



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE INGENIERÍA

CARRERA INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

“Extracción, purificación e identificación de carotenos del bagazo de la
zanahoria y su aplicación en un producto alimenticio”

Trabajo de Titulación para optar al título de Ingeniería Agroindustrial

Autor:

Escandón Mantilla Martha Marisol

Tutor:

Dra. Ana Mejía López

Riobamba, Ecuador. 2024

DERECHOS DE AUTORÍA

Yo, Martha Marisol Escandón Mantilla, con cédula de ciudadanía 2050012182, autor (a) (s) del trabajo de investigación titulado: **“Extracción, purificación e identificación de carotenos del bagazo de la zanahoria y su aplicación en un producto alimenticio”**, certifico que la producción, ideas, opiniones, criterios, contenidos y conclusiones expuestas son de mí exclusiva responsabilidad.

Asimismo, cedo a la Universidad Nacional de Chimborazo, en forma no exclusiva, los derechos para su uso, comunicación pública, distribución, divulgación y/o reproducción total o parcial, por medio físico o digital; en esta cesión se entiende que el cesionario no podrá obtener beneficios económicos. La posible reclamación de terceros respecto de los derechos de autor (a) de la obra referida, será de mi entera responsabilidad; librando a la Universidad Nacional de Chimborazo de posibles obligaciones.

En Riobamba, 19 de julio del 2024.



Martha Marisol Escandón Mantilla
C.I: 2050012182

DICTAMEN FAVORABLE DEL PROFESOR TUTOR

Quien suscribe, Dra Ana Mejía, catedrático adscrito a la Facultad de Ingeniería, por medio del presente documento certifico haber asesorado y revisado el desarrollo del trabajo de investigación titulado: **Extracción, purificación e identificación de carotenos del bagazo de la zanahoria y su aplicación en un producto alimenticio**, bajo la autoría de Martha Marisol Escandón Mantilla; por lo que se autoriza ejecutar los trámites legales para su sustentación.

Es todo cuanto informar en honor a la verdad; en Riobamba, a los 19 días del mes de julio de 2024.



Dra. Ana Mejía López

TUTOR

CERTIFICADO DE LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL

Quienes suscribimos, catedráticos designados Miembros del Tribunal de Grado para la evaluación del trabajo de investigación **“Extracción, purificación e identificación de carotenos del bagazo de la zanahoria y su aplicación en un producto alimenticio, presentado por Martha Marisol Escandón Mantilla**, con cédula de identidad número 2050012182, bajo la tutoría de Dra. Ana Mejía López; certificamos que recomendamos la APROBACIÓN de este con fines de titulación. Previamente se ha evaluado el trabajo de investigación y escuchado la sustentación por parte de su autor; no teniendo más nada que observar.

De conformidad a la normativa aplicable firmamos, en Riobamba 19 de julio 2024.

Presidente del Tribunal de Grado

PhD. Dario Baño



Firma

Miembro del Tribunal de Grado

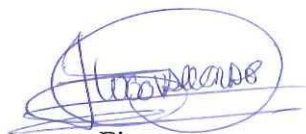
Ing. Daniel Luna



Firma

Miembro del Tribunal de Grado

Ing. Victor Valverde



Firma



Dirección
Académica
VICERRECTORADO ACADÉMICO



UNACH-RGF-01-04-02.20
VERSIÓN 02: 06-09-2021

CERTIFICACIÓN

Que, **MARTHA MARISOL ESCANDÓN MANTILLA** con CC: **2050012182**, estudiante de la Carrera **INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL, NO VIGENTE**, Facultad de **INGENIERÍA**; ha trabajado bajo mi tutoría el trabajo de investigación titulado **"EXTRACCIÓN, PURIFICACIÓN E IDENTIFICACIÓN DE CAROTENOS DEL BAGAZO DE LA ZANAHORIA Y SU APLICACIÓN EN UN PRODUCTO ALIMENTICIO"**, cumple con el **6%**, de acuerdo al reporte del sistema Anti plagio **TURMITIN**, porcentaje aceptado de acuerdo a la reglamentación institucional, por consiguiente autorizo continuar con el proceso.

Riobamba, 09 de julio de 2024



ANA HORTENCIA MEJIA
LOPEZ

Mgs. Ana Mejía López
TUTORA TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

DEDICATORIA

Este trabajo dedico a cada uno de mis seres queridos quienes han sido mis pilares fundamentales para seguir adelante sobre todo las personas más importantes de mi vida, mis padres Ricardo y Dolores que sin ellos no lo habría logrado y se han esforzado día a día para que pueda culminar mis estudios siendo mi mayor motivación.

A mi esposo, hijo y hermanos por ser mi apoyo incondicional y son la razón de sentirme orgullosa de culminar mis estudios.

A todas y cada una de las personas que, de una u otra manera, contribuyeron a que lograra esta meta que me propuse en la vida.

AGRADECIMIENTO

El principal agradecimiento a Dios quien me ha guiado y me ha dado la fortaleza para seguir adelante.

Me gustaría mostrar mi más sincero agradecimiento a mi familia quienes me han impulsado a perseguir mis metas y nunca abandonarlas frente a las adversidades.

A la Universidad Nacional de Chimborazo, Carrera Agroindustrial por darme la oportunidad de cumplir mi objetivo, a mis docentes por compartir sus conocimientos e inculcarnos ética profesional.

En especial a mi tutora Dra. Ana Mejía por guiarme con paciencia el desarrollo de esta investigación.

TABLA DE CONTENIDO

DERECHOS DE AUTORÍA	
DICTAMEN FAVORABLE DEL TUTOR Y MIEMBROS DE TRIBUNAL	
CERTIFICADO DE LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL	
CERTIFICADO ANTIPLAGIO	
DEDICATORIA	
AGRADECIMIENTO	
ÍNDICE GENERAL	
ÍNDICE DE FIGURAS	
ÍNDICE DE TABLAS	
RESUMEN	
ABSTRACT	
CAPÍTULO I. INTRODUCCION.....	14
1.1 Antecedentes.....	14
1.2. Planteamiento del problema.....	15
1.3. Justificación.....	15
1.4. Objetivos.....	16
1.4.1. General.....	16
1.4.2. Específicos.....	16
CAPÍTULO II. ESTADO DE ARTE Y MARCO TEÓRICO.....	17
2.1 Estado de arte.....	17
2.2. Marco teórico.....	21
2.2.1. Aspectos generales de la zanahoria.....	21
2.2.2. Tipos de zanahoria.....	23
2.2.3. Valoración nutricional.....	24
2.2.4. Los carotenoides y el β -caroteno.....	26
2.2.5 Propiedades de los carotenoides.....	27
2.2.6 Clasificación de los carotenoides.....	28
2.2.7 Métodos de extracción.....	29
2.2.8 Colorantes alimentarios.....	32
2.2.9 Cromatografía.....	33
CAPÍTULO III. METODOLOGIA.....	37
3.1 Tipo de Investigación.....	37
3.2. Diseño de investigación.....	37
3.2.1. Recolección de la muestra y lugar de ejecución.....	37
3.2.2. Técnica de recolección de datos.....	37
3.2.3. Métodos de análisis.....	37
3.2.4. Procedimientos.....	38
3.2.5. Identificación de carotenos por espectroscopia UV-Visible.....	39
3.2.6. Separación por cromatografía en columna.....	39
3.2.7. Aplicación en productos alimenticios.....	41
3.2.8. Procesamiento de datos.....	41
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	42
4. Extracciones del colorante.....	42

4.1. Identificación de los carotenos por espectrofotometría UV-visible	43
4.2. Separación de carotenos por cromatografía en columna	47
4.3. Aplicación del colorante en los productos alimenticios	49
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	52
5.1. CONCLUSIONES	52
5.2. RECOMENDACIONES	52
BIBLIOGRAFÍA	54
ANEXOS	66

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Espectro de absorción ultravioleta/visible general para los carotenoides	19
Figura 2 Espectro de los carotenoides en la zanahoria	19
Figura 3 Espectro Cis beta caroteno	20
Figura 4 Carotenoides más comunes en la naturaleza	27
Figura 5 Espectros de patrones de carotenos	29
Figura 6 Procedimiento de columna cromatográfica	35
Figura 7 Espectro de absorción de pigmentos vegetales	36
Figura 8 Proceso de obtención de carotenos	38
Figura 9 Empaquetamiento de la columna de cromatografía	41
Figura 10 Espectros obtenidos los 3 métodos de extracción	44
Figura 11 Espectros del β -caroteno	45
Figura 12 Espectros de patrones de alfa caroteno, β -caroteno y luteína	45
Figura 13 Espectros de los isómeros del β -caroteno	47
Figura 14 Espectros de las fracciones tomadas por cromatografía en columna abierta	49
Figura 15 Aplicación en yogur natural	50
Figura 16 Aplicación en crema chantilly	50

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Contenido de β -caroteno en zanahorias deshidratadas	18
Tabla 2 Clasificación taxonómica de la zanahoria	23
Tabla 3 Composición nutricional de la zanahoria	26
Tabla 4 Técnica de extracción Ventajas Desventajas	31
Tabla 5 Equipos, reactivos y materiales	37
Tabla 6 Cantidad de colorante obtenido	42
Tabla 7 Espectros de absorción ultravioleta/visible	46
Tabla 8 Longitud de onda de absorción ultravioleta/visible	48

RESUMEN

En la actualidad el uso de colorantes en los productos alimenticios representa un factor fundamental, sin embargo, el utilizar colorantes artificiales se ha demostrado efectos perjudiciales en la salud por lo que la opción es utilizar colorantes naturales. Por otra parte, la generación de desechos de la extracción del zumo de zanahoria es alto y se puede aprovechar en la obtención de sus pigmentos naturales para ser usados como aditivos alimentarios, por lo cual, el objetivo general de este trabajo fue extraer, purificar e identificar los carotenos del bagazo de la zanahoria para su aplicación en un producto alimenticio. Las muestras se obtuvieron de puestos de venta de jugos naturales de la ciudad de Riobamba. El bagazo (desperdicio) en estado húmedo y seco fue sometidas a ensayos de extracción utilizando el método de inmersión en etanol, el método termostático en etanol y método soxhlet utilizando como solvente el hexano, una vez recuperado el solvente se calculó el rendimiento, se purificó e identificó el tipo de colorante. De los tres métodos el que proporcionó mayor rendimiento es por el método extracción por soxhlet, con un valor medio de 29,73 mg de colorante/100g de bagazo de zanahoria en muestra húmeda y de 23,34 mg/100g en muestra seca. Se identificó mediante los espectros obtenidos por espectrometría de absorción UV-visible que el colorante extraído y las fracciones después de pasar por cromatografía de columna abierta corresponden al β -caroteno exclusivamente al 13-cis-beta-caroteno, esto debido a que los carotenos son compuestos muy sensibles a la luz y a la temperatura lo que pudo generar la isomerización o degradación de la molécula como lo indican varios autores, siendo también está la causa por lo que se obtuvieron mejores rendimientos de colorante al extraer en muestra húmeda que en muestra seca. Se aplicó el colorante en el yogur y crema chantilly, dando un color amarillo sin alterar el sabor ni olor característico de las muestras, se concluye que la obtención del producto beta caroteno a partir de desecho generado de la comercialización de jugos de zanahoria es factible y considerando lo que indica Clementz et al.(2019) de que existe hasta un 50% de desperdicio en esta actividad y que el colorante β -caroteno natural puede llegar hasta un valor de venta de 500 USD por kilogramo, se recomienda realizar un estudio de la cantidad de desperdicios en los mercados de la ciudad y la factibilidad de su producción y comercialización.

Palabras claves: colorante, zanahoria, carotenos.

