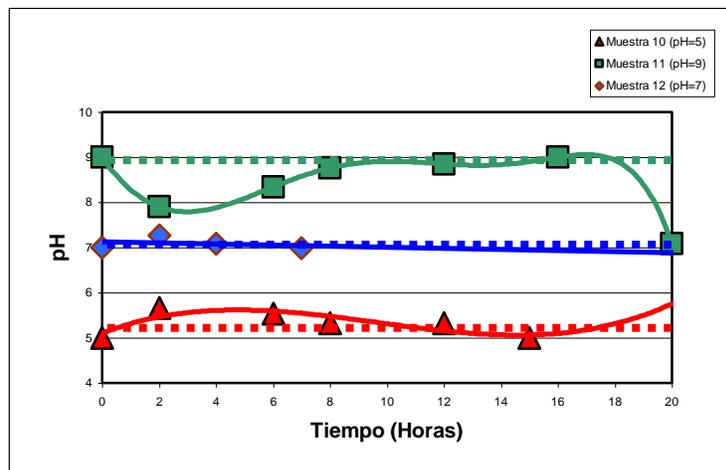


Figura 6.8 Comportamiento de pH. Muestras 10,11,12.

6.3 Resultados obtenidos. Etapa de oxigenación

Al realizar los experimentos según el diseño especificado en la tabla 6.5 se obtienen los resultados que se presentan en la tabla 6.9.

Tabla 6.9 Resultados en la etapa de oxigenación.

MUESTRA		%T		PROM	%A	ppm	% indigotina
	1	2	3				
1	73.8	74.5	74.0	74.1	-1.9	2.9	36.7
2	69.5	70.0	70.0	69.8	-1.8	1.9	23.4
3	77.3	77.8	76.5	77.2	-1.9	0.8	9.4
4	76.8	77.8	76.8	77.1	-1.9	3.3	41.7
5	87.0	87.0	86.0	86.7	-1.9	0.9	10.7
6	78.3	77.5	77.3	77.7	-1.9	2.9	36.2
7	75.0	76.0	76.0	75.7	-1.9	2.9	36.7
8	70.0	71.5	70.0	70.5	-1.8	1.7	20.8
9	67.5	67.5	66.5	67.2	-1.8	1.9	24.3
10	77.0	75.0	76.5	76.2	-1.9	2.0	25.5
11	73.5	74.0	74.0	73.8	-1.9	2.1	26.5
12	75.5	75.5	76.0	75.7	-1.9	2.9	36.5

6.3.1 Análisis de resultados. Etapa de oxigenación

Los resultados del análisis estadístico realizado para la etapa de oxigenación se presentan en la tabla 6.10.

Tabla 6.10 Análisis de varianza. Etapa de oxigenación.

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media de cuadrados	F	P
A: T	17.7012	1	17.7012	0.13	0.7346
B: pH	225.781	1	225.781	1.69	0.264
C: tiempo	19.5313	1	19.5313	0.15	0.722
AB	282.031	1	282.031	2.11	0.224
AC	57.7813	1	57.7813	0.43	0.5472
BC	20.1612	1	20.1612	0.15	0.7178
Bloque	55.47	1	55.47	0.41	0.5549
Error puro	535.729	4	133.932		
Total	1214.19	11			

Los diferentes métodos de análisis de resultados para un nivel de significancia de 0.05 se presentan en las figuras 6.9, 6.10, 6.11 y 6.12.

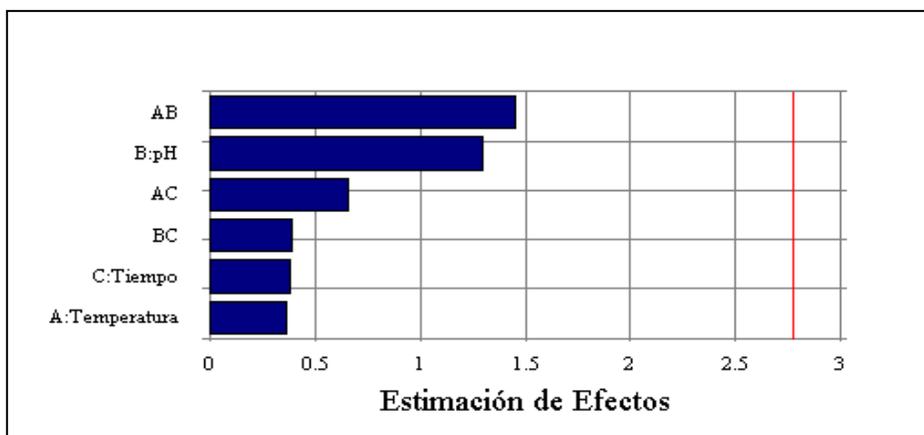


Figura 6.9 Diagrama de Pareto. Etapa de oxigenación.

De la tabla 6.10 y figura 6.9 puede observarse claramente que ningún factor es significativo para el desarrollo de la etapa de oxigenación.

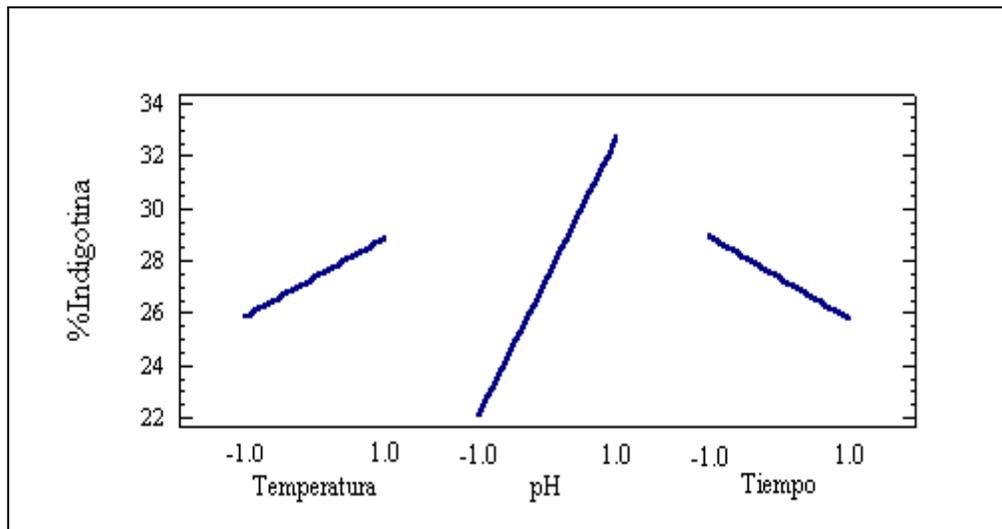


Figura 6.10 Gráfico de efectos principales. Etapa de oxigenación.

De la figura 6.10 se aprecia que el pH afecta grandemente al contenido de indigotina debido a que ésta varía de forma significativa al aumentar el nivel de pH, no así, la temperatura y el tiempo que presentan pendientes moderadas. Para el factor tiempo el contenido de indigotina disminuye para el nivel alto de este factor.

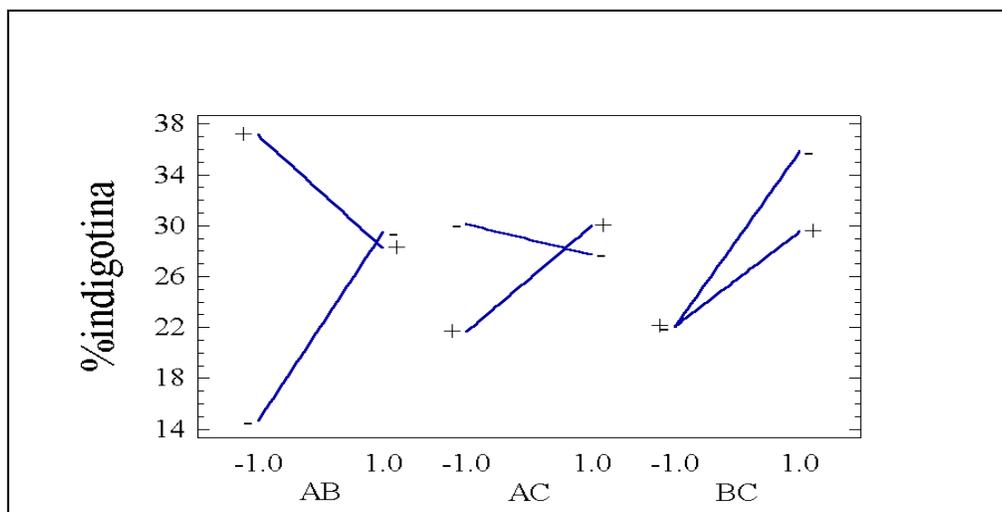


Figura 6.11 Gráfico de interacción de factores. Etapa de oxigenación.

De la figura 6.11 se observa que la temperatura y el pH interaccionan solamente en sus niveles altos; la temperatura y el tiempo interaccionan dentro del rango analizado; el pH y el tiempo interaccionan en sus niveles bajos.

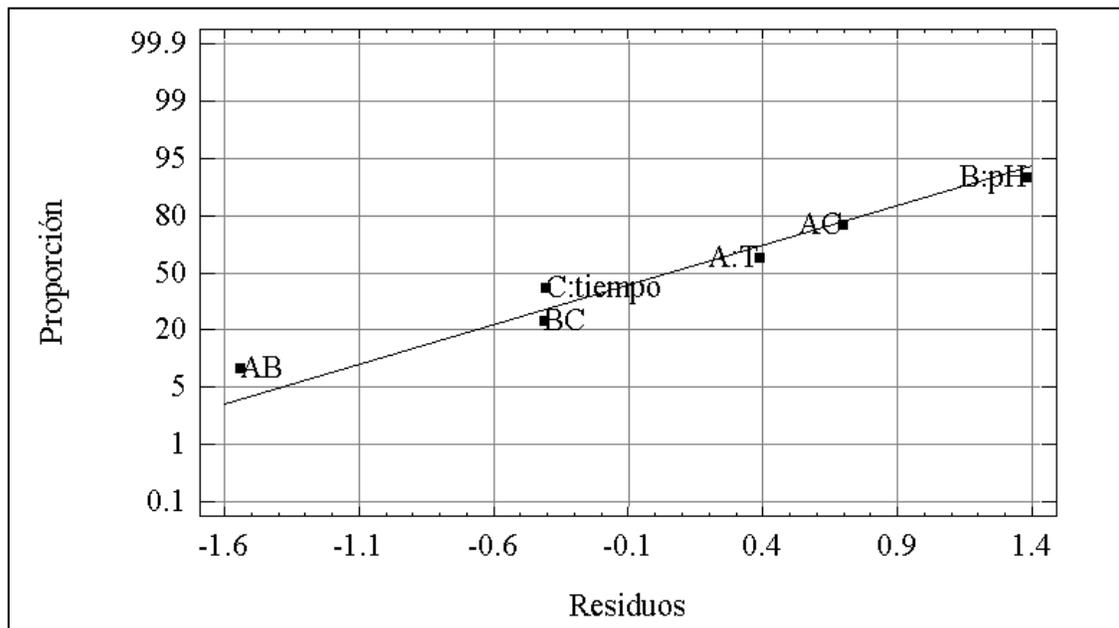


Figura 6.12 Gráfico de probabilidad normal. Etapa de oxigenación.

