



Extracción del Carotenoide Licopeno a partir de los Rechazos Post Cosecha del Mercado Interno de *Citrullus Lanatus* (Sandía) para su Futura Aplicación en Alimentos

Jorge Andrés Valdiviezo Macías ⁽¹⁾,
M.B.A. Mariela Reyes López, Director de Tesis, ESPOL, ⁽²⁾
Facultad de Ingeniería en Mecánica y Ciencias de la Producción ^{(1) (2)}
Escuela Superior Politécnica del Litoral (ESPOL) ^{(1) (2)}
Campus Gustavo Galindo, Km 30,5 vía Perimetral.
Apartado 09-01-5863. Guayaquil, Ecuador
jorge_valdiviezo_96@hotmail.com ⁽¹⁾, mfreyes@espol.edu.ec ⁽²⁾

Resumen

Las pérdidas post cosecha de las sandías se deben a magulladuras o deformaciones. A pesar de todo, el producto puede aprovecharse para la extracción de licopeno, ya que la apariencia exterior no tiene ningún efecto en el contenido nutritivo. La sandía es la fruta que más cantidad de agua contiene; el color rosado de su pulpa se debe a la presencia del pigmento licopeno, sustancia con capacidad antioxidante. Por eso el objetivo de este trabajo fue extraer el licopeno proveniente de la sandía de rechazo para su aplicación en alimentos. Se realizó un estudio sobre los cultivos de sandía, manejo post cosecha, sobre la producción para conocer los puntos más cercanos para abastecernos de la fruta y también conocer el periodo estacional de la fruta en el Ecuador; sobre el pigmento a extraer. Los métodos existentes para extraer el licopeno para escoger uno acorde a las posibilidades que se ofrecen en el entorno, tomando en cuenta un proceso sin niveles de contaminantes químicos, principalmente disolventes orgánicos que afecten a las personas; para luego determinar su rendimiento y como purificar de ser necesario.

Palabras Claves: sandía, extracción, licopeno.

Abstract

The post harvest losses due to watermelons bruises or strains. Nevertheless, the product can be used for the extraction of lycopene, as the outward appearance has no effect on the nutrient content. Watermelon is the fruit that contains more water, the pink color of its pulp is due to the presence of the pigment lycopene, a substance with antioxidant capacity. Therefore the aim of this study was to extract lycopene from watermelon for rejection for food application. A study on watermelon crops, post harvest handling on the production to find the closest points to stock up on fruit and also know the seasonal period of the fruit in Ecuador on the pigment to be extracted. Existing methods for extracting lycopene to choose one according to the possibilities available in the environment, taking into account a process without levels of chemical contaminants, mainly organic solvents that affect people, and then to determine their performance and how to purify if necessary.

Keywords: watermelon, extraction, lycopene.

1. Introducción

Más del 50% de los productos hortofrutícolas se pierden en el campo o durante las operaciones de post cosecha. Según datos de la SICA en el año 2000 la producción de sandía fue de 26091 Tm [1]; las pérdidas post cosecha, que oscilan de un 15% a un 25% debido a magulladuras o deformaciones de las sandías.

El licopeno posee propiedades antioxidantes, y actúa protegiendo a las células humanas del estrés oxidativo, producido por la acción de los radicales libres. Cada vez existen más estudios epidemiológicos que sugieren que el consumo de licopeno tiene un efecto beneficioso sobre la salud humana, reduciendo notablemente la incidencia de las patologías cancerosas sobre todo, de pulmón, próstata y tracto digestivo, cardiovasculares y del envejecimiento.

2. Marco Teórico

La sandía pertenece a la familia Cucurbitácea cuyo nombre científico es *Citrullus lanatus*. El fruto es normalmente redondo y de un verde oscuro, aunque también existen variedades alargadas y de un verde más claro que pueden llegar a ser considerablemente más grandes, alcanzando 20 kg de peso; la cosecha en el mercado interno se da la mayor parte en verano, de Julio a Diciembre[1]. La tabla 1 nos presenta la composición nutricional.