Abstract

Nowadays, the use of colorants in food products represents a fundamental factor; however, artificial colorants have been shown to harm health, so the option is to use natural colorants. On the other hand, the generation of waste from the extraction of carrot juice is high and can be used to obtain its natural pigments to be used as food additives. Therefore, the general objective of this work was to extract, purify, and identify carotenes from carrot bagasse for its application in a food product. Samples were obtained from natural juice stands in the city of Riobamba. The bagasse (waste) in wet and dry state was subjected to extraction tests using the ethanol immersion method, the thermostatic method in ethanol, and the soxhlet method using hexane as a solvent; once the solvent was recovered, the yield was calculated, and the type of colorant was identified. Of the three methods, the one that provided the highest yield was the soxhlet extraction method, with an average value of 29.73 mg of dye/100g of carrot bagasse in the wet sample and 23.34 mg/100g in the dry sample. It was identified using the spectra obtained by UV-visible absorption spectrometry that the extracted colorant and the fractions after passing through open column chromatography correspond to β -carotene exclusively to 13-cis-beta-carotene; this because carotenes are compounds very sensitive to light and temperature, which could generate the isomerization or degradation of the molecule as indicated by several authors, being also the reason why better yields of colorant were obtained when extracting in wet sample than in dry sample. The colorant was applied in yogurt and whipped cream, giving a yellow color without altering the flavor or characteristic odor of the samples. It is concluded that obtaining the beta-carotene product from waste generated from the commercialization of carrot juices is feasible and considering what Clementz et al. (2019) that there is up to 50% waste in this activity and that the natural β -carotene colorant can reach a sales value of 500 USD per kilogram, it is recommended to conduct a study of the amount of waste in the city's markets and the feasibility of its production and commercialization.

Keywords: colorant, carrot, carotenes.



Reviewed by:
Lic. Jenny Alexandra Freire Rivera
ENGLISH PROFESSOR
C.C. 0604235036

CAPÍTULO I. INTRODUCCION.

1.1 Antecedentes

El cultivo de zanahoria en Ecuador ha experimentado un importante crecimiento en los últimos años tanto en superficie como en producción. La zanahoria se produce en las provincias de Pichincha, Cotopaxi, Tungurahua, Bolívar y Chimborazo. Esta última provincia es la que más origina este tubérculo, al año produce 10.300 toneladas, siendo la producción total en el Ecuador de 28.130 toneladas anuales. La mayor parte de la producción de zanahoria es para consumo interno. Solo se exporta un 3,9%, que corresponde a la variedad conocida como “*Baby carrot*” (zanahoria bebé), tanto fresca como congelada (Gavilanez, 2015).

La zanahoria contiene varios pigmentos naturales que le dan su característico color, que pueden variar desde el amarillo hasta el rojo y son conocidos como carotenoides que también tienen actividad de provitamina A. Estos compuestos son poco o nada solubles en agua. Desde el punto de vista químico, pertenecen a la familia de los terpenos, es decir están formados por unidades de isopreno (ocho unidades, es decir, cuarenta átomos de carbono), y su biosíntesis se produce a partir de isopentenil pirofosfato (Mancilla et al., 2020).

Se han identificado más de 600 carotenoides en la naturaleza, y aproximadamente al año se sintetizan 100 mil toneladas de carotenoides de fuentes naturales (Rojas, 2018).

Actualmente la industria se ha visto sujeta a cambios debido a que los consumidores están optando por formulaciones más naturales, reemplazando los colorantes sintéticos, debido a que varios estudios mencionan efectos perjudiciales para la salud. Los colorantes usados en los alimentos son elaborados de tal manera que mantienen las propiedades sensoriales y de color durante la vida útil del alimento (Guartán, 2021).

Existe muchas técnicas de extracción de β -caroteno a partir de la zanahoria, entre los métodos más destacados se encuentran el convencional con solventes (CSE), el cual incluye la extracción convencional Soxhlet (SE), y los métodos de extracción no convencionales, conformados por la extracción asistida con microondas (MAE), la extracción asistida con ultrasonido (UAE), la extracción con fluidos supercríticos (SFE) y la extracción asistida con enzimas (EAE) (Kyriakopoulou et al., 2015).

Para identificación y cuantificación de los carotenos, existen varias técnicas analíticas que se utilizan en la investigación y la industria, una de las técnicas es la Espectroscopía UV-Vis, los carotenos absorben luz en el rango UV-Visible debido a la presencia de muchos dobles enlaces conjugados y de un buen número de ramificaciones de grupos metilo situados en posiciones constantes que posee su estructura permitiendo la medición de la absorbancia a diferentes longitudes de onda. Otras técnicas son la cromatografía de HPLC, la Espectrometría de Masas (MS), la Espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear (RMN), la espectroscopía Raman, de tal manera que la

elección de la técnica depende del objetivo específico de la investigación y de los recursos disponibles.

1.2. Planteamiento del problema

A nivel mundial, la preocupación por el aprovechamiento de residuos ha tomado gran fuerza entre la comunidad científica y a nivel industrial. Sin embargo, los residuos sólidos de zanahoria generados en las transformaciones agroindustriales y por las pérdidas postcosecha aún no han sido aprovechados eficientemente, en parte por desconocimiento y por la falta de métodos apropiados para la extracción de carotenoides. (Chamorro & Rossellini, 2017)

La industria del jugo de zanahoria genera gran cantidad de subproductos (bagazo) que son subutilizados, provocando contaminación ambiental. Se ha reportado que estos subproductos pueden ser una fuente importante de compuestos bioactivos, tales como los carotenoides. (Aguilar, 2017)

La extracción, purificación e identificación de carotenos a partir del bagazo de la zanahoria es de gran interés para los estudiantes de la carrera de Agroindustria. Este proceso busca conocer la composición de carotenos presentes en el bagazo, identificar el método más eficiente para extraer y purificar estos compuestos, y analizar los diferentes tipos de carotenos mediante espectroscopia UV-visible. Además, se pretende aplicar estos carotenos en productos alimenticios.

1.3. Justificación

El consumo de frutas y verduras provee al cuerpo humano nutrientes, vitaminas, fibra y compuestos antioxidantes con alto valor nutricional. Estos alimentos son procesados, generalmente, en jugos, purés o concentrados, dejando como subproductos cáscaras y demás residuos que contienen compuestos valiosos bioactivos que pueden utilizarse para producir alimentos funcionales o ingredientes activos en la industria farmacéutica (Sharmin et al., 2016).

La búsqueda de un enfoque hacia los procesos de “cero desechos” junto con la economía circular son temas de interés actual, a través del aprovechamiento de los desperdicios de frutas y verduras, y su posterior valorización (Ojha; Aznar; O’Donnell; Tiwari, 2020), permitiendo, incluso, una reducción de los costos de los recursos naturales por medio de la reutilización de estos desechos (Kumari et al., 2019).

El tema propuesto para este trabajo de investigación sobre la extracción, purificación e identificación de carotenos del bagazo de la zanahoria y su aplicación en un producto alimenticio se justifica debido a que el bagazo de la zanahoria es una parte que a menudo se desecha después de extraer el jugo de las zanahorias, al investigar y utilizar los carotenos presentes en el bagazo, se contribuirá al aprovechamiento sostenible de los recursos vegetales. Por otra parte, al utilizar estos colorantes naturales en reemplazo de los colorantes artificiales en alimentos es esencial en la actualidad debido a que disminuyen riesgos de enfermedades.

1.4. Objetivos

1.4.1. General

- Extraer, purificar e identificar los carotenos del bagazo de la zanahoria para su aplicación en un producto alimenticio.

1.4.2. Específicos

- Obtener los pigmentos naturales del bagazo de la zanahoria por diferentes métodos.
- Separar los tipos de carotenos por cromatografía de columna
- Identificar los carotenos por espectrofotometría UV-visible
- Aplicar el colorante natural obtenido en el yogur y crema chantilly.

CAPÍTULO II. ESTADO DE ARTE Y MARCO TEÓRICO.

2.1 Estado de arte

Guartán & Arturo (2021) en su estudio “Colorantes a partir de fuentes naturales” luego de la extracción del jugo reporta un rendimiento del subproducto (bagazo) de 46,11 % en base húmedo y en base seca de 5,64%. La extracción de colorante a partir de bagazo lo realizó por maceración por 3 métodos utilizando 69,714 g de muestra y 1000 ml de solvente, de la siguiente forma: Extracción 1: Maceración con etanol al 95 % durante 48 h donde la agitación durante el tiempo de la extracción fue esporádicamente. Extracción 2: Maceración dinámica con etanol al 95 % en frasco Boeco se llevó a baño maría a 40 °C y se agitó continuamente el extracto por 4 horas. Extracción 3: Maceración dinámica etanol-agua (50:50) La solución se llevó a baño maría a 40 °C por 4 horas y la agitación fue constante durante todo el proceso. Los extractos se filtraron utilizando vacío y se almacenaron en refrigeración hasta el posterior proceso de atomizado El porcentaje de sólidos totales en la extracción fueron 1,01 % , 1,70 % y 15,34% respectivamente.

Herrera (2018) en la práctica “Extracción y separación por cromatografía de lípidos carotenos en la auyama” indica que, para la extracción y separación de los carotenos, se utilizaron 10 gramos de muestra las cuales se picaron y se les extrajeron los pigmentos vegetales por medio de alcohol al 95% hasta dejar las muestras incolora. Luego se Agitó la solución en un embudo de separación con 25 ml de éter de petróleo, para que se separe en 2 capas, la superior de éter que lleva los carotenos y la inferior las xantofilas. Después a los carotenos se les realizó una separación para obtener sus 3 tipos de componentes, es decir los alfa, beta y gama carotenos.

Jácome (2022) en su tesis de Magister titulado “Evaluación del proceso de encapsulación mediante secado por aspersión para la conservación de betacarotenos contenidos en la *Daucus carota* var. chantenay (zanahoria) de rechazo de poscosecha de Agrocomercial Don Luis” indica que el valor del rendimiento del zumo de zanahorias de rechazo es alto y aprovechable, recalando que se utilizaron zanahorias sanas, limpias, pero con tamaños fuera de especificación (con longitudes mayores a 165 mm y menores a 85 mm), zanahorias deformadas (aquellas con raíces con bifurcaciones y/o malformaciones), libres de plagas y grietas, tomando en cuenta que en el Ecuador existe un alto porcentaje de alimentos que son rechazadas debido a que no cumplen con las especificaciones necesarias para su comercialización, pero estos se pueden emplear para otros fines, como es el caso de las zanahorias, de las que se puede aprovechar el 43.59% como zumo de este rechazo para posteriormente obtener compuestos beneficiosos para el consumo humano como es el caso del betacaroteno el cual es precursor de vitamina A, ingrediente potencialmente funcional para la elaboración de suplementos alimenticios. Igualmente reporta una concentración de betacarotenos en el zumo de 17.89 mg/100 g cuantificado por HPLC

Orrego (2019) en su estudio “Evaluación de la factibilidad técnico-financiera para el proceso de extracción de β -caroteno partiendo de desechos de zanahoria variedad chantenay (*Daucus carota* L.)” indica que, cualquier tipo de tratamiento asociado a la eliminación del agua de las zanahorias representa una pérdida en el contenido de sus compuestos bioactivos, en este caso, el β -caroteno; sin embargo el secado es esencial, puesto que el β -caroteno es un compuesto oleosoluble y al no tener una humedad baja el rendimiento de extracción final se vería comprometido como se observa en la tabla 1:

