

Uso de mezclas de solventes en la extracción del carotenoide licopeno del tomate chonto (*Lycopersicum esculentum*)

Jairo Vanegas Gordillo*, Daniel A. Varela Muñoz**

Resumen

En esta investigación se compara el rendimiento de la extracción del carotenoide licopeno del tomate chonto (*Lycopersicum esculentum*) usando mezclas de solventes que cubren todo el rango de polaridad. Utilizando tomate chonto sin pretratamiento alguno, se caracterizaron los extractos por HPLC y se determinó cantidad de licopeno y de betacaroteno presente en mg/L y mg/g de extracto; también se determinó la relación peso de muestra-volumen de solvente-tiempo de extracción realizando solo una etapa en la extracción. Con estos parámetros se propone un diagrama de flujo para el proceso de extracción y condiciones necesarias para evitar la oxidación del licopeno.

Palabras clave: licopeno, betacaroteno, tomate chonto, mezcla de solventes, polaridad.

The Use of Mixed Solvents for Extracting Lycopene Carotenoid from the Tomato (*Lycopersicum Esculentum*)

Abstract

This investigation compares the lycopene carotenoid yield extracted from the tomato (*Lycopersicum Esculentum*) using solvent mixtures that cover the entire

* Químico de la Universidad Nacional de Colombia. Profesor investigador de la Universidad de La Salle. jvanegas@unisalle.edu.co

** Físico de la Universidad Nacional de Colombia. Profesor investigador de la Universidad de La Salle. dvarela@unisalle.edu.co

range of polarity. Using tomatoes without any form of pretreatment, extractions were characterized through HPLC to determine the quantity of lycopene and beta-carotene present in mg/L and mg/g of extract. For each extraction, the relationship between sample weight, solvent volume, and extraction time were also defined. These parameters were used to design a flow chart for the extraction processes and the necessary conditions for avoiding oxidation of the lycopene.

Keywords: lycopene, beta-carotene, tomato, mixed solvents, polarity.

Introducción

El licopeno es un carotenoide presente en los alimentos comunes de la dieta regular de la población de muchos países, en particular tomate, sandía, pomelo rosa, guayaba y papaya rojas (Rodríguez-Amaya, 1999; Theeranat, 2016). Al menos el 85 % de licopeno proviene del consumo de tomates y sus productos derivados (Bramley, 2000). El contenido de licopeno en los tomates está entre 55 mg/kg y 18 mg/kg (Alda *et al.*, 2009), lo cual se asocia a la variedad y procedencia (Khan, Afaq y Mukhtar, 2008), y su ingesta ha tomado importancia en la medicina dado que se reporta en la literatura especializada que el licopeno es un antioxidante natural que se ha utilizado contra el cáncer de próstata (Fraser, Lee y Binns, 2005; Rao y Agarwal, 1999). Se usa como suplemento alimenticio (Dasgupta y Klein, 2014), como nutraceuticos, suplementos dietéticos y alimentos funcionales como alternativas para el alivio del dolor neuropático (Da Silva, 2015). Otra línea de investigación está en los potenciales beneficios del licopeno en la prevención y el tratamiento de la degeneración macular relacionada con la edad (Holzapfel *et al.*, 2013) y la vitreorretinopatía proliferativa (Chi-Ming y Chi-Feng, 2014).

Desde el punto de vista químico, el licopeno es carotenoide de estructura sencilla con una cadena alifática formada por cuarenta átomos de carbono presentes en forma de agregados microcristalinos que dan el característico color rojo del tomate, de manera que se ha usado como colorante en la industria alimentaria, aunque está limitado por su baja estabilidad proveniente de la cadena hidrocarbonada que presenta baja isomerización a altas temperaturas y exposición a luz intensa cuando se intenta obtener por pulverización (Goula y Adamopoulos, 2005).

Lo anterior dificulta la extracción del licopeno de fuentes naturales, dado que los rendimientos de extracción están limitados al manejo de la temperatura y un control sobre la radiación en forma de luz y humedad, variables que se han empleado para simular la extracción convencional (Lavelli y Torresani, 2011) con solventes por etapas y el uso de fluidos supercríticos (Rozzi, Singh, Vierling y Watkins, 2002).

