



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS Y
BIOTECNOLOGÍA



CARRERA DE INGENIERÍA BIOQUÍMICA

Obtención de un extracto rico en carotenoides con capacidad antioxidante a escala de banco a partir de residuos agroindustriales del tomate de árbol (*Solanum betaceum*)

Trabajo de Titulación, Modalidad: Proyectos de Investigación, previa la obtención del Título de Ingeniero Bioquímico, otorgado por la Universidad Técnica de Ambato, a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

Autor: Walter Ramiro Urbina Calero

Tutor: Lic. MSc. Danae Fernández Rivero

AMBATO-ECUADOR

Noviembre 2019

APROBACIÓN DEL TUTOR

Lic. MSc. Danae Fernández Rivero

CERTIFICA

Que el presente trabajo de titulación ha sido prolijamente revisado. Por lo tanto, autorizo la presentación de este Trabajo de Titulación bajo la modalidad de Proyecto de Investigación, el mismo que responde a las normas establecidas en el Reglamento de Títulos y Grados de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología, de la Universidad Técnica de Ambato.

Ambato, 01 de octubre de 2019.



Lic. MSc. Danae Fernández Rivero

C.I. 175718120-9

TUTOR

DECLARACIÓN DE AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, Walter Ramiro Urbina Calero, manifiesto que los resultados obtenidos en el presente Proyecto de Investigación, previo a la obtención del título de Ingeniero Bioquímico, son absolutamente originales, auténticos y personales; a excepción de las citas bibliográficas.



Walter Ramiro Urbina Calero

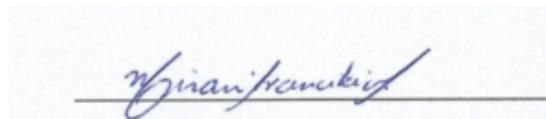
C.I. 050336084-4

AUTOR

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO

Los suscritos Profesores Calificadores, aprueban el presente Trabajo de Titulación, modalidad proyecto de investigación el mismo que ha sido elaborado de conformidad con las disposiciones emitidas por la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología de la Universidad Técnica de Ambato.

Para constancia firman



Presidente del tribunal



Dr. Orestes Darío López Hernández.

C.I. 175478486-4



Ing. Mg. Daniel Alfonso Cabrera Valle.

C.I. 180256159-5

Ambato, 12 de noviembre de 2019.

DERECHOS DE AUTOR

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga de este proyecto de investigación o parte de él, un documento disponible para su lectura consulta y procesos de investigación, según las normas de la Institución.

Cedo los derechos en línea patrimoniales de mi Proyecto, con fines de difusión pública, además apruebo la reproducción de este Proyecto dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica y se realice respetando mis derechos de autor.



Walter Ramiro Urbina Calero

C.I. 050336084-4

AUTOR

DEDICATORIA

A Dios por su infinito amor

A la memoria de mi padre Nelson, por el amor y confianza depositados, por ser un ejemplo de esfuerzo y valores inculcados en mi persona.

A mi madre Emma y hermanos por ser el respaldo que he tenido en todo momento

A mis amigos

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Técnica de Ambato por ser parte de mi formación como profesional.

Agradezco a mi tutor, Lic. MSc. Danae Fernández Rivero, por el aporte brindado en materia de conocimientos para el desarrollo de proyecto de investigación, por el tiempo y disposición de ayudar a despejar cualquier inquietud en los temas de investigación.

Agradezco al Dr. Orestes López, por su aporte de conocimientos en la realización del proyecto de investigación.

A mis amigos, Iván, Francisco, Henry, Alexandra, Catalina, Cristina, por formar parte de una etapa de mi vida en la que hemos compartido buenos y malos momentos que quedaran marcados por siempre, pero persistentemente creyendo que podemos lograr más de lo que aspiramos.

ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS

CONTENIDOS

ÍNDICE DE TABLAS	XI
ÍNDICE DE FIGURAS.....	XI
ÍNDICE DE ECUACIONES	XII
ÍNDICE DE ANEXOS.....	XIII
Resumen.....	1
Abstract	2
INTRODUCCIÓN	3
CAPÍTULO I.....	5
1. EL PROBLEMA.....	5
1.1. Tema de investigación.....	5
1.2. Justificación.....	5
1.3. Objetivos	7
1.3.1. Objetivo General	7
1.3.2. Objetivos Específicos	7
CAPÍTULO II	8
2. MARCO TEÓRICO	8
2.1. Antecedentes investigativos	8
2.1.1. Características del tomate de árbol (<i>Solanum betaceum</i>).....	8
2.1.2. Composición nutricional del tomate de árbol.....	8
2.1.3. Propiedades antioxidantes de los carotenoides.....	9
2.1.4. Métodos de determinación de actividad antioxidante	10
2.1.5. Beneficios de los carotenoides en la salud.	11
2.1.6. Técnicas de extracción de carotenoides.	11

2.1.7.	Escalamiento de bioprocesos.....	14
2.1.8.	Microencapsulación mediante secado por aspersión.....	17
2.2.	Hipótesis	19
2.2.1.	Hipótesis nula	19
2.2.2.	Hipótesis alternativa	19
2.3.	Señalamiento de variables	19
2.3.1.	Variables dependientes	19
2.3.2.	Variables independientes.....	19
CAPÍTULO III.....		20
3.	METODOLOGÍA.....	20
3.1.	Materiales	20
3.2.	Métodos	21
3.2.1.	Obtención del material vegetal.....	21
3.2.2.	Obtención del extracto a nivel de laboratorio.....	22
3.2.3.	Obtención del extracto a nivel de banco.....	22
3.2.4.	Caracterización de los extractos vegetales.	25
3.2.5.	Microencapsulación del extracto mediante secado por aspersión. ...	27
3.2.6.	Espectroscopía infrarroja.....	29
3.2.7.	Análisis estadístico.	29
CAPÍTULO IV.....		31
4.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	31
4.1.	Análisis y discusión de los resultados.	31
4.1.1.	Desescalado con similitud geométrica	31
4.1.2.	Caracterización de los extractos vegetales	36
4.1.3.	Microencapsulación.....	43

4.1.4.	Determinación de la actividad antioxidante	45
4.1.5.	Caracterización espectroscópica del extracto	48
4.2.	Verificación de la hipótesis	51
4.2.1.	Hipótesis nula	51
4.2.2.	Hipótesis alternativa	51
CAPÍTULO V		52
5.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	52
5.1.	Conclusiones	52
5.2.	Recomendaciones	53
BIBLIOGRAFÍA		54
ANEXOS		62

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Propiedades físicas del etanol	31
Tabla 2. Parámetros de un reactor industrial.....	32
Tabla 3. Dimensiones de los biorreactores utilizados en la extracción.....	32
Tabla 4. Resultados de los cálculos de desescalado.....	35
Tabla 5. Resultados de la actividad antioxidante del extracto concentrado y microencapsulado.....	47

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura química del Licopeno	10
Figura 2. Tipos de impulsores para sistemas de agitación.	17
Figura 3. Gráfico de medias correspondiente al porcentaje de humedad	37
Figura 4. Gráfico de medias correspondiente al pH.....	38
Figura 5. Gráfico de medias del índice de refracción	39
Figura 6. Gráfico de medias para la viscosidad cinemática.....	40
Figura 7. Gráfico de medias de la concentración de licopeno	41
Figura 8. Gráfico de medias para la eficiencia de extracción de carotenoides.	43
Figura 9. Gráfico de medias para el porcentaje de inhibición.....	46
Figura 10. Espectros de resonancia infrarrojo.....	48
Figura 11. Espectro infrarrojo expresado en porcentaje de transmitancia	50

ÍNDICE DE ECUACIONES

Ecuación 1. Número de potencia (W)	23
Ecuación 2. Velocidad de agitación (s^{-1}).....	23
Ecuación 3. Número de potencia por unidad de volumen	23
Ecuación 4. Distancia del agitador a la pared del biorreactor	24
Ecuación 5. Distancia del agitador al fondo del biorreactor	24
Ecuación 6. Relación de diámetro de impelente y tanque	24
Ecuación 7. Número de Reynolds	24
Ecuación 8. Determinación de la concentración de licopeno	26
Ecuación 9. Eficiencia del proceso de extracción.....	27
Ecuación 10. Porcentaje de inhibición del reactivo DPPH	28
Ecuación 11. Porcentaje de eficiencia de la microencapsulación	29
Ecuación 12. Curva de calibración de Trolox	46

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. ANOVA para % de humedad por Volumen (L).....	62
Anexo 2. ANOVA para pH por Volumen (L).....	62
Anexo 3. ANOVA para Índice de refracción por Volumen (L)	63
Anexo 4. ANOVA para Viscosidad Cinemática (cSt.s ⁻¹) por Volumen (L)	63
Anexo 5. Tabla ANOVA para la concentración de licopenos (mg.L ⁻¹).....	63
Anexo 6. ANOVA para la Eficiencia de Extracción en mg.kg ⁻¹	64
Anexo 7. Resultados del porcentaje de rendimiento del proceso de microencapsulación.....	64
Anexo 8. Porcentaje de eficiencia de microencapsulación	65
Anexo 9. ANOVA para el porcentaje de inhibición del radical DPPH	65
Anexo 10. Grafica de la curva de calibración de Trolox (50 – 500 µmol.L ⁻¹)	66
Anexo 11. Resultados de la caracterización físico química de los extractos	66

Resumen

El proyecto de investigación tuvo como objetivo la obtención de un extracto rico en carotenoides hasta una escala de banco, a partir de los residuos agroindustriales del tomate de árbol (*Solanum betaceum*). La extracción de los carotenoides se realizó a partir del residuo vegetal seco y como solvente el etanol con una relación material vegetal/solvente de 1/70, 50 °C y 30 minutos en las escalas de laboratorio (0,5 L) y banco (3 y 5 L). Se realizó la caracterización físico química del extracto, determinando el porcentaje de humedad igual a 99,90%, pH de 5,69, índice de refracción de 1,36, viscosidad cinemática de 2,09 cSt.s⁻¹, concentración de licopenos 0,51 mg.L⁻¹ y eficiencia de extracción de 34,34 mg.k⁻¹. En la microencapsulación se utilizó el extracto de mayor escala (5 L), concentrando la muestra hasta obtener un 13,45% de sólidos, determinándose el porcentaje de rendimiento en el proceso de microencapsulación igual a 79,02% y el porcentaje de eficiencia de microencapsulación de 99,39%, además de un análisis de espectroscopía infrarrojo que corroboró dichos resultados considerados como favorables para realizar un escalado mayor del proceso. Se determinó la actividad antioxidante por el método del radical DPPH realizando una curva de calibración de Trolox, obteniendo un 50,80% de inhibición del DPPH en el extracto sin concentrar e incrementándose en un 200% en el extracto concentrado. En el extracto microencapsulado se obtuvo un 21,72% de inhibición del DPPH equivalente a 142,72 µmol.L⁻¹ con una disminución de la actividad antioxidante de 34,27% respecto del extracto concentrado realizando una dilución de 1/200.

Palabras clave: microencapsulación, polímeros, actividad antioxidante equivalente de Trolox, espectroscopía infrarroja

Abstract

The research project had to objective obtain an extract rich in carotenoids up to a scale of a bench, from the agroindustrial waste of the tree tomato (*Solanum betaceum*). The extraction of the carotenoids was conducted the dry vegetable residue and as solvent ethanol with a residue waste/solvent of 1/70, 50 °C and 30 minutes on laboratory scales (0.5 L) and bench (3 and 5 L). The chemical physical characterization of the extract was performed, determining the humidity percentage equal to 99,90%, pH of 5,69, refractive index of 1,36, kinematic viscosity of 2,09 cSt.s⁻¹, lycopenes concentration of 0.51 mg.L⁻¹ and yield extraction of 34.34 mg.kg⁻¹. In the microencapsulation the higher scale extract (5 L) was used, concentrating the sample until get 13.45% solids, determining the percentage yield in the microencapsulation process equal to 79.02% and the percentage of efficiency of microencapsulation of 99.39%, also an infrared spectroscopy analysis that corroborated these results considered to be favorable for higher scaling of the process. Antioxidant activity was determined by the DPPH radical method by doing a Trolox calibration curve, obtaining 50.80% DPPH inhibition in the extract without concentrating, increasing by 200% in the concentrated extract. In the microencapsulated extract was obtained an 21.72% inhibition of DPPH equivalent to 142.72 μmol.L⁻¹ with a decrease in antioxidant activity of 34.27% compared to the concentrated extract doing a dilution of 1/200.

Keywords: microencapsulation, polymers, Trolox equivalent antioxidant activity, infrared spectroscopy

INTRODUCCIÓN

El tomate de árbol (*Solanum betaceum*) es una fruta originaria de Sudamérica y se cultiva en las regiones Andinas de países como Bolivia, Colombia, Ecuador y Perú. En Ecuador se cultivan en varias provincias de la sierra, siendo Tungurahua la provincia de mayor producción a nivel nacional. El consumo es de forma tradicional en jugos y mermeladas. En el procesamiento industrial se generan desechos como las cáscaras y semillas llegando a alcanzar valores de hasta un 5% (**Silva, Brooks, et al., 2018**).

Las cáscaras del tomate de árbol presentan un alto contenido de compuestos antioxidantes, tales como carotenoides, ácido ascórbico y compuestos fenólicos, incluso mayor que en la fracción de la pulpa (**Silva, Brooks, et al., 2018**). Los carotenoides son los compuestos químicos con mayor presencia en las cáscaras de tomate, son pigmentos naturales con una estructura química de ocho unidades de isopreno, liposolubles y responsables de la coloración del tomate de árbol.

El licopeno es un pigmento vegetal perteneciente al grupo de los carotenoides con un alto contenido de actividad antioxidante, es incorporado a la dieta humana como un micronutriente que no se sintetiza en el cuerpo humano y es obtenido por el consumo de alimentos como el tomate, pimiento rojo y sandía. Es utilizado en algunos productos alimenticios con la finalidad de incrementar sus propiedades funcionales.

El consumo de carotenoides es muy beneficioso para la salud reduciendo los problemas cardíacos, estimulando el sistema inmunológico y puede ayudar a reducir las probabilidades de algunos tipos de cáncer (**Sañay, 2010**). Es considerado un potente antioxidante natural con actividad de provitamina A e inhibe los radicales libres. Debido a los altos costos de producción del licopeno sintético, una alternativa es el uso de los residuos agroindustriales de la industrialización del tomate de árbol para hacer rentable el proceso, abarcando un mercado de consumo mucho mayor que en la actualidad.

La producción de extractos ricos en carotenoides a escala de banco a partir de los resultados obtenidos en experimentos a nivel de laboratorio, han de dar lugar al desarrollo de una tecnología de extracción industrial, optimizando los procesos y

obteniendo un rendimiento ideal. Así se aprovechan los residuos agroindustriales para la extracción de este en el tomate de árbol, siendo más rentable el proceso de su producción.

La microencapsulación del extracto con alto contenido de licopeno es un proceso clave en la conservación de las propiedades funcionales y antioxidantes, además la microencapsulación permite mejorar las propiedades organolépticas del ingrediente activo. Los efectos de la luz, pH, oxígeno y calor son causantes de la degradación de los carotenoides. La tecnología de secado por pulverización permite la utilización de productos que se pueden incorporar como ingredientes activos en la preparación de alimentos funcionales o productos farmacéuticos de liberación controlada, aumentando su especificidad y disponibilidad (**Corrêa, Lourenço, Duarte, Moldão y Alves, 2019**).

CAPÍTULO I

EL PROBLEMA

1.1. Tema de investigación

Obtención de un extracto rico en carotenoides con capacidad antioxidante a escala de banco a partir de residuos agroindustriales del tomate de árbol (*Solanum betaceum*).

1.2. Justificación

La generación de subproductos a partir de residuos provenientes de la agroindustria es de gran importancia, además en los últimos años los clientes buscan productos de origen natural, ante esta situación actual la extracción de metabolitos de origen natural ha incrementado su relevancia en la industria.

Debido a las necesidades actuales es prioritario investigar y desarrollar nuevos sistemas de extracción de metabolitos a partir de residuos agroindustriales de forma eficiente y amigable con el medio ambiente. Aunque los residuos generados del procesamiento de alimentos implica una problemática ambiental para la industria, también son fuentes de compuestos activos que pueden ser utilizados debido a sus propiedades funcionales (**González, 2013**).