Tabla 1. Composición nutricional: 100 g de parte comestible contienen.

COMPUESTO	CANTIDAD
Calorías	32
Agua	91.51 g
Carbohidratos	7.18 g
Grasas	0.43 g
Proteínas	0.62 g
Fibra	0.5 g
Cenizas	0.26 g
Calcio	8 mg
Fósforo	9 mg
Hierro	0.17 mg
Potasio	116 mg
Magnesio	11 mg
Tiamina	0.08 mg
Riboflavina	0.02 mg
Niacina	0.2 mg
Acido ascórbico	9.6 mg

2.1. Estudio sobre los cultivos de sandía, manejo postcosecha y clasificación según los daños.

Las sandías se clasifican globalmente por diploides y triploides. Las diploides, lisas o rayadas, producen

semillas bien formadas. En las triploides, la presencia de semillas es prácticamente nula y las que pueda haber no son viables. Otra clasificación es por el tipo de fruto: "Sugar Baby" (redonda, de piel verde oscuro y carne roja), "Crimson Sweet" (redonda ligeramente alargada con la piel a rayas).

Según FAO, los rendimientos de sandía en Ecuador han sido aproximadamente de 17,171 kg/ha en promedio anual entre 1997 y el 2001. Como se observa en la figura 1, hay una tendencia de aumento en los últimos años con un crecimiento promedio anual en el rendimiento del 42%. [1]



Figura 1. Productividad de Sandía en Ecuador

Las operaciones básicas de almacenamiento son: recolección, pesado y selección, clasificación, pre enfriamiento, limpieza y lavado, tratamiento térmico, empaque y Almacenamiento; es un fruto no climatérico, se recomienda almacenar a una temperatura entre 10 y 15°C y a una humedad relativa de 90%. Para evitar daños por frío en el producto, nunca se debe almacenar a una temperatura inferior a 7°C de esta manera se puede conservar al producto entre 2 y 3 semanas después de la cosecha [2]. Las fisiopatías de la sandía son desórdenes y alteraciones no deseadas en los órganos o tejidos de las plantas de sandía causadas por el clima, la nutrición, problemas fisiológicos, estrés y se clasifican en: asfixia radicular, rajado del fruto, planchado de frutos, agrietado de frutos o cracking y pudrición negra del extremo apical. [3]

2.2 Pigmentos

El color es una característica de gran importancia. Cada alimento tiene un color característico y definido. Los colores se deben a diferentes compuestos orgánicos, generalmente de origen vegetal. Los Carotenoides son compuestos orgánicos liposolubles de cadenas largas, no saturados, responsables de colores brillantes como amarillo, naranja y rojo. Se pueden dividir en dos grupos: carotenos y xantofilas

(forma oxigenada de los carotenos). La estabilidad es alterado o parcialmente destruido por ácidos, estables a las bases, Sensibles a la luz, Estables a tratamientos de calor y son lipofílicos, insolubles en agua, pérdidas por lixiviación en lavado y procesamiento son mínimas. Se unen a superficies hidrofóbicas.

El licopeno es un pigmento vegetal, soluble en grasas, que aporta el color rojo característico a los tomates, sandías y en menor cantidad a otras frutas y verduras. Pertenece a la familia de los carotenoides como el β -caroteno, sustancias que no sintetiza el cuerpo humano, sino los vegetales y algunos microorganismos, debiéndolo tomar en la alimentación como micronutriente. El código alimentario asignado por la Unión Europea a esta sustancia es E-160d. Posee una estructura sencilla con una cadena alifática formada por cuarenta átomos de carbono como se puede ver en la figura 2. El licopeno es un carotenoide altamente lipofílico que se caracteriza por carecer de anillos cíclicos y poseer un gran número de dobles enlaces conjugados.

