

ESTUDIO COMPARATIVO DE DOS METODOS DE EXTRACCIÓN DEL LICOPENO A PARTIR DE LOS RESIDUOS DEL PROCESAMIENTO DEL TOMATE

(Comparative study of two lycopene extraction methods from tomato waste processing)

Jordy Gámez-Villazana ¹, Rómulo Noguera ², Carlos Vertucci ², Tania Sandoval ¹

¹ Programa Ciencias del Agro y del Mar, UNELLEZ, Cojedes - Venezuela, Correo: jordyjavier1@gmail.com.

² Ingenieros Agroindustriales, UNELLEZ, Cojedes - Venezuela.

Recibido: 25/02/16 Aceptado: 31/03/16

RESUMEN

El licopeno es el carotenoide más abundante en el tomate, proporcionándole el color rojo característico. Posee propiedades antioxidantes de mucha utilidad en la prevención del cáncer, debido a que protege a las células humanas del estrés oxidativo, producido por la acción de los radicales libres. En base a la importancia que tiene el licopeno en los residuos del tomate (piel y semillas), este estudio compara dos métodos de extracción; el solvente orgánico etanol, y el aceite comestible de soya. El procedimiento para la obtención y cuantificación del licopeno se ejecutó a través de varias operaciones como la deshidratación, molienda, pesado y extracción con etanol y aceite comestible variando tiempo de agitación (tA) y temperaturas de extracción (Text). Los resultados indican que se obtuvo mayor concentración al utilizar el etanol como solvente extractante, obteniendo un valor de 86,1mg de licopeno/100 g de residuo o material seco; en un tA de 3 horas a una Text de 60°C. Mientras que con el aceite comestible de soya la mayor cantidad de licopeno que se extrajo fue de 25.40 mg de licopeno/100 g de residuo o material seco. Esto permite concluir que existen diferencias estadísticamente significativas entre la concentración de licopeno extraído con etanol y el obtenido con aceite comestible de soya en diferentes tA y Text, ya que el etanol es un solvente polar que puede extraer además del licopeno otras sustancias diferentes como por ejemplo xantofilas, lo que conduce a un alto rendimiento en la extracción.

Palabras clave: licopeno, piel de tomate, solvente orgánico, aceite comestible

SUMMARY

Lycopene is the most abundant carotenoid in tomatoes, giving the characteristic red color. It has antioxidant properties very useful in the prevention of cancer, because it protects human cells from oxidative stress, produced by the action of free radicals. Based on the importance of lycopene in tomato wastes (skin and seeds), this study compares two extraction methods; the organic solvent ethanol and edible soybean oil. The process for obtaining lycopene and quantification Was carried out through several operations such as dehydration, grinding, weigh and extraction with ethanol and edible oil varying stirring time (tA) and extraction temperatures (Text). The results indicate that higher concentration was obtained by using ethanol as extracting solvent, obtaining a value of 86,1mg of lycopene / 100 g of residue or dry material; a tA of 3 hours at 60 ° C Text. While the edible soybean oil as much lycopene extracted was 25.40 mg lycopene / 100 g of residue or dry material. This allows to conclude that there were significant differences between the concentration of lycopene extracted with ethanol and the obtained edible soybean oil at different tA and Text, since ethanol is a polar solvent which can also Extracts lycopene and other different substances such as xanthophylls, which leads to a high extraction yield.

Keywords: lycopene, tomato skin, organic solvent, edible oil

INTRODUCCIÓN

El pigmento llamado licopeno está ampliamente extendido en la naturaleza en frutas y vegetales, dándole su característico color de amarillo a rojo profundo a numerosas sustancias naturales como zanahoria, pimientos, tomates, flores o determinados microorganismos (Carmona, 2013). Los carotenoides han cobrado gran importancia debido a que son antioxidantes de mucha utilidad en la prevención del cáncer, ya que neutralizan los radicales libres que dañan a las células, de ellos, el licopeno posee propiedades antioxidantes mucho más potentes que el β -caroteno, y actúa protegiendo las células del estrés oxidativo producido por la acción de los radicales libres (Calvo, 2003). Por otro lado, numerosos estudios han puesto en evidencia que derivados del tomate reducen los daños al ADN, reduciendo la susceptibilidad al estrés oxidativo de los linfocitos (Porrini y Riso, 2000) y disminuyen la oxidación del LDL o la peroxidación lipídica. Además los carotenoides juegan un papel importante en la dieta los humanos como precursores de la vitamina A. Por otro lado, es necesario resaltar que el licopeno representa aproximadamente el 80 a 90% de los carotenoides que se encuentran en un tomate maduro promedio de la variedad *Lycopersicum esculentum*, y su cantidad aproximada en la hortaliza es alrededor de 3000 $\mu\text{g}/100\text{g}$ (Torres *et al*, 2003). Bajo esta perspectiva, el licopeno se utiliza en productos cosméticos, principalmente por la gran demanda, ocasionada en la preocupación global por la prevención de enfermedades de la piel causadas por el alto nivel de contaminación ambiental y la exposición directa a los rayos del sol (Torres *et al*, 2003). Así mismo, debido a su coloración amarilla a roja es utilizado como colorante alimenticio en margarinas, mantequillas, aceites, sopas, salsas, entre otros.