Tabla 1

Contenido de β -caroteno en zanahorias deshidratadas

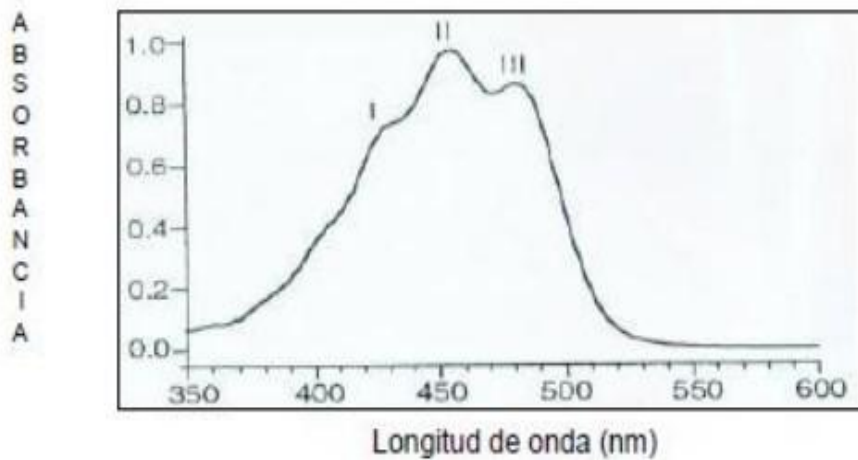
	β -caroteno mg/100 g	Pérdida de caroteno, %
Zanahorias frescas	39.8 \pm 0.810	0
Cortes de zanahoria deshidratada	24.7 \pm 0.73	37.0
Tiras de zanahoria deshidratada	22.5 \pm 0.68	43.0
Zanahoria pulverizada	23.9 \pm 0.24	40.0

Nota. Tomado de Orrego (2019)

En cuanto a las propiedades espectroscópicas, la presencia del extenso número de dobles enlaces conjugados y la presencia de diferentes grupos funcionales de la cadena polienoica de los carotenoides conforma un cromóforo que determinan las características espectroscópicas propias de cada pigmento. Así los de menor cantidad de dobles enlaces son de tono amarillo y los de mayor son de tono rojo. El espectro visible de los carotenoides va desde los 400 nm hasta los 500nm, se observa en mayor cantidad alrededor de los 450nm y generalmente se aprecian dos máximos de absorción a cada lado como se observa en la figura 1 del espectro de absorción de los carotenoides, además su posición de máxima absorción puede variar dependiendo de la interacción de estas moléculas con el solvente o el medio lipídico en el cual ha sido disuelto. En general, los solventes de baja polaridad poseen poco efecto sobre la posición de máxima absorción, por ello para un determinado carotenoide, los valores de longitud máxima son casi idénticos en el hexano, dietil éter, metanol y etanol (García & Reyes, 2017).

Figura 1

Espectro de absorción ultravioleta/visible general para los carotenoides

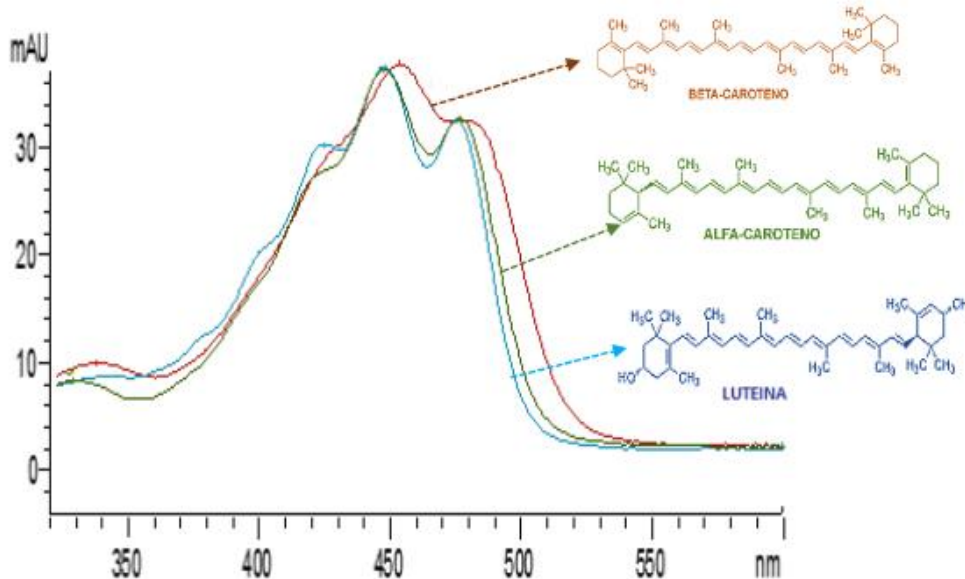


Nota: Extraído de (García & Reyes, 2017)

En la figura 2 se puede ver los espectros de carotenoides de zanahoria α -caroteno, β -caroteno y luteína extraídos por CO_2 -supercrítico.

Figura 2

Espectro de los carotenoides en la zanahoria.



Nota: Extraído de Chamorro (2017)

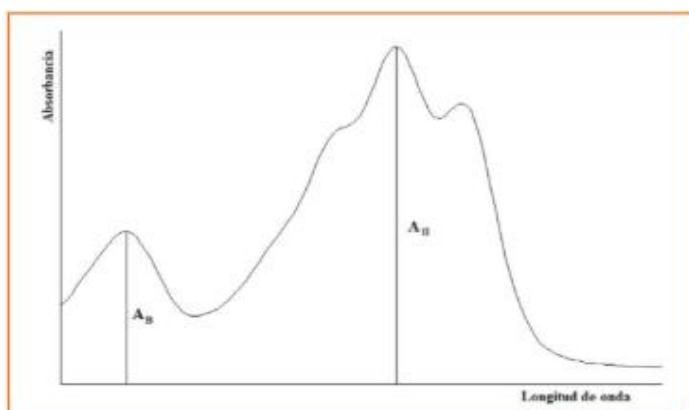
En la investigación “Efecto de la presión y temperatura en la extracción por CO_2 supercrítico de carotenoides de zanahoria” realizada por Chamorro (2017) indica que la degradación de los carotenoides se debe fundamentalmente a reacciones de oxidación, ya sean no enzimáticas o debidas a enzimas como las lipoxigenasas, y se presenta generalmente durante el secado. La interacción de los carotenoides con algunos constituyentes de los alimentos ejerce un efecto protector contra dichas reacciones, de tal

forma que se oxidan más rápidamente cuando se extraen del fruto o se purifican. En presencia de oxígeno se produce una degradación oxidativa, a menudo paralela a la oxidación de lípidos. La tasa de oxidación depende de la presión parcial de oxígeno, actividad del agua y temperatura. Los carotenoides, en general son más estables en sistemas con elevado grado de insaturación, ya que el propio sistema acepta más fácilmente oxígeno y radicales libres, antes que el carotenoide. Inversamente, en sistemas con lípidos saturados los carotenoides presentan mayor inestabilidad. Los carotenoides que contienen 9 o más dobles enlaces conjugados pueden inactivar ciertas formas reactivas de oxígeno, como el oxígeno singlete. En este sentido, el β -caroteno posee como característica importante, que lo diferencia del resto de antioxidantes solubles en grasas (como la vitamina E), la de ser más efectivo a bajas presiones de oxígeno.

Pueden existir asimismo distintos isómeros geométricos (cis/ trans o, más correctamente, Z/E) de carotenoides. Normalmente los carotenoides naturales se encuentran en su mayoría como isómeros todo-trans (todo-E), que suelen ser más estables. El espectro de absorción de isómeros Z presenta algunas diferencias con respecto al de los correspondientes isómeros todo-E. Por ejemplo, los máximos de absorción ($\lambda_{\text{máx}}$) aparecen a longitudes de onda 2-6 nm menores en el caso de isómeros mono-Z e incluso aproximadamente 10 nm menores en el caso de di-Z. Por otra parte, la nitidez de las bandas de absorción disminuye (menor estructura fina) y aparece una nueva en la región ultravioleta, aproximadamente a 142 nm por debajo de la correspondiente al tercer máximo de absorción en la región visible en hexano. Cuanto más cercano esté el doble enlace Z al centro de la molécula, mayor es la intensidad de esta banda figura 3 Meléndez-Martínez (2017)

Figura 3

Espectro Cis beta caroteno



Nota. Representación de la intensidad de la banda cis del espectro con respecto a la de la banda principal de absorción (Meléndez-Martínez, 2017)

El proyecto de investigación de Martínez (2019) “Extracción y caracterización de un colorante a partir del Sangorache (*Amaranthus hybridus* L.) aplicado en un yogur natural”, tuvo como finalidad otorgar una mejor calidad de alimentación y dar un mejor uso a las plantas nativas de las diferentes comunidades y así disminuir el consumo de

bebidas con productos cancerígenos. Para la obtención del colorante natural se aplicó el método Soxhlet obteniendo un color rojo-violeta característico de la planta. Se pudo determinar que el mejor tratamiento y con más cantidad de antocianinas es el tratamiento que se lo extrajo con tallos y flores con una relación de (75% y 25%) y alcohol etílico con una concentración del 95%, dando como resultado un colorante con características similares al colorante sintético comercial.

En el estudio titulado “Obtención de un colorante a partir de corteza de maracuyá con el uso de técnicas convencionales de extracción” realizado por Tarazona et al. (2020) se exploró la posibilidad de obtener un colorante a partir de la corteza del maracuyá utilizando técnicas tradicionales de extracción, este estudio demostró que la corteza contiene carotenoides, incluyendo el β -caroteno y la luteína, que podrían ser utilizados en alimentos debido a su poder antioxidante y como colorantes naturales alternativos. Para lograr esto, se evaluaron tres técnicas de extracción con etanol: inmersión, baño termostático y soxhlet. El método soxhlet resultó en el mayor rendimiento. Se estudiaron diferentes condiciones, como la concentración de etanol (entre 80% y 90% v/v), la proporción solvente-materia prima (con relaciones entre 40:1 y 50:1) y el tiempo de extracción (definido entre 90 y 150 minutos). Los resultados se analizaron mediante un modelo de superficie de respuesta, y se obtuvo el mayor rendimiento utilizando etanol al 90%, con una proporción de 50 ml de solvente por gramo de corteza y un tiempo de operación de 150 minutos. Bajo estas condiciones, el rendimiento de extracción fue de 2208,53 μ g de β -caroteno por cada 100 g de muestra.

En el estudio sobre una revisión bibliográfica de uso de colorantes alimentarios (artificiales y naturales) y su impacto en la salud, de Hidalgo (2022) concluye que: en la industria alimentaria el color de los productos es una característica importante ya que de ésta depende, en gran medida, la atracción hacia el consumidor y que en la literatura se ha identificado diversas opiniones en su gran mayoría negativas en función a los colorantes sintéticos, en cuanto a la generación de diversos problemas de salud como, Alzheimer, TDAH, daño neurológico, hasta la irritabilidad, alergias, reducción de la flora intestinal, perturbación del metabolismo de la glucosa, colitis, entre otras. De la misma manera en referencia a los colorantes naturales se ha destacado propiedades anticancerígenas, antioxidantes, antiinflamatorias, y antitumorales algo positivo en enfermedades cardiovasculares y neurodegenerativas

2.2. Marco teórico

2.2.1. Aspectos generales de la zanahoria

La zanahoria es una planta de la que se ingiere la raíz, pudiendo medir la planta hasta un metro de altura. Se conoce con el nombre común de Zanahoria, pero su nombre científico o latino es *Daucus carota*. Pertenece a la familia botánica de las Umbelíferas al igual que el apio y el hinojo. La zanahoria es una especie originaria de Asia central y del Mediterráneo. Ha sido cultivada y consumida desde hace siglos por griegos y romanos. (Bonduelle, 2020)

La zanahoria es una hortaliza que se cultiva todo el año, aunque dependiendo de la época de cultivo sus características son diferentes. Tiene un alto contenido agua, fibra e hidratos de carbono bastante superior al de otras hortalizas. La zanahoria se destaca principalmente por su contenido en vitamina A, una zanahoria de tamaño medio cubre el 89% de las necesidades diarias de vitamina A para hombres de 20 a 39 años y el 112% para mujeres de la misma edad, concretamente la zanahoria tiene carotenoides con actividad provitamínica A, es decir, que una vez ingeridos se transforman en vitamina. (Carreira, 2021)

El producto natural, no procesado, se utiliza cocido en ensaladas frías, en ensaladas crudas, en sopas, asadas, hervidas, cocidas al vapor o fritas al dante. Debido a su alto contenido en azúcares, las zanahorias también son utilizadas en repostería para elaborar flanes, magdalenas y tartas, así como mermeladas. Las zanahorias licuadas se usan en zumos y cócteles. (EcuRed, 2018)

La zanahoria es considerada alcalinizadora, anticancerígena, antiparasitaria, antiséptica y bloqueador de rayos ultravioletas del sol, considerado como filtro solar. Su capacidad para contrarrestar los ácidos y toxinas del organismo mediante el calcio, sodio, potasio, magnesio, etc. Beneficia a la población para el cuidado de la salud. (Mercado, 2020)

Consumo mundial de zanahoria es de aproximadamente 37 millones de toneladas anuales, de las cuales un 11 % pertenece a los residuos de su procesamiento compuesto, principalmente, por la epidermis, tubérculos y trozos de fruto adheridos (de Andrade, Charalampopoulos, & Chatzifragkou, 2018).