En la figura 6.12 se muestra que ningún factor es significativo, dado que ninguno se encuentra considerablemente alejado de la recta.

6.3.2 Comportamiento de pH. Etapa de oxigenación

En la tabla 6.11 se muestra la variación natural del pH durante el tiempo de duración de cada experimento. Para cada una de estas lecturas, el pH es regulado hasta alcanzar el valor deseado para cada muestra.

Tabla 6.11 Control de pH. Etapa de oxigenación.

MUESTRA	tiempo(min) ⁴									
	0	5	10	15	20	25	30	35	40	45
1	7.01		7.52		7.33					
2	9.02		9.11				9.1		9.12	
3	5.01	5.12		4.93						
4	8.99		8.72	8.95						
5	4.98		5.26			5.14		4.94		
6	7	7.13			7.31					
7	7.01		7.61	7.54						
8	9	9.19								
9	5.02				5.4			5.19		
10	4.99		5.33							
11	8.98		9.03		9.05			9.11		
12	7			7.25	7.62					

Las figuras 6.13, 6.14, 6.15, 6.16 presentan gráficamente este comportamiento a través del tiempo.

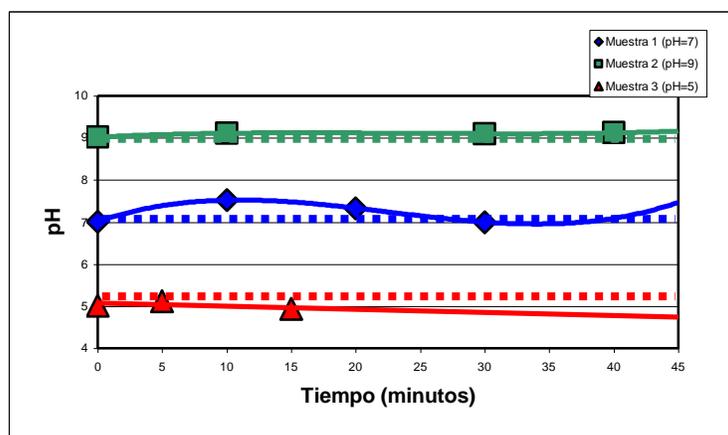


Figura 6.13 Comportamiento de pH. Muestras 1,2,3.

² El color representa la duración de cada muestra

En la figura 6.13 se observa que las muestras 2 y 3 con pH de 9 y 5 respectivamente presentan cierta estabilidad en mantener el pH en su valor inicial; en la muestra 1 (pH = 7) hay una pequeña tendencia hacia un pH alcalino.

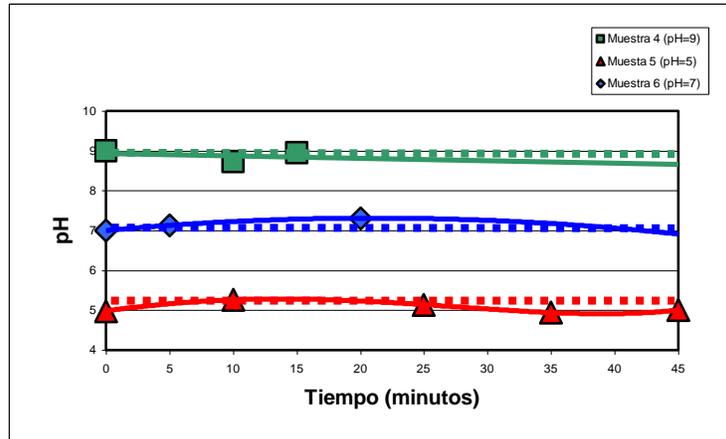


Figura 6.14 Comportamiento de pH. Muestras 4,5,6.

De la figura 6.14 puede notarse que la muestra 4 (pH = 9) presenta una ligera tendencia hacia un pH ácido al inicio, estabilizándose posteriormente hacia un pH de 9; Las muestras 5 y 6 con pH 5 y 7 respectivamente tienden a incrementar el pH en sus inicios.

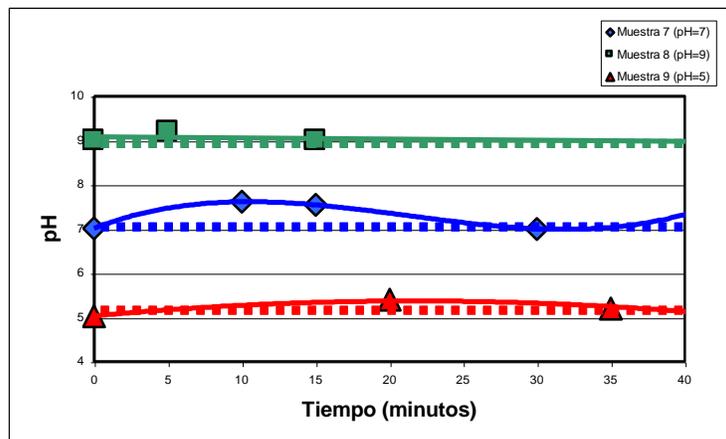


Figura 6.15 Comportamiento de pH. Muestras 7,8,9.

La figura 6.15 demuestra que los experimentos con un pH de 7 y 5 presentan tendencia a incrementar el pH mientras que la muestra 8 (pH = 9) exhibe un comportamiento estable en el pH deseado.

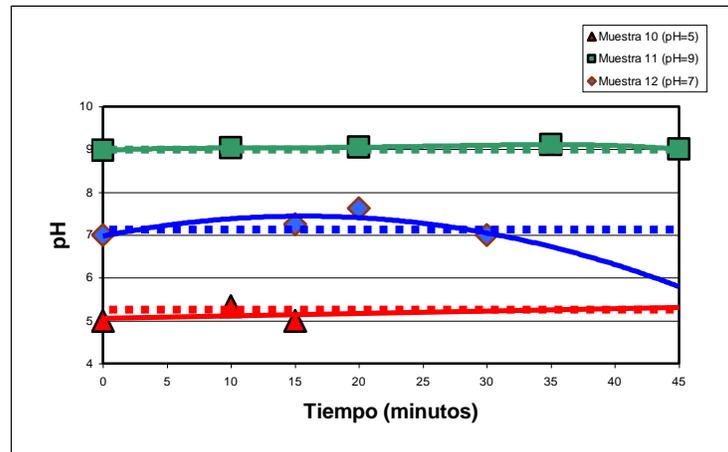


Figura 6.16 Comportamiento de pH. Muestras 10,11,12.

En la figura 6.16 se exhibe un comportamiento estable para las muestras 10 (pH = 5) y 11 (pH = 9) durante todo el experimento en el pH deseado; la muestra 12 (pH = 7) presenta cierta tendencia a incrementar el pH al inicio y a disminuir su valor al final del experimento.

Debido a que los niveles de tiempo son mucho menores que los manejados en la etapa de fermentación, las mediciones demuestran una mayor estabilidad para el factor pH.

7.0 ETAPA DE OPTIMIZACIÓN

7.1 Niveles fijos de factores utilizados en la etapa de optimización

Los niveles fijos de los factores utilizados para cada una de las etapas cuando no se está realizando la caracterización de la misma, según se esquematiza en las figuras 5.1 y 5.2, son los siguientes:

Niveles fijos de factores. Etapa de Fermentación:

- ✓ **Temperatura: Ambiente**
- ✓ **Tiempo: 18 hrs.**
- ✓ **pH: natural contenido en el agua de proceso**

Niveles fijos de factores. Etapa de Oxigenación:

- ✓ **Temperatura: Ambiente**
- ✓ **Tiempo: 15 minutos**
- ✓ **pH: natural contenido en el agua de proceso**

7.2 Optimización de la etapa de oxigenación

Con base en lo concluido en la etapa de Cribado de Variables, se fijaron los niveles de los factores temperatura y tiempo en valores convenientes que representen ahorros de energía y tiempo en un proceso. Estos niveles son los siguientes:

- ✓ **Temperatura: Ambiente**
- ✓ **Tiempo: 15 minutos**

El efecto del factor pH se estudiará en un rango más amplio con intervalos pequeños entre los niveles y por separado para cada tipo de agua. Los nuevos niveles serán:

✓ **pH: desde 4 hasta 11 con variación de 0.25**

Los resultados obtenidos para los experimentos realizados a las condiciones antes mencionadas para esta etapa son los presentados en la tabla 7.1.

Tabla 7.1 Resultados obtenidos en la etapa de oxigenación.

pH	% indigotina	
	AGUA DE POZO	AGUA DE NACIMIENTO
4.00	13.5	13.2
4.25	10.7	19.3
4.50	7.8	23.8
4.75	20.2	21.3
5.00	13.2	12.5
5.25	12.4	14.9
5.50	19.9	27.3
5.75	22.4	23.9
6.00	24.1	27.3
6.25	20.6	27.1
6.50	23	30.3
6.75	33.9	33.2
7.00	28.7	30.9
7.25	30.1	27.5
7.50	35.8	30.9
7.75	31.7	34.1

pH	% indigotina	
	AGUA DE POZO	AGUA DE NACIMIENTO
8.00	26.5	25.3
8.25	20.0	22.8
8.50	24.7	22.6
8.75	22.1	29.3
9.00	13.5	15.6
9.25	24.9	14.2
9.50	22.6	26.3
9.75	15.3	22.1
10.00	10.7	19.5
10.25	9.9	11.5
10.50	12.2	11.4
10.75	8.5	6
11.00	9.4	11.2

7.2.1 Análisis de resultados. Etapa de oxigenación

Los resultados se analizan mediante las figuras 7.1 y 7.2 elaboradas mediante una regresión polinómica para cada tipo de agua utilizada en el experimento.

a) Experimento con agua proveniente de pozo.