El tomate de árbol (*Solanum betaceum*) es un arbusto de rápido crecimiento, considerado de vida corta, pudiendo vivir entre 5 y 12 años (**Acosta, 2011**). Es una planta originaria de los Andes Peruanos, dispersa en otros países de la región andina como Chile, Ecuador, Bolivia, Brasil y Colombia. En el Ecuador se cultivan unas 9000 hectáreas, principalmente en Tungurahua, Pichincha, Imbabura, Cotopaxi, Chimborazo, Azuay y Loja (**El Comercio, 2011**). Tungurahua con una producción anual de 12.051 Tm que representa el 59,62% de la producción total del país (**INEC, 2017**). Industrialmente el tomate de árbol es aprovechado para la producción de

pulpas, concentrados y mermeladas principalmente, además es posible emplearlos en la producción de jugos y licores (INIAP, 2019).

Se ha evidenciado que los frutos del tomate de árbol presentan un mayor contenido de carotenoides con respecto a otros frutos andinos (Acosta, 2011), siendo los de piel roja los de mayor actividad antioxidante respecto a los de color amarillo. Los carotenoides son los pigmentos responsables del color amarillo, naranja y rojo en frutas y vegetales, son liposolubles y se encuentran divididos en dos grupos: carotenos y xantofilas, los carotenos están constituidos por átomos de carbono e hidrógeno mientras que las xantofilas tienen átomos de carbono e hidrógeno, pero además oxígeno que es lo que los diferencia de los primeros. Según Martí y Sánchez, (2008) hasta la actualidad se han descubierto 750 carotenoides diferentes de origen natural, de estos se han caracterizado un total de 500.

Los procesos de extracción desarrollados para la obtención de carotenoides de residuos agroindustriales del tomate a lo largo del tiempo han permitido obtener excelentes rendimientos como los experimentos realizados por Strati y Oreopoulou, (2011b) lograron extraer una cantidad de carotenoides de $36,5 \text{ mg.kg}^{-1}$ de residuos secos del tomate de árbol con una mezcla de disolventes de etilo – hexano, mientras que usando el solvente etanol se alcanzó una cantidad de $6,1 \text{ mg.kg}^{-1}$.

Los carotenoides al ser extraídos de matrices vegetales presentan dificultades de estabilidad y tienden a su degradación por efectos de la luz o condiciones ambientales, siendo necesario realizar un proceso de conservación como la microencapsulación con polímeros. El secado por aspersión representa la alternativa más adecuada para este tipo de compuestos activos que son sensibles a la acción de la temperatura. Entre los polímeros se encuentra la maltodextrina e inulina que fue utilizada por Corrêa et al., (2019) para la microencapsulación del extracto de carotenoides obtenido de residuos de la industrialización del tomate.

La obtención de licopeno de residuos agroindustriales permite obtener una mejor rentabilidad y eficiencia en los diversos procesos industriales, siendo necesario realizar pruebas de escalado de los procesos de extracción, aislamiento y purificación. Como

referencia se mencionan a **Cardona, Ríos y Restrepo (2006)** que desarrollaron una planta piloto para extraer carotenoides del tomate Chonto (*Lycopersicum esculentum*) en un volumen de 62,5 L en un biorreactor de tanque agitado.

Los extractos microencapsulados de licopeno con una pureza alta son utilizados en las industrias de alimentos, cosmética y farmacéutica elaborando alimentos funcionales, concentrados proteicos o protectores solares (**Martí y Sánchez, 2008**).

1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivo General

Obtener un extracto rico en carotenoides con capacidad antioxidante a escala de banco a partir de residuos agroindustriales del tomate de árbol (*Solanum betaceum*).

1.3.2. Objetivos Específicos

- Extraer carotenoides de residuos agroindustriales del tomate de árbol hasta una escala de banco.
- Caracterizar fisicoquímicamente el Ingrediente Activo en las diferentes escalas.
- Microencapsular el extracto obtenido en la mayor escala.
- Demostrar la capacidad antioxidante del extracto y microencapsulado.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes investigativos

2.1.1. Características del tomate de árbol (*Solanum betaceum*)

El tomate de árbol (*Solanum betaceum*) es conocido también con otros nombres como tamarillo, tomate de agua, tomate chimango o tomate de monte, el nombre científico se estableció en el año de 1999. En el Ecuador se cultiva a una altura entre los 600 y 3300 msnm con temperaturas de 14 y 20 °C (Sagñay, 2010).

La planta del tomate de árbol es arbustiva, de tallo leñoso y ramificada, con una altura de entre 1,50 y 2 m dependiendo de la variedad, las raíces son profundas con abundante ramificación, las hojas son acorazonadas en la base y las flores son de 5 lóbulos color rosa, 5 estambres de color amarillo y se autopolinizan (Sagñay, 2010). Los frutos son de forma ovoide-apiculada de color verde cuando esta inmaduro, la cáscara (exocarpo) es suave y dependiendo de la variedad puede ser de colores amarillo, rojo, naranja o vetado oscuro longitudinalmente, su longitud se encuentra entre 6 y 10 cm de largo y de 4 y 8 cm de ancho con un peso promedio de 80 y 100 g (Chamorro, 2014).

2.1.2. Composición nutricional del tomate de árbol

El fruto del tomate de árbol (*Solanum betaceum*) presenta altos contenidos de fibra, minerales como el calcio, hierro, fósforo y potasio, además de vitaminas A, B, C y K, con un aporte importante de carotenoides y pectinas (Sagñay, 2010).

Los carotenoides son compuestos orgánicos liposolubles de cadenas largas no saturadas que le dan la coloración a las frutas como el amarillo, rojo y naranja (Valdiviezo, 2010). Los carotenoides principales que se encuentran en el tomate de árbol son la criptoxantina y el β -caroteno en concentraciones que van desde 6,8 – 12,3 y 6,2 – 12,8 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ respectivamente en peso fresco para la cáscara del tomate de árbol.

Los dos compuestos son la principal fuente de pro-vitamina A (**Portela, 1999**) y los frutos presentan un contenido equivalente a 4 mg de carotenos totales por cada 100 g de muestra (**Sagñay, 2010**).

Otros compuestos activos presentes en el tomate de árbol son las antocianinas, conocidos como flavonoides, son pigmentos de color rojos solubles en agua. Su estructura química son los glúcidos de las antocianidinas (**Aguilera, Reza, Chew, y Meza, 2011**). Experimentos de **Portela (1999)** determinaron las concentraciones de flavonoides en $6,4 \times 10^{-3}$ mmol.g⁻¹ en peso fresco en el tejido mucilaginoso que rodea las semillas, para la cáscara los valores reportados fueron de $9,7 \times 10^{-4}$ mmol.g⁻¹ en peso fresco. Las concentraciones de carbohidratos no son significativas, con un aporte menor a 40 calorías por fruta. Los contenidos de almidón y azúcares son del 1% y 5% respectivamente cuando el fruto está maduro (**Amaya y Julca, 2006**), experimentos realizados por **Portela (1999)** en frutos inmaduros del tomate de árbol determinaron que la cantidad del contenido de almidón alcanza un 14% del peso fresco y disminuye hasta el 1% cuando el fruto alcanza la madurez .

Las cantidades de fibra en las cáscaras del tomate es significativo con valores reportados de 48,62 a 53,97 g por 100 g de peso seco de residuo de tomate, las cantidades de proteínas alcanzan valores desde 16,82 a 23,24 g por cada 100 g de residuo y grasa de 11,18 a 16,72 g.100 g⁻¹ (**Silva, Brooks, et al., 2018**), considerando que es una buena fuente de fibra dietética incorporándose como un ingrediente en la fabricación de alimentos funcionales.

2.1.3. Propiedades antioxidantes de los carotenoides

La capacidad antioxidante de los carotenoides es debido a que poseen una estructura química de dobles enlaces conjugados, esta estructura permite aceptar los electrones de compuestos reactivos y neutralizar los radicales libres, separando compuestos reactivos de oxígeno, oxígeno molecular y radicales peroxilo mediante la formación de reacciones redox o actuando como atractor de hidrógenos (**Córdoba, 2017**).

El licopeno es uno de los carotenoides sintetizados por las plantas y microorganismos fotosintéticos, es el más abundante en el tomate, su estructura química es de un

hidrocarburo alifático de cadena lineal constituido por 40 átomos de carbono con 13 enlaces carbono – carbono de los cuales 11 son conjugados y 56 átomos de hidrógeno (Figura 1). El color rojo característico y su solubilidad en lípidos es debido a sus enlaces conjugados. Se encuentra formando los isómeros cis–trans, siendo el más estable el isómero trans en un 95% de los casos, aunque la forma cis se ve incrementada por efectos del aumento de temperatura. Participa en la desactivación de algunos radicales libres como el peróxido de hidrogeno, dióxido de nitrógeno, radicales sulfonilo y radicales hidroxilos, también es un intermediario de la biosíntesis de algunos carotenoides como el β -caroteno (Szabo, Cătoi y Vodnar, 2018).

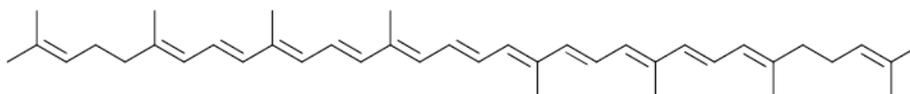


Figura 1. Estructura química del Licopeno. Recuperado de Córdoba (2017)

2.1.4. Métodos de determinación de actividad antioxidante

El fundamento del método de determinación de actividad antioxidante involucra el uso de un agente oxidante sobre un sustrato susceptible al daño oxidativo, daño que será eliminado o reducido con un agente antioxidante. Se pueden mencionar dos tipos de actividad antioxidante; la primera es la actividad antioxidante estabilizadora de radicales libres o antiradicalaria que es influenciada por la reactividad del compuesto antioxidante frente a los radicales libres y la segunda es como tal la actividad antioxidante que mide en términos de capacidad para retardar la degradación oxidativa (Londoño, 2012).

Uno de los métodos de determinación de actividad antioxidante es la transferencia de átomos de hidrogeno (HAT) por parte del antioxidante para estabilizar los radicales libres, la estabilización de la reacción debe ser lo suficientemente estable para no dar lugar a la reacción inversa y provocar una reacción de oxidación. El método de la capacidad de absorción de radicales de oxígeno (ORAC) se fundamenta en la capacidad que tiene un antioxidante para atenuar la reacción oxidativa de una muestra,

esta capacidad se evidencia en la pérdida de la fluorescencia de la proteína dependiendo del grado de daño causado por la oxidación. El ensayo del difenil picril hidrazilo (DPPH) mide espectrofotométricamente la absorbancia a 517 nm, la capacidad antioxidante del compuesto para estabilizar el radical DPPH (**Rendón, 2016**).

2.1.5. Beneficios de los carotenoides en la salud.

La incorporación de carotenoides en complemento con vitaminas, minerales y polifenoles en la dieta diaria tiene un efecto beneficioso para contrarrestar enfermedades causadas por el estrés oxidativo. Algunas investigaciones han concluido que el consumo de elaborados del tomate son un gran aporte en la reducción del daño del ADN ocasionado por el Fe^{2+} , además de protección contra los rayos UV. En la prevención y reducción de enfermedades cardiovasculares, el consumo de compuestos bioactivos son imprescindibles, así bien investigaciones concluyeron que las propiedades antiinflamatorias y antioxidantes del licopeno actúan como cardioprotectores (**Szabo et al., 2018**).

El consumo de carotenoides es muy beneficioso para la salud reduciendo los problemas cardíacos, estimulando el sistema inmunológico y puede ayudar a reducir las probabilidades de desarrollar algunos tipos de cáncer (**Sagñay, 2010**). Algunos estudios in vitro han demostrado que el licopeno presenta actividad antitumoral, inhibiendo el crecimiento de células humanas cancerosas de tejidos de pulmón, próstata, mama, estómago y colon, el mecanismo de acción es mediante la interrupción del ciclo celular en la fase G1 y a través de la apoptosis celular (**Palozza, Simone, Catalano y Mele, 2011**).

2.1.6. Técnicas de extracción de carotenoides.

La separación de compuestos activos contenidos en un sólido mediante la utilización de un disolvente es considerada como una extracción sólido – líquido.

Dentro de los métodos se deben considerar algunos parámetros y técnicas de extracción que influyen de manera directa en el proceso de extracción, entre ellos se

encuentran el tamaño de partícula, el tipo de disolvente, la temperatura de extracción y los sistemas de agitación.

Los tamaños de partículas del material vegetal en estado sólido influyen en el proceso, mientras más pequeñas, la velocidad de transferencia es mayor, sin llegar a un tamaño tan diminuto que dé lugar a una compresión que dificultara el proceso de extracción. Los tipos de disolventes recomendados son los de baja viscosidad y alta selectividad (**Universidad de Granada, 2000**), los disolventes que frecuentemente se utilizan para extraer carotenoides son acetona, benceno, éter, etanol, cloroformo, hexano. En experimentos de **Martí y Sánchez (2008)** extrajeron carotenoides de tomate con una mezcla de acetona-hexano por destilación simple y separaron por medio de un rotaevaporador.

La temperatura de extracción influye significativamente en el proceso de extracción sólido – líquido, a una mayor temperatura se incrementa la solubilidad del compuesto activo a extraer, aumentando la transferencia de masa. En la extracción de carotenoides del tomate **Cardona, Ríos, y Restrepo (2006)** recomiendan trabajar en temperaturas de 40 °C a 65 °C en dependencia del solvente o tiempo de extracción, además ellos extrajeron la mayor cantidad de licopeno a una temperatura de 50 °C utilizando como solvente de extracción el etil acetato.

Los sistemas de agitación de los biorreactores evitan la sedimentación de los sólidos en el fondo del biorreactor, beneficiando la transferencia de masa y aumentando la eficiencia del proceso de extracción.

La técnica de extracción con solventes por etapas es la más común para extracción de compuestos activos de origen vegetal como los carotenoides, debido a sus altos porcentajes de eficiencia, para la extracción **Castro y Murcia (2013)** mencionan que se requiere pulpa de tomate fresca y utilizar solventes orgánicos como el éter de petróleo y hexano o mezclas de hexano – acetona – metanol obteniéndose rendimientos de hasta el 90% y valores de 0,8 a 1,2 g de licopeno por kg de tomate fresco. Las desventajas que presenta es el tiempo de extracción y energía utilizada sumado a las grandes cantidades de disolvente que se requiere utilizar.

El número de etapas está condicionado por la intensidad del color del extracto que se obtiene en cada etapa individual de extracción, siendo necesario analizar la necesidad de realizar un número de etapas mayor si se justifica los gastos de energía y tiempos utilizados para obtener mejores rendimientos. En un porcentaje alto se realiza la extracción en una sola etapa como mencionan **Cardona et al., (2006)** que se extrae una cantidad promedio de 55,99 mg de licopeno por cada 100 g de pulpa de tomate, además que no se justifica la realización de otra etapa de extracción por las bajas cantidades que se obtienen en etapas subsiguientes.

La técnica Soxhlet es la más antigua en la extracción de compuesto orgánicos contenidos en matrices sólidas. La muestra es colocada en un dedal poroso que puede ser de un material de celulosa o vidrio, mientras el disolvente refluye a través de la muestra en contacto continuo. Las ventajas de utilizar el método Soxhlet es el bajo costo del equipo, gran capacidad de procesamiento de muestras y la no saturación del disolvente. En las desventajas se menciona el uso de grandes cantidades de disolventes y tiempos de extracción largos con respecto a nuevas técnicas (**Canosa, 2010**).

Para la extracción de carotenoides por la técnica Soxhlet se utiliza residuo vegetal de tomate seco y molido con la finalidad de incrementar los rendimientos de extracción. El bajo contenido de agua permite una efectiva penetración del disolvente en la muestra y el molido del residuo vegetal favorece a una mayor área de contacto. El método de extracción Soxhlet utiliza disolventes de naturaleza lipofílicas como acetona, etanol y hexano. La concentración de licopeno obtenida por este método utilizando el solvente etanol con 10 reflujos se encuentra alrededor de 25 mg por 100 g de muestra como lo reportan **Cardona et al., (2006)** donde realizaron el proceso de extracción de carotenoides del tomate chonto (*Lycopersicum esculentum*) por el método soxhlet.

