

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA JUAN MISAEL SARACHO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS Y TECNOLOGÍA**  
**CARRERA DE INGENIERÍA QUÍMICA**

**OBTENCIÓN DE LICOPENO DEL TOMATE**

**Por:**

**MABEL JOHANNA SAAVEDRA COLQUE**

**Modalidad de graduación: Proyecto de Grado Investigación Aplicada,**  
**presentado a consideración de la UNIVERSIDAD AUTÓNOMA**  
**JUAN MISAEL SARACHO, como requisito para optar el grado**  
**académico de Licenciatura en Ingeniería Química.**

**Tarija, agosto de 2016**

## RESUMEN

El presente estudio tiene como finalidad la obtención de licopeno de la cáscara de tomate de la variedad *pera* producida en el departamento de Tarija.

El licopeno es un carotenoide liposoluble el cual tiene propiedades antioxidantes que protegen a las células de diferentes tipos de cáncer (próstata y otros).

El proceso de extracción se realizó en el equipo ultrasonido, se cuantificó mediante espectrofotometría UV-Vis y se evaluó el rendimiento a cada una de las condiciones estudiadas. Los factores fueron; temperatura (7, 20 y 40°C), relación soluto: solvente (1:4, 1:8 y 1:12 g/ml) y tiempo (20, 35 y 50 minutos). El análisis estadístico se realizó mediante el programa SPSS 18.0 el cual mostró que la mayoría de las variables son significativas.

Para la extracción de licopeno de alta pureza se utilizaron técnicas de purificación como de cromatografía en columna y cristalización. La identificación de licopeno puro fue mediante cromatografía de capa fina, así mismo se realizó pruebas cualitativas de coloración con ácido sulfúrico concentrado y finalmente se realizó la lectura en el espectrofotómetro UV donde se obtuvo los espectros característicos de licopeno a 440, 473,7 y 505 nm. Para la cuantificación de licopeno se construyó la curva patrón con el licopeno purificado a la longitud de onda de 473,7 nm.

Para evaluar el rendimiento se determinó primero la cantidad de licopeno total en la cáscara de tomate realizando tres extracciones sucesivas, la cantidad total fue la suma de cada una de las extracciones. En base al licopeno total se calculó el rendimiento en el proceso de extracción.

Como resultados podemos mencionar que se obtuvo altos rendimientos a las condiciones; relación 1:12, a 40 °C y a tiempos de 35 y 50 minutos para el cual el rendimiento promedio fue de 91,91 y 93,84% respectivamente y para una relación de 1:8 a 40 °C, 35 y 50 minutos el rendimiento promedio fue de 67,9 y 82,63%.

CAPÍTULO I  
INTRODUCCIÓN

## 1.1 Antecedentes

El fruto del tomate contiene una gran variedad de antioxidantes como la vitamina E, el ácido ascórbico, carotenoides, flavonoides y compuestos fenólicos. Los antioxidantes en mayor cantidad son los carotenoides de los que resalta el licopeno por estar en mayor proporción. El licopeno es el carotenoide responsable del color rojo del tomate, es lipofílico, y no tiene actividad pro-vitáminica A en comparación con los otros carotenoides.

La obtención de licopeno puede ser de diferentes fuentes naturales como vegetales (especialmente del tomate), frutas, algas y hongos, y también puede ser sintetizado químicamente. Fue extraído por primera vez del *tammus communis* (uvas negras o alupios) por Hartsen en 1873. Poco después, Willstatter y Escher realizaron la extracción con solvente a partir de 75 kg de tomate concentrado y obtuvieron 11 g de licopeno recristalizado. Por otro lado se han desarrollado técnicas de extracción, de identificación y cuantificación de los carotenos por cromatografía HPLC o UV-vis. (Aghel N, 2010).

La importancia de los compuestos bioactivos ha permitido el desarrollo de técnicas de extracción que han alcanzado altos rendimientos. Anteriormente los métodos tradicionales eran los más utilizados (equipo de soxhlet o agitadores); por otro lado, la extracción de compuestos bioactivos por ultrasónido ha permitido altas eficiencias. Esta técnica permite la extracción de varios compuestos como; los ácidos málicos y tartáricos, isoflavonas, biofenoles, hemicelulosas, taninos, aceites esenciales, polifenoles, compuestos fenólicos, capsinoides, pigmentos naturales (carotenoides) y saponinas. También se han utilizado fluidos supercríticos para la extracción como el dióxido de carbono o propano con el fin de evitar el uso de solventes orgánicos.

El licopeno natural y sintético ha sido evaluado por el comité experto de la FAO (Food and Agriculture Organization) y WHO (World Health Organization) para ser utilizado como colorante de alimentos. Por otro lado, la EFSA (European Food Safety

Authority) en su reglamentación permite el uso del licopeno como; 1) consumo de licopeno en la dieta normal de comidas, 2) consumo de licopeno de dietas suplementarias, 3) consumo de licopeno en productos alimenticios y 4) uso del licopeno como colorante de alimentos. (European Food Safety Authority, EFSA, 2008); (FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, 2006).

Actualmente, se han desarrollado metodologías para la obtención de licopeno del tomate, es decir, de la pulpa del tomate. Sin embargo, estudios recientes destacan la importancia de obtención de compuestos bio-activos a partir de residuos ya que se reporta que licopeno se encuentra en mayor proporción en la cáscara del tomate que en el mismo fruto (Lavecchia & Zuorro, 2008). La obtención de nuevos productos a partir de los desechos agroindustriales, como cáscara y semillas, de las industrias del tomate ha logrado optimizar el proceso y ha permitido la generación de licopeno de la cáscara de tomate y aceite esencial de las semillas.

### **1.1.1 Licopeno y la salud humana**

Los radicales libres son subproductos de los procesos metabólicos en el cuerpo. Estos reaccionan con otras sustancias y pueden dañar, iniciar o promover alguna enfermedad crónica como el cáncer. Por esta razón, la manera más efectiva de combatir los radicales libres es incluyendo una dieta rica en antioxidantes.

Los carotenos están implicados en la reducción del estrés oxidativo, por lo que se caracteriza como anticancerígeno e inmuno-activador. De esta manera, el licopeno al reaccionar con especies reactivas protege a las biomoléculas, es decir, inhibe el proceso de auto-oxidación lipídica de las células, lipoproteínas de baja densidad (LDL), proteínas, el DNA y protege contra los rayos ultravioleta (A. Venket Rao, 2000); (Mareike Kelkel, 2011); (Lavecchia & Zuorro, 2008).

Varios estudios epidemiológicos, recomiendan la ingesta de frutas y verduras ya que estas poseen diferentes tipos de antioxidantes y en diferentes concentraciones. Los

alimentos ricos en carotenoides son; zanahoria y el zapallo (b-caroteno), el tomate (licopeno), vegetales verdes como la espinaca (luteína) y en la yema de huevo y el maíz (zeaxanteno).

### **1.1.2 Producción**

El licopeno es comercializado como colorante natural y autorizado en los alimentos, registrado como E160d en los Estados Unidos, Australia y en la Unión Europea, en Nueva Zelanda es registrado como 160d.

Este carotenoide se produce en diferentes lugares del mundo. En Italia la industria PierreGroup, desde 1990 se dedica a la producción de productos dietéticos en base a carotenoides, en especial del licopeno. Vitaene es una compañía española enfocada en la producción natural de carotenoides a partir del *Hungus Blakeslea*. Otra industria importante es la compañía de LycoRed, dedicada a la extracción de carotenoides de fuentes naturales para la formulación de dietas suplementarias, colorantes para alimentos y bebidas, saborizantes y cosméticos, es una compañía global con industrias en Israel, Estados Unidos, China y Reino Unido. En la India se comercializa cápsulas de licopeno como antioxidante producidas mediante modificación del rDNA de la célula de *Escherichia coli* por Balson Pharmaceutical. Otras industrias que se dedican a la producción de licopeno para alimentos son; ChrysantisInc y FenchemBiotek.

Actualmente industrias como Nestlé, han desarrollado nuevos productos con valor agregado por la introducción de licopeno en su formulación realzando las propiedades antioxidantes de sus productos. (Nestlé, 2013). L'Oreal y Nestlé han desarrollado una nueva marca *Inneov* de productos que contienen nutrientes entre ellos el licopeno para el cuidado de la belleza y la salud. (Inneov, 2015).

En Bolivia, el Centro de Investigaciones Químicas (CIQ) ubicada en la ciudad de Cochabamba ha desarrollado un método para la extracción y purificación del licopeno

del tomate de alta pureza mayor al 95% de grado alimenticio y farmacéutico. Este estudio tiene la finalidad del aprovechamiento de residuos del tomate, ya que, según el CIQ, el tomate producido se desperdicia en un 20% en diferentes regiones del país. (Centro de Investigaciones Químicas, CIQ, 2015)

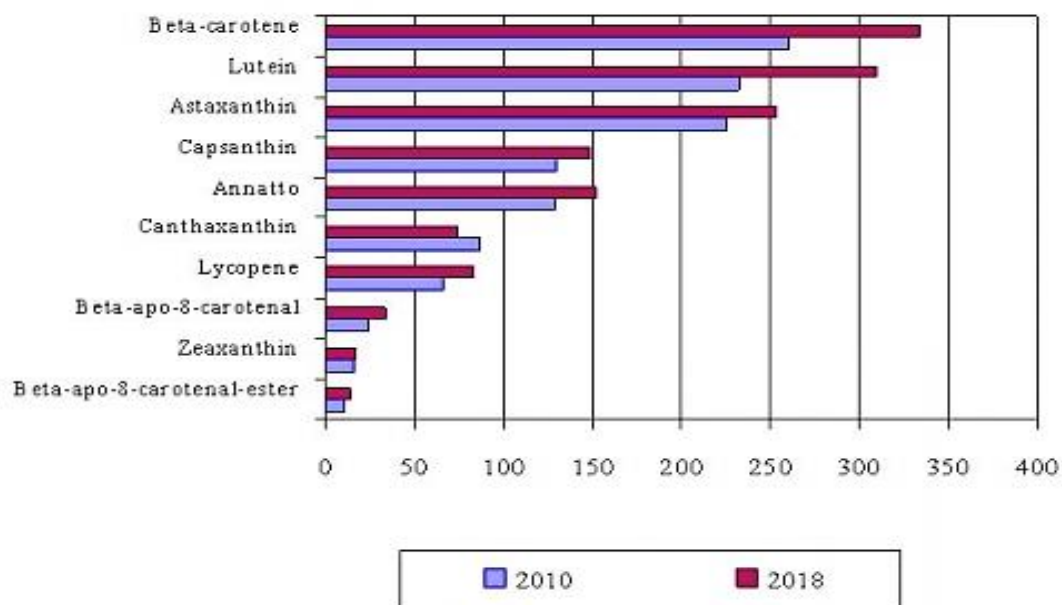
Según el panel científico de aditivos de alimentos, saborizantes, procesamiento y materiales en contacto con los alimentos, exponen que el consumo de licopeno como colorante está entre los 2-6 mg/día como un consumo promedio y 23 mg/día en niveles altos.

### **1.1.3 Mercado Potencial de Licopeno**

El mercado de los carotenoides es altamente fragmentado, el juego de la oferta y demanda permite su expansión, adquisición y la creación de nuevos productos. El mercado es competitivo por lo que las compañías están involucradas en la investigación y el desarrollo de nuevos carotenoides.

La industria de los carotenoides está compuesta por pequeñas, medianas y grandes compañías. DMS N.V. es una multinacional con mercado amplio debido a la variedad de sus productos entre ellos alimentos y dietas suplementarias. La industria BASF S.E. Alemania cubre el 55% del mercado de carotenoides. La creación de nuevos productos es una estrategia de mercado que muchas compañías adoptan para su crecimiento geográfico. (Marketsandmarkets, 2015). El mercado global de carotenoides y su producción, según la BCC, presenta la siguiente figura:

**Figura 1-1 Mercado Global de Carotenoides valorado por el tipo de producto, 2010 y 2018 (Millones de dólares)**



Fuente: (BCC Research, 2011)

El licopeno consumido como colorante y alimento suplementario ha tenido un mercado de 66 millones de dólares en el año 2010 y se proyecta a 84 millones de dólares para el año 2018 según el estudio realizado por la BCC Research (Watson, 2012). Estados Unidos es el país con mayor mercado para los productos que contienen licopeno seguido de Canadá, Japón y Brasil. Entre los años 2003 y 2009 se han introducido más de 419 productos en el mercado en todas las categorías, incluye como alimento, alimento suplementario y cosméticos según Mintel's Global New Products Database (GNPD) (Heller, 2009).

Según la compañía LycoRed, la producción de licopeno se ha duplicado para cubrir la demanda el año 2012. Además, el licopeno como colorante puede ser un sustituto al rojo carmín proveniente del insecto cochinilla, ya que posee la ventaja de no cambiar



de color en presencia de ácido ascórbico, mientras que las antocianinas del rojo carmín varían según el pH y tienden a cambiar a un color café. (Watson, 2012)

#### **1.1.4 Tomate (*Lycopersicum Esculentum*)**

El tomate es la principal hortaliza cultivada en el mundo. A nivel mundial se producen más de 150 millones de toneladas, de éstas, 38 millones se destinan a la industria de las cuales 26 millones (70%) se destina a la elaboración de pasta de tomate y el resto a conservas, salsas, jugos y tomate deshidratado. Los residuos generados por la industria del tomate pueden variar desde un 2% (Iris Carmona, 2013) hasta un 4% o más (Beatriz, y otros, 2012) comprende las semillas, cáscara de tomate y pequeñas cantidades de pasta o fruto.

En la mayoría de las industrias, los residuos agroindustriales son utilizados como mejorador de suelos o alimento para animales, o simplemente son enviados a rellenos sanitarios.

La producción de tomate en Bolivia es de gran importancia por su adaptabilidad a distintos pisos ecológicos, como su rendimiento. En el siguiente cuadro se muestra la superficie cultivada, producción y el rendimiento del tomate.

**Cuadro I-1****Bolivia: Superficie cultivada, producción y rendimiento del tomate**

<b>Descripción</b>	<b>2006</b>	<b>2007</b>	<b>2008</b>	<b>2009</b>	<b>2010</b>	<b>2011</b>	<b>2012</b>
Superficie (ha)	5.387	5.188	5,142	5.181	5.062	4.880	4.838
Producción(ton)	57.014	53.500	52.324	53.070	53.062	49.476	48.655
Rendimiento (ton/ha)	10,584	10,312	10,176	10,243	10,482	10,139	10,057

Fuente: Compendio Agropecuario. (Ministerio de Desarrollo Rural y Tierras;  
Nemesia Achacollo et. al., 2012)

**Cuadro I-2****Variedad de tomates producidos en el Valle central de Tarija, 2008**

Tipo y Variedad		Total Municipios	
		Número Productores	Porcentaje
Tomate perita 83,4%	Río Grande	396	47,7
	Río Fuego	207	24,9
	Bonanza	48	5,8
	Santa Clara	21	2,5
	Santa Delia	16	1,9
	Lerica	5	0,6
Tomate redondo 16,3%	Floradade	116	14,0
	Larga Vida	19	2,3
Tomate cherry	Red cherry	2	0,3
Total		830	100

Fuente: Ciplane y "Juan Misael Saracho Fac. De Ciencias Económicas y  
Financieras", 2007

La variedad perita es la de mayor producción en el departamento de Tarija, además de ser la variedad utilizada para industria del tomate.

## **1.2 Justificación**

El licopeno ha desarrollado interés en diferentes partes del mundo debido a las propiedades antioxidantes y regenerativas, su aplicación no solo es en la industria alimenticia, sino también en la industria farmacéutica y de cosméticos. Por lo que la producción de licopeno puede desarrollar un amplio campo de mercado y generar nuevos ingresos mediante técnicas económicas que permitan un buen rendimiento.

En las industrias del tomate se generan residuos, como la cáscara del tomate, semillas, etc., durante el tratamiento o despulpado del tomate para su posterior procesado. Estos desechos pueden ser utilizados y aprovechados para dar un valor agregado y optimizar la producción mediante el desarrollo de técnicas de recuperación de licopeno de la cáscara del tomate, agregando un *plus* a la producción de la industria salsera para generar nuevos productos, ya que estudios realizados la universidad *SapienzaUniversity Roma, Italia* han demostrado que el licopeno se encuentra en mayor proporción hasta cinco veces más en la cáscara que en la misma pulpa. (Lavecchia & Zuorro, 2008); (Luengo, Álvarez, & Raso, 2014)

El aprovechamiento de los residuos agroindustriales permitiría un mejor manejo de los residuos más allá de un enfoque de reciclaje para la generación de nuevos productos, ya que en la mayoría de las industrias del tomate estos residuos son utilizados como mejoradores de suelos, alimento para animales o es enviado a rellenos sanitarios.

El desarrollo de un método de bajo costo y de rápida obtención mediante la aplicación de nuevas tecnologías, permitiría el desarrollo de procesos óptimos. Por otro lado, se abriría un campo de desarrollo en la producción de otros carotenoides con importancia en el mercado, ya que el tomate posee diferentes tipos de

carotenoides que pueden obtenerse como subproductos en el proceso de obtención de licopeno, como ser el beta-caroteno y las xantofilas.

### **1.3 Objetivos**

#### **1.3.1 Objetivos General**

Obtener un extracto de licopeno a partir de la cáscara de tomate, *Lycopersicum Esculentum*, de la variedad “pera” producido en el departamento de Tarija.

#### **1.3.2 Objetivos Específicos**

- Determinar las características fisicoquímicas y el contenido de licopeno inicial en la cáscara de tomate, *Lycopersicum Esculentum*, de la variedad pera producido en el departamento de Tarija.
- Formular la fase experimental para el proceso de extracción de licopeno del tomate, *Lycopersicum Esculentum*, de la variedad “pera” producido en el departamento de Tarija.
- Realizar la curva de calibración espectrofotométrica UV-visible del licopeno.
- Caracterizar el extracto de licopeno obtenido y determinar el rendimiento del proceso.

CAPÍTULO II  
MARCO TEÓRICO

## Capítulo II

### Marco Teórico

#### 2.1 Origen del tomate

El tomate es nativo de la región andina que incluye a los países de Chile, Colombia, Ecuador, Bolivia y Perú. Fue introducido a Europa por España a inicios del siglo XVI y se expandió a China y los Estados Unidos. Posteriormente llega a ser el vegetal más consumido a nivel mundial en su forma natural o procesada.

Es cultivado durante el año en climas moderados pero es sensible a temperaturas menores a los 12 °C. Los hábitos de cultivo influyen en el crecimiento, color, cáscara, contenido de sólidos solubles y otros. (Heuvelink, 2005)

#### 2.2 Descripción taxonómica

El tomate es una planta dicotiledónea, perteneciente a la familia solanácea y al género *Lycopersicum* L. *Esculentum* es la especie más cultivada y posee un gran número de especies silvestres relacionadas.

**Tabla II-1 Taxonomía del Tomate**

<b>Nombre Común</b>	Tomate
<b>Género</b>	<i>Lycopersicum</i>
<b>Especie</b>	<i>Esculentum</i>
<b>Familia</b>	Solanaceae
<b>Sub-familia</b>	Solanoideae
<b>Tribu</b>	Solaneae

Fuente: (CENTA, Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal, 2014)

## 2.3 Morfología y Estructura del tomate

### Morfología de la planta del Tomate

El tomate es una planta perenne de porte arbustivo que se cultiva como anual, puede desarrollarse de forma rastrera, semierecta o erecta, y su crecimiento es limitado en las variedades determinadas e ilimitadas en las indeterminadas. (Jorge Jaramillo, 2007)

**Figura 2-1 Planta de Tomate**



Fuente: Buenas Prácticas Agrícolas en la Producción de Tomate Bajo Condiciones Protegidas (Jorge Jaramillo, 2007).

- ***El tallo***

El tallo principal tiene de 2 a 4 cm de diámetro en la base y está cubierto por pelos; sobre el tallo se van desarrollando hojas, tallos secundarios e inflorescencias. Tiene la propiedad de emitir raíces cuando se pone en contacto con el suelo.

- ***La flor***

Es perfecta o hermafrodita, regular y consta de cinco o más pétalos; tiene un pistilo con cinco estambres. Su conformación favorece la autopolinización. El pistilo está compuesto de un ovario largo y engrosado, puede tener entre dos a veinte óvulos formados según la variedad. Las flores se agrupan en racimos simples ramificados que se desarrollan en el tallo y en las ramas de lado opuesto a las hojas. Un racimo puede reunir entre 4 a 20 flores dependiendo de la variedad. Por ejemplo, la variedad *cherry* puede tener hasta 40 flores. Las flores son amarillas y pequeñas.

**Figura 2-2 Flor de Tomate**



Fuente: Flores de los alimentos. (Barbara y Erika, 2013)

- ***Las hojas***

Son peciolados, lobulados y con borde dentado, están recubiertos por pelos glandulares y se disponen de forma alternativa sobre el tallo.

- ***La raíz***

El sistema radical es superficial y está constituido por la raíz principal (corta y débil), las raíces secundarias (numerosas y potentes) y raíces adventicias.



Dentro de la raíz se encuentra la epidermis, donde se ubican los pelos absorbentes especializados en tomar agua y nutrientes, además el córtex y el cilindro central donde se sitúa el xilema.

- ***El fruto***

Es una baya que presenta diferente tamaño, forma, color, consistencia y composición, según el tipo de cultivo. Está constituido por la epidermis o cáscara, la pulpa, el tejido placentario y las semillas. Internamente está dividido en lóculos donde se almacenan las semillas, pueden ser bi, tri, tetra o pluriloculares.

La maduración del fruto puede ser uniforme, pero existen algunas variedades que presentan hombros verdes debido a un factor genético. La exposición directa a la luz de los rayos sobre los frutos con hombros verdes acrecienta su color a un verde más intenso, y en algunos casos toman una coloración amarilla; el cubrimiento de los frutos con el follaje reduce este fenómeno.

**Figura 2-3 Frutos de una planta de Tomate**



Fuente: Semilla de Tomate pera. (GAUTIER SEMILLAS, 2015)

- ***La semilla***

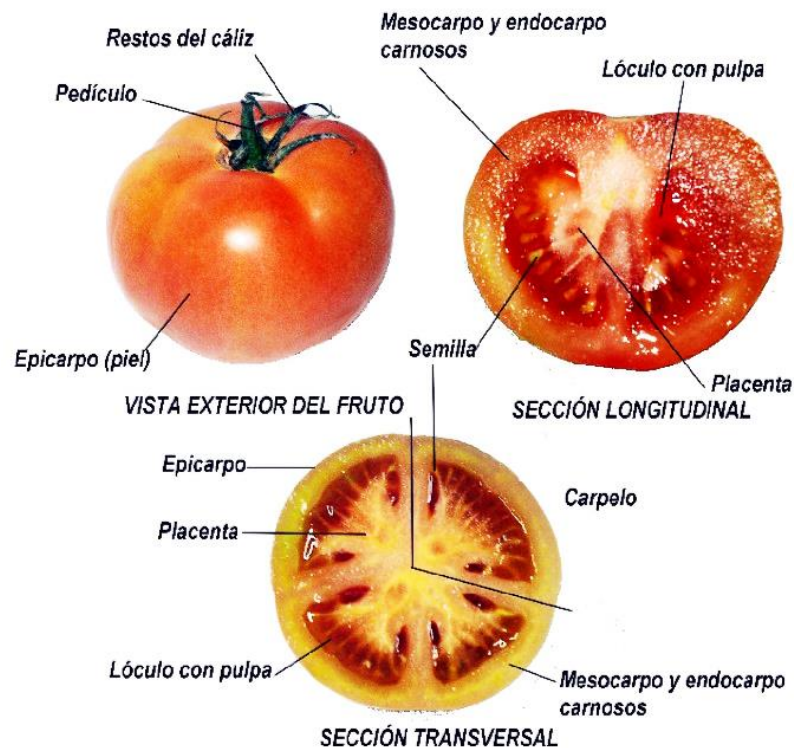
La semilla es pequeña con dimensiones de 4x2 mm, estas pueden ser ovaladas, achatadas, redondas.

### Estructura del fruto del Tomate

La pared del fruto tiene tres tejidos relativamente distintos; pericarpio, mesocarpio y endocarpio. El pericarpio es el estrato exterior y consta por lo regular de una sola capa de células epidérmicas aunque algunas cuentan con varias. El mesocarpio es la capa hística del medio y varía en grosor, de una sola capa a un masa de tejidos de varios centímetros. El endocarpio varía en estructura, textura y grosor, en los frutos de diversas especies.

El tomate es clasificado dentro de los frutos simples y carnosos, como el fruto de un solo ovario madurado, dentro de los frutos carnosos se clasifica como baya, caracterizado por tener un pericarpio totalmente carnoso. (Harry J. Fuller et. al., 1974)

**Figura 2-4 Fruto del Tomate**



Fuente: Frutos y Bayas. (Breijo, Frutos, 2003)

El tejido carnoso del tomate está conformado por el pericarpio y el mesocarpio, estos son tejidos de reserva y acuíferos que conducen el alimento y el agua en el fruto.

El pericarpio conforma el tejido epidérmico y tiene la función de protección. Las células epidérmicas carecen de espacios intercelulares y suelen ser incoloras; en algunas plantas, sin embargo, podrán estar presentes pigmentos rojos, azules o púrpura, en las vacuolas de las células.

El licopeno está acumulado junto con otros carotenoides en los orgánulos de las células del fruto del tomate, llamados *plastidas*, los que a su vez están dentro del protoplasto de la célula.

Las plastidas son un tipo de orgánulos de forma esférica u ovoide, son típicamente mayores que las mitocondrias y mucho menos abundante que ellas, y van desde varias docenas por célula. Las plastidas se pueden clasificar como cromoplastos o leucoplastos según su pigmentación. Los cromoplastos tienen pigmentos y por lo tanto color; por otro lado, los leucoplastos carecen de pigmentos y son incoloros.

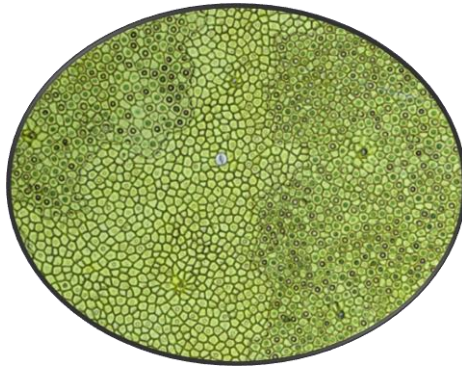
Los tipos de cromoplasto son; el cloroplasto y el cromoplasto. El cloroplasto contiene pigmentos fotosintéticos como la clorofila a y clorofila b que le confieren el color verde. A medida que va madurando el fruto los cloroplastos se transforman en cromoplastos que da lugar al aumento de los carotenos que aportan un color rojo, naranja y amarillo; esta modificación presenta mayor interés en el momento de la maduración por su marcada influencia en la calidad del fruto.

La función principal de los carotenos es la fotosíntesis y la protección contra las especies reactivas del oxígeno y otros radicales libres por ello juega un papel importante en la prevención fotooxidativa dañina.

Estudios realizados acerca de la célula del tomate mediante un microscopio muestran los cromoplastos ubicados como puntos rojos donde se almacena el licopeno.

El siguiente esquema muestra los diferentes tejidos del tomate y los cromoplastos.

**Figura 2-5 Tejidos del mesocarpio, pericarpio y la célula del tomate**

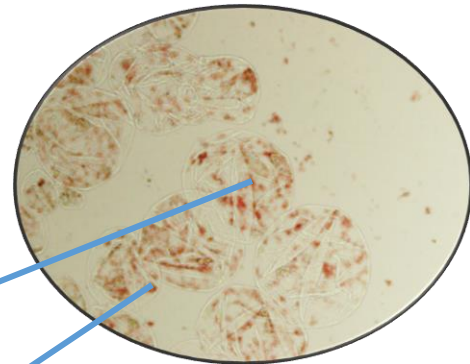


Tejido del pericarpio del tomate



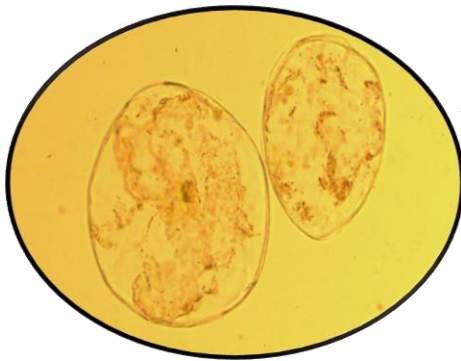
Baya (Fruto del tomate)

Los puntos rojos representan a los cromoplastos donde resalta la presencia de los carotenoides entre ellos el licopeno. También se pueden observar los rafidios (oxalatos de calcio) que se representan como líneas.