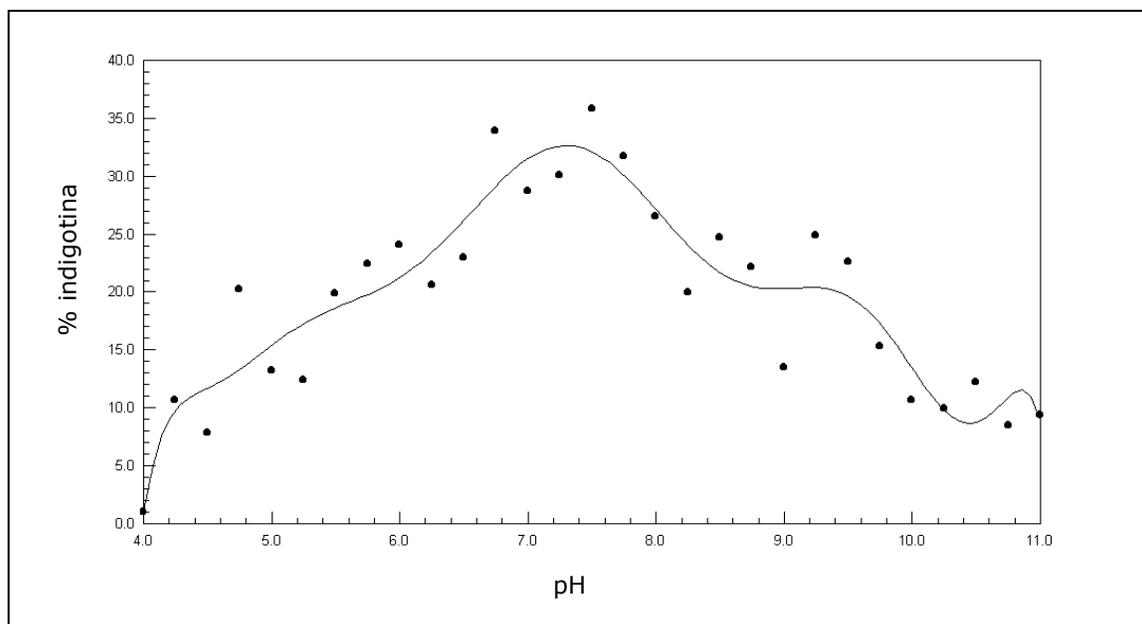


Figura 7.1 Resultados obtenidos. Agua de pozo.

La ecuación de regresión obtenida es la siguiente:

$$\% \text{ indigotina} = - 0.0030546\text{pH}^{10} + 0.22661297\text{pH}^9 - 7.4687316\text{pH}^8 + 143.956384\text{pH}^7 - 1796.4715\text{pH}^6 + 15163.3079\text{pH}^5 - 87657.914\text{pH}^4 + 342692.898\text{pH}^3 - 867144.43\text{pH}^2 + 1282648.67\text{pH} - 842394.82$$

El coeficiente de regresión calculado para esta ecuación es:

$$r = 0.923467$$

Del gráfico se observa que el nivel de pH para la etapa de oxigenación con el que se obtiene un valor máximo para el porcentaje de indigotina cuando se trabaja con agua proveniente de pozo es:

✓ **$\text{pH} = 7.25$**

El valor de porcentaje de indigotina predicho para este punto según la ecuación de regresión obtenida es:

✓ % *indigotina* = 32.62

b) Experimento con agua proveniente de nacimiento.

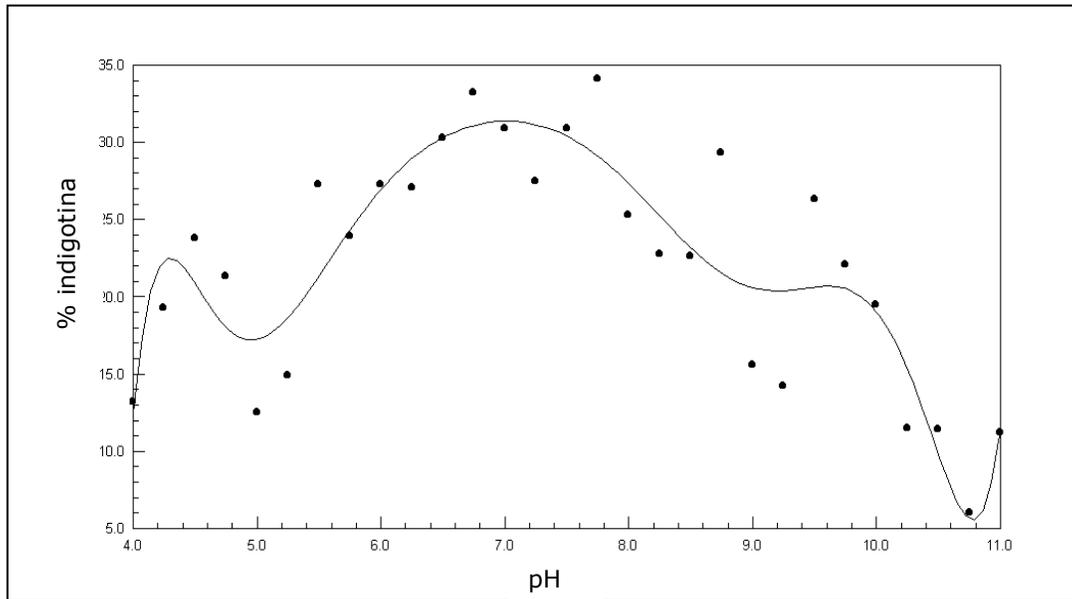


Figura 7.2 Resultados obtenidos. Agua de nacimiento.

La ecuación de regresión obtenida es la siguiente:

$$\begin{aligned} \% \text{ indigotina} = & - 0.0003419\text{pH}^{10} + 0.03068607\text{pH}^9 - 1.1943778\text{pH}^8 + \\ & 26.7270079\text{pH}^7 - 82.40661\text{pH}^6 + 3665.90188\text{pH}^5 - 23892.241\text{pH}^4 + 104670.983\text{pH}^3 \\ & - 295239.29\text{pH}^2 + 484389.297\text{pH} - 351097.52 \end{aligned}$$

El coeficiente de regresión calculado para esta ecuación es:

$$r = 0.891546$$

El punto máximo obtenido del gráfico corresponde a las coordenadas:

✓ $\text{pH} = 7.0$

✓ % *indigotina* = 31.36

De las figuras 7.1 y 7.2 se observa un comportamiento similar de los datos cuando se trabaja con ambos tipos de agua. Por tanto, puede concluirse que para la etapa de oxigenación, las condiciones óptimas de operación son:

- ✓ **Temperatura: Ambiente**
- ✓ **pH: 7.0-7.25**
- ✓ **Tiempo: 15 minutos**

7.2.2 Comportamiento de pH y pesos obtenidos de colorante. Etapa de oxigenación

En la tabla 7.2 se muestra la variación natural del pH durante el proceso de oxigenación en todos los experimentos realizados. Para cada una de estas lecturas, el pH es regulado hasta alcanzar el valor deseado para cada muestra.

En las figuras 7.3, 7.4, 7.5 y 7.6 se muestra este comportamiento a través del tiempo únicamente para las muestras cuyo valor de pH corresponde a un número entero para ambos tipos de agua.

Tabla 7.2 Control de pH. Etapa de oxigenación. Fase de optimización.

	AGUA DE NACIMIENTO						AGUA DE POZO					
	Inicio	5	7	10	13	15	Inicio	5	7	10	13	15
4	4		3.99		4.02		4.01		4.02		3.98	
4.25	4.23		4.24		4.23		4.24		4.24		4.26	
4.5	4.48		4.53		4.53		4.48		4.53		4.55	
4.75	4.77		4.81		4.77		4.74		4.77		4.76	
5	4.99		5.06		5.02		5.02		5.11		5.04	
5.25	5.24		5.42		5.27		5.26		5.42		5.31	
5.5	5.52		5.83		5.64		5.48		5.74		5.61	
5.75	5.76		6.08		5.98		5.76		6.08		5.96	
6	6.02		6.43		6.25		6.03		6.43		6.25	
6.25	6.23		6.69		6.58		6.27		6.79		6.57	
6.5	6.5		6.95		6.96		6.51		6.79		6.86	
6.75	6.75		7.31		7.12		6.76		7.03		7.08	
7	7		7.52		7.34		7.03		7.45		7.4	
7.25	7.28		7.65		7.47		7.26		7.57		7.64	
7.5	7.5	7.7		7.6		7.67	7.49	7.69		7.68		7.64
7.75	7.75	7.69		7.68		7.64	7.75	7.86		7.81		7.85
8	8.02		8.06		8.01		8.01		8		8.09	
8.25	8.24		8.25		8.26		8.24		8.24		8.25	
8.5	8.49		8.42		8.53		8.5		8.49		8.52	
8.75	8.74	8.68	8.73		8.71		8.76	8.73	8.72		8.75	
9	9	8.78	8.93		8.96		9.02	8.87	8.89		8.93	
9.25	9.26	9.13	9.21		9.26		9.25		9.35		9.27	
9.5	9.53		9.5		9.49		9.5		9.53		9.4	
9.75	9.74		9.64		9.68		9.74		9.62		9.96	
10	10		9.98		9.93		9.99		9.87		9.97	
10.25	10.26	10.21	10.26		10.19		10.23	10.19	10.27		10.25	
10.50	10.48	10.41	10.50		10.45		10.50	10.39			10.5	
10.75	10.75	10.50	10.75		10.60		10.77	10.68	10.60		10.74	
11.00	10.98	11.00	11.05		10.92		10.98	10.99	11.02		11.01	

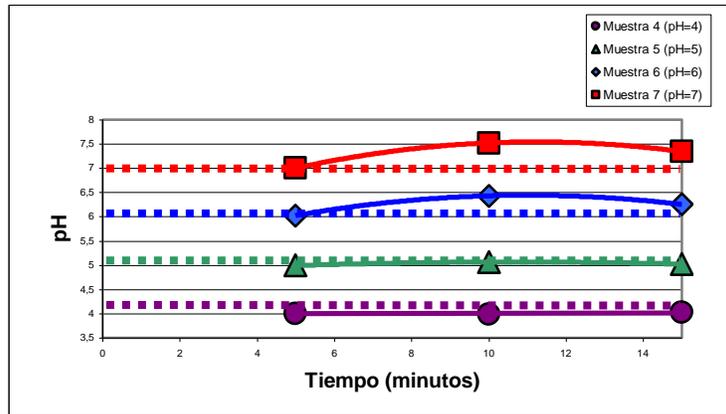


Figura 7.3 Comportamiento de pH. Muestras (4-7), agua de nacimiento.

De la figura 7.3 puede apreciarse que todas las muestras presentan una tendencia a incrementar su valor de pH.

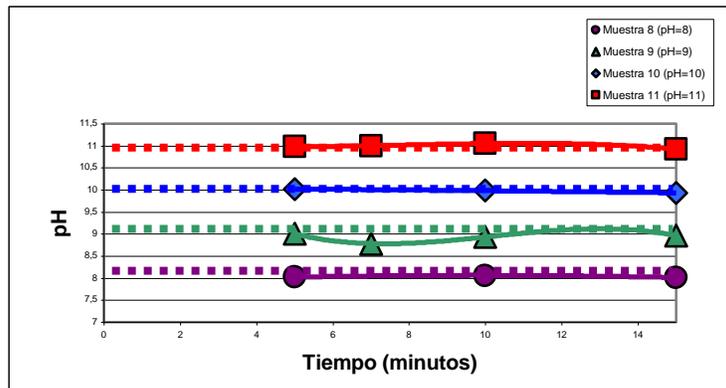


Figura 7.4 Comportamiento de pH. Muestras (8-11), agua de nacimiento.