La extracción con fluidos supercríticos implica la transferencia de masa en condiciones de alta presión y temperatura con relación a las condiciones críticas del disolvente, los fluidos utilizados son líquidos o gases a condiciones normales y son sometidos a altas presiones con una temperatura moderada superando los puntos críticos (**Martí y Sánchez, 2008**).

La técnica de extracción con fluidos supercríticos se ha utilizado para extraer licopeno a escala comercial, específicamente con el CO₂ debido a que presenta grandes ventajas respecto a otros métodos, es una tecnología selectiva, amigable con el medio ambiente, disminuye el consumo de energía y tiempos de extracción, no presenta toxicidad y es estable en condiciones críticas (**Figuroa, Ceballos, & Hurtado, 2016**).

2.1.7. Escalamiento de bioprocesos

El método de escalado es el diseño más antiguo que existe, involucra secuencias de trabajos experimentales en aparatos o equipos de dimensiones cada vez mayores (**Dueñas, Alcívar, Sacon, Casdelo, y Villanueva, 2016**). En el escalado de procesos de extracción de compuestos activos de origen vegetal existen consideraciones como el índice de escala, así como los parámetros fisicoquímicos de los componentes que ingresan y salen del proceso. En el proceso surgen problemas que se relacionan con las cantidades de volumen de material que se ingresan al biorreactor y otros que involucran el tamaño de escala de operación. En el proceso de disminuir los tiempos y costos se han desarrollado métodos semiempíricos como el principio de semejanza, la modelación matemática, modelos a gran escala y una combinación entre ellos para obtener mejores resultados y siempre sustentados con datos bibliográficos o experimentales (**González, 2007**). En consecuencia, el factor de escala está influenciado en gran medida por la naturaleza del sistema y el conocimiento que se tenga del mismo (**Dueñas et al., 2016**), así se describen algunas etapas o escalas:

Escala de laboratorio

Es el inicio para el desarrollo de toda investigación, en esta parte se establecen metodologías con las que se trabajará, se realizan pruebas de optimización de variables y procesamiento de resultados obtenidos con la finalidad de obtener el resultado óptimo. El propósito es adquirir la mayor información posible del proceso y su familiarización a través de comprobar hipótesis, revisiones bibliográficas, análisis preliminares de viabilidad económica y propiedades físico – químicas, todo encaminado a obtener un modelo matemático para su verificación (**González, 2007**).

Escala de banco

Se enfoca en características de tecnología de las unidades experimentales como variables de diseño, operación y geometría de equipos con un mayor uso de instrumentos automatizados para validar o comprobar los modelos matemáticos obtenidos en la escala de laboratorio. Se busca identificar las etapas que se pueden considerar críticas en el proceso, así como la verificación de hipótesis y diseño de procesos de ingeniería. **(Pérez, 2016)**.

Escala piloto

El uso de esta escala esta determina principalmente por el tipo de proceso, los conocimientos e información obtenidos en etapas anteriores y el tamaño que se pretenda realizar en una escala industrial. Los objetivos que se pretende es determinar el grado de factibilidad de desarrollar el proceso, adquirir resultados que permitan el diseño de una planta comercial y poner en marcha el proceso para obtener un producto en calidad de ensayo o promoción **(González, 2007)**.

Escala semi – industrial

Es el paso intermedio para llegar a una escala comercial, es menos utilizada debido a su alto costo que podría llegar a tener. Los diseños de construcción son iguales a los de una planta industrial con la diferencia que tiene una menor capacidad de producción, la finalidad es obtener dominio de los procesos y adiestramiento del personal **(Pérez, 2016)**.

Escala industrial

Esta escala para algunos autores no debería formar parte del proceso de desarrollo, argumentando de que es el fin de todo el desarrollo investigativo. Es la etapa cumbre de todo el proceso en el cual se validan las metodologías y modelos matemáticos, obteniéndose conocimientos valiosos para posteriores rediseños del proceso con la finalidad de una optimización **(González, 2007)**.

El principio de similaridad hace referencia a las propiedades de composición, forma y tamaño de los sistemas físicos y químicos, asume que la forma espacial y temporal de un sistema físico es independiente del tamaño y composición con que se miden las magnitudes (**Anaya y Pedroza, 2008**). Del principio de similaridad se desprende cuatro clases.

- ❖ Similaridad geométrica
- ❖ Similaridad mecánica
- ❖ Similaridad térmica
- ❖ Similaridad química

Los biorreactores de tanque agitado son los más usados dentro de los procesos biotecnológicos, en la extracción de compuestos bioactivos naturales es de gran importancia el control de la velocidad de mezclado y la temperatura que está influenciado por las configuraciones geométricas. Las características del diseño como la forma del fondo del tanque, geometría y la relación de tamaño tanque – impelente son en medida significativos uno más que otro, en dependencia del tipo de compuesto que se utiliza para la extracción (**García y Jáuregui, 2006**). En la extracción de carotenoides a nivel de planta piloto se han diseñado biorreactores con capacidad de 62,5 L.

La agitación se considera como una operación unitaria que permite la introducción de energía cinética a través del impelente al fluido para generar un movimiento. Se utiliza con la finalidad de acelerar los procesos de transferencia de masa y calor.

Los sistemas de agitación están compuestos principalmente por los impulsores y el motor. El motor proporciona la potencia, los impulsores tienen como fin realizar el mezclado de los componentes que se encuentran dentro del biorreactor, también aumentan la cantidad de oxígeno y su solubilidad en el medio (**Hernández, 2008**).

En la Figura 2 se observan los tipos de impulsores clasificados de acuerdo con el diseño de las paletas en turbina Rushton (a), turbina abierta (b) y propela marina (c).

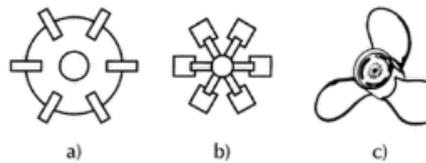


Figura 2. Tipos de impulsores para sistemas de agitación. Recuperado de **Castillo (2013)**

Otra forma de clasificación es por el tipo de flujo que generan dentro del tanque agitado, existiendo los agitadores de flujo axial, radial y de paso cerrado.

Se consideran de flujo axial a los que tiene las paletas en un ángulo menor de 90° respecto del eje en un plano perpendicular. El flujo generado es paralelo al eje de giro en números de Reynolds de 200 – 600, si estos valores disminuyen el flujo generado es del tipo radial.

Los agitadores de flujo radial producen alta velocidad tangencial con una menor capacidad de impulso y el flujo es independiente del número de Reynolds. Están compuestos por palas planas paralelas al eje del motor, las más pequeñas se las llama turbinas, de tamaños mayores se las conoce como agitadores de palas.

Los agitadores de paso cerrado son de gran utilidad en fluidos de alta viscosidad debido a que se encuentran muy cerca de las paredes del biorreactor haciendo más eficaz el proceso de mezclado. Se conocen como agitadores helicoidales y de tipo ancla (**Castillo, 2013**).

Los parámetros que se deben considerar dentro de los sistemas de mezclado y que permanecen constantes entre el modelo y el prototipo son: potencia/volumen, torque/volumen, número de Reynolds, número de Froude, flujo, número de mezclado y velocidad de cizallamiento (**Dueñas et al., 2016**).

2.1.8. Microencapsulación mediante secado por aspersion.

El método de secado por aspersion implica una dispersión del componente activo a encapsular con el agente encapsulante, para posteriormente llevar a una atomización en una cámara con el incremento de la temperatura para evaporar rápidamente el disolvente, el componente activo es cubierto por una película del material

encapsulante. Se utiliza para compuestos que son susceptibles de degradarse a altas temperaturas manteniendo su estabilidad y composición en el tiempo (**Figuroa, Ceballos, y Hurtado, 2016**).

El método de secado por aspersion es muy popular dentro de la industria debido a que no es una tecnología costosa o difícil de implementar. Entre los productos que se han logrado microencapsular por medio de esta tecnología se encuentra el aceite de linaza, aceite de café, aceite de semillas de mora, pigmentos y extractos de mora. En experimentos de **Figuroa et al., (2016)**, microencapsularon extractos de mora con goma arabia y maltodextrina obteniendo rendimientos del proceso de hasta un 90%, con una eficiencia máxima de los microencapsulados de 81,3%.

La microencapsulación se realiza con la finalidad de preservar o mejorar las propiedades organolépticas y funcionales de los compuestos activos. Entre los materiales que se ocupan en la microencapsulación se encuentran los polisacáridos como goma arábica, lípidos como los mono y diglicéridos, proteínas como la gelatina, así como sus mezclas (**Correa, Lourenco, Duarte, Moldao, y Alves, 2019**).

2.1.9. Espectrometría Infrarroja

Las interacciones entre un producto de interés con la radiación electromagnética son sujeto de estudio para la espectroscopía infrarroja, dichas interacciones entre las moléculas son debido a las vibraciones de los grupos que se generan en determinadas frecuencias por la presencia de grupos funcionales y medidas en términos de emisión o absorción de energía radiante (**Piqué y Vázquez, 2012**).

Para el análisis de compuestos en alimentos se realizan en gran medida con la utilización de espectrofotómetros de transformadas de Fourier (FTIR) en la frecuencia media del espectro infrarrojo comprendido entre $4000 - 200 \text{ cm}^{-1}$. Entre las dificultades de determinación se encuentra la influencia del disolvente, ocasionando la formación de espectros infrarrojos con picos de absorbancia que no se pueden identificar fácilmente debido a que el solvente en muchos casos enmascara los bandas de vibración del compuesto de interés (**Jurado, 2012**).

Se ha utilizado FTIR en la identificación de una gran variedad de compuestos de origen natural, entre los que se encuentra la caracterización de cáscaras del tomate de distintas variedades en un rango espectral de 4000 a 600 cm^{-1} para determinar su grado de madurez, utilizando patrones de β -caroteno (**Jurado, 2012**). También en el estudio de la degradación de compuestos bioactivos provenientes de pimiento marrón rojo en el proceso de deshidratación realizada por **Castaneda, Osorio, Gallardo y Proal (2013)** en el cual se analizaron carotenoides, fenoles, capacidad antioxidante y ácido ascórbico.

2.2. Hipótesis

2.2.1. Hipótesis nula

El extracto rico en carotenoides a partir de residuos agroindustriales no se obtiene a escala de banco con capacidad antioxidante.

2.2.2. Hipótesis alternativa

El extracto rico en carotenoides a partir de residuos agroindustriales se obtiene a escala de banco con capacidad antioxidante.

2.3. Señalamiento de variables

2.3.1. Variables dependientes

Concentración de licopenos (mg.L^{-1})

Eficiencia del proceso de extracción (mg.kg^{-1} de material vegetal seco)

Actividad antioxidante equivalente de Trolox ($\mu\text{mol.L}^{-1}$)

2.3.2. Variables independientes

Volumen de extracción (0,5, 3 y 5 L)

Tiempo de extracción (30 min)

Temperatura (50 °C)

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA

3.1. Materiales

Material vegetal.

- Cáscaras del tomate de árbol (*Solanum betaceum*).

Material de laboratorio.

- Material de vidrio (GLASSCO)
- Biorreactores de tanque agitado de 500, 3000 y 5000 ml de capacidad
- Papel aluminio (Alúmina)
- Papel filtro (Whatman)
- Botellas de vidrio ámbar

Equipos de laboratorio.

- Agitador vertical (THOMAS)
- Balanza de humedad (KERN MLS 50-3)
- Espectrofotómetro (Fisher Scientific accuSkan GO)
- Horno de convección (GANDER MTN)
- Mini Spray Dryer (BUCHI-B290)
- Molino de cuchillas (INOX-EQUIP)
- pH metro (Thermo Scientific ORION VERSASTAR)
- Refractómetro (ABBE NAR-2T)
- Refrigerador (Indurama)
- Rotaevaporador (IKA RV8)
- Viscosímetro (CANNON 150 Z285)

Reactivos.

- Agua destilada (Scharlau)
- DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracilo) (Sigma-Aldrich).
- Etanol comercial al 96% de pureza (Scharlau).
- Goma Arábiga (Roig Pharma)
- Maltodextrina (Roig Pharma)
- Metanol al 100% de pureza (Scharlau).
- Trolox (6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchromane-2-carboxylic acid) (Sigma Aldrich).

3.2. Métodos

3.2.1. Obtención del material vegetal.

La fruta del tomate de árbol se adquirió del Mercado Mayorista de Ambato y se trasladó a las instalaciones de los laboratorios de la Unidad Operativa de la Dirección de Investigación y Desarrollo (UODIDE-ICIA) de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología, de la Universidad Técnica de Ambato, posteriormente se realizó el pelado de la fruta para ocupar las cáscaras cortando en pedazos pequeños (2 cm aproximadamente) y secadas en el horno de convección (GANDER MTN) a una temperatura de 50 °C por un tiempo de 55 horas. Después de transcurrido el tiempo de secado, se trituró en un molino de cuchillas (INOX-EQUIP) para obtener un tamaño de partículas finas y se preservó en fundas herméticas a temperatura ambiente (**Cardona, Ríos y Restrepo, 2006**).

La operación de secado se realizó con la finalidad de eliminar la mayor cantidad de agua debido a que un alto contenido de humedad dificulta el proceso de extracción, según **Valdiviezo (2010)** es necesario disminuir el porcentaje de humedad (aproximadamente 75% en peso) para extraer el licopeno con solventes no polares.

El material vegetal obtenido se utilizó para los niveles de escalado de laboratorio y banco.

3.2.2. Obtención del extracto a nivel de laboratorio.

A escala de laboratorio se utilizó un biorreactor de tanque agitado con dimensiones de 8,5 cm de diámetro, 11 cm de altura y un volumen útil de 0,5 L, se empleó un agitador vertical (THOMAS) de hélice de 2,5 cm de diámetro con una velocidad de agitación de 26 s^{-1} . Para extraer los carotenoides del material vegetal se utilizó el método descrito por **Cardona et al., (2006)**, con una relación de material vegetal/volumen de disolvente de 1:70, el disolvente orgánico que se empleó fue el etanol industrial al 96%, con un tiempo de extracción de 30 min a una temperatura de $50 \text{ }^{\circ}\text{C}$ (**Pérez, 2019**). Posteriormente se filtró y midió el volumen del extracto obtenido, éste se conservó en botellas de vidrio ámbar en refrigeración. El proceso de extracción de carotenoides se realizó por triplicado.

3.2.3. Obtención del extracto a nivel de banco.

Se realizó la extracción a escala de banco en volúmenes de 3 y 5 L. En el volumen de 3 L se utilizó un biorreactor de tanque agitado de acero inoxidable con dimensiones de 14,2 cm de diámetro, 20 cm de altura y un agitador de hélices (THOMAS) de 5 cm de diámetro a una velocidad de agitación de $14,883 \text{ s}^{-1}$.

En el volumen de 5 L las dimensiones del biorreactor fueron de 16,5 cm de diámetro, 28 cm de altura, el agitador (THOMAS) utilizado fue de paletas de 6,2 cm de diámetro con una velocidad de agitación de $12,329 \text{ s}^{-1}$.

El proceso de extracción de carotenoides del material vegetal fue el mismo que se utilizó a nivel de laboratorio descrito en la parte anterior, así como la realización de tres réplicas por cada volumen de escalado.