Además, se han utilizado partes del tomate (por ejemplo la piel) para aumentar la extracción del licopeno (Topal, Sasaki, Goto y Hayakawa, 2006). También se han ensayado otras técnicas de extracción de licopeno por ultrasonido y por microondas sobre pastas de tomate (Lianfu y Zelong, 2007). Dentro de los métodos convencionales existe la posibilidad de realizar mezclas de solventes, alcohol, cetona y hexano y sobre los extractos se han aprovechado enzimas propias del mismo tomate, aunque los rendimientos de extracción no parecen tener una mejora sustancial (Phuong, 2016). Se propone hacer una mezcla de solventes que cubran todo el rango de polaridad para la extracción del licopeno y servirse de todas las partes del tomate, es decir, la piel y el contenido interno para disminuir costos.

Materiales y métodos

Se usó una mezcla de solventes constituida por hexano-acetona-etanol y otra de bencina, etanol y diclorometano en proporciones que permitieran una sinergia entre ellos y cubrieran todo el rango de polaridad para facilitar y aumentar los rendimientos de extracción del licopeno de la matriz del tomate chonto. Por lo cual se seleccionaron las siguientes mezclas de solventes: hexano-etanol-acetona (HEAC) en proporciones 45 %, 35 % y 30 % respectivamente y bencina-etanol-diclorometano (BEDC) en proporciones 45 %, 35 % y 20 % respectivamente.

Para el pretratamiento del tomate se usaron, en este estudio, los provenientes de Bogotá comprados en una tienda de barrio, que tuvieran un grado de maduración medio y que fueran cultivados en campo abierto, de manera que no tuviera que aumentarse el costo sobre el proceso.

El tratamiento de la muestra fue el más simple posible, de modo que los tomates fueron lavados con agua para retirar toda impureza presente y cortados en trozos entre 0,4 cm y 0,5 cm de espesor. Se determinó la humedad del tomate entero.

Se hizo extracción con mezcla de solventes, para lo cual se estableció el tiempo de extracción a partir de 100 gramos de tomate entero y se agregaron a un Schott ámbar. Se adicionaron 500 ml de las mezclas a utilizar, se taparon los frascos y se cubrieron con papel aluminio y bolsa plástica oscura para proteger de la luz. Se agitaron durante 2, 4, 8 y 12 horas en un agitador mecánico a temperatura ambiente, luego se filtraron al vacío y los extractos obtenidos se concentraron en un rotavapor Büchi R25 a una temperatura de 50 °C y una presión de 180 mm de Hg hasta obtener la oleorresina. Se pesaron y se determinaron los porcentajes de extracción, también se estableció el tiempo óptimo de extracción.

Se determinó la relación peso de tomate/volumen de mezcla de solventes, para ello se pesaron 30, 50 y 100 gramos de piel de tomate entero y se adicionaron las mezclas de solventes en relación 1:5, 1:10, 1:16 en frascos de 500 ml. Se taparon los frascos y se cubrieron con papel aluminio y bolsa plástica oscura para proteger de la luz y se agitaron durante ocho horas en un agitador mecánico. Luego se filtraron al vacío, el extracto se concentró en un rotavapor Büchi R25 a una temperatura de 50 °C y una presión de 180 mm de Hg hasta obtener la oleorresina, la cual se pesó y se determinaron los porcentajes de extracción y de la relación óptima entre peso de tomate /volumen de mezcla de solvente.

Para la determinación de la cantidad de licopeno y betacaroteno en los extractos se pesaron 150 gramos de tomate entero y se agregaron las mezclas de solvente a utilizar en una relación peso/volumen de 1:5. Se taparon los frascos y se cubrieron con papel aluminio y bolsa plástica oscura para proteger de la luz. Se agitaron durante ocho horas en un agitador mecánico y luego se filtraron al vacío. El extracto se concentró en un rotavapor Büchi R25 a una temperatura de 50 °C y una presión de 180 mm de Hg hasta obtener la oleorresina, la cual se pesó y se establecieron los porcentajes de extracción. La oleorresina se disolvió en hexano, se almacenó en frasco oscuro y se refrigeró para su caracterización por HPLC implementando la técnica y diseño experimental correspondiente con base en la metodología reportada en *Food Chemistry 95 (2006) 328-336, Analytical, Nutritional and Clinical Methods. Application of a UV-VIS Detection-HPLC Method for a Rapid Determination of Lycopene and β -carotene in Vegetables.*