Rafidios (Oxalatos de calcio)

Tejido parenquimático  
(Mesocarpio)



Células del tejido parenquimático de reserva (mesocarpio)

Fuente: Microfotografías del laboratorio de la Facultad de Ciencias Agrícolas y Forestales. Universidad Autónoma Juan Misael Saracho

## **2.4 Biosíntesis de licopeno en el tomate**

Las plantas sintetizan grandes cantidades de metabolitos, estos se clasifican en; metabolitos primarios, los cuales están relacionados con procesos esenciales para la vida de la planta, y los metabolitos secundarios, los que tienen que ver con la interacción de la planta y su medio. Los isoprenoides o terpenoides juegan diferentes papeles en la planta como hormonas, fotosíntesis de pigmentos, transferencia de electrones, mediador en la unión de polisacáridos y como componente estructural de las membranas. (Helena Morais; Ana Abram; y Fernando Ferreira, 2006).

El licopeno es un metabolito secundario lipofílico derivado de los isoprenoides, la ruta metabólica para la biosíntesis de los carotenoides comienza por la producción de Fitoeno compuesto de 40 átomos simétricos formado por la unión de dos moléculas de geranylgeranyl pirofosfato de 20 átomos cada uno. El Fitoeno pasa por una serie de cuatro pasos de dehidrogenación o de desaturación para formar el  $\zeta$ -caroteno, neurospreno y licopeno. La reacción de ciclización en cada uno de los extremos del licopeno da como resultado el  $\beta$ -caroteno, a partir del cual se sintetizan las xantofilas. (Choudhary, 2004). El esquema de la ruta metabólica se presenta en el ANEXO II.

## 2.5 Composición química del tomate

La composición química del tomate depende de los factores de cultivo, maduración, luz, temperatura, estación, clima, fertilidad de la tierra, etc.

**Tabla II-2 Composición química y nutricional del tomate maduro fresco**

Contenido por cada 100 g		
Variedad de Tomate	Redondo	Pera
Agua (g)	93,9	93,56
Energía (kcal)	23	26
Grasa (g)	0,30	0,36
Proteínas (g)	1,01	0,90
Carbohidratos (g)	4,18	4,68
Fibra (g)	0,81	0,90
Ceniza (g)	0,61	0,46
Calcio (mg)	15,00	15,00
Hierro (mg)	1,00	1,10
Fósforo (mg)	28,00	26,00
Tiamina (B1) (mg)	0,06	0,06
Riboflavina (B12) (mg)	0,07	0,08
Ácido Ascórbico (C) (mg)	20,00	16,00
Niacina (mg)	0,56	0,55
Vitamina A (mg)	86,00	89,00

Fuente: Compendio Agropecuario. Observatorio Agroambiental y Productivo de Bolivia. (Ministerio de Desarrollo Rural y Tierras; Nemesia Achacollo et. al., 2012)

## 2.6 Carotenoides

Más de 600 tipos de carotenoides han sido separados de fuentes naturales. Sus propiedades y características tienen cierta relación ya que todos los tipos tienen una estructura básica similar.

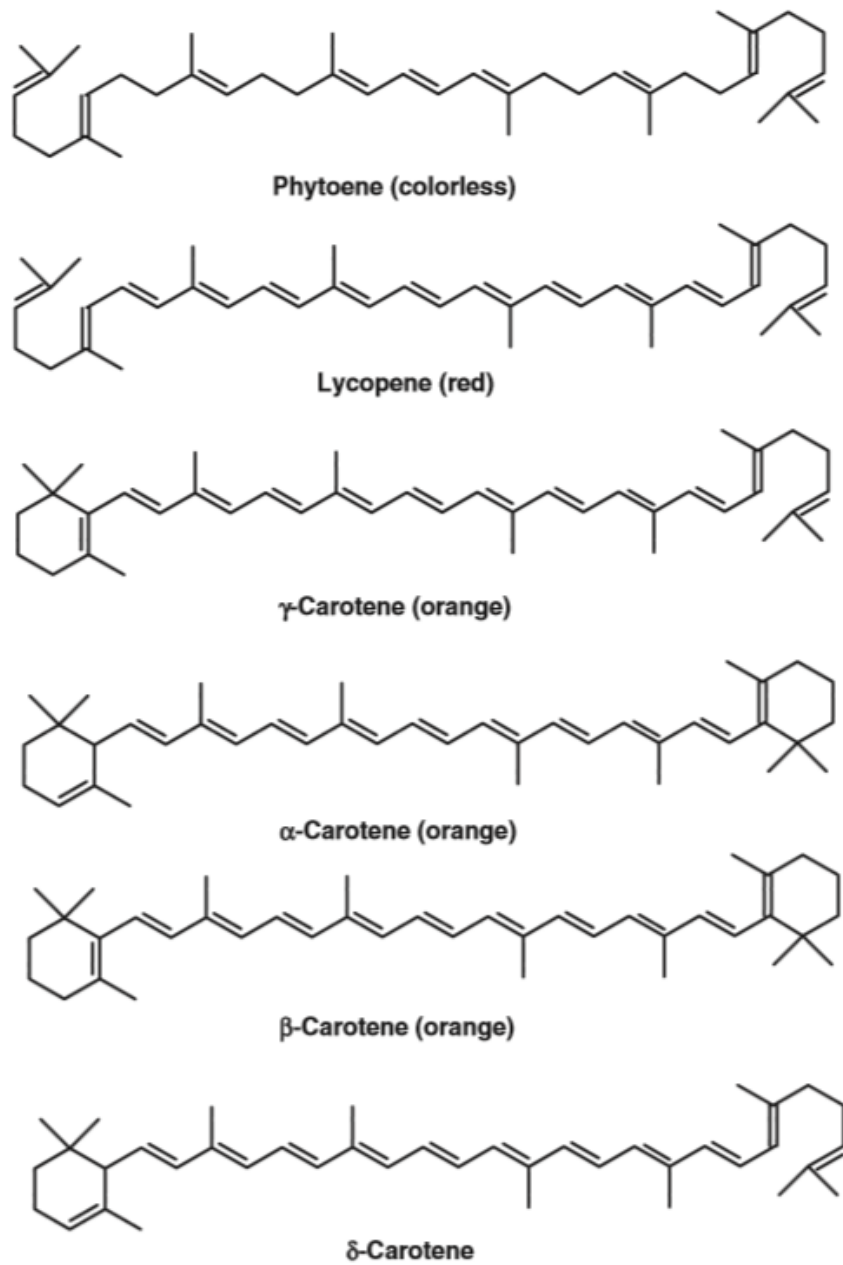
### **Estructura básica**

Los carotenoides son tetraterpenoides formados por ocho unidades de isoprenoides, el esqueleto puede ser modificado por la ciclización de los átomos extremos, por hidrogenación o por adición de oxígeno. (Britton, 1995). Una característica importante es la extensa cadena conjugada de dobles enlaces por lo que absorben luz dando colores atractivos. El espectro visible sirve de base para su identificación y cuantificación.

Se clasifican en dos grupos; carotenos y xantofilas. Los carotenos son hidrocarburos que contienen hidrógeno y carbono, como ser el b-caroteno y licopeno. Las xantofilas, a diferencia de los carotenos, contienen; oxígeno, grupos hidroxilos, epóxidos, aldehídos o cetonas.

Los carotenoides pueden ser acíclicos (licopeno), monocíclicos ( $\gamma$ -caroteno) o bíciclicos ( $\alpha$ -caroteno o  $\beta$ -caroteno). Estos existen en su mayoría en la conformación todo-trans (*all-E*) y en pequeña cantidad en la forma cis (o *Z*).

A los carotenoides se les denomina con nombre que incluye la variación de los anillos laterales, en especial la posición del enlace doble. Para los carotenos se emplea el sufijo *caroteno* y para las xantofilas el sufijo *ina*. (Rodríguez, Amaya, & Kimura, 2004)

**Figura 2-6 Estructura de los principales Carotenos**

Fuente: Fruit and Vegetables Phytochemicals (A. de la Rosa, Alvarez, & A. Gonzáles, 2010)



## **Propiedades**

Los carotenoides son extremadamente hidrofóbicos, es decir, no son solubles en agua. Por lo tanto, son restringidos a áreas hidrofóbicas de la célula, excepto si está asociada a con proteínas que le permiten el acceso a medios acuosos.

### **2.6.1.1 Estequiometría**

Cada doble enlace de la cadena básica del caroteno puede existir en dos tipos de conformación *cis* o *trans*. Teóricamente puede haber varias formas de conformaciones pero la más estable en la naturaleza es la forma *trans* ya que es la conformación a baja energía. (Britton, 1995).

Todas las conformaciones *trans* dan a la molécula la característica de ser lineales y rígidos, mientras que las moléculas en la conformación *cis* no son completamente lineales. La tendencia del isómero *cis* a cristalizar o agregar es mucho menor, sin embargo, resulta disolverse más rápido, absorberse y transportarse que el isómero *trans*.

### **2.6.1.2 Absorción de la luz**

La absorción de la luz por moléculas orgánicas produce una excitación de la molécula. En el caso de los carotenoides la transición de los electrones del doble enlace  $\pi$  al orbital no ocupado  $\pi^*$  es comparativamente de baja energía y corresponde a la luz visible entre los rangos de 400-500nm. Los carotenoides por lo tanto, tienen colores intensos entre el amarillo, naranja o rojo.

### **2.6.1.3 Propiedades químicas**

Las reacciones de oxidación de los carotenoides evalúan su propiedad anti-oxidativa. La parte fundamental de la molécula es la cadena de polienos por su alta reactividad, este sistema es susceptible a ser atacado por agentes electrofílicos o radicales libres responsables de la inestabilidad de los carotenoides hacia la oxidación.

- **Oxidación**

Los radicales con un alto potencial pueden remover un electrón de la molécula del carotenoide para darle una carga positiva.

- **Reducción**

La adición de un electrón al carotenoide da como resultado un anión.

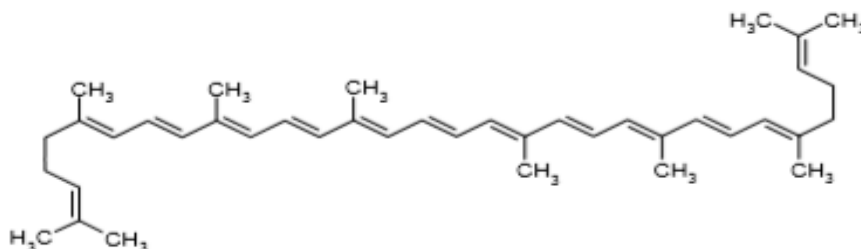
- **Adición**

La adición de una especie de radical como un peroxi ROO\* o un hidróxido HO\* a la cadena de polieno puede generar otro radical.

## 2.7 Licopeno

El licopeno es un carotenoide altamente lipofílico presente principalmente en la especie *Lycopersicum* y en cantidades menores en otras especies vegetales o algas. Habitualmente está presente como metabolito secundario en mamíferos, donde desempeña un papel importante como antioxidante y secuestrante de radicales libres, junto con otras sustancias como la vitamina E y C. (España Patente nº 2186824, 2003).

**Figura 2-7 Estructura del licopeno**



Fuente: (ADI group, 2009)

Nombres químicos:  $\psi$ -  $\psi$ - caroteno

All-trans licopeno

2,6,8,10,12,14,16,18,20,22,24,26,30- dotricantatridecaeno

## Características físicas y químicas del licopeno

**Tabla II-3 Propiedades del Licopeno**

Formula Molecular	$C_{40}H_{56}$
Peso Molecular	536,873 g/mol
Punto de fusión	172-175 °C
Forma de cristal	Cristales en forma de agujas, largas y rojas
Forma en polvo	Rojo oscuro
Solubilidad	Es soluble en cloroformo, hexano, benceno, disulfuro de carbono, acetato de etilo, diclorometano, acetona, éter de petróleo. Es insoluble en agua y en metanol. Parcialmente soluble en etanol.
Sensibilidad	A la luz, oxígeno, altas temperaturas y ácidos.

Fuente: Extraction of Lycopene from Tomato Paste and its Immobilization for Controlled Release (Haroon, 2014).

### Presencia del licopeno alimentos

Algunas frutas y vegetales incluyen en su composición licopeno y contribuyen a la ingesta de este compuesto en la dieta diaria. La siguiente tabla describe las concentraciones de licopeno en distintas fuentes.

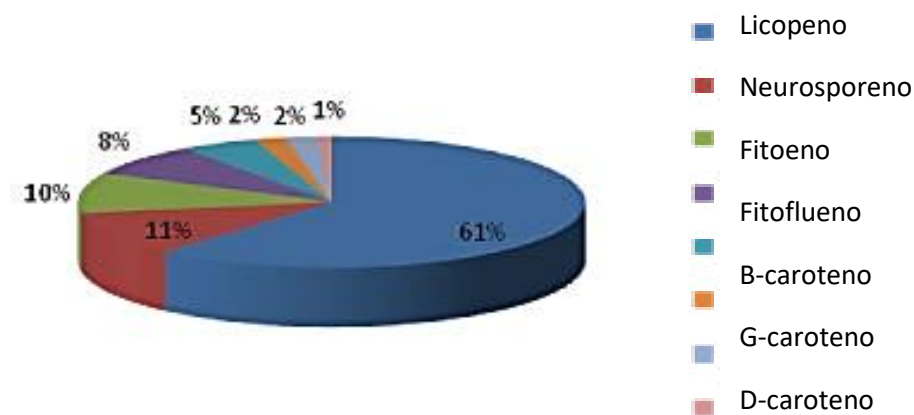
**Tabla II-4 Cantidad de Licopeno presente en ciertos alimentos**

Fuente vegetal	$\mu\text{g}$ licopeno por gramo de materia fresca
Tomate	8.8 – 42
Sandia	23 – 72
Pomelo	3.6 – 34
Guayaba	54
Papaya	20 – 53

Fuente: Isolation of Lycopene from Tomato Paste using Column Chromatography  
(Environmental Chemistry Lab, 2014)

### Carotenoides presentes en el tomate

El tomate contiene además del licopeno otras variedades de carotenoides como se muestra en la figura 2-8.

**Figura 2-8 Perfil de carotenoides presentes en el tomate**

Fuente: Propiedades químicas, biológicas y valor nutritivo el Licopeno. (Maria J. Periago, 2001)

La figura anterior indica que el 61% de los carotenoides está representado por licopeno, sin embargo según otras fuentes bibliográficas, la concentración de licopeno en el tomate puede variar entre 60 a 85 % (Zhao, Hu, & Qi); (Topal, Sasaki, & Goto, 2009).

### Presencia de licopeno en diferentes variedades de tomate

A continuación se muestran los resultados obtenidos de la cantidad de licopeno en diferentes variedades de tomates por la Universidad de Colombia, Medellín (Gemma Aràndiga Martí, 2008).

Los tipos de tomates bajo estudio fueron:

- Tomate de rama (natural)
- Tomate pera (natural)
- Tomate cherry (natural)
- Tomate raf (natural)

**Tabla II-5 Concentración de licopeno en distintos tipos de tomate**

Muestra	Volumen de hexano (Litros)	Absorbancia	Concentración licopeno(ppm)	mg licopeno/20 g tomate
Rama	0,1	1,122	6,053	0,605
Pera	0,1	0,878	7,738	0,774
Cherry	0,1	0,514	2,771	0,277
Raff	0,1	0,749	4,042	0,404

Fuente: Estudio del licopeno del tomate como colorante natural desde la perspectiva analítica e industrial (Gemma Aràndiga Martí, 2008).

Como puede observarse, del tomate tipo pera se extrae con solvente hexano 0,774 mg/20 g de tomate, para un gramo el contenido es de 0,035 mg de licopeno

Se han reportado de varios estudios que la cáscara del tomate contiene mayor cantidad de licopeno que en la pulpa hasta cinco veces más. (Luengo, Álvarez, & Raso, 2014); (Lavecchia & Zuorro, 2008). Según la evaluación del valor nutricional y la actividad antioxidante del extracto de la cáscara de tomate. (Elbadrawy, 2011). La

cáscara de tomate contiene 2,5 veces más licopeno que en la pulpa. El contenido es variable ya que depende de las condiciones en las que se desarrolla el fruto.

Debido a que la cáscara de tomate es eliminada durante el proceso de pasta de tomate se lo considera como una fuente de gran valor en carotenoides. La pasta de tomate enriquecida con la cáscara de tomate contiene 48 mg de licopeno (58% más que la clásica pasta de tomate) y 1,75 mg b-caroteno (99% más que la pasta clásica de tomate) por 100 gramos de pasta.

La concentración de licopeno en tomates no escaldados es de 62,92 mg/100 g, sin embargo, para tomates escaldados es de 134 mg/100 g. (Haroon, 2014)

Los alimentos procesados contienen altas cantidades de licopeno, la siguiente tabla muestra el contenido de licopeno para diferentes productos.

**Tabla II-6 Contenido de licopeno en productos derivados del Tomate**

<b>Producto</b>	<b>µg licopeno/ g de materia fresca</b>
Salsa de tomate	63-131
Kétchup de tomate	124
Jugo de Tomate	86-100

Fuente: Isolation of Lycopene from Tomato Paste Using Column Chromatography. (Environmental Chemistry Lab, 2014)

## **2.8 Métodos y Técnicas de extracción de Licopeno**

El licopeno al ser un compuesto liposoluble se ha extraído con solventes orgánicos; los más utilizados son: cloroformo, hexano, acetona, benceno, éter de petróleo, acetato de etilo o di sulfuro de carbono. También, se han realizado extracciones con fluidos supercríticos como ser: dióxido de carbono, metano y propano.

Las técnicas de extracción se han ido modificando para optimizar el proceso. A continuación se describen los métodos de extracción tradicionales y no tradicionales (Azuelo & Vargas, 2007).

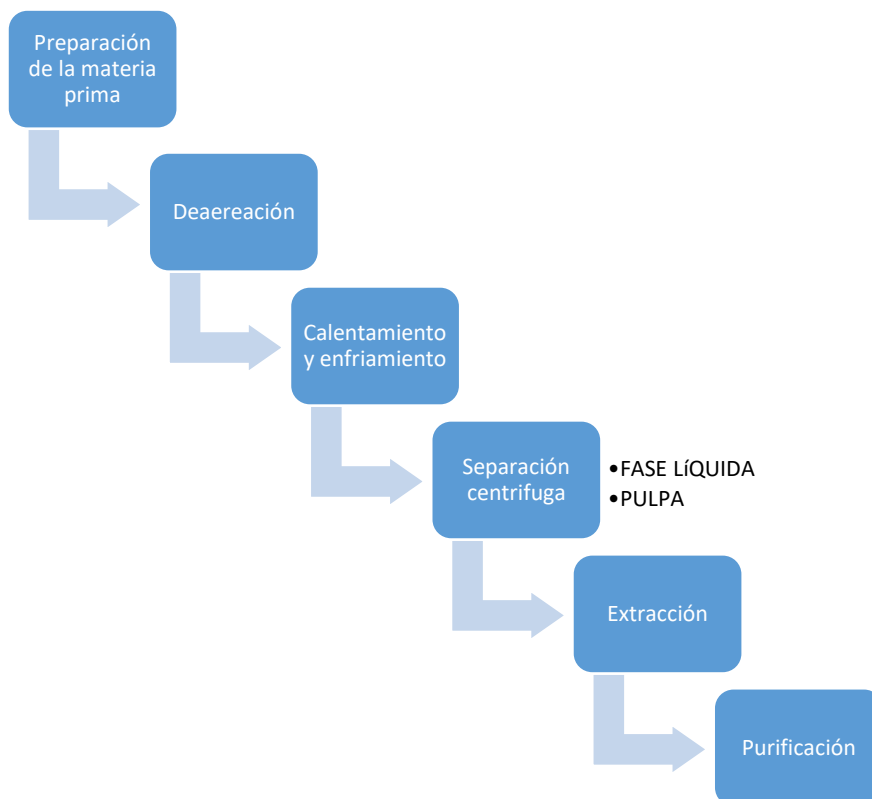
## Métodos tradicionales

### 2.8.1.1 Extracción por solventes por agitación

Se basa principalmente en la selección de solvente, temperatura y tipo de agitación con la que se puede incrementar la solubilidad de los componentes y la tasa de transferencia de masa; a nivel industrial se utilizan mezcladores.

La EFSA y la FAO permiten la producción de la oleorresina rica en licopeno extraído con acetato de etilo por la empresa LycoRed para la producción del producto Lyc-O-Mato. (European Food Safety Authority, EFSA, 2008). La empresa LycoRed sigue el proceso de extracción descrito en el siguiente diagrama de bloques.

**Figura 2-9 Proceso para la obtención de licopeno, LycoRed**



Fuente: LycoRedGroup

### **2.8.1.2 Extracción por Soxhlet**

Este método permite la extracción de compuestos mediante un equipo integrado por un extractor, un condensador especial de tipo bulbo y un matraz. Funciona por ciclos condensando y evaporando el solvente; de esta manera se separa el componente de interés y se recupera el solvente.

El estudio realizado por (Eliana M. Cardona, 2006) reporta que para la extracción en soxhlet con tomate en polvo para diez reflujos a una relación de 1:6 masa: solvente con acetato de etilo se obtiene 64,2 mg de licopeno/100 gramos de pulpa.

### **Métodos no tradicionales**

Los métodos modernos se basan en el mejoramiento de la eficiencia por acción física sobre el medio.

### **2.8.1.3 Extracción asistida por microondas**

La irradiación de microondas causa un movimiento de las moléculas por migración de iones y rotación de dipolos que contribuyen a una rápida transferencia de energía al solvente y material vegetal.

La combinación del ultrasonido y las microondas permiten una mejor irradiación de las ondas de sonido por lo que la ruptura de la pared celular del material vegetal es de mayor rapidez. Un estudio reporta que la cavitación acústica del ultrasonido y el calentamiento de las microondas permitió disminuir la cantidad de disolvente y obtener un 97,4% de licopeno en 6 minutos, mientras que con el empleo solamente del ultrasonido se obtiene 89,4% de licopeno en 29 minutos (Rodríguez, Robaina Mesa, Jáuregui Haza, Blanco González, & Rodríguez Chanfrau, 2014).

### **2.8.1.4 Extracción por fluidos supercríticos**

Los fluidos supercríticos son aquellas sustancias que se encuentran sobre su punto crítico de temperatura y presión. Estos fluidos tienen baja viscosidad, altas tasas de difusión y sin tensión superficial.



Debido a la sensibilidad del licopeno al aumento de temperatura, se desarrolló la técnica de extracción por fluidos supercríticos, siendo el más común el dióxido de carbono que al igual que el propano ha permitido extraer fácilmente el licopeno.

La desventaja del uso de fluidos supercríticos son los altos costos ya que se requiere llegar a la temperatura crítica del fluido pero son solventes amigables al medio ambiente ya que no se utilizan solventes orgánicos. Se ha logrado obtener 31,25 µg licopeno/g de cáscara de tomate a un tiempo de 1,5 horas, 100°C, flujo de 1,5 mL/min, 400 bar y a un tamaño de partícula de 1mm. (Yi et al. 2009). Los porcentajes de recuperación de licopeno varían hasta el 90 % en las condiciones óptimas (Zhao Suoqi).

Otro estudio (Nobre et al. 2009) utiliza los residuos industriales de tomate obteniendo un 93% de eficiencia para una extracción de 5 horas, a 60°C, presión de 300 bar y para un tamaño de partícula de 0,36 mm. Sin embargo, Sabio et al. (2003) reportan que se recupera un 88% de licopeno a un tiempo de 0,16 horas, 80 °C, a 300 bar pero con un tamaño de partícula de 345µm.

Por otro lado, el departamento de Ingeniería Química de Roma, Italia, establece que solo un 50% de licopeno es recuperado utilizando como fluido CO<sub>2</sub> a 60 °C y 30 MPa, debido a la dificultad que tiene el solvente en penetrar y solubilizar el licopeno. (Lavecchia & Zuorro, 2008).

### **2.8.1.5 Extracción por pulsaciones eléctrica**

En este método se aplica descargas eléctricas a la mezcla del solvente con la cáscara de tomate, esto induce la electroporación de las membranas citoplasmáticas, por lo tanto, según dicho estudio, se mejora el proceso de la difusión del soluto localizado en las células, incrementando la extracción hasta un 25%. La importancia de extracción asistida por pulsaciones eléctricas (PE) es el tratamiento no térmico que no afecta la calidad del extracto.

Esta técnica fue aplicada para el estudio de licopeno de tomates con el objeto de optimizar el proceso utilizando menores cantidades de solventes orgánicos. De esta

manera un pretratamiento a 5kV/cm optimizó la extracción de carotenoides por un 39% utilizando como solvente hexano: acetona: etanol a una relación de 2:1:1 por un tiempo de 90 microsegundos. (Luengo, Álvarez, & Raso, 2014).

#### **2.8.1.6 Extracción de Licopeno por degradación enzimática**

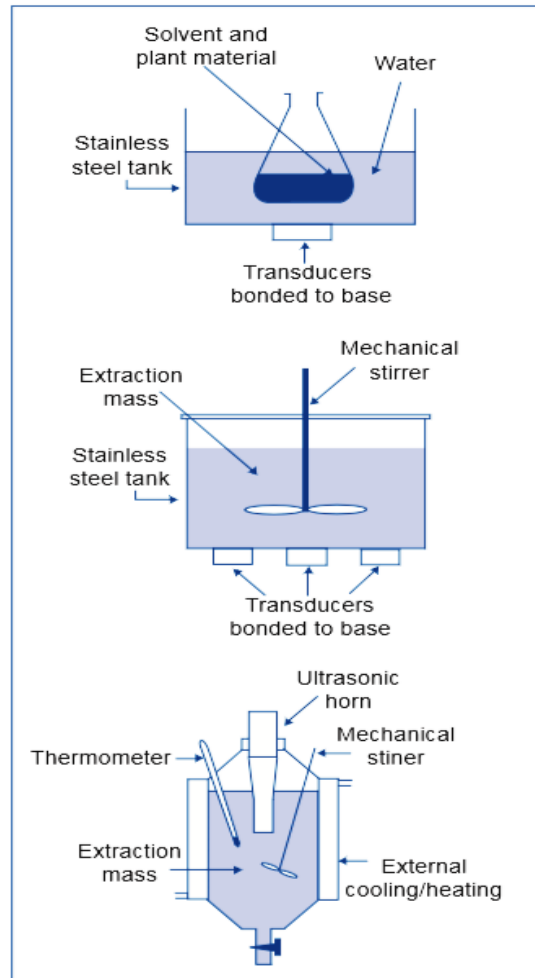
Mediante el uso de enzimas se han podido obtener altas concentraciones de licopeno. Las enzimas utilizadas para la extracción de licopeno de la cáscara de tomate tienen actividad pectinolíticas, celulolítica y hemicelulítica, que después de ser encubadas son extraídas con una mezcla de solventes hexano: acetato de etilo: etanol al 2:1:1 por agitación durante 3 horas, se obtienen 440,2 mg/100 gramos de peso seco. (Lavecchia & Zuorro, 2008).

#### **2.8.1.7 Extracción asistida por ultrasonido (EAU)**

Este método emplea sonidos de alta frecuencia que hacen que las partículas sólidas y líquidas vibren y se aceleren ante la acción ultrasónica, las ondas de ultrasonido producen el efecto de cavitación que facilita la erosión del soluto de la interface superficial de la planta con el fin de desprender el compuesto del material vegetal como resultado el soluto pasa rápidamente de la fase sólida al solvente. Esta técnica es económica y requiere pocos instrumentos, además tiene una alta reproducibilidad, reducción de solvente y de tiempo. (Petrovic, Ivanovic, Milovanovic, & Zizovic, 2012)

En la figura 2-10 se observa los diferentes equipos utilizados en la extracción de sustancias asistida por ultrasonido.

**Figura 2-10 Equipos experimentales utilizados para la extracción asistida por Ultrasonido**



Fuente: (Azuelo & Vargas, 2007)

El ultrasonido también facilita la rehidratación del tejido si está utilizando materiales secos al abrir los poros, lo cual incrementa el transporte de masa de los constituyentes solubles por difusión y procesos osmóticos.

A continuación se presenta las ventajas y desventajas de los diferentes procesos de extracción.

## 2.9 Selección del proceso experimental

**Tabla II-7 Ventajas y Desventajas de Métodos de extracción tradicionales y no tradicionales**

Proceso		Viabilidad	Ventajas	Desventajas
Extracción con solvente	Soxhlet	Es viable	Permite extraer la mayor cantidad debido al reflujo del solvente. Accesible y sencillo de utilizar.	Se extraen en tiempos mayores que en otros métodos. Se utilizan altas relaciones masa soluto El efecto combinado de temperatura y tiempo de extracción puede dar lugar a la isomerización del licopeno. Contaminante al medio ambiente.
	Agitación	Es viable	Utilizado a escala laboratorio e industrial para la obtención de licopeno. Los tiempos de extracción son menores que por soxhlet.	Se extrae cantidades menores que mediante soxhlet. Tiempos de extracción considerablemente altos para extraer mayores cantidades. Contaminante al medio ambiente.
	Extracción asistida por microondas	No se dispone del equipo	La combinación de las microondas con el ultrasonido extrae hasta el 90% de licopeno. El tiempo de extracción es mucho menor comparado solo con el ultrasonido.	Es el control de la temperatura que no debe ser muy alta para evitar la isomerización o degradación del compuesto. El equipo no está disponible Contaminante al medio ambiente.