En otro orden de ideas, la industria del tomate genera cantidades considerables de residuos constituidos por la piel y semillas, a los cuales se les da el nombre también de subproducto industrial de tomate (SIT), el cual contiene cantidades importantes de factores nutricionales (Alvarado *et al*, 2001). Son muchos los estudios realizados en torno al

aprovechamiento de estos residuos; sin embargo, todos ellos están dirigidos a su utilización en la elaboración de pan, en la industria aceitera y en la obtención de concentrados proteicos para animales (Egui y Rodenas, 1993). Es por esto, que estos residuos que se generan en las industrias transformadoras de tomate pueden ser valorizados dando lugar a diferentes productos con usos varios, de esta manera un subproducto que podría generar problemas medioambientales se puede convertir en licopeno. Sin embargo, cabe mencionar que la extracción del licopeno obtenido a partir de residuos del tomate como compuesto de alta pureza, no ha sido estudiada en base a los diferentes métodos de extracción. De lo antes expuesto, este estudio pretende comparar dos métodos de extracción del carotenoide licopeno utilizando solvente orgánico como el etanol y aceite comestible en los residuos generados por el procesamiento industrial del tomate.

MATERIALES Y MÉTODOS

Este trabajo se llevó a cabo con 2 kilos de residuos de tomates provenientes del Complejo Agroindustrial Socialista de Quíbor, estado Lara. Los residuos fueron llevados al laboratorio de Química Agrícola de la Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado con la finalidad de realizar el pretratamiento respectivo; extracción y cuantificación del licopeno obtenido. Se utilizaron como extractantes etanol grado reactivo y aceite comestible de soya marca Diana. Se utilizó el método espectrofotométrico para la determinación de licopeno a través de lo descrito por Fish *et al*, (2002) con algunas modificaciones utilizando como unidad experimental 500 mg. Los residuos del procesamiento del tomate fueron tratados según Figura 1.

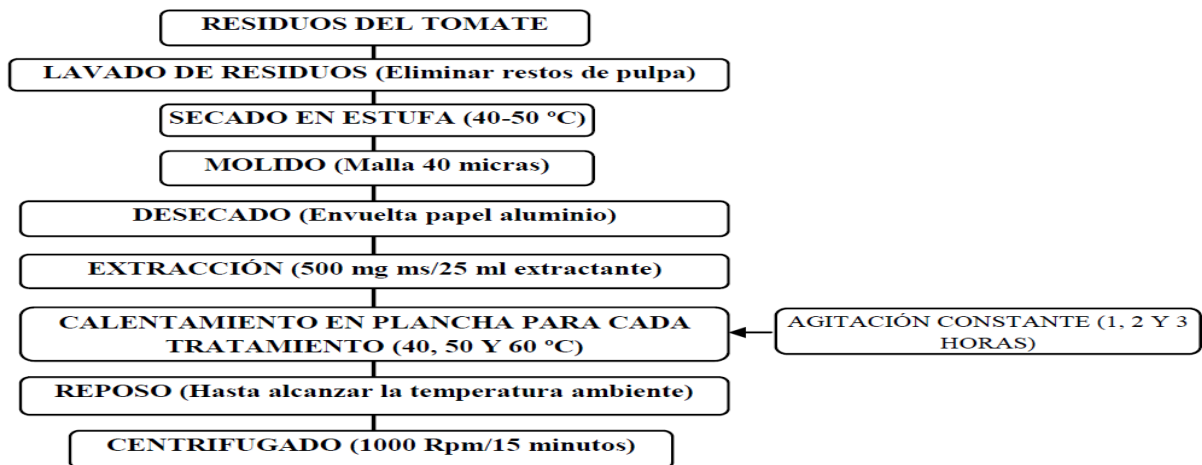


Figura 1. Esquema tecnológico para la obtención de Licopeno a partir de residuos del tomate

