



UNIVERSIDAD DE CARABOBO  
FACULTAD DE INGENIERÍA  
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA



**EVALUACIÓN DE LA CANTIDAD DE LICOPENO PRESENTE EN LA NARANJA  
ROJA CARACARA UTILIZANDO VARIOS MÉTODOS DE EXTRACCIÓN**

**Tutor:**  
Prof. Daniel Arias

**Autores:**  
BATISTA, Mariana.  
VILLARROEL, Eliney.

Valencia, junio de 2012.



UNIVERSIDAD DE CARABOBO  
FACULTAD DE INGENIERÍA  
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA  
DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA QUÍMICA



**EVALUACION DE LA CANTIDAD DE LICOPENO PRESENTE EN LA NARANJA  
ROJA CARACARA UTILIZANDO VARIOS MÉTODOS DE EXTRACCIÓN**

**Trabajo Especial de Grado presentado para optar  
al Título de Ingeniero Químico**

**Tutor:**

Prof. Daniel Arias

Dra. Germania Marquina-Chidsey

**Autores:**

BATISTA, Mariana.

C.I.: 19.528.861

VILLARROEL, Eliney.

C.I.: 18.553.357

Valencia, junio de 2012.



## DEDICATORIA

A Dios porque sin su bendición no habría logrado alcanzar esta meta, gracias por la fortaleza y porque siempre escuchaste mis peticiones.

A mis padres, Antonio Batista y Haydeé Linares, por ser mi ejemplo a seguir, mi apoyo absoluto, mis ganas de ser mejor cada día, más que la vida les debo todo lo que soy. Los amo profundamente.

A mis abuelas, mis tesoros, Soledad por ser mi confidente, ser todo y más en mi vida, no hay palabras para explicar lo que significas para mí y lo agradecida que estoy por todo lo que me has dado; y Haydeé por brindarme siempre todo su amor, ternura, sus consejos, tu presencia alegra mi vida, eres la luz de mi mundo.

A Marilyn Morales, por ser una parte importante de mi familia, por siempre tener las palabras adecuadas en el momento indicado, por ser incondicional para mí.

A Nelson Marin, mi cómplice inseparable, por escucharme en mis momentos de angustias y regalarme sonrisas, por toda tu paciencia que son evidencias de todo tu amor, por estar siempre para mí. Te amo.

A mi hada madrina, Migledy Guevara por ser más que una amiga, por los mejores consejos y por siempre escucharme.

A Indira Acosta, porque es más que una hermana para mí, siempre acompañándome a pesar de la distancia.

A mis chocolatas, Grecia y Oriana, por no dejarme caer, por convertir un momento común en uno inolvidable, son el significado tangible de la amistad niñas.

A mi compañera de tesis Eliney Villarroel por acompañarme en la realización de este trabajo.

A toda mi familia porque a pesar de la distancia, siempre me han apoyado y a todas aquellas personas que de alguna manera contribuyeron al logro de esta meta.

*Mariana Batista*



## DEDICATORIA

Quisiera dedicarle este trabajo de grado a toda mi familia que siempre me ha apoyado a pesar de todos mis defectos siempre a estado ahí conmigo; a mis padres y hermanos les dedico todo el arduo trabajo que ha significado la culminación de la carrera.

A mi madre Miriam especialmente, gracias por todo el apoyo y la dedicación que siempre has otorgado sin esperar nada a cambio, eres una parte muy importante en mi vida y quisiera que este triunfo también sea tuyo.

A mi hermano Héctor y mi cuñada Wilmary por ser mi modelo a seguir y por calmarme mi ansiedad en los momentos que no sabia si seguir o no.

A mi padre Héctor por todos los viajes de madrugada al terminal o a Valencia que significaron una gran ayuda en la culminación de mis estudios.

A mi hermana Elizabeth por darme las cositas mas bellas en mi vida y a mis bellos sobrinos Mairim y Diego por enseñarme a tener mucha mas paciencia. A Káiser por su compañía a cualquier hora, siempre estuviste ahí.

A mis futuras colegas Natalie Delgado y Giovanna Andía por acompañarme en este largo y arduo camino, les agradezco haber compartido durante tantos años todas sus vivencias, las quiero mucho muchachas.

A todos mis futuros colegas de la pared, Nelsys, Mariano, Tomas, Néstor, Gabriel, Gustavo, Esteban y a todos los que compartieron durante tanto tiempo y ayudaron a pasar los malos ratos de la carrera.

A mí compañera de tesis Mariana Batista, por tener tanta paciencia conmigo y ayudarme a culminar esta etapa de mi vida.

Y finalmente a mi niño Luis Corrales, no tengo palabras para describir lo agradecida que estoy por tu paciencia.

*Eliney Villarroel*



## AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a la Universidad de Carabobo por permitirnos desarrollar nuestros estudios, formarnos como futuras profesionales y como personas de bien.

A los todos los profesores que en algún momento nos educaron como nuevas ingenieras de la republica.

Agradecemos a nuestros tutores, la profesora Germania Marquina por extendernos su ayuda durante toda la realización de esta tesis, al profesor Daniel Arias por la colaboración en la finalización de este Trabajo de Grado.

Al señor Pedro Tomas le agradecemos su colaboración y dedicación al mantener y cosechar la Naranja Caracara.

Al laboratorio BIOMOLP, a su directora Emilia Barrios y Wilmer Pidena por permitirnos utilizar sus instalaciones para realizar la liofilización, agradecemos su especial ayuda.

A la profesora Peggy Londoño, del Laboratorio de Alimentos de la Facultad de Ingeniería, por ayudarnos en la extracción Soxhlet, gracias por la ayuda prestada.

Agradecemos a nuestra futuro colega Bradfor por el tiempo que dedico en sus explicaciones y las complicaciones con el equipo de extracción supercrítico.

Al Centro de Investigaciones Químicas por prestarnos sus instalaciones para desarrollar nuestro trabajo de grado, especialmente a la profesora Mariandry Rodríguez al ayudarnos en la utilización del UV-Visible.

A todas las personas que colaboraron de una manera u otra en la realización de este Trabajo de Grado les agradecemos por su paciencia y toda la ayuda prestada.

*Mariana Batista y Eliney Villarroel*



## RESUMEN

La extracción del licopeno en la naranja Cara cara se realizó mediante el uso de dos métodos de extracción: Soxhlet y por fluido supercrítico. Para el primero se utilizaron tres solventes, etanol, fracción de hexano y éter de petróleo, con tres niveles en la cantidad de dichos solventes, 100, 200 y 300 mL, entre estos el mayor rendimiento obtenido ( $27,506 \pm 0,002\%$ ) fue utilizando 300mL de etanol; en el segundo método de extracción se utilizó el dióxido de carbono como solvente extractor y se variaron tres parámetros diferentes, temperatura, presión y cantidad de co-solvente agregado en la muestra, los niveles fueron 40 y 60°C, 250 y 400 bar y finalmente 1 y 2 mL respectivamente, se observó que el mejor rendimiento ( $0,288 \pm 0,002\%$ ) fue conseguido con la presión de operación de 400 bar. Para la caracterización de la muestra se utilizó un espectrofotómetro de UV-visible y así obtener el valor de la absorbancia, dicho valor se utilizó para obtener la concentración de licopeno mediante el uso de la curva de calibración.

Palabras clave: *extracción, licopeno, naranja Cara cara, parámetros, solvente.*

## ABSTRACT

The extraction of lycopene in the cara cara orange was made by the use of two extraction methods these being, the Soxhlet extraction method and the supercritical fluid extraction method. For the first one it was use three different solvents, ethanol, hexanes and petroleum ether, with three stages in the amount of these solvents, 100, 200 and 300 mL; in the second method of extraction it was use the carbon dioxide as extraction solvent and they were three different parameters varied, temperature, pressure and amount of co solvent added to the sample, the levels were 40 and 60°C, 250 and 400 bar and finally 1 and 2mL respectively. For the sample characterization there were use an uv- visible spectrophotometer and obtain the absorbance value, these value was then use for obtain the lycopene concentration through the use of the calibration curve.

Key words: *extraction, lycopene, Cara cara orange, parameter, solvent.*

**ÍNDICE GENERAL**

	PÁG
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	3
1.1. Descripción del Problema	3
1.2. Formulación del Problema	4
1.2.1. Situación actual	4
1.2.2. Situación deseada	4
1.3. Objetivos de la Investigación	5
1.3.1. Objetivo General	5
1.3.2. Objetivos Específicos	5
1.4. Justificación	5
1.5. Limitaciones	6
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO	7
2.1. Antecedentes	7
2.2. Bases Teóricas	9
2.2.1. Naranja Cara cara	9
2.2.2. Licopeno	11
2.2.3. Estructura química del licopeno	12
2.2.4. Licopeno y sus beneficios	12
2.2.5. Fuentes del licopeno	13
2.2.6. Métodos comunes de extracción de licopeno	13
2.2.6.1. Extracción con fluidos supercrítico	13
2.2.6.2. Método de Soxhlet	17
CAPÍTULO III. MARCO METODOLÓGICO	20
3.1. Lugar de la investigación	20
3.2. Materiales, Equipos y Reactivos	20
3.3. Diseño de la investigación	21
3.4. Desarrollo de la investigación	22
3.4.1. Determinación el rendimiento en las extracciones de licopeno en la naranja Cara cara	22
3.4.1.1. Liofilización de la materia prima.	22
3.4.1.2. Extracción del licopeno de la Naranja Cara cara	24
3.4.1.2.1. Extracción de licopeno mediante el método de extracción continuo solido-líquido (SOXHLET)	24
3.4.1.2.2. Extracción de licopeno mediante la extracción con fluido supercrítico	27
3.4.1.3. Análisis de resultados obtenidos	33
3.4.2. Determinación de la variable mas influyente en los distintos métodos de extracción de licopeno en la naranja Cara cara mediante un diseño experimental	33
3.4.2.1. Análisis de la variable mas influyente en el método de extracción continuo sólido líquido	33
3.4.2.2. Análisis de la variable mas influyente en el método de extracción por fluido supercrítico	33
3.4.3. Determinación las mejores condiciones de operación para la extracción de licopeno en la naranja Cara cara	33
3.4.4. Cuantificación el licopeno en los extractos de la naranja Cara cara	34
	vi



3.4.4.1.	Caracterización del licopeno obtenido en el método de extracción mediante el método de UV-Visible	34
3.4.5.	Evaluación de costos asociados a la determinación de licopeno con los métodos de extracción empleados	36
3.4.5.1.	Costos relacionados con el método de extracción continua sólido-líquido (SOXHLET)	36
3.4.5.2.	Costos relacionados con el método de extracción de fluido supercrítico	36
3.4.6.	Especificación del método más adecuado para realizar la extracción	37
<b>CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES</b>		<b>38</b>
4.1.	Determinación el rendimientos en las extracciones de licopeno en la naranja Cara cara	38
4.1.1.	Liofilización de la materia prima	38
4.1.2.	Análisis de resultados obtenidos	38
4.1.2.1.	Análisis de los rendimientos obtenidos con el método de extracción continuo sólido-líquido (SOXHLET)	38
4.1.2.2.	Análisis de rendimientos obtenidos con el método de extracción con fluido supercrítico	42
4.2.	Determinación la variable más influyente en los distintos métodos de extracción de licopeno en la naranja Cara cara mediante un diseño experimental	45
4.2.1.	Variable más influyente en el método de extracción continuo sólido-líquido (SOXHLET)	45
4.2.2.	Variable más influyente en el método de extracción con fluido supercrítico	50
4.3.	Determinación las mejores condiciones de operación para la extracción de licopeno en la naranja Cara cara	57
4.3.1.	Determinación las mejores condiciones de operación para la extracción de licopeno en la naranja Cara cara	57
4.3.2.	Determinación las mejores condiciones de operación para la extracción de licopeno en la naranja Cara cara por el método de extracción de fluidos supercrítico	57
4.4.	Cuantificación el licopeno en los extractos de la naranja Cara cara	61
4.4.1.	Caracterización del licopeno obtenido en el método de extracción mediante el método de UV-Visible	61
4.4.2.	Determinación de la cantidad de licopeno extraído	62
4.5.	Evaluación de costos asociados a la determinación de licopeno con los métodos de extracción empleados	64
4.5.1.	Costos relacionados al método de extracción de fluido supercrítico	64
4.5.2.	Costos relacionados con el método de extracción continuo sólido-líquido (SOXHLET)	65
4.6.	Selección del método más adecuado para realizar la extracción de licopeno de la naranja Cara cara	66
<b>CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES</b>		<b>68</b>
<b>REFERENCIAS</b>		<b>71</b>
<b>APÉNDICES</b>		<b>75</b>
A.	Cálculos Típicos	76

**ÍNDICE DE TABLAS**

TABLA		PÁG.
2.1.	Productos extraídos con disolventes supercrítico	16
4.1.	Resultado de la extracción por Soxhlet	40
4.2.	Resultado de la extracción por Soxhlet (Replicas)	41
4.3.	Resultado de la extracción por fluidos supercríticos	43
4.4.	Resultado de la extracción por fluidos supercríticos (Replicas)	44
4.5.	Variables seleccionadas para el diseño experimental $3^2$ en la extracción por Soxhlet	46
4.6.	Resultados del análisis de varianza para el rendimiento de la extracción por el método de Soxhlet	48
4.7.	Niveles de las variables seleccionadas para el diseño experimental $2^3$ en la extracción con fluidos supercríticos	51
4.8.	Resultados del análisis de varianza para el rendimiento de la extracción por el método de fluidos supercríticos	54
4.9.	Desarrollo experimental para la elaboración de la superficie de respuesta	59
4.10.	Factores óptimos para maximizar el rendimiento en el método de fluidos supercríticos	60
4.11.	Valores de absorbancia y concentración para el método de extracción Soxhlet	63
4.12.	Valores de absorbancia y concentración de las replicas para el método de extracción Soxhlet	63
4.13.	Valores de absorbancia y concentración para el método de extracción por fluidos supercríticos	64
4.14.	Costos asociados a las extracciones por Soxhlet y fluidos supercríticos	65
4.15.	Comparación entre ambos métodos de extracción	66

**ÍNDICE DE FIGURAS**

FIGURA		PÁG.
2.1.	Fruto del naranjo Cara cara	11
2.2.	Estructura química del licopeno	12
2.3.	Esquema del proceso de extracción con fluidos supercríticos (FSC)	14
2.4.	Extractor Soxhlet	17
3.1.	Equipo liofilizador	23
3.2.	Muestra liofilizada	24
3.3.	Montaje del equipo de extracción continuo solido-líquido (SOXHLET).	26
3.4.	Equipo de extracción con fluido supercrítico y vaso extractor del FSC	30
3.5.	Diagrama de flujo del proceso de extracción con fluido supercrítico.	31
3.6.	Espectrofotómetro UV-Visible	34
3.7.	Parte del equipo de espectrofotometría	35
3.8.	Recta de calibrado del licopeno.	36
4.1.	Muestra liofilizada cuando se finaliza la extracción por el método Soxhlet, utilizando éter de petróleo, hexanos y etanol, de izquierda a derecha	39
4.2.	Distribución normal para el método de extracción Soxhlet	46
4.3.	Independencia de los residuos para el método de extracción Soxhlet	47
4.4.	Prueba de varianza constante para el método de extracción Soxhlet	47
4.5.	Diagrama de pareto para el rendimiento en las extracciones por Soxhlet	49
4.6.	Tendencia de los efectos principales para el Rendimiento en las extracciones por Soxhlet	49
4.7.	Muestra que resulto quemada utilizada en la extracción con fluido supercrítico	50
4.8.	Distribución normal para el método de extracción FSC	52
4.9.	Independencia de los residuos para el método de extracción FSC	52
4.10.	Prueba de varianza constante para el método de extracción FSC	53
4.11.	Diagrama de pareto para el rendimiento en la extracción por fluidos supercríticos	55
4.12.	Tendencia de los efectos principales para el rendimiento en la extracción por fluidos supercríticos.	56
4.13.	Tendencia de los efectos principales para el rendimiento en la extracción por fluidos supercríticos.	56
4.14.	Superficie de respuesta estimada del rendimiento en el proceso de extracción por fluidos supercríticos.	61



## INTRODUCCIÓN

La naranja Cara cara, un fruto exótico y poco comercializado en Venezuela, esta fruta es rica en licopeno (Alquezar, 2008), un caroteno, que es el que le transmite a la pulpa de la fruta su color rojo; dicho componente tiene grandes beneficios para la salud del ser humano tales como la reducción de la incidencia de patologías cancerígenas, del envejecimiento además se considera como un buen antioxidante (Murray, 2004).

La cantidad de licopeno presente en la naranja Cara cara no se tiene registrada, debido a que la fruta es poco conocida en el país, por lo que esta investigación se realiza con el fin de fomentar la comercialización de la Cara cara, además de que en caso de que la cantidad del caroteno sea abundante poder utilizarla como materia prima para la obtención de licopeno para la industria farmacéutica o industria de colorantes.

Por ello, en el presente trabajo de investigación se busca, mediante la aplicación de la técnica de extracción SOXHLET y fluidos supercríticos (FSC), conocer la cantidad de licopeno existente en la naranja Cara cara, además de comparar ambos métodos de extracción y seleccionar el más adecuado para la obtención de licopeno. Las ventajas que se tienen con el uso del método de FSC es que al utilizar un solvente selectivo, como el dióxido de carbono, se logra extraer una gran cantidad de los compuestos que son afines a este, además de presentar la tiempo de operación más cortos que los necesarios para otros métodos de extracción.

Para obtener el compuesto deseado, se realizan una serie de pasos, la liofilización de la pulpa de la naranja para eliminar el agua, el proceso de extracción en donde a una parte se le realiza la extracción con el método de SOXHLET y usando etanol, hexanos y éter de petróleo, como solvente; con la otra parte de la muestra liofilizada es usado el FSC, donde el dióxido de carbono es el solvente.



La muestra extraída se caracteriza mediante el uso de un espectrofotómetro uv-visible y por medio de una curva de calibración se obtiene el valor de la concentración en ppm del licopeno que se tiene en la muestra.

La investigación realizada tiene una gran importancia ya que en base a los resultados obtenidos, se obtienen registros de la cantidad de licopeno en la naranja Cara cara y de esta manera aprovechar esta fuente natural de antioxidantes para obtener beneficios medicinales para diferente tipo de enfermedades y padecimientos existentes en la población venezolana.



## CAPÍTULO I PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

*A continuación se presenta el problema en estudio, especificando su propósito, situación actual y deseada, además del objetivo general y los objetivos específicos de la investigación. De igual manera se darán a conocer las razones que justifican esta investigación y sus limitaciones.*

### 1.1. DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA

La naranja Cara cara o Cara cara roja, es una mutación de la naranja California, de un tamaño medio, su color de pulpa es comparable al de la toronja roja, no tiene semillas y tiene 4 etapas de maduración verde, pintona, madura y sobremadura. Tiene un sabor muy dulce y muy poca acidez, es rica en vitamina C, con una excelente fuente de fibra (Monteverde et al., 2000); fue encontrada en la hacienda Cara cara, en San Diego-Carabobo, antes del año 1972, este tipo de naranja es poco común y no muy comercial en Venezuela ya que es poco conocida y su temporada de cosecha se encuentra entre los meses de noviembre a mayo (<http://www.soyagricultora.com/naranja9.html>) Se sabe que en las regiones mediterráneas existen las llamadas naranjas sanguíneas (Moro, Tarocco y Sanguinella) que también tienen una coloración rojiza, pero su coloración se debe a un compuesto químico, la Antocianina (Boscaino et al., 2008), mientras que en la Cara cara su color se debe al licopeno (Alquezar et al., 2008).

El licopeno es un compuesto vegetal, liposoluble perteneciente al grupo de los carotenoides, sus principales fuentes son el tomate y sus derivados (salsas, zumos), además de patilla, jitomate, papaya, guayaba, toronja rosa, albaricoque, zanahoria. Se conoce que el licopeno es de gran importancia para la salud humana, ya que es considerado un buen antioxidante, reduce la incidencia de las patologías cancerígenas, del envejecimiento y previene el síndrome de degeneración macular, que es el daño o deterioro de la capa amarillenta de tejido sensible a la luz que se encuentra en la parte posterior del ojo, principal causa de ceguera en personas mayores de 65 años (Fadilah et al., 2010).