Proceso		Viabilidad	Ventajas	Desventajas
	Extracción asistida por ultrasonido	Es viable	<p>Los tiempos de extracción son menores comparados con la extracción en soxhlet</p> <p>Permite la ruptura de pared celular, dando lugar a un mejor contacto soluto solvente.</p> <p>La extracción se realiza en baño de agua fría</p>	<p>Tiempos largos de extracción puede dar lugar a la isomerización o degradación del compuesto.</p> <p>Contaminante al medio ambiente.</p>
	Extracción por degradación enzimática	Es viable	<p>Las enzimas permiten la ruptura de pared celular libreando los carotenos de la célula. Se obtiene altos rendimientos.</p>	<p>Se debe trabajar con enzimas con específicas actividades por lo que hace difícil su disponibilidad.</p>
	Extracción por Fluidos supercríticos	No se dispone del equipamiento	<p>Permite altas tasas de difusibilidad.</p> <p>Se trabaja a temperaturas bajas.</p> <p>No es tóxico y es amigable con el medio ambiente ya que no se requieren solventes orgánicos.</p>	<p>Altos costos ya que se requieren equipos especiales.</p>

Fuente: Elaboración propia

### **Selección del proceso de Extracción**

La Universidad no cuenta con un equipo de extractor por fluidos críticos por lo que el método de extracción por solvente orgánico es seleccionado.

La extracción por degradación enzimática requiere del uso de enzimas con actividad pectinolicas, celulolítica y hemicelulolítica, de las que no disponen.

Considerando los equipos disponibles, la extracción puede realizarse en un agitador magnético, un equipo soxhlet o un equipo de ultrasonido.

Para la selección del proceso se describen los factores sometidos a la siguiente calificación; 0, no aplica; 1, deficiente; 3, adecuado y 5 muy bueno

Tabla II-8 Selección del proceso de extracción

Factor evaluado	Comentarios del Evaluador	Calificación		
		Agitador Magnético	Equipo de Soxhlet	Sonicador
Aplicabilidad al proceso Puntaje:20	La extracción de licopeno ha sido realizada en estos tres equipos. Según referencia bibliográfica se ha extraído mayor cantidad en licopeno por soxhlet que por el agitador magnético. (Eliana M. Cardona, 2006) Según un estudio realizado por Gao y Liu el año 2005, el ultrasonido alcanza eficiencias mayores que por soxhlet (Azuelo & Vargas, 2007).	5	5	5
Tiempo de extracción Puntaje:30	Mediante un agitador magnético, el tiempo de extracción óptimo es de 3 horas, mediante soxhlet es de 1 hora a 3 horas y por sonicación entre 20 a 45 minutos	3	3	5
Temperatura de extracción Puntaje:30	Según fuentes bibliográficas, por sonicación se ha extraído el licopeno entre 5 y 40°C. En el equipo de soxhlet la temperatura es la de ebullición del solvente. Por agitación magnética la temperatura óptima es a 50°C.	3	3	5
Costos Puntaje: 20	El costo de operación del ultrasonicador es relativamente más barato comparado con el soxhlet ya que este requiere refrigeración y mayor cantidad de solvente.	5	3	5

Fuente: Elaboración propia

**Tabla II-9 Matriz de Selección**

#	%	Rubros evaluados	Equipo Ultrasonido		Equipo Soxhlet		Agitación Magnética	
1	20	Aplicabilidad al proceso	1	20	1	20	1	20
2	30	Tiempo de extracción	1	30	0,6	18	0,6	18
3	30	Temperatura de extracción	1	30	0,6	18	0,6	18
4	20	Costos	1	20	0,6	12	1	20
Total	100			100		68		72

Fuente: Elaboración propia

La matriz muestra que el método de mayor puntaje es el equipo ultrasonido.

#### **Selección del tipo de solvente**

Para determinar el solvente adecuado se consideró el solvente con mayor capacidad de extracción. En la tabla II-10 se describen las ventajas y desventajas.

Estudios realizados sobre el mejor solvente de extracción reportan que el acetato de etilo es el que se alcanza altos rendimientos a diferencia de otros. (Eliana M. Cardona, 2006); (Roh, y otros, 2013)

Una mezcla de solventes, ha demostrado extraer cantidades comparativas con el solvente de acetato de etilo, sin embargo, a nivel industrial la recuperación de una mezcla de solvente resulta complicado ya que la relación óptima según literatura es de 50:25:25 hexano: acetato de etilo: etanol. (Lavecchia & Zuorro, 2008)



**Tabla II-10 Selección del tipo de solvente**

<b>Tipo de solvente</b>	<b>Ventajas</b>	<b>Desventajas</b>
Acetato de etilo	Extrae altas cantidades de licopeno. Solvente aprobado para aplicaciones en alimentos.	Sustancia no controlada comercialmente, sin embargo, resulta ser poco tóxica al medio ambiente.
Etanol	Este solvente extrae pocas cantidades.	El solvente debe ser calentado hasta su punto de ebullición por lo que daría lugar a la degradación del caroteno. Al ser muy polar extrae otros componentes como ser las xantofilas.
Éter de petróleo	Extrae licopeno pero en menores cantidades que el acetato de etilo	Es sustancia controlada. Extrae otras sustancias como lípidos, que hace necesario un paso adicional, la saponificación.

Fuente: Elaboración propia

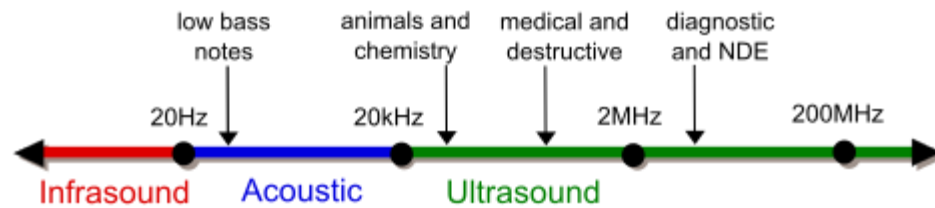
## **2.10 Proceso de Extracción Asistida por Ultrasonido (EAU)**

### **Definición de ultrasonido**

El ultrasonido son ondas de sonido con altas frecuencias que no pueden ser audibles por el oído humano. Los dispositivos de ultrasonido operan con frecuencias desde los 20 kHz hasta varios gigahertz.

Según Instituto Nacional Americano de Estandarización, se define al ultrasonido como sonido a frecuencias mayores a los 20 kHz.

**Figura 2-11 Rango de frecuencias y su aplicación**



Fuente: Ultrasound (Wikipedia, 2016)

En la manufactura moderna se utiliza la prueba ultrasónica que es un tipo de *prueba no-destructiva*, para medir el espesor de materiales como plásticos, metales y otros; las frecuencias varían entre 2 y 10 MHz.

En el campo de la medicina las imágenes generadas por ultrasonido utilizan frecuencias muy altas que van desde los 2 MHz y para microscopios acústicos hasta más de 4 GHz.

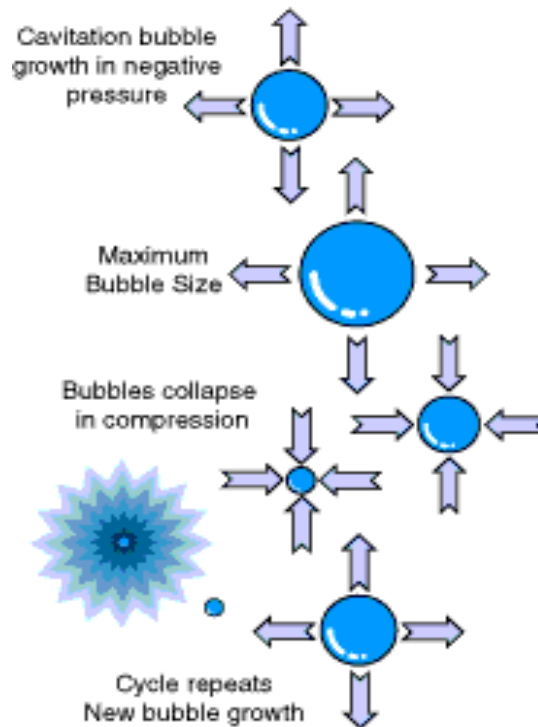
Recientemente, la aplicación del ultrasonido (20-40 KHz) ha sido considerada como una fuente potencial para optimizar procesos químicos industriales, como: homogenización, disolución, emulsificación, aceleración en las reacciones químicas, extracción, cristalización, y otros. Mediante el equipo de ultrasonido se ha extraído eficientemente: aceites esenciales, compuestos aromáticos, isoflavonoides, polifenoles, azúcares, saponinas y pigmentos.

### **Mecanismo de Extracción Asistida por Ultrasonido (EAU)**

El principio de funcionamiento de la extracción asistida por ultrasonido (EAU) es el fenómeno de la cavitación dado por la formación, crecimiento y colapso de burbujas de vapor o gas debido a la acción del campo ultrasonoro dentro de un líquido. El tiempo de vida de las burbujas es del orden de los microsegundos; su implosión violenta genera de manera localizada y transitoria, elevadas temperaturas en el interior de la burbuja y presiones altas. Las imágenes de un microscopio electrónico prueba la evidencia de los efectos mecánicos del ultrasonido, principalmente muestra la destrucción de las paredes celulares. (Rodríguez, Robaina Mesa, Jáuregui Haza,

Blanco Gonzáles, & Rodríguez Chanfrau, 2014); (Petrovic, Ivanovic, Milovanovic, & and Zizovic, 2012).

**Figura 2-12 Cavitación de microburbujas por efecto de sonicación**

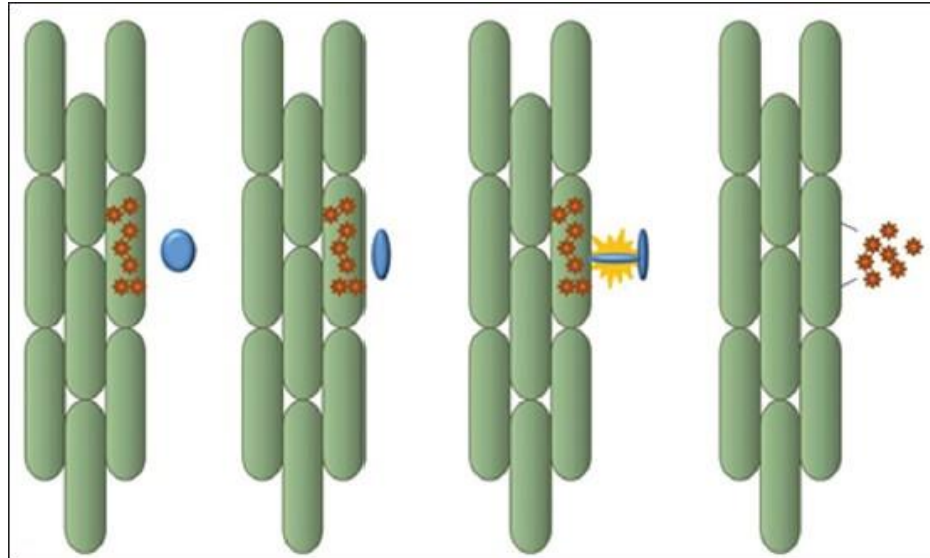


Fuente: (University of Bristol. UK, s.f.)

La extracción por ultrasonido utiliza ondas de una determinada frecuencia a la que las partículas sólidas y el medio líquido vibran y se aceleran por la acción ultrasónica, y como resultado el soluto pasa rápidamente de la fase sólida al disolvente. Este fenómeno es debido a la implosión de las burbujas de cavitación que generan microturbulencias, colisiones entre partículas a gran velocidad y perturbaciones en partículas microporosas de la biomasa, que acelera la difusión interna en forma de remolino. Debido al espacio limitado las burbujas colapsan de forma asimétrica durante la expansión, de esta forma, las turbulencias permiten la circulación de la corriente líquida.

Todos estos efectos físicos provocan la ruptura de la pared celular, la reducción de la partícula y la transferencia de masa.

**Figura 2-13 Ruptura de la pared celular**



Fuente: Intensification of Bioactive compounds extraction from medicinal plants using ultrasonic irradiation (Vardagena, Santos, & Meireles, 2014)

**Principales parámetros a evaluar durante la extracción asistida por ultrasonido**

Durante el proceso de extracción es importante evaluar ciertos parámetros que pueden ser clasificados en dos tipos:

**Tabla II-11 Parámetros a evaluar durante la extracción asistida por ultrasonido**

<b>Parámetros de operación</b>	<b>Parámetros de extracción</b>
Configuración del reactor sonoquímico	Temperatura
Frecuencia e intensidad de la radiación	Tipo de disolvente
Tiempo de sonicación	Relación soluto-disolvente

Fuente: Empleo de la radiación ultrasónica para la extracción de compuestos bioactivos provenientes de fuentes naturales. (Rodríguez, Robaina Mesa, Jáuregui Haza, Blanco Gonzáles, & Rodríguez Chanfrau, 2014).

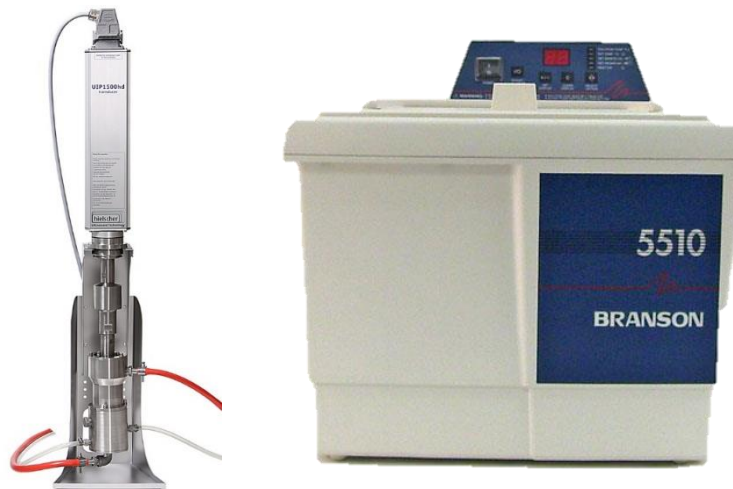
### 2.10.1.1 Configuración del sonicador

Los equipos de ultrasonido son de tipo Horn o probeta y en baño ultrasónico, para estos se emplea generalmente agitación para mantener la temperatura constante. En la figura 2-14 se presentan los dos tipos de equipo ultrasonido.

Los baños ultrasónicos fueron utilizados principalmente para limpieza, pero actualmente son ampliamente utilizados en las investigaciones sonoquímicas. Estos equipos poseen uno o varios transductores en la parte inferior de un líquido como baño que generalmente es agua. El sonicador tipo Horn o probeta es de sonicación directa mientras que el baño ultrasónico es de sonicación indirecta.

Los sonicadores de tipo Horn extraen mayor material pero al ser de sonicación directa las altas frecuencias pueden degradar el compuesto de interés o afectar la calidad de componentes lábiles. Los baños ultrasónicos tienen la ventaja de ser más baratos y operables.

**Figura 2-14. Equipo de ultrasonido tipo Horn y en baño ultrasónico**



Fuente: (Hielscher Ultrasonic gmbh, 2015) and (WA Brown and Virginia Corporation, 2014)

### **2.10.1.2 Frecuencia e intensidad de la radiación**

La frecuencia empleada está entre 20 y 100 kHz en un intervalo de potencia de 100 a 800 W. A frecuencias de 20 kHz prevalecen los efectos físicos del EAU, que determina la extracción efectiva de los componentes sin que se produzcan fenómenos de degradación de los metabolitos presentes.

Con el incremento de la frecuencia y la potencia puede darse la degradación sonoquímica del producto de interés, ya que empiezan a darse reacciones del sustrato con los radicales libres prevaleciendo de esta manera el mecanismo sonoquímico sobre el sonomecánico.

### **2.10.1.3 Tiempo de sonicación**

Es importante determinar el tiempo de irradiación ultrasónica ya que a mayor exposición se puede influir en la calidad del producto y el rendimiento. El tiempo estimado de extracción depende del tipo y estructura de la pared celular del material vegetal, del grado de penetración del disolvente en el material y la resistencia de la masa de los constituyentes solubles a ser transferidos por difusión de la parte interna del material al disolvente. El tiempo de sonicación se encuentra entre los 120 y 3600 segundos.

Según un estudio realizado sobre la extracción con radiación ultrasónica para compuestos bioactivos, (Rodríguez y otros, 2014), la extracción de licopeno del tomate permitió disminuir la cantidad de solvente utilizado y obtener un 89,4% de licopeno en 29 minutos.

### **2.10.1.4 Temperatura**

En el sonicador en baño se emplean temperaturas inferiores a los métodos tradicionales. El baño ultrasónico puede calentar como enfriar según los requerimientos en la extracción.

Para compuestos sensibles a efectos térmicos se debe mantener un baño frío para evitar la degradación o isomerización durante la extracción ya que durante este proceso aumenta la temperatura en 4°C o más dependiendo del tipo de extracción.

El licopeno es un compuesto estable en su matriz natural pero aislado o extraído es muy lábil. (Fernández, Pitre, Llbregat, & and Rondón, 2007).

### 2.10.1.5 Tipo de disolvente y relación soluto-disolvente

Las propiedades químicas del disolvente, su concentración y relación soluto-disolvente son aspectos importantes para una extracción eficiente.

En este tipo de extracción la capacidad del disolvente de absorber y transmitir la energía de la onda ultrasónica determina la eficiencia del proceso. Las propiedades físicas del disolvente influyen directamente en el proceso de cavitación. La intensidad de cavitación aumenta cuando se utilizan disolventes de baja tensión superficial, presión de vapor y viscosidad.

A continuación se resume las cantidades de licopeno obtenidas por diferentes autores mediante extracción asistida con ultrasonido.

**Tabla II-12 Cantidad de licopeno obtenido por Extracción Ultrasónica**

Tipo de muestra	Relación soluto solvente	Tiempo min	Temp. de baño °C	Potencia (W)	Concentración mg/g
Tomate Seco <sup>(1)</sup>	1:80	50	45	110 W	5,11+/- 0,27
Cáscara de tomate <sup>(2)</sup>	1:35	30	5	90 W	0,09
Cáscara de tomate <sup>(3)</sup>	1:5	45	50	270W	0,250

Fuente: Elaboración propia

- (1) Novel Modified Ultrasonication Technique for the Extraction of Lycopene from Tomatoes. (School of Chemical Sciences, Univeresiti Sains Malaysa, Malaysa, 2012).
- (2) Ultrasound Assited Extraction of Lycopene from Tomato processing wastes (Seher, Tunkay, & and Sebnem, 2014).
- (3) Lycopene from tomato peel: Optimization of Ultrasonic Assisted Extraction methodology and identification by high performance liquid chromatography. (Wang, Xiaokun, & and Wang, 2015)

La variación de la potencia no incrementa significativamente el rendimiento, en el estudio de *Ultrasound Assisted Extraction of Lycopene from Tomato processing wastes*, un incremento en la potencia; en las condiciones óptimas de relación y tiempo de 1:35 y 30 minutos, de 50, 65 y 90 W se extraen 86,2, 87 y 89,9 mg de licopeno/Kg.

En el estudio realizado por (Wang, Xiaokun, & Wang, 2015) la cantidad de licopeno obtenido aumenta al incrementarse la temperatura hasta 50°C y posteriormente se mantiene relativamente constante; a la temperatura de 30° C se obtiene 230 mg/Kg y a 50°C, 250 mg/Kg.

Otro estudio reporta que las condiciones óptimas la extracción de licopeno es 90 Watt por 40 minutos a una relación de 1:35 soluto; solvente y a temperaturas menores a 60°C. (S., T., & Tavman, 2014). Sin embargo, otros autores recomiendan trabajar a temperaturas bajas como en baños de hielo para evitar la degradación de licopeno al ser este un compuesto lábil.

En la tabla anterior se puede observar que la mayor cantidad de licopeno (5.11 mg/g) fue extraído a partir de tomate liofilizado, ya que dicho proceso permite obtener partículas de menor tamaño y mínimas pérdidas por degradación de los componentes.

### **2.11 Factores que influyen en el proceso de obtención**

Los carotenoides, debido a la alta conjugación de enlaces dobles presentes en la molécula, se descomponen por efecto de la *luz, temperatura y el aire*. La luz favorece las reacciones fotoquímicas que cambian la estructura original de carotenoide, por ejemplo de trans a cis. El calor favorece las reacciones térmicas de degradación. El aire debido al oxígeno favorece la oxigenación de los enlaces dobles a funciones epóxido, hidróxidos y peróxidos entre otros. Por estas razones la extracción de licopeno debe realizarse en ausencia de luz, temperatura ambiente y preferiblemente en ausencia de oxígeno. Debe ser lo más rápido posible para evitar la degradación conjunta de los factores adversos. (Martínez Martínez, 2003).

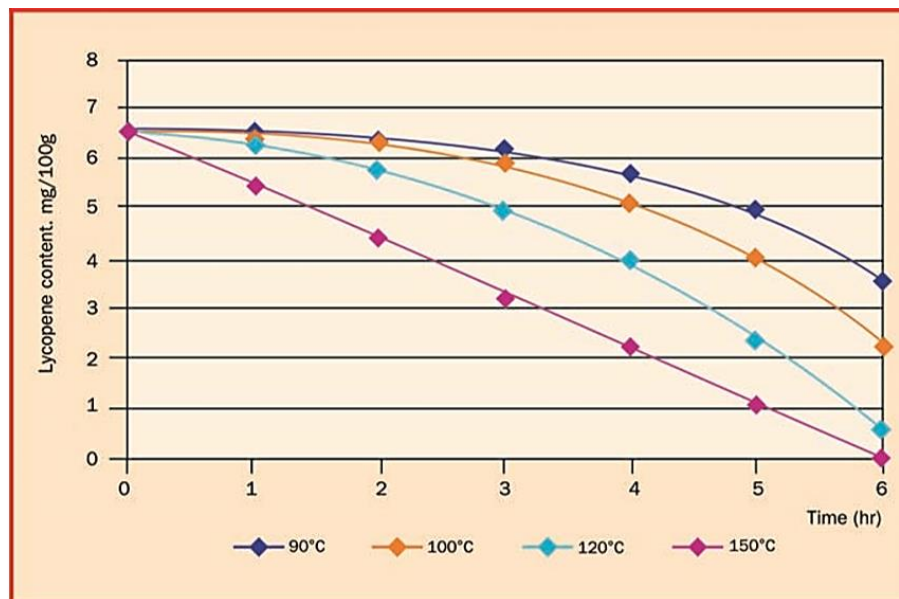


## Calor

Se han realizado experimentos sobre la estabilidad de licopeno por calentamiento utilizando licopeno estándar disuelto en hexano y a calentamientos de 50°C, 100°C y 150°C. A 50°C por 9 horas no hubo un cambio significativo en la isomerización de la conformación trans a cis licopeno, sin embargo un calentamiento posterior dio lugar a la degradación. Este estudio demuestra que la principal reacción es la de isomerización y luego la de degradación. Un calentamiento a 100°C por 120 minutos reduce el nivel de trans-licopeno en un 78%. Por otro lado, un calentamiento a 150°C el trans-licopeno muestra un grande descenso en la concentración, después de 10 minutos todo el licopeno es degradado y no es detectado.

La siguiente gráfica muestra el efecto del calentamiento en la degradación de licopeno.

**Figura 2-15 Efecto del tratamiento térmico en la degradación total de licopeno**



Fuente: Stability of Lycopene During Food Processing and Storage (Food Ingredients Brasil, 2008)

## **Luz**

Un estudio reporta que el contenido de trans-licopeno se reduce en un 94% después de haber expuesto una solución de licopeno estándar disuelto en hexano a una intensidad de luz de 2000 y 3000 lux a 25 °C por 144 horas. El estudio indica que los isómeros cis incrementan en un principio y que después de dos horas disminuyen.

Otro estudio realizado reporta que el almacenamiento de muestras de pulpa de tomate en diferentes condiciones; al vacío y oscuro, con aire y oscuro, aire y luz a -20°C, 5°C y 25°C, por 60 días. Las pérdidas de licopeno son altas en presencia de aire y luz a 25°C y bajas al vacío y en la oscuridad. Por esta razón, el extracto de licopeno debe ser almacenado en ausencia de luz.

## **Oxígeno**

Varios estudios reportan que existen mínimas pérdidas de licopeno cuando el producto es almacenado al vacío y en oscuridad.

La presencia de oxígeno puede desestabilizar el licopeno tres veces más que cuando se encuentra sin oxígeno.

### **2.12 Purificación de licopeno**

La cromatografía es una técnica de separación e identificación de componentes de una mezcla. El principio básico es que los componentes en una mezcla tienen diferentes tendencias a adsorberse en una superficie o disolverse en un solvente. Este método es una poderosa herramienta utilizada a nivel industrial para purificar productos. (The Royal Society of Chemistry, 1997)

#### **Cromatografía en capa fina**

Para ello se utiliza platos de silica gel o alúmina, se trata de una cantidad pequeña de silica o alúmina soportada y adherida en papel aluminio o una lámina de plástico. La cromatografía en capa fina tiene como objeto separar cantidades pequeñas de compuestos para identificarlos. También es utilizado con el fin de determinar el eluyente adecuado para la separación de una mezcla, ya que en una columna tendría

el mismo comportamiento. Para tener una buena separación es importante que el factor de retención  $R_f$ , tenga un valor entre 0,3 y 0,5.

$R_f = \text{distancia recorrida por el compuesto} / \text{distancia recorrida por el solvente}$

### **Cromatografía en columna**

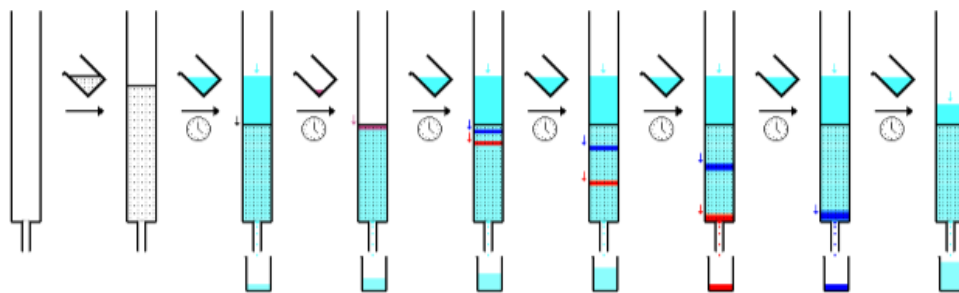
La cromatografía en columna permite separar cantidades considerables para purificar los componentes ya que la cromatografía en papel solo permite identificar.

La columna es una representación de la cromatografía en papel, comprende una columna de vidrio rellena con silica gel o alúmina; esta comprende la fase estacionaria y el eluyente, la fase móvil, es el solvente que puede ser una mezcla de solventes o un solvente puro. Generalmente se empieza a eluir los componentes menos polares y posteriormente los más polares. Si el eluyente es una mezcla su composición se determina mediante cromatografía en capa fina.

Los componentes se separan en función a su polaridad entre la fase estacionaria y la móvil. Por ello es considerado un método importante de purificación ya que se logran obtener compuestos de alta pureza.

Bajo determinadas condiciones el soluto será separado entre el adsorbente y el eluyente, el coeficiente de partición determina la eficiencia de la separación en cromatografía, el coeficiente de partición es determinado entre la solubilidad del soluto en las dos fases.

**Figura 2-17 Separación de componentes en Columna**



Fuente: (Environmental Chemistry Lab, 2014)

De manera general, la cantidad de alúmina o silica gel debe ser 30 veces más que la cantidad de muestra, y la altura de columna debe ser al menos 10 veces el diámetro.

El empaquetado de la columna es uno de los procesos críticos para alcanzar exitosamente la separación. La muestra a separar puede ser un sólido o una solución concentrada. En el momento de la elución los componentes se separan en bandas correspondientes al número de componentes de la mezcla y la relatividad entre sus polaridades.

El método para el empaquetado de la columna puede ser en seco o en húmedo con el solvente eluyente.

### **Cristalización de licopeno**

La cristalización es un método de purificación en el que se satura una solución hasta que precipiten los cristales en baño frío.

Los cristales de licopeno son de tipo aguja y de varios tamaños.