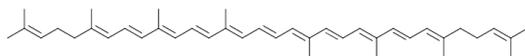


Figura 2. Estructura molecular del licopeno

Las fuentes del licopeno en nuestra dieta obtenemos licopeno a partir de alimentos muy definidos, fundamentalmente a través del consumo de tomate y derivados (salsas, ketchup, pizzas, zumos); sandía y el pimiento rojo.

3. Pruebas Experimentales

La sandía que se uso en este trabajo pertenece a la variedad Charleston y su selección fue según el criterio de clasificación que se decidió para esta tesis. Donde 1 representa la fruta de rechazo post cosecha con mínimos daños en su fisiología y 5 a la que mayor daños presente según las fisiopatías presentadas en la tabla 2.

Tabla 2. Clasificación de daños

Categoría	Defectos
1	Planchado
2	Planchado y Rajado
3	Rajado tipo 1
4	Rajado tipo 2
5	Pudrición Negra

3.1. Extracción del pigmento

Se selecciono dos el método 1 es la extracción mediante disolventes orgánicos y el método 2 es mediante la solubilización directa aprovechando las propiedades liposolubles del licopeno para extraerlo con ayuda de un lípido extractante, en la figura 3 detalla el proceso.

El método de extracción soxhlet se descartó debido a que es más efectivo con una muestra seca por lo que se intento secar la sandía, donde se observó que el producto final no es el deseado para que el etanol extraiga el licopeno. Para el método soxhlet se debe realizar una etapa previa de deshidratación de la fuente de licopeno. Un alto contenido en humedad dificulta el proceso es necesario disminuir la humedad de la fuente de licopeno de modo que esté por debajo del 75% en peso. Se debe comenzar por una reducción de la cantidad de agua a muy bajo nivel y posteriormente la extracción con solventes no polares en presencia de solventes polares. [4]

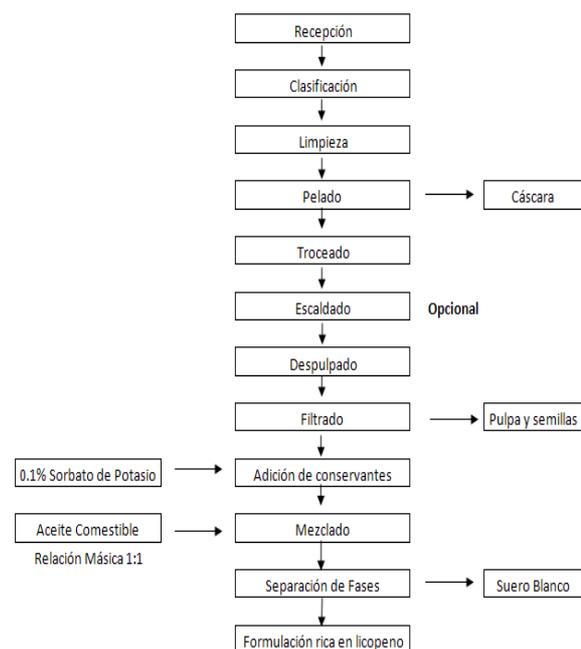


Figura 3. Diagrama del método 2 para la obtención de una formulación rica en licopeno

El pre-tratamiento de la muestra: Para la extracción mediante disolventes orgánicos (método 1), la sandía se troceara en cubos de 1 cm, separando del fruto la cáscara y semillas, también se realizara otra muestra licuada de la sandía para después mezclar con el etanol. Para la solubilización directa (método 2) se

procede al despulpado de la sandía separando la cáscara y semillas, se licua la pulpa mediante un colador se refina la muestra.