Los parámetros operacionales que se consideraron en la escala de banco fueron las dimensiones del biorreactor y agitador, el número de Reynolds, la potencia necesaria para el mezclado y las propiedades físicas del fluido, utilizando el criterio de semejanza geométrica. Según **González (2007)** cuando se tienen en consideración la calidad y rapidez de mezclado es necesario utilizar criterios de desescalado como el número de potencia por unidad de volumen. **García y Jáuregui (2006)** indican que si

el flujo tiene un régimen turbulento con valores de Reynolds mayores a 2×10^4 el número de potencia se mantiene constante quedando en dependencia del sistema de agitación relacionado con la velocidad de agitación y el diámetro del impelente. Se utilizó el número de potencia para determinar la velocidad de agitación (n) para cada impelente a través de la Ecuación 1 recuperado de **González (2007)**, donde N es la potencia por unidad de volumen en watts, kn es igual a la constante 0,3 para el etanol, ρ es la densidad del etanol en kg.m^{-3} y d^5 es el diámetro del impelente en metros elevado a la quinta potencia.

$$N = kn \rho n^3 d^5$$

Ecuación 1. Número de potencia (W)

De donde, despejando la velocidad de agitación, se tiene la siguiente ecuación

$$n = \sqrt[3]{\frac{N}{kn \rho d^5}}$$

Ecuación 2. Velocidad de agitación (s^{-1})

El número de potencia por unidad de volumen se determinó por el consumo de potencia (N) dividido por el volumen (V) del biorreactor (Ecuación 3), utilizando las variantes de escalado descendentes para un biorreactor de tanque agitado determinadas por Oldshue en 1969 y recuperado de **González (2007)**, obteniendo un semejanza geométrica entre los niveles de escala a una cantidad de potencia consumida constante.

$$\frac{N}{V}$$

Ecuación 3. Número de potencia por unidad de volumen

La distancia mínima a la pared del biorreactor (J_i) se determinó por medio de la Ecuación 4 recuperado de **Castillo (2013)**, donde (J_i) es la distancia mínima a la pared del biorreactor industrial y (D) es el diámetro del biorreactor.

$$Ji_{laboratorio} = \left(\frac{Ji_{industrial}}{D_{industrial}} * D_{laboratorio} \right)$$

Ecuación 4. Distancia mínima a la pared del biorreactor

La distancia mínima al fondo del biorreactor se calculó con la Ecuación 5 recuperado de **Castillo (2013)**. (Z_i) es la distancia mínima al fondo del biorreactor y (D) el diámetro del biorreactor.

$$Zi_{laboratorio} = \left(\frac{Zi_{industrial}}{D_{industrial}} * D_{laboratorio} \right)$$

Ecuación 5. Distancia mínima al fondo del biorreactor

Los factores de forma se determinó mediante la relación de diámetro de impelente (d)/diámetro de tanque (D) a través de la Ecuación 6 recuperado de **González (2007)**, se utilizó con la finalidad de verificar si la relación del diámetro del agitador con el diámetro del tanque se encontraba en una relación cercana en los tres biorreactores.

$$\frac{d}{D}$$

Ecuación 6. Relación de diámetro del impelente y tanque

El número de Reynolds se utilizó para conocer el comportamiento de los fluidos en movimiento. Se determinó mediante la Ecuación 7 recuperado de **González (2007)**, donde (n) corresponde a la velocidad de agitación en s^{-1} , (ρ) es la densidad en $kg.m^{-3}$, (d^2) diámetro del agitador en metros y (μ) corresponde a la viscosidad en Pa.s.

$$Re = \frac{n \rho d^2}{\mu}$$

Ecuación 7. Número de Reynolds

3.2.4. Caracterización de los extractos vegetales.

Determinación del porcentaje de humedad.

Se realizó mediante la utilización de una balanza de humedad (KERN MLS 50-3) a través de energía infrarroja, en un volumen de muestra de 5 ml. Consiste en un método termogravimétrico, el principio es la determinación de la pérdida de peso por medio del secado, esto es pérdida de agua, sustancias volátiles como alcoholes, disolventes orgánicos, entre otros productos que se pueden descomponer por acción de la temperatura (PCE, 2019).

Se realizó las mediciones para los niveles de laboratorio y banco con tres réplicas.

Determinación del pH.

Se utilizó el método potenciométrico a través de un pH-metro (Thermo Scientific ORION VERSASTAR), realizando las mediciones por triplicado de cada muestra para los niveles de laboratorio y banco. El funcionamiento del pH-metro implica la medición de una diferencia de potencial entre un electrodo de referencia y un electrodo de vidrio que actúa como una membrana selectiva que permite el paso de hidrogeniones. Esta diferencia de potencial hace referencia a la ecuación de Nernst (Macarulla y Goñi, 1994).

Determinación del índice de refracción.

Se utilizó un refractómetro (ABBE NAR-2T) que posee un rango de medición de 1,30 a 1,70 de índice de refracción, las mediciones se realizaron a temperatura ambiente directamente en la escala del equipo por triplicado para las escalas de laboratorio y banco.

El funcionamiento del equipo se fundamenta en la refracción de la luz de una sustancia que es igual al cociente entre la celeridad de la luz en el vacío y la celeridad de la luz en la sustancia analizada (Cromer y Fernández, 1998), relacionado con las propiedades físicas como la densidad. Sirve para identificar sustancias o grados de pureza, así como cantidades de solutos en solución.

Determinación de la viscosidad.

Esta propiedad se determinó por medio de un viscosímetro capilar (CANNON 150 Z285), el cual consistió en pasar el fluido a través de un capilar a una temperatura constante, midiendo el tiempo requerido para que un volumen del líquido escurra desde una marca superior hasta una marca inferior grabada en el viscosímetro (Agudelo, 2018). Se realizó mediciones por triplicado de cada muestra de las escalas de laboratorio y banco.

Determinación de la concentración de licopenos.

Se realizó por un método espectrofotométrico con la utilización del espectrofotómetro (Fisher Scientific accuSkan GO) a una longitud de onda de 472 nm. El método consiste en la absorción de la luz por parte del compuesto y al incidir una luz monocromática en la muestra una parte de la luz es absorbida y otra parte pasa completamente, este método hace referencia a la Ley de Lambert-Beer. Para el cálculo de la concentración de licopenos se utilizó la Ecuación 8 recuperado de **Strati & Oreopoulou (2011a)**, en donde $A_{\lambda_{max}}$ es la absorbancia medida del extracto y $A_{1\%}^{1\text{cm}}$ es el coeficiente de absorptividad del disolvente, el coeficiente de absorptividad determinado para el etanol es de 3950. La concentración (C) de licopeno es expresada en (mg.L⁻¹).

La medición de la absorbancia se realizó en los dos niveles con tres réplicas.

$$C = \frac{A_{\lambda_{max}} 10^4}{A_{1\%}^{1\text{cm}}}$$

Ecuación 8. Determinación de la concentración de licopeno

Determinación de la eficiencia de extracción.

Se determinó la eficiencia de la extracción (CY) con el objetivo de analizar el proceso de extracción en los niveles de laboratorio y banco por medio de la Ecuación 9 recuperado de **Strati & Oreopoulou (2011a)**, donde C es la concentración de licopeno en mg.L⁻¹, V es el volumen del extracto en L y W es el peso en kg de residuo vegetal seco utilizado en la extracción.

$$CY = C * V/W$$

Ecuación 9. Eficiencia del proceso de extracción

3.2.5. Microencapsulación del extracto mediante secado por aspersión.

Se trabajó con el extracto a escala de banco en el volumen de 5 L. Se concentró el extracto con la utilización del equipo rotaevaporador (IKA RV8) a una temperatura de 50 °C y una velocidad de agitación de 3,33 s⁻¹, según la metodología descrita por **Correa et al., (2019)**.

Se preparó una emulsión a partir del extracto concentrado de licopeno utilizando agua destilada, maltodextrina y goma arábica. El polisacárido maltodextrina actúa como agente emulsificante incrementando el volumen y la goma arábica es utilizada para encapsular el licopeno actuando como una película protectora que evita la evaporación y oxidación.

La tecnología de microencapsulación que se utilizó fue el secado por aspersión o spray drying en el equipo (BUCHI-B290), esta técnica consiste en la utilización de una corriente de aire caliente dentro de la cual se atomiza la emulsión y evapora los compuestos volátiles como el agua, dando lugar a la formación de una cápsula a través de los sólidos remanentes que envuelven el compuesto activo por atracción másica. Al realizarse el secado rápidamente la temperatura del centro se mantiene por debajo de los 100 °C y el producto final obtenido es recolectado a través de ciclones (**Martínez y Campos, 2017**).

Las condiciones de operación del equipo utilizadas fueron a temperaturas de 120 °C y 80 °C en la entrada y salida respectivamente, con un porcentaje de carga de 15% de extracto concentrado de carotenoides, 85% de maltodextrina y goma arábica en proporciones iguales. Se disolvió en 550 ml de agua destilada para preparar 200 g de emulsión.

Determinación de la actividad antioxidante.

La metodología aplicada fue la descrita por **Bobo et al., (2015)** mediante el uso del reactivo 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH), se preparó en una concentración de $60 \mu\text{mol.L}^{-1}$ en solución de metanol al 80% con una velocidad de agitación de $2,16 \text{ s}^{-1}$ durante un tiempo de reacción de 20 min. Esta técnica utiliza el radica libre 2,2-difenil-1-picrilhidracilo reaccionando con el compuesto antioxidante y cediendo un átomo de hidrógeno al agente oxidante (**Guija, Inocente, Ponce, y Zarzosa, 2015**). Se realizó una curva de calibración con Trolox como antioxidante de referencia, tomando una solución madre de una concentración de $500 \mu\text{mol.L}^{-1}$ y realizando diluciones para obtener concentraciones de 50, 100, 200, 400, $500 \mu\text{mol.L}^{-1}$ con una relación de 50:50 de una solución de etanol-agua. La actividad antioxidante equivalente de Trolox mide la capacidad de reducción del DPPH en presencia de un muestra del compuesto antioxidante que se está analizando, esta reacción produce un cambio de color y la reducción de la absorbancia es cuantificada a 515 nm (**Lugo, Colinas, Bautista, Vázquez y Lozoya, 2014**).

La Ecuación 10 recuperado de **Bobo et al., (2015)** fue utilizada para la determinación del porcentaje de inhibición del DPPH, donde **Am** es la absorbancia de la muestra, **Ab** es la absorbancia del blanco como reactivo y **Ac** es la absorbancia control.

$$\% \text{ Inhibición DPPH} = \left(1 - \left(\frac{A_m - A_b}{A_c - A_b} \right) \right) * 100$$

Ecuación 10. Porcentaje de inhibición del reactivo DPPH

Determinación del porcentaje de eficiencia de la microencapsulación.

Obtenido el ingrediente activo microencapsulado se calculó el porcentaje de eficiencia de la microencapsulación (E.M) por medio de la concentración de licopeno en la superficie al disolver el microencapsulado en agua (CA) y en el interior de la microcápsula a través de la disolución en etanol (CE) según la Ecuación 11 recuperado

de Pérez (2019). Se realizó una dilución de 1/10 del microencapsulado en etanol y agua respectivamente y agitación por 15 min, seguido de la filtración de las muestras para ser medidas en el espectrofotómetro a 515 nm.

$$E.M = \frac{CA_{agua} - CE_{etanol}}{CA_{agua}} * 100$$

Ecuación 11. Porcentaje de eficiencia de la microencapsulación

3.2.6. Espectroscopía infrarroja

Para un mejor análisis del compuesto microencapsulado se realizó una prueba de espectroscopía de infrarrojo medido por transformadas de Fourier (FTIR) en una frecuencia de 400 a 4000 cm^{-1} por medio del equipo (Jasco FT/IR 4100) en los Laboratorios de Química Instrumental perteneciente a la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Esta técnica se fundamenta en el análisis de materiales orgánicos mediante la irradiación de un haz de luz que produce una reacción de absorción de energía en mayor o menor cantidad en dependencia de la naturaleza de las cargas y estructura química de los enlaces del compuesto analizado, produciendo un espectro característico para cada tipo de material que es medido en términos de transmitancia (Vásquez, Abadía y Arreaza, 2004).

Se utilizó las muestras del extracto concentrado, microencapsulado y la mezcla de polímeros colocando directamente en el equipo de medición.

3.2.7. Análisis estadístico.

Se realizó un diseño completamente al azar, en el cual el factor de cambio fueron los volúmenes de extracción a nivel de laboratorio y banco con dos replicas. Se utilizó el software Statgraphics Centurion (versión XVI.I) en el análisis ANOVA y para la comparación de medias de los resultados del mismo volumen y entre los tres volúmenes.

El diseño experimental completamente al azar se utilizó con el objetivo de comparar entre los resultados de las réplicas y los tres volúmenes de extracción (0,5, 3 y 5 L), además de determinar si el volumen de extracción afecta significativamente en los valores de humedad, pH, índice de refracción, viscosidad, concentración de licopenos, eficiencia de extracción y actividad antioxidante. El diseño solo analizó las fuentes de variabilidad de los tratamientos y el error, donde los datos experimentales se realizaron en un orden aleatorio completo (**Gutiérrez y de la Vara, 2008**). Además, se realizó gráficas de medias con la finalidad de identificar cuáles de los tratamientos son diferentes entre sí, a través de la visualización.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Análisis y discusión de los resultados.

4.1.1. Desescalado con similitud geométrica

En la tabla 1 se muestran las propiedades fisicoquímicas del etanol al 96%, las que se utilizaron para determinar el número de potencia consumida en cada biorreactor.

Tabla 1. *Propiedades fisicoquímicas del etanol*

Propiedades físicas	
<i>Densidad</i>	990 kg.m ⁻³
<i>Viscosidad</i>	0,001074 Pa.s
<i>Kn</i>	0,3

Para la realización del desescalado a partir de un reactor industrial se utilizaron los datos de la tabla 2 recuperado de **González (2007)**, con la finalidad de obtener la potencia consumida por volumen, las distancias del agitador a la pared y el fondo en el biorreactor de menor tamaño.

Tabla 2. *Parámetros de un reactor industrial*

Datos	
<i>Volumen (V)</i>	500 L
<i>Diámetro del agitador (d)</i>	0,13 m
<i>Distancia mínima al fondo (Zi)</i>	0,023 m
<i>Velocidad de agitación (n)</i>	16,67 s ⁻¹
<i>Distancia mínima a la pared (Ji)</i>	0,014 m
<i>Diámetro del reactor (D)</i>	0,8 m

Para la extracción se utilizaron tres biorreactores de diferente volumen y diámetro, además de diferentes agitadores, datos que se muestran en la tabla 3.

Tabla 3. *Dimensiones de los biorreactores utilizados en la extracción*

Datos			
<i>Volumen (V)</i>	0,5 L	3 L	5 L
<i>Diámetro del agitador (d)</i>	0,025 m	0,05 m	0,062 m
<i>Diámetro del reactor (D)</i>	0,085 m	0,142 m	0,165 m

Cálculo de la potencia consumida en el biorreactor industrial

Para la determinación de este parámetro se utilizó la Ecuación 1 descrita en la metodología.

$$n = \sqrt[3]{\frac{N}{kn \rho d^5}}$$

Y despejando la variable de potencia consumida (N) se tiene la siguiente ecuación:

$$N = kn \rho n^3 d^5$$

$$N = 0,3 * (990 \text{ Kg. m}^{-3}) * (16,67\text{s}^{-1})^3 * (0,13 \text{ m})^5$$

$$N = 51,052 \text{ W}$$

Determinación de la potencia por unidad de volumen para el biorreactor industrial

$$\frac{N}{V} = \frac{51,052 \text{ W}}{500 \text{ L}}$$

$$\frac{N}{V} = 0,102 \text{ W/L}$$

Potencia consumida para el biorreactor de 0,5 L

Se utilizó la Ecuación 3, donde la constante es el consumo de potencia por unidad de volumen determinado en el biorreactor industrial, obteniéndose el siguiente resultado:

$$N_{laboratorio} = \frac{N}{V} (\text{Industrial}) * V_{laboratorio}$$

$$N_{laboratorio} = 0,102 \frac{\text{W}}{\text{L}} * 0,5 \text{ L}$$

$$N_{laboratorio} = 0,051 \text{ W}$$

Determinación de la velocidad de agitación (n) en el biorreactor de 0,5 L

Determinada la potencia consumida por volumen se procedió al cálculo de la velocidad de agitación (n) para los tres biorreactores mediante la Ecuación 2, donde se obtuvo el siguiente resultado:

$$n = \sqrt[3]{\frac{0,051 W}{0,3 * (990 Kg. m^{-3}) * (0,025 m)^5}}$$

$$n = 26 s^{-1}$$

Distancia mínima del eje del agitador a la pared del biorreactor

$$Ji_{laboratorio} = \left(\frac{Ji_{industrial}}{D_{industrial}} * D_{laboratorio} \right)$$

$$Ji_{laboratorio} = \left(\frac{0,014 m}{0,8 m} * 0,085 m \right)$$

$$Ji_{laboratorio} = 0,0015 m$$

Distancia mínima del agitador al fondo del biorreactor

$$Zi_{laboratorio} = \left(\frac{Zi_{industrial}}{D_{industrial}} * D_{laboratorio} \right)$$

$$Zi_{laboratorio} = \left(\frac{0,023 m}{0,8 m} * 0,085 m \right)$$

$$Zi_{laboratorio} = 0,0024 m$$

Relación entre el diámetro del agitador con el diámetro del biorreactor

$$\frac{d}{D} = \frac{0,025 m}{0,085 m}$$

$$\frac{d}{D} = 0,294$$

La determinación del número de Reynolds sirvió para conocer si el flujo generado fue laminar o turbulento calculado mediante la Ecuación 7.

$$Re = \frac{n \rho d^2}{\mu}$$

$$Re = \frac{(26 \text{ s}^{-1}) * (990 \text{ Kg. m}^{-3}) * (0,025 \text{ m})^2}{0,001074 \text{ Pa.s}}$$

$$Re = 14979,050$$

Los resultados de los cálculos se muestran en la tabla 4, se realizaron para los tres biorreactores con las dimensiones ya establecidas en la metodología. El consumo de potencia del biorreactor industrial se mantuvo como constante para obtener la velocidad de agitación. Así también se determinaron las distancias mínimas a la pared y el fondo del agitador con el biorreactor.