**Figura 2-17 Cristales de licopeno observados mediante microscopio**



Fuente: (Kaur, Singh, & Agrawal, In vitro anti-proliferative Activities of Lycopene against prostate, lung, colon and breast cancer cell lines, 2014)

Debido a que los cristales son de diferentes tamaños y muy pequeños, al ser filtrados y secados tienen la siguiente apariencia:

**Figura 2-18 Licopeno sólido**



Fuente: Lycopene (Wikipedia, 2016)

### **Identificación cualitativa**

El licopeno puede identificarse por el cambio de color que sufre al reaccionar con ciertas sustancias:

- El licopeno disuelto en ácido sulfúrico concentrado imparte un color azul índigo
- Adicionando una solución de tricloruro de amoníaco y cloroformo en una solución de licopeno en cloroformo se produce un inestable color azul.

### **2.13 Análisis del extracto de Licopeno**

#### **Identificación de Licopeno**

El licopeno es un compuesto cromóforo por lo que puede analizarse mediante espectroscopia UV-vis o mediante HPLC (High Performance Liquid Chromatography).

A través de la máxima absorción a una longitud de onda ( $\lambda_{max}$ ) y por la forma del espectro se puede indentificar diferentes tipos de compuestos cromóforos. En el ANEXO V se presentan las Absorbancias UV/Visible de diferentes carotenoides

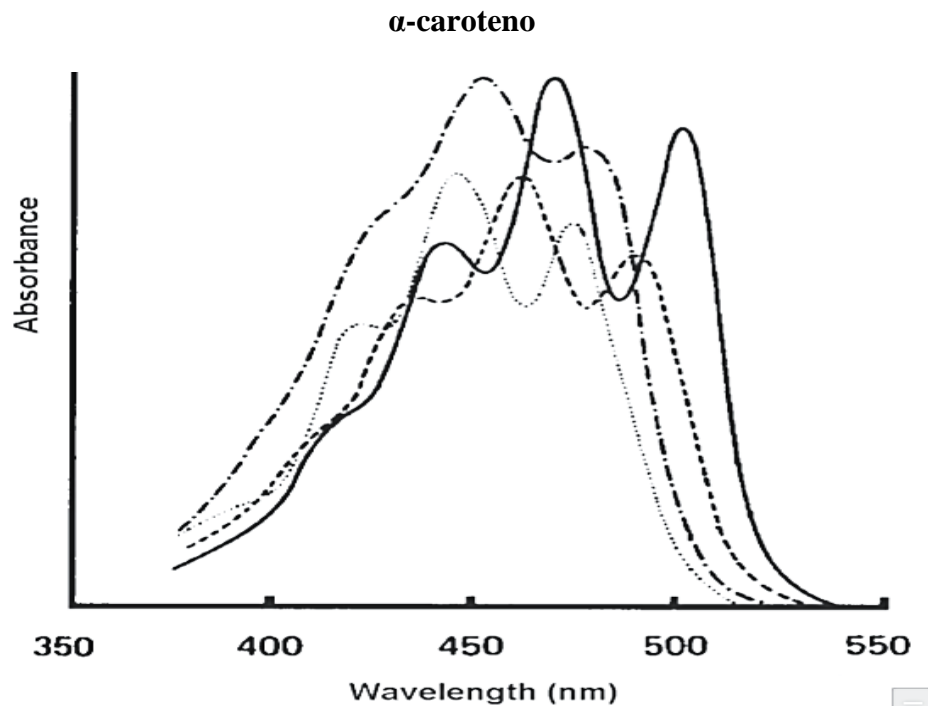
La mayoría de los carotenoides tienen absorbancias a tres longitudes de ondas, resultando un espectro con tres picos. A medida que aumenta el número de dobles

enlaces conjugados la longitud de onda es mucho mayor. El licopeno es el carotenoide más insaturado con 11 enlaces conjugados, presenta las máximas absorbancias a las longitudes de onda de 444, 470 y 502 nm en éter de petróleo.

La ciclización de la cadena de polienos causa un desplazamiento de la onda máxima de absorción a una más corta por lo que decrece la absorbancia y el espectro pierde afinidad.

La molécula  $\beta$ -caroteno es dicíclico aunque posee el mismo número de enlaces dobles; al igual que el licopeno es de color amarillo-naranja y tiene los picos de absorbancias a las longitudes de onda de 450, 477 y 425 nm. En la siguiente figura se observa los espectros de identificación de los carotenos.

**Figura 2-19** Espectro de absorción visible del licopeno,  $\gamma$ -caroteno,  $\beta$ -caroteno y



Donde: ( — ) Licopeno,  $\gamma$ -caroteno (---),  $\beta$ -caroteno (-.-.-) y  $\alpha$ -caroteno (....) en éter de petróleo.

Fuente: Harvest Plus Handbook for Carotenoids Analysis by (Rodríguez, Amaya, & Kimura, 2004)

### **Cuantificación de Licopeno**

Los carotenoides en solución obedecen la ley de Lambert-Beer, lo que significa que la absorbancia es directamente proporcional a la concentración. Algunos coeficientes de absorción son publicados y permiten una rápida medición.

#### **Según la ley de Beer:**

$$A = \varepsilon * l * c \quad Ec.1.1$$

Donde

A es la absorbancia (adimensional)

$\varepsilon$ , es la absortividad molar (L/mol cm)

$l$ , es el espesor de la cubeta que contiene la muestra (cm)

$c$ , Concentración de la solución (mol/L)

CAPÍTULO III  
PARTE EXPERIMENTAL



## **Capítulo III**

### **Metodología de la Investigación**

#### **3.1 Descripción del método de investigación**

En las industrias de salsa de tomate o pasta los residuos generados, como ser; cáscaras y semillas de tomate, que pueden ser utilizados como materia prima para la extracción de compuestos bioactivos. La presente investigación brinda una alternativa para el aprovechamiento de estos residuos, específicamente de la cáscara de tomate para la extracción del carotenoide licopeno.

Para el desarrollo del presente proyecto, la parte experimental comprende de dos partes, la primera consiste en la obtención de licopeno patrón. Para ello, se utilizan los métodos de purificación en columna y cristalización para que a partir del licopeno recristalizado se elaboró la curva patrón mediante espectrofotometría.

La segunda parte comprende el desarrollo del diseño experimental donde se cuantifica el licopeno extraído mediante la curva patrón realizada en la primera parte.

En el siguiente diagrama se describe el proceso de obtención de licopeno patrón.

### 3.1.1 Proceso de obtención de licopeno patrón

#### Diagrama de Bloques III-1

##### Proceso de obtención de Licopeno Patrón



Fuente: Elaboración propia

Antes del desarrollo experimental se detallan los materiales y reactivos utilizados; en el ANEXO III se describen las especificaciones de los equipos e instrumentos utilizados.

**Tabla III-1 Material de laboratorio**

<b>Material</b>	<b>Especificación</b>	<b>Cantidad</b>
Buretas	50 ml	2
Soporte Universal	-	1
Pinza nuez	-	1
Cristalizador	-	1
Vasos de Precipitación	50 ml	1
Frascos Ámbar	-	10
Frascos de vidrio	1,5 ml	15
Espátula	-	1
Micropipetas	0,5-10 $\mu$ l, 10-100 $\mu$ l y 100-1000 $\mu$ l	3
Probetas	25 y 50 ml	2
Balón Aforado	500 ml	1
Papel Silica Gel	láminas de 20x20	1
Silica Gel	En polvo para cromatografía en columna (gramos)	100
Papel Filtro	110 mm	10
Tubos para centrifugadora	Tubos Falcom, 50 ml	20
Bandejas de acero	Para secado	1
Guantes	Tipo común y especial de nitrilo para compuestos orgánicos.	20
Pipetas Pasteur	Vidrio	5
Papel parafilm	Rollo	1

Fuente: Elaboración propia

Los reactivos utilizados son:

- Acetato de etilo; para la extracción del licopeno y el desarrollo del diseño experimental.
- Diclorometano; para disolver los carotenoides precipitados
- Etanol; para la extracción de licopeno patrón y para la preparación de solución etanólica de hidróxido de potasio para la saponificación
- Ácido sulfúrico concentrado; para la identificación cualitativa de licopeno y para la preparación de la solución reveladora para cromatografía en papel de silica gel.

#### **3.1.1.1 Recolección de la materia prima**

El tomate de la variedad pera es proveniente de la comunidad La Merced ubicado en la provincia Arce.

**Figura 3-1 Tomate variedad pera proveniente de la comunidad La Merced**



Fuente: Elaboración propia

#### **3.1.1.2 Caracterización de la materia prima**

Los tomates utilizados fueron maduros y de color rojo intenso provenientes de la comunidad La Merced ubicada en la provincia Arce.

Para caracterizar a la materia prima se determinaron parámetros como ser; humedad, sólidos solubles, pH y acidez en el Centro de Análisis, Investigación y Desarrollo. CEANID.

### **3.1.1.3 Acondicionamiento de la materia prima**

Para la obtención de las cáscaras de tomate se siguió el mismo proceso que la elaboración de pasta de tomate. Para ello se siguieron los siguientes procedimientos:

- Selección de los tomates; se seleccionaron los tomates frescos y maduros, con un buen color y en buen estado.
- Lavado y secado.
- Pesado; se pesaron los tomates para cuantificar la cantidad de cáscara que se obtiene.
- Escaldado; los tomates se sometieron en agua hirviendo durante 3 minutos, dicho proceso permite la desactivación de las enzimas que dan lugar a la oxidación de materia y además, permite la lisis celular para facilitar la extracción de licopeno.
- Separación de pulpa y cáscara de tomate; la separación fue manual.

### **3.1.1.4 Triturado**

La cáscara de tomate separada de las semillas es triturada en el picador eléctrico con el fin de que la cáscara tenga el menor tamaño posible.

### **3.1.1.5 Secado**

Para mejorar el área de transferencia entre el solvente y la cáscara de tomate se deshidrató parcialmente la pasta de cáscara que contenía una humedad inicial que oscilaba entre el 90 y 92%.

Se utilizó un secador al vacío, que a diferencia de los secadores convencionales, evita la oxidación del licopeno durante el secado.

Para secar parcialmente, se elaboró la curva de pérdida de peso versus tiempo para determinar el tiempo de secado a una humedad parcial final.

**Figura 3-2 Cáscara de tomate triturada**



Fuente: Elaboración propia

Se tomaron en cuenta temperaturas por debajo de los 100°C para evitar la degradación e isomerización del licopeno (Food Ingredients Brasil, 2008).

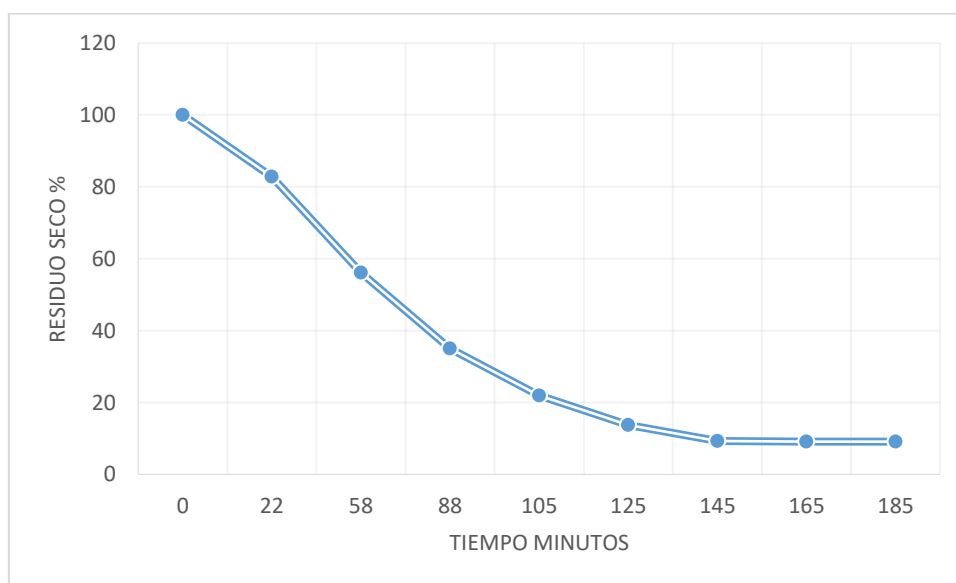
Para realizar la curva de secado se pesó una determinada cantidad de cáscara de tomate y se secó a temperaturas de 60 y 70 °C. Para cada temperatura se repitió el proceso de secado.

Durante las pruebas se observó un mejor color para los 70°C con un tiempo de secado de 3 horas hasta masa constante.

**Tabla III-2 Datos de elaboración de curva de secado a 70°C**

Tiempo (minutos)	Masa de muestra (gramos)	Residuo seco %
0	82,29	100,00
22	68,12	82,78
58	46,18	56,12
88	28,83	35,04
105	18,03	21,91
125	11,31	13,74
145	7,67	9,32
165	7,48	9,09
185	7,48	9,09

Fuente: Elaboración propia

**Figura 3-3 Curva de Secado**

Fuente: Elaboración propia

Se secó durante un tiempo de dos horas y diez minutos; para este tiempo la humedad final fue 11%.

**Figura 3-4 Cáscara de tomate seco al 11% de humedad**



Fuente: Elaboración propia

### **3.1.1.6 Extracción**

La extracción se realizó en el ultrasonicador, con acetato de etilo a una relación masa: solvente de 1:8 para un peso de 26 gramos de cáscara de tomate seca.

Se preparó el baño de agua del sonicador a una temperatura de 20°C, se introdujeron siete tubos Falcom cada uno con 4 gramos de cáscara y 32 ml de solvente, se realizó la sonicación durante 20 minutos.

Antes y después de la extracción se agitó cada uno de los tubos durante unos minutos para mejorar el área de transferencia.



**Figura 3-5 Cáscara de tomate y solvente en tubos Falcom**



Fuente: Elaboración propia

### **3.1.1.7 Separación y filtración**

Después de la extracción se separan las fases, oleosa y sólida, en la centrifugadora. Las fases oleosas separadas de cada extracción son almacenadas en un frasco color ámbar para proteger al extracto de la luz.

**Figura 3-6 Centrifugación del extracto**



Fuente: Elaboración propia

**Tabla III-3 Parámetros de control de la centrifugadora**

<b>Número de g</b>	<b>40000</b>
<b>Temperatura</b>	<b>4°C</b>
<b>Tiempo</b>	<b>20 minutos</b>

Fuente: Elaboración propia

**Figura 3-7 Fase oleosa filtrada y separada**

Fuente: Elaboración propia

La fase oleosa separada es filtrada para evitar la presencia de partículas pequeñas de cáscara de tomate que perjudiquen los procesos posteriores. Se obtuvieron aproximadamente 200 ml de fase oleosa.

### **3.1.1.8 Evaporación**

Se realizó la evaporación del solvente del extracto obtenido hasta formar una solución concentrada donde empiezan a precipitar los primeros cristales.

**Tabla III-4 Parámetros de control del rota-evaporador**

<b>Temperatura de baño</b>	<b>40 °C</b>
<b>RPM</b>	<b>30</b>
<b>Presión de vacío</b>	<b>575,62 mbar</b>

Fuente: Elaboración propia

**Figura 3-8 Evaporación del Extracto de licopeno**



Fuente: Elaboración propia

Como se puede observar, el extracto está cubierto con papel aluminio para su protección de la luz.

### **3.1.1.9 Cromatografía en capa fina y en columna de Licopeno**

La cromatografía en capa fina llamada también TLC (Thin Layer Chromatography) permite separar los componentes de una mezcla para identificarlos, estos se separan por la diferencia relativa de polaridades entre los componentes.

Este método de purificación es llamado Cromatografía en columna Abierta, o de sus siglas en inglés OCC (Open Column Chromatography).

#### **3.1.1.9.1 Cromatografía en capa fina**

Para la identificación de los carotenoides se realizó la corrida del extracto en papel de sílica gel.

Mediante esta cromatografía además de identificar los carotenoides se definió el solvente a utilizar como eluyente para la cromatografía en columna. Para ello se realizaron pruebas de mezclas de solventes en distintas proporciones con el fin de definir la polaridad del eluyente que separe mejor los carotenoides.

Se probaron los siguientes sistemas:

- Mezcla acetato etilo: éter al 0,5, 0,7 y 1 %
- Mezcla de Diclorometano al 5, 10 y 15%

Para realizar la cromatografía en capa fina se utilizó un vaso de precipitado en el que se añadió el solvente, el nivel del mismo debe estar por debajo de la línea marcada donde se siembra la muestra en el papel de silica, se tapa el vaso con parafilm y se agita un poco para que el medio esté lleno de vapores del solvente.

De las mezclas utilizadas se observó una buena separación para la mezcla acetato de etilo: éter al 0,7%. Sin embargo, cuando el extracto ha precipitado, los cristales se disuelven mejor en una mezcla de diclorometano al 10%

**Figura 3-9 Cromatografía en capa fina**

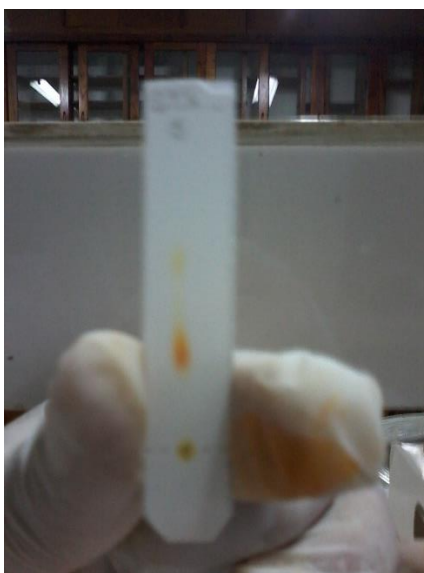


Fuente: Elaboración propia

Para la siembra de la muestra se cortó el papel de sílica las dimensiones fueron de 1,5 cm por 6 cm, se marcó la línea de partida a 1 cm de la base y se sembró la muestra, se dejó secar el solvente y se sometió en el vaso de precipitado. Se hizo correr la muestra y se controló que el eluyente llegue hasta medio centímetro por debajo de parte superior del papel.

Luego se dejó secar el papel y se cubrió con la solución reveladora para conservar las manchas de cada componente. La solución reveladora está compuesta por etanol al 0,1% de ácido sulfúrico concentrado.

**Figura 3-10 Extracto separado por cromatografía en capa fina**



Fuente: Elaboración propia

#### **3.1.1.9.2 Cromatografía en Columna**

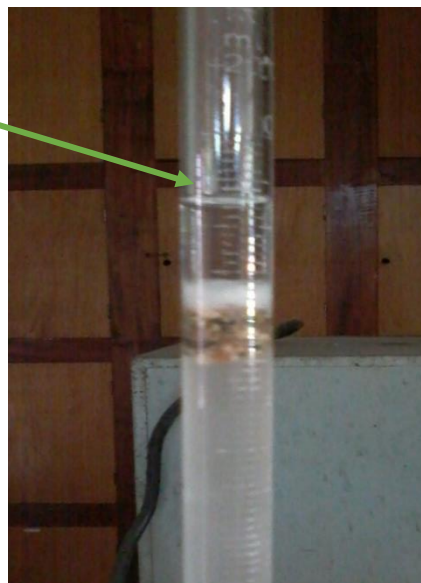
Para preparar la columna se lavaron las buretas con etanol previamente. Para definir el tamaño de columna se pesaron 10 gramos de sílica para un mililitro y medio de extracto concentrado.

En la base de la columna se introdujo algodón para evitar el taponamiento por la sílica en la llave de la bureta. Se añadió solvente para humedecer el algodón y se descargó para evitar la presencia de burbujas.

La silica fue mezclada en un vaso de precipitado con éter y se removi6 para evitar la presencia de burbujas. Antes de a11adir la silica se a11adi6 solvente en la columna hasta la tercera parte y se a11adi6 poco a poco la silica, se dej6 la llave abierta para que pueda empacarse bien la columna.

Una vez empacada la columna se dej6 correr el solvente hasta que quede 2 ml por encima de la superficie de la silica y se cerr6 la llave, se introdujo arena de mar y algod6n para que pueda el extracto distribuirse de manera homog6nea.

**Figura 3-11 Columna empacada con silica gel**



Columna empacada con silica gel, de 30 cm de altura, imagen acercada para observar la arena de mar y el algod6n

Fuente: Elaboraci6n propia

Se añadió el extracto concentrado y se abrió la llave para que la columna empiece a correr y se separen los componentes.

**Figura 3-12 Corrida de la columna**



Fuente: Elaboración propia

En estas figura se puede observar la corrida del extracto y la separacion de los carotenoides, la banda amarilla (b-caroteno) seguida de la banda roja perteneciente al licopeno.

Primero se realizó la corrida con éter, luego el licopeno eluye utilizando la mezcla de acetato de etilo al 0,7%.

**Figura 3-13 Fracciones obtenidas de la columna**

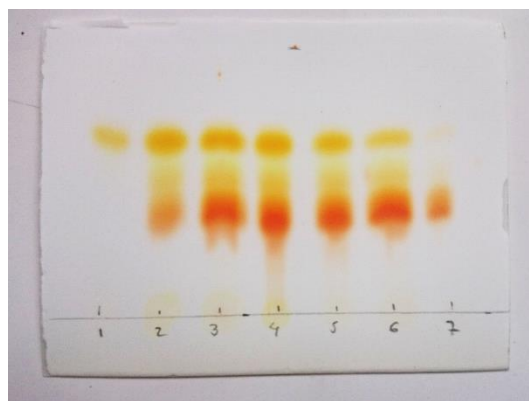


Fuente: Elaboración propia

La primera fracción de banda amarilla correspondiente a b-caroteno, la segunda y la tercera son mezclas de  $\gamma$ -caroteno, licopeno y vestigios de b-caroteno, la cuarta corresponde a la de licopeno y vestigios de  $\gamma$ -caroteno, y la quinta a la mezcla de licopeno y xantofilas.

Las fracciones correspondientes a la banda roja pertenecen al compuesto de licopeno, el mismo se evapora hasta tener una solución saturada, esta solución se llevó a un baño de hielo para su cristalización.

**Figura 3-14 Cromatografía en capa fina de las fracciones purificadas**



Fuente: Elaboración propia



Como se observa, la primera corrida comprende b-caroteno y es la primera fracción, la segunda y tercera fracción son mezclas de b-caroteno, b-caroteno,  $\gamma$ -caroteno y licopeno, comprenden la segunda y tercera corrida. La cuarta y la quinta corrida comprenden a la misma fracción, es decir, la cuarta, la sexta y séptima corrida pertenecen a las fracciones sobre las que dejó una cola el licopeno.

### 3.1.1.10 Cristalización

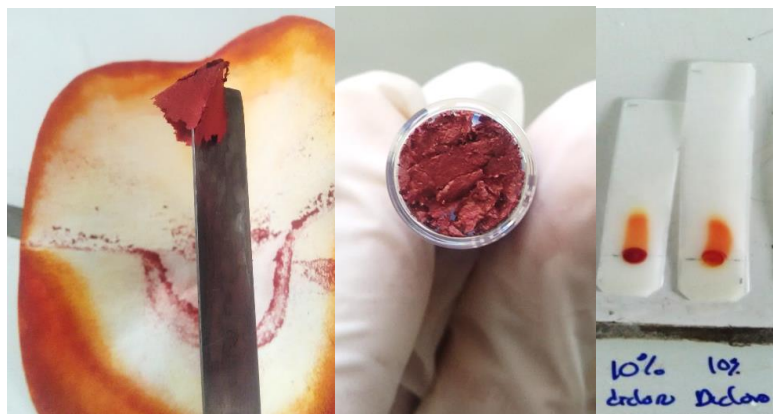
Se cristalizó las fracciones de licopeno en baño de hielo, se filtraron los cristales y se los lavo con etanol frío.

**Figura 3-15 Cristales en solución saturada**



Fuente: Elaboración propia

**Figura 3-16 Cristales y cromatografía de capa fina**



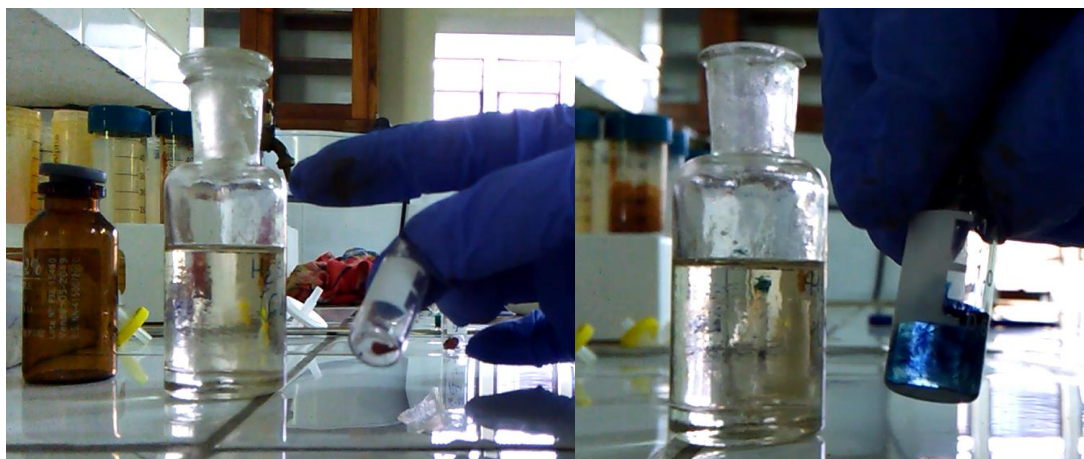
Fuente: Elaboración propia

Como se observa en la figura 3-16 los cristales solo presentan corrida de licopeno.

### 3.1.1.11 Prueba Cualitativa de Licopeno

Para identificar el licopeno se procedió a adicionar ácido sulfúrico concentrado a una cantidad de cristales de licopeno. El resultado observado fue el cambio de color rojo a azul índigo, lo que indica la presencia de licopeno.

**Figura 3-17 Prueba de identificación cualitativa de Licopeno**



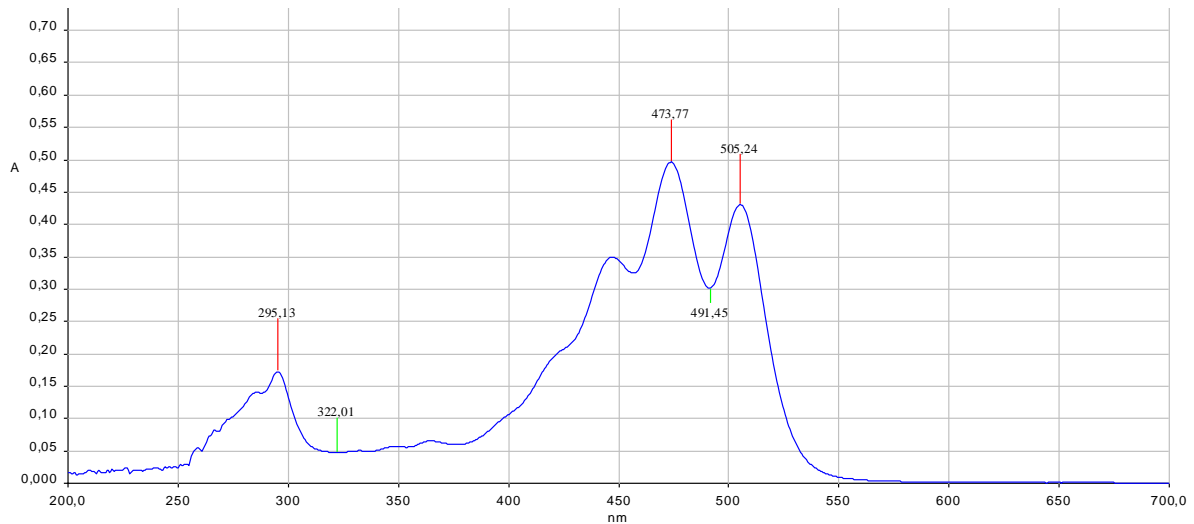
Fuente: Elaboración propia

En la primera imagen se observa el licopeno en el frasco vacío y en la segunda imagen en solución con el ácido sulfúrico, se observa el cambio de color a azul índigo lo que demuestra la presencia de licopeno.

### 3.1.1.12 Espectro de licopeno en UV-Vis

El siguiente espectro obtenido es de los cristales disueltos en acetato de etilo.

**Figura 3-18 Espectro de licopeno UV-Vis**



Fuente: Cristales de licopeno analizados en los laboratorios de ciencias puras de la Universidad Mayor de San Andrés. Desde los 400 a 700 nm en medio de acetato de etilo.

Las máximas absorbancias son a las longitudes de onda de 440, 473,77 y 505,24 nm. Para la elaboración de la curva patrón se mide las absorbancias a la longitud de onda de 473,77 nm ya que a esta pertenece la máxima absorbancia.

Debido a que los cristales no se disuelven completamente en acetato de etilo, se disolvió estos en diclorometano; de esta solución se tomó 10  $\mu$ litros y se enrasó hasta 1,5 ml con acetato de etilo.