Las muestras obtenidas después de la centrifugación se analizaron utilizando como blanco el etanol y el aceite comestible. Se tomó alícuotas hasta que las absorbancias estuviesen dentro del rango de la curva patrón y hasta que el volumen del extractante se disolviera completamente. Para la cuantificación del licopeno se elaboraron curvas patrones bajo el siguiente procedimiento: Se utilizó una cápsula blanda del licopeno comercial (LYCOPENE) extracto puro de tomate marca NOW de 10 mg, y se disolvió en etanol y aceite comestible respectivamente (según sea el caso); y se transfirió a un balón volumétrico de 200 ml. En la curva patrón, para la extracción con etanol, se utilizó una bureta con la solución de 50 mg de licopeno/L y se midió cuantitativamente volúmenes de 0 a 5 ml en balones volumétrico de 25 ml, para preparar una serie de patrones de 2, 4, 6, 8 y 10 mg de licopeno/L. La curva patrón, para la extracción con aceite, se realizó preparando una solución sucesiva de 1 mg de licopeno/L, se miden en una bureta 6,25 y 12,5 ml en balones volumétricos de 25 ml y se preparan una serie de patrones de 0,25, 0,5, 1 y 2 mg de licopeno/L (Ordóñez, 2006). Seguidamente se Aforó cada balón con el extractante respectivo, y se calibró el equipo a cero absorbancia usando como blanco los extractantes en estudio. Luego las muestras se transfirieron en celdas de vidrios y se procedió a obtener los valores a una longitud de onda de 503 nm. Se trabaja a esta longitud de onda para minimizar la interferencia con otros carotenoides (Fish *et al*, 2002). Seguidamente se sustituyen en la ecuación de regresión y se determina la concentración de licopeno en las

distintas muestras. La cuantificación del licopeno presente en la muestra de los residuos del tomate se realiza con la siguiente ecuación:

$$\text{mg. de licopeno en la muestra} = \frac{\text{mg}}{L} \text{ de licopeno en la curva patron} \times \text{Vol.} \quad (1)$$

La matriz de diseño para la extracción del Licopeno tanto con etanol como con aceite de soya tiene dos factores experimentales y tres niveles establecidos, lo que genera un diseño factorial 3^2 de 9 tratamientos completamente repetido, para un total de 18 corridas. Los factores corresponden a las variables independientes Text (40, 50 y 60 °C) y tA (1, 2 y 3 horas), y la respuesta medida (Y) para cada solvente en mg de licopeno extraído/100gr material seco.

Para el análisis de datos de las curvas patrón correspondientes a la determinación cuantitativo del licopeno, usando los dos extractantes, se utilizó la herramienta Excel y se obtuvo la ecuación de regresión lineal con un resultado de R^2 superior a 0,99 en ambas curvas. Para evaluar la cantidad de licopeno extraído variando el tA y la Text se empleó estadística inferencial para obtener los análisis de varianza y prueba de F con el software STATISTICA V7. Para determinar estadísticamente entre los dos métodos de extracción aquel que mayor nivel de licopeno extraído presenta, se utilizó la prueba T de student de diferencias de medias de varianzas iguales.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados para la elaboración de las curvas patrón o calibración para cuantificación del licopeno utilizando como solvente etanol y aceite comestible de soya, preparadas a partir de diluciones de la solución original elaborada con la cápsula blanda de licopeno, se muestran en la Figura 2. En la misma se observa que el coeficiente de correlación y las concentraciones de los patrones de calibración son similares a los obtenidos por Ordóñez (2006) en cuanto a preparación de los patrones, longitud de onda y coeficiente de correlación (r) pero utilizando como diluyente hexano y aceite de oliva.

En la tabla 1 se muestran los mg de licopeno/100 g de material seco de piel y semillas de residuo industrial de tomate, extraído con etanol y aceite comestible de soya usando diferentes tA y Text. En la misma se visualiza que los niveles más altos de concentración de carotenoide de licopeno se obtienen a las tres horas de agitación de este residuo en

diferentes temperaturas (40°C, 50°C y 60°C), siendo 86,1 mg licopeno/100 g de residuo la concentración más elevada obtenida a las 3 horas de agitación y a una Text de 60°C para el extractante Etanol. El resultado obtenido es coherente con los datos reportados Rodríguez (2001), en la cual para obtener mayores niveles de extracción se recomienda trabajar con temperaturas preferiblemente entre 50 °C y 60 °C y tres horas de tA. No obstante, Cardona (2006) demostró que la mejor temperatura de extracción es de 50°C con un solvente de etil acetato dando como resultado 64, 20 mg de licopeno/100 gr de pulpa de tomate.