Tabla 4. Resultados de los cálculos de desescalado

Volumen	0,5 L	3 L	5 L
<i>Potencia consumida (N)</i>	0,051 W	0,306 W	0,510 W
<i>Velocidad de agitación (n)</i>	26 s ⁻¹	14,883 s ⁻¹	12,329 s ⁻¹
<i>Distancia mínima a la pared (Ji)</i>	0,0015 m	0,0025 m	0,0029 m
<i>Distancia mínima al fondo (Zi)</i>	0,0024 m	0,0041 m	0,0047 m
<i>Diámetro del agitador/diámetro del biorreactor</i>	0,294	0,352	0,375
<i>Número de Reynolds</i>	14979,050	34297,416	43685,986

En los resultados obtenidos en la tabla 4 para la velocidad de agitación se observaron una disminución por efecto de las dimensiones de cada biorreactor con el agitador. Según **García y Jáuregui (2006)** el consumo de potencia es la disipación de la energía mecánica en el fluido a través del agitador que genera fricción entre las capas del fluido. En efecto el consumo de potencia se relaciona de forma directa con el volumen del biorreactor, además el diámetro del agitador es la variable que más influye en la determinación de la velocidad de agitación. En efecto al incrementarse el volumen de 0,5 a 5 L se incrementó la potencia consumida, pero la velocidad de agitación fue menor como respuesta al incremento del diámetro del impelente.

En la relación diámetro del agitador con el diámetro del biorreactor se buscó que sea la más cercana entre los tres biorreactores existiendo una diferencia de 0,081 entre el de 0,5 L y el de 5 L, que se consideró como un valor poco significativo que no influyó en el número de potencia como mencionan **García y Jáuregui (2006)** que si el valor de la relación d/D aumenta el número de potencia también aumenta.

4.1.2. Caracterización de los extractos vegetales

Una vez obtenido el material vegetal se realizó la extracción a nivel de laboratorio en una cantidad de 0,5 L y a nivel de banco en cantidades de 3 y 5 L, se caracterizó fisicoquímicamente a través de los siguientes ensayos: determinación de humedad, pH, índice de refracción, viscosidad, concentración de licopenos y eficiencia de extracción. Los resultados obtenidos se detallan a continuación.

Porcentaje de humedad

El porcentaje de humedad en cada uno de los volúmenes determinado por el método termogravimétrico en una balanza de secado con energía infrarroja presentó los resultados en un intervalo de 99,85 a 99,9%. El mayor porcentaje de humedad se encontró en el volumen de 5 L como se observa en la Figura 3. Además, se desarrolló un análisis estadístico ANOVA que identificó que existieron diferencias estadísticas significativas para un valor de $P = 0,048$ menor que 0,05 (Anexo 1). A pesar de existir diferencias, los datos no tienen una dispersión alejada de la media, así también se enfatiza que algunos fenómenos físicos como los procesos de transferencia de calor están asociados, debido que a mayor volumen el calor no es distribuido de manera

homogénea en todas las partes del biorreactor disminuyendo la capacidad de extracción, así también la eficiencia de agitación podría influir de manera significativa en la dispersión del material vegetal con el solvente.

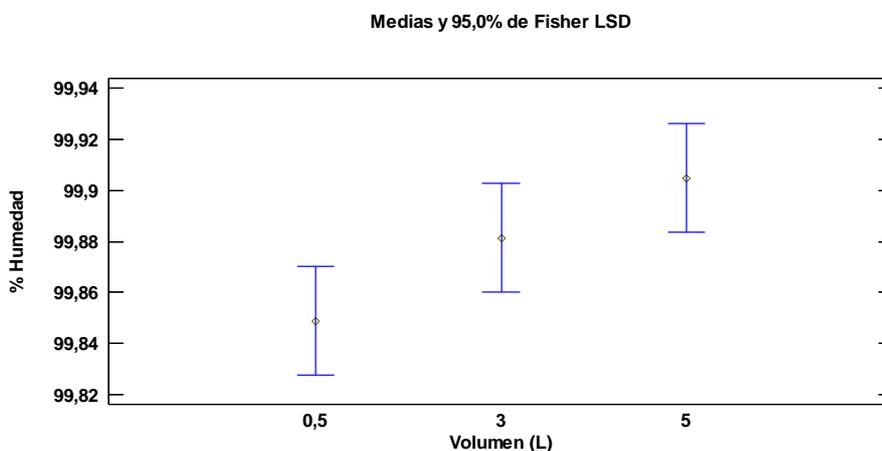


Figura 3. Gráfico de medias correspondiente al porcentaje de humedad

El porcentaje de humedad obtenido evidentemente se puede considerar como alto, pero se justifica debido a que las concentraciones de licopeno según **Martí y Sánchez (2008)** que se logran extraer son alrededor de 7,737 ppm y además en la separación del material vegetal del extracto se realizó una filtración para obtener los sólidos disueltos.

Determinación del pH

El resultado obtenido del diseño factorial para la variable de respuesta de pH fue de $P= 0,0007$ con un nivel de significancia del 0,05 (Anexo 2), indicó que existen diferencias significativas entre los tres volúmenes de extracción, tal como se puede identificar en la gráfica de medias en la Figura 4, donde se observan un incremento de los resultados del pH a medida que se incrementan los volúmenes.

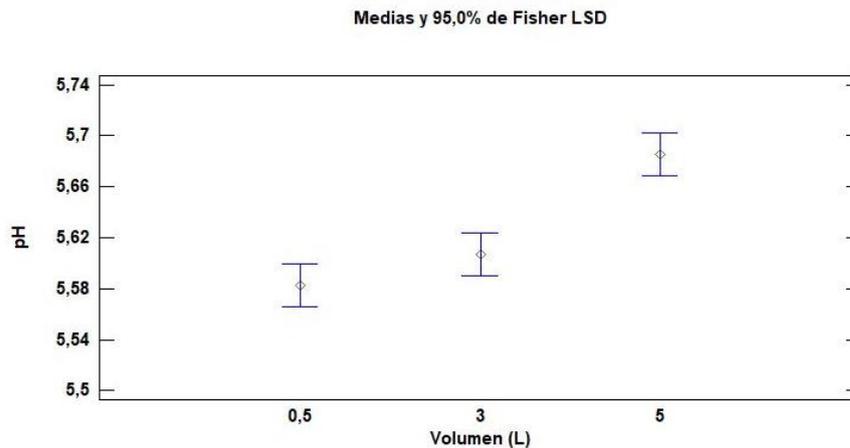


Figura 4. Gráfico de medias correspondiente al pH

Los valores registrados se encuentran en el intervalo mínimo de 5,583 y máximo de 5,685, considerando que la fruta del tomate de árbol se encuentra en un pH de 3,77 según manifiestan **Carrasco y Encina, (2008)** en su investigación y al estar en un medio con etanol se incrementa el pH. Los resultados se asemejan a datos de experimentos de otros autores donde registraron un valor promedio del pH de 5,42 con utilización del mismo solvente utilizado en esta investigación a diferencia de que utilizaron pulpa de sandía (**Valdiviezo, 2010**). Los resultados obtenidos tienen su relevancia en que se pueden asociar los cambios de pH con la absorbancia relativa de los carotenoides, a menor pH de las muestras se obtienen mayores absorbancias al momento de realizar los tratamientos térmicos como lo mencionan **Jiménez, Zambrano y Aguilar, (2004)** que atribuyen la variabilidad de resultados en la absorbancia relativa a los cambios de pH.

Índice de refracción

En la variable de índice de refracción no se encontraron diferencias estadísticas significativas con un resultado de $P = 0,7865$ mayor que 0,05 (Anexo 3). El resultado del índice de refracción se encontró en un intervalo entre 1,362 y 1,363 como se observa en la Figura 5, que contrastando con los valores determinados por **Nowakowska (1939)**, son muy similares para el índice de refracción del etanol, así para el etanol al 96,3% el índice de refracción es de 1,362 a 20 °C.

Los resultados demuestran que el etanol como era de esperarse se encuentra en un porcentaje mayoritario en la composición del extracto y una pequeña parte la componen los carotenoides. A través de la determinación del índice de refracción se identificó que la pureza del extracto rico en carotenoides es baja como respuesta a los resultados altos de porcentaje de humedad, siendo el índice de refracción un método que permite determinar de manera rápida la concentración, en la cual a menor índice de refracción la concentración disminuye.

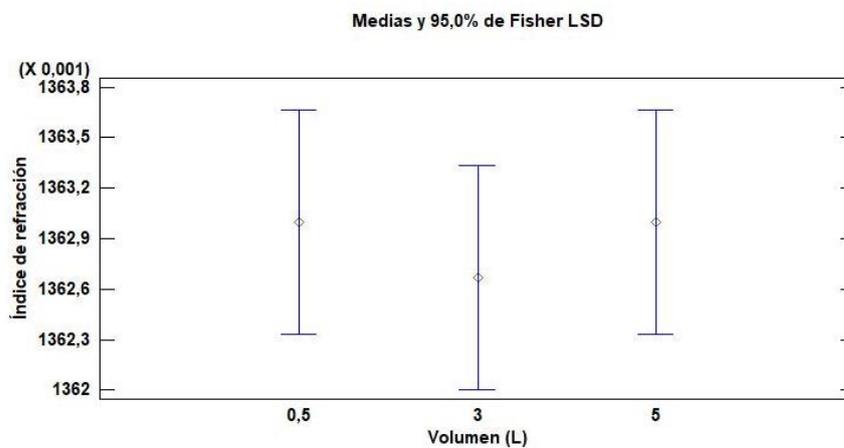


Figura 5. Gráfico de medias del índice de refracción

Viscosidad cinemática

Los resultados para la viscosidad cinemática fueron entre 2,073 y 2,105 cSt.s⁻¹ determinados a 20 °C. No se encontraron diferencias estadísticas significativas para un valor de P= 0,7865 mayor que 0,05 (Anexo 4). Los resultados no son muy alejados a de otros compuestos extraídos con etanol como el determinado por **Aguado, Nuñez, Bela, Okulik y Bregni (2013)** para el extracto etanólico obtenido de la planta *Aloysia polystachya* donde determinaron la viscosidad cinemática a 37,8 °C registrando un valor de 1,037 cSt.s⁻¹.

En contexto de que no existieron diferencias significativas, se puede atribuir a la realización del proceso de extracción a tiempo y temperatura constante de 30 minutos y 50 °C, en la cual la acción de la temperatura da lugar a la gelificación de pectinas e hidrólisis de las paredes celulares. En un mayor tiempo a una temperatura determinada

se incrementa la viscosidad y al no existir una variación de tiempo y temperatura los resultados no presentaron diferencias significativas.

La viscosidad permite tener una referencia del comportamiento del extracto en procesos posteriores para obtener una buena calidad de producto final debido a que es una característica inherente de la variedad del tomate de árbol. A un menor valor de viscosidad da un indicativo de que existe una mayor fluidez.

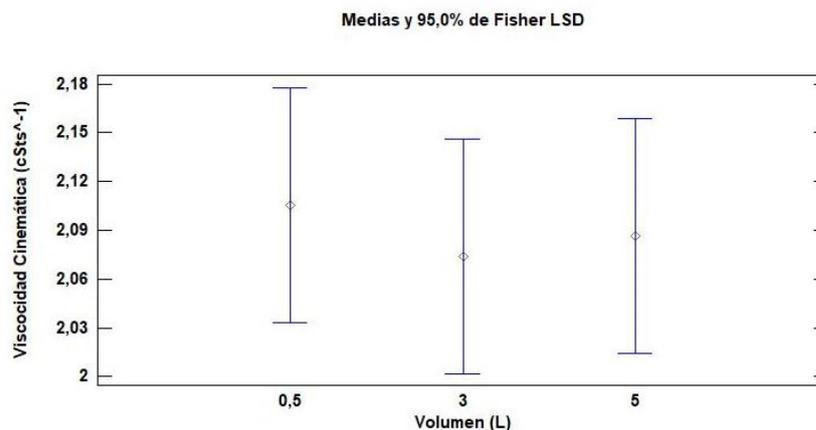


Figura 6. Gráfico de medias para la viscosidad cinemática

Concentración de licopenos extraídos

Las concentraciones de licopeno expresadas en mg.L^{-1} se determinaron por el método espectrofotométrico en los volúmenes de 0,5, 3 y 5 L. El resultado de la tabla ANOVA (Anexo 5) presentó un valor de $P = 0,1639$, indicando que no existieron diferencias significativas entre las concentraciones de licopeno en los tres volúmenes de extracción debido a que el valor de P es mayor a 0,05 para un nivel de confianza del 95%. El resultado demuestra que al realizar un cambio de escala hasta el volumen de 5L, la concentración de licopeno extraído no es afectada. Pero también se considera que para la extracción se utilizó el mismo residuo vegetal en los tres volúmenes que favorecen a la no variabilidad de resultados.

La gráfica de medias no mostró diferencias mínimas significativas a un 95% de nivel de confianza como se observa en la Figura 7. La concentración mayor obtenida fue de $0,539 \text{ mg.L}^{-1}$ de licopeno, siendo un valor más alto del promedio reportado en otras investigaciones y en comparación con resultados obtenidos en experimentos de **Strati**

y **Oreopoulou (2011a)** con residuos de tomate donde reportó valores de $0,38 \text{ mg.L}^{-1}$ de licopeno extraído con el solvente etanol. Es evidente que al utilizar una relación de residuo de tomate/volumen de solvente alta, la cantidad de licopeno será mayor ya que se evita la saturación del solvente y se disminuyen los tiempos de extracción. La concentración de licopeno está en dependencia del tiempo que se emplea en la extracción hasta alcanzar un valor máximo que a decir de **Gámez, Noguera, Vertucci y Sandoval, (2016)** se alcanza en un tiempo de 3 horas a $60 \text{ }^\circ\text{C}$ de temperatura.

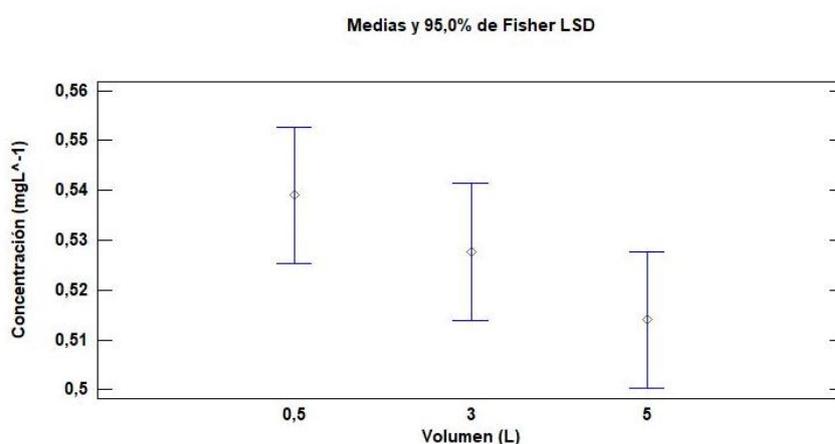


Figura 7. Gráfico de medias de la concentración de licopeno

Determinación de la eficiencia de extracción

La eficiencia de extracción se determinó en unidades de mg.kg^{-1} de cáscara del tomate de árbol utilizado. El resultado de ANOVA (Anexo 6) reveló que no existieron diferencias estadísticas significativas entre grupos e intra grupos para la variable de respuesta, obteniéndose un valor de $P = 0,3186$ el cual fue mayor que $0,05$ para el intervalo de confianza de 95% .