### 3.1.1.13 Elaboración de la curva espectrofotométrica

Se pesó el licopeno obtenido y se preparó la solución madre y las hijas con sus respectivas réplicas.

**Figura 3-19 Solución madre e hijas para la elaboración de la curva espectrofotométrica**



Fuente: Elaboración propia

- Solución madre (SM)

Se pesó 2 mg de licopeno sólido purificado y se disolvieron en 5 ml de acetato de etilo al 20% en diclorometano.

$$\text{Concentración (ppm)} = \frac{2 \text{ mg}}{5 \text{ ml}} * 1000$$

$$\text{Concentración (ppm)} = 400$$

Las soluciones hijas se prepararon a concentraciones de 1, 2, 4, 6, 8, 10 y 20 ppm, los volúmenes a tomar de la solución madre fueron calculados de la siguiente manera:

$$V = \frac{\text{ppm} * 5\text{ml}}{400\text{ppm}} \quad \text{Ec 2.1}$$

- Soluciones hijas

$$V_1 = \frac{20 \text{ ppm} * 5 \text{ ml}}{400 \text{ ppm}} V_1 = 0,250 \text{ ml}$$

$$V_2 = \frac{10 \text{ ppm} * 5 \text{ ml}}{400 \text{ ppm}} V_2 = 0,125 \text{ ml}$$

$$V_3 = \frac{8 \text{ ppm} * 5 \text{ ml}}{400 \text{ ppm}} V_3 = 0,100 \text{ ml}$$

$$V_4 = \frac{6 \text{ ppm} * 5 \text{ ml}}{400 \text{ ppm}} V_4 = 0,075 \text{ ml}$$

$$V_5 = \frac{4 \text{ ppm} * 5 \text{ ml}}{400 \text{ ppm}} V_5 = 0,050 \text{ ml}$$

$$V_6 = \frac{2 \text{ ppm} * 5 \text{ ml}}{400 \text{ ppm}} V_5 = 0,025 \text{ ml}$$

$$V_7 = \frac{1 \text{ ppm} * 5 \text{ ml}}{400 \text{ ppm}} V_5 = 0,0125 \text{ ml}$$

**Tabla III-5 Volúmenes para las soluciones hijas**

Concentración µg/ml	Volumen (µl) de SM	Volumen (ml) de acetato de etilo
20	0.205	4.795
10	0.125	4.875
8	0.1	4.9
6	0.075	4.925
4	0.05	4.95
2	0.025	4.975
1	0.0125	4.9875

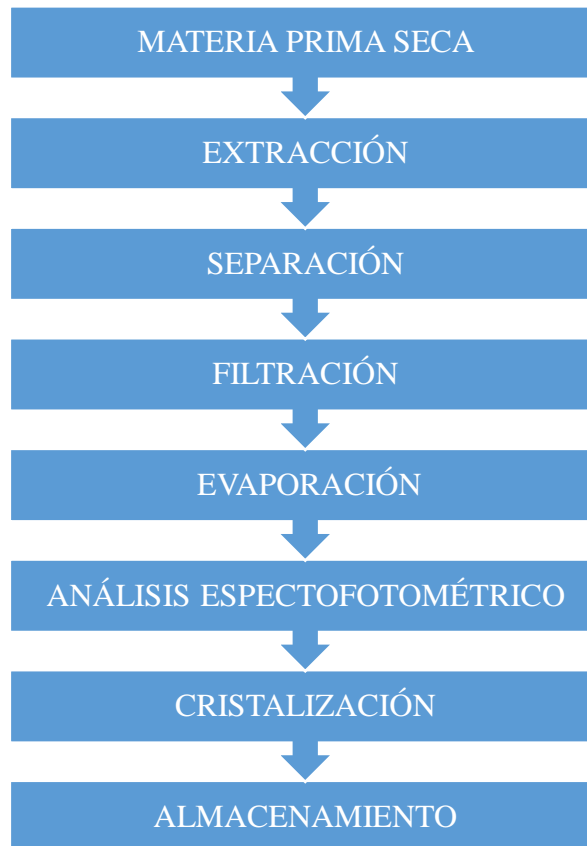
Fuente: Elaboración propia

### 3.1.2 Proceso de extracción de licopeno de la cáscara de tomate

El siguiente proceso de extracción contempla las mismas operaciones físicas que el de proceso de obtención de licopeno patrón, a diferencia de que se desarrolla el estudio sobre el proceso de extracción mediante el diseño experimental planteado.

**Diagrama III-2**

#### **Proceso experimental de extracción de Licopeno de la cáscara del tomate**



Fuente: Elaboración propia

### **3.1.2.1 Diseño Experimental**

El diseño experimental del presente estudio es realizado en el proceso de extracción en el equipo de ultrasonido. En el ANEXO IV se define y se plantea la hipótesis sobre el diseño factorial.

El diseño experimental planteado es de  $3^3$ , donde 3 son los niveles y 3 factores. Se repite la experiencia tres veces para tener resultados significativos y validados.

#### **3.1.2.1.1 Factores**

De los parámetros a evaluar descritos en la Tabla II-11 del capítulo anterior, los factores manipulables son:

##### **a) Temperatura**

Los estudios realizados reportan valores de temperaturas desde los 5°C hasta los 60°C para la extracción de licopeno por lo que se considera temperaturas dentro de ese rango.

##### **b) Relación soluto: solvente**

La relación entre soluto solvente, es una variable que permite conocer la cantidad de licopeno extraído a diferentes cantidades de solvente con el fin de utilizar la cantidad óptima

##### **c) Tiempo de extracción**

La variable tiempo relaciona la cantidad de licopeno extraído a diferentes intervalos de tiempo de tal manera que se optimice las horas de trabajo.

La potencia del sonicador es fija y es de 110 W con una frecuencia de 40kHz

#### **3.1.2.1.2 Niveles**

Para determinar los niveles de los factores se tomó en cuenta las referencias bibliográficas presentadas en el capítulo anterior.

**Tabla III-6 Niveles de los factores**

Nivel	Relación solventes: materia g/ml	Tiempo extracción (min)	Temperatura °C
1	1:4	20	7
2	1:8	35	20
3	1:12	50	40

Fuente: Elaboración propia

**Tabla III-7 Codificación de las variables**

Nivel	Relación solventes: materia (R)	Tiempo extracción (min) t	Temperatura (°C) T
1	-1	-1	-1
2	0	0	0
3	1	1	1

Fuente: Elaboración propia

**3.1.2.1.3 Variable respuesta**

La variable respuesta es la cantidad de licopeno extraído por masa de cáscara seca, expresado en mg/g

**3.1.2.1.4 Número de combinaciones**

Al ser el diseño factorial:

$$3^k$$

El número de experiencias es:  $3^3 = 27$

Considerando tres réplicas:

Número de experimentos:  $3^3 * 3 = 81$  *experimentos*

La combinación de las variables o interacción se muestra en la siguiente tabla III-8



**Tabla III-8 Diseño Factorial para el proceso de extracción**

Relación	Tiempo (min)	Temperatura °C	Variable de respuesta VR
-1	-1	-1	Y1
-1	0	-1	Y2
-1	1	-1	Y3
0	-1	-1	Y4
0	0	-1	Y5
0	1	-1	Y6
1	-1	-1	Y7
1	0	-1	Y8
1	1	-1	Y9
-1	-1	0	Y10
-1	0	0	Y11
-1	1	0	Y12
0	-1	0	Y13
0	0	0	Y14
0	1	0	Y15
1	-1	0	Y16
1	0	0	Y17
1	1	0	Y18
-1	-1	1	Y19
-1	0	1	Y20
-1	1	1	Y21
0	-1	1	Y22
0	0	1	Y23
0	1	1	Y24
1	-1	1	Y25
1	0	1	Y26
1	1	1	Y27

Fuente: Elaboración propia

La variable de respuesta VR, es la concentración de licopeno después de la extracción en miligramos de licopeno/ gramo de materia seca

### 3.1.2.2 Descripción del proceso de extracción

#### 3.1.1.2.1 Extracción

Se utilizó 1-2 gramos de cáscara seca y se mezcló con el solvente a las diferentes relaciones de solvente: soluto de 1:4, 1:8 y 1:12 a diferentes tiempos de extracción de 20, 35 y 50 minutos.

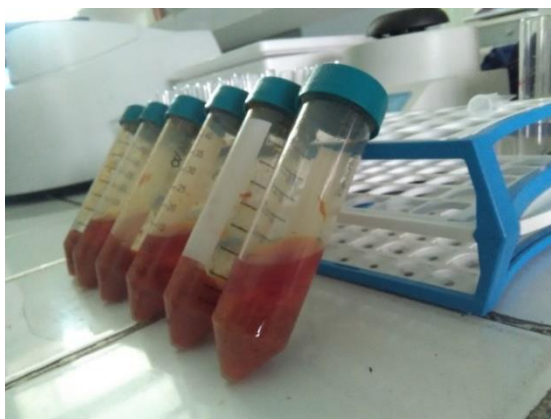
Las condiciones de extracción son en baño de hielo a 7 °C, 20 °C y 40° C

**Figura 3-20 Extracción de la cáscara de tomate en el sonicador**



Fuente: Elaboración propia

**Figura 3-21 Mezcla solvente soluto después de la sonicación**



Fuente: Elaboración propia

### 3.1.1.2.2 Separación

Se separaron la fase oleosas de la sólida en la centrifugadora operada en a las mismas condiciones que en la extracción de licopeno patrón.

### 3.1.1.2.3 Filtración

La cáscara de tomate tiene varios tamaños por lo que se dificultó su separación, para ello se utilizó papel filtro de 110 mm.

### 3.1.1.2.4 Evaporación

Se evaporó todo el solvente a las mismas condiciones de operación que en la extracción de licopeno patrón.

Al evaporarse todo el solvente se van cristalizando los carotenoides por lo que se requiere un solvente más polar que el acetato de etilo, se utilizó diclorometano y se añadió 1,5 ml; posteriormente se almacenó la muestra en frascos ámbar de 1,5 ml para ser analizados después en el espectrofotómetro.

**Figura 3-22 Oleorresina evaporada y almacenada**



Fuente: Elaboración propia

### 3.1.1.2.5 Análisis espectrofotométrico

Se midió las absorbancias a la longitud de onda de 473,7 nm. Con el fin de que las concentraciones estén dentro de la curva se tomaron dos volúmenes del extracto de 4 y 10  $\mu$ litros y se diluyó hasta enrasar a 1,5 ml, como blanco se utilizó acetato de etilo.

**Figura 3-23 Medición espectrofotométrica de los extractos**



Fuente: Elaboración propia

### 3.1.1.2.6 Cristalización

Cada uno de los extractos se mezclaron para cristalizarlos, para ello se evaporó todo el solvente en el rotavapor y se recrystalizó en baño frío, después de un lapso de tiempo se observó la cristalización y la conglomeración de los cristales.

**Figura 3-24** Cristalización de las soluciones concentradas en acetato de etilo



Fuente: Elaboración propia

**Figura 3-25** Cristalización de la solución evaporada de diclorometano



Fuente: Elaboración propia

La cristalización en medios diferentes da como resultado la formación de cristales de diferentes tamaños pero tiene la misma forma de tipo aguja. Los cristales formados en medio de acetato de etilo son pequeños, mientras que los cristales formados en diclorometano son más grandes y se conglomeran formando figuras que crecen hacia afuera.

Los cristales son filtrados y lavados con etanol frío, se los deja secar al medio ambiente y se los quita del papel filtro con una espátula.

**Figura 3-26 Filtración de los cristales**



Fuente: Elaboración propia

**Figura 3-27 Cristales secos de licopeno**



Fuente: Elaboración propia

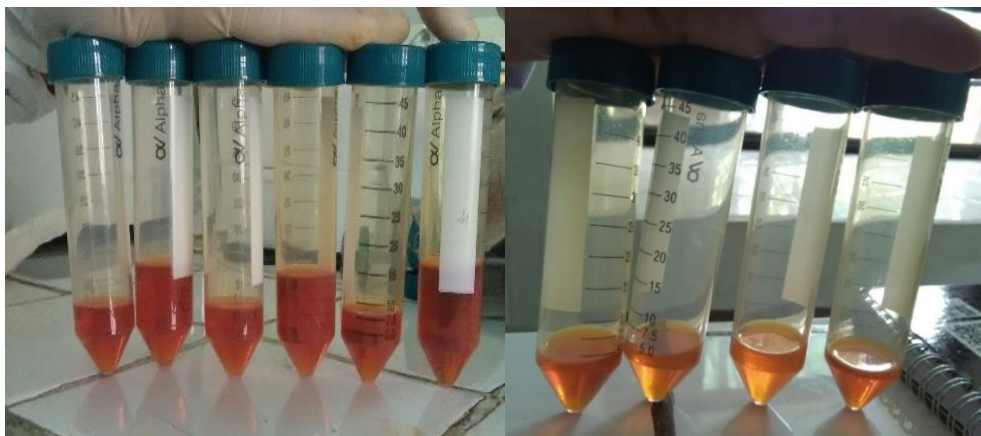
#### **3.1.1.2.7 Almacenamiento**

Los extractos como el licopeno sólido fueron almacenados a 18°C bajo cero y cubiertos con papel aluminio.

### 3.1.1.3 Determinación de licopeno inicial

La determinación de la cantidad de licopeno total en la muestra se realizó en tres extracciones sucesivas.

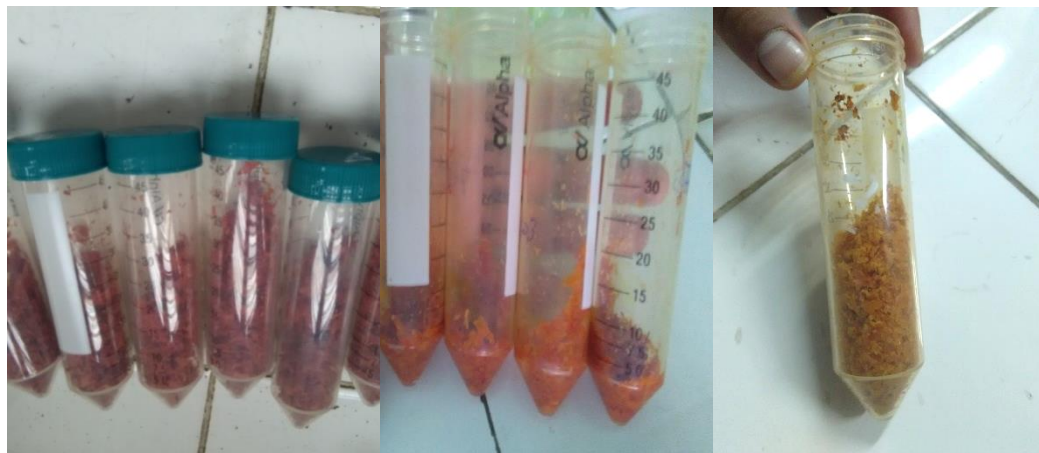
**Figura 3-28 Fase oleosa separada primera y segunda extracción**



Fuente: Elaboración propia

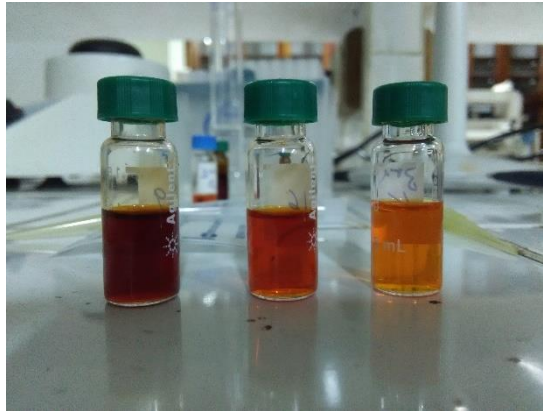
Las fases separadas deben se protegieron de la luz y se evaporaron en el rota-evaporador.

**Figura 3-29 Cambio de color de cáscara de tomate en la primera, segunda y tercera extracción**



Fuente: Elaboración propia

**Figura 3-30 Extractos concentrados primera, segunda y tercera extracción**



Fuente: Elaboración propia

**Tabla III-9 Registro de Absorbancias**

#	Masa gramos	Extracción 1	Extracción 2	Extracción 3
1	1,0024	1,281	1,679	1,428
2	1,0046	1,345	1,744	0,595

Fuente: Elaboración propia



### 3.2 Balance de materia y energía del proceso

Para el balance de materia se realizó la extracción a partir de 10 gramos de cáscara seca de tomate al 11% de humedad. El proceso de extracción se realizó en las condiciones más óptimas; a una relación de 1:12 soluto: solvente, 35 minutos y 40 °C. Se seleccionó un tiempo de 35 minutos ya que solo se extrae un 2,9% más de licopeno a 50 minutos.

En los procesos donde la presión es reducida como en el secador y en el rota-evaporador, las entalpías de vaporización del agua a la presión del sistema fue obtenido de las tablas termodinámicas de vapor saturado (Smith, Van Ness, & Abbott, 1995). La entalpia de vaporización del acetato de etilo fue obtenido del Instituto Nacional de Estandares y Tecnología. (National Institute of Standards and Technology, 2016).

**Tabla III-10 Datos de proceso de obtención de licopeno**

<b>Secado</b>	
Humedad inicial	91%
Humedad final	11%
Masa seca de cáscara	10 g
Temperatura inicial	20 °C
Temperatura de secado	70 ° C
Calor específico del tomate *	3,98 KJ/Kg K
Calor específico del agua	4,184 KJ/Kg K

Presión de vacío	0,6 bar
<b>Proceso de extracción</b>	
Masa cáscara de tomate seco	10 g
Relación soluto: solvente	1:12
Volumen solvente	120 ml
Densidad acetato de etilo a 20 °C	0,901 g/ml
Tiempo de extracción	35 min
<b>Proceso de evaporación</b>	
Masa fase oleosa	96,683 g
Masa oleorresina	0,175 g
Temperatura de baño	40 °C
Masa de destilado de acetato de etilo	42,541g
Calor específico del acetato de etilo**	1,929 kJ/kg K
Temperatura de acetato de etilo condensado	29 °C
<b>Cristalización</b>	
Masa de cristales de licopeno	0,0099 g

\* *Manual de datos para ingeniería de los alimentos. Hayes, George. Tabla propiedades físico-químicas de algunos alimentos.*

\*\* *Ethylacetate Data Base. (Wikipedia, 2013)*

Fuente: Elaboración propia

### 3.2.1 Diagrama de flujo del proceso de extracción

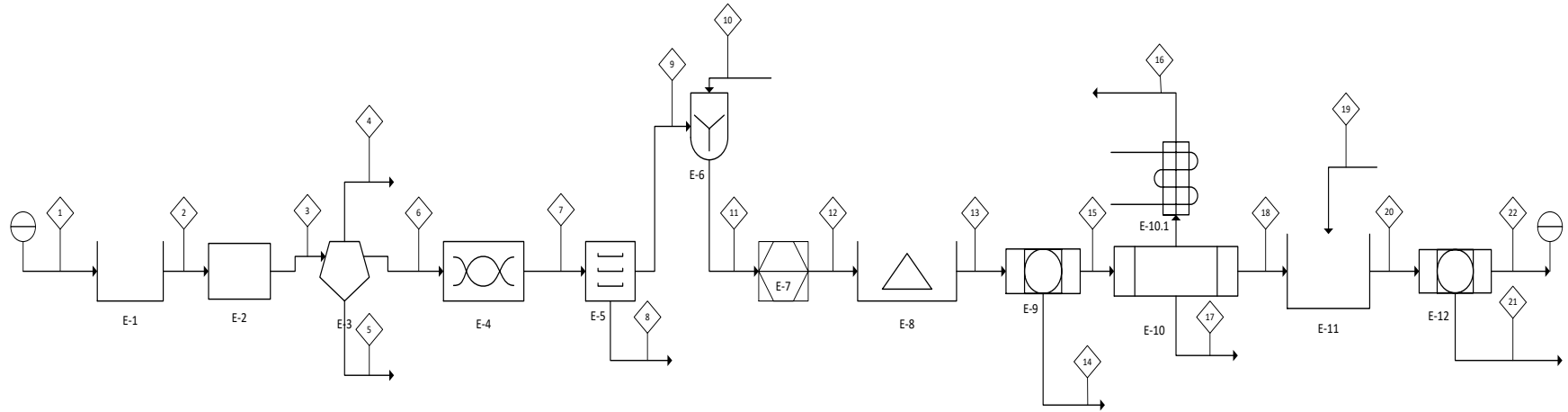
La siguiente tabla muestra las especificaciones de las corrientes del diagrama de flujo.

**Tabla III-11 Corrientes de proceso**

<b>Corriente</b>	<b>Especificación</b>	<b>Corriente</b>	<b>Especificación</b>
<b>C1</b>	Tomate fresco	<b>C13</b>	Mezcla centrifugada
<b>C2</b>	Tomate lavado	<b>C15</b>	Fase oleosa separada
<b>C3</b>	Tomate escaldado	<b>C14</b>	Sólido separado (cáscaras)
<b>C4</b>	Pulpa de tomate	<b>C16</b>	Acetato de etilo condensado
<b>C5</b>	Semillas de tomate	<b>C17</b>	Acetato de etilo no condensado
<b>C6</b>	Cáscaras de tomate	<b>C18</b>	Oleorresiona (fase oleosa evaporada)
<b>C7</b>	Cáscaras de tomate trituradas	<b>C19</b>	Acetato de etilo
<b>C8</b>	Masa de agua evaporada	<b>C20</b>	Solución saturada de cristales
<b>C9</b>	Cáscaras secas	<b>C21</b>	Solución pobre en cristales
<b>C10</b>	Masa de acetato de etilo	<b>C22</b>	Cristales secos de licopeno
<b>C11</b>	Mezcla de acetato de etilo y cáscaras		
<b>C12</b>	Mezcla extraída		

Fuente: Elaboración propia

**Diagrama III-3 Flujo del proceso de extracción de licopeno del tomate**



**Lista de Equipos**

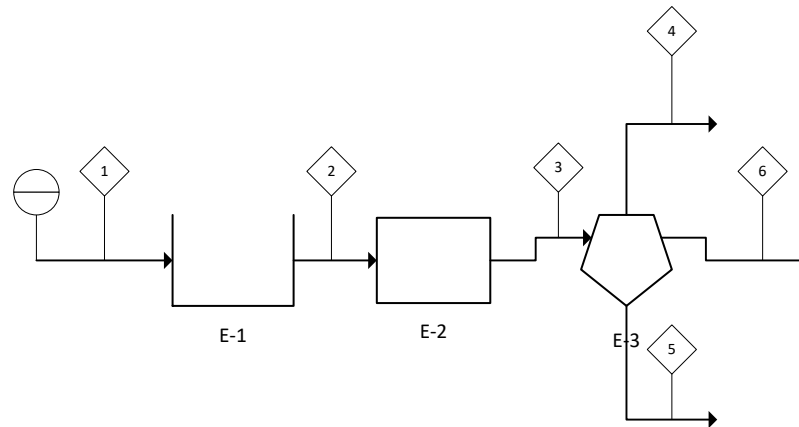
<b>Texto mostrado</b>	<b>Descripción</b>	<b>Texto mostrado</b>	<b>Descripción</b>
<b>E-1</b>	Lavado	<b>E-9</b>	Filtro
<b>E-2</b>	Escaldado	<b>E-10</b>	Rota-evaporador
<b>E-3</b>	Separador	<b>E-10.1</b>	Condensador Rota-evaporador
<b>E-4</b>	Licuadora	<b>E-11</b>	Cristalizador
<b>E-5</b>	Secador al vacío	<b>E-12</b>	Filtro
<b>E-6</b>	Mezclado		
<b>E-7</b>	Ultrasonicator		
<b>E-8</b>	Centrifugadora		

Fuente: Elaboración propia

### 3.2.2 Balance de materia

- Operación 1. Preparación de la materia prima

Los tomates lavados son pesados y escaldados en agua a temperatura de ebullición durante 3 minutos.



Cálculo del contenido de cáscara por 1Kg de tomate

La masa de tomate de entrada es de:

$$C1^* = 2551,1 \text{ g}$$

$$C1^* = C2^*$$

$C3^*$  es aproximadamente el mismo valor que  $C1$  y  $C2$  ya que el tomate absorbe un poco de agua durante el escaldado.

$$C6^* = 204,088 \text{ g}$$

$$C5^* = 80 \text{ g}$$

La masa de pulpa es:

$$C3^* = C4^* + C5^* + C6^* \quad \text{Ec. 3.1}$$

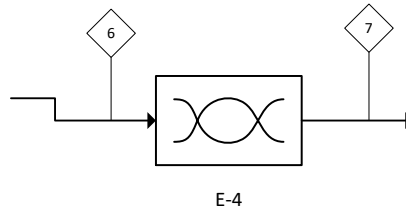
$$C4^* = C3^* - C5^* - C6^*$$

$$C4^* = 2551,1 - 80 - 204,088$$

$$C4^* = 2267,092 \text{ g}$$

La cáscara representa por lo tanto un 8% del tomate y las semillas un 3,1%

- Operación 2. Triturado de las cáscaras de tomate



Corriente de entrada de entrada es igual a la de salida, ya que solo implica un proceso físico sin cambio en la cantidad de materia, las pérdidas son mínimas ya que se utiliza toda la cáscara para el secado.

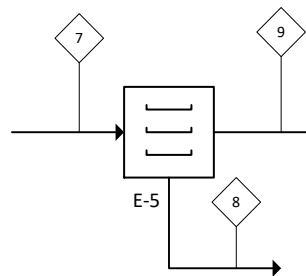
C6= masa total de cáscara fresca que ingresa a la batidora manual

Humedad= 91%

C7= masa de cáscara triturada

- Operación 3. Secado de las cáscaras de tomate

Dado que la curva de secado se realizó con una masa de 82 g, para esta cantidad se obtiene entre 8 y 10 gramos.



Dado que para los 82 g de cáscara se obtiene menos de 10 g de cáscara seca, se calcula entonces la cantidad de cáscara fresca necesaria:

X= porcentaje de humedad

C7= masa de cáscara que ingresa al secador

$$C9 = 10g$$

$$X7 = 0,91$$

$$X9 = 0,11$$

Balance general:

$$C7 = C8 + C9 \quad \text{Ec. 3.2}$$

Balance por componente: agua

$$C7 * X7 = C8 + C9 * X9 \quad \text{Ec. 3.3}$$

C8 es el vapor de agua por lo que  $X8 = 1$ .

Despejando C8 de la ecuación 2.2 y reemplazando en la ecuación 2.3:

$$C7 * X7 = C7 - C9 + C9 * X9$$

Despejando C7:

$$C7 = \frac{C9(X9 - 1)}{(X7 - 1)} \quad \text{Ec. 3.4}$$

$$C7 = \frac{10(0,11 - 1)}{(0,91 - 1)}$$

$$C7 = 98,888 \text{ g de cáscara fresca} = C6$$

$$C8 = C7 - C9$$

$$C8 = 98,888 - 10$$

$$C8 = 88,888 \text{ g de agua}$$

Tomando en cuenta que la cáscara representa el 8% del tomate se recalcula la cantidad de tomate inicial:

$$C3 = \frac{C7}{0,08}$$

$$C3 = \frac{98,888}{0,08}$$

$$C3 = 1236,1 \text{ g de tomate}$$

La masa de las semillas:

$$C5 = C4 * 0,031$$

$$C5 = 1236,1 * 0,031$$

$$C5 = 38,319 \text{ g}$$

La cantidad de pulpa:

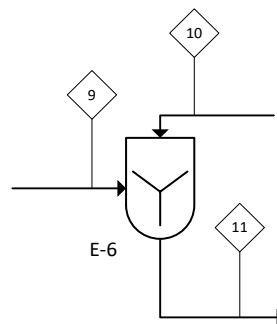
$$C4 = C3 - C5 - C6$$

$$C4 = 1236,1 - 38,319 - 98,888$$

$$C4 = 1098,893 \text{ g de pulpa fresca}$$

- Operación 3. Mezclado, cáscara y acetato de etilo

Para el proceso de extracción se mezcló las cáscaras secas con el solvente a una relación de 1:12 g/ml con agitación por 3 minutos.