En la naranja Cara cara, no existe información sobre la cantidad de licopeno presente en la misma, es por ello que nuestra investigación se basará en cuantificar la cantidad presente de este compuesto vegetal, para ello, se realizará la extracción del licopeno, mediante el método de Soxhlet y mediante la extracción con fluidos supercríticos, para luego obtener el valor del licopeno presente en el jugo de la Cara cara, utilizando una curva de calibración que relacione la absorbancia de la sustancia con la concentración de licopeno existente.

La naranja Cara cara es una fuente valiosa de licopeno poco conocida, por lo que no ha sido estudiada, por lo cual la cuantificación del mismo es de suma importancia, ya que el licopeno es preventivo de muchas enfermedades del ser humano, entre ellas el cáncer (Murray, 2004).

## **1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA**

La naranja Cara cara debe su color rojizo de la pulpa al licopeno, este caroteno es muy beneficioso para la salud, sin embargo se desconoce la cantidad en que el mismo está presente en el cítrico. Tomando en cuenta esta situación se plantea realizar una extracción de licopeno y realizar, para así conocer la cantidad existente en la naranja Cara cara, y así pueda ser tomado en cuenta este fruto en la alimentación diaria.

### **1.2.1. Situación actual**

Por ser la naranja Cara cara un tipo de naranja poco estudiada, no se tiene cuantificada la cantidad de licopeno presente en ella y es necesario conocer dicha cantidad para tener en cuenta los beneficios de la naranja para el ser humano. Debido a lo poco que se conoce de los beneficios de esta mutación en nuestro país la población desconoce su existencia, este hecho es contradictorio ya que este fruto es netamente venezolano.

### **1.2.2. Situación deseada**

En esta investigación el objetivo principal es conocer la cantidad de licopeno presentes en la naranja Cara cara para así dar a conocer los beneficios de este fruto venezolano, el cual no ha sido explotado en nuestro territorio; se requiere saber las características



del fruto para su posterior aprovechamiento en diferentes áreas, como por ejemplo en la elaboración de mermelada.

### 1.3. OBJETIVOS

#### OBJETIVO GENERAL

Evaluar la cantidad de licopeno en la naranja roja Cara cara utilizando varios métodos de extracción.

#### OBJETIVOS ESPECIFICOS

1. Determinar el rendimiento en las extracciones de licopeno en la naranja Cara cara
2. Determinar la variable más influyente en los distintos métodos de extracción de licopeno en la naranja Cara cara mediante un diseño experimental.
3. Determinar las mejores condiciones de operación para la extracción de licopeno en la naranja Cara cara.
4. Cuantificar el licopeno en los extractos de la naranja Cara cara.
5. Evaluar los costos asociados a la determinación de licopeno con los métodos de extracción empleados.
6. Seleccionar el método más adecuado para realizar la extracción de licopeno de la naranja Cara cara.

### 1.4. JUSTIFICACION

Se desea conocer la cantidad de licopeno presente en la naranja Cara cara, para ampliar los conocimientos de sus características y potenciar su uso y comercialización a una mayor escala.

La naranja Cara cara, posee propiedades que le otorgan un alto valor comercial, por contar con un sabor dulce y no tener semillas, estas características podrían ser aprovechadas en la fabricación de cocteles y mermeladas. La fruta también posee licopeno, que es un pigmento vegetal que tiene la característica de ser un fuerte antioxidante, además de reducir la aparición de cáncer de pulmón, de próstata y del tracto digestivo, retrasa los signos de envejecimiento, reduce los niveles de colesterol y previene la ceguera (Murray, 2004). Este conjunto de características la hace apta para



la explotación comercial por lo novedoso de la fruta, pero con un valor como fruta digna de estudios botánicos, principalmente en referencia a su origen mutante.

Esta naranja es poco conocida en Venezuela, a pesar de que se originó en el país, no se le ha dado importancia al fruto, sin embargo en Estados Unidos y Europa, es cultivada y comercializada con éxito y plantean que lo ideal para el mercado es que haya fruta los 12 meses del año. Sin embargo las cosechas de esta naranja en Venezuela, al no ser comercializadas en ningún producto, son desaprovechadas, lo que ocasiona la pérdida de esta fuente de licopeno, fibra y además de que se desperdician los muchos beneficios que tiene para la salud (Monteverde et al., 2000).

### **1.5. LIMITACIONES**

Ya que la cosecha de la naranja Cara cara, se da solo entre los meses de noviembre a mayo, preferiblemente se debe realizar la parte experimental de la investigación, en esos meses.

El licopeno es un reactivo necesario para realizar la curva de calibración y actualmente no se encuentra en el país, por lo tanto debe ser importado.



## CAPITULO II

### MARCO REFERENCIAL

*Se presentan las bases teóricas que sustentan esta investigación y contribuyen a su comprensión, así como también los trabajos especiales de grado, proyectos o investigaciones cuyos fines guardan cierta similitud con los fines perseguidos en esta investigación.*

#### 2.1. ANTECEDENTES

Cadoni, E. et al. (2000), utilizó tomates maduros, molidos y filtrados al vacío como materia prima, describe la influencia de parámetros de operación empleados para la extracción del licopeno y el beta- caroteno de la pulpa y la piel de los tomates maduros, en supercrítico con dióxido de carbono. Las extracciones se realizaron en presiones y temperaturas que van desde 2500 hasta 4000 psi y de 40 a 80 °C.

Cardona E. et al (2006), realizaron la extracción de licopeno en el tomate chonto, mediante los métodos de arrastre con vapor y extracción con solventes (Soxhlet), concluyendo que es más efectivo el último método, ya que además de obtener un mejor rendimiento las condiciones del proceso son menos exigentes; además determinaron parámetros del proceso de extracción. Como la temperatura, el tiempo y el número de etapas y con ellos proponen el diseño básico de una planta piloto para la extracción del carotenoide. Recomiendan no realizar extracciones de licopeno mediante el arrastre con vapor porque el caroteno es insoluble en agua y también realizar las extracciones en una etapa de alta maduración del tomate ya que la composición de licopeno aumenta en número y cantidad con la maduración.

Fernández C. et al. (2007), evaluaron la cantidad de licopeno y propiedades fisicoquímicas y microbiológicas, presentes en diferentes tipos de marcas de pasta de tomate, nacionales e importadas; para la extracción de los carotenoides utilizaron el método de cromatografía de capa fina, utilizando éter de petróleo como solvente y con espectrofotometría UV-visible, se determinaron las concentraciones de licopeno, se observaron diferencias en esta cantidad entre las distintas marcas y llegaron a la



conclusión que la pasta de tomate importada era la que contenía mayor cantidad de licopeno.

Armella M. et al (2007), realizaron una extracción metánolica para obtener el pigmento rojo de la *Escontria Chiotilla* (Jiotilla), fruto del cactus que se desarrolla en las zonas áridas de México, una vez obtenido el pigmento se purificó mediante el método de cromatografía de capa fina, concluyendo que el pigmento pertenece a la familia química de las betalainas, además se encontraron compuesto fenólicos, recomiendan realizar una investigación más detallada de los compuestos extraídos.

Alquézar B. et al (2008), analizan el perfil de carotenoides en la naranja Cara cara, caracterizando los carotenos fitoeno y fitoflueno además del licopeno, en la pulpa de la naranja Cara cara y en la de ombligo; mediante el análisis comparativo de la metilerytritol fosfato (MEP), concluyendo que en la pulpa de la Cara cara se acumula una mayor cantidad de carotenos que en la de ombligo.

Arándiga G., Díaz S. (2008), evaluaron la cantidad de licopeno presente en diferentes tipos de tomates (de pera, frito, de rama, triturado, raf y cherry), utilizando diferentes técnicas, tales como: determinación espectrofométrica y cromatografía de capa fina; se comparo la cantidad de licopeno en los diferentes tipos de tomate, obteniéndose que el tomate triturado contiene la mayor cantidad de licopeno.

Valdiviezo, J. (2008), realizó la extracción del licopeno en la sandía, mediante disolventes orgánicos y solubilización directa, aprovechado las propiedades liposolubles del licopeno, se extrajo el mismo y concluyo que la extracción por solubilidad es mas efectivo que el método con solventes orgánicos; utiliza solventes orgánicos similares como el hexano.

Huang, W. et al. (2008), en esta investigación se describe la influencia de los parámetros operativos para la extracción de licopeno utilizado el método de fluido supercrítico con dióxido de carbono, esta investigación se asemeja en el método utilizado, se tiene rangos similares de temperatura y presión, además que se realiza una superficie de respuesta y el uso de una curva de calibración; en cambio se utiliza para la extracción la piel del tomate y realiza la caracterización utilizado un HPLC.



Vaughn, K. et al. (2008), se realizó la extracción de licopeno de la sandía utilizando el método de extracción por fluido supercrítico, variando los parámetros de presión, temperatura y co solvente, utilizando rangos similares a los utilizados en esta investigación. La muestra se congeló para luego ser utilizada en la extracción, la caracterización se realizó con un HPLC.

Kassama, L. et al. (2008), se realizó la extracción mediante el método de fluido supercrítico del tomate; se basa en la optimización de la extracción mediante el cual se realizó una superficie de respuesta para evaluar los diferentes parámetros. Para esto se varió la temperatura, presión y cantidad de co solvente agregado a la muestra. Los mejores valores de extracción se obtuvieron con 62 °C, 450 bar y 15% de co solvente.

## 2.1 BASES TEÓRICAS

### 2.2.1. Naranja Cara cara

El naranjo 'Cara cara' es producto de una mutación que apareció en una rama del naranjo California ('Washington Navel') en la cual el endocarpo o pulpa del fruto es de color rojo pálido y la superficie por debajo de la corteza puede ser de color rojo o blanca. Aunque el color rojo es más intenso cuando las temperaturas promedio están alrededor de 25 °C. Esta mutación apareció en la finca La Cara cara propiedad de la familia Jiménez Torres, ubicada en el municipio San Diego, del Estado Carabobo, Venezuela. Aunque se sabía de la existencia de esa mutación, sólo se le dio importancia a partir de 1972 cuando el Dr. Ary Salibe visitó la citada finca en compañía del profesor Juan de Dios Holquist (Monteverde et al, 2000).

Aunque en el país no se le ha dado importancia a este material cítrico nativo, en Europa se plantea que lo ideal para el mercado es que haya fruta los 12 meses del año y que para el caso de las naranjas se debe incluir los "tipos de ombligo" ("navels") y las de pulpa roja como 'Sanguinelli' o inclusive Cara cara (Taylor, 1996).

Los árboles de estas plantas son de forma esferoide erectos, ramas densas, con un promedio de 3,58 - 3,81 m de alto. El tronco presenta surcos y salientes con 11,52 -



15,76 cm de diámetro 10 cm arriba de la línea de injerto. Los retoños son de color verde semipubescentes. Las hojas son elípticas simples, con bordes ondulados, de color verde pálido, brevipetioladas con alas del pecíolo deltadas. Las hojas tienen un largo de 112,66 a 124,23 mm y un ancho de 53,56 - 61 - 56 mm. Las espinas de las hojas son rectas con una largo 3,45 a 4,27 mm (Monteverde et al., 2000).

Las flores son en inflorescencia terminal en racimo, con 2,4 a 4,8 yemas florales por inflorescencias, de color blanco. El largo del pedicelo y la yema floral miden de 5,54 a 6,40 mm y de 15,54 a 19,06 mm, respectivamente. La flor abierta es blanca con un largo y ancho de los pétalos de 18,54 a 21,20 mm y 7,60 a 9,10 mm, respectivamente. La flor tiene un promedio de 21,40 a 23,30 estambres, con un largo de las anteras de 1,18 a 2,08 mm. 660. El fruto fuertemente unido a la planta es esferoide, con base convexa y ápice truncado. El color del epicarpo del fruto posee una tonalidad amarilla, superficie papilada y un ancho promedio de 1,13 a 1,15 mm. La adherencia del fruto al mesocarpo es fuerte, con un moderado contenido de glándulas de aceite. El mesocarpo de color blanco con un espesor de 2,90 a 3,26 mm. El endocarpo tiene de 9,90 a 11,20 segmentos, con adherencia moderada y textura áspera alrededor de los segmentos. El eje central del fruto es sólido, redondo, con 2,44 a 2,63 mm de diámetro (Monteverde et al., 2000).

La pulpa del fruto es de color roja pálida, uniforme y firme, el contenido es rosado medio, aroma débil, sabor dulce y muy poca acidez, prácticamente no presenta semillas, son ricas en vitamina A y C, con una excelente fuente de fibra y una fuente natural de licopeno (Alquezar et al., 2008).



**Figura 2.1.** Fruto del naranjo Cara cara

**Fuente:** HOLMQUIST, 1980

### 2.2.2 Licopeno

Los carotenoides proporcionan los colores amarillos, anaranjados y rojos a muchas frutas y verduras. El licopeno es uno de los seis carotenoides predominantes en el plasma humano. Los demás son:  $\alpha$ -caroteno,  $\beta$ -caroteno, b-criptoxantina, luteína y zeaxantina. El nombre licopeno fue dado a este carotenoide en 1903 y es derivado del nombre latino del tomate "Solanum lycopersicum L." (RAO, 2003).

El licopeno es un pigmento vegetal, soluble en grasas, que aporta el color rojo característico a algunas frutas y verduras. Pertenece a la familia de los carotenoides como el  $\beta$ -caroteno, sustancias que no sintetiza el cuerpo humano, sino los vegetales y algunos microorganismos, debiéndolo tomar en la alimentación como micronutriente.

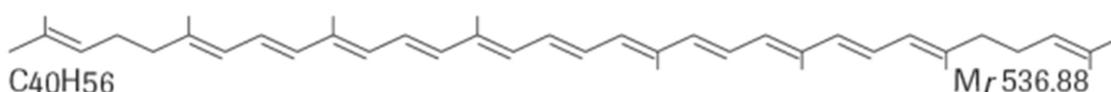
El código alimentario asignado por la Unión Europea a esta sustancia es E-160d. El licopeno es uno de los primeros carotenoides que aparecen en la síntesis de este tipo de compuestos, constituyendo la base molecular para la síntesis de los restantes carotenoides. Se obtiene fundamentalmente a partir de fuentes naturales (Venket, 2006)



### 2.2.3 Estructura química del licopeno

Químicamente el licopeno es un carotenoide. Los carotenoides son pigmentos sintetizados por las plantas y microorganismos. Son seis y el licopeno es uno de ellos. La estructura química del licopeno, está integrada por carbono e hidrógeno en una estructura, con una cadena alifática formada por 40 átomos de carbono y 56 de hidrógeno, con la fórmula:  $C_{40}H_{56}$  teniendo tanto enlaces sencillos como enlaces dobles que se alternan. Su estructura tiene un radical cromóforo, es un grupo de átomos no saturados, susceptibles de dar coloración a las moléculas de las cuales forman parte, la fuerza de los mismos varía con la naturaleza de sus átomos y su estructura.

En general es necesario que existan al menos siete dobles enlaces conjugados, para que un carotenoide produzca color. Cuanto mayor es el número de enlaces dobles, mayor es la longitud de onda de la luz absorbida y también más rojo será el vegetal. El licopeno tiene 11 dobles enlaces conjugados, con efecto antioxidante, esencial para proteger que los organismos no sufran daño durante el proceso de fotosíntesis (Agarwal, 1998).



**Figura 2.2.** Estructura química del licopeno.

**Fuente:** Rao, 2003

### 2.2.4 Licopeno y sus beneficios

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 cardiovasculares y cancerosas, de pulmón, próstata, tracto digestivo y del envejecimiento. También existen evidencias científicas de que previene el síndrome de degeneración macular, principal causa de ceguera en la gente mayor de 65 años. Otras investigaciones descubrieron que el licopeno también reduce los niveles de colesterol en forma de lipoproteína de baja densidad que produce arteriosclerosis, por lo que la ingesta de tomates reduce la incidencia de



enfermedades cardiovasculares. El licopeno es uno de los más potentes antioxidantes y por esto ayuda a proteger nuestro cuerpo de los efectos dañinos de los radicales libres. La prevención de la oxidación de la lipoproteína de baja densidad (LDL) puede ser la razón para la posible reducción del riesgo de la aterosclerosis y enfermedades del corazón y al ser tan común, el uso del licopeno, ha sido permitido como colorante alimenticio (Kaplan et al., 2003).

### **2.2.5 Fuentes de licopeno**

Los tomates y los productos del tomate justifican más de 85% del licopeno dietético en la mayoría de los países. En los tomates rojos se pueden encontrar hasta 42  $\mu\text{g/g}$  de licopeno, mientras que una variedad amarilla puede contener solamente 5  $\mu\text{g/g}$ . Los productos del tomate tales como jugo, salsa de tomate, sopa, así como pizza y salsa de espaguetis son los mayores contribuyentes del licopeno en la dieta occidental (hasta 1500  $\mu\text{g/g}$ ). Otras fuentes ricas en licopeno incluyen la patilla, la toronja rosa, guayaba rosa y papaya (Argawal et al., 1999).

### **2.2.6. Métodos comunes de extracción de licopeno**

#### **2.2.6.1 Extracción con fluidos supercríticos (FSC)**

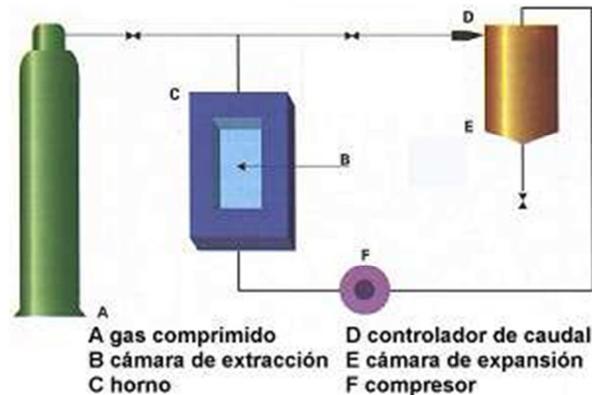
Un fluido supercrítico es cualquier sustancia a una temperatura y presión por encima de su punto crítico termodinámico. Tiene la propiedad de difundirse a través de los sólidos como un gas, y de disolver los materiales como un líquido. Adicionalmente, puede cambiar rápidamente la densidad con pequeños cambios en la temperatura o presión. Estas propiedades lo hacen conveniente como un sustituto de los solventes orgánicos en los procesos de extracción.

La extracción con fluidos supercríticos es una técnica de separación de sustancias presentes o incluidas dentro de una matriz, basada fundamentalmente en la capacidad que tienen determinados fluidos en estado supercrítico de modificar su poder disolvente (Pavia et al., 1988).

Los FSC tienen la capacidad de extraer ciertos compuestos químicos, bajo la combinación de temperatura y presión (Brunner, 2005). Las sustancias seleccionadas



se separan fácilmente del fluido supercrítico. La extracción se realiza sin cambios de fase, simplemente variando las condiciones de presión y/o temperatura de los FSC. (Pavia et al., 1988)



**Figura. 2.3.** Esquema del proceso de extracción con fluidos supercríticos (FSC).

**Fuente:** Ciencia hoy, 1997.

El  $\text{CO}_2$  es el fluido supercrítico más utilizado debido a que es no tóxico, no inflamable, no corrosivo, incoloro, no es costoso, se elimina fácilmente, no deja residuos, sus condiciones críticas son relativamente fáciles de alcanzar y se consigue con diferentes grados de pureza, se puede trabajar a baja temperatura y por tanto, se pueden separar compuestos termolábiles, se puede obtener a partir de procesos de fermentación alcohólica y ayuda a prevenir la degradación térmica de ciertos componentes químicos del alimento cuando son extraídos (Brunner, 2005).

#### *Aplicaciones de los fluidos supercríticos*

Algunas aplicaciones comerciales de la extracción con los FSC en la Agroindustria agroalimentaria son, el fraccionamiento y la extracción de aceites y grasas, la extracción de antioxidantes naturales, la extracción de alcaloides, aromas y especias. Se describen a continuación estas aplicaciones y los procesos típicos que se llevan a cabo.