El análisis de medias proyectó como el rendimiento más alto el valor de $35,473 \text{ mg.kg}^{-1}$ en el volumen de extracción de $0,5 \text{ L}$. Sin embargo, no se encontraron diferencias estadísticas significativas entre medias. En contraste con fuentes de literatura donde se registran valores de extracción con una relación del solvente etanol/residuo de tomate de $1/10$ se alcanzó un rendimiento de $17,57 \text{ mg.kg}^{-1}$ con una

temperatura de extracción de 70 °C, así también **Strati y Oreopoulou, (2011a)** mencionan que los valores de los rendimientos varían entre 5 y 45 mg.kg⁻¹ con temperaturas de extracción de 25 – 60 °C y tiempos de extracción de 30 min utilizando cáscaras de tomate. **Carrasco y Encina, (2008)** determinaron el contenido de compuestos activos en el fruto del tomate de árbol, concluyendo que en una cantidad de 100 g de residuo vegetal se logra extraer 4 mg de carotenos y comparado con los resultados de esta investigación son ligeramente más altos.

Si bien, el mayor o menor rendimiento obtenido respecto de los datos bibliográficos mencionados anteriormente es una respuesta a que se realizó la extracción con una relación de solvente/material vegetal de 1/70, aumentando la capacidad de extracción del solvente y evitando su saturación, también se asocia a esto las cantidades de carotenoides presentes en la matriz vegetal, **Silva, Ferreira, Celli y Brooks (2018)** mencionan que las concentraciones se encuentran entre 150 a 250 mg.kg⁻¹ en variedades con alto contenido de carotenoides y de estas cantidades el 72 a 92% se encuentra en las cáscaras, pero en la extracción los rendimientos son bajos como el porcentaje de 0,541% obtenido por **Valdiviezo (2010)** para la extracción con etanol de licopeno de la pulpa de sandía. **Cardona et al., (2006)** obtuvieron un rendimiento de 55,99 mg de licopeno por cada 100 g de pulpa de tomate con etilacetato a una temperatura y tiempo de extracción de 50 °C y 3 horas respectivamente.

Al contrastar con pruebas de laboratorio realizado por **Pérez (2019)** el mejor resultado de rendimiento que obtuvo fue de 84 mg.kg⁻¹ o 0,0084% en el procedimiento optimizado, evidenciando que los valores reportados en esta investigación para el rendimiento solo se logró alcanzar la mitad del rendimiento obtenido por **Pérez, (2019)**, se argumenta a que los residuos de tomate no fueron obtenidos de la misma matriz y no se tomó en cuenta las variedades del tomate de árbol utilizadas, grado de madurez y procedencia de la fruta. Respecto del grado de madurez y variedad estos influye en gran medida para el contenido de licopeno extraíble, donde se puede obtener valores máximos de 5 mg.kg⁻¹ para las variedades del tomate de árbol amarillas y hasta 50 mg.kg⁻¹ en variedades rojas. Así también, la cinética de secado del extracto vegetal y tiempos de almacenamiento influyen de manera significativa en las concentraciones de carotenoides, como mencionan **Juscamaita et al., (2017)** en la determinación del

contenido de carotenoides de pétalos de mastuerzo (*Tropaeolum majus L.*) color amarillo, atribuyendo que un secado lento y largos tiempos de almacenamiento son la causa de un rendimiento bajo en carotenoides.

En la Figura 8 se observa que los valores de rendimiento descienden desde 35,473 mg.kg⁻¹ hasta 34,340 mg.kg⁻¹. Aunque no se encontraron diferencias mínimas significativas se observan que las medias para cada volumen de extracción no son iguales, con una mayor diferencia en el volumen de 5 L respecto de los otros volúmenes.

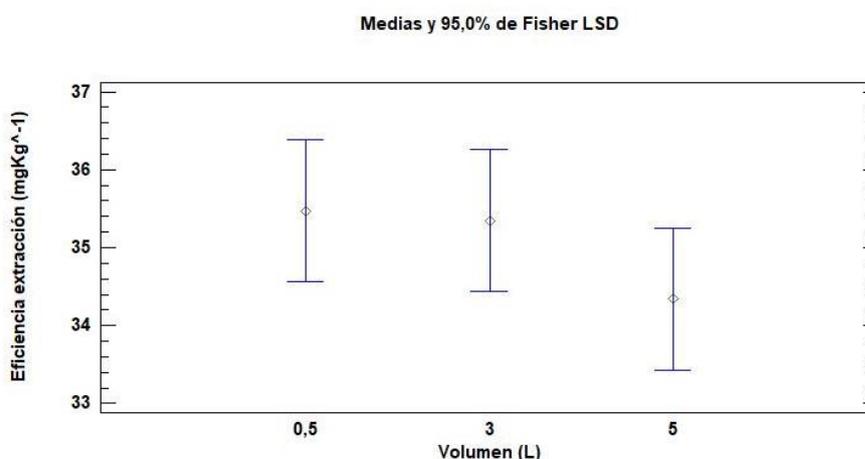


Figura 8. Gráfico de medias para la eficiencia de extracción de carotenoides.

4.1.3. Microencapsulación

El porcentaje de rendimiento en el proceso de microencapsulación está directamente influenciado por las concentraciones de los polímeros utilizados. En esta investigación se emplearon goma arábica y maltodextrina en un 42,5% cada una y un 15% de carga para el extracto concentrado rico en carotenoides, el rendimiento del proceso de microencapsulación fue el resultado de dividir el peso del producto obtenido al final del proceso de microencapsulación con el peso inicial del producto ingresado al equipo, obteniendo un rendimiento de 79,02% (Anexo 7). El mayor porcentaje de polímeros utilizados manifiestan un mayor rendimiento del proceso de microencapsulación y al contrastar con experimentos realizados por **Corrêa et al., (2019)**, en el cual obtuvieron un rendimiento del proceso de microencapsulación de 44% como valor máximo con una concentración del 9,4% de goma arábica. Además,

se deben de considerar las condiciones de operación del equipo de secado por atomización y la retención de producto que tiene lugar en las paredes del secador. En experimentos de **Figuroa et al., (2016)** se reportaron valores que alcanzaron rendimientos de hasta 89,9% y 90% usando una mezcla de 2,5 g de aceite de mora con 12,5 g de maltodextrina y goma arábiga respectivamente de forma separada, mas no en mezclas para microencapsular aceite de mora con un porcentaje de aceite en agua del 30% p/p.

El porcentaje de eficiencia de microencapsulación (E.M) se realizó diluyendo el microencapsulado en etanol y agua con la finalidad de identificar la cantidad del compuesto activo que se consiguió enmascarar dentro de los polímeros a través de la medición en el espectrofotómetro. Se obtuvo un valor de 99,39% (Anexo 8), se estima como un valor alto de eficiencia en consecuencia la metodología utilizada es muy eficiente para microencapsular este tipo de compuestos activos, si se consideran las variables de concentración de polímeros utilizados y la temperatura de secado en la entrada y salida como óptimos. En comparación con resultados de **Pérez (2019)**, el porcentaje de eficiencia de microencapsulación para el mismo compuesto activo es similar, en el cual obtuvo una eficiencia del 96,5% utilizando una mezcla de estos polímeros. **Corrêa et al., (2019)** determinaron la eficiencia de microencapsulación con goma arábiga para extractos obtenidos de residuos de tomate reportando resultados en un intervalo de 3,4 a 20,5% de eficiencia con temperaturas de microencapsulación que alcanzaron hasta los 200 °C. Es evidente que los resultados son muy diferentes debido a que las temperaturas de entrada y salida del equipo de microencapsulación varían, donde un aumento de la temperatura puede dar lugar al incremento de la eficiencia en un determinado polímero pero también puede ocasionar una disminución si se sobrepasa los límites dando lugar a estructuras de microcápsulas deformadas o rotas, así también una concentración alta del polímero representa un aumento del tiempo de microencapsulación como consecuencia del aumento de la viscosidad de la emulsión y ocasionado que el compuesto activo este expuesto más tiempo a altas temperaturas.

4.1.4. Determinación de la actividad antioxidante

Actividad antioxidante en el extracto sin concentrar.

Para la caracterización de los extractos se determinó el porcentaje de inhibición del radical DPPH en los tres volúmenes de extracción, los porcentajes se encontraron en un intervalo entre 50,801 y 55,724%, en efecto los resultados del indicador estadístico ANOVA con un valor de $P = 0,0884$ (Anexo 9) no mostraron diferencias estadísticas significativas entre las medias correspondiente al porcentaje de inhibición del radical DPPH en cada volumen de extracción. El mejor resultado obtenido correspondió al volumen de 0,5 L con un valor de 55,724% de inhibición del radical DPPH seguido por el 53,65% para el volumen de 3 L y 50,801% para el de 5 L. En comparación con resultados de **Silva et al., (2018)**, donde reportaron valores de entre $17.1 \pm 1.66\%$ y $31.35 \pm 0.18\%$ de inhibición para los residuos de tomate, se observa que se obtuvieron mejores resultados en esta investigación. Además, mencionan que la variación de los datos para el porcentaje de inhibición es una consecuencia de los escenarios a los que han sido expuestos los tomates en su industrialización y de las condiciones de secado del residuo del tomate para la extracción de carotenoides. En este experimento se utilizaron cáscaras del tomate de árbol fresco que no fueron sometidas a ningún proceso de industrialización a diferencia de los resultados de **Silva et al., (2018)**, en el cual utilizaron residuos de tomate que incluyeron cáscaras y semillas de una planta procesadora de tomate.

Carrasco y Encina (2008) reportaron resultados de porcentajes de inhibición de hasta 80% en extractos obtenidos de pulpa del tomate de árbol extraídos con metanol, siendo mayores a los obtenidos en esta investigación. Las variaciones de los resultados obtenidos con la de otros autores podrían deberse a el grado de madurez de la fruta de la que se obtiene los extractos, a mayor grado de madurez de la fruta mayor contenido de compuestos bioactivos que dan lugar a una actividad antioxidante más alta.

En referencia a la no variación significativa de resultados entre los tres volúmenes de extracción es debido a que se trabajó con la misma matriz del residuo vegetal del tomate de árbol eliminando así la influencia que podría haber tenido el grado de madurez o procedencia de los residuos vegetales.

En el gráfico de medias (Figura 9) se observó una dispersión de los datos entre los tres volúmenes estudiados, con una disminución significativa de porcentaje de inhibición a medida que se incrementó el volumen de extracción.

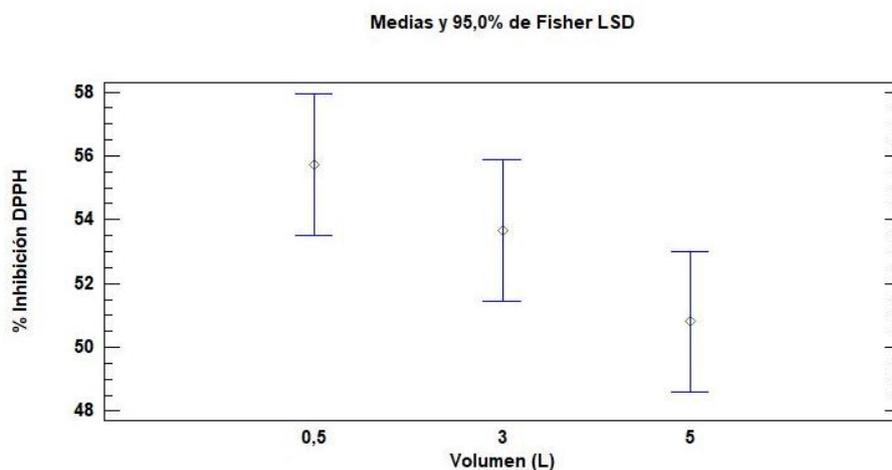


Figura 9. Gráfico de medias para el porcentaje de inhibición

Se realizó una curva de calibración de Trolox mediante una gráfica de regresión simple del porcentaje de inhibición de radical DPPH versus la concentración de Trolox en $\mu\text{mol Trolox.L}^{-1}$ (Anexo 10), obteniendo la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Inhibición} = 8,02204 + 0,0960156 * \text{Concentración (umol Trolox L}^{-1} - 1)$$

Ecuación 12. Curva de calibración de Trolox

En la regresión lineal se alcanzó un coeficiente de correlación de 0,996 que indicó una alta correlación directa positiva entre las dos variables. Además de un R-cuadrada de 96,3046%. El mejor fue de $496,82 \mu\text{mol.L}^{-1}$ en concentración equivalente al reactivo químico Trolox correspondiente al volumen de 0,5 L, para los volúmenes de 3 y 5 L los resultados fueron de $475,24$ y $445,54 \mu\text{mol.L}^{-1}$ respectivamente. Se asume una disminución considerada normal cuando se realiza un cambio de escala que no es significativa debido a que la concentración mínima fue de $445,54 \mu\text{mol.L}^{-1}$.

Actividad antioxidante en el extracto concentrado

En la determinación de la actividad antioxidante para el extracto concentrado y microencapsulado del mayor volumen (5 L) se obtuvieron los siguientes resultados:

Tabla 5. Resultados de la actividad antioxidante del extracto concentrado y microencapsulado

<i>Dilución</i>		<i>Extracto Concentrado</i>	<i>Extracto Microencapsulado</i>
% Inhibición		55,998	21,726
Con Equiv Trolox	1/200	499,672	142,723
$(\mu\text{mol.L}^{-1})$			

Es evidente el incremento de la actividad antioxidante considerando la dilución utilizada y además como respuesta a la concentración del extracto antes de realizar el ensayo, obteniéndose una cantidad de sólidos totales presentes en la muestra de 13,45% en comparación con el 0,096% presentes en la muestra antes de concentrar. En comparación con el extracto sin concentrar en el volumen de 5 L se obtuvo 50,801% de inhibición de DPPH, asumiendo que se incrementó la actividad antioxidante en casi un 200% al concentrar el extracto.

Las diferencias entre el extracto concentrado y microencapsulado son significativas, con una disminución del 34,27% de inhibición, a pesar de que se trabajó con la misma dilución. **Corrêa et al., (2019)** mencionan que las pérdidas de actividad antioxidante del extracto pueden ser desde 0 a 77,7% después de la microencapsulación con goma arábica, también atribuye la pérdida a factores ambientales propios del proceso de microencapsulación en la cual la temperatura y tiempo de secado influyen significativamente, debido a que las altas temperaturas de secado y largos tiempos ocasionan la degradación de los carotenoides disminuyendo su actividad antioxidante. Además, la disminución de la actividad antioxidante en el microencapsulado podría deberse también a la no disolución completa de los polímeros en la solución

metanólica de Trolox al momento de realizar el ensayo, esto no permite que se libere en su totalidad el ingrediente activo y entre en contacto directo con el reactivo DPPH para la reacción antioxidante.

En experimentos de **Pérez (2019)**, los resultados reportados fueron de 60,23% y 49,85% de inhibición del radical DPPH para el extracto concentrado y microencapsulado respectivamente que corresponden a concentraciones equivalentes de Trolox de 693.81 y 290.3 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ en una dilución de $\frac{1}{2}$. Aunque no existe un reporte de la cantidad de sólidos hasta la cual se concentró el extracto para hacer una comparación más exacta, pero los resultados se asemejan a los obtenidos en esta investigación.

4.1.5. Caracterización espectroscópica del extracto

Los resultados que se muestran en la Figura 10 se realizaron con la finalidad de corroborar la microencapsulación del extracto con alto contenido de carotenoides.