De la figura 7.4 se observa que las muestras con valor de pH alto presentan poca variación del mismo a través del tiempo.

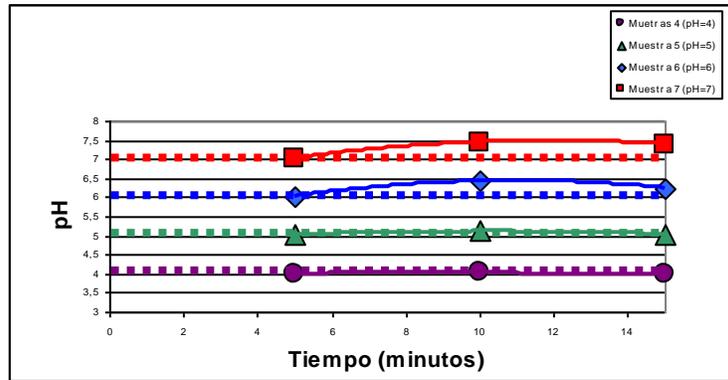


Figura 7.5 Comportamiento de pH. Muestras (4-7), agua de pozo.

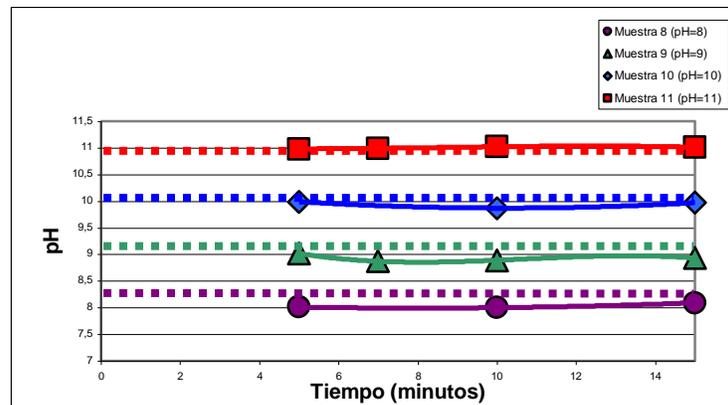


Figura 7.6 Comportamiento de pH. Muestras (8-11), agua de pozo.

De las figuras 7.5 y 7.6 se observa que existe un comportamiento similar para las muestras que tienen igual valor de pH pero distinto tipo de agua.

Aunque la variable de calidad es desde un principio el contenido de indigotina interesa además conocer la cantidad de colorante que puede obtenerse para las distintas condiciones operativas experimentadas, estas cantidades se presentan en la tabla 7.3.

**Tabla 7.3 Pesos obtenidos en la etapa de oxigenación.
Fase de optimización.**

pH	AGUA DE NACIMIENTO			AGUA DE POZO		
	Tara (g)	T + M (g)	Muestra (g)	Tara (g)	T + M (g)	Muestra (g)
4	77.339	77.589	0.25	78.383	78.681	0.298
4.25	46.6	46.87	0.27	47.264	47.413	0.149
4.5	38.52	39.115	0.595	43.67	43.943	0.273
4.75	64.71	64.87	0.16	44.89	45.106	0.216
5	76.83	77	0.17	60.341	60.49	0.149
5.25	50.66	50.79	0.13	40.742	40.86	0.118
5.5	77.339	77.48	0.141	78.183	78.48	0.297
5.75	38.852	38.977	0.125	75.67	75.79	0.12
6	50.66	50.77	0.11	46.6	46.71	0.11
6.25	44.89	45.01	0.12	76.83	76.96	0.13
6.5	60.341	60.5	0.159	64.71	64.83	0.12
6.75	43.67	43.86	0.19	40.742	40.88	0.138
7	75.67	75.973	0.303	44.89	45.35	0.46
7.25	50.66	51.043	0.383	76.83	77.184	0.354
7.5	40.742	41.01	0.268	38.858	39.072	0.214
7.75	64.71	65.15	0.44	60.341	60.77	0.429
8	40.742	41.221	0.479	43.67	44.134	0.464
8.25	50.66	51.175	0.515	76.83	77.397	0.567
8.5	60.341	60.81	0.469	75.67	76.072	0.402
8.75	38.852	39.455	0.603	64.71	65.59	0.88
9	46.6	47.75	1.15	60.341	61.41	1.069
9.25	44.89	46.15	1.26	40.742	41.223	0.481
9.5	76.83	77.385	0.555	50.66	51.151	0.491
9.75	75.67	76.294	0.624	38.852	39.434	0.582
10	64.71	65.357	0.647	60.341	60.817	0.476
10.25	46.6	47.29	0.69	43.67	44.5	0.83
10.5	75.67	76.64	0.97	64.71	65.53	0.82
10.75	50.66	51.67	1.01	38.852	39.926	1.074
11	60.341	61.31	0.969	76.83	77.88	1.05

7.3 Optimización de la etapa de fermentación

Con el objeto de conocer los niveles de los factores que optimizan la etapa de fermentación, se desarrollará un análisis de superficie de respuesta, considerando para el análisis a todos los factores con los que se inició la etapa de cribado de variables, ya que ninguno de ellos presentó un efecto despreciable sobre el proceso. El análisis de superficie de respuesta se divide en dos etapas:

- a) Ajuste de un modelo de primer orden
- b) Ajuste de un modelo de segundo orden

7.3.1 Desarrollo de la etapa de primer orden

En base a lo concluido en la fase de Cribado de Variables, se decidió aplicar un nuevo diseño factorial 2^3 (tres factores y dos niveles) dividido en bloques con adición de 4 puntos centrales utilizando nuevos niveles para cada uno de los factores que permitan aproximarse a la región del punto óptimo.

Para los factores: temperatura y pH, se optó por reducir el intervalo entre un nivel y otro con el objeto de precisar la región de estudio.

Dado que el factor tiempo resultó ser no significativo dentro del rango estudiado en la fase de Cribado de Variables, se decidió utilizar niveles bajos para este factor ya que es conveniente minimizarlo en el desarrollo de un proceso.

Los nuevos niveles utilizados para cada factor son los siguientes:

- ✓ **Temperatura: 40, 45, 50°C**
- ✓ **pH: 7, 7.5, 8**
- ✓ **Tiempo: 12, 15, 18 hrs**

Los resultados obtenidos se presentan en la tabla 7.4.

Tabla 7.4 Resultados obtenidos en la etapa de fermentación.

MUESTRA	ppm	% indigotina
1	2.3	29.1
2	3.1	38.9
3	2.7	34.3
4	2.7	34.1
5	2.4	30.5
6	2.2	27.1
7	2.7	34.3
8	2.7	34.3
9	3.2	40.1
10	3.1	38.9
11	3.9	48.3
12	2.9	36.2

7.3.1.1 Análisis de resultados para la etapa de primer orden

En la tabla 7.5 se presenta el análisis de varianza para los resultados obtenidos en la aplicación del modelo de primer orden para la etapa de fermentación.

Tabla 7.5 Análisis de varianza. Etapa de fermentación

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media de cuadrados	Fo	P
A: T	70.805	1	70.805	37.22	0.0258
B: Ph	17.405	1	17.405	9.15	0.941

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media de cuadrados	Fo	P
C: tiempo	32.805	1	32.805	17.24	0.534
Bloque	28.5208	1	28.5208	14.99	0.0607
Curvatura	198.068	5	39.6137	20.82	0.0465
Error puro	3.805	2	1.9025		
Total	351.409	11			

Del análisis de varianza se observa que el modelo de segundo orden es significativo ($P < 0.05$), lo cual indica que ya nos encontramos en una región próxima a la del óptimo. Además, se observa que el efecto de bloque no es significativo, ya que el estadístico P es mayor que 0.05.

7.3.1.2 Método de máxima pendiente en ascenso

En base al modelo experimental anteriormente utilizado para la etapa de fermentación y de las respuestas colectadas, se obtuvo la siguiente ecuación de primer orden:

$$\% \text{ indigotina} = 35.5083 + 2.975 \text{Temperatura} + 1.475 \text{pH} + 2.025 \text{tiempo}$$

Posteriormente se realizó la ruta de ascenso tomando como pivote el factor temperatura con el objeto de obtener los niveles del punto central en el modelo de Box-Behnken. La tabla 7.6 presenta las respuestas predichas para diferentes niveles en los factores

Tabla 7.6 Ruta de ascenso.

Temperatura	pH	tiempo	Temperatura	pH	tiempo	% indigotina
Variable Codificada			Variable Decodificada			
0	0	0	45.00	7.50	15.00	35.51
1	0.495798	0.680672	50.00	7.75	17.04	40.59
2	0.991597	1.36134	55.00	8.00	19.08	45.68
3	1.48739	2.04202	60.00	8.24	21.13	50.76
4	1.98319	2.72269	65.00	8.49	23.17	55.85
5	2.47899	3.40336	70.00	8.74	25.21	60.93
6	2.97479	4.08403	75.00	8.99	27.25	66.02
7	3.47059	4.76471	80.00	9.24	29.29	71.10
8	3.96639	5.44538	85.00	9.48	31.34	76.19
9	4.46218	6.12605	90.00	9.73	33.38	81.27
10	4.95798	6.80672	95.00	9.98	35.42	86.35
11	5.45378	7.48739	100.00	10.23	37.46	91.44
12	5.94958	8.16807	105.00	10.47	39.50	96.52

Debido a que el porcentaje de indigotina aumenta al aumentar los niveles de cada factor hasta valores imposibles de obtener, se considerará como una respuesta lógica esperada la de **60.93%** correspondiente a los siguientes niveles de los factores para el punto central en el modelo de segundo orden:

- ✓ **Temperatura: 70 °C**
- ✓ **pH: 8.75**
- ✓ **Tiempo: 25 hrs.**

7.3.1.3 Control de pH y pesos obtenidos de colorante. Etapa de primer orden

En la tabla 7.7 se muestra la variación natural del pH durante el proceso de fermentación en todos los experimentos realizados. Para cada una de estas lecturas, el pH es regulado hasta alcanzar el valor deseado para cada muestra.

Tabla 7.7 Comportamiento de pH. Etapa de fermentación. Fase de optimización.

MUESTRA	tiempo (Horas) ⁵																	
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	12	13	14	15	16	17	18	
1	7.51	8.15	7.28	7.37									6.8	7.28				
2	7.99	7.89	7.51	7.76	7.6	7.73	7.92	7.92	7.96	7.91							7.14	
3	7.01	7.49	7.09	7.03	6.94	7.01					6.92							
4	7.98	7.89	7.54	7.79	7.65	7.78					7.34							
5	7.01	7.51	7.11	7.02	6.91	7.01	6.92									6.33	6.89	
6	7.52	7.65	7.72	7.52	7.26	7.28							6.65	7.39				
7	7.52	7.91	7.53	7.28	7.29							6.7	7.31					
8	8	7.89	7.96								7.81							
9	7.02	7.18	6.92	7.02	6.99	7.2	7.03							6.03	6.94		7.01	
10	7.03	6.95	6.98								6.21							
11	7.98	7.89			7.06	7.84	7.9	7.99										6.9
12	7.51	7.6	7.51	7.22	7.26							6.68	7.38					

⁵ El color representa la duración del experimento.