C9= 10 gramos de cáscara

$$C10 = 12 * C9$$

$$C10 = 12 * 10 \quad \text{Ec. 3.5}$$

$$C10 = 120 \text{ ml}$$



La densidad de acetato de etilo es 0,901 g/ml, entonces:

$$C10 = 120 \text{ ml} * 0,901 \frac{\text{g}}{\text{ml}}$$

$$C10 = 108,12 \text{ g de acetato de etilo}$$

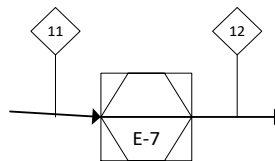
Por lo tanto:

$$C11 = C10 + C9 \quad \text{Ec. 3.6}$$

$$C11 = 10 \text{ g} + 108,12 \text{ g}$$

$$C11 = 118,12 \text{ g de cáscara más acetato de etilo}$$

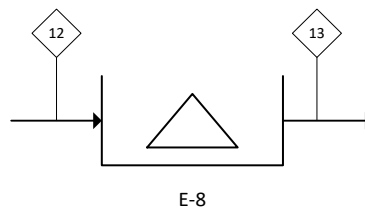
- Operación 4 Extracción por ultrasonido



Durante el proceso de sonicación la masa permanece constante ya que el sistema es cerrado

$$C11 = C12 = 118,12 \text{ g}$$

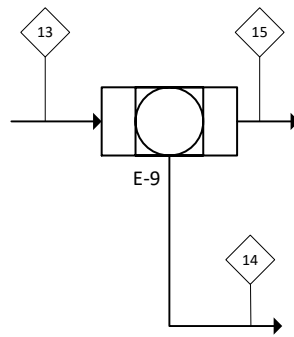
- Operación 5. Centrifugación



Este sistema al igual que el sonicador es cerrado, por lo tanto:

$$C12 = C13 = 118,12 \text{ g}$$

- Operación 6. Filtración



El extracto se separa de la fase sólida obteniendo la fase oleosa y el residuo sólido

$$C13 = C15 + C14 \quad \text{Ec. 3.7}$$

Al no separarse totalmente la fase sólida de la líquida la cantidad del solvente remanente es:

$C15 = 96,683$  g de fase oleosa

$$C14 = C13 - C15 \quad \text{Ec. 3.8}$$

$$C14 = 118,12 - 96,683$$

$$C14 = 21,437 \text{ g}$$

Considerando que la masa del sólido no varía, la cantidad de solvente considerado como pérdida es:

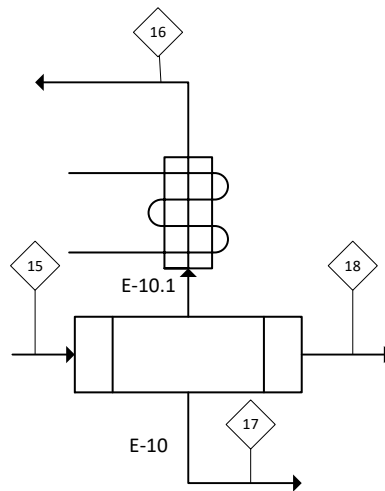
$$\text{Pérdida} = C14 - C9 \quad \text{Ec. 3.9}$$

$$\text{Pérdida} = 21,437 - 10$$

$$\text{Pérdida} = 11,437 \text{ g de fase oleosa}$$

#### - Operación 7. Evaporación

La cantidad de solvente evaporado es calculado a partir de la masa de la fase oleosa menos la masa de la oleorresina, que es el extracto oleoso concentrado y evaporado de todo el solvente.



$$C_{15} = 96,683 \text{ g}$$

$$C_{18} = 0,175 \text{ g}$$

$$C_{16} = 42,541 \text{ g}$$

$C_{17}$  = solvente no condensado, pérdida

$$C_{15} = C_{16} + C_{18} + C_{17} \quad \text{Ec. 3.10}$$

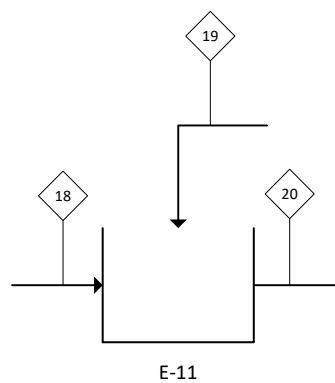
$$C_{17} = C_{15} - C_{16} - C_{18} \quad \text{Ec. 3.11}$$

$$C_{17} = 96,683 - 0,175 - 42,541$$

$$C_{17} = 53,967 \text{ g de acetato de etilo no condensado}$$

Por lo tanto solo se ha recuperado un 44% del solvente.

- Operación 8. Cristalización



C19= 20 ml de acetato de etilo

C20: cristales más solvente

$$C18 + C19 = C20 \quad Ec. 3.12$$

Por densidad la masa de acetato de etilo es:

$$C19 = 20 \text{ ml} * 0,901 \frac{\text{g}}{\text{ml}}$$

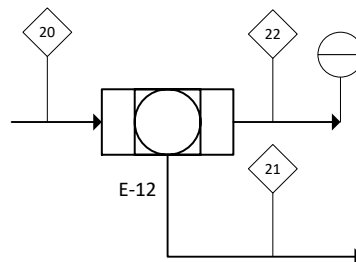
$$C19 = 18,02 \text{ g}$$

La masa de cristales mezclados con acetato de etilo

$$C20 = 0,175 + 18,02$$

$$C20 = 18,195 \text{ g de acetato de etilo}$$

- Operación 9. Filtración y secado



$$C20 = C22 + C21 \quad Ec. 3.13$$

C22= 0,0099 g de licopeno seco

C21; masa de solvente pobre en cristales

$$C21 = C20 - C22 \quad Ec. 3.14$$

$$C21 = 18,195 - 0,0099$$

$$C21 = 18,1851 \text{ g}$$

A las condiciones en las que se realizó la extracción la cantidad de licopeno obtenido debería estar entre 1,6438 mg/g y 1,6938 mg/g, considerando un promedio de 1,6706 mg/g, para 10 gramos el contenido de licopeno es de 16,706 mg.

El rendimiento del proceso de cristalización es:

$$n_c = \frac{\text{mg cristales de licopeno}}{\text{mg licopeno en extracto}} * 100 \quad \text{Ec 3.15}$$

$$n_c = \frac{9,9 \text{ mg}}{16,706 \text{ mg}} * 100$$

$$n_c = 51,08\%$$

### 3.2.3 Balance de energía

En este acápite se realiza el balance de energía en los procesos de; secado, extracción y evaporación.

#### 3.2.3.2 Balance de energía en el proceso de preparación de la materia prima

El escaldado se realizó durante 3 minutos

$$Q_{\text{escaldado}} = \text{Magua} * C_p \text{ agua} * \Delta t \quad \text{Ec. 3.16}$$

Magua= 2 Kg

Tiempo=3 min= 0,05hr

$$Q_{\text{escaldado}} = 2\text{Kg} * 4,184 \frac{\text{KJ}}{\text{Kg K}} * (92 - 20)$$

$$Q_{\text{escaldado}} = 602,496 \text{ KJ}$$

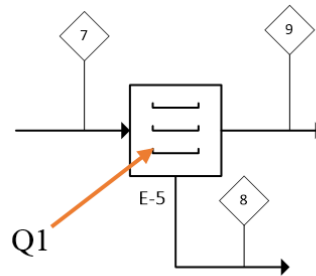
La potencia de la hornalla de gas:

$$P = \frac{Q_{\text{escaldado}}}{\text{tiempo de acondicionamiento}} \quad \text{Ec. 3.17}$$

$$P = \frac{602,496 \text{ KJ}}{0,05 \text{ hr}}$$

$$P = 12049,92 \text{ KJ/hr}$$

### 3.2.3.3 Balance de energía secador



La energía transferida comprende:

- Calor sensible para aumentar la temperatura de la masa de cáscara de tomate a la temperatura de secado.
- Calor latente para el cambio de fase del agua líquida a vapor. Se considera la entalpia de vaporización a la presión reducida.

Balance energético:

$$Q1 = Q_{Sensible} + Q_{vaporización} \quad Ec. 3.18$$

$$Q_{Sensible} = C9 * \Delta h_{solido} \quad Ec. 3.19$$

$$\Delta h_{solido} = Cp_s(t_s - t_i) + X7 Cp_{agua}(t_s - t_i) \quad Ec. 3.20$$

$$\Delta h_{solido} = 3,98 \frac{KJ}{Kg K} (70 - 20) + 0,91 * 4,184 \frac{KJ}{Kg K} (70 - 20)$$

$$\Delta h_{solido} = 199 + 190,327$$

$$\Delta h_{solido} = 384,372 \frac{KJ}{Kg}$$

$$Q_{Sensible} = 384,372 \frac{KJ}{Kg} * 0,09888 kg$$

$$Q_{Sensible} = 38,007 KJ$$

$$Q_{vaporización} = C9(X7 - X9)\Delta h_{vap} \quad Ec. 3.21$$

La presión atmosférica en Tarija es de 1,013 bar, el equipo de vacío realiza una diferencia de presión de 0,6 bar por lo que la presión reducida en el sistema es de 0,413 bar que equivalen a 41 KPa. Por tablas termodinámicas se halla la entalpia de vaporización a la presión de 41 KPa.

$$\Delta h_{vap\ agua} = 2317,7 \text{ KJ/Kg}$$

$$Q_{vaporización} = 0,09888 \text{ Kg} (0,91 - 0,11) * 2317,7 \text{ KJ/Kg}$$

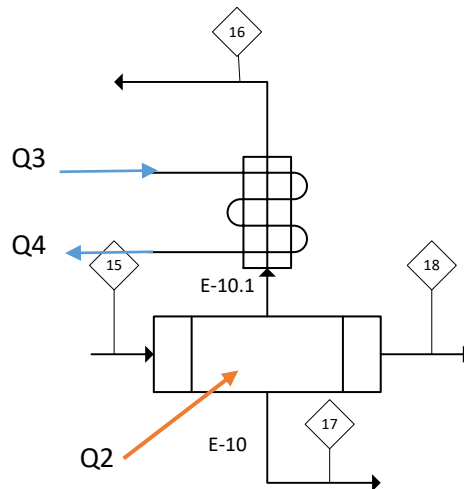
$$Q_{vaporización} = 183,339 \text{ KJ}$$

Entonces el calor necesario es:

$$Q1 = 38,007 \text{ KJ} + 183,339 \text{ KJ}$$

$$Q1 = 221,346 \text{ KJ}$$

#### 3.2.3.4 Balance en el rota- evaporador



Balance en el baño del rota- evaporador

$$Q2 = m_{agua} C_p (t_i - t_f) \quad Ec. 3.22$$

Balance en el sistema de evaporación-condensación

La bomba de vacío reduce la presión del sistema en 74 kPa, por lo que la presión del sistema es de:

$$P_{atm\ tarija} = 101,3\ KPa$$

$$P_{sist} = P_{atm} - P_{red} \quad Ec. 3.23$$

$$P_{sist} = 101,3 - 74$$

$$P_{sist} = 27\ KPa$$

A esta presión la entalpia de vaporización del acetato de etilo es:

$$\Delta h_{vap\ acet.} = 392,713\ KJ/Kg$$

Considerando que el acetato de etilo del extracto se calienta de 19 °C a 40 °C, calor sensible, y luego se evapora:

$$Q_2 = Q_{Sensible} + Q_{vaporización} \quad Ec. 3.24$$

$$Q_{Sensible} = C_{15} * C_{p_{acet}}(t_b - t_a)$$

Donde  $t_a$  es la temperatura al ambiente y  $t_b$  la temperatura del baño.

$$Q_{Sensible} = 0,09668\ Kg * 1,929 \frac{KJ}{Kg\ K} (40 - 22)$$

$$Q_{Sensible} = 3,357\ KJ$$

$$Q_{vap.acet} = C_{15} * \Delta h_{vap\ acet.} \quad Ec. 3.25$$

$$Q_{vap.acet} = 0,09668\ Kg * 392,712 \frac{KJ}{Kg}$$

$$Q_{vap.acet} = 37,9674\ KJ$$

$$Q_2 = 3,357\ KJ + 37,9674\ KJ$$

$$Q_2 = 41,3244\ KJ$$

La potencia del calentador de baño es de 1320W, por lo tanto, el tiempo mínimo requerido es:

$$Q_2 = P * tiempo(t) \quad Ec. 3.26$$

$$tiempo(t) = \frac{Q_2}{P} \quad Ec. 3.27$$



$$tiempo(t) = \frac{41,3244 \text{ KJ}}{1,320 \frac{\text{KJ}}{\text{S}}}$$

$$tiempo(t) = 31,30 \text{ seg}$$

Balance en el condensador

Cálculo la cantidad de agua necesaria para condensar el acetato de etilo:

$$Q_3 = Q_4$$

$$Q_{cedido} = Q_{ganado} \quad \text{Ec 3.28}$$

$$\begin{aligned} & C15 * \Delta h_{vap \text{ ac.}} + C15 * Cp_{acet}(t_{vap} - t_{cond}) \\ & = m_{agua \text{ de cond}} Cp_{agua*} (t_e - t_s) \quad \text{Ec. 3.29} \end{aligned}$$

Despejando la masa de agua de condensación:

$$m_{agua \text{ de cond}} = \frac{C15 * \Delta h_{vap \text{ ac.}} + C15 * Cp_{acet}(t_{vap} - t_{cond})}{Cp_{agua*} (t_e - t_s)} \quad \text{Ec. 3.30}$$

$$\begin{aligned} & m_{agua \text{ de cond}} \\ & = \frac{0,09668 \text{ Kg} * 392,712 \frac{\text{KJ}}{\text{Kg}} + 0,09668 \text{ Kg} * 1,929 \frac{\text{KJ}}{\text{Kg K}} (29 - 40)}{4,184 \frac{\text{KJ}}{\text{Kg K}} (20 - 19,5)} \end{aligned}$$

$$m_{agua \text{ de cond}} = 17,1682 \text{ Kg}$$

$$Q_3 = 35,9159 \text{ KJ} = Q_4$$

### 3.2.3.5 Balance de energía en el sonicador

Durante el proceso de sonicación la energía del sonido se transforma en parte en energía de calor aumentado así la temperatura del baño de agua.

Mw= es la cantidad de agua en el baño

Tw= temperatura inicial

$T_s$ = temperatura después de la sonicación

$P$ = potencia de salida del sonicador

$t$ =tiempo de sonicación

$M_w$ = 5 kg

$T_w$ = 40 °C

$T_s$ = 42 °C

$P$ = 110 W

$t$ =35 min = 2100 seg

La energía transferida al agua en forma de calor es:

$$Q_{calor} = Q_5 = M_w * C_p \text{ agua}(t_s - t_w) \quad \text{Ec. 3.31}$$

$$Q_{calor} = Q_5 = 3,5 \text{ Kg} * 4,184 \frac{\text{KJ}}{\text{Kg K}} (42 - 40)$$

$$Q_{calor} = Q_5 = 29,288 \text{ KJ}$$

La energía suministrada por el sonicador es:

$$Q_u = P * t \quad \text{Ec. 3.32}$$

$$Q_u = 110 \text{ w} * 2100 \text{ seg}$$

$$Q_u = 231 \text{ KJ}$$

La eficiencia térmica es:

$$n_s (\%) = \frac{Q_{calor}}{Q_u} * 100 \quad \text{Ec. 3.33}$$

$$n_s (\%) = \frac{29,288 \text{ KJ}}{231 \text{ KJ}} * 100$$

$$n_s (\%) = 12,67$$

Al convertirse el 12,67% de la energía de ultrasonido en energía de calor, la eficiencia del equipo es del 87,33%.



CAPÍTULO IV  
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

## Capítulo IV

### Resultados y Discusión

#### 4.1 Análisis de la materia prima

Los análisis físico-químicos se realizaron en los laboratorios del Centro de Análisis, Investigación y Desarrollo (CEANID) y en el laboratorio de Compuestos Bioactivos ambos dependientes de la Universidad Autónoma Juan Misael Saracho.

A continuación se detallan los tipos de análisis realizados:

Laboratorio del Centro de Análisis, Investigación y Desarrollo (CEANID)

En este laboratorio se realizaron los análisis de la materia prima; cáscara húmeda triturada de tomate. (ANEXO I)

- Determinación porcentual de humedad
- Determinación porcentual de acidez titulable como ácido cítrico
- Determinación porcentual de sólidos solubles
- Determinación de pH

Laboratorio de Compuestos Bioactivos

En este laboratorio se realizaron los análisis del producto

- Determinación de licopeno del producto

#### 4.1.1 Resultados de los análisis de la materia prima

##### 4.1.1.1 Composición de la materia prima

Los resultados del análisis físico-químico que se realizó a la materia prima (cáscara de tomate):

**Tabla IV-1 Composición de la materia prima**

<b>Parámetro</b>	<b>Unidad</b>	<b>Resultado</b>
Agua	%	91,43
Sólidos solubles	%	1,93
Acidez (como ácido cítrico)	%	0,24
pH (24°C)		4,27
Licopeno *	mg/g	1,8376

Fuente: Centro de Análisis, Investigación y Desarrollo. CEANID

\*Cantidad de licopeno determinada experimentalmente. Pág. 123

#### 4.2 Resultados de los análisis del producto final

Los análisis realizados para el producto es la cuantificación de licopeno, resaltando que el producto es el extracto obtenido después del proceso de extracción. Para la determinación de licopeno se realizó el análisis estadístico para la curva patrón.

##### 4.2.1 Análisis estadístico de los datos para la curva patrón

En la tabla IV-2 se tienen las lecturas de las absorbancias, mediante el programa estadístico SPSS se realizó la regresión lineal representada en la tabla IV-3.

**Tabla IV-2 Registro de absorbancias de las soluciones hijas**

Concentración µg/ml (ppm)	Absorbancias a 473,7 nm			
	Lectura 1	Lectura 2	Lectura 3	Lectura 4
20	3.533	3.599	3.545	3.566
10	2.299	2.318	2.311	2.31
8	2.086	1.846	1.789	1.818
6	1.416	1.387	1.395	1.391
4	0.917	0.921	0.927	0.917
2	0.45	0.428	0.451	0.436
1	0.203	0.198	0.201	0.198

Fuente: Elaboración propia

La concentración de 20 ppm es muy alta y se aleja de la linealidad con los otros puntos por lo que no es considerado.

Mediante regresión lineal se tiene la ecuación de la recta, según el siguiente análisis

**Tabla IV-3 Coeficientes<sup>a</sup>**

de coeficientes.

Modelo	Coeficientes no estandarizados		Coeficientes tipificados	t	Sig.	Intervalo de confianza de 95.0% para B	
	B	Error típ.	Beta			Límite inferior	Límite superior
1 (Constante)	-,028	,021		-1,338	,195	-,070	,015
ppm	,236	,003	,998	69,411	,000	,229	,243

a. Variable dependiente: Absorbancia a 473,7 nm

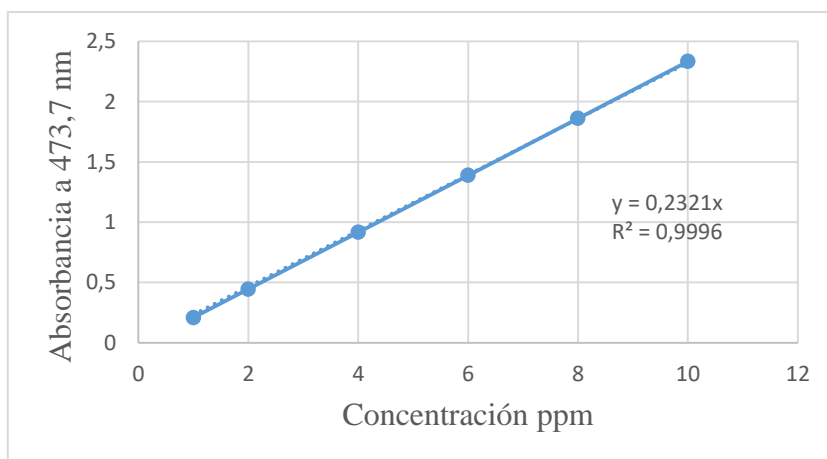
Fuente: SPSS V.18.0

Se tiene la siguiente ecuación:

$$Y = -0.028 + 0.236 X \quad \text{Ec 4.1}$$

Debido a que la recta de la ecuación 4.1 no interseca en el origen se ajusta la misma en Excel como se muestra en la figura 4.1.

**Figura 4-1 Curva patrón**

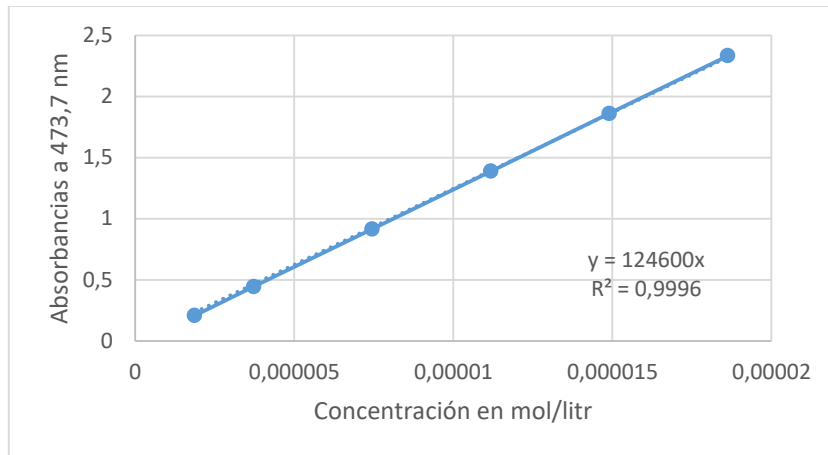


Fuente: Elaboración propia

A continuación se determina el coeficiente molar de extinción, para ello se expresan las concentraciones en mol/L.



**Figura 4-2 Curva patrón ajustada expresada en concentración mol/L**



Fuente: Elaboración propia

De la ecuación expresada en mol/L se determina el coeficiente de extinción molar o absorptividad molar.

Según la ley de Beer:

$$A = \varepsilon * l * c \quad \text{Ec. 4.2}$$

Donde

A es la absorbancia (adimensional)

$\varepsilon$ , es la absorptividad molar (L/mol cm)

l, es el espesor de la cubeta que contiene la muestra (cm)

c, Concentración de la solución (mol/L)

La ecuación de la última figura expresa la concentración en mol/L:

$$y = 124600 x \quad \text{Ec. 4.3}$$

De manera análoga, la ecuación 4.2 y 4.3 se relacionan, ya que l (espesor de la cubeta) es 1 cm y c (concentración) es x. La pendiente de la recta pertenece al coeficiente de absorptividad, por lo tanto:

$$\varepsilon = 124600 \frac{L}{mol \cdot cm} \quad Ec. 4.4$$

Despejando de la ley de Beer la concentración se tiene:

$$c = \frac{A}{\varepsilon * l} \quad Ec. 4.5$$

Reemplazando los datos conocidos:

$$C = \frac{A_{473,7}}{12,46 * 10^4 \frac{L}{mol} * cm} * \frac{536,9 g}{1 mol} * \frac{L}{10^3 ml} * \frac{10^3 mg}{1 g} * \frac{V ml}{m (Kg)} \quad Ec. 4.6$$

V (ml) es el volumen final de los extractos, este es de 1 ml, la ecuación se reduce a:

$$C \left( \frac{mg \text{ de licopeno}}{kg \text{ cáscara}} \right) = \frac{A_{473,7}}{m (Kg)} * 0,0043 = \frac{A_{473,7}}{m (g)} * 0,43 \quad Ec 4.7$$

Mediante la ecuación 4.7 se puede determinar la concentración de licopeno si no se cuenta con la curva patrón.

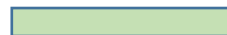
#### 4.2.2 Datos experimentales del proceso de extracción

Tabla IV-4 Cálculo de la concentración de licopeno extraída a 20 minutos y 7 °C

Exp.	Relación	Masa de cáscara de tomate (gr)	Volumen final (ml)	Absorbancia 473,7 nm	ppm	ppm*f	mg licopeno/ml extracto	mg licopeno	mg licopeno/g
1	1:04	1,0010	1,5	0,550	2,3697	355,4502	0,3555	0,5332	0,5326
2	1:08	1,0049	1,5	1,035	4,4593	668,8927	0,6689	1,0033	0,9984
3	1:12	1,0031	1,5	0,641	2,7617	1035,6527	1,0357	1,5535	1,5487
4	1:04	1,0022	1,5	0,455	1,9604	294,0543	0,2941	0,4411	0,4401
5	1:08	1,0049	1,5	0,903	3,8906	583,5847	0,5836	0,8754	0,8711
6	1:12	1,0045	1,5	0,644	2,7747	1040,4998	1,0405	1,5607	1,5538
7	1:04	1,0009	1,5	0,548	2,3611	354,1577	0,3542	0,5312	0,5308
8	1:08	1,0033	1,5	1,002	4,3171	647,5657	0,6476	0,9713	0,9682
9	1:12	1,0035	1,5	0,432	1,8613	697,9750	0,6980	1,0470	1,0433

Fuente: Elaboración propia

Muestras diluidas, factor de dilución, se diluyó 10µL en 1500 µL f1= 150



Muestras diluidas, factor de dilución, se diluyó 4µL en 1500 µL f2= 375



Tabla IV-5 Cálculo de la concentración de licopeno extraída a 35 minutos y 7 °C

Exp.	Relacion	Masa de cáscara de tomate (gr)	Volumen final	Absorbancia 473,7 nm	ppm	ppm*f1	mg/ml	mg	mg/g
1	1:04	1,0032	1,5	1,276	5,4976	164,9289	0,1649	0,2474	0,2466
2	1:08	1,0063	1,5	0,887	3,8216	573,2443	0,5732	0,8599	0,8545
3	1:12	1,0046	1,5	0,542	2,3352	875,7001	0,8757	1,3136	1,3075
4	1:04	1,0042	1,5	0,489	2,1069	316,0276	0,3160	0,4740	0,4721
5	1:08	1,0016	1,5	1,116	4,8083	721,2408	0,7212	1,0819	1,0801
6	1:12	1,0025	1,5	0,676	2,9125	1092,2016	1,0922	1,6383	1,6342
7	1:04	1,0033	1,5	0,5	2,1542	323,1366	0,3231	0,4847	0,4831
8	1:08	1,002	1,5	0,943	4,0629	609,4356	0,6094	0,9142	0,9123
9	1:12	1,012	1,5	0,697	3,0030	1126,1310	1,1261	1,6892	1,6692

Fuente: Elaboración propia

Muestras diluidas, factor de dilución, se diluyó 50µL en 1500 µL f1= 150



Muestras diluidas, factor de dilución, se diluyó 10µL en 1500 µL f1= 150



Muestras diluidas, factor de dilución, se diluyó 4µL en 1500 µL f2= 375

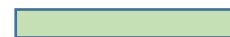


**Tabla IV-6 Cálculo de la concentración de licopeno extraída a 50 minutos y 7 °C**

Exp.	Relacion	Masa de cáscara de tomate (gr)	Volumen final (ml)	Absorbancia 473,7 nm	ppm	ppm*f	mg licopeno/ml extracto	mg licopeno	mg licopeno/g
1	1:04	2,0128	1,5	0,876	3,7742	566,1353	0,5661	0,8492	0,4219
2	1:08	2,0005	1,5	0,757	3,2615	1223,0720	1,2231	1,8346	0,9171
3	1:12	2,0050	1,5	0,689	2,9685	1113,2055	1,1132	1,6698	0,8328
4	1:04	2,0046	1,5	0,729	3,1409	471,1331	0,4711	0,7067	0,3525
5	1:08	2,0075	1,5	0,765	3,2960	1235,9974	1,2360	1,8540	0,9235
6	1:12	2,0083	1,5	1,131	4,8729	1827,3374	1,8273	2,7410	1,3648
7	1:04	2,0040	1,5	0,843	3,6321	544,8083	0,5448	0,8172	0,4078
8	1:08	2,0340	1,5	0,760	3,2745	1227,9190	1,2279	1,8419	0,9055
9	1:12	2,0010	1,5	1,100	4,7393	1777,2512	1,7773	2,6659	1,3323

Fuente: Elaboración propia

Muestras diluidas, factor de dilución, se diluyó 10µL en 1500 µL f1= 150



Muestras diluidas, factor de dilución, se diluyó 4µL en 1500 µL f2= 375



Tabla IV-7 Cálculo de la concentración de licopeno extraída a 20 minutos y 20 °C

Exp.	Relacion	Masa de cáscara de tomate (gr)	Volumen final (ml)	Absorbancia 473,7 nm	ppm	ppm*f	mg licopeno/ml extracto	mg licopeno	mg licopeno/g
1	1:04	1,0042	1,5	0,574	2,4731	370,9608	0,3710	0,5564	0,5541
2	1:08	1,0040	1,5	1,014	4,3688	655,3210	0,6553	0,9830	0,9791
3	1:12	1,0076	1,5	1,275	5,4933	823,9983	0,8240	1,2360	1,2267
4	1:04	1,0093	1,5	0,517	2,2275	334,1232	0,3341	0,5012	0,4966
5	1:08	1,0027	1,5	0,938	4,0414	606,2042	0,6062	0,9093	0,9069
6	1:12	1,0009	1,5	1,171	5,0452	756,7859	0,7568	1,1352	1,1342
7	1:04	1,0017	1,5	0,600	2,5851	387,7639	0,3878	0,5816	0,5807
8	1:08	1,0022	1,5	1,088	4,6876	703,1452	0,7031	1,0547	1,0524
9	1:12	1,0020	1,5	1,280	5,5149	827,2296	0,8272	1,2408	1,2384