### *Extracción y fraccionamiento de lípidos*

Las aplicaciones de los FSC en esta área se relacionan básicamente con el uso de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) por las ventajas ya mencionadas y dirigidas hacia la obtención de aceites vegetales a partir de oleaginosas, desacidificación de aceites con alto contenido de ácidos grasos, eliminación de colesterol, aprovechamiento de residuos de la refinación y obtención de compuestos minoritarios de alto valor agregado como son el escualeno, los tocoferoles y los fitosteroles (Hurtado, 2002).

Los aceites vegetales están formados por triglicéridos, diglicéridos, ácidos grasos libres y otros constituyentes minoritarios como tocoferoles y esteroides.

El amplio rango de distribución de sus componentes determina las propiedades físicas del aceite y el uso para el cual es conveniente. El fraccionamiento de aceites resulta de gran interés debido a que permite obtener un aceite o grasa natural ajustado a unas especificaciones muy particulares o una fracción con determinados componentes de interés para fines concretos (Hurtado, 2002).

### *Extracción de Antioxidantes Naturales*

Debido al rechazo cada vez mayor por parte de los consumidores hacia el uso de antioxidantes sintéticos, como por ejemplo el BHA (Butil-Hidroxi-Anisol) y el BHT (Butil-Hidroxi-Tolueno) y además, dadas las restricciones legales levantadas hacia estos productos, se ha potenciado el empleo de antioxidantes naturales, libres de compuestos químicos sintéticos, como los ácidos fenólicos, los flavonoides y los tocoferoles (Marques et al., 2002).

### *Extracción de alcaloides, aromas y especias*

Uno de los campos de aplicación de la tecnología con FSC más desarrollados a nivel industrial es la obtención de ingredientes para la agroindustria, perfumes y cosmética, otra aplicación clásica de los FSC es la usada en la descafeinación del café (tabla 3.1). La extracción con FSC se ha empleado en la eliminación de nicotina



del tabaco (Del Valle et al., 2005). La mayoría de los compuestos responsables de los aromas son solubles en CO<sub>2</sub>.

**Tabla 2.1.** Productos extraídos con disolventes supercrítico

Material procesado	Producto extraído	Disolventes
Gramos de café	Cafeína	CO <sub>2</sub> /H <sub>2</sub> O
Tabaco	Nicotina	CO <sub>2</sub>
Yema de huevo	Colesterol	CO <sub>2</sub>
Especies y plantas aromáticas	Aceites esenciales	CO <sub>2</sub> /cosolvente
Tejidos biológicos	Lípidos	CO <sub>2</sub>
Madera	Lignina	Alcoholes
Granos oleaginosos	Aceite	CO <sub>2</sub>
Carbón activado	Contaminantes	CO <sub>2</sub>
Suelos, sedimentos fluviales	Pesticidas	CO <sub>2</sub>
Tomate	Lycopeno	CO <sub>2</sub>
Soluciones de polímeros	Poliestireno	CO <sub>2</sub> /surfactante

Fuente: Ciencia hoy, 1997

#### *Ventajas de los fluidos supercríticos*

- Poseen alto coeficiente de difusión y viscosidad más baja que los líquidos.
- Ausencia de tensión superficial, la cual aumenta la operación de extracción dada la rápida penetración de estos al interior de los poros de la matriz heterogénea.
- La selectividad durante la extracción puede ser manipulada con la variación de las condiciones de operación (temperatura y presión) afectando la solubilidad de varios componentes en el fluido supercrítico.
- La extracción con fluidos supercríticos no deja residuos químicos.

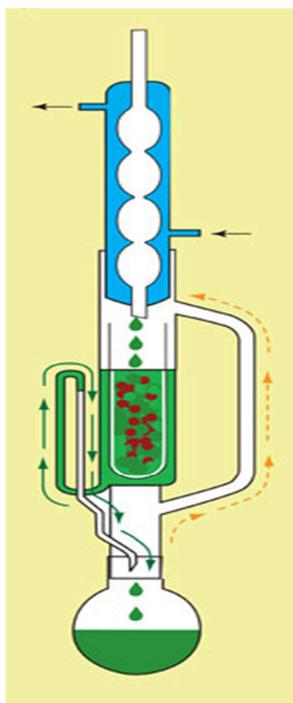


- Es una reacción amigable para el medio ambiente ya que se caracteriza por la ausencia de solvente residual en el producto final
- La extracción con CO<sub>2</sub> supercrítico permite su fácil recuperación por procesos de reciclaje. El CO<sub>2</sub> supercrítico también ha sido usado en innumerables aplicaciones industriales que incluyen diferentes campos como: alimentos, agricultura, acuicultura, pesticidas, procesos microbianos, petroquímica y farmacéutica.

### 2.2.6.2 Método de Soxhlet

Es una extracción semicontinua con un disolvente orgánico. En este método el disolvente se calienta, se volatiliza y condensa goteando sobre la muestra la cual queda sumergida en el disolvente. El contenido de grasa se cuantifica por diferencia de peso (Nielsen, 2003).

La eficiencia de este método depende tanto del pre-tratamiento de la muestra como de la selección del disolvente.



**Figura. 2.4.** Extractor Soxhlet.

**Fuente:** Ciencia Hoy, 1997



El mecanismo es el siguiente: al calentarse el solvente que se encuentra en el recipiente colector, se evapora ascendiendo los vapores por el tubo lateral, se condensan en el refrigerante y caen sobre la muestra que se encuentra en la cámara de extracción en un dedal o paquetito. El disolvente se vá acumulando hasta que su nivel sobrepase el tubo sifón, el cual se acciona y transfiere el solvente cargado de materia grasa al recipiente colector. Nuevamente el solvente vuelve a calentarse y evaporarse, ascendiendo por el tubo lateral quedando depositado el extracto etéreo en el recipiente colector. El proceso se repite durante el tiempo que dure la extracción en forma automática e intermitente y así la muestra es sometida constantemente a la acción del solvente.

#### *Aplicaciones del Extractor Soxhlet*

- Extracción de principios activos tanto en el área de productos naturales como en especies, condimentos ...
- Purificación de productos biofarmacéuticos y en diversos procesos industriales donde intervienen operaciones de extracción liquido-liquido.
- En campos como el de los perfumes y sabores.
- Extracción de componentes activos a partir de drogas crudas vegetales: como la extracción de alcaloides.
- Extracción de olerorresinas como la pimienta, el jengibre, el apio, la cebolla...
- Extracción de aceite de semillas oleaginosas, como el aceite de semillas de maní, de soja, de almendras, de lino...
- Extracción de componentes activos de uso cosmetológico, como la extracción de resinoides, de aloe vera, de triterpenos, de centella asiática...

#### *Ventajas del extractor Soxhlet*

- El disolvente y la muestra están en contacto íntimo y repetido. De manera que se mejora muchísimo la extracción porque siempre se emplea un disolvente limpio.
- El disolvente proviene de una condensación luego es líquido y está caliente. Favorece la solubilidad del analito.



- No se requiere filtración posterior. El disolvente orgánico se evapora quedando sólo analito.
- Gran capacidad de recuperación.
- Instrumentación simple.



## CAPITULO III MATERIALES Y MÉTODOS

*En este capítulo se presentan los métodos y procedimientos utilizados para llevar a cabo los objetivos planteados para esta investigación, con los cuales se establece que la investigación es de tipo exploratoria ya que con este estudio se busca obtener el valor de la cantidad de licopeno existente en la pulpa de la naranja Cara cara; utilizando dos métodos de extracción.*

### 3.1. LUGAR DE LA INVESTIGACIÓN

La investigación fue desarrollada en 3 laboratorios de la Facultad de Ingeniería de la Universidad de Carabobo, inicialmente se utilizó el Laboratorio del centro BIOMOLP para realizar la liofilización de la muestra; la extracción por el método soxhlet se realizó en el Laboratorio de Alimentos de la Facultad de Ingeniería, la extracción con CO<sub>2</sub> como fluido supercrítico se realizó en el Laboratorio de Fluidos Supercríticos y la caracterización con UV- Visible se realizó en el Laboratorio de espectroscopia, estos dos últimos laboratorios pertenecen al Centro de Investigación Químicas (CIQ) de la Universidad de Carabobo.

### 3.2. MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS

A continuación se presentan los materiales, equipos y reactivos que fueron utilizados para la realización de esta investigación.

#### **Materiales:**

Papel parafil

Dedales de extracción

Algodón

Guata

Metras

Cava pequeña

Recipientes de vidrio de color ámbar



Celda de cuarzo para espectrofotometría

Instrumentos de Laboratorio (cilindros graduados, beakers, pipetas graduadas, balones aforados, embudos, tubos de ensayo de plástico, vidrio de reloj)

**Equipos:**

Liofilizador Edwards Freeze Dryer Modulyo

Dedal, el cual contiene el sólido,

Balanza Acculab de 120 g de capacidad

Extractor SOXHLET

Extractor SPEED\_SFE Applied Separations

Refrigerador

Espectrofotómetro Diode Array Spectrophotometer 8452A

**Reactivos:**

Materia Prima: Pulpa de Naranja CARACARA

Etanol

Hexanos

Éter de petróleo

Agua destilada

**3.3. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN**

El diseño de la investigación involucra los pasos y procedimientos aplicados durante la investigación para realizar y concluir el estudio de la pulpa y el conocimiento de la cantidad de licopeno en dicha fruta.

- Recolección de las Naranjas.
- Acondicionamiento de la fruta para la liofilización de la pulpa.
  - Lavar las Naranjas.
  - Extracción del jugo de la Naranja.
  - Extracción de la pulpa de la Naranja.
- Liofilización de la pulpa de las Naranjas.



- Extracción utilizando el método SOXHLET
  - Solvente 1: Etanol
  - Solvente 2: Hexanos
  - Solvente 3: Éter de petróleo
- Extracción con fluido CO<sub>2</sub> supercrítico
  - Extracción variando temperatura de operación, presión de operación y %de co-solvente
  - Replicas
  - Superficie de Respuesta
- Caracterización con UV-Visible de extractos de ambos métodos de extracción.
- Calculo de rendimiento total obtenido en ambos métodos.
- Evaluación de costos de ambos métodos.
- Comparación de costos y rendimientos entre ambos métodos de extracción.

### 3.4. DESARROLLO DE LA INVESTIGACIÓN

Durante la investigación se llevaron a cabo actividades y procedimientos con los cuales se realizaron de manera organizada las operaciones utilizados para cumplir los objetivos de la investigación.

Estas actividades involucran los pasos del proceso investigativo y estos se presentan a continuación:

#### 3.4.1. Determinación del rendimiento en las extracciones de licopeno en la naranja

##### Cara cara

##### 3.4.1.1. Liofilización de la materia prima

###### ***Conocimiento del equipo.***

Consiste en una cámara al vacío que contiene una bandeja, donde se coloca la materia prima a liofilizar, y unos calentadores que suministran calor para la etapa de sublimación. Para la condensación del vapor de agua generado se dispone de serpentines refrigerantes dotados de un sistema de descongelación, que tiene por



objeto mantenerlos libres de hielo de forma que mantengan su capacidad de condensación.

El producto o materia prima se coloca en una cámara de liofilización hermética y la temperatura de calefacción de la bandeja se mantiene inicialmente de 100 a 120°C, esta temperatura se reduce posteriormente de manera gradual a lo largo de la deshidratación.



Figura 3.1. Equipo liofilizador.

Fuente: Belitz, 1992

### ***Preparación de equipos y materiales***

Para realizar la liofilización se debe eliminar la piel de la naranja, ya que para esta evaluación de licopeno se utilizará solo la pulpa de dicha fruta. Se coloca la pulpa en tubos de ensayo de plástico de 50 mL; se distribuyó la pulpa en 30 tubos; se le coloca papel parafil a la boca del tubo y se le abren pequeños agujeros ya que por allí saldrá el agua en forma de vapor. Se utilizaran los parámetros operacionales para la liofilización de la naranja Caracara obtenidos de fuentes bibliográficas.

### ***Etapas de la liofilización***

- Congelación inicial: es una operación previa y obligatoria. El tiempo de duración depende de varios factores como la cantidad, concentración y naturaleza de la muestra.



- Sublimación: es la etapa en la que la mayor parte del agua pasa a vapor; los parámetros como son: temperatura, presión y tiempo pueden ser modificados de forma independiente pero estos se encuentran relacionados entre si.
- Desorción: esta etapa se encuentra en algunos equipos de liofilización. Su objetivo es eliminar las últimas trazas de vapor de agua, consiste en evaporar el agua no congelado del producto. Se lleva a cabo a una temperatura inferior a la de desnaturalización de la muestra. (Apuntes Científicos,2010 )



**Figura 3.2.** Muestra liofilizada.

**Fuente:** Belitz,1992

### **3.4.1.2. Extracción del licopeno de la Naranja Caracara.**

#### **3.4.1.2.1 Extracción de licopeno mediante el método de extracción continuo solido- líquido (SOXHLET).**

##### ***Identificación de las variables que influyen en el proceso de extracción***

El desempeño del proceso dependerá de la elección de un solvente que selectivamente disuelva el compuesto deseado pero que mantenga los sólidos insolubles indeseados en la fuente natural. La temperatura de extracción deberá ser cercana a la temperatura de ebullición del solvente utilizado. Los solventes utilizados son hexanos, etanol y éter de petróleo.

Las variables controladas en el proceso de extracción SOXHLET son:

- Solvente utilizado
- Cantidad de solvente
- Tiempo de extracción



### ***Selección de las variables independientes, dependientes y de los niveles.***

Se definen las variables a controlar como puede ser: temperatura, tiempo de extracción y cantidad de solvente utilizado.

Los valores de las variables independientes elegidos para los experimentos son:

- Solvente utilizado: etanol, éter de petróleo y fracción de hexano.
- Cantidad de solvente: 100mL, 200mL y 300mL.

Los valores de las variables dependientes elegidos para los experimentos son:

- Tiempo de extracción: 6 horas.
- Temperatura de extracción:
  - Etanol: 70 °C
  - Éter de petróleo: 40 °C
  - Fracción de hexano: 60 °C

### ***Selección de diseño experimental***

Se seleccionó un diseño experimental  $3^2$ , con 2 factores, un factor categórico (tipo de solvente) y otro numérico (cantidad de solvente); con 3 niveles cada uno, dando 9 experimentos, además de sus respectivas replicas, un total de 18 experimentos. En el que se seleccionará la mejor combinación de variables y la variable más influyente a la hora de realizar la extracción.

### ***Conocimiento del equipo.***

Este equipo consta de un matraz de base redonda en el cual se contiene el disolvente orgánico volátil, un contenedor de vidrio en el cual se coloca la muestra en el interior de un dedal que se encuentra abierto en su parte superior, siendo poroso al disolvente de este lado, y a la posterior se tiene la disolución del analito; finalmente se tiene un medio refrigerante.

El matraz es calentado utilizando una manta calefactora hasta que se evapore el disolvente orgánico, el vapor de este atraviesa el dedal, donde esta contenida la muestra, ascendiendo por el contenedor hasta llegar al refrigerante. Cuando esto ocurre

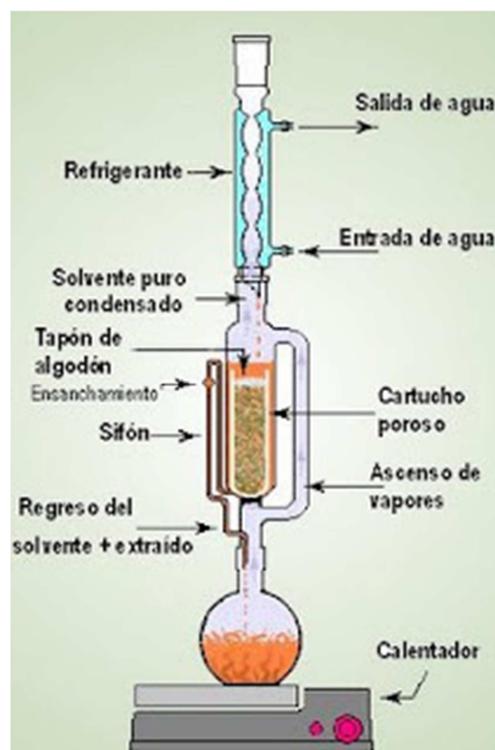


el disolvente se condensa y cae al contenedor de vidrio, al caer este golpea con la muestra disolviéndola; aquí la muestra debe estar seca para que la disolución ocurra perfectamente. El analito disuelto en un disolvente orgánico pasa por un sifón, este al llenarse y desbordar, se descarga sobre el matraz redondo.

Cuando el proceso de disolución finaliza se añade una etapa en la cual se evapora por calentamiento al disolvente, y de esta manera se concentra la muestra (Cardona, 2006).

### ***Preparación de equipos y materiales.***

Luego de pesar la muestra en el dedal, este se coloca en la pieza de vidrio; se pesa el matraz y se agrega el disolvente, se añade una cantidad suficiente para llenar el asa intermedia y que así durante el proceso de extracción se desborde el sifón y obtener la recirculación deseada.



**Figura 3.3.** Montaje del equipo de extracción continuo sólido-líquido (SOXHLET).

**Fuente:** Ciencia Hoy, 1997

***Operación.***

El dedal se realiza con papel de filtro, se utiliza un solvente de bajo punto de ebullición, este se coloca en el balón y se calienta hasta reflujo. Los vapores suben por el lado izquierdo donde se condensan, el líquido cae dentro traer el compuesto deseado.

Una vez lleno el dedal, el brazo de la derecha actúa como sifón y el solvente, conteniendo en extracto, regresa al balón.

Se deben realizar al menos 4 descargas del sifón para completar la extracción o hasta observar la muestra incolora.

**3.4.1.2 Extracción de licopeno mediante la extracción con fluido supercrítico.*****Identificación de las variables que influyen en el proceso de extracción con fluido supercrítico.***

El mejor desempeño del proceso depende la de acción solubilizante del fluido supercrítico CO<sub>2</sub> y de las condiciones mas adecuadas para incrementar la extracción de licopeno en la naranja Cara cara. La presión y temperatura deben ser por encima de 70,6023 bar y 31°C que son los valores críticos del solvente.

Las variables controladas en el proceso de extracción de fluido supercrítico son:

- Presión de operación.
- Temperatura de operación.
- Flujo de CO<sub>2</sub>.
- Tiempo de extracción, el cual puede ser de dos tipos:
  - Tiempo estático: tiempo de residencia del CO<sub>2</sub> en el envase extractor.
  - Tiempo dinámico: tiempo de extracción.
- Cantidad de co-solvente agregado a la muestra.



### ***Selección de las variables independientes, dependientes y de los niveles.***

Se definen las variables a controlar como puede ser: presión, temperatura, tiempo estático, tiempo dinámico, flujo de CO<sub>2</sub> y cantidad de co-solvente agregado a la muestra.

Los valores de las variables independientes elegidos para los experimentos son:

- Temperatura: 40°C y 60°C.
- Presión: 250 bar y 400 bar.
- Cantidad de co-solvente agregado a la muestra: 1mL y 2mL

Los valores de las variables dependientes elegidos para los experimentos son:

- Tiempo estático: 20 min
- Flujo de CO<sub>2</sub>: 2 L/min
- Tiempo dinámico: 45 min

Estos valores fueron escogidos basándonos en artículos publicados donde se utilizó este método de extracción como: Cardona, 2006, Kassama, 2008, Vaughn, 2008 y Huang 2008.

### ***Selección de diseño experimental***

Para la extracción con fluidos supercríticos se seleccionó un diseño experimental 2<sup>3</sup> con un nivel bajo y uno alto, con 3 factores (presión, temperatura y cantidad de co-solvente agregado a la muestra) dando como total 16 experimentos, incluyendo 8 réplicas; además de 11 experiencias para realizar la superficie de respuesta, resultando 27 experimentos con la finalidad de estudiar la influencia que ejercen las variables presión, temperatura y la cantidad del co-solvente agregado a la muestra sobre el rendimiento de la extracción. Se identifica la variable más influyente y la mejor combinación de variables para así seleccionar los valores de las variables a utilizar en el diseño experimental del equipo. Este diseño fue seleccionado basándonos en diferentes artículos publicados (Kassama, 2008) y (Huang, 2008).