La extracción de licopeno: Para el método 1 se pesa 50 g de muestra en un vaso precipitado y añadir 100 ml de etanol a temperatura de ebullición, se agita la mezcla durante 10 a 15 min hasta que se homogenice, dejar reposar 24 h aproximadamente, formándose 2 fases, fase superior la orgánica y la inferior. Recuperar la solución de etanol y enfriar la citada solución para obtener los cristales de licopeno, filtrar la citada solución para recuperar los cristales de licopeno, la oleorresina obtenida se calienta para evaporar el etanol y se almacena en un vial de topacio.

Para el método 2: Tomar 100 ml de muestra y mezclar con 100 ml de líquido extractante (aceite comestible) durante 15 min hasta que se homogenice a una temperatura de 60 °C. Colocar la mezcla homogénea en un embudo de decantación, separar el suero blanco que se obtiene de la decantación y nos quedamos con la formulación rica en licopeno obtenida.

La aplicación del licopeno para alimentos, para el método 1 se lo puede aplicar en zumos de frutas que son uno de los productos utilizados desde hace varios años como vehículo de nutrientes y otras sustancias que han demostrado tener algún efecto beneficioso sobre el organismo. Estos zumos enriquecidos se engloban dentro del concepto de alimentos funcionales. Las formulaciones de la invención (solubilización directa) pueden ser utilizadas en la elaboración de diferentes productos (mayonesa, aliños de ensalada, salsas, margarinas, etc.) que pasarían a ser nuevas fuentes de licopeno en la alimentación, con el consiguiente valor añadido para el industrial y el beneficio dietético para el consumidor. [5]

3.2. Procedimientos para purificar el licopeno extraído

El proceso para purificar el licopeno de otros materiales que hubiesen sido extraídos conjuntamente con el sustrato de interés, haciendo uso de cromatografía de columna, las columnas más empleadas son las de tipo C18 y C30, permitiendo estas últimas la separación de distintos isómeros. En cuanto a las fases móviles, pueden incluir disolventes como acetonitrilo, metanol, 1-butanol, 2-propanol, acetato de etilo, THF, agua, diclorometano, entre otras. El proceso de solubilización directa no es necesario purificar el licopeno de otros materiales, debido a que es una formulación rica en licopeno que

se utiliza directamente para el desarrollo de productos alimenticios.

4. Resultados

El control de las especificaciones físicas se realizó con una incertidumbre de $\pm 0,1g$ para el peso ver tabla 3; las especificaciones químicas con una precisión de $\pm 0,01$ unidades de pH, los grados Brix con una escala entre 0 y 30 por lectura directa, los resultados fueron expresados como % de sólidos solubles.

Tabla 3. Características físicas de la sandía

Nº Muestra	Peso (g)
1	2392
2	2591
3	2480
Promedio	2488

Para determinar la humedad inicial de la sandía se utilizó una balanza de determinación de humedad equipada con una lámpara infrarroja, donde se lee directamente el contenido de humedad con una lectura: 0.001 g - 0.01% y la actividad de agua con una precisión de ± 0.003 aw ver tabla 4. Mientras que para las características organolépticas se realizó una evaluación subjetiva ver tabla 5.

Tabla 4. Características químicas de la sandía

Nº Muestra	Ph	º Brix	Humedad (%)	Aw
1	5,38	9,30	90,79	0,999
2	5,54	8,80	92,35	0,994
3	5,34	8,40	91,40	0,996
Promedio	5,42	8,83	91,51	0,996

Tabla 5. Características organolépticas de la sandía

Nº Muestra	Consistencia	Cáscara	Pulpa	Olor
1	Duro	Verde claro	Rojo	Normal
2	Duro	Verde claro	Rojo claro	Normal
3	Duro	Verde amarillo	Rojo	Normal

Durante el procesamiento de la sandía para la extracción del licopeno se presentaron los siguientes rendimientos en la tabla 6 se detallan.