Fuente: Elaboración propia

Muestras diluidas, factor de dilución, se diluyó 10 $\mu$ L en 1500  $\mu$ L f1= 150

**Tabla IV-8 Cálculo de la concentración de licopeno extraída a 35 minutos y 20 °C**

Exp.	Relacion	Masa de cáscara de tomate (gr)	Volumen final (ml)	Absorbancia 473,7 nm	ppm	ppm*f1	mg licopeno/ml extracto	mg licopeno	mg licopeno/g
1	1:04	1,0044	1,5	0,519	2,2361	335,4158	0,3354	0,5031	0,5009
2	1:08	1,0024	1,5	1,228	5,2908	793,6234	0,7936	1,1904	1,1876
3	1:12	1,0007	1,5	1,450	6,2473	937,0961	0,9371	1,4056	1,4047
4	1:04	1,0047	1,5	0,636	2,7402	411,0297	0,4110	0,6165	0,6137
5	1:08	1,0022	1,5	1,140	4,9117	736,7514	0,7368	1,1051	1,1027
6	1:12	1,0046	1,5	1,415	6,0965	914,4765	0,9145	1,3717	1,3654
7	1:04	1,0050	1,5	0,634	2,7316	409,7372	0,4097	0,6146	0,6115
8	1:08	1,0015	1,5	1,124	4,8427	726,4110	0,7264	1,0896	1,0880
9	1:12	1,0015	1,5	1,206	5,1960	779,4054	0,7794	1,1691	1,1674

Fuente: Elaboración propia

Muestras diluidas, factor de dilución, se diluyó 10 $\mu$ L en 1500  $\mu$ L f1= 150



**Tabla IV-9 Cálculo de la concentración de licopeno extraída a 50 minutos y 20 °C**

Exp.	Relacion	Masa de cáscara de tomate (gr)	Volumen final (ml)	Absorbancia 473,7 nm	ppm	ppm*f1	mg licopeno/ml extracto	mg licopeno	mg licopeno/g
1	1:04	1,0010	1,5	0,570	2,4558	368,3757	0,3684	0,5526	0,5520
2	1:08	1,0016	1,5	1,136	4,8944	734,1663	0,7342	1,1012	1,0995
3	1:12	1,0030	1,5	1,303	5,6140	842,0939	0,8421	1,2631	1,2594
4	1:04	1,0010	1,5	0,546	2,3524	352,8651	0,3529	0,5293	0,5288
5	1:08	1,0010	1,5	0,800	3,4468	517,0185	0,5170	0,7755	0,7748
6	1:12	1,0077	1,5	1,225	5,2779	791,6846	0,7917	1,1875	1,1785
7	1:04	1,0046	1,5	0,590	2,5420	381,3012	0,3813	0,5720	0,5693
8	1:08	1,0024	1,5	0,890	3,8346	575,1831	0,5752	0,8628	0,8607
9	1:12	1,0013	1,5	1,532	6,6006	990,0905	0,9901	1,4851	1,4832

Fuente: Elaboración propia

Muestras diluidas, factor de dilución, se diluyó 10 $\mu$ L en 1500  $\mu$ L f1= 150





Tabla IV-10 Cálculo de la concentración de licopeno extraída a 20 minutos y 40 °C

Exp.	Relacion	Masa de cáscara de tomate (gr)	Volumen final (ml)	Absorbancia 473,7 nm	ppm	ppm*f1	mg licopeno/ml extracto	mg licopeno	mg licopeno/g
1	1:04	1,0016	1,5	0,506	2,1801	327,0142	0,3270	0,4905	0,4897
2	1:08	1,0050	1,5	1,228	5,2908	793,6234	0,7936	1,1904	1,1845
3	1:12	1,0012	1,5	1,352	5,8251	873,7613	0,8738	1,3106	1,3091
4	1:04	1,0067	1,5	0,515	2,2189	332,8307	0,3328	0,4992	0,4959
5	1:08	1,0028	1,5	1,301	5,6053	840,8014	0,8408	1,2612	1,2577
6	1:12	1,0002	1,5	1,148	4,9461	741,9216	0,7419	1,1129	1,1127
7	1:04	1,0023	1,5	0,586	2,5248	378,7161	0,3787	0,5681	0,5668
8	1:08	1,0036	1,5	1,279	5,5106	826,5834	0,8266	1,2399	1,2354
9	1:12	1,0020	1,5	1,322	5,6958	854,3731	0,8544	1,2816	1,2790

Fuente: Elaboración propia

Muestras diluidas, factor de dilución, se diluyó 10 $\mu$ L en 1500  $\mu$ L f1= 150

Tabla IV-11 Cálculo de la concentración de licopeno extraída a 35 minutos y 40 °C

Exp.	Relacion	Masa de cáscara de tomate (gr)	Volumen final (ml)	Absorbancia 473,7 nm	ppm	ppm*f1	mg licopeno/ml extracto	mg licopeno	mg licopeno/g
1	1:04	1,0031	1,5	0,776	3,3434	501,5080	0,5015	0,7523	0,7499
2	1:08	1,0041	1,5	1,057	4,5541	683,1107	0,6831	1,0247	1,0205
3	1:12	1,0056	1,5	1,757	7,5700	1135,5019	1,1355	1,7033	1,6938
4	1:04	1,0015	1,5	0,914	3,9380	590,6937	0,5907	0,8860	0,8847
5	1:08	1,0046	1,5	1,471	6,3378	950,6678	0,9507	1,4260	1,4195
6	1:12	1,0034	1,5	1,702	7,3330	1099,9569	1,1000	1,6499	1,6443
7	1:04	1,0051	1,5	0,709	3,0547	458,2077	0,4582	0,6873	0,6838
8	1:08	1,0058	1,5	1,354	5,8337	875,0539	0,8751	1,3126	1,3050
9	1:12	1,0020	1,5	1,730	7,4537	1118,0526	1,1181	1,6771	1,6737

Fuente: Elaboración propia

Muestras diluidas, factor de dilución, se diluyó 10µL en 1500 µL f1= 150



Tabla IV-12 Cálculo de la concentración de licopeno extraída a 50 minutos y 40 °C

Exp.	Relacion	Masa de cáscara de tomate (gr)	Volumen final (ml)	Absorbancia 473,7 nm	ppm	ppm*f1	mg licopeno/ml extracto	mg licopeno	mg licopeno/g
1	1:04	1,0012	1,5	0,623	2,6842	402,6282	0,4026	0,6039	0,6032
2	1:08	1,0076	1,5	1,440	6,2042	930,6333	0,9306	1,3960	1,3854
3	1:12	1,0036	1,5	1,826	7,8673	1180,0948	1,1801	1,7701	1,7638
4	1:04	1,0051	1,5	0,624	2,6885	403,2745	0,4033	0,6049	0,6018
5	1:08	1,0061	1,5	1,714	7,3847	1107,7122	1,1077	1,6616	1,6515
6	1:12	1,0066	1,5	1,785	7,6907	1153,5976	1,1536	1,7304	1,7191
7	1:04	1,0041	1,5	0,624	2,6885	403,2745	0,4033	0,6049	0,6024
8	1:08	1,0037	1,5	1,525	6,5704	985,5666	0,9856	1,4783	1,4729
9	1:12	1,0035	1,5	1,750	7,5399	1130,9780	1,1310	1,6965	1,6906

Fuente: Elaboración propia

Muestras diluidas, factor de dilución, se diluyó 10 $\mu$ L en 1500  $\mu$ L f1= 150

### 4.2.3 Determinación de licopeno inicial

Para la determinación se ha extraído el licopeno en tres etapas, las cantidades extraídas en la primera, segunda y tercera extracción se suman. La extracción se realizó a 35 minutos y 20 °C.

**Tabla IV-13 Cantidad de licopeno total por extracción ultrasónica**

#	Masa	Extracción 1	Extracción 2	Extracción 3	Total
1	1,0024	1,2388	0,2164	0,1841	1,6393
2	1,0046	1,3847	0,3381	0,1148	1,8376

Fuente: Elaboración propia

Se considera el valor de 1,8376mg/ g como la cantidad de licopeno inicial.

La siguiente tabla muestra la cantidad de licopeno extraído en mg/g de cáscara y en porcentaje basado en la cantidad de licopeno total para los diferentes niveles de las variables.

**Tabla IV-14 Rendimiento del proceso de extracción en el sonicador**

FACTORES			EXP 1		EXP 2		EXP 3	
Relación	Tiempo (min)	Temp. °C	mg/g	Y %	mg/g	Y%	mg/g	Y%
1:4	20	7	0,5326	28,983	0,4401	23,950	0,5308	28,886
1:4	30	7	0,2466	13,420	0,4721	25,691	0,4831	26,290
1:4	50	7	0,4219	22,959	0,3525	19,183	0,4078	22,192
1:8	20	7	0,9984	54,332	0,8711	47,404	0,9682	52,688
1:8	30	7	0,8544	46,495	1,0801	58,778	0,9123	49,646
1:8	50	7	0,917	49,902	0,9235	50,256	0,9123	49,646
1:12	20	7	1,5487	84,278	1,5538	84,556	1,0433	56,775
1:12	30	7	1,3075	71,153	1,6342	88,931	1,6691	90,830
1:12	50	7	0,8328	45,320	1,3648	74,271	1,3323	72,502
1:4	20	20	0,5541	30,153	0,4966	27,024	0,5807	31,601
1:4	30	20	0,5009	27,258	0,6137	33,397	0,6115	33,277
1:4	50	20	0,552	30,039	0,5292	28,798	0,5693	30,981
1:8	20	20	0,9791	53,281	0,9069	49,352	1,0524	57,270
1:8	30	20	1,1876	64,628	1,1027	60,008	1,088	59,208
1:8	50	20	1,0995	59,833	0,7748	42,164	0,8607	46,838
1:12	20	20	1,2267	66,756	1,1342	61,722	1,2384	67,392
1:12	30	20	1,4047	76,442	1,3654	74,303	1,1674	63,529
1:12	50	20	1,2594	68,535	1,1785	64,133	1,4883	80,992
1:4	20	40	0,4897	26,649	0,4959	26,986	0,5668	30,845
1:4	30	40	0,7499	40,809	0,8847	48,144	0,6838	37,212
1:4	50	40	0,6032	32,825	0,6018	32,749	0,6024	32,782
1:8	20	40	1,1845	64,459	1,2577	68,443	1,2354	67,229
1:8	30	40	1,0205	55,534	1,4195	77,247	1,305	71,017
1:8	50	40	1,3854	75,392	1,6515	89,873	1,4729	80,153
1:12	20	40	1,3091	71,240	1,1127	60,552	1,2354	67,229
1:12	30	40	1,6938	92,175	1,6443	89,481	1,6737	91,081
1:12	50	40	1,7638	95,984	1,7191	93,551	1,6906	92,000

Fuente: Elaboración propia

El rendimiento calculado está en base a la cantidad de licopeno inicial contenido en la cáscara. La franja de color azul muestra las condiciones a las que se ha obtenido un bajo rendimiento, en promedio, de un 22,192%.

La franja de color naranja muestra las condiciones a las que se ha obtenido un alto rendimiento del 92%.

### 4.3 Análisis estadístico del diseño experimental

Para el tratamiento de estadístico de los datos del diseño factorial, se utilizó el programa SPSS STATISTICS 18.0 (Statistical Package for the Social Sciences).

Mediante el Análisis de Varianza Univariante, se determina la influencia de los factores; relación soluto: solvente, tiempo y temperatura de extracción, sobre la variable respuesta rendimiento expresado como los miligramos de licopeno extraído por gramo de cáscara de tomate seca.

En la siguiente tabla se muestran los resultados obtenidos del proceso de extracción introducidos al SPSS. De acuerdo al diseño factorial de  $3^3$  con tres replicas se tiene:

**Tabla IV-15 Datos para el cálculo del análisis de varianza**

Número de ensayo	Relación	Tiempo, t	Temperatura, T °C (X3)	Rendimiento (mg/g) (Y)
	R (X1)	(min) (X2)		
1	-1	-1	-1	0,5326
2	-1	0	-1	0,2466
3	-1	1	-1	0,4219
4	0	-1	-1	0,9984
5	0	0	-1	0,8544
6	0	1	-1	0,917
7	1	-1	-1	1,5487
8	1	0	-1	1,3075
9	1	1	-1	0,8328
10	-1	-1	0	0,5541
11	-1	0	0	0,5009
12	-1	1	0	0,552
13	0	-1	0	0,9791
14	0	0	0	1,1876
15	0	1	0	1,0995
16	1	-1	0	1,2267 cont.

Número de ensayo	Relación	Tiempo, t	Temperatura, T °C (X3)	Rendimiento (mg/g) (Y)
	R (X1)	(min) (X2)		
17	1	0	0	1,4047
18	1	1	0	1,2594
19	-1	-1	1	0,4897
20	-1	0	1	0,7499
21	-1	1	1	0,6032
22	0	-1	1	1,1845
23	0	0	1	1,0205
24	0	1	1	1,3854
25	1	-1	1	1,3091
26	1	0	1	1,6938
27	1	1	1	1,7638
28	-1	-1	-1	0,4401
29	-1	0	-1	0,4721
30	-1	1	-1	0,3525
31	0	-1	-1	0,8711
32	0	0	-1	1,0801
33	0	1	-1	0,9235
34	1	-1	-1	1,5538
35	1	0	-1	1,6342
36	1	1	-1	1,3648
37	-1	-1	0	0,4966
38	-1	0	0	0,6137
39	-1	1	0	0,5292
40	0	-1	0	0,9069
41	0	0	0	1,1027
42	0	1	0	0,7748
43	1	-1	0	1,1342
44	1	0	0	1,3654
45	1	1	0	1,1785
46	-1	-1	1	0,4959
47	-1	0	1	0,8847
48	-1	1	1	0,6018
49	0	-1	1	1,2577
50	0	0	1	1,4195
51	0	1	1	1,6515 <i>cont.</i>

Número de ensayo	Relación	Tiempo, t	Temperatura, T	Rendimiento
	R (X1)	(min) (X2)	°C (X3)	(mg/g) (Y)
52	1	-1	1	1,1127
53	1	0	1	1,6443
54	1	1	1	1,7191
55	-1	-1	-1	0,5308
56	-1	0	-1	0,4831
57	-1	1	-1	0,4078
58	0	-1	-1	0,9682
59	0	0	-1	0,9123
60	0	1	-1	0,9123
61	1	-1	-1	1,0433
62	1	0	-1	1,6691
63	1	1	-1	1,3323
64	-1	-1	0	0,5807
65	-1	0	0	0,6115
66	-1	1	0	0,5693
67	0	-1	0	1,0524
68	0	0	0	1,088
69	0	1	0	0,8607
70	1	-1	0	1,2384
71	1	0	0	1,1674
72	1	1	0	1,4883
73	-1	-1	1	0,5668
74	-1	0	1	0,6838
75	-1	1	1	0,6024
76	0	-1	1	1,2354
77	0	0	1	1,305
78	0	1	1	1,4729
79	1	-1	1	1,2354
80	1	0	1	1,6737
81	1	1	1	1,6906

Fuente: Elaboración propia



La siguiente tabla muestra las variables introducidas al programa para su análisis.

**Tabla IV-16 Factores Inter-Sujetos**

		N
Relación	-1	27
	0	27
	1	27
Tiempo	-1	27
	0	27
	1	27
Temperatura	-1	27
	0	27
	1	27

Fuente: SPSS 18.0

La siguiente tabla muestra el análisis de varianza y la significancia de las variable analizadas.

**Tabla IV-17 Análisis de Varianza**

Variable dependiente: Rendimiento					
Origen	Suma de cuadrados tipo III	Grados de libertad	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	12,056 <sup>a</sup>	18	0,670	34,790	0,000
Intersección	82,178	1	82,178	4268,618	0,000
Relación	10,087	2	5,044	261,978	0,000
Tiempo	0,194	2	0,097	5,035	0,009
Temperatura	1,022	2	0,511	26,552	0,000
R * Tiempo	0,113	4	0,028	1,462	0,225
R * Temperatura	0,258	4	0,064	3,348	0,015
Tiempo * Temperatura	0,382	4	0,096	4,964	0,002
Error	1,194	62	0,019		
Total	95,428	81			
Total corregida	13,250	80			

a. R cuadrado = 0,910 (R cuadrado corregida = 0,884)

Fuente: SPSS 18.0

De la tabla de análisis de varianza, se observa que las variables relación soluto:solvente, tiempo de extracción, temperatura y las interacciones; Relación\* temperatura y Tiempo-Temperatura, influyen sobre el rendimiento de licopeno extraído, debido a que la significancia es menor que 0,05 considerando una confiabilidad del 95%.

El modelo matemático apropiado para el proceso de extracción es una ecuación empírica polinómica de segundo orden. (Wang, Xiaokun, & Wang, 2015); (Ahmadi, Heidari, & Mohammadi Nafchi, 2015).

La predicción de la variable respuesta (Rendimiento) está correlacionada a los coeficientes: (A) intersección, (B, C, D) lineales, (E, F, G) cuadráticos y (H, I, J) coeficientes de interacción.

$$y = A + BX_1 + CX_2 + DX_3 + EX_1^2 + FX_2^2 + GX_3^2 + HX_1X_2 + IX_1X_3 + JX_2X_3 \text{ Ec. 4.8}$$

Los coeficientes se encontraron mediante regresión no-lineal partiendo de los coeficientes encontrados en bibliografía; en la tabla IV-18 se tiene el historial de iteraciones.

**Tabla IV-18 Historial de iteraciones<sup>b</sup>**

Número de iteraciones a	Suma de cuadrados residual	Parámetro									
		A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
1.0	61,350	,246	,004	,001	,001	-,012	-,002	-,003	-2,000E-5	,000	-2,500E-5
1.1	1,534	1,086	,426	,032	,127	-,124	-,088	,093	,035	-,007	,101
2.0	1,534	1,086	,426	,032	,127	-,124	-,088	,093	,035	-,007	,101
2.1	1,534	1,086	,426	,032	,127	-,124	-,088	,093	,035	-,007	,101

Fuente: SPSS 18.0

Las derivadas se calculan numéricamente.

a. El número de iteraciones mayores se muestra a la izquierda del decimal, mientras que el número de iteraciones menores se encuentra a la derecha del decimal.

b. La ejecución se detuvo después de 4 evaluaciones de modelos y 2 evaluaciones de derivadas, ya que la reducción relativa entre sumas residuales sucesivas de cuadrados es, como mucho,  $SSCON = 1,00E-008$ .

**Tabla IV-19 Estimaciones de los parámetros**

Parámetro	Estimación	Error típico	Intervalo de confianza al 95%	
			Límite inferior	Límite superior
A	1,086	,043	1,000	1,172
B	,426	,020	,386	,466
C	,032	,020	-,008	,072
D	,127	,020	,087	,167
E	-,124	,035	-,193	-,055
F	-,088	,035	-,157	-,019
G	,093	,035	,024	,162
H	,035	,025	-,013	,084
I	-,007	,025	-,055	,042
J	,101	,025	,052	,150

Fuente: SPSS 18.0

La siguiente tabla muestra la variabilidad de los datos respecto al modelo. Un  $R^2$  aproximado a 1 indica que la variación de  $y$  es explicada por los términos presentes en el modelo.

**Tabla IV-20 ANOVA<sup>a</sup>**

Origen	Suma de cuadrados	gl	Medias cuadráticas
Regresión	93,894	10	9,389
Residual	1,534	71	,022
Total sin corrección	95,428	81	
Total corregido	13,250	80	

Variable dependiente: rendimiento

a.  $R$  cuadrado =  $1 - (\text{Suma de cuadrados residual}) / (\text{Suma corregida de cuadrados}) = ,884$ .

Fuente: SPSS 18.0

El modelo matemático para la extracción de licopeno es:

$$y = 1,086 + 0,426X_1 + 0,032X_2 + 0,127X_3 - 0,124X_1^2 - 0,088X_2^2 + 0,093X_3^2 + 0,035X_1X_2 - 0,007X_1X_3 + 0,101X_2X_3 \quad \text{Ec. 4.9}$$

Esta ecuación relaciona todas las variables introducidas con el rendimiento. Donde:

$Y$ ; mg de licopeno/ g de cáscara seca

$X_1$ ; Relación masa: soluto, g/ml

$X_2$ ; Tiempo, minutos

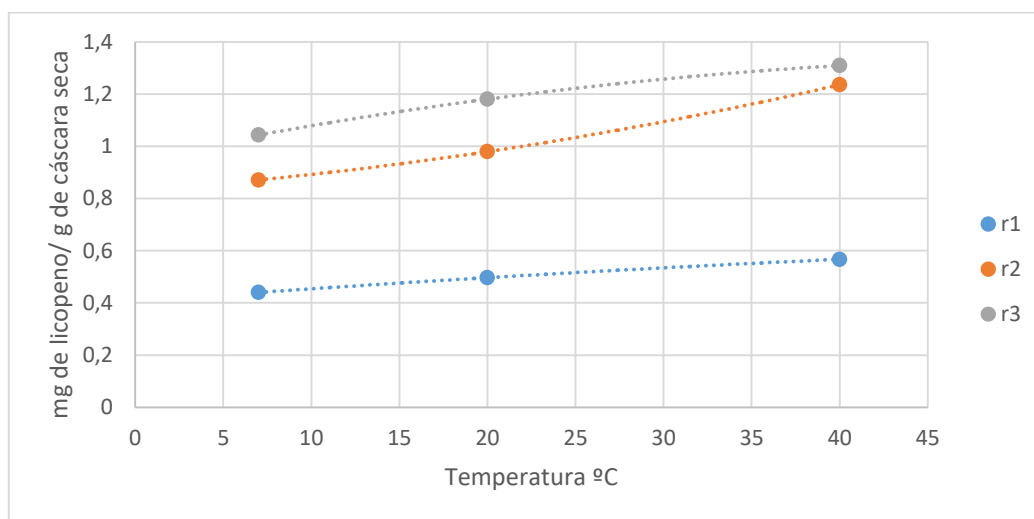
$X_3$ ; Temperatura, °C

Para observar la influencia de una variable o factor sobre otro, se presenta el siguiente análisis.

#### 4.3.1 Temperatura vs Rendimiento

Para observar el efecto de la temperatura sobre rendimiento se construyeron las siguientes gráficas a diferentes tiempos considerando el mejor valor de las tres réplicas.

**Figura 4-3 Variación de la cantidad de licopeno extraída respecto a la temperatura y la relación masa: soluto a 20 minutos**

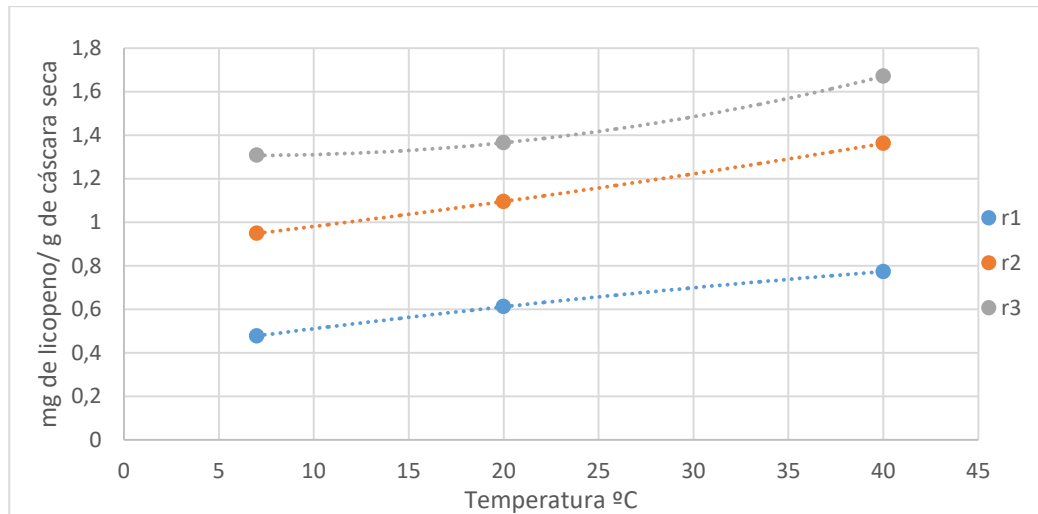


Donde r1, r2 y r3 son las relaciones masa: soluto, 1:4, 1:8 y 1:12 respectivamente

Fuente: Elaboración propia

Como se puede observar en las gráficas, la cantidad de licopeno aumenta al aumentar la temperatura y la relación soluto: solvente.

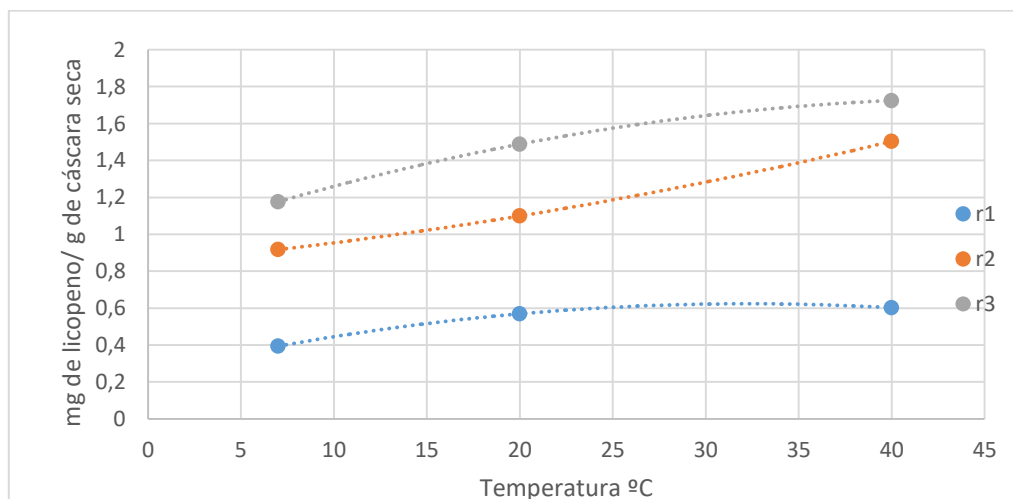
**Figura 4-4 Variación de la cantidad de licopeno extraída respecto a la temperatura y la relación masa: soluto a 35 minutos**



Donde r1, r2 y r3 son la relaciones masa: soluto, 1:4, 1:8 y 1:12 respectivamente

Fuente: Elaboración propia

**Figura 4-5 Variación de la cantidad de licopeno extraída respecto a la temperatura y la relación masa: soluto a 50 minutos**



Donde r1, r2 y r3 son la relaciones masa: soluto, 1:4, 1:8 y 1:12 respectivamente

Fuente: Elaboración propia

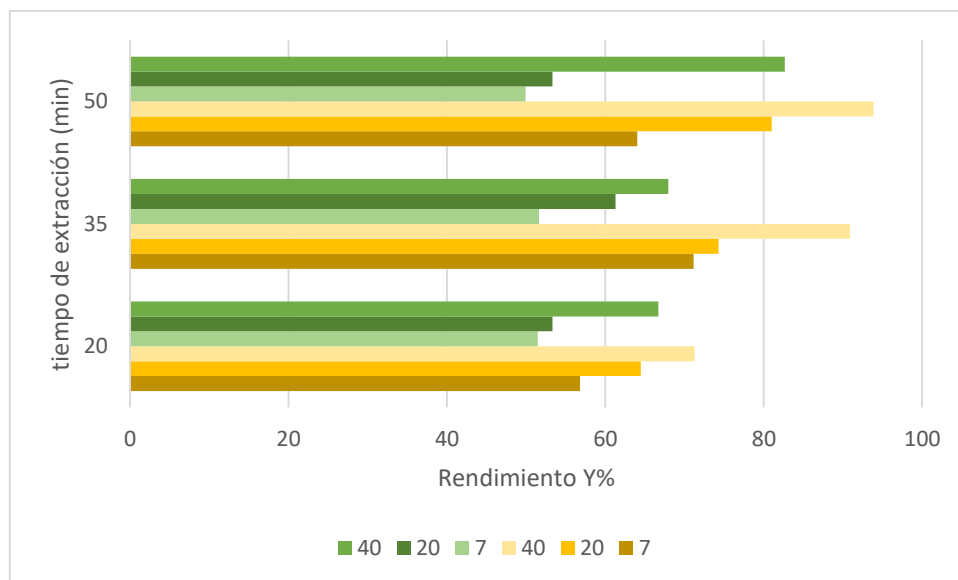
Para la relación 1:4 se puede observar que la pendiente es muy pequeña por lo que para un incremento en la temperatura la cantidad de licopeno extraído no cambia significativamente.

Las extracciones realizadas a una relación de 1:8 y 1:12 muestran que hay un incremento muy significativo con el aumento de temperatura.