### ***Conocimiento del equipo***

Se utilizó un equipo de extracción que emplea CO<sub>2</sub> supercrítico como solvente, marca SPEED\_SFE Applied Separations, cuyo diagrama de flujo se muestra en la Figura 3.5;



constituido por una bomba (MB) el cual tiene como presión máxima de operación 690 bar, este módulo dispone de una válvula de regulación de presión (VPR), un panel de control de CO<sub>2</sub> digital (PCD) y un barómetro (BA) que indica la presión de aire por el compresor (C).

La bomba se conecta al compresor a través de la línea A y la válvula VA. Dicha bomba está conectada a una bombona de CO<sub>2</sub> (CG) de alta pureza con 6 m<sup>3</sup> de capacidad, por la línea G y la válvula VG; a su vez la bomba dispone de las líneas H e I que lo comunican al baño de enfriamiento (BE); empleado para controlar la temperatura de la bomba.

Esta bomba está conectada mediante la línea B y las válvulas INLET al módulo del horno (MH) diseñado para temperaturas hasta de 240°C y es controlada por un panel digital situado en la parte inferior del mismo. En el interior del horno se encuentra un envase extractor (EE) que posee 1 L de capacidad de acero inoxidable y que pesa 20 kg. Este se conecta a la línea C, que conduce el CO<sub>2</sub> de la bomba con las tuercas T1 y T2; las tuercas T3 y T4 se conectan a la línea D y E. La línea D está conectada a la válvula VENT a través de la cual se descarga CO<sub>2</sub> al ambiente para descargar el sistema; la línea E y las válvulas OUTLET se unen al módulo de recolección.

El módulo de recolección está constituido por una válvula micrométrica (VM) con capacidad de regular flujo de 0 a 500 L/min de CO<sub>2</sub> y una temperatura de 110°C regulada con el panel de control del horno; esta válvula está conectada a las agujas de recolección a través de las cuales fluye el CO<sub>2</sub> y el producto extraído. Esta mezcla CO<sub>2</sub>-producto es recogida en un envase de recolección ámbar (ER) en el cual se deposita la muestra extraída.

El CO<sub>2</sub> en estado gaseoso es transportado a través de la línea F hacia el rotámetro (R) el cual presenta una apreciación de 0,5 L/min. Este CO<sub>2</sub> es descargado al ambiente por la línea T. El equipo de extracción con fluido supercrítico está conectado a una línea eléctrica de 120 voltios.

Para extraer el licopeno empleando este método, se carga en el cilindro de extracción (CE) con guata (GA) en su extremo inferior seguido por 130 metros y otra capa de guata, dentro de la cual se colocó la muestra a tratar, agregándole a la muestra la



cantidad de co-solvente correspondiente; tapándola con la última guata, para evitar que restos de la muestra pasen a las conexiones del sistema.

Posteriormente, al alcanzar el equipo las condiciones de temperatura de operación, el  $\text{CO}_2$  procedente de la bombona se introdujo en el equipo a la presión de operación con la ayuda del compresor, se establece un tiempo estático, seguido de un tiempo dinámico.



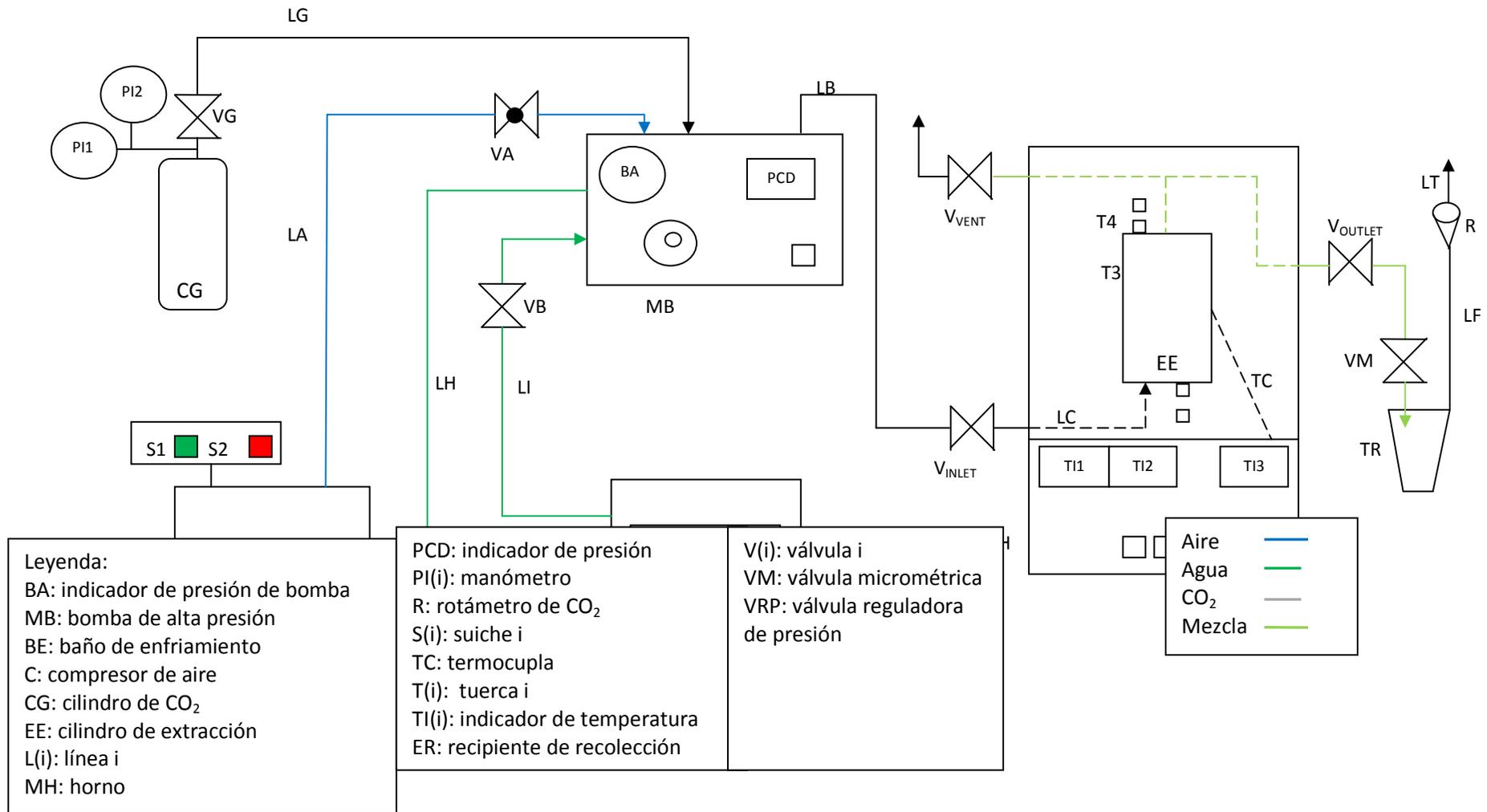
**Figura 3.4.** Equipo de extracción con fluido supercrítico (Der.) y vaso extractor del FSC (Izq.).

**Fuente:** HART, 1992

### ***Preparación de equipos y materiales.***

Los materiales y equipos necesarios para realizar la extracción supercrítica, son básicamente: equipo de extracción supercrítica, bombona de  $\text{CO}_2$ , baño refrigerante, tubos de recolección de muestras, bomba de presión, teflón, metras y guata.

**Figura 3.5.** Diagrama de flujo del proceso de extracción con fluido supercrítico.





## **Operación**

La operación del equipo de extracción supercrítico consta de 3 partes: arranque, operación y parada, para ello la muestra es colocada en el cilindro luego el solvente es suministrado a una presión fijada de 250 y 400 bar; a una temperatura de 40°C y 60°C. Estas condiciones son controladas digitalmente, se procede a abrir la válvula de escape del reactor para dejar salir el fluido supercrítico con el licopeno extraído, estos son envasados a un separador-condensador, donde se separa el solvente del extracto; este tiempo será el tiempo dinámico; posteriormente el CO<sub>2</sub> se recircula al extractor a las mismas condiciones, comenzando de nuevo el proceso de extracción.

### **3.4.1.3. Análisis de resultados obtenidos.**

En el proceso de extracción es necesario conocer el rendimiento, ya que esta es la variable a comparar entre diferentes métodos que se emplean para obtener la cantidad de licopeno en la naranja Cara cara.

#### ***Análisis de resultados obtenidos con el método de extracción continuo sólido-líquido (SOXHLET) y con el método de extracción con fluido supercrítico.***

1. Pesar la cantidad de pulpa de naranja liofilizada al que se le realizará la extracción.
2. Pesar el envase de recolección cuando este se encuentre vacío, limpio y seco.
3. Al realizar la extracción se debe pesar el envase para calcular el peso del extracto.
4. Calcular el rendimiento, utilizando el modelo matemático I y II (ver apéndice A):



### **3.4.2. Determinación de la variable mas influyente en los distintos métodos de extracción de licopeno en la naranja Cara cara mediante un diseño experimental**

#### **3.4.2.1. *Análisis de la variable más influyente en el método de extracción continuo sólido líquido.***

Se deben seguir los siguientes pasos:

Para el diseño experimental  $3^2$  se deben realizar las 9 combinaciones de las variables y sus replicas. Seguidamente se realiza el análisis de varianza (ANOVA), usando un paquete estadístico, este análisis debe contener el valor de la suma de cuadrados, suma de cuadrados medios, el valor del factor de Fisher y el valor del factor P. Finalmente se realizan los diagramas de Pareto y grafico de efectos principales para determinar como afectaron las variables manipuladas al proceso de extracción.

#### **3.4.2.2 *Análisis de la variable más influyente en el método de extracción por fluidos supercríticos.***

Se deben seguir los siguientes pasos:

- Para el diseño experimental  $2^3$  se deben realizar las 8 combinaciones de las variables y sus replicas. Luego se realiza el análisis de varianza (ANOVA), usando un paquete estadístico, este análisis debe contener el valor de la suma de cuadrados, suma de cuadrados medios, el valor del factor de Fisher y el valor del factor P; para finalmente realizar los diagramas de Pareto, grafico de efectos principales y gráficos de interacciones, para determinar como afectaron las variables manipuladas al proceso de extracción.

### **3.4.3 Determinación las mejores condiciones de operación para la extracción de licopeno en la naranja Cara cara**

Se utilizaron métodos estadísticos para determinar matemáticamente las condiciones óptimas para la extracción de licopeno en la naranja Cara cara.

El método de superficie de respuesta consiste en el modelado y análisis en aplicaciones donde la respuesta de interés esta influenciada por distintas variables, siendo el



objetivo optimizar esta respuesta mediante una función de dos factores. Este método requiere de  $k$  factores,  $2^k$  corridas factoriales,  $2^k$  corridas axiales, al menos un punto central (2 a 5 puntos), donde “ $k$ ” es el número de factores e estudio, los puntos axiales son elegidos por el programa de acuerdo a la rotabilidad establecida.

F: número de puntos en la parte factorial del diseño.

### 3.4.4. Cuantificación el licopeno en los extractos de la naranja Cara cara

#### 3.4.4.1 Caracterización del licopeno obtenido en el método de extracción mediante el método de UV-Visible

##### *Conocimiento del equipo.*

El espectrofotómetro es un instrumento que permite comparar la radiación absorbida o transmitida por una solución que contiene una cantidad desconocida de soluto. Permite la determinación y la cuantificación de componentes orgánicos e inorgánicos que absorben la radiación en la zona del ultravioleta o visibles, que corresponden a las longitudes de onda entre 190 nm hasta 1100 nm.



**Figura 3.6.** Espectrofotómetro UV-Visible

**Fuente:** HART, 1992

##### *Muestra utilizada.*

Para la identificación del licopeno en la pulpa de la naranja Cara cara se realizó un análisis espectrofotométrico de las muestras obtenidas en los métodos de extracción con CO<sub>2</sub> supercrítico y con solventes (SOXHLET). Los extractos obtenidos por el método de CO<sub>2</sub> supercrítico fueron diluidas en etanol, los extractos obtenidos por



SOXHLET fueron diluidas en el solvente con el que se realizó la extracción. (Fernández et al., 2007)

### ***Análisis de la muestra obtenida.***

Las muestras en solución se colocan en una pequeña celda, donde se utilizan dos lámparas: una de hidrógeno para la región UV y una de halógeno para la región visible. Se utiliza una celda de referencia que contiene sólo solvente, se coloca dicha celda y se obtiene su curva de absorbancia, para así eliminarla del espectro obtenido de la muestra extraída. Luego se coloca la celda con la muestra y se observa su curva, el espectrofotómetro compara la luz que pasa por la muestra con la que pasa por la celda de referencia. Se tomara en cuenta el valor de la absorbancia a 450 nm para obtener el valor de la cantidad de licopeno mediante el uso de la curva de calibración.

La radiación transmitida es detectada y el espectrómetro obtiene el espectro de absorción al barrer la longitud de onda de la luz.



**Figura 3.7.** Parte del equipo de espectrofotometría.

**Fuente:** HART, 1992

### ***Determinación de la cantidad de licopeno extraído***

Para la determinación de la cantidad o concentración de licopeno se utilizara la curva de calibración realizada por (Fernández, 2007) en donde se utiliza el valor de la absorbancia medido con una longitud de onda de 450 nm y se despeja la concentración de la ecuación de la recta presentada a continuación:

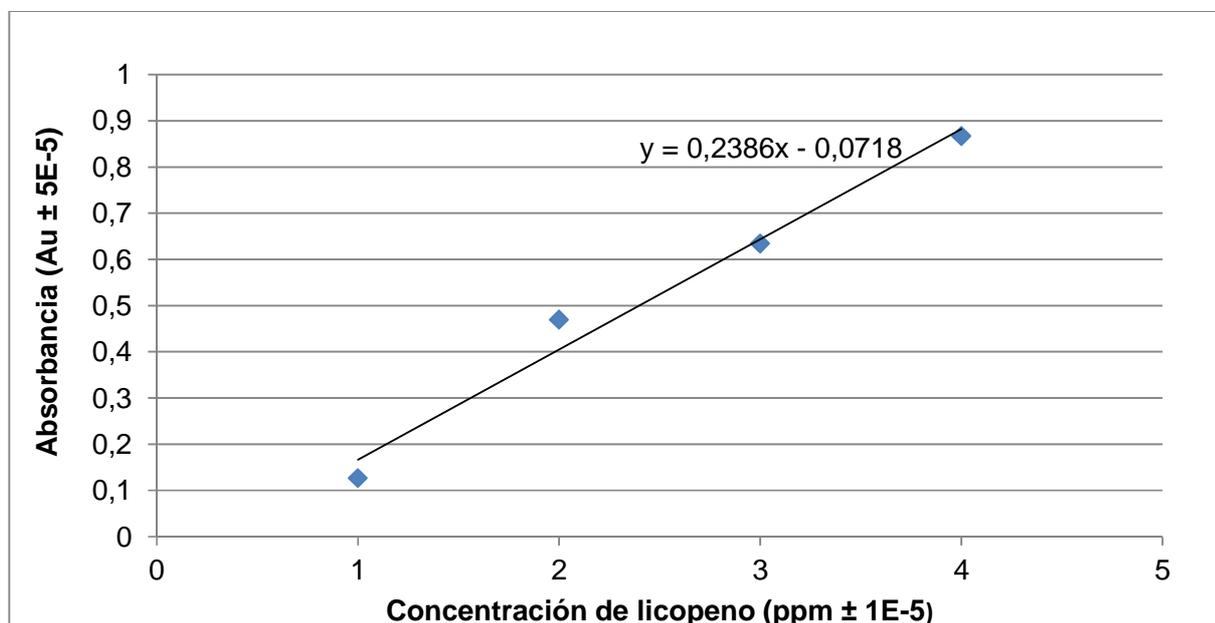


Figura 3.8. Recta de calibrado del licopeno.

### 3.4.5 Evaluación de costos asociados a la determinación de licopeno con los métodos de extracción empleados

#### 3.4.5.1. Costos relacionados con el método de extracción continua sólido-líquido (SOXHLET)

Los costos para el método de extracción continuo sólido-líquido (SOXHLET) se determinaron tomando en cuenta el costo de la materia prima utilizada, el costo de la energía consumida, el costo de los reactivos utilizados y el costo del dedal de extracción utilizado. El costo de la energía consumida dependerá del tiempo de extracción. Los reactivos serán todos aquellos solventes que se utilicen para llevar a cabo los experimentos.

#### 3.4.5.2 Costos relacionados al método de extracción de fluido supercrítico

Los costos para el método de extracción de fluido supercrítico se determinaron tomando en cuenta el costo de la materia prima utilizada, el costo de la energía eléctrica consumida, el costo de la bombona de CO<sub>2</sub> y el costo del cosolvente utilizado.



El costo de la energía consumida dependerá del tiempo de extracción, además del costo de la energía eléctrica.

### **3.4.6 Especificación del método más adecuado para realizar la extracción**

Para la elección del método más adecuado se tomarán en cuenta los valores del rendimiento en cada corrida de las extracciones de cada método, así como también el valor de la concentración de la cantidad de licopeno, los cuales varían según las condiciones en las que se realizaron las respectivas extracciones. Se clasificará en cada método según el parámetro que se haya registrado como el más influyente.

Para seleccionar el método más adecuado se analizarán los siguientes parámetros:

- Rendimiento obtenido.
- Cantidad de licopeno extraída.
- Costos relacionados en cada método.
- Tiempo de la extracción para cada corrida.
- Facilidad de obtener el solvente utilizado.



## CAPÍTULO IV RESULTADOS Y DISCUSIONES

*A continuación, se presentan los resultados obtenidos a partir de la investigación realizada y las discusiones que sustentan la validez de dichos resultados.*

### **4.1 Determinación el rendimiento en las extracciones de licopeno en la naranja Cara cara**

#### **4.1.1. Liofilización de la materia prima**

La recolección de la naranja Cara cara fue realizada en el municipio Bejuma del estado Carabobo, se recolectó 1 saco de 16 kg aproximadamente. Las frutas fueron lavadas y despulpadas manualmente, la pulpa seleccionada fue colocada en 30 tubos de ensayo de plástico de 50 mL, cada uno con 15 g aproximadamente; los cuales son apropiados para ser colocados en el equipo de liofilización; la pulpa en los tubos fueron congelados para luego trasladarlos al laboratorio del centro BIOMOLP.

A cada tubo de ensayo se le coloco un trozo de papel parafil al cual se le hicieron pequeños agujeros con una inyectora, esto para asegurar que el vapor de agua, formada en la fase de sublimación salga a través de estos. Se debe liofilizar la materia prima debido a la gran cantidad de agua que tiene la pulpa de la naranja, ya que esta hace difícil la penetración del solvente y por esto no se extrae la cantidad de licopeno deseado. La ventaja que tiene realizar la liofilización es que gracias a ella se logro que el solvente estuviera en contacto directo con la pulpa seca y directamente con el caroteno.

#### **4.1.2. Análisis de resultados obtenidos**

##### **4.1.2.1. Análisis de los rendimientos obtenidos con el método de extracción continuo solido- líquido (SOXHLET)**

La muestra liofilizada debe colocarse en un dedal de extracción para asegurar el contacto y la penetración del solvente que cae sobre esta; de esta manera se lleva a cabo el contacto entre la muestra y el solvente para realizar la extracción del material soluble que se desea obtener.



El rendimiento obtenido en cada corrida se vio afectado mayormente por los solventes utilizados en el sistema, el cálculo del rendimiento para la muestra de etanol con 300 mL de solvente se puede observar en el apéndice A, en las formulas I y II:

En la tabla 4.1 y 4.2 se muestran los resultados obtenidos.



**Figura 4.1.** Muestra liofilizada cuando se finaliza la extracción por el método Soxhlet, utilizando éter de petróleo, hexanos y etanol, de izquierda a derecha.

Se esperaba que la muestra con fracción de hexano obtuviera el mayor valor de rendimiento, por ser una cadena carbonada al igual que el licopeno, pero ya que se uso una fracción de hexano y no hexano puro, esto afecto la calidad de arrastre del solvente al caroteno.