El comportamiento de pH a través del tiempo en forma gráfica se muestra en las figuras 7.7, 7.8, 7.9 y 7.10.

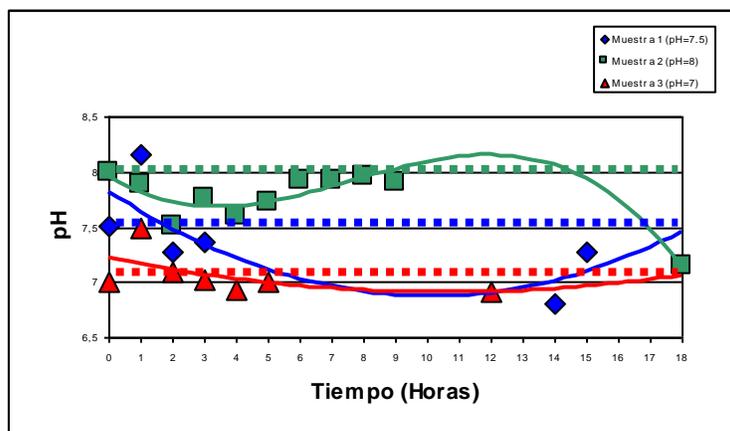


Figura 7.7 Comportamiento de pH. Muestras 1,2,3.

En la figura 7.7 se observa que al inicio del proceso no existe un comportamiento claro para cada una de las muestras, sin embargo con el transcurso del tiempo el pH tiende a un valor neutral.

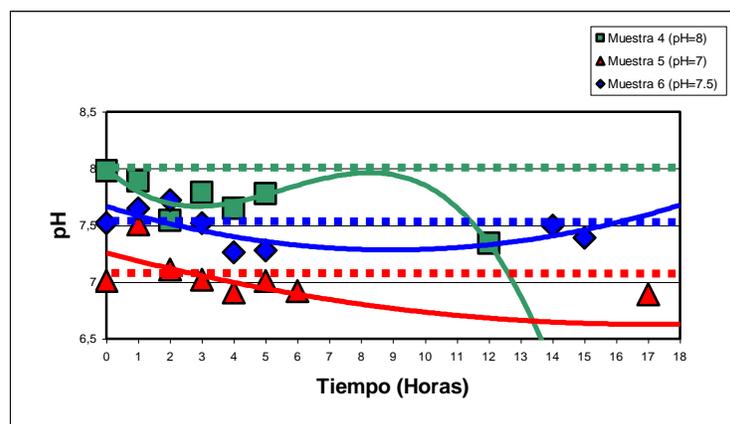


Figura 7.8 Comportamiento de pH. Muestras 4,5,6.

En la figura 7.8 se observa inestabilidad al inicio del proceso, las muestras 4 y 5 se acercan a un valor neutral después de transcurrido cierto tiempo.

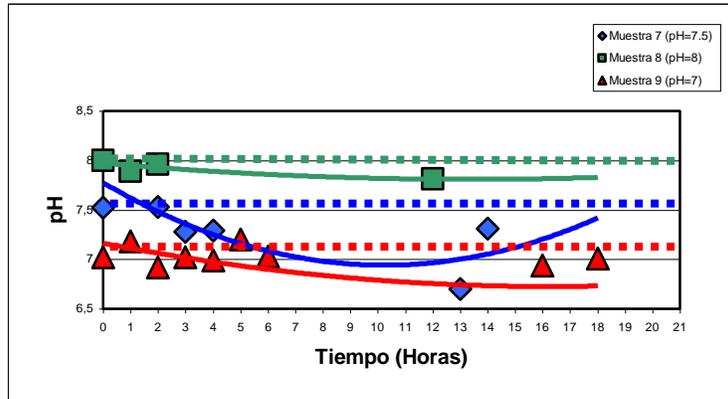


Figura 7.9 Comportamiento de pH. Muestras 7,8,9.

En la figura 7.9 se observa que existe una mayor estabilidad en los valores de pH para las muestras analizadas en esta figura.

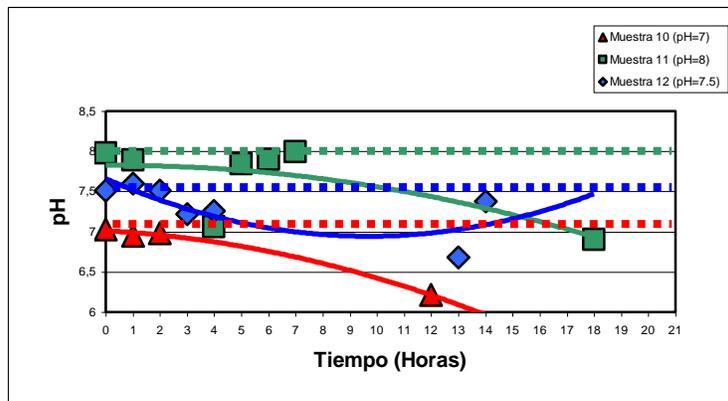


Figura 7.10 Comportamiento de pH. Muestras 10,11,12.

La figura 7.10 muestra una tendencia de disminución de pH para las muestras 10 y 11, la muestra 12 presenta mayor estabilidad.

En la tabla 7.8 se presentan el peso de colorante obtenido para cada uno de los experimentos.

Tabla 7.8 Pesos obtenidos en la etapa de fermentación. Fase de optimización.

Muestra	Tara (g)	T + M (g)	Muestra (g)
1	76.83	77.446	0.616
2	50.66	51.06	0.4
3	38.852	39.163	0.311
4	40.742	40.99	0.248
5	64.71	65.02	0.31
6	60.341	61.006	0.665
7	75.67	76.111	0.441
8	75.67	75.79	0.12
9	76.83	77.087	0.257
10	44.89	45.07	0.18
11	60.341	60.667	0.326
12	44.89	45.285	0.395

7.3.2 Desarrollo de la etapa de segundo orden

Para efectuar el ajuste del modelo de segundo orden se hará uso del diseño de Box-Behnken dado que cumple con las condiciones de Ortogonalidad y Rotabilidad y consta de un número no muy elevado de experimentos.

La tabla 7.9 presenta el Modelo de Box-Behnken con puntos centrales, para tres factores y dos niveles de cada factor:

Tabla 7.9 Modelo de Box-Behnken.

CORRIDA	X₁	X₂	X₃
1	-1	-1	0
2	-1	1	0
3	1	-1	0
4	1	1	0
5	-1	0	-1
6	-1	0	1
7	1	0	-1
8	1	0	1
9	0	-1	-1
10	0	-1	1
11	0	1	-1
12	0	1	1
13	0	0	0
14	0	0	0
15	0	0	0

7.3.2.1 Condiciones de experimentación para el modelo de segundo orden

Los niveles de los factores correspondientes al punto central del modelo de Box-Behnken son los determinados en la aplicación del método de la máxima pendiente en ascenso.

Los niveles extremos de los factores para este modelo se presentan en la tabla 7.10

Tabla 7.10 Niveles extremos de factores para el modelo de Box-Behnken.

FACTOR	-1	1
Temperatura	65°C	75°C
PH	8	9.5
Tiempo	22 hrs	28 hrs

El diseño a aplicar y el nivel de cada uno de los factores se presenta en la tabla 7.11.

Tabla 7.11 Modelo de Box-Behnken y niveles de los factores.

Muestra	Temperatura (°C)	pH	tiempo (hrs)
1	65	8	25
2	65	9.5	25
3	75	8	25
4	75	9.5	25
5	65	8.75	22
6	65	8.75	28
7	75	8.75	22
8	75	8.75	28
9	70	8	22
10	70	8	28
11	70	9.5	22
12	70	9.5	28
13	70	8.75	25
14	70	8.75	25
15	70	8.75	25

Para la Etapa de Oxigenación en estos experimentos, serán utilizados los niveles óptimos ya determinados para cada factor:

- ✓ **Temperatura: Ambiente**
- ✓ **pH: 7.0 - 7.25**
- ✓ **Tiempo: 15 minutos**

Al realizar los experimentos se obtuvo las respuestas presentadas en la tabla 7.12.

Tabla 7.12 Resultados obtenidos con el modelo de Box-Behnken.

MUESTRA	ppm	% indigotina
1	3.3	41.5
2	1.7	20.8
3	3.1	38.5
4	1.2	14.6
5	3.1	38.5
6	3.2	39.4
7	2.8	35.4
8	1.6	20.4
9	2.5	30.7
10	3.6	44.8
11	2.4	30.5
12	1.5	18.4
13	3.8	47.1
14	4.0	49.9
15	3.4	42.9

En la tabla 7.12 se observa que las muestras 13, 14 y 15 con iguales condiciones de operación (correspondientes al punto central) reflejan el mayor contenido de indigotina obtenido hasta el momento. En el anexo C (informe 03-027) se presenta el resultado del análisis de indigotina para la muestra 15 en el modelo de Box-Behnken realizado en un laboratorio certificado.

7.3.2.2 Análisis de resultados para la etapa de segundo orden

En las figuras 7.11, 7.12 y 7.13 se representan gráficamente las superficies de respuesta, en ellas se grafica el contenido de indigotina contra los niveles de los factores combinados (temperatura-pH, temperatura-tiempo y pH-tiempo) respectivamente. Cada contorno representado por un color distinto corresponde a una altura específica de la superficie.

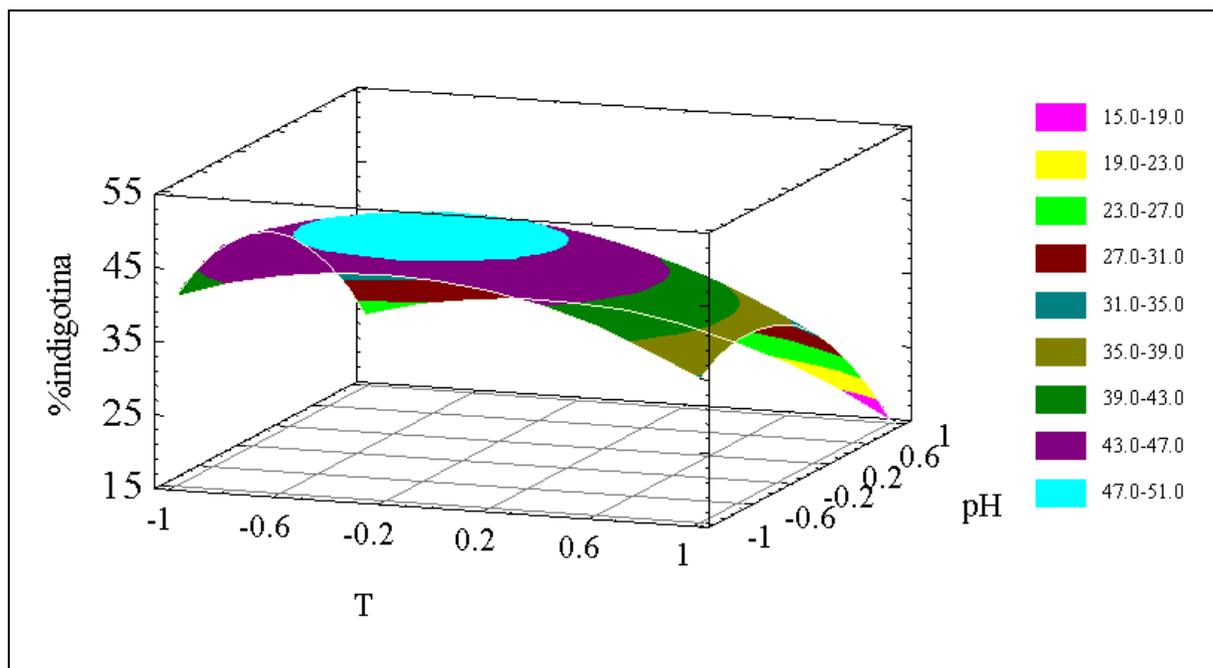


Figura 7.11 Superficie de respuesta Temperatura vrs pH.