#### 4.3.2 Tiempo de extracción vs Rendimiento

La siguiente gráfica construida a partir de los datos de la tabla III-14 muestra la variación el rendimiento en función del tiempo a las diferentes temperaturas (7, 20 y 40 °C), considerando la relación 1:8 y 1:12.

**Figura 4-6 Porcentaje de cantidad de licopeno extraído a diferentes temperaturas y tiempos para la relación 1:8 y 1:12**



Fuente: Elaboración propia

Como se puede observar, las barras en tonos verdes pertenecen a la relación 1:8 y las de tonos mostaza a la relación 1:12. Se puede inferir que se alcanzan altos rendimientos para una temperatura de 40 °C y un tiempo de 50 minutos. Sin embargo,

para un tiempo de 50 minutos, una temperatura de 40 °C la variación entre 1:8 y 1:12 es de aproximadamente del 10% en el rendimiento.

#### 4.4 Cálculos y resultados del balance de materia y energía

A continuación se presenta un resumen de balance de materia y energía.

**Tabla IV- 21 Resultados del balance de materia**

Balance de materia		Balance de materia	
Corriente	Gramos (g)	Corriente	Gramos (g)
C1 tomate fresco C1=C2=C3	1236,1	C15 fase oleosa	96,688
C4 pulpa fresca	1098,893	C16 acetato de etilo condensado	42,541
C5 semillas	38,319	C17 acetato de etilo no condensado	53,967
C6 cáscaras de tomate fresa C6=C7	98,888	C18 Fase oleosa evaporada(oleorresina)	0,175
C8 agua evaporada	88,888	C19 acetato de etilo	18,02
C9 cáscara seca al 11% humedad	10	C20 acetato más cristales	18,195
C10 acetato de etilo	108,12	C22 masa de cristales secos	0,0099
C11 mezcla cáscara y acetato de etilo C11=C12=C13	118,12	C21 acetato de etilo pobre en cristales	18,185
C14 solido más acetato remanente	21,437		

Fuente: Elaboración propia



**Tabla IV-22 Resumen de balance de energía**

<b>Balance de energía</b>	
<b>Corriente</b>	<b>Kilojoule (kJ)</b>
<b>Q escaldado</b>	602,496
<b>Q1 secado</b>	221,326
<b>Q2 evaporador</b>	41,324
<b>Q3 calor de condensación Q3=Q4</b>	35,9154
<b>Q5 calor generado durante la sonicación</b>	29,888
<b>Qu energía del sonicador</b>	231

Fuente: Elaboración propia

#### **4.5 Análisis estimativo de los costos de producción a escala laboratorio**

A partir de los balances de materia y energía puede estimarse los costos de producción de licopeno de la cáscara del tomate. Es importante resaltar que el producto obtenido mediante el presente proyecto es la materia prima para el desarrollo de productos como; cápsulas de licopeno, alimentos suplementarios y alimentos enriquecidos o puede ser utilizado directamente como colorante.

Para el cálculo de costos se tiene las siguientes referencias de costos; energía eléctrica 0,6 bs/ KWh, combustible gas 8 bs/m<sup>3</sup>, de agua es de 0,7 Bs/m<sup>3</sup> y del reactivo de acetato de etilo es de 550bs/litro. Siendo el poder calorífico del gas de 9300 kcal/m<sup>3</sup>

Para el análisis de costos se tiene que de los 10 gramos de cáscara seca, se extraen aproximadamente 16,7 mg de licopeno en extracto de los cuales se obtienen 9,9 mg de licopeno sólido. La siguiente tabla estima el costo de producción sin considerar el salario del operador.

**Tabla IV-23 Costos de producción**

Requerimiento energético					
Proceso	Potencia (kW)	Tiempo (hr)	Energía (kwh)	Costo (bs)	Costo (Bs)
Triturado	0,6	0,250	0,150	0,090	
Secado	1,4	2,000	2,800	1,680	
Sonicación	0,36	0,583	0,210	0,126	
Centrifugación	0,38	0,333	0,127	0,076	
Rotavapor	1,32	0,333	0,440	0,264	
Costo proceso					2,236
Gas natural	KJ/h	Tiempo (hr)	Volumen m3	Costo (bs)	
Costo Escaldado	1204	0,250	0,008	0,062	0,062
Agua	Volumen litros	Costo unitario litros	Costo *litros		
Lavado de tomates	4	0,0007	0,0028		
Baño sonicador	3,5	0,0007	0,0025		
Baño rotaevaporador	4,5	0,0007	0,0032		
Agua refrigeración	17,16	0,0007	0,0120		0,021
Solvente					
Acetato de etilo	0,12	550	66		66
Costo total (Bs)					68,318

Fuente: Elaboración propia

El costo total de producción de aproximadamente 10 mg de licopeno fue de 68,318 Bs. Para producir aproximadamente 100 mg de licopeno seco se requeriría 100 g de cáscara seca y 1,2 litros de acetato de etilo, por lo tanto, el costo total pronosticado sería de 681,3 Bs, si se considera un factor de seguridad de 1,5 el costo es de 1021,5 Bs.

**CAPÍTULO IV**  
**CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

## Capítulo IV

### Conclusiones Y Recomendaciones

#### 5.1 Conclusiones

De acuerdo a los objetivos planteados en el presente proyecto, se tienen las siguientes conclusiones.

- El tomate utilizado para el proceso de extracción es de la variedad pera producido en el departamento de Tarija, siendo estos rojos y maduros. Los parámetros fisicoquímicos analizados por el laboratorio del CEANID son; humedad del 91%, los sólidos solubles representan el 1,93%, la acidez titulable como ácido cítrico es 0,24% y el pH de 4,27.
- Las variables estudiadas fueron; temperatura, relación soluto: solvente y tiempo. Siendo las variables determinantes temperatura y la relación masa: solvente.

Las condiciones óptimas de extracción son; relación soluto: solvente 1:12, temperatura 40°C y 50 minutos, correspondiente a los niveles máximos de cada variable, con un rendimiento del 95,98% (1,7638 mg/g de cáscara seca). Sin embargo, para las mismas condiciones pero para un tiempo de 30 minutos se tiene un rendimiento del 92,17% (1,6938 mg/g de cáscara seca).

- La cantidad de licopeno total obtenido fue la suma de tres extracciones sucesivas a las condiciones óptimas de extracción, resultando ser 1,8376 mg de licopeno/g cáscara seca. De acuerdo a bibliografía, la cantidad de licopeno extraído del tomate varía entre 0,09 mg y 5,27 mg/g.
- De 10 gramos de cáscara de tomate seca al 11% de humedad extraído a las condiciones óptimas, da una lectura de 1,64 mg de licopeno/g de cáscara, es decir que en 10 gramos hay 16,4 mg de licopeno. Mediante el proceso de cristalización se obtuvieron 9,9 mg de licopeno seco. Las pérdidas se debe a que en el proceso de cristalización y filtración no se recupera el total de cristales de licopeno.

- El licopeno obtenido tiene un color rojizo característico, con un aroma dulce y penetrante, el sólido es quebradizo y laminar.

## **5.2 Recomendaciones**

- La purificación en columna puede ser innecesaria, ya que las cantidades de los otros carotenoides son pequeñas. El extracto purificado en columna y luego cristalizado produce la misma corrida de licopeno en cromatografía en capa fina que los cristales producidos directamente sin purificación en columna.
- Para futuros estudios sobre el licopeno, se debe evaluar la degradación del licopeno respecto al tiempo, debido a que el licopeno puede isomerizarse y finalmente degradarse.
- Uno de los parámetros que tiene influencia en el proceso de extracción es el tamaño de partícula del sólido, por lo que el análisis granulométrico puede optimizar el proceso de transferencia de masa.
- El licopeno al ser liposoluble tiene ventaja de formar parte de productos como los aceites para enriquecer y dar valores agregados a dichos productos.
- Para futuros estudios, mejorar el proceso de recuperación del solvente, acetato de etilo, para su reutilización

## Referencias Bibliográficas

1. A. de la Rosa, L., Alvarez, E., & A. Gonzáles, G. (2010). *Fruit and Vegetables Phytochemicals*. Iowa, USA: Blackwell Publishing.
2. A. Venket Rao, P. a. (2000). Role of Antioxidant Lycopene in Cancer and Heart Disease. *Journal of the American College of Nutrition*, 563-9.
3. ADI group. (2009). Lycopene extrac from tomato. *JECFA*.
4. Aghel N, R. Z. (2010). Isolation and Quantification of Lycopene from tomato cultivated in Dezfoul, Iran. *Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products*, 9-15.
5. Ahmadi, M., Heidari, O., & Mohammadi Nafchi, A. R. (2015). Optimization of Lycopene Extraction from Tomato Waste with the Integration of Ultrasonic- Enzimatic Processes by Response Surface Methodology. *Journal of Industrial Engineering Research*, 29-34.
6. al., B. e. (2003). *España Patente n° 2186824*.
7. Alvaro, L. (16 de mayo de 2011). *Agricultores solicitan la industrializacion del Tomate*. Obtenido de El Pais:  
<http://www.elpaisonline.com/index.php/2013-01-15-14-16-26/centrales/item/9142-agricultores-solicitan-la-industrializacion-del-tomate>
8. Azuelo, F., & Vargas, P. (2007). Extracción de Sustancias Asistida por Ultrasonido (UEA). *Tecnología en Marcha*, 30-40.
9. Barbara y Erika. (6 de Noviembre de 2013). *Arte, Cultura y Espiritualidades*. Obtenido de Flores de los alimentos :  
<http://arteculturaespiritualidade.blogspot.com/2012/11/flores-dos-alimentos.html>
10. BCC Research. (23 de Septiembre de 2011). *BCC Research*. Obtenido de Global Carotenoids Market To Reach \$ 1.4 Billon In 2018:

[http://www.bccresearch.com/pressroom/fod/global-carotenoids-market-reach-\\$1.4-billion-2018](http://www.bccresearch.com/pressroom/fod/global-carotenoids-market-reach-$1.4-billion-2018)

11. Beatriz, N., Gouveia, L., Patricia, M., Ana, C., Antonio, P., & and Rui, M. (2012). Supercritical Extraction of Lycopene from Tomato Industrial Waste with Ethane. *Molecules*, 8397-8407.
12. Breijo, F. J. (2003). *Frutos*. Obtenido de Bayas:  
[http://www.euita.upv.es/varios/biologia/web\\_frutos/Bayas.htm](http://www.euita.upv.es/varios/biologia/web_frutos/Bayas.htm)
13. Breijo, F. J. (s.f.). *Frutas y Bayas*. Obtenido de  
[http://www.euita.upv.es/varios/biologia/web\\_frutos/Bayas.htm](http://www.euita.upv.es/varios/biologia/web_frutos/Bayas.htm)
14. Britton, G. (1995). Structure and Properties of Carotenoids in relation to Function. *FASEB Journal*, 1551-1558.
15. CENTA, Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal. (25 de Abril de 2014). Guía Técnica Cultivo de Tomate. Arce la Libertad, El Salvador.
16. Centro de Investigaciones Químicas, CIQ. (Mayo de 2015). *Centro de Investigaciones Químicas, CIQ*. Obtenido de <http://guadalupe-bascope.wix.com/ciq#!investigacion-y-proyectos/vstc1=residuos-de-tomate>
17. Choudhary, R. (2004). *Rapid Estimation of Lycopene Concentration in Watermelon and Tomato Samples by Fiber Optic Visible Spectroscopy*. Jabalpur, India: Thesis.
18. D.K. Salunke, S. J. (s.f.). Quality and Nutritional Composition of Tomato fruit as Influenced by certain Biochemical and Physiological Changes. *Longan, Edmonton and Washington*.
19. Elbadrawy, E. (23 de Julio de 2011). *Arabian Journal of Chemistry*. Obtenido de Evaluation of Nutritional Value and Antioxidant Activity of Tomato Peel Extract:  
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1878535211002966>

20. Eliana M. Cardona, L. A. (2006). Extracción del carotenoide Licopeno del tomate Chonto (*Lycopersicum esculentum*). *VITAE*, 44-53.
21. Environmental Chemistry Lab. (14 de Agosto de 2014). *Organic Chemistry Laboratory CHEM 333L*. Obtenido de Isolation of Lycopene from Tomato Paste using Column Chromatography:  
<http://infohost.nmt.edu/~jaltig/Lycopene.pdf>
22. European Food Safety Authority, EFSA. (2008). Safety of Lycopene oleoresin from tomatoes. *The EFSA Journal*, 675, 1-22.
23. FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. (2006). *Evaluation of Certain Food Additives And Contaminants*. Rome, Italy: WHO Library Cataloguing.
24. Fernandez, C., Pitre, A., Llbregat, M., & and Rondón, Y. (2007). Evaluación del Contenido de Licopeno en Pastas de Tomate Comerciales. *Información Tecnológica*, 31-38.
25. Ferrari, M., Vranic, M., & Rossi, A. a. (5 de Agosto de 2012). *IUFoST, World Congress and Food Science Technology*. Obtenido de Comparison of Three Extraction Methods to Obtain Extracts, Rich in Lycopene, from Skin and Pulp Liophilized Tomatoes: [iufost.org.br/sites/iufost.org.br/files/anais/07490.pdf](http://iufost.org.br/sites/iufost.org.br/files/anais/07490.pdf)
26. Food Ingredients Brasil. (2008). Stability of Lycopene During Food Processing and Storage. *Food Ingredients Brasil*, 32-42.
27. G. Nonhebel, e. a. (1979). *El secado de sólidos en la industria química*. España: Reverté S.A.
28. GAUTIER SEMILLAS. (2015). *GAUTIER SEMILLAS*. Obtenido de Semilla de Tomate Pera:  
<http://www.interempresas.net/Agricola/FeriaVirtual/Producto-Semillas-de-Tomate-Pera-Gautier-Atyliade-AL142-HF1-68918.html>



29. Gemma Aràndiga Martí, S. D. (2008). Estudio del licopeno del tomate como colorante natural desde la perspectiva analítica e industrial.
30. Gray, N. (2013). A red Revolution: As the science grows for lycopene, will the market follow? *Nutraingredients*.
31. Haroon, S. (2014). *Extraction of lycopene from tomato paste and its Immobilization for Controlled Release*. New Zealand.
32. Harry J. Fuller et. al. (1974). *Botanica*. México: Nueva Editorial Interamericana.
33. Helena Morais; Ana Abram; y Fernando Ferreira. (2006). Carotenoids Biosynthesis. *Revista Lusófona* , 22-42.
34. Heller, L. (10 de July de 2009). *Nutraingredients-USA*. Obtenido de US Leads in Lycopene Launches: <http://www.nutraingredients-usa.com/Markets/US-leads-in-lycopene-launches>
35. Hernández, F. (s.f.). *El cultivo del Tomate Perita*. Obtenido de Asistencia Técnica Agrícola: [http://www.agro-tecnologia-tropical.com/cultivo\\_tomate\\_perita.html](http://www.agro-tecnologia-tropical.com/cultivo_tomate_perita.html)
36. Heuvelink, E. (2005). *Tomatoes* . Obtenido de GoogleBook: [https://books.google.com.bo/books?id=qwMnnepN3uIC&pg=PA72&lpg=PA72&dq=pericarp+wall+tomatoes&source=bl&ots=zoObICfObO&sig=q8nii\\_8AuhtAj7tUOEfdNluzeZE&hl=es&sa=X&ei=KyZZVd3NNoe5ggT-74CQAg&ved=0CDEQ6AEwBQ#v=onepage&q=pericarp%20wall%20tomatoes&f=false](https://books.google.com.bo/books?id=qwMnnepN3uIC&pg=PA72&lpg=PA72&dq=pericarp+wall+tomatoes&source=bl&ots=zoObICfObO&sig=q8nii_8AuhtAj7tUOEfdNluzeZE&hl=es&sa=X&ei=KyZZVd3NNoe5ggT-74CQAg&ved=0CDEQ6AEwBQ#v=onepage&q=pericarp%20wall%20tomatoes&f=false)
37. Hielscher Ultrasonic gmbh. (2015). *Hielscher Ultrasonic Corporation*. Obtenido de Ultrasonic Extraction of Caffeine and other Active Compounds: <http://www.hielscher.com/ultrasonic-extraction-of-caffeine-and-other-active-compounds.htm>

38. INE. Instituto Nacional de Estadísticas. (2001). *INE*. Obtenido de Agricultura y Ganadería: [http://www.ine.gob.bo/PDF/Anuario\\_2000/40104.pdf](http://www.ine.gob.bo/PDF/Anuario_2000/40104.pdf)
39. Inneov. (15 de Mayo de 2015). *Inneov, Investigación avanzada de Nestlé y L'Oréal*. Obtenido de <http://www.inneov.es/inn%C3%A9ov/Espa%C3%B1a/Investigaciones-avanzadas-en-nutrici%C3%B3n-Nestl%C3%A9-y-en-biolog%C3%ADa-de-la-piel-L-Or%C3%A9al-home.aspx>
40. Iris Carmona. (2013). Utilización de los residuos de la Industria del toamte para la obtencion de compuestos bioactivos. *Agrimundo, Inteligencia Competitiva para el sector Agropecuario*, 1-4.
41. Jorge Jaramillo, V. P. (2007). *Buenas Practicas Agricolas en la Produccion de Tomate Bajo Condiciones Protegidas*. Antioquia.
42. Jurado, C. O. (2014). Elaboración de Tomate deshidratado . Tarija, Bolivia.
43. Kaur, D., Singh, D., & Agrawal, K. (2014). In vitro anti-proliferative Activities of Lycopene against prostate, lung, colon and breast cancer cell lines. *International Journal of Food and Nutritional Sciences*, 2320-7876.
44. Kaur, D., Wani, A. A., Oberoi, D., & Sogi, D. (2008). *Researchgate*. Obtenido de Effect of Extraction Condition on Lycopene Extraction from Tomato Processing Waste Skin using Response Surface Methodology: [https://www.researchgate.net/publication/248510400\\_Effect\\_of\\_extraction\\_conditions\\_on\\_lycopene\\_extractions\\_from\\_tomato\\_processing\\_waste\\_skin\\_using\\_response\\_surface\\_methodology](https://www.researchgate.net/publication/248510400_Effect_of_extraction_conditions_on_lycopene_extractions_from_tomato_processing_waste_skin_using_response_surface_methodology)
45. Kumcuoglu, S., Yilmaz, T., & Tavman, S. (19 de January de 2013). Ultrasound Assisted Extraction of Lycopene from Tomato Processing Wastes. *Association of Food Scientists Technologists*, 4102-4107.
46. Laleye, L., Al-Hammadi, S., & Jobe, B. a. (2010). *Center for Agriculture and Biosciences International, CABI*. Obtenido de Assessment of Lycopene content of fresh tomatoes and tomato products in the United Arab Emirates:

<http://www.cabdirect.org/abstracts/20113031220.html;jsessionid=B8CF1AD964CA6D53FEBCE5FF48047862>

47. Lavecchia, R., & Zuorro, A. (2008). Enhancement of Lycopene extraction from tomato peels by enzymatic treatment. *Chemical Engineering Transactions*, 301-308.
48. Luengo, E., Álvarez, I., & Raso, J. (2014). Improving Carotenoids Extraction from Tomato waste by Pulsed Electric Fields. *Frontiers in Nutrition, Nutrition and Food Science Technology*, 1-10.
49. Mareike Kelkel, M. S. (2011). Antioxidant and Anti-proliferative properties of lycopene. *Informa Healthcare*, 925-940.
50. Maria J. Periago, I. M. (2001). Propiedades químicas, biológicas y valor nutritivo el Licopeno. *Anales de Veterinaria de Murcia*, 51-63.
51. Marketsandmarkets. (Febrero de 2015). *Market Research Firm*. Obtenido de Supplements, Food, Feed and Cosmetics, Global Trends and Forecasts to 2019: <http://www.marketsandmarkets.com/Market-Reports/carotenoid-market-158421566.html>
52. Martínez Martínez, A. (Febrero de 2003). Carotenoides. *Carotenoides*. Medellín, Colombia.
53. Ministerio de Agricultura, Republica Dominicana. (28 de Septiembre de 2013). *Tomate Industrial*. Obtenido de Ministerio de Agricultura: <http://www.agricultura.gob.do/perfiles/los-vegetales/el-tomate-industrial/>
54. Ministerio de Desarrollo Rural y Tierras; Nemesia Achacollo et. al. (2012). *Compendio Agropecuario*. La Paz, Bolivia.
55. National Institute of Standards and Technology. (2016). *National Institute of Standards and Technology*. Obtenido de Ethyl Acetate: <http://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?ID=C141786&Mask=4>

56. Nestlè. (2013). *Nestlè Professional*. Obtenido de <https://www.nestleprofessional.com/spain/es/BrandsAndProducts/Brands/SO LIS/Pages/default.aspx?UrlReferrer=https%3a%2f%2fwww.google.com.bo%2f>
57. Nirmal Sinha et al. (s.f.). *Handbook of Vegetables and Vegetables Processing*. En N. S. al..
58. Parma, L. S. (s.f.). *Extraction of lycopene from tomato processing wastes*. Obtenido de SSICA: [luca.sandei@ssica.it](mailto:luca.sandei@ssica.it)
59. Petrovic, S., Ivanovic, J., Milovanovic, S., & Zizovic, I. (2012). Comparative Analyses of the Diffusion Coefficients from Thyme for Different Extraction Processes. *Journal of Serbian Chemical Society*, 799-813.
60. Pram YODJUN, Khantong SOONTARAPA and Chutima EAMCHOTCHAWALIT. (2011). Separation of lycopene/Solvent mixture by Chitosan Membranes. *Journal of materials and Minerals, Vol 21 No. 1*, 107-113.
61. Rodriguez, D. B., Amaya, & Kimura, M. (2004). *HarvestPlus Handbook for Carotenoid Analysis*. Washintong, DC.: HarvestPlus.
62. Rodriguez, Z., Robaina Mesa, M., Jáuregui Haza, U., Blanco Gonzáles, A., & Rodríguez Chanfrau, J. (2014). Empleo de la Radiación Ultrasónica para la Extracción de Compuestos Bioactivos provenientes de Fuentes Naturales. Estado actual y prespectivas. *CENIC Ciencias Químicas*, 45, 139-147.
63. Roh, M.-K., Jeon, M.-H., Moon, J.-N., Moon, W.-S., Park, S.-M., & Choi, J.-S. (2013). A Simple Method for Isolation of Lycopene from *Lycopersicon Esculentum*. *Botanical Sciences*, 187-192.
64. Rost, T. L. (1996). *Fruits and Flowers Anatomy*. Obtenido de <http://www-plb.ucdavis.edu/labs/rost/Tomato/Reproductive/anat.html>

65. S., K., T., Y., & Tavman, S. (Diciembre de 2014). *unbound Medicine*.  
Obtenido de Ultrasound Assisted Extraction of Lycopene from Tomato  
Processing Waste:  
[http://www.unboundmedicine.com/medline/citation/25477688/Ultrasound\\_assisted\\_extraction\\_of\\_lycopene\\_from\\_tomato\\_processing\\_wastes\\_](http://www.unboundmedicine.com/medline/citation/25477688/Ultrasound_assisted_extraction_of_lycopene_from_tomato_processing_wastes_)
66. School of Chemical Sciences, Univeresiti Sains Malaysia, Malaysia. (19 de Enero de 2012). *National Center for Biotchnology Information* . Obtenido de Novel Modifed Ultrasonication Technique for the Extraction of Lycopene from Tomatoes: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21715212>
67. Seher, K., Tunkay, Y., & and Sebnem, T. (Diciembre de 2014). *National Center for Biotechnology Information*. Obtenido de Ultrasound Assited Extractiion of Lycopene from Tomato processing wastes:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4252437/>
68. Smith, J., Van Ness, H., & Abbott, M. (1995). *Introducción a la termodinámica en Ingeniería Química*. Mexico: McGraw-Hill.
69. Susanne Rath, P. (2009). Lycopene Extract from Tomato. *Chemical and Technical Assessment (CTA)*. Obtenido de [http://www.fao.org/fileadmin/templates/agns/pdf/jecfa/cta/71/lycopene\\_extract\\_from\\_tomato.pdf](http://www.fao.org/fileadmin/templates/agns/pdf/jecfa/cta/71/lycopene_extract_from_tomato.pdf)
70. Susanne Rath, P. (2009). *Lycopene Extract from Tomato, Chemical and Technical Assessment (CTA)*.
71. The Royal Society of Chemistry. (1997). En B. Faust, *Modern Chemical Techniques* (págs. 116-159).
72. Topal, U., Sasaki, M., & Goto, M. a. (2009). Extraction of Lycopene from Tomato Skin with Supercritical Carbon Dioxide: Effect of Operating Conditions and Solubility Analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 5604-5610.

73. Tranchero, R. F. (2012). *Caracterización de 15 Variedades locales de tomate de L'Horta de Lleida*. Lleida.
74. Ummihan, T., Mitsuru, S., Motonobu, G., & and Kiro, H. (2009). Extraction of lycopene from tomato Skin with Supercritical Carbon Dioxide: Effect of Operating Condition and Solubility Analysis. *Agricultural and Food Chemistry*, 5604-5610.
75. University of Bristol. UK. (s.f.). *Sonochemistry*. Obtenido de Sonochemistry: <http://www.chm.bris.ac.uk/webprojects2004/eaimkhong/theory1.htm>
76. Vardagena, R., Santos, D., & Meireles, A. (2014). Intensification of Bioactive compounds extraction from medicinal plants using ultrasonic irradiation. *Pharmacognosy Review*, 88-95. Obtenido de <http://www.phcogrev.com/article.asp?issn=0973-7847;year=2014;volume=8;issue=16;spage=88;epage=95;aulast=Vardanega>
77. WA Brown and Virginia Corporation. (2014). *Sonics on Line*. Obtenido de Branson B5510 Ultrasonic Cleaner: <http://www.sonicsonline.com/b5510.html>
78. Wang, Z., Xiaokun, L., & and Wang, H. (2015). *Food Science*. Obtenido de Lycopene from tomato peel: Optimization of Ultrasonic Assited Extraction Methodology and Identification by High performance liquid chromatography: <http://www.spkx.net.cn/EN/abstract/abstract36483.shtml>
79. Watson, E. (24 de May de 2012). *Food Navigator-USA.com*. Obtenido de LycoRed Reports Rocketing Demand for Lycopene-based Red Color as Firms Seek Aternatives to Carmine : <http://www.foodnavigator-usa.com/Markets/LycoRed-reports-rocketing-demand-for-lycopene-based-red-color-as-firms-seek-alternatives-to-carmine>
80. Wayne W. Fish, P. P.-V. (2002). A Quantitative Assay for Lycopene That Utilizaes Reduced Volumens of Organic Solvents. *Journal of Food Composition and Analysis*, 309-317.

81. Wikipedia. (5 de Julio de 2013). *Wikipedia*. Obtenido de Ethylacetate:  
[https://en.wikipedia.org/wiki/Ethyl\\_acetate\\_\(data\\_page\)](https://en.wikipedia.org/wiki/Ethyl_acetate_(data_page))
82. Wikipedia. (8 de Marzo de 2016). *Wikipedia*. Obtenido de Ultrasound:  
<https://en.wikipedia.org/wiki/Ultrasound>
83. Wikipedia. (5 de April de 2016). *Wikipedia* . Obtenido de Lycopene:  
<https://en.wikipedia.org/wiki/Lycopene>
84. Yépez, J. N. (2013). *Caracterización físico-química y microbiología del tomate margariteño (Lycopersicon esculentum var. España) y evaluación de la efectividad de tratamientos de pre-ensado para el incremento de su vida comercial a temperatura ambiente*. Córdoba.
85. Zhao Suoqi, H. Y. (s.f.). Extracting Lycopene from tomato powders by Supercritical Propane and Carbon Dioxide with Industrial scale pilot. China.
86. Zhao, S., Hu, Y., & Qi, G. a. (s.f.). Extracting Lycopene from Tomato Powders by Supercritical Propane and Carbon Dioxide with Industrial Scale Pilot. *State Key Laboratory of Heavy Oil Processing, University of Petroleum, Beijing*.
87. Zhu, J., Wu, H., & Yang, S. a. (Septiembre de 2013). *ResearchGate*. Obtenido de Technology Optimization of Ultrasonic Assisted Extraction for Lycopene from Lyophilized Tomato Powder:  
[https://www.researchgate.net/publication/286096862\\_Technology\\_optimization\\_of\\_ultrasonic-assisted\\_extraction\\_for\\_lycopene\\_from\\_lyophilized\\_tomato\\_powder](https://www.researchgate.net/publication/286096862_Technology_optimization_of_ultrasonic-assisted_extraction_for_lycopene_from_lyophilized_tomato_powder)
88. Zofia Olempska-Bier, P. (2005). Lycopene (Synthetic) Chemical and Technical Assessment CTA. United State.