**Tabla 4.1** Resultado de la extracción por Soxhlet

<b>Solvente</b>	<b>Cantidad de solvente (<math>C_{ste} \pm 0,5</math>)mL</b>	<b>Masa de muestra (<math>m_{ms} \pm 0,001</math>)g</b>	<b>Masa del balón vacío (<math>m_{vs} \pm 0,001</math>)g</b>	<b>Masa del balón lleno (<math>m_{lls} \pm 0,001</math>)g</b>	<b>% Rendimiento (<math>\% \eta \pm 0,002</math>)%</b>
Fracción de hexano	100,0	5,020	116,358	116,712	7,034
	200,0	5,020	106,871	107,305	8,666
	300,0	5,046	119,250	119,713	8,996
Etanol	100,0	5,002	110,529	111,198	13,396
	200,0	5,019	111,089	111,989	17,924
	300,0	5,009	143,552	144,833	25,576
Éter de petróleo	100,0	5,026	101,899	101,945	0,942
	200,0	5,011	109,147	109,208	1,228
	300,0	5,014	107,106	107,239	2,648

Donde:

Tiempo de extracción:  $t_{EX}(360 \pm 0,01)$ min

**Tabla 4.2** Resultado de la extracción por Soxhlet (replicas)

<b>Solvente</b>	<b>Cantidad de solvente (<math>C_{ste} \pm 0,5</math>)mL</b>	<b>Masa de muestra (<math>m_{ms} \pm 0,001</math>)g</b>	<b>Masa del balón vacío (<math>m_{vs} \pm 0,001</math>)g</b>	<b>Masa del balón lleno (<math>m_{lls} \pm 0,001</math>)g</b>	<b>% Rendimiento (<math>\% \eta \pm 0,002</math>)%</b>
Fracción de hexano	100,0	5,001	101,589	101,981	7,846
	200,0	5,015	109,453	109,895	8,822
	300,0	5,010	94,932	95,381	8,962
Etanol	100,0	5,095	108,987	109,657	13,158
	200,0	5,003	142,809	143,710	18,030
	300,0	5,015	106,999	108,378	27,506
Éter de petróleo	100,0	5,003	118,226	118,281	1,106
	200,0	5,001	107,015	107,120	2,102
	300,0	5,007	109,523	109,652	2,588

Donde:

Tiempo de extracción:  $t_{EX}(360 \pm 0,01)$ min



Como se puede observar los valores de rendimientos cuando se utiliza al etanol como solvente son notoriamente mayores que cuando se extrae con fracción de hexano y éter de petróleo; además al aumentar la cantidad de etanol utilizado se observa una mejora en el rendimiento de la extracción.

Ya se ha mencionado que se liofilizo la pulpa de la naranja para mejorar la penetración del solvente en la muestra, siendo esto un impedimento para que los diferentes solventes arrastren de manera eficiente al caroteno; además se sabe que el agua es un solvente polar debido a las interacciones existentes en dicha molécula.

Se obtuvo mejores valores de rendimiento utilizando etanol como solvente, se espera que al utilizar fracción de hexano se tuviera una mayor cantidad. Pero al ser este una mezcla de compuesto no se pudo asegurar este arrastre (Cardona, 2006).

#### **4.1.2.2 Análisis de rendimientos obtenidos con el método de extracción con fluido supercrítico**

El rendimiento obtenido en cada corrida se vio afectado mayormente por la presión de operación utilizada en el sistema, se puede observar en las tablas 4.3 y 4.4 los resultados obtenidos, al igual que los obtenidos por (Kassama, 2008) y (Cadoni, 2000).

Al observar los valores de rendimientos se resalta que la presión presenta una importancia en la extracción del licopeno, ya que los mayores rendimientos se obtuvieron cuando se trabajó con el máximo de dicho parámetro.

**TABLA 4.3** Resultado de la extracción por fluidos supercríticos

N°		Presión ( $P \pm 0,1$ )bar	Temperatura ( $T \pm 0,1$ )°C	Co- solvente ( $St \pm 0,1$ ) mL	Masa de muestra ( $m_m \pm 0,001$ )g	Masa envase vacío ( $m_{ev} \pm 0,001$ )g	Masa envase lleno ( $m_{ll} \pm 0,001$ ) g	Rendimiento ( $\% \eta \pm 0,002$ )%
1	- - -	250	40	1	10,001	33,007	33,011	0,080
2	- - +	250	40	2	10,031	33,095	33,100	0,098
3	- + -	250	60	1	10,112	32,502	32,512	0,080
4	+ + +	400	60	2	10,057	32,699	32,728	0,288
5	+ - +	400	40	2	10,045	31,057	31,070	0,130
6	+ - -	400	40	1	10,011	32,760	32,769	0,098
7	- + +	250	60	2	10,019	33,062	33,069	0,088
8	+ + -	400	60	1	10,002	33,058	33,081	0,230

Donde:

Tiempo estatico:  $t_E$  ( $15 \pm 0,01$ )min

Tiempo dinámico:  $t_D$  ( $30 \pm 0,01$ )min

Caudal de CO<sub>2</sub>: Q ( $2 \pm 0,1$ ) L/min

**TABLA 4.4** Resultado de la extracción por fluidos supercríticos (Replicas)

N°		Presión ( $P \pm 0,1$ )bar	Temperatura ( $T \pm 0,1$ )°C	Co- solvente ( $St \pm 0,1$ ) mL	Masa de muestra ( $m_m \pm 0,001$ )g	Masa envase vacío ( $m_{ev} \pm 0,001$ )g	Masa envase lleno ( $m_{ll} \pm 0,001$ ) g	Rendimiento ( $\% \eta \pm 0,002$ )%
1'	- - -	250	40	1	10,023	33,066	33,075	0,090
2'	- - +	250	40	2	10,084	32,508	32,519	0,108
3'	- + -	250	60	1	10,102	32,701	32,708	0,078
4'	+ + +	400	60	2	10,008	30,814	30,842	0,280
5'	+ - +	400	40	2	10,015	32,498	32,508	0,120
6'	+ - -	400	40	1	10,078	30,703	30,719	0,098
7'	- + +	250	60	2	10,012	33,100	33,109	0,088
8'	+ + -	400	60	1	10,028	33,061	33,085	0,238

Donde:

Tiempo estatico:  $t_E$  ( $15 \pm 0,01$ )min

Tiempo dinámico:  $t_D$  ( $30 \pm 0,01$ )min

Caudal de CO<sub>2</sub>:  $Q$  ( $2 \pm 0,1$ ) L/min





## **4.2. Determinación la variable más influyente en los distintos métodos de extracción de licopeno en la naranja Cara cara mediante un diseño experimental**

### **4.2.1. Variable más influyente en el método de extracción continuo sólido-líquido (SOXHLET)**

Se identificaron las variables de cada método de extracción y se seleccionaron las más influyentes para ser manipuladas debido a que el aumento o disminución de ellas puede o no aumentar el rendimiento de la extracción, también se seleccionó y el rango de operación de las mismas, para así poder llevar a cabo el proceso de extracción adecuadamente.

Inicialmente con el método de Soxhlet, en la selección de variables a intervenir se tomaron en cuenta estudios preliminares que determinaron que las variables del proceso eran: el tipo de solvente a utilizar, factor categórico, la cantidad del mismo y el tiempo en que se realiza la extracción, estos últimos factores numéricos. Consideradas las más influyentes, el tipo de solvente y la cantidad del mismo; mientras que el tiempo de extracción se mantuvo fija por ser la que menos influía en el proceso.

Los valores de dichas variables se establecieron verificando las condiciones de operación en trabajos anteriores, para la extracción de licopeno por el método de Soxhlet, se emplearon etanol, fracción de hexano y éter de petróleo como solventes, la cantidad de solvente a utilizar fue de 100mL, 200mL y 300mL (Cardona, 2006) (Tabla 4.5)

Una vez establecidas las variables a estudiar, se seleccionó un diseño experimental de tipo factorial  $3^2$ , es decir 2 factores y cada factor con 3 niveles, originando 9 corridas y sus respectivas replicas.

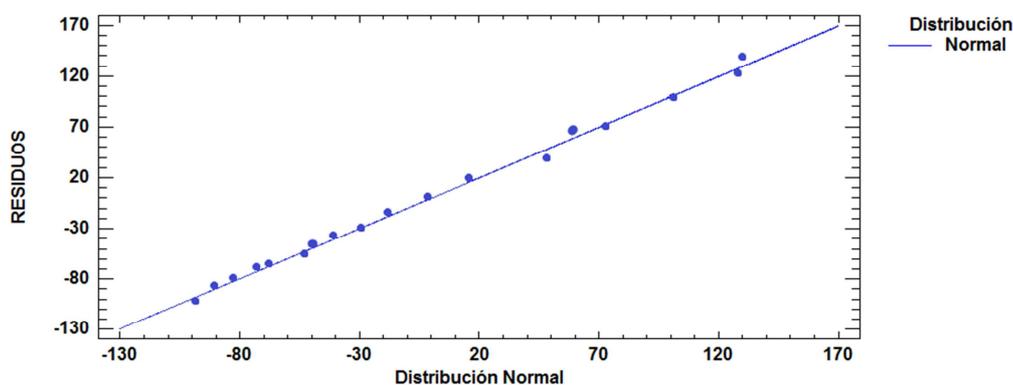


**Tabla 4.5** Variables seleccionadas para el diseño experimental  $3^2$  en la extracción por Soxhlet

Variables	
Solvente	Cantidad de solvente ( $C_{Ste}$ , mL)
Etanol	100
Fracción de hexano	200
Éter de petróleo	300

Se realizaron las 9 combinaciones de las variables y sus replicas (tabla 4.1 y 4.2.), verificándose la reproducibilidad del porcentaje de Rendimiento, la variable de respuesta, no se identificaron diferencias significativas, utilizándose un criterio de incertidumbre de 0,05, se realizaron los tres supuestos para poder realizar el análisis de varianza, haciendo uso del paquete estadístico (Statgraphics Centurion 16.1.15).

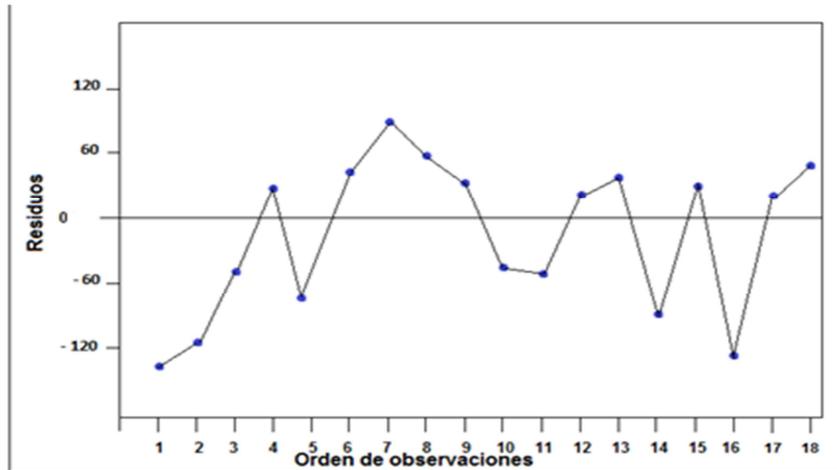
Los supuestos del modelo en un diseño factorial son normalidad, independencia de los residuos y varianza constante En la figura 4.2 se muestra la grafica de la distribución normal, se verifica que se cumple este supuesto debido a que todos los residuos caen alineados en la línea recta de la grafica.



**Figura 4.2.** Distribución normal para el método de extracción Soxhlet

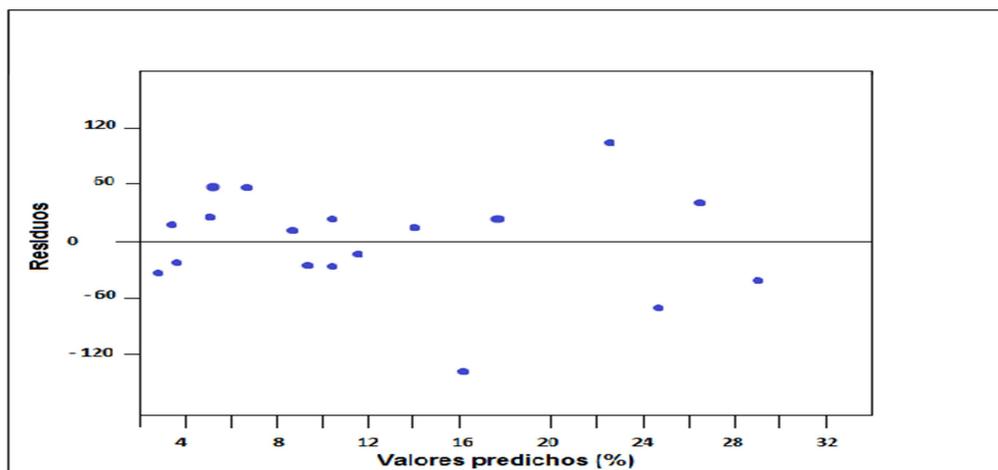


En la figura 4.3 se muestra la grafica de la independencia de los residuos, se puede observar que los datos se encuentran distribuidos aleatoriamente y que no siguen ningún patrón definido, por lo que podemos afirmar que los errores son independientes entre sí.



**Figura 4.3.** Independencia de los residuos para el método de extracción Soxhlet

En la figura 4.4 se muestra la prueba de la varianza constante, de acuerdo a esta podemos concluir que no existe un patrón definido en los puntos y se encuentran distribuidos alrededor de cero, por lo que se puede concluir que las varianzas son iguales.



**Figura 4.4.** Prueba de varianza constante para el método de extracción Soxhlet



Por verificarse los tres supuestos, se realizó el análisis de varianza (ANOVA), usándose el paquete estadístico (Statgraphics Centurion 16.1.15), el cual consiste en el cálculo de suma de cuadrados, grados de libertad y media de cuadrados, para así calcular el factor Fisher experimental para las variables establecidas (tabla 4.6), también se realizaron diagramas de Pareto (figura 4.5) y gráfico de efectos principales (figura 4.6), para determinar como afectaron las variables manipuladas al proceso de extracción.

En la tabla 4.6, se muestra el análisis de varianza donde se observan los resultados de la suma de cuadrados, grados de libertad y la media de cuadrados, con estos valores se determinó el factor de Fisher (F) experimental de cada factor e interacción; mientras más alto sea este factor, el valor p más se acerca más a cero, lo que quiere decir que la variable o la interacción es más influyente en el proceso de extracción.

**Tabla 4.6** Resultados del análisis de varianza para el rendimiento de la extracción por el método de Soxhlet

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Factor de Fisher experimental	Factor de Fisher teórico*	Valor-P
A: Solvente	34,3986	2	34,3986	8,63		0,0311
B: Cantidad de solvente	4,6589	1	4,6589	1,461		0,228
AB	41,7649	2	20,8825	0,5685	5,79	0,381
Error total	42,8597	5	8,5269	-		-

**\*Factor Fisher teórico con un nivel de confianza de 99,95%**

Analizando los valores del factor de Fisher, se puede observar que el tipo de solvente es el factor que más influye en el proceso de extracción, con un F de 8,63, teniendo el factor de Fisher teórico un valor de 5,79 lo que demuestra esta alta influencia en el valor del solvente, debido a que el valor de Fisher experimental es mayor que el teórico; en cuanto a las interacciones, se puede decir que no influye en el proceso de extracción. Este resultado se observa con mayor claridad en el diagrama de Pareto así como también



en la figura 4.6, donde se muestra la tendencia de los efectos principales en el rendimiento de la extracción.

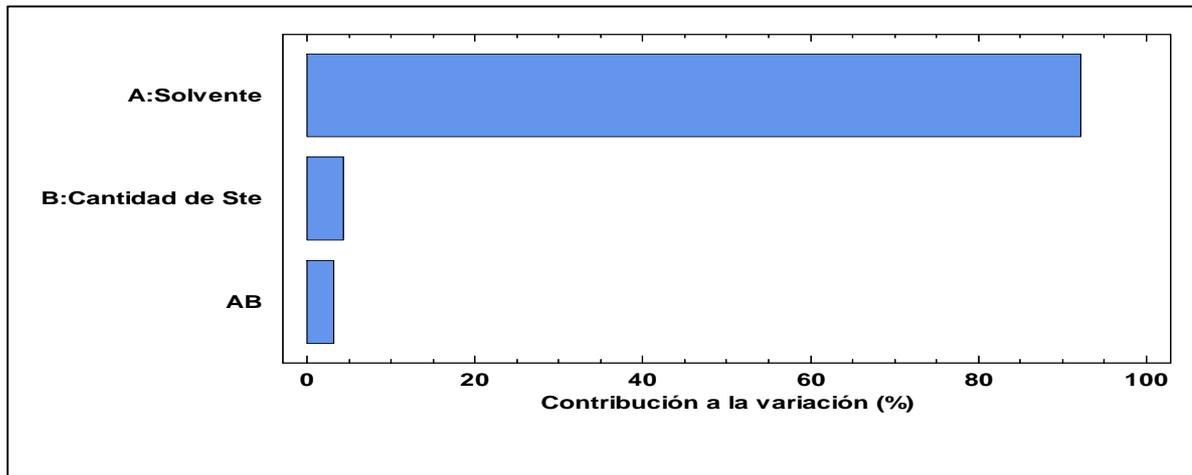


Figura 4.5. Diagrama de Pareto para el rendimiento en las extracciones por Soxhlet

En este caso se estudian los efectos individuales de las variables, porque el efecto de la interacción presente no es significativo. En la figura 4.3, se observan los efectos individuales de cada variable sobre el porcentaje de rendimiento, donde se observa que al cambiar de solvente, el rendimiento varía considerablemente, mientras que al variar la cantidad de solvente agregado, la variación en el rendimiento no es tan apreciable.

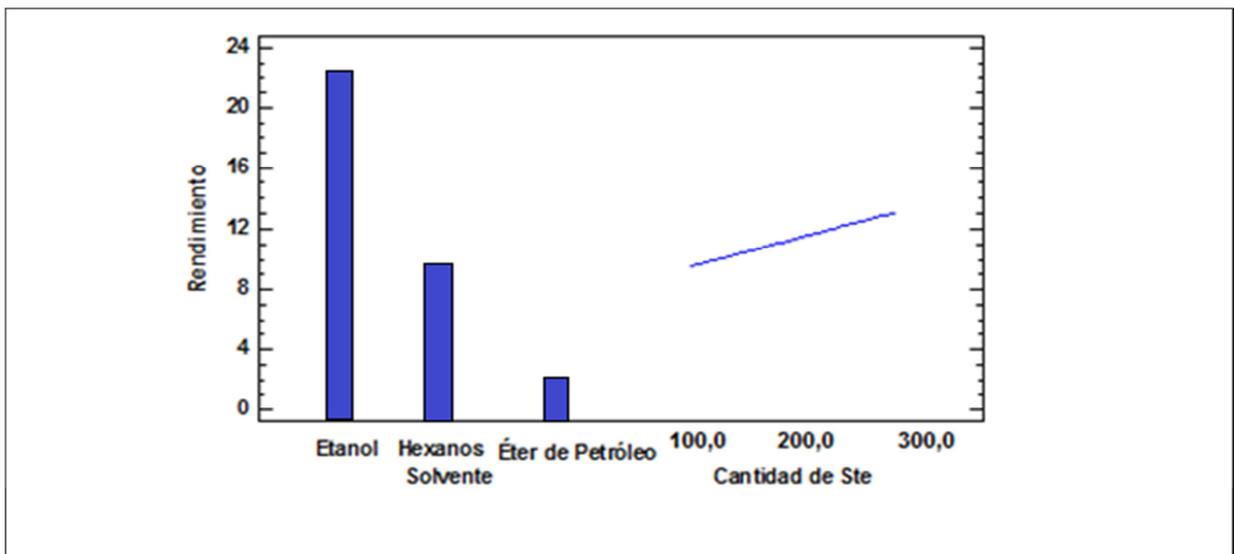


Figura 4.6. Tendencia de los efectos principales para el Rendimiento en las extracciones por Soxhlet



#### 4.2.2 Variable más influyente en el método de extracción con fluido supercrítico

Con el método de fluidos supercríticos de igual forma que con el método de Soxhlet se tomaron en cuenta las investigaciones ya realizadas para determinar las variables que se del proceso, estas fueron: flujo del solvente extractor, presión de operación, temperatura de operación del vaso presurizado, temperatura del modulo de extracción, cantidad de cosolvente, tiempo estático y tiempo dinámico. Se seleccionaron tres para ser manipuladas durante el estudio: presión de operación, temperatura de operación del vaso presurizado y cantidad de cosolvente.