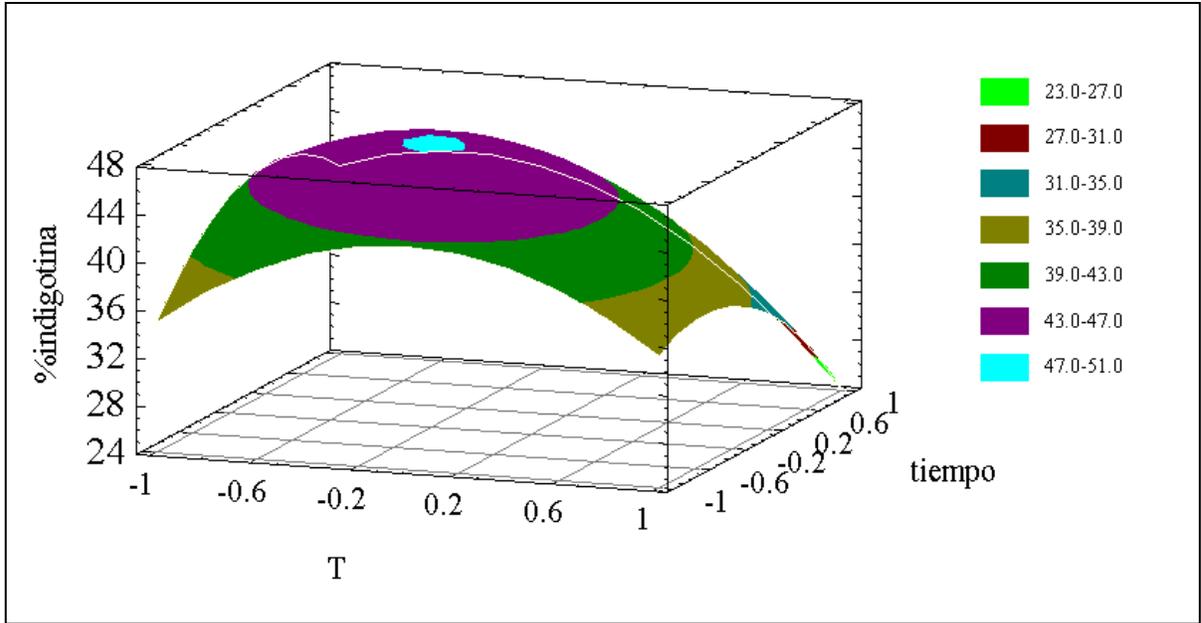


Figura 7.12 Superficie de respuesta Temperatura vrs tiempo.

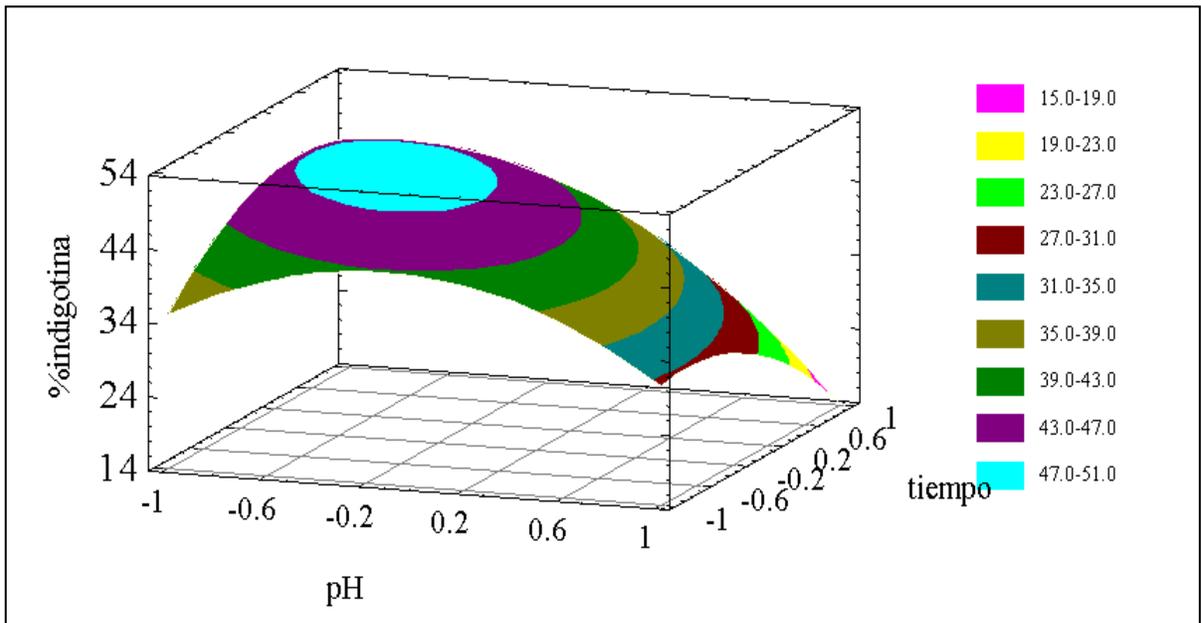


Figura 7.13 Superficie de respuesta pH vrs tiempo.

Al analizar las figuras se observa que para todas las combinaciones de factores existe un punto máximo (cima), el cual representa las condiciones operativas que optimizan la variable respuesta.

7.3.2.3 Localización del punto estacionario

La ecuación de segundo orden obtenida es la siguiente:

$$\% \text{ indigotina} = 46.6333 - 3.9125T - 8.9pH - 1.5125\text{tiempo} - 7.72917T^2 - 0.8TpH - 3.975T\text{tiempo} - 10.0542pH^2 - 6.55pH\text{tiempo} - 5.47917\text{tiempo}^2$$

Las matrices formadas con los coeficientes de la ecuación son:

$$X = \begin{bmatrix} X_1 \\ X_2 \\ X_3 \end{bmatrix} \quad b = \begin{bmatrix} -3.9125 \\ -8.9 \\ -1.5125 \end{bmatrix} \quad B = \begin{bmatrix} -7.72917 & -0.4 & -1.9875 \\ -3.275 & -10.0542 & -3.275 \\ -1.9875 & -0.4 & -5.47917 \end{bmatrix}$$

Donde:

- ✓ ***X1 = Temperatura***
- ✓ ***X2 = pH***
- ✓ ***X3 = Tiempo***

El punto estacionario es la solución de la ecuación:

$$X_0 = -\frac{1}{2}B^{-1}b$$

Al resolver las matrices y la ecuación se obtiene para el punto estacionario:

$$X_0 = - \begin{bmatrix} -0.226933 \\ -0.3590745 \\ -0.02949175 \end{bmatrix}$$

Al decodificar estos coeficientes usando los niveles del punto central del modelo de Box-Behnken, resulta:

- ✓ **Temperatura: 69 °C**
- ✓ **pH: 8.48**
- ✓ **Tiempo: 24.9 hrs**

El porcentaje de indigotina estimado con el modelo de segundo orden para estos niveles de los factores es el siguiente:

- ✓ **% Indigotina = 47.79**

7.3.2.4 Control de pH y pesos obtenidos de colorante. Etapa de segundo orden

En la tabla 7.13 se muestra el comportamiento de pH a través del tiempo para cada una de las muestras.

Tabla 7.13 Comportamiento de pH. Etapa de fermentación. Modelo de Box-Behnken.

MUESTRA	tiempo (Horas) ⁶																														
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28		
1	8.02	6.98			7.3			7.7	7.93	7.87	8.02									7.84		8.03		8.02		8.01					
2	9.51	8.53	8.82	8.99	9.22	9.24	9.43										8.68		9.44		9.48		9.51		9.49						
3	8.02	7.68	7.75										7.68		7.9		8.02		7.99		7.97		7.96		8.02						
4	9.52	8.8	8.88	9.06										8.61		9.01				9.31		9.46		9.48							
5	8.77	8.75		7.8		8.38	8.6	8.66	8.76											8.3		8.69									
6	8.76	7.44		8.15		8.44	8.65	8.67	8.73											8.32		8.74		8.72		8.73		8.69	8.7		
7	8.72												7.65		7.81		8.12		8.48		8.65		8.72								
8	8.76		8.48	8.43	8.45										8.12		8.41		8.58		8.67		8.71		8.74		8.73				
9	8.03		8.03											7.46		7.36		7.8		7.91			7.82								
10	8.02		7.76		7.72		7.87		7.92		7.95												7.42		7.81		7.93		7.96	7.98	
11	9.53		8.48		9.01										8.76		9.25				8.93		9.32								
12	9.52		8.87		9.19		9.15		9.27		9.28												9.34		9.42		9.46		9.51	9.48	
13	8.75		8.2		8.28		8.4		8.72		8.65		8.7												8.7	8.6	8.65	8.7			
14	8.75		8.2		8.3		8.66		8.65		8.69		8.64														8.63		8.72		
15	8.75		8.1		8.25		8.4		8.65		8.68		8.66												8.73	8.68		8.7			

⁶ El color representa la duración del experimento.

La tabla 7.14 muestra el peso de colorante obtenido para cada experimento realizado.

Tabla 7.14 Pesos obtenidos en la etapa de fermentación. Modelo de Box- Behnken.