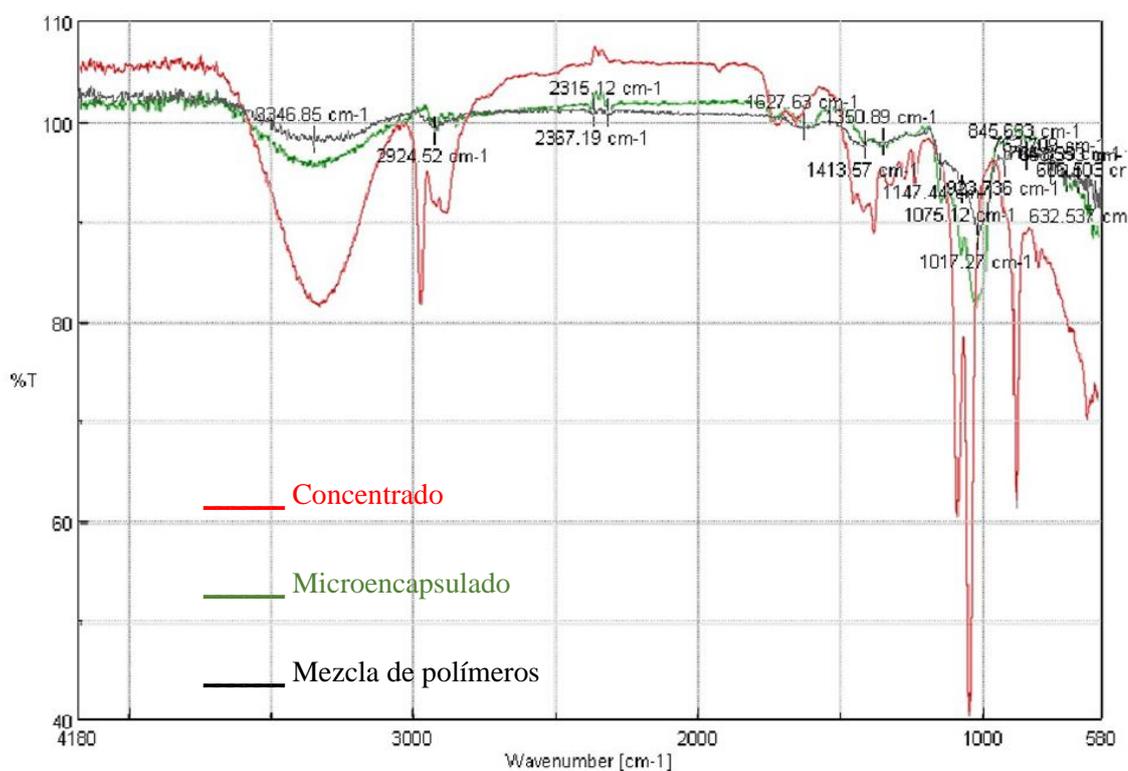


Figura 10. Espectros de resonancia infrarrojo de las muestras de extracto concentrado, microencapsulado y polímeros goma arábica – maltodextrina.

Se realizó en una zona del espectro infrarrojo medio en una frecuencia de entre $580 - 4180 \text{ cm}^{-1}$ y $40 - 110\%$ de transmitancia. Se observó que el extracto microencapsulado produjo un espectro infrarrojo muy similar con la mezcla de polímeros, confirmando los resultados altos de eficiencia de microencapsulación. Comparado con la gráfica de banda espectroscópica formada por el extracto concentrado que presento picos de transmitancia muy pronunciados que lo diferenciaron de los dos anteriores.

Con la finalidad de identificar con mayor precisión se realizó la medición de los picos de mayor relevancia en las tres muestras utilizadas. Para el extracto concentrado se identificó un pico máximo en $1043,3 \text{ cm}^{-1}$ de la zona espectral correspondiente a un $41,57\%$ de transmitancia (Figura 11.a). Contrastando con la gráfica del espectro infrarrojo de una solución patrón de β -caroteno realizada por **Jurado (2012)**, el valor del pico máximo es en 964 cm^{-1} aseverando que en efecto existen carotenoides presentes en la muestra. Además, este resultado se comparó con la muestra del extracto microencapsulado, obteniéndose un pico máximo en $1027,87 \text{ cm}^{-1}$ que correspondió a $81,50\%$ de transmitancia (Figura 11.b) y con la mezcla de polímeros utilizados en la microencapsulación que presento un pico máximo en $1017,27 \text{ cm}^{-1}$ para $88,33\%$ de transmitancia (Figura 11.c).

La similaridad encontrada en las gráficas formadas por el extracto microencapsulado y la mezcla de polímeros fue evidente, siendo un indicativo para aseverar que el extracto rico en carotenoides se encontraba dentro de las microcápsulas en un alto porcentaje de rendimiento ya determinados anteriormente. Los resultados fueron muy similares a los reportados por **Pérez (2019)**, donde obtuvo valores de $43,86\%$, $70,19\%$ y 72% de transmitancia para el extracto concentrado, microencapsulado y mezcla de polímeros respectivamente.

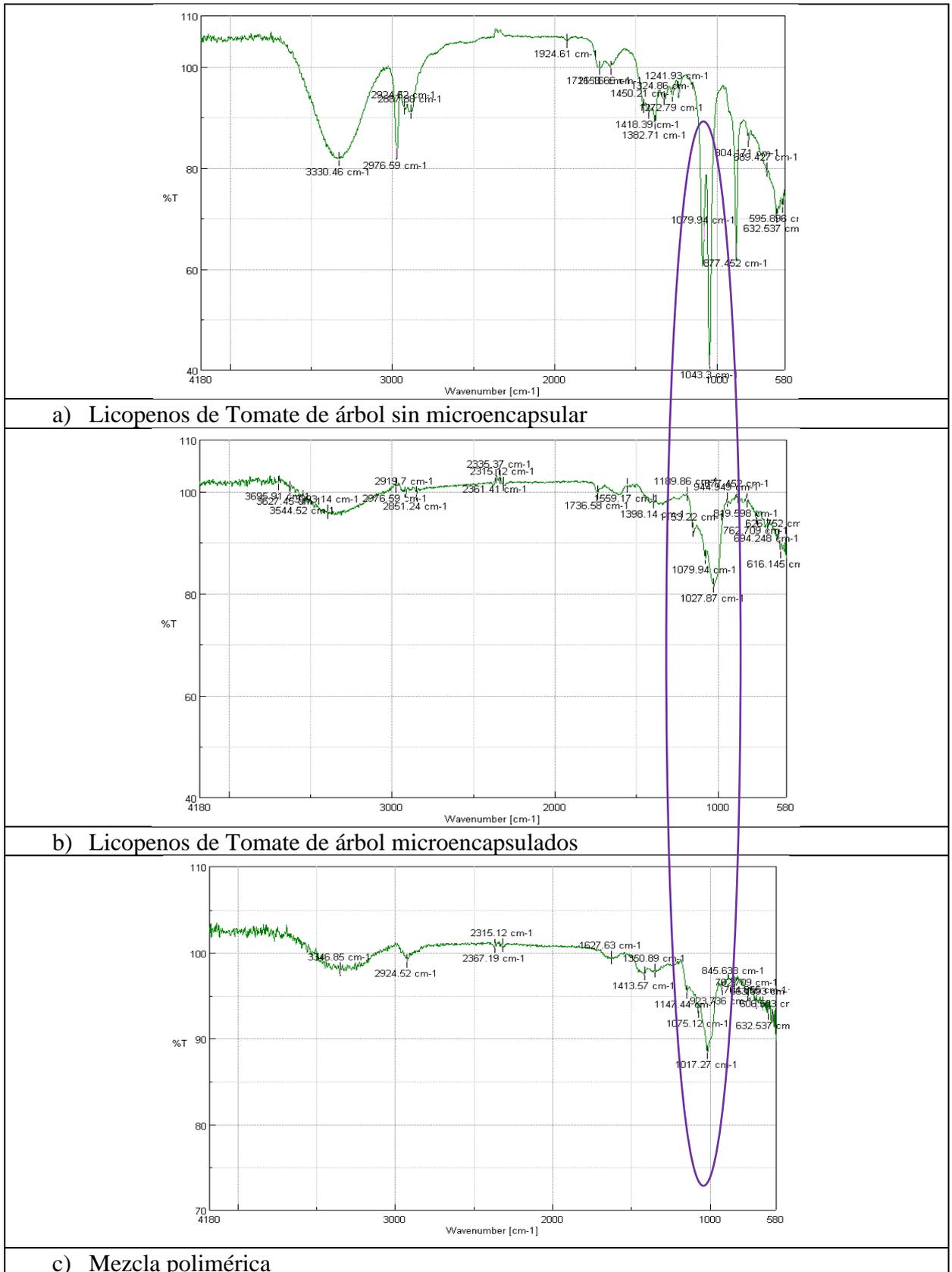


Figura 11. Espectro infrarrojo expresado en porcentaje de transmitancia.

4.2. Verificación de la hipótesis

4.2.1. Hipótesis nula

El extracto rico en carotenoides a partir de residuos agroindustriales no se obtiene a escala de banco con capacidad antioxidante.

4.2.2. Hipótesis alternativa

El extracto rico en carotenoides a partir de residuos agroindustriales se obtiene a escala de banco con capacidad antioxidante. Se acepta la hipótesis alternativa, ya que se demostró que existe una concentración significativa de carotenoides en el extracto obtenido a escala de banco de los residuos agroindustriales del tomate de árbol. Además, se cuantificó su actividad antioxidante obteniéndose resultados favorables que lo demuestran.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

Se obtuvo un extracto rico en carotenoides con capacidad antioxidante a una escala de banco con resultados favorables que permiten valorizar el aprovechamiento de los residuos agroindustriales del tomate de árbol.

Se extrajeron carotenoides a partir de los residuos agroindustriales del tomate de árbol, el resultado de concentración de licopenos obtenido fue de $0,514 \text{ mg.L}^{-1}$ con un rendimiento del proceso de extracción de $34,34 \text{ mg.kg}^{-1}$ en el volumen de 5 L.

Se caracterizó el ingrediente activo presente en el extracto y mediante el análisis estadístico ANOVA con un nivel de confianza del 95% se concluyó que no existieron diferencias estadísticas significativas de los resultados obtenidos entre los tres volúmenes para las variables de respuestas: índice de refracción, viscosidad cinemática, concentración de licopeno y eficiencia de extracción, mientras que para el porcentaje de humedad y pH si existieron diferencias significativas.

Se microencapsuló el extracto obtenido en el volumen de 5 L registrando resultados de rendimiento del proceso de microencapsulación del 79,2% y 99,39% para el porcentaje de eficiencia de microencapsulación, corroborando mediante espectroscopía infrarroja.

Se demostró la actividad antioxidante medida en concentración equivalente de Trolox en el extracto y microencapsulado. En los tres volúmenes extraídos no se encontraron diferencias estadísticas significativas entre las medias con un valor mínimo de concentración de 445, 54 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ correspondiente al volumen de 5 L, mientras que en el extracto microencapsulado se obtuvo una concentración de 142,72 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ realizando una dilución de 1/200, observándose un incremento de la actividad antioxidante significativo al concentrar la muestra para su posterior microencapsulación.

5.2. Recomendaciones

Utilizar residuos vegetales del tomate de árbol de variedades específicas que tengan las mayores concentraciones de carotenoides con la finalidad de obtener mejores rendimientos en los procesos de extracción.

Realizar el proceso de extracción a una escala superior a la de banco para identificar si existen cambios significativos en los rendimientos del proceso de extracción y actividad antioxidante

Realizar una caracterización química del extracto para identificar y cuantificar los tipos de carotenoides que se encuentran presentes.

Incorporar el extracto rico en carotenoides en formulaciones de alimentos funcionales con el objetivo de medir su estabilidad y durabilidad dándole un uso comercial.

BIBLIOGRAFÍA

- Acosta, P. (2011). Caracterización morfológica y molecular de tomate de árbol,. Recuperado de <http://repositorio.educacionsuperior.gob.ec/bitstream/28000/1174/1/T-SENECYT-000302.pdf>
- Aguado, M. I., Nuñez, M. B., Bela, A. J., Okulik, N. B., & Bregni, C. (2013). Caracterización fisicoquímica y actividad antioxidante de un extracto etanólico de *Aloysia polystachya* (Griseb.) Mold. (Verbenaceae). *Revista Mexicana de Ciencias Farmaceuticas*, 44(3), 46-51.
- Agudelo, J. C. (2018). Práctica 4. VISCOSIMETRO ROTACIONAL. Recuperado de https://www.academia.edu/36026224/Práctica_4._VISCOSIMETRO_ROTACIONAL
- Aguilera, M., Reza, M. del C., Chew, R. G., & Meza, J. A. (2011). PROPIEDADES FUNCIONALES DE LAS ANTOCIANINAS. Recuperado de www.biotecnia.uson.mx
- Amaya, J., & Julca, J. (2006). *Tomate de árbol*. Perú. Recuperado de www.regionlalibertad.gob.pe
- Anaya, A., & Pedroza, H. (2008). Plantas piloto, el paso entre el huevo y la gallina. *Tecnología, Ciencia, Educación*, 23(1). Recuperado de <http://www.redalyc.org/html/482/48223105/>
- Bobo, G., Davidov, G., Arroqui, C., Vírseda, P., Marín, M. R., & Navarro, M. (2015). Intra-laboratory validation of microplate methods for total phenolic content and antioxidant activity on polyphenolic extracts, and comparison with conventional spectrophotometric methods. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(1), 204-209. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6706>
- Canosa, M. del P. (2010). Desarrollo de metodología analítica para determinación de Triclosán y Parabenos. Recuperado 3 de junio de 2019, de <https://books.google.com.ec/books?id=2JxbiSyy01IC&pg=PA38&dq=extraccio>

n+soxhlet&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwiBurv17s3iAhWqtlkKHV8TAv8Q6AEIJzAA#v=onepage&q=extraccion soxhlet&f=false

Cardona, E. M., Ríos, L. A., & Restrepo, G. M. (2006). EXTRACCIÓN DEL CAROTENOIDE LICOPENO DEL TOMATE CHONTO (*Lycopersicon esculentum*). *Revista de la facultad de Química Farmacéutica*, 13. Recuperado de <http://www.scielo.org.co/pdf/vitae/v13n2/v13n2a06.pdf>

Carrasco, R. R., & Encina, C. R. (2008). Determinación de la capacidad antioxidante y compuestos bioactivos de frutas nativas peruanas. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 74(2), 108-124. Recuperado de http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1810-634X2008000200004

Castaneda, E., Osorio, G., Gallardo, T., & Proal, J. (2013). Uso de FTIR-HATR y análisis multivariable para el seguimiento de la degradación de compuestos bioactivos durante el secado de pimiento rojo. *Scielo.Org.Mx*, 12(2), 193-204. Recuperado de <http://www.scielo.org.mx/pdf/rmiq/v12n2/v12n2a2.pdf>

Castillo, V. (2013). *Diseño y cálculo de un agitador de fluidos*. Universidad del Bío-Bío. Recuperado de http://repopib.ubiobio.cl/jspui/bitstream/123456789/412/1/Castillo_Uribe_Vladimir.pdf

Chamorro, V. A. (2014). *Estudio de factibilidad para la producción, industrialización y comercialización del tomate de árbol en la parroquia de Miguel Egas Cabezas, Comunidad Peguche, Cantón Otavalo*. Universidad Técnica del Norte. Recuperado de <http://repositorio.utn.edu.ec/bitstream/123456789/3942/1/02 ICA 844 TESIS.pdf>

Córdoba, R. (2017). *Carotenoides, color y actividad antioxidante en distintas variedades de sandía*. Universidad de Sevilla. Recuperado de <https://idus.us.es/xmlui/handle/11441/66377>

Corrêa, L., Lourenço, S., Duarte, D., Moldão, M., & Alves, V. (2019). Microencapsulation of Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) Pomace Ethanolic

Extract by Spray Drying: Optimization of Process Conditions. *Applied Sciences*, 9(3), 612. <https://doi.org/10.3390/app9030612>

Cromer, A. H., & Fernández, J. (1998). *Física en la ciencia y en la industria*. Reverté.