Tabla 6. Rendimiento de la sandía en el pre tratamiento

Nº Muestra	Peso Inicial (g)	Peso Cáscara (g)	Peso Fibra y Semillas (g)	Peso Pulpa (g)	Peso Final (g)	Rendimientos (%)
1	2392,00	720,00	269,00	1372,00	2361,00	98,70
2	2591,00	641,00	266,00	1628,00	2535,00	97,84
3	2256,00	822,00	213,00	1162,00	2197,00	97,38
Promedio	2413,00	727,67	249,33	1387,33	2364,33	97,98

El método 1 se obtuvo los siguientes rendimientos que se presentan en la tabla 7, donde el peso de la muestra fue de 100 g. La relación fue 1:2 (jugo de sandía: etanol) [4].

Tabla 7. Rendimientos de oleoresina

Nº Muestra	Oleoresina (g)	Rendimiento (%)
1	0,591	0,591
2	0,466	0,466
3	0,567	0,567
Promedio	0,5413	0,5413

Para el método 2 se trabajó con una relación 1:1 (aceite: jugo de sandía), no se uso otra relación por la dificultad en separar la fibra del jugo de sandía del aceite, debido a que una relación 1:2 o 1:3, sobresaturaba el aceite con fibra y el rendimiento del método 2 disminuía ver tabla 8.

Tabla 8. Rendimiento de la Solubilización

Nº Muestra	Aceite de Girasol (g)	Suero Blanco (g)	Desperdicios (g)	Formulación Final (g)	Rendimiento (%)
1	208,40	183,20	68,30	140,10	67,23
2	209,70	183,00	58,40	151,30	72,15
3	209,00	180,10	77,00	132,00	63,16
Promedio	209,03	182,10	67,90	141,13	67,51

En la figura 4 se observa la formulación final mezclada a una temperatura de 60°C y con un tiempo de 15 min.



Figura 4. Formulación rica en licopeno, Aceite de girasol con baño maría

Para las aplicaciones del licopeno se elaboro una mayonesa casera donde se desarrollo 4 formulas donde dos formulas fueron seleccionadas: una sin condimentos (fórmula 1) y la otra con condimentos (fórmula 2) para enmascarar el sabor de la sandía de la mayonesa figura 5. Para preparar la mayonesa casera estos son los siguientes pasos para su elaboración:

1. Se bate ligeramente el huevo.
2. Agregar despacio el aceite, si se lo hace en una licuadora, se espesará de forma mucho más rápida.
3. Una vez que se espese se agrega limón, sal y mostaza.
4. Licuar todos los ingredientes hasta que presente una textura espesa y cremosa.



Figura 5. Mayonesa

Para el análisis de la **prueba sensorial de la mayonesa** se decidió trabajar con el programa minitab donde la hipótesis nula "Ho" para la primera fórmula de mayonesa fue de: "la fórmula 1 de mayonesa con licopeno no presenta una diferencia significativa con la mayonesa normal (X41); la hipótesis alternativa, lo contrario: "La aplicación de licopeno influye de manera significativa en el sabor de la mayonesa" Ver

figura 6. Es por esto que además del análisis estadístico se realiza un análisis sensorial para corroborar la información. Para la fórmula 2 la hipótesis nula “Ho” fue de: “la fórmula 2 de mayonesa con licopeno más condimentos presenta una diferencia significativa que la mayonesa con licopeno (F1) y la hipótesis alternativa, lo contrario: “La aplicación de condimentos no influye de manera significativa en el sabor de la mayonesa con licopeno”. Ver figura 7

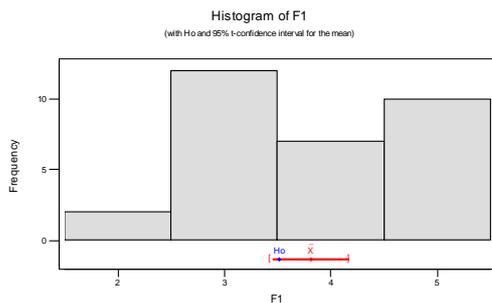


Figura 6. Histograma para la Fórmula 1

Para que la hipótesis nula (Ho) sea verdadero, se necesita el factor “P” sea mayor que el nivel de significancia ($\alpha=0.05$). Caso contrario la hipótesis alternativa (H1) se acepta y la hipótesis nula es falsa, debido a que el factor “P” fue menor que el nivel de significancia “ α ”. Para la fórmula 1 el factor P fue de 0,110 y para la fórmula 2 el factor P fue de 0,385 donde la población N fue de 31.