Los equipos para la caracterización de licopeno y betacaroteno fueron: espectrómetro UV-Vis Lambda 35 PerkinElmer y cromatógrafo líquido UFLC Prominence marca Shimadzu con detector de arreglo de diodos PDA.

Las condiciones cromatográficas requieren el uso de una columna C18 fase reversa Zorbax SB-C18 4,6 x 75 mm, 3,5 μm , fase móvil metanol: acetonitrilo con modificador de fase trietilamina (TEA). Flujo de 1 mL/min. Detección en arreglo de diodos en 473 nm para licopeno y 450 nm para betacaroteno, y con disolvente: solución de THF: acetonitrilo: metanol.

Los patrones de comparación fueron certificados marca Sigma-Aldrich de Licopeno de tomate número de lote SLBC2180V y para betacaroteno sintético marca Sigma-Aldrich lote 120M5165UV.

Se analizó el pretratamiento de la muestra, la cual es centrifugada a 2500 rpm y 5 °C durante quince minutos y una alícuota de la fase orgánica del sobrenadante. Se intercambié al disolvente cromatográfico bajo una corriente suave de nitrógeno, posteriormente se pasó por un filtro de nailon 0,45 μm . La muestra se inyectó al cromatógrafo y los analitos se interpolaron en la curva correspondiente determinando la cantidad de licopeno y betacaroteno en mg/L y en mg/g de extracto tomando las densidades de cada extracto y realizando la conversión.

Resultados y discusión

Determinación de tiempo de extracción

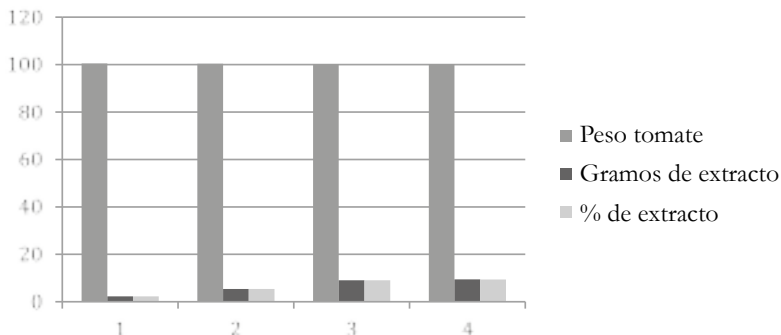
El tiempo óptimo de extracción es de ocho horas a temperatura ambiente para el solvente 1 (bencina-etanol-diclorometano) (véanse tabla 1 y figura 1).

Tabla 1. Determinación tiempo de extracción solvente 1

Tiempo	2 horas	4 horas	8 horas	12 horas
Peso tomate	100,45	100,38	100,26	100,28
Extracto	2,28	5,42	9,08	9,44
% extracto	2,27	5,40	9,06	9,41

Fuente: elaboración propia.

Figura 1. Determinación tiempo de extracción solvente 1



Fuente: elaboración propia.

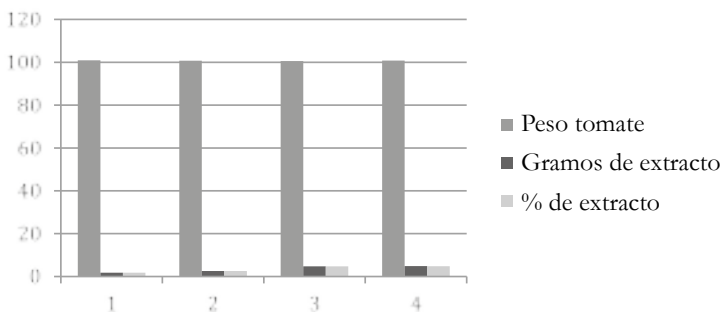
Para el segundo solvente utilizado (hexano-etanol-acetona) el tiempo óptimo de extracción también fue de ocho horas, pero presentó una disminución en los porcentajes de extracción (véase tabla 2). Debido a que la mezcla de solventes se saturó más rápidamente, los solventes no polares como son el hexano y la acetona tienen menor afinidad por moléculas de agua, impidiendo la extracción de sustancias de baja polaridad como son los carotenoides. La figura 2 muestra el porcentaje de extracto en función del tiempo.