En países de América y Europa la generación de desechos es un problema común, ya que entre el 15-20 % de estos son destinados al consumo animal y el restante es descartado hasta su descomposición, generando olores ofensivos y proliferación de insectos y plagas (Clementz et al., 2019).

La fuente principal que origina subproductos de zanahoria es la producción de jugo, la cual crea una gran cantidad de pulpa (Tyler, El- Mashad, Zhang, & Pan, 2019). Algunas cifras indican que hasta el 50 % de la pulpa de zanahoria usada para producción de jugo se obtiene como desperdicio. Este volumen es usado posteriormente como alimento animal o, incluso, descartado (Tiwari, Upadhyay, Singh, Meena, & Arora, 2019), a pesar de ser rico en contenido de β -caroteno (Purohit & Gogate, 2015).

Gracias al gran volumen de producción y procesamiento de la zanahoria y el fácil acceso a sus desperdicios de bajo costo, podría ser una alternativa potencial para obtener pigmentos naturales de alto valor económico y reducir su impacto ambiental (Mirheli & Dinani, 2018). En Latinoamérica el mercado de los compuestos valiosos de la zanahoria, como el β -caroteno, puede llegar hasta un valor de venta de 500 USD por kilogramo (Clementz et al., 2019).

El per cápita de consumo de zanahoria en Ecuador es de 1,64 kg/año y se cultiva en las principales provincias de Chimborazo, Cotopaxi y Tungurahua, en las cuales se aporta el 94 % de la producción nacional. (Campos, 2022).

Según Eroski (2024) las características de la zanahoria son:

- Forma: es una raíz gruesa y alargada, por lo general cónica, de mayor o menor longitud según la variedad a la que corresponda.
- Tamaño y peso: las más consumidas suelen tener un tamaño de 15 a 17 centímetros y, según la variedad, pueden alcanzar hasta los 20 centímetros de largo. Su peso oscila entre los 100 y 250 gramos.
- Color: por lo general es naranja, aunque existen variedades de color blanco, rojo o amarillo. Incluso algunas de origen asiático tienen la piel de color morado.
- Sabor: cuando son tiernas y frescas tienen un sabor delicado con un gusto ligeramente dulce.

En tabla 2 se describe la clasificación taxonómica de la zanahoria.

Tabla 2

Clasificación taxonómica de la zanahoria

Categoría	Nombre científico y común
Reino	Vegetal
Clase	Angiosperma
Subclase	Dicotyledoneae
Orden	Umbelliflorae
Familia	Umbelliferae
Genero	<i>Daucus</i>
Especie	<i>D. carota L.</i>
Nombre binomial	<i>Daucus carota L.</i>
Nombre común	Zanahoria

Nota. Extraído de Rodríguez (2020)

2.2.2. Tipos de zanahoria

Se pueden clasificar atendiendo a diferentes factores:

1. Según su forma y tamaño se clasifican en cortas, Semi-largas o intermedias y largas cuyas características según Integra (2021) son:
 - Cortas. Se trata de variedades de cultivo temprano que tienden a formas redondeadas. Su longitud suele ser menor de 10 cm.

- Semi-largas o intermedias. Son las más comunes, de forma cilíndrica y gruesa con piel lisa en tonos naranjas intensos. Miden entre 10-20 cm
- Largas. Acaban en punta y superan los 20 cm de longitud. Habitualmente se utilizan para la comercialización.

2. Según su color cuyas características son tomadas de Amigo (2018):

- Blancas. Apenas presentan pigmentos vegetales, y por eso su color es tan pálido y el sabor tan suave.
- Amarillas. Suelen tener un sabor más dulce que las variedades de otros colores. En estas el pigmento mayoritario son las xantófilas.
- Anaranjadas. Muy ricas en betacarotenos (pro-vitamina A), de hecho, estos pigmentos reciben el nombre en latín de la zanahoria "carota".
- Rojas. Similares a las anaranjadas, pero más oscuras. Contienen gran cantidad de licopenos.
- Violáceas. Muy ricas en antocianinas, un antioxidante natural que también se encuentra en otros frutos de color morado, como los arándanos o en el vino tinto, pero que pueden ser muy venenosas para los perros

2.2.3. Valoración nutricional

La zanahoria es fuente de diversas vitaminas, minerales e hidratos de carbono, por lo que proporciona energía. Aporta vitamina E, folatos, ácido ascórbico (vitamina C) y vitaminas del complejo B, como el niacina. Una porción de 64 gramos (g) contiene aproximadamente 28 calorías, 2 g de fibra, 1,800 miligramos (mg) de vitamina A, 207 mg de potasio y cantidades moderadas de folatos, vitamina E, vitamina K, fósforo, magnesio, yodo y calcio y una cantidad apreciable de hidratos de carbono (Consumidor, 2021).

El aspecto más destacable de este alimento desde el punto de vista nutricional es su contenido en vitamina A (una zanahoria de tamaño medio cubre el 89% de las necesidades diarias de esta vitamina para hombres de 20 a 39 años y el 112% para mujeres de la misma edad), y en concreto en carotenoides con actividad provitamínica A (que una vez en el organismo se transforman en vitamina A, la cual contribuye al mantenimiento de la visión, la piel y las mucosas en condiciones normales. El más abundante es el betacaroteno (6.628 µg/100g de porción comestible), seguido del alfacaroteno (2.895 µg/100 g de porción comestible). En la zanahoria, existen además otros carotenoides sin esta actividad, como la luteína (288 µg/100 g de porción comestible), que se localiza en la retina y el cristalino del ojo. Otras vitaminas presentes en cantidades más discretas son la vitamina C y la vitamina B6. También contienen pequeñas cantidades de minerales como hierro, yodo y potasio (Avancera, 2017).

En la tabla 3 se presenta la composición nutricional de la zanahoria.

Tabla 3*Composición nutricional de la zanahoria*

Componentes	Valor nutricional			
Energía	23.91 Kcalorías			
Carbohidratos	4.75 gr			
Proteínas	0.63 gr			
Fibra	0.62 gr			
Grasas	0.15 gr			
	MINERALES		VITAMINAS	
Sodio	52 mg	Vitamina A	0.44 mg	
Calcio	27 mg	Vitamina B1	0.06 mg	
Hierro	0.5 mg	Vitamina B2	0.06 mg	
Magnesio	0 mg	Vitamina B3	0.77 mg	
Fósforo	31 mg	Vitamina B12	0 mg	
Potasio	219 mg	Vitamina C	3.8 mg	

Nota. Valores por cada 100 gr de zanahoria (Vegaffinity, 2019)

2.2.4. Los carotenoides y el β -caroteno

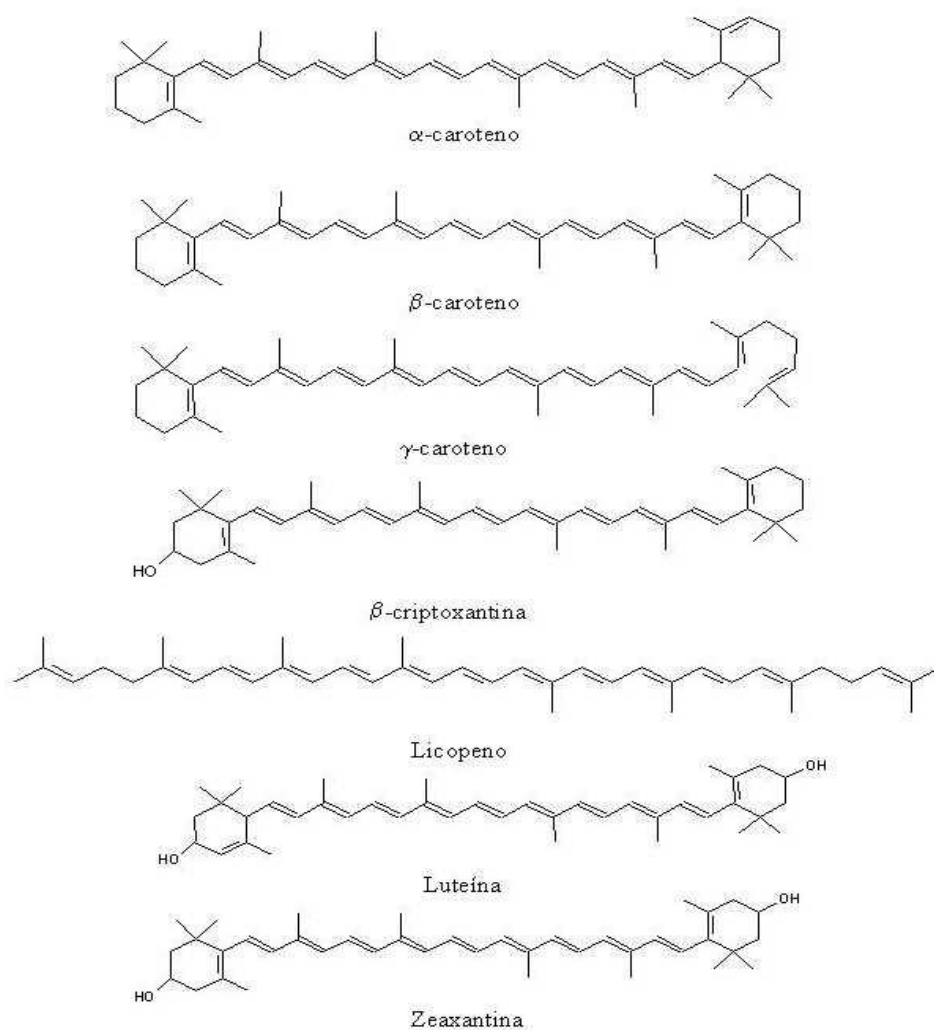
Los carotenoides pertenecen a la familia de pigmentos naturales sintetizados por diferentes especies de plantas, algas y bacterias. En las plantas han sido posible identificar alrededor de 650 variedades de carotenoides; sin embargo, solo unos 40 pertenecen a las frutas y verduras pertenecientes a la dieta humana, la cual representa la mayor fuente de consumo de carotenoides (Goula et al., 2017).

Los carotenoides son los responsables de la gran mayoría de los colores amarillos, anaranjados o rojos presentes en los alimentos vegetales, y también de los colores anaranjados de varios alimentos animales. Desde el punto de vista químico, pertenecen a la familia de los terpenos, es decir están formados por unidades de isopreno (ocho unidades, es decir, cuarenta átomos de carbono), y su biosíntesis se produce a partir de isopentenil pirofosfato (Calvo, 2024).