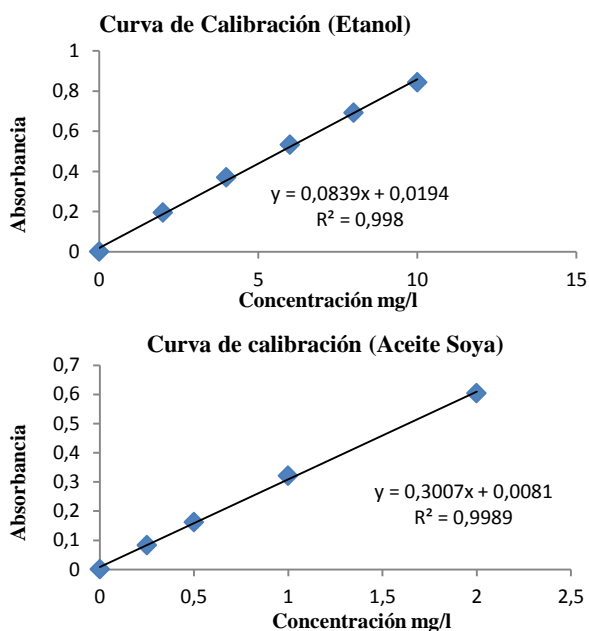


Figura 2. Concentración licopeno vs. Absorbancia para el etanol y aceite comestible respectivamente.

Tabla 1. Extracción de mg licopeno con etanol y aceite comestible de soya por cada 100 g de residuos de tomate de acuerdo a la matriz de diseño de tratamientos.

CORRIDA	TRATAMIENTO	mg licopeno extraído con etanol/100 g. Residuo	mg licopeno extraído con Aceite comestible de soya/100 g. Residuo
1	1 hora a 40 °C	57,7 ^a	20,93 ^b
2	1 hora a 40 °C	56,9 ^a	21,04 ^b
3	2 hora a 40 °C	64,3 ^a	21,20 ^b
4	2 hora a 40 °C	60,5 ^a	21,04 ^b
5	3 hora a 40 °C	70,5 ^a	22,70 ^b
6	3 hora a 40 °C	68,2 ^a	22,40 ^b
7	1 hora a 50 °C	69,6 ^a	22,30 ^b
8	1 hora a 50 °C	71,4 ^a	22,60 ^b
9	2 hora a 50 °C	73,7 ^a	23,30 ^b
10	2 hora a 50 °C	72,7 ^a	23,10 ^b
11	3 hora a 50 °C	75,4 ^a	23,40 ^b
12	3 hora a 50 °C	75,6 ^a	24,00 ^b
13	1 hora a 60 °C	74,2 ^a	21,20 ^b
14	1 hora a 60 °C	74,9 ^a	20,70 ^b
15	2 hora a 60 °C	79,4 ^a	22,60 ^b
16	2 hora a 60 °C	80,9 ^a	22,40 ^b
17	3 hora a 60 °C	86,1 ^a	25,40 ^b
18	3 hora a 60 °C	83,9 ^a	25,06 ^b

Letras diferentes indican diferencias significativas entre los extractantes.

En misma tabla se puede observar que luego de una hora de tA y una Text de 40°C se obtiene en promedio 20,98 mg licopeno/100 g de material seco (piel y semillas) cuando se utiliza aceite comestible de soya como extractante. Al incrementar el tA, aumenta levemente la concentración de carotenoide licopeno pero manteniendo la Text a 40°C. De igual manera, se evidencia que luego de 2 y 3 horas de agitación a una temperatura de 50°C se mantienen los niveles de concentración del carotenoide licopeno; sin embargo, la mayor concentración de este compuesto (25,6 mg licopeno/100 g) es obtenido a las 3 horas de tA a una Text de 60°C. Se esperaba obtener mayor concentración de licopeno con aceite comestible de soya, debido a que representan la mayor proporción de la fase liposoluble de la actividad antioxidante tanto de la pulpa como de la piel y semillas. Aunado a esto se realizó la deshidratación y molienda del residuo (piel-semillas) para facilitar el contacto del extractante, debido a que los menores tamaños de partículas conducen a una mayor área de transferencia de masa, lo cual facilita la extracción de la sustancia carotenoide licopeno y sin embargo los resultados no fueron los esperados. Los resultados contrastan con los obtenidos por Valdiviezo y Reyes (2010) en pulpa de sandía (*Citrullus lanatus*), en donde se obtuvo mayor rendimiento de licopeno con aceite comestible (67,51%) en vez de etanol (0,54 %). Esta diferencia se debe a la imposibilidad que tuvieron estos investigadores en