Recuperado de [https://books.google.com.ec/books?id=egCFOg6V2j0C&pg=PA423&dq=indice+de+refraccion+de+una+sustancia&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwjliZ-M-bbhAhUCtlkKHavnD_IQ6AEILTAB#v=onepage&q=indice de refraccion de una sustancia&f=false](https://books.google.com.ec/books?id=egCFOg6V2j0C&pg=PA423&dq=indice+de+refraccion+de+una+sustancia&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwjliZ-M-bbhAhUCtlkKHavnD_IQ6AEILTAB#v=onepage&q=indice+de+refraccion+de+una+sustancia&f=false)

Dueñas, A., Alcívar, U., Sacon, E., Casdelo, N., & Villanueva, G. (2016). Escalado y dimensionamiento de una planta piloto para la producción de un extracto acuoso de Chuquiraga jussieui J.F Gmel. *Tecnología Química*, 36(3), 255-266. Recuperado de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2224-61852016000300001&lng=es&nrm=iso&tlng=es

El Comercio. (2011). Todo el año hay tomate de árbol. Recuperado 18 de marzo de 2019, de <https://www.elcomercio.com/actualidad/negocios/ano-hay-tomate-de-arbol.html>

Figuroa, P. M., Ceballos, M. A., & Hurtado, A. M. (2016). Microencapsulación mediante secado por aspersión de aceite de mora (*Rubus glaucus*) extraído con CO₂ supercrítico, 44(3), 5-10. <https://doi.org/http://dxAdoiAorgUñNAñFPP@UrevAcolombAquimAvPFnCAFRPMñ>

Gámez, J., Noguera, R., Vertucci, C., & Sandoval, T. (2016). Estudio comparativo de dos métodos de extracción del licopeno a partir de los residuos del procesamiento del tomate.

García, D., & Jáuregui, U. (2006a). *Hidrodinámica en tanques agitados con turbinas de disco con paletas planas*. La Habana. Recuperado de <http://www.scielo.org.co/pdf/rfiua/n38/n38a09.pdf>

García, D., & Jáuregui, U. (2006b). Hidrodinámica en tanques agitados con turbinas de disco con paletas planas. *Revista Facultad de Ingeniería*, 1, 97-113.

Recuperado de <http://www.scielo.org.co/pdf/rfiua/n38/n38a09.pdf>

González, D. O. (2013). Aprovechamiento de residuos agroindustriales para la producción de alimentos. Recuperado de http://repository.lasallista.edu.co/dspace/bitstream/10567/1032/1/Aprovechamiento_residuos_agroindustriales_produccion_alimentos_funcionales.pdf

González, R. (2007). *Principios básicos de escalado*. (Editorial Universitaria, Ed.). La Habana. Recuperado de <https://ebookcentral.proquest.com/lib/utasp/detail.action?docID=3174702>

Guija, E., Inocente, M., Ponce, J., & Zarzosa, E. (2015). Evaluación de la técnica 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH) para determinar capacidad antioxidante, 4. Recuperado de <http://www.scielo.org.pe/pdf/hm/v15n1/a08v15n1.pdf>

Gutiérrez, H., & de la Vara, R. (2008). *Análisis y diseño de experimentos*. (S. A. de C. V. McGRAW-HILL/INTERAMERICANA EDITORES, Ed.) (Segunda Ed). México: 2008. Recuperado de http://gc.initelabs.com/recursos/files/r161r/w19537w/analisis_y_diseno_experimentos.pdf

Hernández, A. (2008). *Microbiología Industrial*. Recuperado de <https://books.google.com.ec/books?id=KFq4oEQQjdEC&pg=PA44&dq=sistemas+de+agitacion+en+biorreactores&hl=es-419&sa=X&ved=0ahUKEwi5vZvQ79DiAhXJzlkKHdfoBvAQ6AEIOzAE#v=onepage&q&f=true>

INEC. (2017). *Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua ESPAC 2017 Contenidos*. Recuperado de http://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Estadisticas_agropecuarias/espac/espac_2017/Presentacion_Principales_Resultados_ESPAC_2017.pdf

INIAP. (2019). Tomate de árbol. Recuperado de <http://tecnologia.iniap.gob.ec/index.php/explore-2/mfruti/rtomatea>

Jiménez, M., Zambrano, M., & Aguilar, M. (2004). Estabilidad de Pigmentos en Frutas

Sometidas a Tratamiento con Energía de Microondas. *Información tecnológica*, 15(3), 61-66. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642004000300009>

Jurado, L. (2012). *Estudio del grado de madurez y/o conservación de tomates empleando técnicas espectroscópicas moleculares*.

Juscamaita, F., Pérez, T., Espinoza, C., Quispe, M., Hinostroza, G., Flores, O., & Manyari, G. (2017). Evaluación de la estabilidad de carotenoides y actividad antioxidante de la flor de mastuerzo (*Tropaeolum majus* L.) en la microencapsulación por Spray-Drying. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 83(3), 282-293. Recuperado de http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1810-634X2017000300004

Londoño, J. (2012). *Antioxidantes: importancia biológica y métodos para medir su actividad*. Editorial Artes y Letras. Recuperado de <http://repository.lasallista.edu.co/dspace/handle/10567/133>

Lugo, N., Colinas, T., Bautista, C., Vázquez, T., & Lozoya, H. (2014). Fenoles totales y capacidad antioxidante estimada con los ensayos DPPH/ABTS en rosas en soluciones preservantes. *Rev. Mex. Cienc. Agríc*, 5. Recuperado de <http://www.scielo.org.mx/pdf/remexca/v5n6/v5n6a10.pdf>

Macarulla, J. M., & Goñi, F. M. (1994). *Bioquímica humana : curso básico*. Reverté. Recuperado de [https://books.google.com.ec/books?id=4h_IosytGvkC&pg=PA33&dq=ph+metodo+potenciometrico&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwinnMfM6bbhAhUp1VvKHU6QABgQ6AEIJzAA#v=onepage&q=ph metodo potenciometrico&f=false](https://books.google.com.ec/books?id=4h_IosytGvkC&pg=PA33&dq=ph+metodo+potenciometrico&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwinnMfM6bbhAhUp1VvKHU6QABgQ6AEIJzAA#v=onepage&q=ph%20metodo%20potenciometrico&f=false)

Martí, G. A., & Sánchez, S. D. (2008). Estudio del licopeno del tomate como colorante natural desde la perspectiva analítica e industrial, (figura 1). Recuperado de <https://upcommons.upc.edu/bitstream/handle/2099.1/5544/Resum.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Martínez, L. M., & Campos, P. T. (2017). *Evaluación de mezclas de materiales poliméricos para encapsular los componentes bioactivos de la champa*

- (*Campomanesia lineatifolia*) mediante spray drying. Universidad de La Salle. Recuperado de http://repository.lasalle.edu.co/bitstream/handle/10185/21757/43102003_2017.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Nowakowska, J. (1939). *The Refractive Indices of Ethyl Alcohol and Water Mixtures*. Recuperado de http://ecommons.luc.edu/luc_theses/668
- Palozza, P., Simone, R. E., Catalano, A., & Mele, M. C. (2011). Tomato Lycopene and Lung Cancer Prevention: From Experimental to Human Studies. *Cancers*, 3(2), 2333-2357. <https://doi.org/10.3390/cancers3022333>
- PCE. (2019). Balanzas para medición de humedad. Recuperado 4 de abril de 2019, de <https://www.pce-iberica.es/instrumentos-de-medida/medidores/balanzas-humedad.htm>
- Pérez, C. F. (2019). *Extracción y microencapsulación de licopenos provenientes de residuos agroindustriales del tomate de árbol (Solanum betaceum)*. Universidad Técnica de Ambato. Recuperado de http://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/29416/1/BQ_178.pdf
- Pérez, F. J. (2016). *Escalado de una torre de Absorción*. Universidad de Sevilla. Recuperado de <https://idus.us.es/xmlui/bitstream/handle/11441/48894/772.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Piqué, T. M., & Vázquez, A. (2012). Uso de Espectroscopía Infrarroja con Transformada de Fourier (FTIR) en el estudio de la hidratación del cemento. *Concreto y cemento. Investigación y desarrollo*, 3(2), 62-71. Recuperado de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-30112012000100004
- Portela, S. I. (1999). *Fisiología y manejo de postcosecha del tamarillo (Cyphomandra betacea)*. *Avances en Horticultura* (Vol. 4). Recuperado de <http://www.huertasurbanas.com/wp-content/uploads/2013/06/Fisiología-y-manejo-de-postcosecha-del-tamarillo.pdf>

- Rendón, S. (2016). *Actividad antioxidante in vivo de licopeno del tomate, papaya y guayaba rosada para la prevención del cáncer colorrectal*. Recuperado de http://repository.lasallista.edu.co/dspace/bitstream/10567/1769/1/Actividad_anti_oxidante_licopeno_prevencion_cancer_colorrecta.pdf
- Sagñay, M. del C. (2010). *Estudio comparativo del potencial nutritivo de dos variedades de tomate de árbol (Solanum betaceum Cav.) deshidratado por microondas a tres potencias*. Escuela Superior Politécnica del Chimborazo. Recuperado de <http://dspace.espoch.edu.ec/bitstream/123456789/1917/1/56T00204.pdf>
- Silva, Y., Brooks, M. S.-L., Ferreira, T. A. P. C., Caliari, M., Borba, B. C., Reis, M. G., & Pereira, V. A. (2018). Characterization of tomato processing by-product for use as a potential functional food ingredient: nutritional composition, antioxidant activity and bioactive compounds. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 70(2), 150-160. <https://doi.org/10.1080/09637486.2018.1489530>
- Silva, Y., Ferreira, T., Celli, G., & Brooks, M. (2018). Optimization of Lycopene Extraction from Tomato Processing Waste Using an Eco-Friendly Ethyl Lactate – Ethyl Acetate Solvent : A Green Valorization Approach. *Waste and Biomass Valorization*, 0(0), 0. <https://doi.org/10.1007/s12649-018-0317-7>
- Strati, I. F., & Oreopoulou, V. (2011a). Effect of extraction parameters on the carotenoid recovery from tomato waste. *International Journal of Food Science and Technology*, 46(1), 23-29. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2010.02496.x>
- Strati, I. F., & Oreopoulou, V. (2011b). Process optimisation for recovery of carotenoids from tomato waste. *Food Chemistry*, 129(3), 747-752. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.05.015>
- Szabo, K., Cătoi, A. F., & Vodnar, D. C. (2018). Bioactive Compounds Extracted from Tomato Processing by-Products as a Source of Valuable Nutrients. *Plant Foods for Human Nutrition*, 73(4), 268-277. <https://doi.org/10.1007/s11130-018-0691-0>
- Universidad de Granada. (2000). Extracción Sólido-Líquido Y Recuperación Del

Disolvente : *Prácticas docentes en la Facultad de Ciencias*, 1-8. Recuperado de <http://fciencias.ugr.es/practicadocentes/wp-content/uploads/guiones/ExtraccionSolidoLiquido.pdf>

Valdiviezo, J. (2010). Extracción de carotenoide licopeno a partir de los rechazos post cosecha del mercado interno de *Citrullus lanatus* (sandía) para su futura aplicación en alimentos, 129. Recuperado de <http://www.dspace.espol.edu.ec/xmlui/handle/123456789/10616>

Vásquez, D. R., Abadía, B., & Arreaza, L. C. (2004). Aplicación de la Espectroscopía de Reflectancia en el Infrarrojo Cercano (NIRS) para la caracterización nutricional del pasto Guinea y del grano de maíz. *Corpoica Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 5(1), 49. https://doi.org/10.21930/rcta.vol5_num1_art:24

ANEXOS

Anexo 1. ANOVA para % de humedad por Volumen (L)

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
<i>Entre grupos</i>	0,00468867	2	0,00234433	5,21	0,0488
<i>Intra grupos</i>	0,00269933	6	0,000449889		
<i>Total (Corr.)</i>	0,007388	8			

Anexo 2. ANOVA para pH por Volumen (L)

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
<i>Entre grupos</i>	0,0171842	2	0,00859211	30,38	0,0007
<i>Intra grupos</i>	0,00169667	6	0,000282778		
<i>Total (Corr.)</i>	0,0188809	8			

Anexo 3. ANOVA para Índice de refracción por Volumen (L)

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	2,22222E-7	2	1,11111E-7	0,25	0,7865
Intra grupos	0,00000266667	6	4,44444E-7		
Total (Corr.)	0,00000288889	8			

Anexo 4. ANOVA para Viscosidad Cinemática (cSt.s⁻¹) por Volumen (L)

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	0,00152422	2	0,000762111	0,15	0,8669
Intra grupos	0,03127	6	0,00521167		
Total (Corr.)	0,0327942	8			

Anexo 5. Tabla ANOVA para la concentración de licopenos (mg.L⁻¹)

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	0,000940222	2	0,000470111	2,48	0,1639
Intra grupos	0,00113667	6	0,000189444		
Total (Corr.)	0,00207689	8			

Anexo 6. ANOVA para la Eficiencia de Extracción en mg.kg⁻¹

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
<i>Entre grupos</i>	2,31303	2	1,15651	1,39	0,3186
<i>Intra grupos</i>	4,98335	6	0,830558		
<i>Total (Corr.)</i>	7,29637	8			

Anexo 7. Resultados del porcentaje de rendimiento del proceso de microencapsulación.

Peso utilizado de polímeros y extracto

85 g de goma arábica

85 g de maltodextrina

30 g de extracto concentrado rico en carotenoides

Peso inicial = 200 g

Peso final = 158,04 g

$$\% \text{ rendimiento} = \frac{158,04g}{200g} 100$$

% rendimiento = 79,02

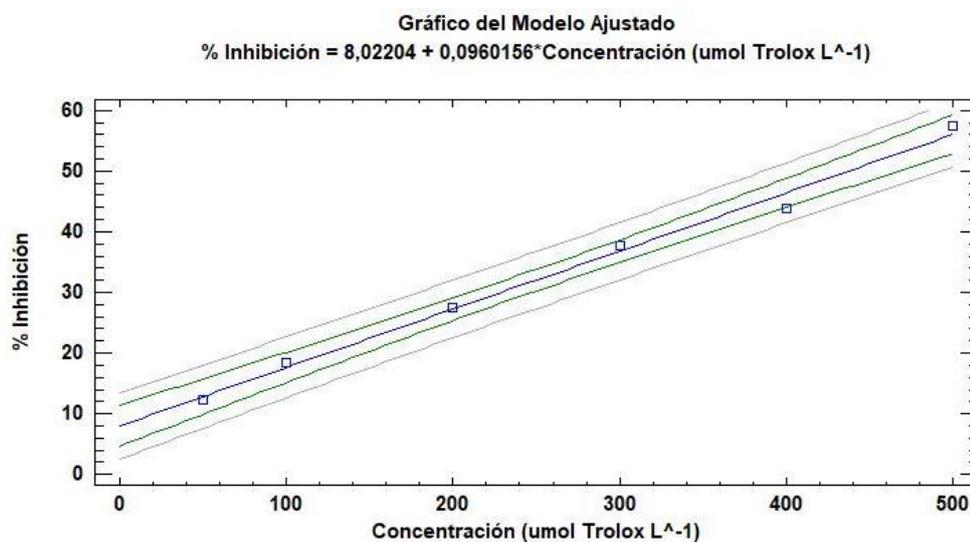
Anexo 8. Porcentaje de eficiencia de microencapsulación

<i>Factor de dilución</i>	<i>1/10</i>	
	Etanol	Agua
	0,0054	0,9895
<i>Absorbancia (515 nm)</i>	0,0059	0,9893
	0,0066	0,9891
<i>Promedio x F. Dilución</i>	0,0596	9,893
<i>Concentración mg.L⁻¹</i>	0,1510	25,0455
<i>% Eficiencia</i>	99,39	

Anexo 9. ANOVA para el porcentaje de inhibición del radical DPPH

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
<i>Entre grupos</i>	36,6672	2	18,3336	3,74	0,0884
<i>Intra grupos</i>	29,4467	6	4,90779		
<i>Total (Corr.)</i>	66,1139	8			

Anexo 10. Grafica de la curva de calibración de Trolox (50 – 500 $\mu\text{mol.L}^{-1}$)



Anexo 11. Resultados de la caracterización físico química de los extractos

<i>Volumen (L)</i>	<i>0,5</i>	<i>3</i>	<i>5</i>
% Humedad	99,849	99,882	99,905
pH	5,583	5,607	5,685
Índice de refracción	1,363	1,362	1,363
Viscosidad cinemática (cSt.s^{-1})	2,105	2,073	2,086
Concentración de licopeno (mg.L^{-1})	0,539	0,527	0,514
Rendimiento (mg.kg^{-1})	35,47	35,34	34,34
% de inhibición del DPPH	55,72	53,65	50,80
Concentración equivalente de Trolox ($\mu\text{mol.L}^{-1}$)	496,82	475,24	445,54