Algunos de los ejemplos más comunes en la naturaleza (Figura 4) son el caroteno, licopeno, la astaxantina, zeaxantina, luteína, bixina, cantaxantina, violaxantina y neoxantina (Vasconcelos et al., 2020).

Los carotenoides pueden presentar una estructura acíclica como el licopeno, o poseer distintas estructuras cíclicas de cinco o seis carbonos en uno o ambos extremos, como el β caroteno. Además, pueden existir en diversas conformaciones cis/trans, aunque la mayoría de los carotenoides presentes en la naturaleza se encuentran principalmente en la forma más estable trans (Meléndez et al., 2019).

Figura 4
Carotenoides más comunes en la naturaleza



Nota: tomado de (Meléndez-Martínez, 2017.)

2.2.5 Propiedades de los carotenoides

El grado de solubilidad de los carotenoides depende del tipo de sustituyente presente en la molécula. La mayoría de ellos son insolubles en agua y solubles en solventes orgánicos como la acetona, cloroformo, hexano, entre otros. Sin embargo, una excepción son las xantofilas que al poseer grupos funcionales altamente polares se solubilizan mejor en solventes como el etanol o el metanol. Por otra parte, los carotenoides son susceptibles a diversas modificaciones estructurales tales como reacciones de isomerización (cis-trans), hidrogenación, ciclación en uno a ambos extremos o adición de sustituyentes especialmente en presencia de la luz, calor, metales, ácidos y el oxígeno (Machuca & Paida 2023).

Algunos de los beneficios más relevantes de los carotenoides se encuentra su acción antioxidante y su capacidad de reducir el riesgo de sufrir enfermedades degenerativas, como el cáncer y problemas cardiovasculares (Miekus et al.,2019). Por otra parte, sus

numerosas aplicaciones en la industria de alimentos, como colorante natural, en la industria farmacéutica como modulador del sistema inmune, protector contra los rayos UV y precursor del pigmento visual retinol o vitamina A (Saini & Keum, 2018).

2.2.6 Clasificación de los carotenoides

Según Cruz (2018) en función de su estructura química los carotenoides se clasifican en: los carotenos y las xantofilas

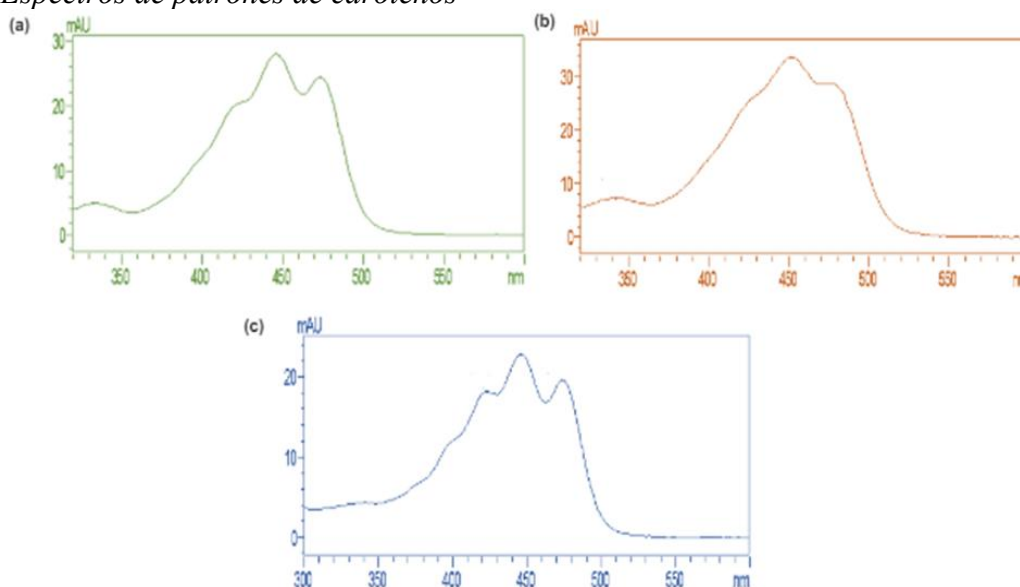
- **Carotenos** (β -caroteno, α -caroteno, γ -caroteno, licopeno, fitoeno y fitoflueno). Son hidrocarburos puros formados únicamente por átomos de carbono e hidrógeno. Alrededor de 50 tipos de carotenos están presentes en la naturaleza (Flores et al., 2017).
- **Xantofilas:** Contienen una o más funciones oxigenadas enlazadas al anillo de seis carbonos. Por ejemplo: el grupo epoxi se encuentra en la violaxantina, neoxantina y fucoxantina, el grupo hidroxilo en la luteína, β -criptoxantina y zeaxantina y el grupo funcional cetona en la astaxantina y cantaxantina (Meléndez et al, 2017)

El β -caroteno es uno de los carotenoides más abundantes en las frutas, verduras y hortalizas. Es una molécula apolar de alto peso (536.85 g/mol) compuesta estructuralmente por una cadena insaturada de hidrocarburos cuyos extremos poseen anillos de ciclohexano. Este pigmento representa entre el 60 – 80 % de los carotenoides presentes en la zanahoria (Mirele da Silveira et al., 2020)

El β -caroteno junto con el alfacaroteno y la β -criptoxantina son los carotenoides que exhiben mayor aporte de vitamina A al cuerpo humano; no obstante, estos últimos dos representan únicamente el 50 % de la actividad de esta vitamina comparado con el β -caroteno. En el espectro visible, este pigmento absorbe longitudes de onda entre los 450 y 460 nm (Murray & Capelli, 2020). Al igual que la mayoría de los carotenos, el β -caroteno es usado como agente colorante en varios tipos de alimentos, bebidas, suplementos alimenticios e incluso medicamentos. De igual forma, sus beneficios en la actividad biológica y, por ende, en la salud humana, son atribuidos a su efecto antioxidante (Martins & Ferreira, 2017).

Los principales carotenoides en zanahorias de color anaranjado son β -caroteno, α -caroteno y luteína siendo los dos primeros los dominantes en una relación promedio de 2:1 respectivamente. Las zanahorias anaranjadas tienen un 45 mg a 80 mg/100 de β -caroteno acompañado de α -caroteno. En zanahoria cruda se han encontrado rangos de 1,1 a 64,0 mg/100g fresco de β -caroteno y 0,53 a 36,0 mg/100g fresco de α -caroteno y 0,27 mg /100g fresco de luteína. Los cromatogramas o espectros de la figura 5 son obtenidas de muestras patrón en esta investigación. (Chamorro & Rossellini, 2017).

Figura 5
Espectros de patrones de carotenos



Nota: (a) alfa caroteno, (b) betacaroteno, (c) luteína, (Chamorro & Rossellini, 2017).

El α -caroteno absorbe una longitud de onda máxima de 447 nm, el β -caroteno es el carotenoide más característico encontrado en la zanahoria absorbe una longitud de onda máxima de 452 nm, y la luteína absorbe una longitud de onda de 446 nm (Chamorro & Rossellini, 2017).

2.2.7 Métodos de extracción

Existen dos métodos de extracción tanto convencionales y no convencionales las cuales se detallan a continuación:

EXTRACCIÓN CONVENCIONAL

Este tipo de extracción convencional se escala a nivel de laboratorio con el objetivo de evaluar el rendimiento del pigmento extraído probando diferentes solventes en la metodología, ajustando el pH, controlando el tiempo de exposición y conservando las condiciones de temperatura (Yara-Varón, 2016).

Entre estas extracciones convencionales están:

- **Hidrodestilación**

Conocida también como “destilación por arrastre de vapor”. Este método consta del uso de agua para la generación de vapor y es el agente de extracción, en donde los compuestos bioactivos o aceites esenciales son recuperados por la volatilización del agua contenida en las muestras (Selvamuthukumar, 2017).

- **Técnica por inmersión**

Consiste en sumergir la materia o matriz de interés y dejarla en remojo por un determinado tiempo en diferentes condiciones ambientales, sea en presencia de luz, cambio de temperatura, control de la agitación y disolvente de trabajo (Mojica, 2017)

- **Extracción Soxhlet**

Por medio de la ebullición y condensación de un solvente volátil, facilita el contacto directo y continuo con la muestra contenida en una cámara de extracción que posee un sifón que permite la recuperación del solvente líquido. Después, el extracto obtenido requiere ser centrifugado para concentrar el pigmento (Tarazona-Díaz et al., 2020).

TÉCNICAS DE EXTRACCIÓN NO CONVENCIONALES

Las técnicas no convencionales son más recientes que las convencionales y han surgido del desarrollo de nuevas tecnologías que aportan beneficios como: menores tiempos de trabajo, mayor selectividad y disminución o eliminación de solventes tóxicos, debido a su reemplazo por solventes verdes. Estas son las llamadas tecnologías ecoeficientes (Azabou, 2016). Las cuales son:

- **Extracción asistida por microondas (MAE)**

Según Li (2016), esta técnica consiste en proporcionar un calentamiento selectivo en diferentes materiales por medio de irradiación de microondas. Las variables más importantes son: relación sólido-solvente, potencia de irradiación, tiempo de extracción y tipo de solvente.

- **Extracción asistida por ultrasonido (EAU)**

Consiste en irradiar el material por medio de ondas ultrasónicas, generando micro burbujas. Estas ondas son de carácter destructivo, disminuyendo la tensión superficial de sólidos y líquidos. Existe una transferencia de masa del contenido del sólido y el disolvente. Se considera el coeficiente debido a que el disolvente empleado es agua y además presenta altos rendimientos de extracción del pigmento de interés (Syafa'atullah, 2020).

En la Tabla 4 se enlistan las ventajas y desventajas principales de estas técnicas de extracción:

Tabla 4*Técnica de extracción Ventajas Desventajas*

Técnica de extracción	Ventajas	Desventajas	Fuente
Extracción con solventes: Maceración (Convencional).	Altos rendimientos de extracción. No requiere equipos sofisticados	Grandes cantidades de solvente. Uso de solventes tóxicos. Alto consumo energético.	(Saini; Keum, 2018)
Extracción Soxhlet	Método sencillo con alto No se necesitan equipos sofisticados	-Se necesitan grandes cantidades de disolvente. Largos tiempos de extracción Degradación térmica e económico isomerización de los carotenoides	(Espinoza,2020)
Extracción asistida por microondas (MAE) (No convencional)	Altos rendimientos de extracción. Permite uso de solventes verdes. Reducción de gradientes térmico. Tiempos cortos de extracción.	Pérdidas de compuestos volátiles. Degradación térmica probable.	(Selvamuthukumara; Shi, 2017)
Extracción asistida por ultrasonido (EAU) (No convencional)	Altos rendimientos de extracción. Bajo consumo energético. Tiempos cortos de extracción. Permite uso de solventes verdes.	Difícil control de variables. Escalado comercial complejo. Requiere optimización específica. Degradación térmica probable.	(Li; Fabiano-Tixier; Tomao; Cravotto; Chemat, 2013) (Wen et al., 2018)
SFE (No convencional)	Evita la degradación térmica. Bajos volúmenes de solvente. Simple y rápido.	Equipos costosos y sofisticados. Difícil manipulación del proceso. Costos altos de análisis.	(Miękus et al., 2019)
EAE Extracción asistida por enzimas (No convencional)	Rendimientos de extracción altos. Previene la degradación térmica.	Tiempos largos de extracción. Costos elevados de enzimas.	(Ngamwonglumlert et al., 2017)
Extracción con disolventes verdes	-Uso de disolventes -Escasa información sobre seguridad procedentes de recursos y eficacia renovables	-Escasa información sobre seguridad procedentes de recursos y eficacia	(Espinosa, 2020)

Nota: Adaptado de. Técnicas emergentes de extracción de β -caroteno para la valorización de subproductos agroindustriales de la zanahoria: una revisión (Otálora-Orrego & Martin, 2020)

2.2.8 Colorantes alimentarios

Los colorantes para alimentos son un tipo de aditivos que proporcionan color a los alimentos (en su mayoría bebidas). En la actualidad la industria alimentaria emplea los colorantes alimentarios con el objeto de modificar las preferencias del consumidor. (Naturals, 2015)

Flovorix (2020) menciona que la función de un colorante es teñir el alimento, para darle un color atractivo, de esta forma, un colorante no modifica la calidad de un producto, pero sí lo hace más apetecible, de hecho, algunos productos como las golosinas o los caramelos tienen en el colorante su principal atractivo.