Tabla 2. Determinación tiempo de extracción solvente 2

Tiempo	2 horas	4 horas	8 horas	12 horas
Peso tomate	100,94	100,76	100,58	100,79
Extracto	1,76	2,58	4,76	4,86
% extracto	1,74	2,56	4,73	4,82

Fuente: elaboración propia.

Figura 2. Determinación tiempo de extracción solvente 2



Fuente: elaboración propia.

Determinación de la relación peso de tomate/volumen de mezcla de solventes

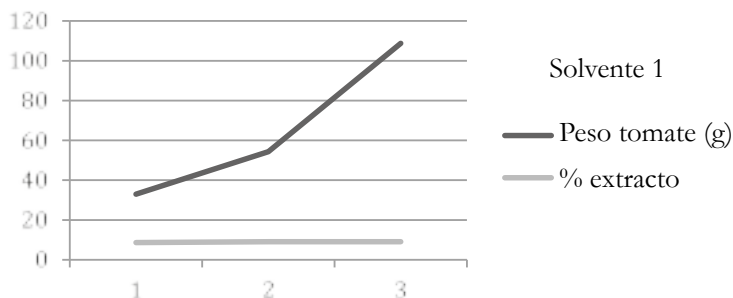
Las relaciones peso de tomate/volumen de mezcla cuando se usa el solvente 1 (bencina-etanol-diclorometano) hacen que los porcentajes de extracto se mantengan constantes (véase tabla 3), lo que determina que el rendimiento de extracción es independiente del peso utilizado y que la relación óptima para la extracción de licopeno usando esta mezcla de solventes es de 1:5, como muestra la figura 3. Y así disminuir costos y capacidad de equipos.

Tabla 3. Relación peso de tomate/volumen solvente 1

Peso tomate (g)	% extracto	Relación p/v	Vol. mezcla
32,94	8,65	01:16	500 ml
54,32	9,05	01:10	500 ml
108,73	9,04	01:05	500 ml

Fuente: elaboración propia.

Figura 3 . Relación peso de tomate/volumen solvente 1



Fuente: elaboración propia.

La relación peso de tomate/volumen cuando se utiliza el solvente 2 (hexano-etanol-acetona) muestra un aumento de los porcentajes de extracción con el incremento de esta relación (véase tabla 4).

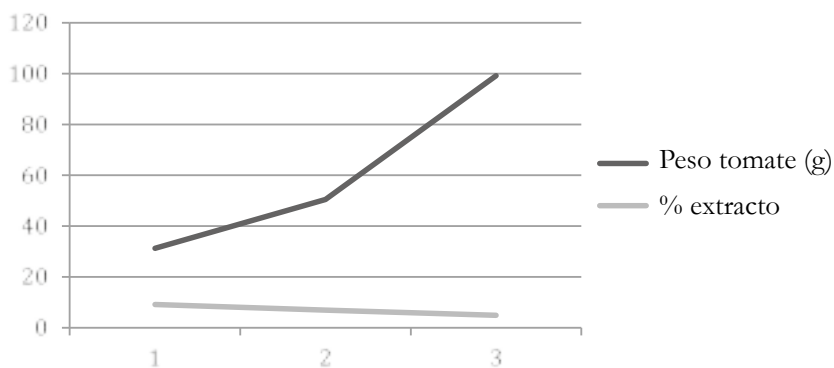
Comparando con solvente 1 los porcentajes de extracto son menores para la relación 1:5 y 1:10, logrando igualar el porcentaje de extracto usando una relación 1:16 como muestra la figura 4, lo que indica que se debe utilizar mayor cantidad de solvente, esto es, mayores costos en el proceso.