Muestra	Tara	T + M	Muestra
1	43.67	43.981	0.311
2	38.852	39.248	0.396
3	64.71	65.095	0.385
4	40.742	41.34	0.598
5	76.83	77.181	0.351
6	50.66	50.927	0.267
7	60.341	60.744	0.403
8	76.83	77.432	0.602
9	64.71	65.008	0.298
10	64.341	64.8	0.459
11	60.341	60.859	0.518
12	64.71	65.63	0.92
13	64.71	65.037	0.327
14	60.341	60.651	0.31
15	76.83	77.171	0.341

CONCLUSIONES

➤ Los niveles para cada factor que optimizan la etapa de Fermentación son:

✓ **Temperatura: 69 °C**

✓ **pH: 8.48**

✓ **Tiempo: 24.9 hrs**

El porcentaje de indigotina estimado con estas condiciones es:

✓ **% Indigotina = 47.79**

Para la etapa de Oxigenación:

✓ **Temperatura: ambiente**

✓ **pH: 7.0-7.25**

✓ **Tiempo: 15 minutos**

El porcentaje de indigotina estimado con estas condiciones es:

a) Experimento con agua proveniente de pozo.

✓ **% indigotina = 32.62**

b) Experimento con agua proveniente de nacimiento.

✓ **% indigotina = 31.36**

➤ Para la etapa de oxigenación, el nivel de temperatura óptimo a utilizar es el de temperatura ambiente (con el objeto de generar ahorros de energía); sin embargo, dentro del rango estudiado para este factor (T = ambiente hasta T = 50°C), se demostró que éste no ejerce una influencia significativa. Por tanto y debido a que el nivel de temperatura que maximiza la respuesta para la etapa de fermentación es de 69°C, se recomienda lo siguiente:

La etapa de Oxigenación debe ser operada a las siguientes condiciones:

- ✓ **Temperatura:** Puede trabajarse dentro del rango ($T = \text{ambiente hasta } T = 50^{\circ}\text{C}$). Es decir, debe realizarse un enfriamiento posterior a la etapa de fermentación hasta alcanzar una temperatura de 50°C o inferior, ya que si este proceso no se efectúa, el porcentaje de indigotina disminuye considerablemente (ver anexo C, informe 03-030).
- ✓ **pH: 7.0 – 7.25**
- ✓ **Tiempo: 15 minutos**

- Los diferentes tipos de agua estudiados no ejercen una influencia significativa sobre el proceso, por lo que se concluye que es posible utilizar tanto agua proveniente de pozo como de nacimiento sin alterar los resultados obtenidos en el porcentaje de indigotina en el colorante.

- Ciertas características de la planta de añil variedad suffruticosa Mill tales como: edad de la planta, su zona y condiciones de cultivo, el número de corte y tamaño de la hoja son factores que no han sido homogéneos durante la fase de investigación experimental, debido a que la cantidad de hoja requerida para la realización de los experimentos superaba a la disponible que tuviese las características anteriormente mencionadas semejantes.

- Para los experimentos correspondientes a la etapa de optimización ha sido tabulada la cantidad de masa de colorante producida, con el objeto de conocer de manera general el rendimiento en masa de colorante que se obtiene a las diferentes condiciones operativas, sin embargo, para conocer los niveles de los factores que producen un rendimiento óptimo en masa de colorante se requiere de un estudio experimental completo en el que se considere a ésta como la variable de respuesta del proceso.

- Al realizar pruebas experimentales operando cada una de las etapas del proceso a las condiciones óptimas determinadas para ellas, los resultados obtenidos para el contenido de indigotina en el polvo de colorante extraído son muy cercanos al valor estimado cuando se utilizan las condiciones óptimas establecidas para la etapa de fermentación, por tanto se concluye que ésta es la etapa más determinante en la calidad del polvo de colorante de añil y sus condiciones óptimas determinadas pueden llevar a pensar de que ésta se trata de una hidrólisis básica o simplemente lixiviación más que de una fermentación.

RECOMENDACIONES

- De acuerdo a los análisis realizados en el laboratorio fisicoquímico de aguas de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador (ANEXO E), el agua residual en el proceso de extracción del colorante de añil, presenta una demanda bioquímica de oxígeno muy por encima de la norma señalada por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) para aguas residuales de modo que se recomienda aplicar un tratamiento adecuado previo a su vertido.
- Se recomienda la realización de estudios para una adecuada disposición final o posible utilización de la descarga de desecho sólido proveniente de la etapa de fermentación.
- Se recomienda el estudio de métodos eficientes para el control y acondicionamiento de las variables para la realización del proceso de extracción del colorante a escala industrial.
- Se recomienda la realización de un estudio bioquímico profundo de la etapa de fermentación con el objeto de valorar el efecto de la actividad microbológica sobre esta etapa ya que, los microorganismos que intervienen en procesos de fermentación pierden su actividad a temperaturas superiores a los 35°C y valores de pH superiores a 5 y los niveles óptimos determinados para estas variables en esta etapa son de 69°C y 8.48 respectivamente.

REFERENCIAS

- ✓ César Pérez, (1,999), "**Control Estadístico de la Calidad**", Editorial Alfaomega, México.
- ✓ Cochran, W.G. & COX, G.M. (1,963); "**Diseño Experimentales**". Editorial Trillas.
- ✓ IICA, JICA, TECHNOSERVE, (2,0002), "**Estudio del Subsector Añil en El Salvador**", San Salvador.
- ✓ Lima, Morales, Orellana (2,002), "**Optimización de la Extracción del Colorante de la Planta de Añil (Indigofera sp.) para su Utilización en la Industria**", Trabajo de Graduación para Optar al Título de Ingeniero Químico, Universidad de El Salvador, Facultad de Ingeniería y Arquitectura, Escuela de Ingeniería Química.
- ✓ Maron y Prutton, (1,984), "**Fundamentos de Fisicoquímica**", Editorial Limusa, México, D.F.
- ✓ Metcalf & Eddy, (1,996), "**Ingeniería de Aguas Residuales, Tratamiento, Vertido y Reutilización**", Mc Graw-Hill/Interamericana Editores S.A. de C.V., Tomo 1 y 2.
- ✓ Montgomery, Douglas C. (1,991), "**Diseño y Análisis de Experimentos**", Grupo Editorial Iberoamérica S.A. de C.V., México.
- ✓ Prat Bartés, Albert; Llabres, X.; Grima Cintos, P.; Pozuela Fernández, L. (noviembre 1,999). "**Métodos Estadísticos, Control y Mejora de la Calidad**", 2,000 Alfaomega Grupo Editorial, S.A. de C.V. México, D.F.

ANEXOS

ANEXO A. PROCEDIMIENTO PARA LA DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE INDIGOTINA EN EL ÍNDIGO NATURAL.

a. Para la muestra a analizar

1. En un mortero, moler una muestra del índigo a analizar hasta obtener un polvo fino. De este polvo se pesa de forma exacta 0.1 g. De muestra (± 0.1 mg) en la balanza y colocarla en un erlenmeyer de 125 mL, taparla adecuadamente usando un tapón de hule.
2. Añadir 30 mL (aproximadamente 47.5 g) de perlas de vidrio (o perlas de ebullición), un agitador magnético y 30 mL de ácido sulfúrico concentrado 95-98% (se recomienda seguir el orden: Índigo, perlas, agitador magnético, ácido sulfúrico).
3. Remover la mezcla en un baño maría, durante 1.5 horas, utilizando un hot-plate y manteniendo la temperatura a $75\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$. Después, dejar enfriar el erlenmeyer con la mezcla, en agua con hielo, hasta que alcance una temperatura de 20°C aproximadamente.
4. Preparar un balón volumétrico de 250 mL, conteniendo 50 mL de agua destilada, depositar la solución enfriada en el balón mediante un embudo de vidrio (deben separarse las perlas de vidrio y el agitador, procurando que no caigan dentro del balón y cerciorarse de que no queden residuos de solución en las perlas ni en el agitador, esto se logra lavando el erlenmeyer y recolectando el agua de lavado en el balón). La solución se volverá caliente, dejar enfriar el balón con la mezcla en agua con hielo, hasta alcanzar una temperatura aproximadamente de 20°C . Luego, aforar con agua destilada hasta un volumen de 250 mL (la solución obtenida se llama solución de reserva).



Figura A-1 Obtención del indigocarmin.

5. Tomar una alícuota de 2 mL de la solución de reserva y colocarla en un balón de 100 mL, aforar con una solución de ácido sulfúrico al 5%.
6. Medir la absorbancia correspondiente a dicha muestra a su longitud de onda máxima.
 - b. Para el estándar (añil sintético al 98% de pureza, Marca Fulka).*

Para determinar la curva de calibración utilizando el estándar y la longitud de onda, se realiza el siguiente procedimiento:

1. Seguir los pasos del 1 al 4 utilizados para la muestra a analizar
2. Tomar 3 alícuotas de la solución estándar (preparada en el balón de 250 ml), colocar cada una de ellas en un volumétrico de 100 mL y aforar cada balón con ácido sulfúrico al 5%. Estas soluciones se preparan según la tabla siguiente:

SIn estándar	Alíquota
2 ppm	0.5 mL
4 ppm	1.0 mL
8 ppm	2.0 mL

Para la solución estándar preparada se determina la longitud de onda máxima, ésta será la longitud de onda a la que se obtiene una mayor lectura de absorbancia para dicha solución utilizando el espectrofotómetro (este valor puede variar entre 600-610 nm).

Luego de determinar la longitud de onda máxima (que depende del equipo que se tenga disponible), se procede a leer las absorbancias correspondientes para las soluciones de 2, 4 y 8 ppm, se aplica análisis de regresión a los valores obtenidos de absorbancia contra concentración (ppm) para el estándar al 98%. La ecuación obtenida para el modelo permitirá determinar la concentración de la muestra a analizar al conocer su valor de absorbancia.

ANEXO B. CURVA DE CALIBRACIÓN PARA EL ESPECTRONIC 20.

Tabla B-1. Lecturas de Absorbancia para la solución patrón.

ABSORBANCIA	CONCENTRACIÓN (ppm)
-2	0
-1.857332496	2
-1.72427857	4
-1.484299839	8

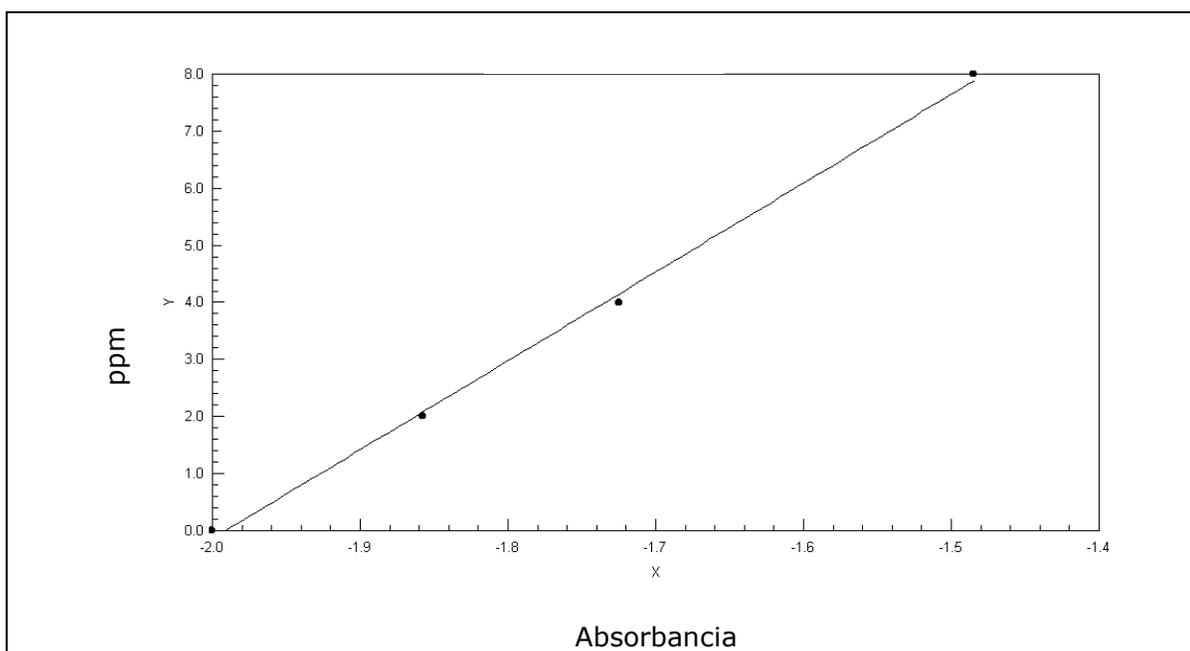


Figura B-1 Gráfico de regresión para las Absorbancias de la solución patrón.