obtener eficientemente el licopeno de la pulpa de sandía usando como extractante el etanol debido a la formación durante la deshidratación de una capa gelatinosa en la superficie del producto resistente a los solventes. Similarmente, Cardona *et al* (2006) concluyeron que al realizar la extracción de licopeno en la pulpa del tomate un alto contenido de humedad dificulta el proceso de extracción con etanol, por lo que se hace necesario disminuirla en la fuente del licopeno hasta en un 75 % en peso, por lo que previamente se debe comenzar por una reducción en la cantidad de agua a muy bajo nivel y posteriormente la extracción con solventes no polares en presencia de solventes polares.

En la tabla 2 se observa el análisis de varianza del modelo factorial completo para la respuesta mg licopeno/100 g residuo seco con los extractantes etanol y aceite comestible de soya. En la misma se visualiza que las variables Temperatura de extracción (Text) y Tiempo de Agitación (tA) tienen un efecto significativo sobre la respuesta obtenida por ambos extractantes, sin embargo, quien ejerce la mayor influencia sobre la variabilidad de los mg de licopeno es la Text, dando a entender que 60 °C es la temperatura adecuado para establecer la extracción de licopeno. Desde otra perspectiva, el coeficiente de regresión R² tanto para etanol y como para el aceite comestible indican buena predicción del modelo, indicando que la variabilidad de la respuesta medida (mg. Licopeno/100 gr. residuo seco) con el extractante etanol y aceite comestible es explicada por los factores experimentales estudiados, existiendo una pequeña variabilidad no explicada, debido al rango de los factores experimentales o a falta de incluir otros factores que puedan afectar la variabilidad de la cantidad de licopeno extraído en los residuos del tomate tal como la proporción de masa de muestra vs. Volumen de solvente.

Tabla 2. Análisis de la varianza del modelo factorial completo para la respuesta Licopeno extraído (mg) con los extractantes etanol y aceite comestible de soya.

Fuente de Variación (FV)	Grados de Libertad (gl)	Significancia estadística de los mg licopeno extraído con etanol/100 g. residuo	Significancia estadística de los mg licopeno extraído con aceite comestible/100 g. residuo
Tratamientos	8	**	**
Regresión	3	**	**
Términos de 1 er Orden	2	**	**
Text (X1)	1	**	**
tA (X1)	1	**	**
Interacción	1	*	NS
X1*X2	1	*	NS
Falta de Ajuste	5	NS	NS
Error experimental	14		

En la figura 3 se muestran de forma comparativa los promedios de las concentraciones obtenidas de mg de licopeno a diferentes valores de Text, tA y extractantes en los residuos. En la misma se puede evidenciar que el mejor extractante para obtener y cuantificar la cantidad de licopeno presente en los residuos del tomate es el etanol tal como se comprueba en la tabla 1, en vista que existen diferencias estadísticamente significativas entre la concentración de licopeno extraído con etanol y aceite comestible de soya, siendo los mejores niveles a establecer como referencia 60 °C para la Text, ya que la temperatura favorece la solubilidad de las sustancias lipofílicas en solventes y 3 horas de tA, el cual constituye otro de los factores importantes en la extracción de licopeno, dependiendo de la cantidad de solvente que se emplee para ello. Un mayor tiempo de contacto lleva a la obtención de una mayor concentración de licopeno.