Por lo tanto, los colorantes en la alimentación se utilizan para:

- Dar un color atractivo a productos que naturalmente son incoloros tales como: gelatinas, bebidas, productos de confitería, polos, etc.
- Devolver el color natural destruido en el proceso de fabricación.
- Completar la intensidad del color natural del alimento, para hacerlo más agradable a la vista y más apetecible al consumidor.

Los colorantes se clasifican en naturales y artificiales según su forma de obtención:

Colorantes naturales

Tech (2023) describe que los colorantes naturales se obtienen de fuentes naturales como plantas, frutas y vegetales, ofrecen una alternativa más saludable a los sintéticos, ya que no contienen aditivos artificiales. Algunos ejemplos comunes de colorantes alimentarios naturales incluyen:

- Annatto: colorante amarillo anaranjado derivado de las semillas del árbol annatto.
- Betacaroteno: colorante amarillo anaranjado que se encuentra en las zanahorias, las batatas y otras frutas y verduras de color naranja.
- Caramelo: colorante marrón creado al calentar azúcar.
- Clorofila: colorante verde que se encuentra en las plantas.
- Cúrcuma: colorante amarillo-naranja derivado de la raíz de la cúrcuma.

Colorantes artificiales

Según Oviedo (2020) Los colorantes artificiales son sustancias químicas elaboradas en un laboratorio, normalmente se utilizan para aumentar o dar color a los alimentos y hacerlos más atractivos al comerlos. Tienen mala reputación porque generalmente se les

relaciona con el consumo de alimentos chatarra, como papas, refrescos, golosinas y galletas.

Según Profeco (2020) los principales colorantes artificiales que encontramos en la comida:

- **Amarillo anaranjado S:** Se utiliza para refrescos de naranja, helados, caramelos o postres. Otros nombres que se le aplican son amarillo crepúsculo, amarillo anaranjado S, amarillo naranja RGL, amarillo 6 o amarillo ácido 17.
- **Amarillo de quinoleína:** Se utiliza en refrescos con sabor cítrico, bebidas alcohólicas, licores, conservas vegetales, cárnicos, pasteles y helados. Sus otros nombres son quinolina, quinolín, amarillo ácido 3 o amarillo alimentario 13.
- **Azorrubina o carmoisina:** Es el famoso Rojo 5. Este colorante artificial se utiliza para conseguir el color “frambuesa” en caramelos, helados y postres. Otros nombres que se le da son carmoisina y colorante de fresa
- **Azul patente V:** Es utilizado para conseguir tonos verdes, por ejemplo, en conservas vegetales y mermeladas, también se usa en pastelería, caramelos y bebidas. Se le conoce como azul patentado 5.
- **Tartracina o Tartrazina:** Se usa sobre todo en repostería para las galletas, aunque también se utiliza en derivados cárnicos, sopas instantáneas, conservas vegetales, helados, paletas y caramelos, así como en bebidas color “limón”. Se conoce también con los nombres tartracina, amarillo 5 FD&C, amarillo ácido 23 o amarillo alimentario 4.

2.2.9 Cromatografía

Según el libro de Corzo, Adriana (2019) indica que la cromatografía es un método físico de separación para la caracterización de mezclas complejas, la cual tiene aplicación en todas las ramas de la ciencia. Es un conjunto de técnicas basadas en el principio de retención selectiva, cuyo objetivo es separar los distintos componentes de una mezcla, permitiendo identificar y determinar las cantidades de dichos componentes. Puede cumplir dos funciones básicas que no se excluyen mutuamente las cuales son separar los componentes de la mezcla, para obtenerlos más puros y que puedan ser usados posteriormente (etapa final de muchas síntesis) y medir la proporción de los componentes de la mezcla (finalidad analítica). En este caso, las cantidades de material empleadas son pequeñas. La separación se debe a la influencia de dos efectos contrapuestos la retención: efecto producido sobre los componentes de la mezcla por una fase estacionaria que puede ser un sólido o un líquido anclado a un soporte sólido y el desplazamiento: efecto ejercido sobre los componentes de la mezcla por una fase móvil, que puede ser un líquido, un gas o un fluido supercrítico.

Tipos de cromatografía

Méndez et al. (2023) explican que existen diferentes criterios de clasificación de la cromatografía:

- Por la naturaleza de sus fases:

- a) Cromatografía líquido – líquido.
 - b) Cromatografía gas – líquido.
 - c) Cromatografía líquido – sólido.
 - d) Cromatografía gas – sólido.
- Atendiendo al proceso químico-físico que va a protagonizar el proceso de separación (siendo este el criterio más coherente de clasificación):
 - a) Cromatografía de Adsorción (líquido - sólido o cromatografía de fases normales).
 - b) Cromatografía de Reparto (o líquido - líquido), se basa en las características de solubilidad relativa de los solutos entre la fase móvil y una fase estacionaria de un líquido no polar. La fase líquida se impregna a un soporte inerte de sílice o, en el caso de cromatografía de fase invertida, se une químicamente.
 - c) Cromatografía de Intercambio iónico.
 - d) Cromatografía de Exclusión.
 - Con base en la naturaleza del soporte en el que se aloja la fase estacionaria:
 - a) Cromatografía plana:
 - Cromatografía en papel.
 - Cromatografía en capa fina (TLC por sus siglas en inglés).
 - b) Cromatografía en columna:
 - Cromatografía de gases (GC).
 - Cromatografía líquida (LC).
 - Cromatografía líquido – líquido.
 - Cromatografía sólido – líquido.

Se explicará la cromatografía en columna abierta por ser la que se aplicó en esta investigación.

Cromatografía en columna

Es el más usado de los diferentes tipos de cromatografías para la separación y la purificación de diferentes compuestos orgánicos, bien estén en estado líquido o en estado sólido. La fase estacionaria en este método se coloca dentro de una columna de cristal con una llave en su extremo inferior para controlar el paso de las sustancias. Por la parte superior se deposita la fase estacionaria para que la fase móvil pueda atravesar el sistema. Así, la fase móvil contendrá los compuestos disueltos que, poco a poco, saldrán de la columna cromatográfica y se recogerán en fracciones. Este tipo de cromatografía es muy eficaz gracias a la disminución del tamaño de las partículas del absorbente (Griselda, 2022).

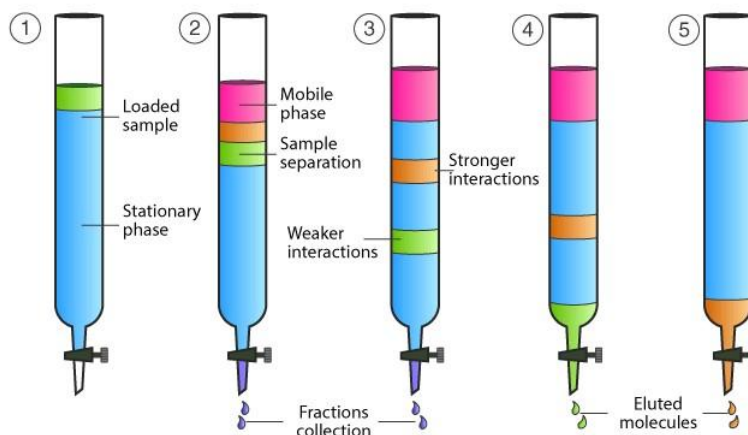
Según Broad (2021) La cromatografía separa las sustancias en función de la adsorción diferencial de los compuestos al adsorbente a medida que los compuestos se

mueven a través de la columna a diferentes velocidades, lo que les permite separarse en fracciones. Esta técnica se puede utilizar tanto a pequeña como a gran escala para purificar materiales que se pueden utilizar en futuros experimentos. Este método es un tipo de técnica de cromatografía de adsorción.

Principio

Cuando la fase móvil junto con la mezcla que necesita ser separada se introduce desde la parte superior de la columna, el movimiento de los componentes individuales de la mezcla es diferente. Como se indica en la figura 6, los componentes con menor adsorción y afinidad por la fase estacionaria viajan más rápido en comparación con los de mayor adsorción y afinidad por la fase estacionaria. Los componentes que se mueven rápido se eliminan primero, mientras que los componentes que se mueven lentamente se eluyen en último lugar. (Broad, 2021)

Figura 6
Procedimiento de columna cromatográfica



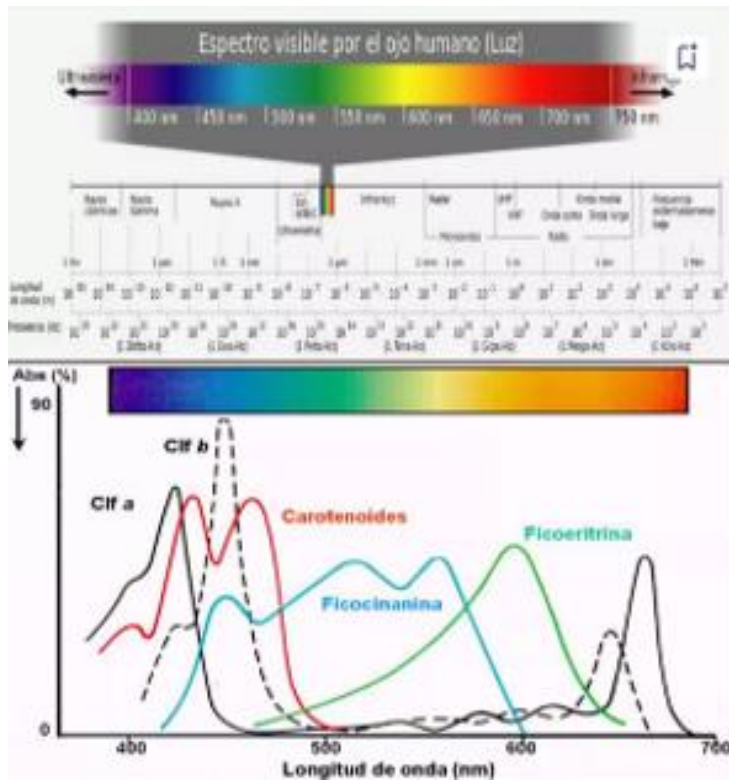
Nota. Tomado de Broad (2021)

2.2.10 Espectro de absorción

Un espectro de absorción es la representación gráfica del grado en el que un determinado pigmento capta las diferentes longitudes de onda de la radiación luminosa. El conjunto de longitudes de onda que absorbe un pigmento se conoce como su espectro de absorción. En el siguiente diagrama, puedes ver los espectros de absorción de tres pigmentos importantes en la fotosíntesis: clorofila a, clorofila b y β -caroteno. El conjunto de longitudes de onda que un pigmento no absorbe se refleja, y la luz reflejada es lo que vemos como color. Por ejemplo, percibimos las plantas de color verde por su gran contenido de moléculas de clorofila a y b, que reflejan luz verde (Tamaulipas, 2018).

En la figura 7 se puede observar espectros de absorción de varias moléculas.