Los valores de dichas variables se establecieron, como ya se mencionó, de acuerdo a trabajos anteriores, la presión de operación 250 y 400 bar, la temperatura de operación del vaso presurizado 40 y 60 °C y la cantidad de cosolvente 1 y 2 mL. (Tabla 4.7).

La temperatura más alta del vaso presurizado inicialmente se estableció en 80°C, pero al realizar el primer experimento con esta temperatura, la muestra se quemaba; por esta razón se decidió disminuir a 60°C dicha temperatura.



**Figura 4.7.** Muestra que resulto quemada utilizada en la extracción con fluido supercrítico.



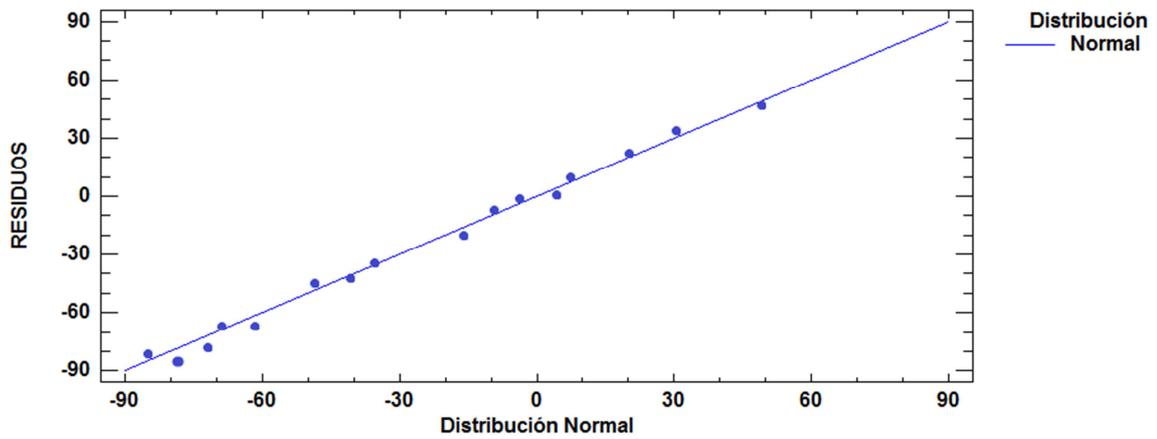
Una vez establecidas las variables a estudiar, el diseño experimental seleccionado fue de tipo factorial  $2^3$ , donde se tienen 3 factores, cada uno con dos niveles (alto y bajo), lo que da origen a 8 corridas, además de sus replicas. Este diseño permite estimar los efectos de los tres factores principales (A,B,C) y las interacciones entre dos factores (AB,AC,BC), el objetivo de este tipo de diseño es determinar cual de las variables seleccionadas, es la que interviene más significativamente en el proceso de extracción de licopeno en la naranja Cara cara, para ello se establecieron las combinaciones de las variables a manipular para cada una de las 8 extracciones y se realizó la extracción con fluidos supercríticos ya descrita anteriormente (Kassama, 2008).

**Tabla 4.7** Niveles de las variables seleccionadas para el diseño experimental  $2^3$  en la extracción con fluidos supercríticos

Variable	Nivel bajo (-)	Nivel alto (+)
Presión (P, bar)	250	400
Temperatura (T, °C)	40	60
Cantidad de Cosolvente (Ste, mL)	1	2

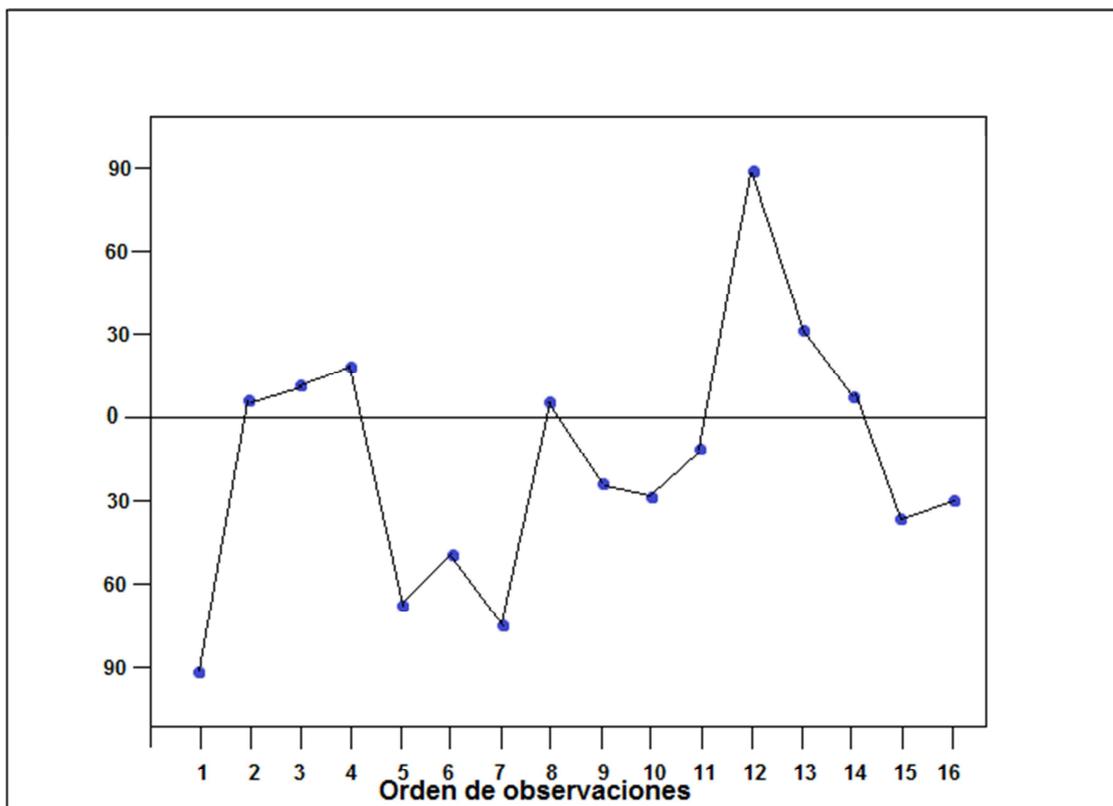
Se realizaron las 8 combinaciones de las variables y sus replicas, donde se verificó la reproducibilidad de la variable de respuesta (%Rendimiento), se utilizó un criterio de incertidumbre de 0,05, al igual que para el método de Soxhlet se realizaron los tres supuestos para poder realizar el análisis de varianza, haciendo uso del paquete estadístico (Statgraphics Centurion 16.1.15).

En la figura 4.8 se muestra la grafica de la distribución normal, se verifica que se cumple este supuesto debido a que todos los residuos caen alineados en la línea recta de la grafica.



**Figura 4.8.** Distribución normal para el método de extracción por FSC

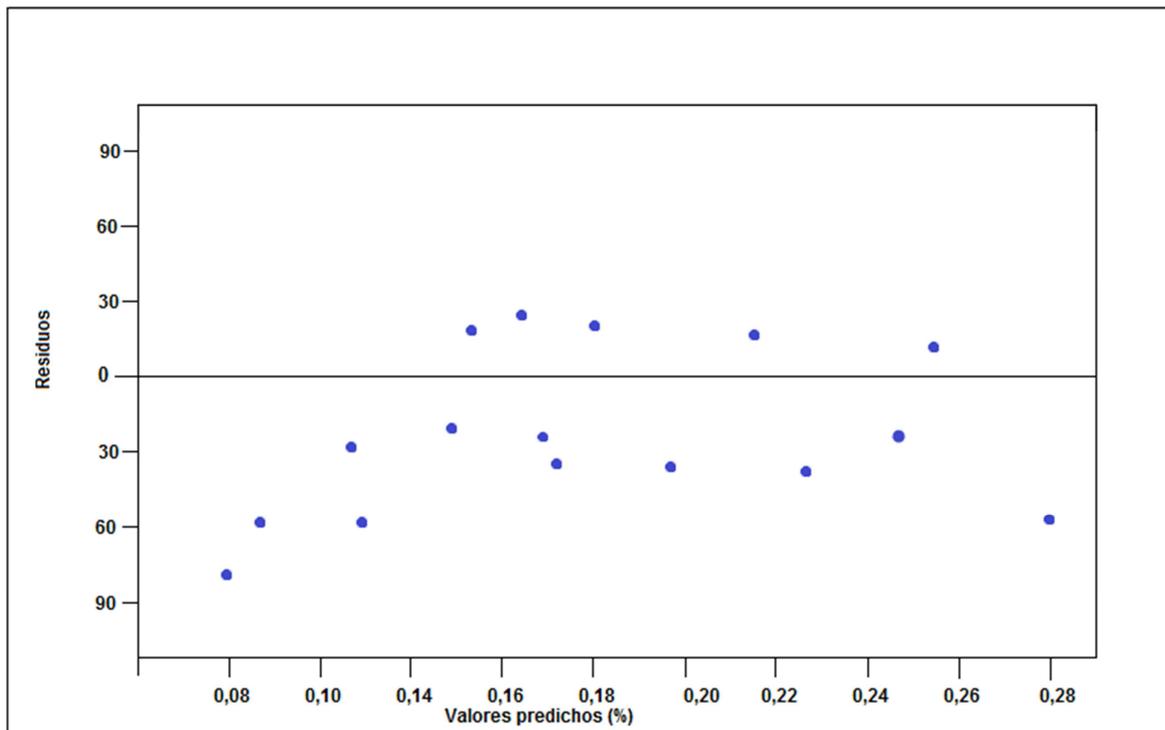
En la figura 4.9 se muestra la grafica de la independencia de los residuos, se puede observar que los datos no siguen ningún patrón definido, por lo que podemos afirmar que se cumple este supuesto.



**Figura 4.9.** Independencia de los residuos para el método de extracción por FSC



En la figura 4.10 se muestra la prueba de la varianza, de acuerdo a esta podemos concluir que no existe un patrón definido en los puntos, por lo que se puede concluir que las varianzas son iguales y con ello que se cumple este supuesto.



**Figura 4.10.** Prueba de varianza constante el método de extracción por FSC

Se realizó el análisis de varianza (ANOVA), para realizarlo se hizo uso de un paquete estadístico (Statgraphics Centurion 16.1.15), el cual consiste en el cálculo de suma de cuadrados, grados de libertad y media de cuadrados, para así calcular el factor Fisher experimental para las variables establecidas (tabla 4.8), también se realizaron diagramas de pareto (figura 4.5), grafico de efectos principales (figura 4.6) y grafico de efectos secundarios (figura 4.7), para determinar como afectaron las variables manipuladas y las interacciones de las mismas al proceso de extracción.



**Tabla 4.8** Resultados del análisis de varianza para el rendimiento de la extracción por el método de fluidos supercríticos

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Factor de Fisher	Factor de Fisher teórico*	Valor-P
A:Presión	0,0370	1	0,0370	14,44		0,0215
B:Temperatura	0,0188	1	0,0188	9,35		0,0328
C:CoSte	0,0002	1	0,0002	0,83	5,12	0,3862
AB	0,0247	1	0,0247	12,39		0,0278
AC	0,0061	1	0,0061	0,19		0,6744
BC	0,0049	1	0,0049	1,50		0,2513
Error total	0,0029	9	0,0032	-		-

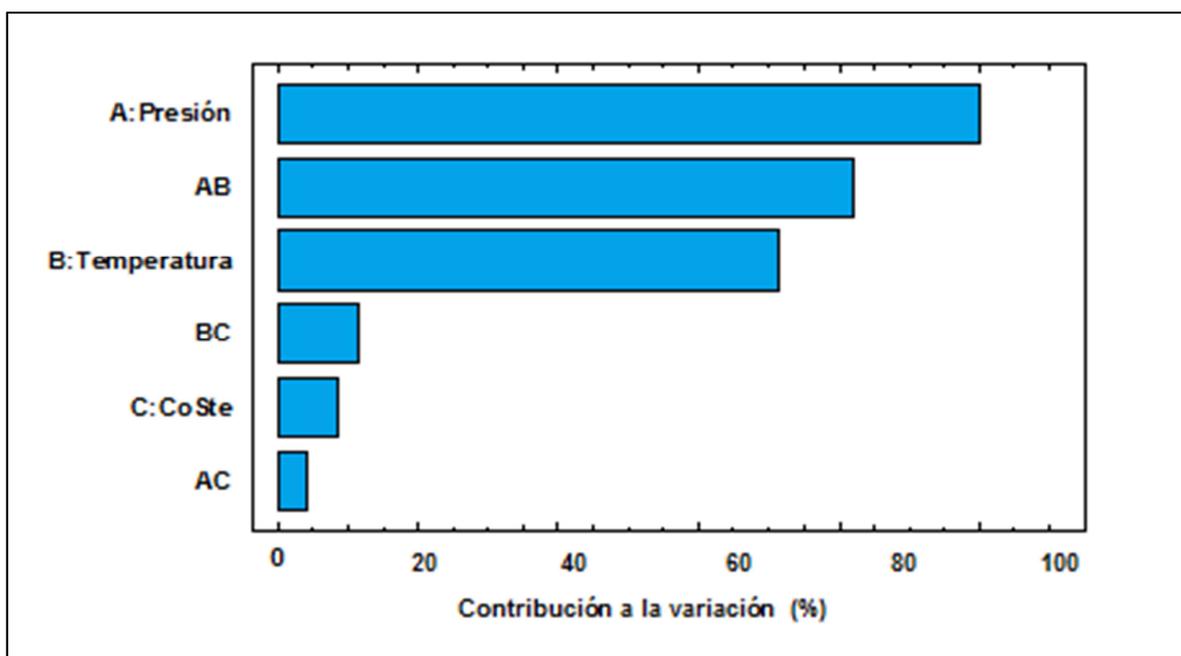
**\*Factor Fisher teórico con un nivel de confianza de 99,95%**

En la tabla 4.8, se muestra el análisis de varianza donde se observan los resultados de la suma de cuadrados, grados de libertad y la media de cuadrados, con estos valores se determinó el factor de Fisher (F) experimental de cada factor e interacción; de igual manera que se dijo en el método de Soxhlet, mientras más alto sea este factor, el valor p más se acerca más a cero, lo que quiere decir que la variable o la interacción es más influyente en el proceso de extracción.

Analizando los valores del factor de Fisher y teniendo en cuenta que el valor del factor de Fisher teórico es de 5,12, se puede observar que la presión es el factor que más influye en el proceso de extracción, con un F de 14,44, así como también la temperatura con un F de 9,35, en cuanto a las interacciones, la que más influye es la AB (Presión-temperatura), con un F de 12,39. Este resultado se confirma en el diagrama de Pareto así como también en la figura 4.12 y 4.13, donde se muestra la tendencia de los efectos principales y de las interacciones en el rendimiento de la extracción.



Los efectos principales e individuales significativos fueron la presión y la temperatura y respecto a las interacciones se encontró significativo la de la presión y la temperatura; mientras que del resto de los factores se puede decir que no presenta influencia sobre el proceso de extracción de licopeno.



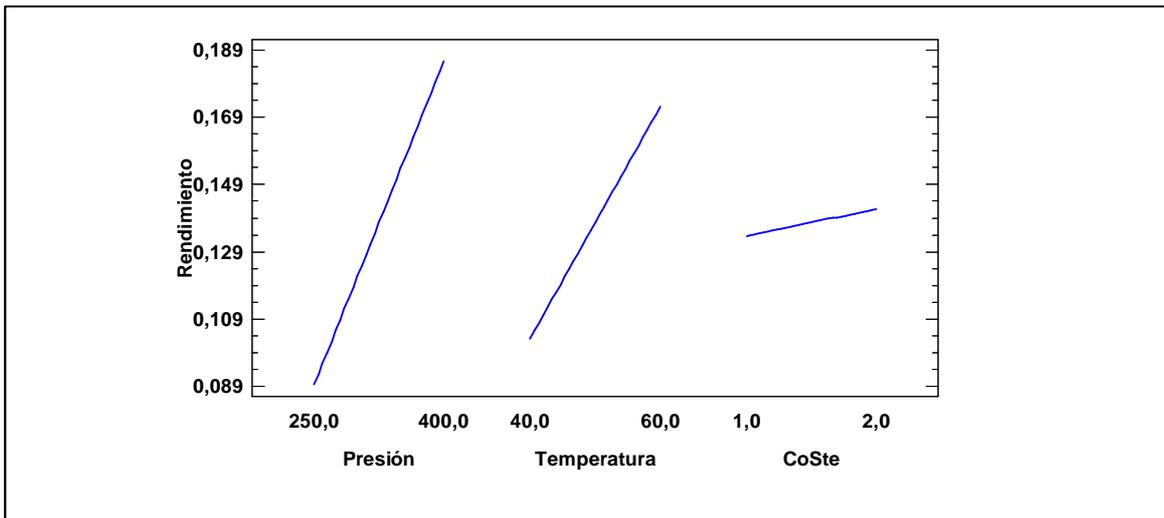
**Figura 4.11.** Diagrama de Pareto para el rendimiento en la extracción por fluidos supercríticos.

Al estudiar en un proceso los efectos individuales de las variables y sus interacciones sobre una respuesta, el efecto de las interacciones es clave para evaluar el proceso, y tiene mayor significancia desplazando así los efectos individuales de las variables, aun y cuando estas tengan un valor de F experimental mas elevado.

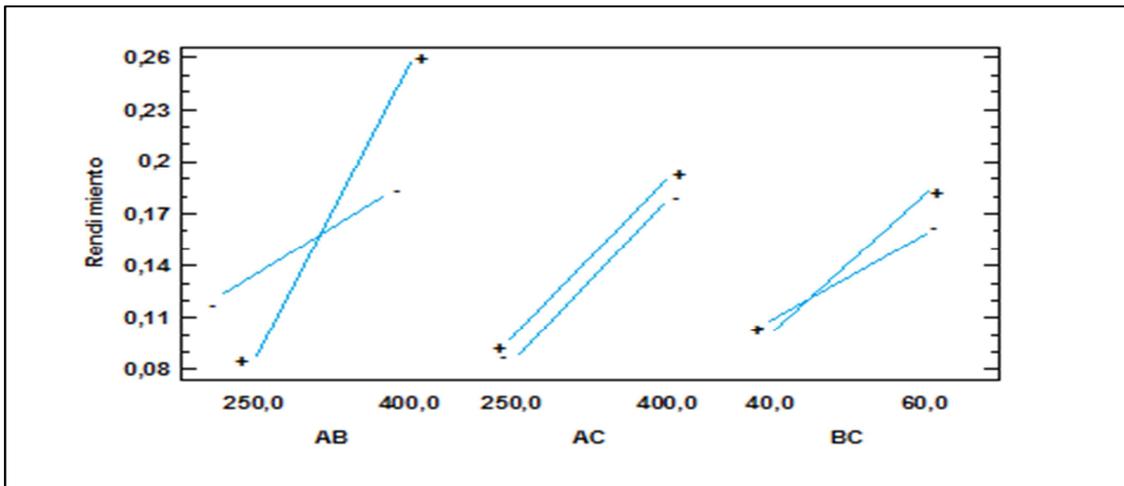
En la figura 4.12, se observan los efectos individuales de cada variable sobre el porcentaje de rendimiento, donde se muestra que al variar la presión el rendimiento varia considerablemente, de igual forma en el caso de la temperatura, ambas variables influyen de manera significativa, mientras que al variar la cantidad de Co-solvente, el cambio en la respuesta es bajo. En la figura 4.13, se observan los efectos de las interacciones, en el caso de la interacción AB (presión-temperatura), ocurrió una intersección indicando mayor influencia de estas variables en el proceso; mientras que las interacciones AC y BC, si hay influencia pero en menor cantidad, ya que la variación



en el % de rendimiento es baja, además de que en el caso de la interacción AC no se observa intersección y en BC la misma es casi nula.