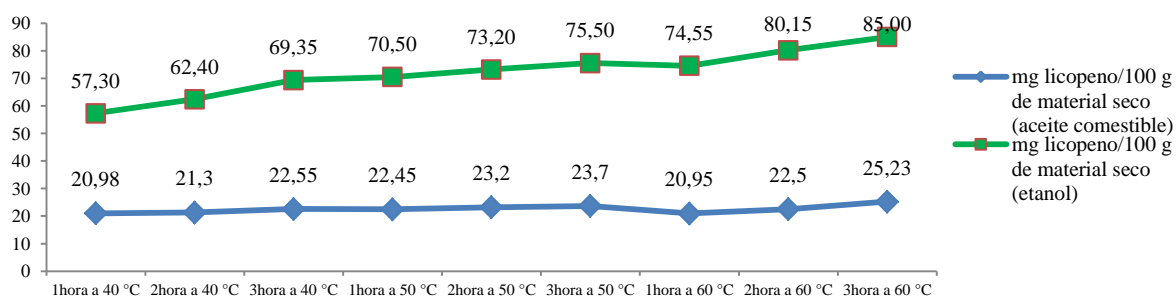


Figura 2. Gráfico comparativo de las concentraciones de licopeno a diferentes tiempos de agitación, temperaturas y diferentes solvente extractantes (etanol y aceite).

CONCLUSIONES

Las curvas de calibración elaboradas a partir de cápsulas comerciales como patrón primario para la determinación cuantitativa del licopeno son confiables para los extractantes etanol y aceite comestible, de acuerdo a la ley de Lambert-Beer, dando una recta al graficar y un R^2 de 0,999. Al utilizar el etanol como extractante se obtuvo la mayor concentración de licopeno (86,10 mg /100 de residuo o material seco) a las 3 horas de tA a una Text de 60°C. Mientras que al utilizar el aceite comestible, se obtuvo mayor concentración (25,40 mg/100g de residuo) de licopeno a las 3 horas de tA a una Text de

60°C. Se comprobó que existe una diferencia significativa entre la concentración de licopeno extraído con etanol y la obtenida con aceite comestible a diferentes tA y Text. Estos resultados indican que la extracción con solventes polares, como el etanol, se pueden extraer además del licopeno otras sustancias como por ejemplo xantofilas, que también son altamente solubles; lo que conduce a un alto rendimiento en la extracción.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Calvo, C. 2003. Colorantes funcionales. Alimentación, equipos y tecnología. Junio; 22(180), 87-92.
- Cardona E, Ríos L, Restrepo G. 2006. "Extracción del carotenoide licopeno del tomate Chonto", Vitae revista de la Facultad de Química Farmacéutica. Vol 13, Medellín Colombia, Octubre.
- Carmona, Iris. 2013. "Utilización de los residuos de la industria del tomate para la obtención de compuestos bioactivos". Reporte N° 7 boletín informativo Agrimundo, Oficina de Estudios y Políticas Agrarias ODEPA, Fundación para la Innovación Agraria FIA, Agosto.
- Porrini M, Riso P. 2000. "Lymphocyte Lycopene concentration and DNA protection from oxidative damage is increased in women after a short period of tomato consumption". Journal of Nutrition. 130:189-192.
- Torres AM, Rojas LF, Mazo JC, Sampedro C, Restrepo S, Atehortua. L. 2003. "Estudio de medios de cultivo para la síntesis de Licopeno a partir de *Clavibacter michiganensis* sub. *Michiganensis*." Vitae 10(2): 37-45.
- Alvarado A., Pacheco E. y Hevia P. 2001. "Value of tomato by products as a source of dietary fiber in rats." Plant Foods for Humans Nutrition 56:335-348.
- Egui, V. y Rodenas A. 1993. Obtención de aceite comestible a partir de semillas de tomate (*Lycopersicon esculentum*) procedente de residuos agroindustriales. Tesis de grado. Universidad Nacional Experimental "Simón Rodríguez". Núcleo Estado Carabobo. Valencia, Venezuela.
- Fish, W.; Perkins-Veazie, P. y Collins, J. 2002. "A quantitative assay for lycopene that utilizes reduced volumes of organic solvents." J. Food Comp. Anal. Vol. 15, pags. 309-317.
- Ordóñez L. 2006. "Estudio comparativo de las características físico-químicas, nutricionales y microscópicas del tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) procedente del cultivo ecológico y convencional, en fresco y tras la obtención de triturados, y de diferentes derivados comerciales del tomate" Universidad de Santiago de Compostela. Tesis Doctoral.
- Valdiviezo M. J, Reyes L. M. 2010. "Extracción del carotenoide licopeno a partir de los rechazos Post cosecha del Mercado Interno de *Citrullus lanatus* (Sandía) para su futura Aplicación en Alimentos." Facultad de Ingeniería en Mecánica y Ciencias de la Producción. Escuela Superior Politécnica del Litoral (ESPOL). Guayaquil, Ecuador.