Modelo:

$$\text{Concentración (ppm)} = 15.56608146 * \text{Abs} + 30.99713619$$

Coefficiente de regresión (r) = **0.999**

ANEXO C. RESULTADOS DE DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE INDIGOTINA EN LABORATORIO CERTIFICADO.

SÍNTESIS INVESTIGACIONES, SÍNTESIS Y ANÁLISIS	<u>Laboratorio Síntesis Química de Centroamérica.</u> Inscripción No. 519, Consejo Superior de Salud Pública. 37 calle oriente No. 804, San Salvador.	Tel: 286-7885 286-3234 Fax: (503) 286-7888 sintesis@navegante.com.sv
--	--	---

RESULTADOS DE LOS ENSAYOS. INFORME.

INFORME: 03-027

FECHA: junio 03 – 2003.

Producto Analizado: Producto final de la extracción del añil. Muestra 15.

Remitido por: Sr. Endy Padilla. Escuela de Ingeniería Química, Fac. de Ingeniería y Arquitectura, UES, San Salvador, tel. 235-5035.

Presentación: Bolsa plástica rotulada a mano que contiene aproximadamente 200 mg de muestra.

Descripción del producto: Polvo de color negro azulado. Contiene partículas más gruesas.

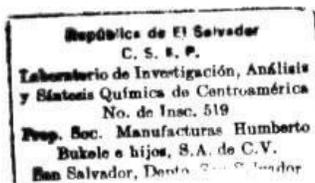
DETERMINACIONES REALIZADAS.

Contenido de indigotina: $41,1 \pm 1,0$ % (la incertidumbre reportada es la incertidumbre expandida para $k=2$, nivel de confianza cercano al 95%).

Procedimiento analítico: Determinación espectrofotométrica con sulfonación previa de la muestra. Ensayo acreditado (método desarrollado y validado en SÍNTESIS).

OBSERVACIONES.

- Fecha de recepción de la muestra: mayo 29 – 2003.
- Muestreo externo al Laboratorio SÍNTESIS.
- Los resultados del ensayo corresponden solamente a la muestra entregada a SÍNTESIS.
- Para reproducir parcial o totalmente este informe se necesita la autorización de SÍNTESIS por escrito.
- SÍNTESIS está acreditado por CONACYT bajo la Norma NSR ISO/IEC 17025:1999 (Certificado de Acreditación con registro No. RLA-71-01:03, en el que se reconoce nuestra competencia técnica y nuestra capacidad para generar resultados correctos y confiables).



Dr. Jorge Collazo García
GERENTE TÉCNICO

<p>SÍNTESIS</p> <p>INVESTIGACIONES, SÍNTESIS Y ANÁLISIS</p>	<p><u>Laboratorio Síntesis Química de Centroamérica.</u></p> <p>Inscripción No. 519, Consejo Superior de Salud Pública.</p> <p>37 calle oriente No. 804, San Salvador.</p>	<p>Tel: 286-7885 286-3234</p> <p>Fax: (503) 286-7888</p> <p>sintesis@navegante.com.sv</p>
--	--	---

RESULTADOS DE LOS ENSAYOS. INFORME.

INFORME: 03-030

FECHA: junio 16 – 2003.

Producto Analizado: Producto final de la extracción del añil. Muestra "Punto Estacionario".

Remitido por: Sr. Endy Padilla. Escuela de Ingeniería Química, Fac. de Ingeniería y Arquitectura, UES, San Salvador, tel. 235-5035.

Presentación: Bolsa plástica rotulada a mano que contiene aproximadamente 430 mg de muestra.

Descripción del producto: Polvo de color negro azulado. Contiene partículas más gruesas.

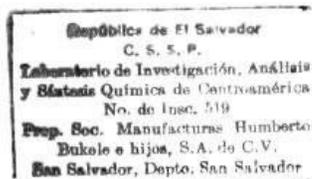
DETERMINACIONES REALIZADAS.

Contenido de indigotina: $15,6 \pm 0,4 \%$ (la incertidumbre reportada es la incertidumbre expandida para $k=2$, nivel de confianza cercano al 95%).

Procedimiento analítico: Determinación espectrofotométrica con sulfonación previa de la muestra. Ensayo acreditado (método desarrollado y validado en SÍNTESIS).

OBSERVACIONES.

- Fecha de recepción de la muestra: junio 04 – 2003.
- Muestreo externo al Laboratorio SÍNTESIS.
- Los resultados del ensayo corresponden solamente a la muestra entregada a SÍNTESIS.
- Para reproducir parcial o totalmente este informe se necesita la autorización de SÍNTESIS por escrito.
- SÍNTESIS está acreditado por CONACYT bajo la Norma NSR ISO/IEC 17025:1999 (Certificado de Acreditación con registro No. RLA-71-01:03, en el que se reconoce nuestra competencia técnica y nuestra capacidad para generar resultados correctos y confiables).



Dr. Jorge Collazo García
GERENTE TÉCNICO

ANEXO D. RESULTADOS DE ANALISIS FISICOQUÍMICO A MUESTRA DE AGUA A LA ENTRADA DEL PROCESO.



**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA
LABORATORIO FISICOQUÍMICO DE AGUAS**

INFORME DE RESULTADOS			
Nombre y dirección del cliente: PROYECTO AÑIL (FIAR / PRODAR / IICA).			Pág. 1 de 2
Descripción de muestra: AGUA POZO.			
Lugar de muestreo: HACIENDA LOS NACIMIENTOS, MUNICIPIO DE AGUILARES.			
Fecha de recepción de muestra: 03 DE JULIO DE 2003		Fecha de Análisis: DEL 07 AL 14 DE JULIO DE 2003	
Método de Análisis: TITRIMETRICO Y GRAVIMETRICO.			
Parámetros	Identificación de la Muestra	Resultados	Norma CONACYT para Agua Potable (Máximos Permisibles)
Cloruros	Entrada	1.99mg/L	250mg/L
Sólidos Disueltos		200mg/L	600mg/L
Sólidos Suspensivos		0.0mg/L	No especificado
Sólidos Totales		200mg/L	No especificado
Observaciones:			
<ul style="list-style-type: none"> • El muestreo estuvo a cargo del interesado. • Según información del cliente las muestras se tomaron la 1ª. Semana de junio, además la muestra correspondiente al punto de salida, fue presentada en envase de soda; sin embargo el cliente se decidió a realizar los análisis, ya que es imposible volver a muestrear. 			

Advertencia: Los Resultados del informe solo se refiere a las muestras analizadas.

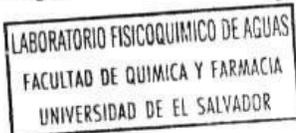
NOTA: El informe de análisis sólo puede ser reproducido completamente y con la autorización escrita del laboratorio.

FECHA DE ENTREGA: 7 JUL 2003

Gloria Ruth Calderón
Dra. Gloria Ruth Calderón
Directora del Laboratorio Físicoquímico de Aguas

Odette Raúda Acevedo
Lic. Odette Raúda Acevedo
Jefa del Laboratorio Físicoquímico de Aguas

aeh*



ANEXO E. RESULTADOS DE ANALISIS FISICOQUÍMICO A MUESTRA DE AGUA RESIDUAL DEL PROCESO.



**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA
LABORATORIO FISICOQUÍMICO DE AGUAS**

INFORME DE RESULTADOS			
Nombre y dirección del cliente: PROYECTO AÑIL (FIAR / PRODAR / IICA).			Pág. 2 de 2
Descripción de muestra: AGUA RESIDUAL			
Lugar de muestreo: HACIENDA LOS NACIMIENTOS, MUNICIPIO DE AGUILARES.			
Fecha de recepción de muestra: 03 DE JULIO DE 2003		Fecha de Análisis: DEL 07 AL 14 DE JULIO DE 2003	
Método de Análisis: TITRIMETRICO Y GRAVIMETRICO.			
Parámetros	Identificación de la Muestra	Resultados	Norma CONACYT para Agua Residual (Máximos Permisibles)
Cloruros	Salida	9.99mg/L	No especificado
Color		>225mg/L (Pt-Co)	No especificado
Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO ₅)		1,406mg/L	200mg/L
Sólidos Disueltos		2,308mg/L	No especificado
Sólidos Suspendidos		752mg/L	150mg/L
Sólidos Totales		3,060mg/L	No especificado
Observaciones:			
<ul style="list-style-type: none"> El muestreo estuvo a cargo del interesado. Según información del cliente las muestras se tomaron la 1ª. Semana de junio, además la muestra correspondiente al punto de salida, fue presentada en envase de soda; sin embargo el cliente se decidió a realizar los análisis, ya que es imposible volver a muestrear. 			

Advertencia: Los Resultados del informe solo se refiere a las muestras analizadas.

NOTA: El informe de análisis sólo puede ser reproducido completamente y con la autorización escrita del laboratorio.

FECHA DE ENTREGA: 17 JUL 2003

Gloria Ruth Calderón
Dra. Gloria Ruth Calderón
Directora del Laboratorio Físicoquímico de Aguas

Odette Raída Acevedo
Lic. Odette Raída Acevedo
Jefa del Laboratorio Físicoquímico de Aguas

aeft*

LABORATORIO FISICOQUIMICO DE AGUAS
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA
UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

ANEXO F. LUGAR DE MUESTREO DE AGUA Y DE LA PLANTA DE AÑIL UTILIZADA EN EL PROCESO



Figura F-1. Lugar No1 de muestreo de agua. Nacimiento.



Figura F-2. Lugar No2 de muestreo de agua. Pozo.



Figura F-3. Zona de cultivo de la planta de añil. Ubicada en el municipio de Suchitoto.