**Figura 4.12.** Tendencia de los efectos principales para el rendimiento en la extracción por fluidos supercríticos.



**Figura 4.13.** Tendencia de los efectos principales para el rendimiento en la extracción por fluidos supercríticos.



### **4.3. Determinación las mejores condiciones de operación para la extracción de licopeno en la naranja Cara cara**

#### **4.3.1 Determinación las mejores condiciones de operación para la extracción de licopeno en la naranja Cara cara por el método de Soxhlet**

En base a los resultados obtenidos anteriormente, tomando en cuenta que según las herramientas estadísticas utilizadas se obtuvo que en las variables estudiadas en este método, no influye significativamente en la variación del rendimiento la cantidad de solvente utilizada y solo influye el tipo de solvente utilizado, por lo que lo óptimo sería utilizar el solvente Etanol, ya que fue con este con el que se obtuvieron los mejores resultados, sin embargo si se observa en la tabla 4.1 los resultados del rendimiento utilizando el Etanol como solvente, este varía considerablemente al aumentar la cantidad de solvente, por lo que en este caso las mejores condiciones sería utilizar 300 mL de Etanol.

#### **4.3.2 Determinación las mejores condiciones de operación para la extracción de licopeno en la naranja Cara cara por el método de extracción de fluidos supercríticos**

En base a los análisis de los resultados anteriores, se decidió emplear el método estadístico de superficie de respuesta (MSR) para poder obtener las condiciones adecuadas en las cuales se obtienen rendimientos mayores en la extracción por fluidos supercríticos. Este modelo consiste en el modelado y análisis en aplicaciones donde la respuesta de interés está influenciada por distintas variables, siendo el objetivo optimizar esta respuesta mediante una función de dos factores.

$$y = f(x_1, x_2)$$

El análisis estadístico realizado anteriormente descarta la cantidad de cosolvente como variable influyente en el rendimiento de la extracción, se empleó un diseño central compuesto (DCC), para ajustar los resultados y obtener una superficie de respuesta



óptima. Este método requiere de  $k$  factores,  $2^k$  corridas factoriales,  $2^k$  corridas axiales, al menos un punto central (2 a 5 puntos), donde “ $k$ ” es el número de factores e estudio.

En la tabla 4.9, se muestran las 11 corridas que se llevaron a cabo para el nuevo diseño, donde 4 corresponden a las combinaciones de los niveles establecidos en los rangos de operación, 3 corridas corresponden a los puntos centrales y las 4 restantes pertenecen a los puntos axiales, que son elegidos por el programa de acuerdo a la rotabilidad establecida por  $\alpha = (F)^{1/4}$ , donde  $F$  es el número de puntos en la parte factorial del diseño ( $F = 2^k$ ), es decir, para este caso:

$$\alpha = (2^2)^{\frac{1}{4}} = 1,414$$



**Tabla 4.9** Desarrollo experimental para la elaboración de la superficie de respuesta

N°	Nomenclatura		Presión ( $P \pm 0,1$ )bar	Temperatura ( $T \pm 0,1$ )°C	Masa de muestra ( $m_m \pm 0,001$ )g	Masa envase vacío ( $m_{ev} \pm 0,001$ )g	Masa	Rendimiento ( $\% \eta \pm 0,002$ )%
							envase lleno ( $m_{ll} \pm 0,001$ )g	
1	+	+	400	60	10,022	32,983	33,011	0,2794
2	-	-	250	40	10,051	33,001	33,009	0,0796
3	+	-	400	40	10,039	33,005	33,017	0,1196
4	0	-1,414	325	35,8579	10,048	32,987	32,997	0,0996
5	1,414	+	431,066	60	10,013	30,7	30,729	0,2896
6	-	+	250	60	10,101	32,999	33,008	0,0892
7	-1,414	0	218,934	50	10,098	33,005	33,012	0,0694
8	0	1,414	325	64,1421	10,006	30,505	30,516	0,1098
9	0	0	325	50	10,015	33,058	33,069	0,1098
10	0	0	325	50	10,016	33,511	33,523	0,1198
11	0	0	325	50	10,032	32,999	33,01	0,1096

Donde:

Tiempo estatico:  $t_E$  ( $15 \pm 0,01$ )min

Tiempo dinámico:  $t_D$  ( $30 \pm 0,01$ )min

Caudal de CO<sub>2</sub>: Q ( $2 \pm 0,1$ ) L/mi





Una vez obtenidos los resultados de la variable de respuesta del DCC, se analizaron en el programa estadístico, arrojando la ecuación de regresión que se ajusto a los datos, la ecuación es la siguiente:

*%Rendimiento*

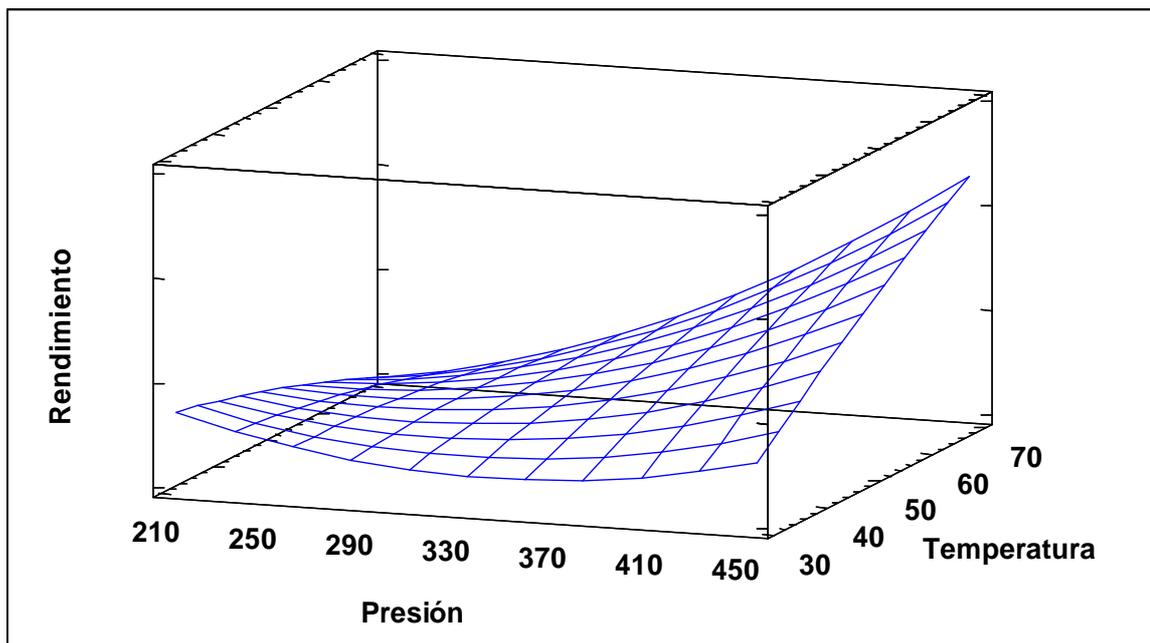
$$\begin{aligned} &= 1,01155 - 0,00504639 \cdot \textit{Presión} - 0,0110009 \cdot \textit{Temperatura} \\ &+ 0,00000522541 \cdot \textit{Presión}^2 + 0,0000501152 \cdot \textit{Presión} \cdot \textit{Temperatura} \\ &- 0,0000298552 \cdot \textit{Temperatura}^2 \end{aligned}$$

Mediante la ecuación anterior, se generó la superficie de respuesta que se muestra en la figura 4.8, con la cual se buscó estimar las condiciones de operación que logran maximizar el rendimiento (Kassama, 2008) y (Huang, 2008), es decir las mejores condiciones del proceso, las cuales se muestran en la tabla 4.10

**Tabla 4.10** Factores para maximizar el rendimiento en el método de fluidos supercríticos

<b>Factor</b>	<b>Favorable</b>
Presión (bar)	431,066
Temperatura (°C)	64,1421

El valor utilizado de cosolvente fue establecido previamente, ya que como se demostró inicialmente esta variable no influye en el proceso y se tomó un valor comprendido en el rango de operación, el cual fue de 1,5mL, ya que independiente de la manipulación de esta variable no se altera la variabilidad del sistema.



**Figura 4.14.** Superficie de respuesta estimada del rendimiento en el proceso de extracción por fluidos supercríticos.

#### 4.4. Cuantificación el licopeno en los extractos de la naranja Caracara

##### 4.4.1. Caracterización del licopeno obtenido en el método de extracción mediante el método de UV-Visible

Para medir la absorbancia en cada muestra obtenida se utilizó como blanco el solvente que se utilizó en la extracción. Para las muestras extraídas por el método SOXHLET se utilizó como blanco al etanol, a la fracción de hexano y al éter de petróleo respectivamente. Para las muestras obtenidas por el método de extracción por fluido supercrítico se utilizó etanol ya que este fue el cosolvente elegido para ser agregado a la muestra; estas muestras de supercrítico se recolectaron en 1 mL de etanol.

Se utiliza este equipo ya que se conoce que los dobles enlaces provocan coloración en las moléculas ya que estas absorben energía en la luz visible, se conoce que el licopeno es una cadena carbonada que cuenta con 11 dobles enlaces distribuidas a lo largo de su composición (Figura 2.2).



En la tabla 4.11 se presentan los valores de absorbancia obtenidos para el método de Soxhlet y en la tabla 4.12, los valores de absorbancia para el método de fluidos supercríticos, se puede observar que las muestras que presentan un mayor rendimiento también presenta un mayor valor absorbancia.

#### **4.4.2. Determinación de la cantidad de licopeno extraído**

El licopeno extraído, se calculó utilizando la absorbancia obtenida anteriormente en muestra extraída, y la curva de calibración (figura 3.8). Estos valores pueden ser observados en la tabla 4.11 y 4.12 para las extracciones por Soxhlet y en la tabla 4.13 los valores para las extracciones con fluidos supercríticos; se puede notar que las concentraciones mas altas obtenidas en el método de Soxhlet se obtuvieron cuando se utiliza etanol como solvente y se tiene el mayor valor cuando se utiliza la mayor cantidad del mismo (300 mL), esto se debe a que se tiene el contacto de una gran cantidad de solvente con la muestra, obteniendo así un mayor arrastre del caroteno mediante el solvente, seguidamente de los valores obtenidos con fracción de hexano y finalmente se tienen los valores mucho menores cuando se utiliza el éter de petróleo.

Para los valores obtenidos con FSC se muestra que los mas altos corresponden a los obtenidos con la presión máxima (400 bar) y se observa que la cantidad de cosolvente también muestra un contraste ya que se obtiene que los valores mayores se presentan cuando se utiliza la cantidad máxima de este (2 mL), mientras que los valores mas bajos se presentan cuando se utiliza la mínima presión (250 bar); tal como ya se menciona en la elección de los mejores parámetros la presión demuestra una actuación significativa en la extracción del licopeno con fluido supercrítico.

**Tabla 4.11.** Valores de absorbancia y concentración para el método de extracción Soxhlet

<b>Solvente</b>	<b>Cantidad de solvente (<math>C_{ste} \pm 0,5</math>)mL</b>	<b>Absorbancia</b>	<b>Concentración (<math>C \pm 0,00001</math>)ppm</b>
Fracción de hexano	100,0	0,0303	0,8757
	200,0	0,0432	0,9645
	300,0	0,0695	1,1847
Etanol	100,0	0,6954	6,5096
	200,0	0,9079	8,2124
	300,0	0,9893	8,8949
Éter de petróleo	100,0	0,0101	0,0204
	200,0	0,0172	0,7465
	300,0	0,0327	0,8763

**Tabla 4.12.** Valores de absorbancia y concentración de las replicas para el método de extracción Soxhlet

<b>Solvente</b>	<b>Cantidad de solvente (<math>C_{ste} \pm 0,5</math>)mL</b>	<b>Absorbancia</b>	<b>Concentración (<math>C \pm 0,00001</math>)ppm</b>
Fracción de hexano	100,0	0,0310	0,8624
	200,0	0,0428	0,9606
	300,0	0,0675	1,1679
Etanol	100,0	0,6812	6,4308
	200,0	0,8810	7,9872
	300,0	0,9974	8,9629
Éter de petróleo	100,0	0,0105	0,0211
	200,0	0,0179	0,7356
	300,0	0,0316	0,8670



**Tabla 4.13.** Valores de absorbancia y concentración para el método de extracción por fluidos supercríticos

N°	Absorbancia	Concentración (C ±0,00001)ppm	N°	Absorbancia	Concentración (C ±0,00001)ppm
1	0,0052	0,6457	1'	0,0049	0,6436
2	0,0099	0,6856	2'	0,0097	0,6836
3	0,0267	0,8263	3'	0,0244	0,8064
4	0,1943	2,2313	4'	0,1922	2,2129
5	0,0878	1,3379	5'	0,0852	1,3165
6	0,0897	1,3539	6'	0,0921	1,3742
7	0,0312	0,8637	7'	0,0287	0,8432
8	0,1104	1,5279	8'	0,1120	1,5407

#### 4.5. Evaluación de costos asociados a la determinación de licopeno con los métodos de extracción empleados

##### 4.5.1. Costos relacionados al método de extracción de fluido supercrítico

En los costos relacionados con este método se tomaron en consideración los costos de: la materia prima, el solvente extractor ( $\text{CO}_2$ ), el cosolvente utilizado y finalmente el costo energético.

Se tiene que para una extracción de FSC el costo final dio como resultado 150,86 Bs por extracción (Apéndice A) para ello se tomaron como parámetros influyentes la cantidad de materia prima liofilizada que se utiliza en una extracción, el flujo de solvente extractor, el cual fue fijado en 2 L/min; se realizó el costo del cosolvente utilizado tomando la máxima cantidad (2 mL) y finalmente se obtiene el costo energético tomando en cuenta los tiempos de extracción estático y dinámico, 20 y 45 min respectivamente. (Tabla 4.14)

**Tabla 4.14.** Costos asociados a las extracciones por Soxhlet y fluidos supercríticos

Costos Extracción por Soxhlet (Bs)				Costos Extracción por fluido supercrítico (Bs)	
<b>Materia Prima</b>	0,0075			<b>Materia Prima</b>	0,0075
<b>Solvente utilizado (300mL)</b>	Etanol	Fracción de hexano	Éter de petróleo	<b>Co-Solvente utilizado</b>	0,12
	18,00	66,38	85,88		
<b>Dedal de extracción</b>	15,00			<b>CO<sub>2</sub> utilizado</b>	140,00
<b>Energético</b>	14,85			<b>Energético</b>	10,73
<b>Total (Bs)</b>	47,86	96,24	115,74	<b>Total (Bs)</b>	150,86

El resultado obtenido para este método de extracción fue bajo ya que no se toma en consideración el equipo de extracción con fluido supercrítico el cual ya se encuentra en la Facultad de Ingeniería.

#### 4.5.2. Costos relacionados con el método de extracción continua sólido- líquido (SOXHLET)

Para la evaluación de los costos de los métodos de extracción se toman en consideración los siguientes parámetros, para la extracción por el método Soxhlet se consideró los costos energéticos, los costos de materia prima, costos de los reactivos utilizados y finalmente el costo de el dedal de extracción. Para el método de extracción por fluido supercrítico se considera el costo de la materia prima, el costo energético, el costo del cosolvente utilizado y el costo de la bombona de CO<sub>2</sub>. (Tabla 4.14)



Para calcular los costos en el método de extracción Soxhlet se considero cada uno de los solventes utilizados para realizar las extracciones y el costo energético de la plancha de calentamiento.

Como resultado se obtuvieron los siguientes valores, para la extracción utilizando etanol como solvente se obtuvo un costo de 47,86 Bs por extracción; para el uso de hexanos se obtuvo 96,24 Bs por extracción y finalmente para el uso de éter de petróleo como solvente se obtuvo 115,74 Bs igualmente por extracción. El calculo se realizo tomando en cuenta la cantidad máxima de solvente utilizado, es decir 300 mL.

La variación entre los costos es debido a los costos de los solventes, el éter de petróleo y hexanos son significativamente mas costosos que el etanol, además de ser muy difícil su compra.

Igualmente que el método anterior no se toma en cuenta los materiales de vidrio utilizado ya que este se encuentra en el Laboratorio de Alimentos de la Facultad de Ingeniería.

#### 4.6. Selección del método más adecuado para realizar la extracción de licopeno de la naranja Cara cara

A continuación se muestra una tabla comparativa entre ambos métodos:

**Tabla 4.15.** Comparación entre ambos métodos de extracción

Extracción por Soxhlet		Extracción por fluidos súper críticos	
<b>Rendimiento</b>	27,576%	<b>Rendimiento</b>	0,288%
<b>Concentración de licopeno</b>	8,9629 ppm	<b>Concentración de licopeno</b>	2,2313 ppm
<b>Costo por extracción</b>	47,86 Bs	<b>Costo por extracción</b>	150,86 Bs

Al tomar en cuenta los resultados obtenidos para ambos métodos de extracción se puede concluir que aunque se tenga un costo más alto, el método de extracción por Soxhlet es el más adecuado para realizar la extracción del licopeno. Con dicho método se obtuvieron los valores mas altos de rendimientos y concentración, cuando se utilizó



etanol como solvente, entre las tres cantidades de solvente utilizados se concluye que la máxima cantidad (300mL) del mismo es la más adecuada para realizar dicha evaluación de parámetros.

Cabe mencionar que para la extracción con fluido supercrítico se recomienda utilizar valores altos de presión y cantidad de cosolvente ya que para este método se obtuvieron, para estas condiciones, los valores más altos de rendimiento y cantidad de licopeno extraído.

Finalmente se seleccionó que el método más adecuado para realizar la extracción es el método Soxhlet, utilizando etanol como solvente con valores altos de cantidad de dicho solvente.



## CONCLUSIONES

De los resultados anteriormente discutidos, pueden extraerse las siguientes conclusiones:

De la determinación del rendimiento en las extracciones de licopeno en la naranja Cara cara, se puede concluir:

1. Para FSC los valores mas altos de rendimientos se obtuvieron utilizando los valores máximos de presión y cantidad de cosolvente.
2. En el método de extracción por Soxhlet utilizando el etanol se obtienen valores mayores de rendimientos.
3. En el método de extracción por Soxhlet utilizando el valor máximo de la cantidad de solvente se obtienen mejores valores de rendimiento.

De la determinación de la variable más influyente en los distintos métodos de extracción de licopeno en la naranja Cara cara mediante un diseño experimental, se puede concluir:

4. La variable más influyente en el método de extracción por Soxhlet es el tipo de solvente a utilizar.
5. La variable más influyente en el método de extracción por fluidos supercríticos es la presión y temperatura.

De la determinación de las mejores condiciones de operación para la extracción de licopeno en la naranja Cara cara, se puede concluir:

6. Las mejores condiciones de operación utilizando el método de extracción por Soxhlet es utilizar como solvente al Etanol y la cantidad de 300mL.
7. Las mejores condiciones de operación para el método de extracción por fluidos supercríticos son: Presión 431,066 bar y 64,1421 °C.



De la cuantificación del licopeno en los extractos de la naranja Cara cara, se puede concluir:

8. Se obtuvieron mayores valores de absorbancia y concentración utilizando etanol como solvente en el método de extracción Soxhlet.
9. Se obtuvieron mayores valores de absorbancia y concentración utilizando altos valores de presión y cantidad de co solvente en el método de extracción por fluido supercrítico.

De la evaluación de los costos asociados a la determinación de licopeno con los métodos de extracción empleados, se puede concluir:

10. La extracción por Soxhlet tiene un menor costo que la extracción por el método de fluido supercrítico.
11. El costo energético del método Soxhlet es mayor al obtenido por el método FSC.

De la selección del método más adecuado para realizar la extracción de licopeno de la naranja Cara cara, se puede concluir:

12. El método Soxhlet utilizando etanol como solvente es el método mas adecuado.



## RECOMENDACIONES

De la experiencia vivida a lo largo del trabajo de investigación, se recomienda:

1. Se recomienda utilizar bajos valores de temperaturas para evitar la degradación del licopeno.
2. Se sugiere no utilizar valores de temperaturas mayores a 60°C en el método de extracción por supercrítico para evitar que la muestra se queme.
3. Se recomienda realizar la extracción por el método Soxhlet en un tiempo de extracción de 6 horas aproximadamente.
4. Se aconseja que el baño recirculante en la extracción por fluido supercrítico se mantenga a bajas temperaturas (0 y 1°C) y con el máximo flujo.