Figura 7
Espectro de absorción de pigmentos vegetales



Nota: Separación y espectro de absorción de pigmentos vegetales (Bastidas, 2016)

CAPÍTULO III. METODOLOGIA.

3.1 Tipo de Investigación

La investigación fue de carácter mixto, cuantitativo debido a que se determinó la cantidad del colorante obtenidos mediante los diferentes métodos de extracción, y un enfoque cualitativo debido a que se reconoció y comparó sustancias basándose en sus características espectrales y en el cambio visible de color al comparar el yogurt natural y la crema chantillí antes y después de aplicar el colorante Beta caroteno extraído en la primera parte de este proyecto.

3.2. Diseño de investigación

3.2.1. Recolección de la muestra y lugar de ejecución

Las muestras (bagazo de zanahoria) se adquirieron en puestos de venta de jugos naturales de la ciudad de Riobamba. Los ensayos se desarrollaron en el laboratorio de Control de calidad de la carrera de Agroindustria de la facultad de Ingeniería de la Universidad Nacional de Chimborazo.

3.2.2. Técnica de recolección de datos

Las técnicas aplicadas fueron observación, registro de los espectros mediante fotografías, explicaciones en función de los espectros obtenidos bajo las teorías encontradas en bibliografía y cálculos en hojas de Excel.

3.2.3. Métodos de análisis

El análisis fue cuantitativo para determinar la cantidad de colorante obtenido y cualitativo para la identificación los carotenos y apreciación del cambio de color en las muestras en yogur sin colorante y con la adición del colorante.

Para la extracción del colorante se utilizaron los equipos, reactivos y materiales indicados en la tabla 5:

Tabla 5

Equipos, reactivos y materiales

Equipos	Reactivos	Materiales
Baño maría Memmert	Ácido cítrico	Vasos de precipitación
Espectrofotómetro Shimadzu	Alúmina	Frascos de autoclave
Columna de cromatografía	Hexano	Pipeta
Soxhlet	Alcohol	Erlenmeyer
Estufa		Probetas
Balanza analítica		Tubos de ensayo

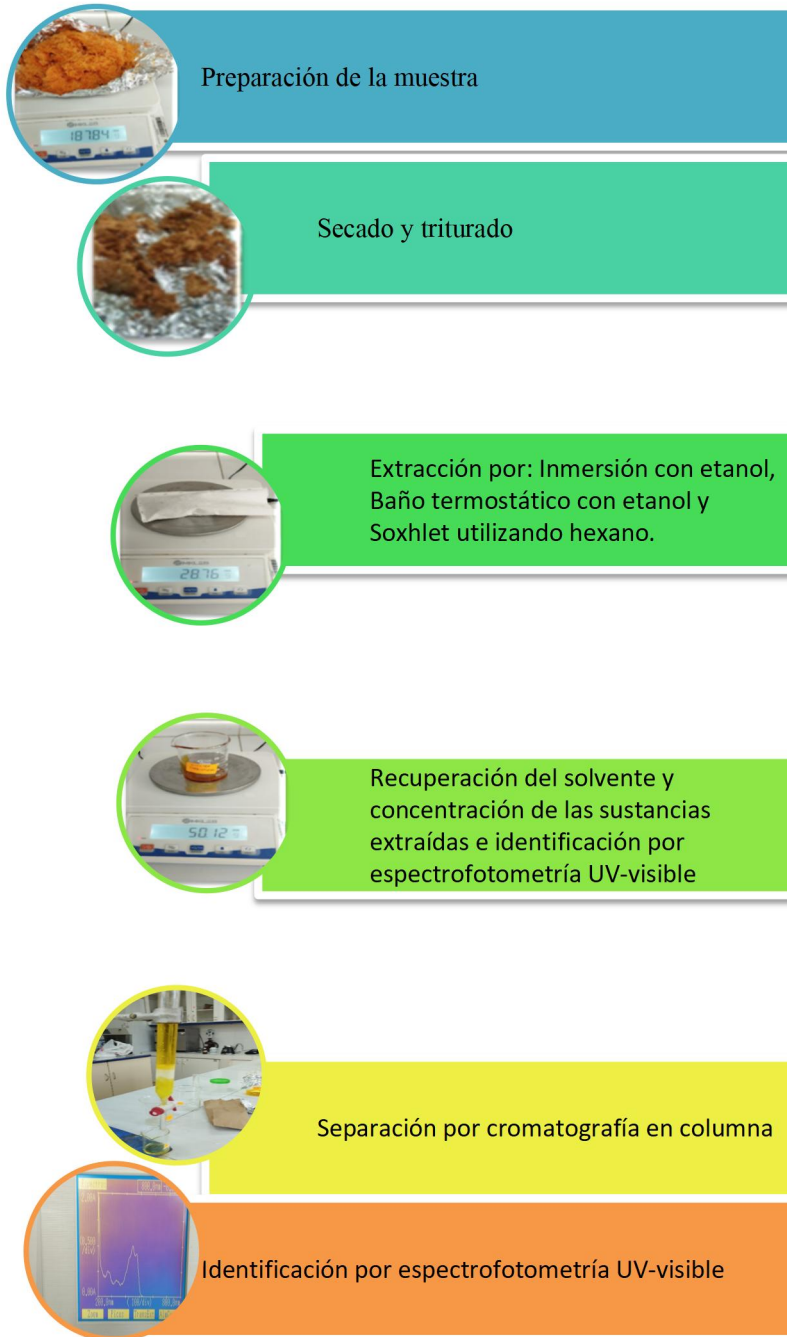
3.2.4. Procedimientos

La extracción del colorante se realizó en muestra de bagazo previamente secada a temperatura de 60°C y en muestra húmeda.

Los pasos hasta la identificación de los carotenos se encuentran indicados en la figura 8

Figura 8

Proceso de obtención de los carotenos



Obtención del extracto:

Se realizaron tres métodos de extracción: inmersión, baño termostático y extracción con soxhlet, aplicando los siguientes procedimientos:

1. Extracción por método de inmersión

Se pesó 5,0 g de muestra, se maceraron con 200 ml de etanol al 90% acidificado con ácido cítrico al 0,03%; la inmersión, se realizó durante 2h, en una plancha magnética en ausencia de luz, la temperatura de operación fue de 29°C.

2. Extracción por método de baño termostático

Se sumergió 5,0 g de muestra, con 200 ml de etanol al 90%, acidificado con ácido cítrico al 0,03%; la temperatura del baño termostático fue de 60°C, durante 24h.

3. Extracción por método de soxhlet

Se utilizó el equipo soxhlet, con un balón de 250 ml, utilizando como solvente hexano y diferentes proporciones de materia prima. La extracción tomó un tiempo de 2h.

3.2.5. Identificación de carotenos por espectroscopia UV-Visible.

Los carotenoides fueron identificados mediante los espectros obtenidos en el espectrofotómetro Shimadzu marca UV-1603 que presentan los máximos de absorción características en el barrido de absorbancia vs longitud de onda y éstos fueron comparados con el espectro de absorción reportados en la literatura

El procedimiento para la obtención de los espectros fue:

1. Se colocó el equipo en modo espectral y en medición Abs.
2. Se seleccionó el rango de longitudes de onda entre 200 nm a 800 nm.
3. Se corrió línea base, utilizando el solvente con las que se realizó las extracciones
4. Luego se colocó cada extracto del colorante.
5. Se registró los espectros obtenidos.

3.2.6. Separación por cromatografía en columna

Para separar los diferentes carotenoides que contienen los pigmentos de la zanahoria, se utilizó cromatografía en columna abierta, para lo cual se empacó la columna con alúmina, y haciendo eluir con éter de petróleo - acetona (95:5) se recogió 7 fracciones según el cambio de tonalidad, los cuales se identifican mediante los espectros de absorción por espectrometría UV-visible.

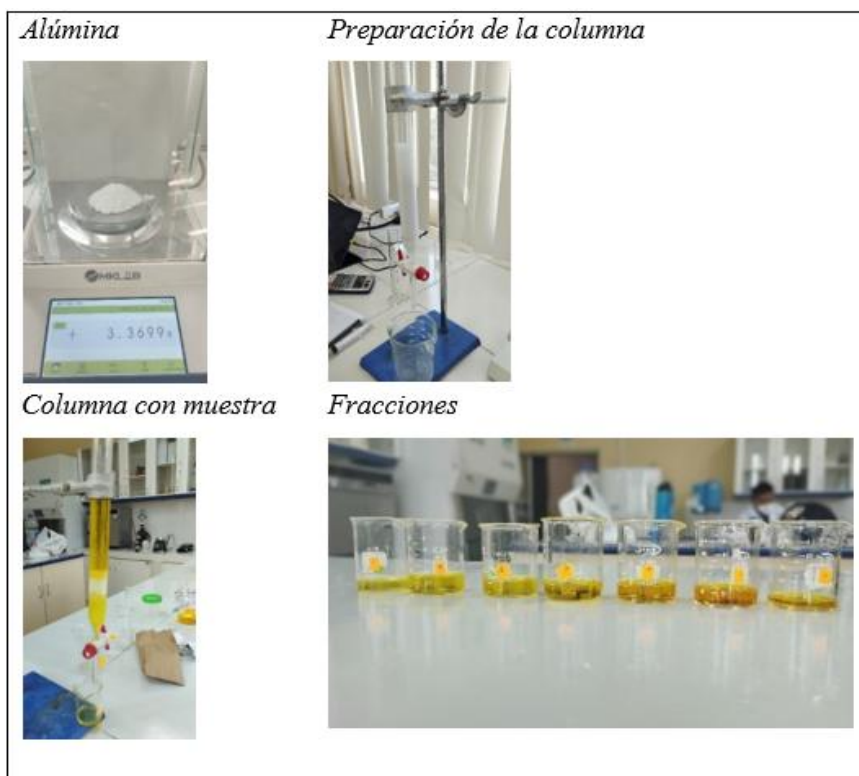
El procedimiento para el empacamiento de la columna fue el siguiente:

1. Se colocó la columna en un soporte universal. Se ubicó el vaso debajo de la columna.
2. Se abrió la llave de la columna cromatográfica y se humedeció un pedazo de algodón con éter de petróleo y se introdujo en la columna, hasta que cubrió aproximadamente 1.5 cm de la punta de la columna, dejándola la parte más delgada de la columna libre, con el fin de evitar obstruir su funcionamiento y el paso del eluyente.
3. Se adicionó en la columna arena de mar hasta que se tuvo una capa aproximada de 1 cm.
4. Se mezcló en un vaso de precipitado 10 g de alúmina con 30 ml de etanol al 95%. Se agitó la mezcla hasta que se obtuvo una suspensión.
5. Se llevó la mezcla del numeral 4 a la columna con ayuda de un embudo y varilla de agitación, evitando la formación de espacios de aire, con el fin de tener una buena empaquetadura.
6. Se abrió la llave de la columna cromatográfica y se recogió el exceso de etanol a medida que atraviesa la columna. Evitar que la fase estacionaria de la columna quede seca, ya que la empaquetadura se puede obstruir por acción del aire.
7. Se adicionó en la parte superior de la columna empacada arena de mar aproximadamente 1 cm de altura.

El procedimiento para la separación cromatográfica fue el siguiente:

1. Se preparó 150 ml de una mezcla de éter de petróleo- acetona (95:5). siendo esta la fase móvil que pasará por la columna.
2. Se adicionó la muestra (extracto de zanahoria) a la columna, se abrió la llave y se adicionó el eluyente hasta observar una separación completa.
3. Al inicio se obtuvo la fase etanol, siendo incolora
4. Cuando ya se acercó a la salida el color naranja se recogió según tonalidades 7 fracciones mientras se iba cargando continuamente la fase móvil.
5. Una vez que se obtuvieron todas las fracciones se identificaron por espectroscopia UV-visible.