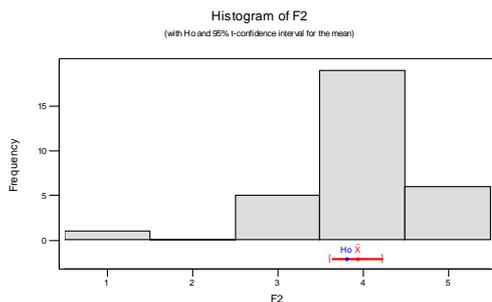


Figura 7. Histograma para la Fórmula 2

5. Análisis de Resultados

Se puede observar que la variedad Charleston tiene características químicas muy parecidas de una fruta a la otra, también se las selecciono en una categoría que tenga el mismo rango de peso con un promedio de 2488 g.

Los métodos desarrollados fueron dos; el primer método de extracción fue mediante disolventes orgánicos como el etanol se aplicó con dos pre tratamientos a la muestra, el primero licuando la sandía donde el producto final fue una oleoresina; el segundo troceando la sandía donde al agregar el etanol fue muy efectivo al principio al obtener un extracto con coloración anaranjada muy fuerte, tratándolo dos veces más con 100ml de etanol, pero al final fue poco efectivo debido a que la sandía todavía mostraba una tonalidad roja. El segundo método de solubilización directa el más viable para el consumo humano y es más óptimo debido a que no hay que evaporar el medio extractante ni purificarlo después de la extracción

De los dos métodos el de mayor rendimiento es la solubilización directa (Método 2) con 67,51% el mas practico para aplicarlo en alimentos por no poseer contaminantes al final del proceso. Mientras la extracción con disolventes orgánicos (Método 1) presenta un rendimiento muy bajo de 0,5413% no conveniente para los alimentos por la toxicidad del etanol ver tabla 9.

Tabla 9. Rendimientos entre la extracción con disolventes orgánicos y la solubilización directa

Nº Muestra	Método 1 (%)	Método 2 (%)
1	0,591	67.23
2	0,466	72.15
3	0,567	63.16
Promedio	0,5413	67.51

Los resultados obtenidos al emplear el sistema de extracción por medio de la solubilización directa, apropiado para la extracción de este tipo de sustancias lipofílicas como el licopeno permitieron determinar la relación masa de lípido extractante/masa de pulpa de sandía y determinación del mejor tiempo de agitación.

La cantidad de lípido extractante empleada es de 50 gr y las relaciones masa de lípido extractante/masa de pulpa de sandía fueron: 1:1, 1:2 y 1:3, las extracciones se llevaron a cabo durante un tiempo de 10 a 15 min, con agitación constante y a la temperatura ambiente, los residuos sólidos, así como la fase acuosa se separaron del extracto por decantación.

Para la aplicación del licopeno en alimentos se decidió elaborar una mayonesa con la formulación rica en el antioxidante que se obtuvo con el aceite de girasol, se desarrollo dos formulas la primera una mayonesa sin condimentos y la segunda fórmula de mayonesa con



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL CENTRO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA Y TECNOLÓGICA



condimentos para enmascarar el sabor y olor de sandía que todavía se percibía en la primera fórmula. Los resultados de las pruebas sensoriales indican que si existe diferencia en las formulaciones, la fórmula 1 obtuvo una aceptación del 54.9 %, mientras que la fórmula 2 obtuvo una aceptación del 80.7% demostrando que la fórmula 2 con condimentos tuvo mayor acogida con el público; los condimentos ayudaron a exaltar el sabor y enmascarar el sabor y olor a sandía.