Tabla 4. Relación peso de tomate/volumen solvente 2

Peso tomate	% extracto	Relación p/v	Vol. mezcla
31,29	9,17	01:16	500 ml
50,46	6,96	01:10	500 ml
99,14	4,9	01:05	500 ml

Fuente: elaboración propia.

Figura 4. Relación peso de tomate/volumen solvente 2



Fuente: elaboración propia.

Determinación de la cantidad de licopeno y betacaroteno en los extractos

La tabla 5 muestra los resultados reportados por la caracterización hecha por la técnica cromatográfica. Se observa que los extractos realizados con el solvente 2 (hexano-etanol-acetona) presentan las mayores concentraciones, aunque también menor cantidad de extracto.

Tabla 5. Concentración de licopeno y caroteno

Solvente	gr tomate	gr extracto	Licopeno mg/L	Caroteno mg/L
HEAC	150,56	7,29	36,7	11,5
HEAC	150,23	7,44	30,5	8
BEDC	150,56	13,56	25,4	5,6
BEDC	150,78	12,58	13,9	3,8

Fuente: elaboración propia.

Una vez establecidas las cantidades de licopeno por gramo de extracto determinando las respectivas densidades de los extractos y realizando la conversión se obtienen los datos reportados en la tabla 6.

Tabla 6. mg de licopeno / gramo de extracto

Solvente	mg/1 licopeno	Densidad g/ ml	mg/g extracto	rel: soluto/ solvente
HEAC	36,7	0,87	0,042	1:5
HEAC	30,5	0,94	0,032	01:05
BEDC	25,4	0,72	0,035	01:05
BEDC	13,9	0,66	0,021	01:05

Fuente: elaboración propia.

Lo anterior indica que los valores de los tres primeros extractos son similares si se utilizan estos datos para establecer la cantidad de mg de licopeno por kg de tomate en base húmeda y en base seca se obtienen los datos reportados en la tabla 7.

Tabla 7. mg de licopeno / kg de tomate y mg de licopeno / kg de tomate seco

Solvente	gr tomate	gr extracto	mg/g extracto	mg/kg tomate	mg/kg tomate seco
HEAC	150,56	7,29	0,042	2,03	38,52
HEAC	150,23	7,44	0,032	1,58	30,01
BEDC	150,56	13,56	0,035	3,15	59,7
BEDC	150,78	12,58	0,021	1,75	33,18

Fuente: elaboración propia.

Comparando los datos obtenidos con los reportados en trabajos de la Universidad de Antioquia (extracciones en seis etapas) y Estados Unidos (extracciones con una relación peso/volumen de 1:30 que corresponde a seis extracciones de las realizadas), si se extrapolan los resultados se obtendrían los datos reportados en la tabla 8 que se asemejarían a los resultados que se registran en dichos trabajos.

Tabla 8. Extrapolación de resultados mg licopeno / kg tomate y mg licopeno / kg tomate seco

Solvente	gr tomate	gr extracto	rel: soluto/ solvente	mg/g extracto	mg /kg tomate	mg/kg tomate seco
HEAC	150,56	7,29	01:30	0,253	12,26	232,10
HEAC	150,23	7,44	01:30	0,195	9,64	182,69
BEDC	150,56	13,56	01:30	0,212	19,06	361,05
BEDC	150,78	12,58	01:30	0,126	10,54	199,68

Fuente: elaboración propia.

La tabla 8 muestra que la producción de mg de licopeno por kg de tomate está en el rango de la producción de licopeno reportado en la literatura, que es aproximadamente de 134 mg/kg de tomate y si se compara con lo reportado en la producción de la salsa hace que en el proceso se produzca una gran cantidad de piel, pulpa y semilla como residuo industrial, equivalente al 40 % de la materia prima. Las concentraciones del licopeno reportadas varían entre 30 mg / kg y 200 mg / kg en fruta fresca (Vasapollo, Longo, Rescio y Ciurlia, 2004).

Conclusiones y recomendaciones

De acuerdo con los resultados, la relación de las mezclas usadas son las adecuadas para la producción de licopeno. Desde la perspectiva económica el proceso debe ser lo más simple, y así se logró en buena medida.