## REFERENCIAS

1. AGARWALS. (1998) *"Tomato lycopene and low-density lipoprotein Oxidation: A human dietary intervention study"*. Lipids- Vol.33, No 10. Pág: 981.
2. AGARWAL A., RAO AV, (1999). *"Role of lycopene as antioxidant carotenoid in the prevention of chronic diseases: a review"*. Nutr Res. No 19. Pág.: 305-323.
3. ALQUEZAR, B., LORENZO Z., RODRIGO M. (2008), *"Regulation of carotenoid biosynthesis during fruit maturation in the red-fleshed orange mutant Caracara"*. Journal Phytochemistry-Vol. 69, No 10. Pág.: 1997-2007.
4. APUNTES CIENTIFICOS, (2010), *"Liofilización"* Fecha de consulta: 25 de enero de 2012.
5. ARMELLA M., FRANCO M., GUERRERO I., PELAYO C., SORIANO J., YAÑEZ M., (2007) *"Caracterización parcial del pigmento rojo del fruto de la Jiotilla"*. Revista Mexicana de Ingeniería Química- Vol. 6, No 1. Pág: 19-25.
6. ÁVILA, J. (2001), *"Química Orgánica"* Experimentos con un Enfoque Ecológico. 1era edición .México.
7. AVILAN R., LEAL, I., DORANTE, M., RODRIGUEZ, J. RUIZ, L., y TREJO, B. (1999). *"Caracterización y fonología de las mandarinas y similares de la colección del CENIAP"*. Fondo Nacional de Investigaciones Agropecuarias. Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias. Serie A, No. 14. Pág.:52.
8. AVILAN, L., RENGIFO, C. (1987) *"Los cítricos"*. Editorial América. Pág: 484.
9. BARQUER, M. (2004) *"Mecanismos y aplicaciones de la cromatografía líquida de alto desempeño"*. Primera edición. Editorial de la UCR. Costa Rica.
10. BELITZ, G. (1992) *"Química de los alimentos"*. Editorial Acribia. Pág: 256-266.
11. BECERRA S., MEDINA V., OROZCO M., PERÉZ O., ROBLES M., WILLIAMS T., ZAPIAÍN G. (2007) *"Fenología, eficiencia productiva y calidad de fruta de cultivares de naranjo en el trópico seco"*. Revista fiotecnia mexicana, vol 30, nº 002. Pág 133-143.
12. BRUNNER, G. (2005). *"Supercritical fluids: technology and application to food processing"*. Journal of Food Engineering, No 67. Pág.: 21-33.



13. CADONI, E., DE GIORGI, R., MEDDA, E., POMA, G., (2000) “*Supercritical CO<sub>2</sub> extraction of lycopene and B-carotene from ripe tomatoes*”. *Dyes and pigments*. Vol.27. N° 32.
14. CARDONA, E., RÍOS L., RESTREPO G.,(2006) “*Extracción del carotenoide licopeno en el tomate choncho(Lycopersicum esculentum)*”. *Revista Vitae*-Vol. 13, N° 2. Pág: 44-53.
15. CIENCIA HOY, (1997) “*Revista de Divulgación Científica y Tecnológica de la Asociación Ciencia Hoy*” Vol. 8, N° 43.
16. DAMIAN A. C., DE LA FUENTE. J. C., Del Valle, J. M., y (2005). “*Contributions to supercritical extraction of vegetable substrates in Latin America*”. *J. Food Eng.*, No 67. Pág: 35-57
17. FESSENDEN R., FESSENDEN J., (1983) “*Techniques and Experiments for Organic Chemistry* “. Willard Grant Press. Boston, EU.
18. FERNÁNDEZ, C., PITRE, A., LLOBREGAT, M., RONDÓN, Y., (2007) “*Evaluación del contenido de licopeno en pastas de tomate comerciales*” *Información tecnológica*. Vol 18, N° 3.
19. GARCÍA R. MORELIA M. (2005). “*Manual de Análisis de alimentos I*”. Editorial Valencia. España.
20. HART, F., FISCHER, H: (1992) “*análisis moderno de alimentos*”. Editorial Acribia. Pág: 542.
21. HOLMQUIST, J., SERPA, D. (1980) “*La naranja Cara cara*”. (mimeografiado). Maracay.
22. HUANG, W., LI, Z., NUI, H., LI, D., ZHANG, J., “*Optimization of operating parameters for supercritical carbon dioxide extraction of lycopene by response surface methodology*” *Journal of food engineering*. Vol. 298. N° 302.
23. HURTADO, B. A. M. (2002). “*Estudio del proceso de extracción de componentes minoritarios de aceite de oliva con CO<sub>2</sub> supercrítico en contracorriente*”, Tesis Doctoral. Universidad Autónoma de Madrid, Dpto. de Ing. Química, Madrid, España.
24. KAPLAN G., NYSSONEN K., RISSANEN, T. H., SALONEN, J. T., SALONEN, R., VOUTILAINEN, S., (2003). “*Serum lycopene concentrations and carotid*



- atherosclerosis: the Kuopio Ischaemic Heart Disease Risk Factor Study*". No 77. Pág.: 133-138.
25. KASSAMA, L., SHI, J., MITTAL, G., (2008) "*Optimization of supercritical fluid extraction of lycopene from tomato skin with central composite rotatable design model*" Science Direct. Vol. 278. N° 284.
26. MATISSEK, S. (1992) "*Análisis de alimentos*". Editorial Acribia. Pág: 209.
27. MARQUES M. O., MEIRELES M. A., PETENATE A. J. y ZANCAN K. C. (2002). "*Extraction of ginger (Zingiber officinale Roscoe) oleoresin with CO<sub>2</sub> and cosolvents: a study of the antioxidant action of the extracts*", J. Supercrit Fluids, No 24. Pág.: 57-76.
28. MCNAIR, HAROLD M. & MILLER, JAMES M. (1998). "*Basic Gas Chromatography*". Canada.
29. MONTGOMERY, D. (1991) "*Diseño Y Análisis De Experimentos*". Grupo Editorial Iberoamérica.
30. MONTGOMERY D., RUNGER G. (1996). "*Probabilidad y estadística aplicada a la ingeniería*". Mg Graw Hill. México. Pág. 686-697
31. MONTEVERDE E., RUÍZ J., RODRIGUEZ M. (2000) "*Caracterización morfológica del naranjo Caracara: características vegetativas, floral y de los frutos*". Revista Agronomía Trop-Vol. 50, No 4. Pág.: 659-663.
32. MOORE J., DALRYMPLE D., "*Experimental Methods in Organic Chemistry*". Second Edition W.B. Saunders Co. Philadelphia, 1976
33. NIELSEN S. (2003) "*Food Analysis Laboratory Manual*". Kluwer Academic Plenum Publishers, Nueva York.
34. OWEN, T. (2000) "*Fundamentos de la espectroscopia UV-visible moderna*". Agilent Technologies. Publicación Número 5980-1397ES, Alemania
35. PAVIA D., LAMPMAN G., KRIZ G. (1988) "*Introduction to Organic Laboratory Techniques*". Saunders College Publishing,
36. PRIMO, E. (1998). "*Química organica basica y aplicada: de la molecula a la industria*". Editorial Reverte. Pág: 864.
37. RAO L. (2003) "*Lycopene: Its role human health and disease*". Agrofood Industry High-Tech-No15. Pág: 25-30.



38. RAO, L. (2010) "*the bone building solution*". Editorial John Wiley and Sons. Capítulo 13. Pág: 349.
39. ROZZI, N. L. y R. K. SINGH. (2002). "*Supercritical Fluids and the Food Industry*", Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. No 1, Pág: 33-44.
40. SINCLAIR, W. (1961) "*the orange*". Division of agricultural sciences. Capítulo: 10. Pág: 302-331.
41. SKOOG, Douglas A. y LEARY, James J. (1994). "*Análisis Instrumental*". Armenia: McGraw-Hill. Pág. 84-481.
42. SKOOG, D., WEST, D., HOLLER, J., CROUCH, S. (2005) "*Fundamentos de Química Analítica*". 8va Edición. International Thomson Editores, S.A. México, páginas 959 – 982
43. TAYLOR, M. S. (1966). "*The future of citrus fruit in the fresh produce world. A discerning customer's view*". Proc. Int. Soc. Citreiculture No 1. Pág: 15-18
44. VENKET A. (2006). "*Tomatoes, Lycopene & Human Health - Preventing Chronic Diseases*". Caledonian Science Press.
45. VAUGHN, K., CLAUSEN, E., KING, J., HOWARD, L., CARRIER, D., (2008) "*Extraction conditions affecting supercritical fluid extraction (SFE) of lycopene from watermelon*" Science Direct. Vol. 7835. N° 7841.
46. CALENDARIO DE RECOLECCIÓN DE LA NARANJA CARACARA. Disponible en: <http://www.soyagricultora.com/naranja9.html>. Fecha de consulta: 22/01/2011.



# APÉNDICES



## APÉNDICE A

### CÁLCULOS TÍPICOS

En esta sección se exponen los modelos de cálculos típicos realizados para sustentar la investigación.

#### 1\_ Cálculo del rendimiento para el método de extracción con fluido supercrítico:

Desarrollando la ecuación I y considerando los valores obtenidos en las extracciones realizadas con este equipo, reportados en las tablas 4.3 y 4.4:

$$\eta = \frac{(m_{ell} - m_{ev})}{m_i} \cdot 100 \quad (I)$$

Donde:

$\eta$ : rendimiento de la extracción. (%)

$m_{ell}$ : masa del envase lleno. (g)

$m_{ev}$ : masa del envase vacío. (g)

$m_i$ : masa inicial. (g)

Sustituyendo en la ecuación:

$$\eta = \frac{(32,728g - 32,699g)}{10,057} \cdot 100 = 0,28835\%$$

Calculando el error:

$$\Delta\eta = \left| \frac{-1}{m_i} \cdot 100 \right| \cdot \Delta m_{ev} + \left| \frac{1}{m_i} \cdot 100 \right| \cdot \Delta m_{ell} + \left| \frac{-(m_{ell} - m_{ev})}{m_i^2} \cdot 100 \right| \cdot \Delta m_i \quad (II)$$

Donde:

$m_{ev}$ ,  $m_{ell}$ ,  $m_i$ : error de la balanza. (g)

$$\begin{aligned} \Delta\eta &= \left| \frac{-1}{10,057} \cdot 100 \right| \cdot 0,001 + \left| \frac{1}{10,057} \cdot 100 \right| \cdot 0,001 + \left| \frac{-(32,728 - 32,699)}{10,057^2} \cdot 100 \right| \cdot 0,001 \\ &= 0,019915 \approx 0,02 \end{aligned}$$

Finalmente da como resultado:

$$(0,28 \pm 0,02)\%$$



## 2\_ Cálculo del rendimiento para el método de extracción SOXHLET:

Utilizando la ecuación I y utilizando los valores reportados en las tablas 4.1 y 4.2 obtenidos en la extracción utilizando el método SOXHLET:

$$\eta = \frac{(m_2 - m_3)}{m_1} \cdot 100 \quad (I)$$

Donde:

%Extracción: rendimiento de la extracción. (%)

$m_1$ : masa de la muestra seca que se utilizara en la extracción. (g)

$m_2$ : masa del balón al finalizar la extracción. (g)

$m_3$ : masa del balón al principio de la extracción. (g)

Sustituyendo en la ecuación:

$$\eta = \frac{(144,8330g - 143,5519g)}{5,0089} \cdot 100 = 25,5764\%$$

Para calcular el error:

$$\Delta\eta = \left| \frac{-1}{m_1} \cdot 100 \right| \cdot \Delta m_3 + \left| \frac{1}{m_1} \cdot 100 \right| \cdot \Delta m_2 + \left| \frac{-(m_2 - m_3)}{m_1^2} \cdot 100 \right| \cdot \Delta m_1 \quad (II)$$

Donde:

$m_1, m_2, m_3$ : error de la balanza. (g)

$$\Delta\eta = \left| \frac{-1}{5,0089} \cdot 100 \right| \cdot 0,0001 + \left| \frac{1}{5,0089} \cdot 100 \right| \cdot 0,0001 + \left| \frac{-(144,8330 - 143,5519)}{5,0089^2} \cdot 100 \right| \cdot 0,0001$$

$$\Delta\eta = 0,0045035 \approx 0,005$$

Finalmente se tiene como resultado:

$$(25,576 \pm 0,005)\%$$



### 3\_ Cálculo de la concentración de licopeno extraída.

Utilizando la curva de calibración figura 3.3 (Fernández, 2007):

$$Y = 0,2386 \cdot X - 0,0718 \text{ (III)}$$

Donde:

Y: absorbancia (adim)

X: concentración (ppm)

Despejando la concentración de dicha ecuación:

$$X = \frac{Y + 0,0718}{0,2386} \text{ (IV)}$$

Sustituyendo los valores de extracción por el método soxhlet utilizando etanol como solvente y una cantidad de 200 mL de este en la ecuación IV:

$$X = \frac{Y + 0,0718}{0,2386} = \frac{0,88107 + 0,0718}{0,2386} = 3,993587$$

Dando como resultado la concentración de la muestra diluida:

$$X = (3,99359 \pm 0,00001) \text{ ppm}$$

Para el valor de la muestra concentrada, la cual es 50% mayor se realiza la siguiente operación:

$$X_{Conc} = X_{Dilu} \times 2 \text{ (V)}$$

Donde:

$X_{Conc}$ : concentración de la muestra concentrada (ppm)

$X_{dilu}$ : concentración de la muestra diluida (ppm)

Utilizando la ecuación tenemos que:

$$X_{Conc} = 3,99359 \times 2 = 7,98718$$

Dando como resultado:

$$X = (7,9872 \pm 0,00001) \text{ ppm}$$



#### 4\_ Cálculos de costos asociados al método de extracción por fluido supercrítico.

##### 4.1\_ Cálculo de costo de la naranja Caracara por cada extracción.

Para realizar las extracciones con FSC se utilizaron 10 g de muestra liofilizada, tal como se reporta en las tablas 4.3 y 4.4:

$$C_{mep} = C_{cantMP} \times C_{MP} \text{ (VI)}$$

Donde:

$C_{mep}$ : costo de la materia prima por extracción. (Bs)

$C_{cantMP}$ : cantidad de materia empleada en la extracción. (kg)

$C_{MP}$ : costo de la materia prima por unidad. (Bs/kg)

Sustituyendo:

$$C_{mep} = 0,0005kg \times \frac{15Bs}{kg} = 0,0075 Bs$$

##### 4.2\_ Cálculo del costo del solvente extractor.

Una bombona de  $CO_2$  tiene un valor de 140 Bs en la empresa Oxicar, para alcanzar la máxima presión de operación fue necesaria aproximadamente una bombona completa de este gas.

El costo del solvente extractor se colocara para llegar al máximo valor de presión, es decir 140 Bs.

##### 4.3\_ Cálculo del costo del co solvente utilizado.

$$C_{solvyi} = V_{solvx} \times C_{solvxi} \text{ (VII)}$$

Donde:

$C_{solvyi}$ : costo del solvente utilizado. (Bs)

$C_{solvxi}$ : costo del solvente utilizado. (Bs/L)

$V_{solvx}$ : volumen del solvente utilizado. (L)

Sustituyendo en la ecuación:

$$C_{solvyi} = 2mL \times \frac{240Bs}{4000mL} = 0,120 Bs$$



#### 4.4\_ Cálculo del costo energético.

$$P_{req} = \frac{V_{equipo} \times I_{equipo} \times t_{ext}}{1000} \text{ (VIII)}$$

Donde:

$P_{req}$ : potencia requerida (kWh)

$V_{equipo}$ : voltaje del equipo (V)

$I_{equipo}$ : intensidad del equipo (A)

$$C_{energ} = P_{req} \times C_{en} \text{ (IX)}$$

Donde:

$C_{energ}$ : costo energético por cada extracción. (Bs)

$C_{en}$ : costo de la energía eléctrica comercial. (Bs/kWh)

Sustituyendo en las ecuaciones:

$$P_{req} = \frac{220V \times 10A \times 65 \text{ min}}{1000} = 143 \text{ kWh}$$

$$C_{energ} = 143 \text{ kWh} \times \frac{0,075Bs}{kWh} = 10,725 \text{ Bs}$$

#### 4.5\_ Cálculo del costo final de la extracción.

Suma de todos los costos relacionados con el método de extracción utilizando fluidos supercríticos.

$$C_{FE} = C_{MPE} + C_{solvyi} + C_{solv} + C_{energ}(X)$$

Donde:

$C_{FE}$ : costo final de la extracción. (Bs)

Sustituyendo en la ecuación:

$$C_{FE} = 0,0075 \text{ Bs} + 140,00 \text{ Bs} + 0,12 \text{ Bs} + 10,725 \text{ Bs} = 150,8525 \text{ Bs}$$



## 5\_ Cálculos de costos asociados al método de extracción por SOXHLET.

### 5.1\_ Cálculo de costo de la naranja Caracara por cada extracción.

Para las extracciones con el método de soxhlet se utilizaron 5 g de muestra liofilizada, tal como se muestra en las tablas 4.1 y 4.2:

$$C_{mep} = 0,0005kg \times \frac{15Bs}{kg} = 0,0075 Bs$$

### 5.2\_ Cálculo del solvente utilizado.

Se calcula el costo de cada solvente utilizado por una extracción, el costo se determina con la cantidad máxima de solvente usado, utilizando la ecuación.

Sustituyendo en la ecuación VII, utilizando 300 mL de etanol:

$$C_{solvy1} = 300 mL \times \frac{240Bs}{4000mL} = 18 Bs$$

Sustituyendo en la ecuación VII, utilizando 300 mL de hexanos:

$$C_{solvy2} = 300 mL \times \frac{885Bs}{4000 mL} = 66,375 Bs$$

Sustituyendo en la ecuación VII, utilizando 300 mL de éter de petróleo:

$$C_{solvy3} = 300 mL \times \frac{1145Bs}{4000 mL} = 85,875 Bs$$

### 5.3\_ Cálculo del costo energético.

Utilizando las ecuaciones VIII y IX:

$$P_{req} = \frac{V_{equipo} \times I_{equipo} \times t_{ext}}{1000} \quad (VIII)$$

$$C_{energ} = P_{req} \times C_{en} \quad (IX)$$

Sustituyendo en las ecuaciones:

$$P_{req} = \frac{110V \times 5A \times 360 min}{1000} = 198kWh$$

$$C_{energ} = 198kWh \times \frac{0,075Bs}{kWh} = 14,85Bs$$



#### 5.4\_ Cálculo del costo del dedal de extracción.

El costo del dedal fue de 90 Bs. Al ser utilizado para 6 extracciones para un solvente su costo será:

$$C_d = \frac{C_{dt}}{6}$$

Donde:

$C_d$ : costo del dedal de extracción (Bs)

$C_{dt}$ : costo total del dedal de extracción (Bs)

Utilizando la ecuación:

$$C_d = \frac{90Bs}{6} = 15Bs$$

#### 5.5\_ Cálculo del costo final de la extracción.

Utilizando la ecuación XI de la siguiente manera:

$$C_{FE} = C_{MPE} + C_{dedal} + C_{solvi} + C_{energ}(X)$$

Donde:

$C_{dedal}$ : costo del dedal de extracción (Bs)

Sustituyendo en la ecuación los costos relacionados al método de extracción para cada solvente utilizado:

Utilizando etanol como solvente:

$$C_{FE1} = 0,0075Bs + 15 Bs + 18Bs + 14,85Bs = 47,8575 Bs$$

Utilizando hexanos como solvente:

$$C_{FE2} = 0,0075Bs + 15 Bs + 66,375Bs + 14,85Bs = 96,2325 Bs$$

Utilizando éter de petróleo como solvente:

$$C_{FE3} = 0,0075Bs + 15 Bs + 85,875Bs + 14,85Bs = 115,7325 Bs$$