6. Agradecimientos

A mis padres, a mi director de tesis la M.B.A. Mariela Reyes L., a las personas que colaboraron de una u otra forma para la realización de este trabajo, con mucho empeño se realizó y también a la ESPOL institución que me brindó todas las herramientas para poder lograrlo.

7. Referencias

[1] "Estudio de Mercado de sandía". Disponible en: www.sica.gov.ec/agronegocios/est_peni/DATOS/COMPONENTE4/Sanda/EMSANDIA.HTM, Noviembre, 2008.

[2] "EL CULTIVO DE LA SANDÍA". Disponible en: Acme, www.infoagro.com/frutas/frutas_tradicionales/sandia.htm, Noviembre, 2008.

[3] Maroto J, Gómez A, Pomares F. *EL CULTIVO DE LA SANDIA*, Mundi- Prensa Libros, Volumen 1, Edición 1, 2002.

[4] Cardona E, Ríos L, Restrepo G, "Extracción del Carotenoide Licopeno del Tomate Chonto", VITAE, REVISTA DE LA FACULTAD DE QUÍMICA FARMACÉUTICA, Volumen 13, Medellín, Colombia, Octubre, 2006.

[5] "PROCEDIMIENTO PARA PREPARAR FORMULACIONES ENRIQUECIDAS EN LICOPENO LIBRES DE DISOLVENTES ORGÁNICOS". Disponible en: Wipo, <http://www.wipo.int/pctdb/en/wo.jsp?IA=WO2006111591&DISPLAY=DESC>, Noviembre, 2008.

8. Conclusiones y recomendaciones.

Las pérdidas durante el procesamiento de la sandía para la extracción del licopeno no pueden evitarse, ya que durante el procesamiento y almacenamiento de

alimentos ocurren alteraciones o pérdidas por la remoción física (lavado, pelado y destroce), mezclado con el disolvente orgánico o lípido extractante y oxidación enzimática. Son mínimas en el laboratorio siendo de un 2,02% pero para minimizarlas en la industria se debe tener control en la etapa de recepción, pelado y troceado.

La deshidratación de la sandía para extraer el licopeno presentó la primera dificultad de esta tesis debido a una poca eficiencia porque se forma una capa gelatinosa en la superficie del producto resistente para los solventes. La sandía con una humedad inicial del 90.79% llegó a una humedad final del 71.50% se observó en la sandía un estado cauchoso después del secado.

Después de realizar la extracción con disolventes se puede observar que los rendimientos son muy bajos de 0,5413%, debido a que hay que evaporar el disolvente por su toxicidad mínima pero no apta para alimentos. La extracción del carotenide (licopeno) hidrofóbico del medio hidrofílico usando aceite de oliva y girasol, resultó muy conveniente cuando se dirige hacia alimentos debido a que no hay que evaporar el medio extractante, ni purificar el licopeno que se obtiene para ser consumido para los seres humanos, el rendimiento que se obtuvo fue de 67,51% siendo superior al método 1.

Para la extracción de licopeno se recomiendan condiciones especiales de temperatura, aislamiento de la luz, e inmediatez en el análisis, tanto durante las etapas del proceso como para su almacenamiento; condiciones que deben tenerse en cuenta en el escalamiento al proceso industrial, de manera que pueda asegurarse un buen rendimiento con respecto a la muestra inicial.

Si se va a realizar la decantación de la fase lipídica en la solubilización directa a temperatura ambiente se debe utilizar un preservante como el Sorbato de potasio su uso máximo 0,1%.

Para lograr una mejor extracción en la solubilización directa se debe adicionar calor al proceso por medio de un baño maría en la agitación lo que facilita la destrucción de los cromoplastos donde se encuentra el licopeno de la sandía. Como se realizó en este trabajo a una temperatura de 60°C.