Los datos de la tabla 8 revelan que si se realizan extracciones en etapas sobre una misma muestra se obtendrán cantidades de licopeno que se acercan a los 400 mg por kg de tomate seco, y de esta manera se puede evaluar económicamente el proceso, ya que con una sola extracción las cantidades extraídas son muy bajas y el proceso no es rentable. Por lo tanto, se recomienda efectuar una extracción en etapas con las mismas mezclas para corroborar los datos extrapolados y así poder evaluar la viabilidad del proceso.

Referencias

- Alda, L., Gogoşa, I., Bordean, D., Gergen, I., Alda, S., Moldovan, C. & Niţa, L. (2009). Lycopene content of tomatoes and tomato products. *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies*, 15(4), 540-542.
- Bramley, P. (2000). Is lycopene beneficial to human health? *Phytochemistry*, 54, 233-236.
- Chi-Ming, C. & Chi-Feng, H. (2014). Lycopene and retinal pigment epithelial cells. En: V. Preedy (ed.). *Handbook of Nutrition Diet and the Eye* (pp. 587-598). Arizona: Academic Press.
- Da Silva, G. & Meira, N. M. (2015). *Nutraceuticals Dietary Supplements and Functional Foods as Alternatives for the Relief of Neuropathic Pain in Bioactive Nutraceuticals and Dietary Supplements in Neurological and Brain Disease*. Arizona: Academic Press.
- Dasgupta, A. & Klein, K. (2014). *Antioxidants in Food Vitamins and Supplements*. Amsterdam: Elsevier.
- Fraser, M., Lee, A. & Binns, C. (2005). Lycopene and prostate cancer: emerging evidence. *Journal Expert Review of Anticancer Therapy*, 5, 847-854.
- Goula A. & Adamopoulos, G. (2005). Stability of lycopene during spray drying of tomato pulp. *Food Science and Technology*, 38(5), 479-487.
- Holzapfel, N., Holzapfel, B., Champ, S., Feldthusen, J., Clements, J. & Hutmacher, D. (2013). The potential role of lycopene for the prevention and therapy of prostate cancer. From molecular mechanisms to clinical evidence. *Journal Molecular Science*, 14(7), 14620-14646.
- Khan, N., Afaq, F. & Mukhtar, H. (2008). Cancer chemoprevention through dietary antioxidants: progress and promise. *Antioxid Redox Signal*, 10(3), 475-510.
- Lavelli, V. & Torresani, M. (2011). Modelling the stability of lycopene-rich by-products of tomato processing. *Food Chemistry*, 125(2), 529-535.
- Lianfu, Z. & Zelong, L. (2007). Optimization and comparison of ultrasound/microwave assisted extraction (UMAE) and ultrasonic assisted extraction (UAE) of lycopene from tomatoes. *Ultrasonics Sonochemistry*, 15(5), 731-737.
- Phuong, N. (2016). Improvement of lycopene extraction from tomatoes by enzyme assisted treatment. *Vietnam Journal of Science and Technology*, 54(4A), 275-282.
- Rao, A. & Agarwal, S. (1999). Role of lycopene as antioxidant carotenoid in the prevention of chronic diseases: a review. *Nutrition Research*, 19, 305-323.
- Rodríguez-Amaya, D. B. (1999). Latin American food sources of carotenoids. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 49(3 Suppl. 1), 74S-84S.

- Rozzi, N., Singh, R., Vierling, R. & Watkins, A. (2002). Supercritical fluid extraction of lycopene from tomato processing byproducts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(9), 2638-2643.
- Theeranat, S. (2016). Analyzing lycopene content in fruits. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*, 11, 46-48.
- Topal, U., Sasaki, M., Goto, M. & Hayakawa, K. (2006). Extraction of lycopene from tomato skin with supercritical carbon dioxide: effect of operating conditions and solubility analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54 (15), 5604-5610.
- Vasapollo, G., Longo, L., Rescio, L. & Ciurlia, L. (2004). Innovative supercritical CO extraction of lycopene from tomato in the presence of vegetable oil as co-solvent. *Journal of Supercritical Fluids*, 29, 87-96.