Figura 9
Empaquetamiento de la columna de cromatografía



Nota: Procedimiento del empaquetamiento de la columna y fracciones extraídas

3.2.7. Aplicación en productos alimenticios

Se aplicó el colorante obtenido en Yogurt natural y en crema chantilly, para lo cual se tomó una muestra de cada uno de los productos y se fue adicionando el colorante obtenido hasta observar un cambio de color. Posteriormente se determinó si existían cambios en cuanto al olor y sabor de los productos mediante la percepción subjetiva del investigador y personal del laboratorio.

3.2.8. Procesamiento de datos

Todos los análisis se realizaron por triplicado. Los resultados de la cantidad de colorante obtenido en los diferentes métodos de extracción se expresaron como la media \pm desviación estándar. Se calculó el coeficiente de variación para determinar la variación entre los resultados obtenidos comparados con la media. Se aplicó el programa estadístico Infostat versión 2020I y Microsoft Excel

También se procesaron los resultados mediante un análisis cualitativo comparando los picos de absorción con los reportados en bibliografía.

CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4. Extracciones del colorante

En la tabla 6 se reportan los resultados de la cantidad de colorante obtenido por triplicado de los diferentes métodos de extracción, tanto en muestra húmeda como en seca, además los valores de la media (\bar{x}), la desviación estándar (D.E) y el coeficiente de variación (CV).

Tabla 6
Cantidad de colorante obtenido

<i>Ensayos</i>	<i>Inmersión (mg/100g)</i>	<i>baño termostático (mg/100g)</i>	<i>Soxhlet (mg/100g)</i>
E1 MH	9,81	25,9	30,89
E2 MH	8,06	27,02	29,95
E3 MH	8,30	23,04	28,33
\bar{x} MH	8,72	25,32	29,72
D.E MH	0,95	2,05	1,29
CV MH	10,89	8,11	4,46
E1MS	3,9	1,2	23,84
E2MS	7,84	3,9	24,29
E3MS	1,9	1,2	21,9
\bar{x} MS	4,55	2,1	23,34
D.E MS	2,47	1,27	1,03
CV MS	66.47	74.23	5,44

Nota. MH = extracciones en muestra húmeda

MS = extracciones en muestra seca

Como se puede evidenciar la cantidad de colorante en muestra húmeda es mayor a la obtenida en muestra seca, también se evidencia que la extracción por soxhlet proporciona más colorante, seguido por la extracción por baño termostático. Los resultados del coeficiente de variación son muy altos, sobre todo en los métodos extraídos con etanol, esto se debe a que para cada repetición se tomaron muestras en diferentes fechas y también por la variación en la calidad de materia prima utilizada en los puestos de venta de jugo de zanahorias.

Juliana et al. (2019). indica, que una temperatura superior a los 50 °C puede disminuir el rendimiento de extracción, lo cual, puede estar relacionado con la termo-sensibilidad del β -caroteno que puede generar la isomerización o degradación de la molécula. Por otra parte, Chamorro (2017) indica que la cantidad de carotenos en vegetales es muy variable dependiendo del material genético o cultivar, de la temperatura y

contenido de agua en el suelo, estado de madurez en el momento de la cosecha, momento de consumo, así como de las condiciones de almacenamiento y formas de preparación.

El contenido de carotenoides según el departamento de agricultura de Estados Unidos para diferentes fuentes, destacan que el proceso de secado de la zanahoria puede aumentar o disminuir el contenido de β -caroteno de 8.285 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ hasta 33.954 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ (Saini & Keum, 2018). Este mismo autor, indica que el tiempo de secado, es otra variable que influye en la cantidad obtenida y que esta tiene un comportamiento directamente proporcional con la temperatura seleccionada. También señala que las condiciones óptimas de operación en la etapa de secado para la extracción de β -caroteno de una muestra de zanahoria Chantenay mediante un montaje Soxhlet es de 60°C y 12 h.

Otra causa de obtener cantidades muy variadas de colorante es debido a la temperatura de extracción, Juliana et al., (2019). indica, que una temperatura superior a los 50 °C puede disminuir el rendimiento de extracción, lo cual, puede estar relacionado con la termo-sensibilidad del β -caroteno que puede generar la isomerización o degradación de la molécula.

Otra variable es el tiempo de extracción, que según Purohit & Gogate (2015) indica que es directamente proporcional al rendimiento de extracción, sin embargo, indica que este comportamiento ocurre hasta cierto punto, donde el rendimiento alcanza un valor constante y máximo para la extracción a ciertas condiciones.

Otálora-Orrego & Martin (2020) analizaron varios estudios asociados a la extracción de β -caroteno a partir de la zanahoria, e indicaron que el rendimiento de extracción promedio de estos estudios es muy variable alcanzando hasta 69,03 mg β -caroteno/100g base seca y que las condiciones y parámetro de extracción al igual que el tipo de solvente tienen un efecto específico en la extracción. Este autor reporta un rendimiento de 21.8 mg β -caroteno/100 g de zanahoria seca extraídas en zanahoria de rechazo utilizando el método de *soxhlet* en hexano, que es comparable con lo obtenido en esta investigación (23,34mg de colorante/100g de bagazo), mientras que, en el estudio de Jácome (2022) la concentración de β -caroteno en el zumo de zanahoria fue de 17.89 mg/100 g, tras el proceso de secado por aspersión.

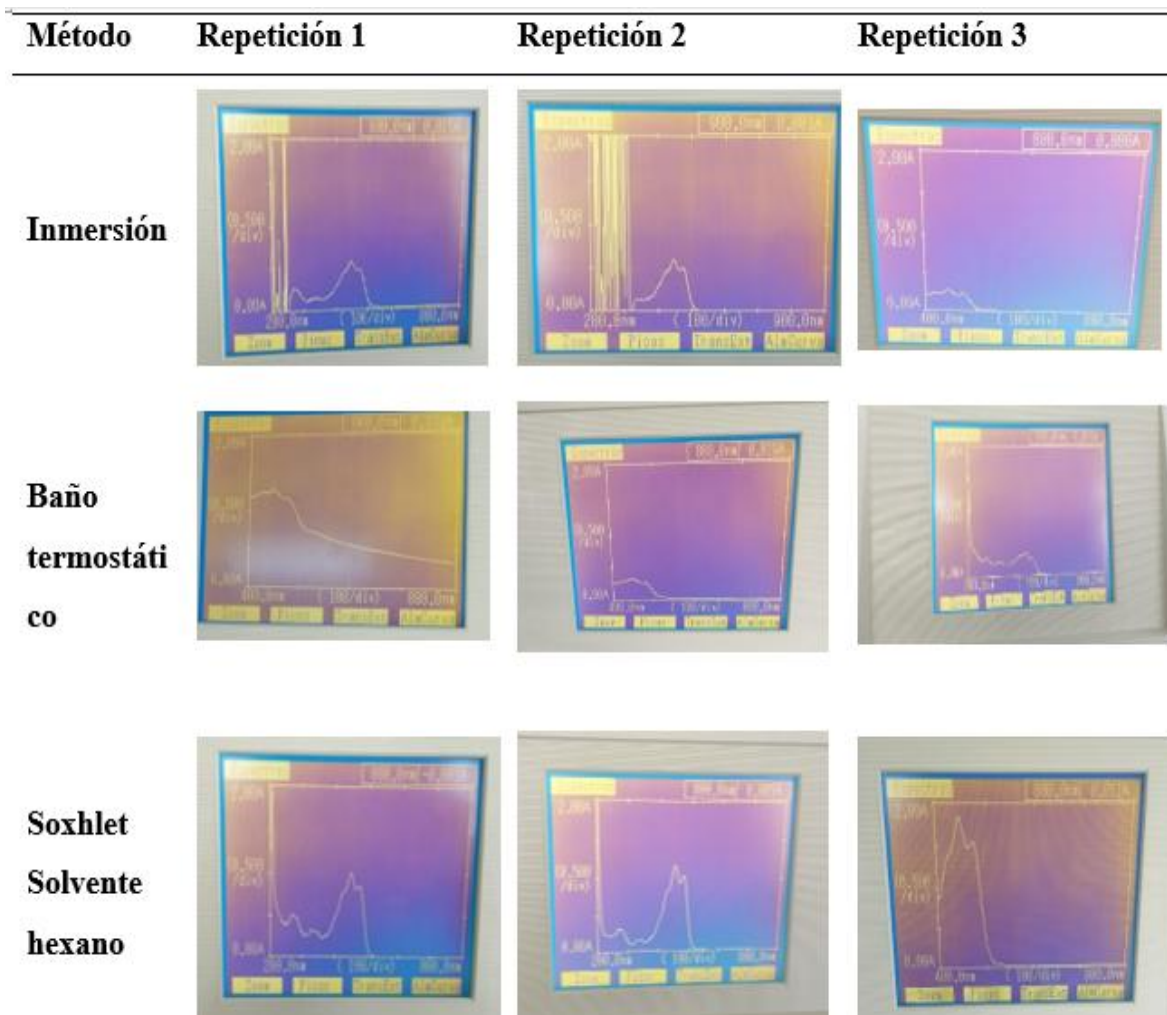
Guartán (2021) por extracción en inmersión y termostático reporta valores de 1110 mg y 1700 mg por 100g de zanahoria muy superiores a los señalados en esta investigación y en otras ya indicadas, pero se expone para recalcar la gran variación que existe en la obtención.

4.1. Identificación de los carotenos por espectrofotometría UV-visible

Debido a que los carotenos presentan grupos cromóforos a causa de los dobles enlaces en sus estructuras es posible identificarlos por observación debido a la coloración naranja que presentan, además de que pueden ser identificados por espectrometría de absorción, ya que presenta máximos de absorción característicos, es así que en la figura 10 se indican los

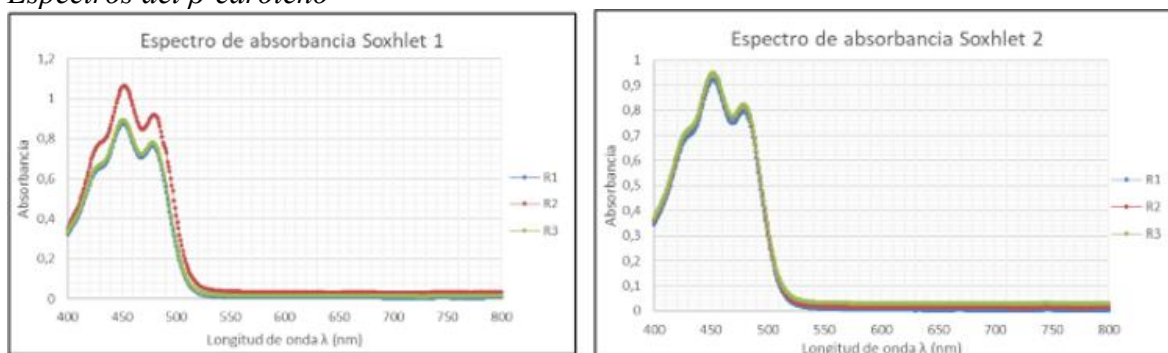
espectros de absorción ultravioleta-visible obtenidos en un barrido de longitud de onda entre 200 a 800 nm de los extractos obtenidos por inversión, baño termostático y soxhlet.

Figura 10
Espectros obtenidos de los 3 métodos de extracción



Como se pueden observar los máximos de absorción varían en rangos muy pequeños según el método de extracción y el solvente utilizado, pero en todos los casos los espectros corresponden al β -caroteno y son similares a los obtenidos por Otálora Orrego (2019) quien reporta el espectro de absorción del β -caroteno obtenido en su investigación, con picos de absorbancia de 425, 451 y 479 nm y que se indica en la figura 11.

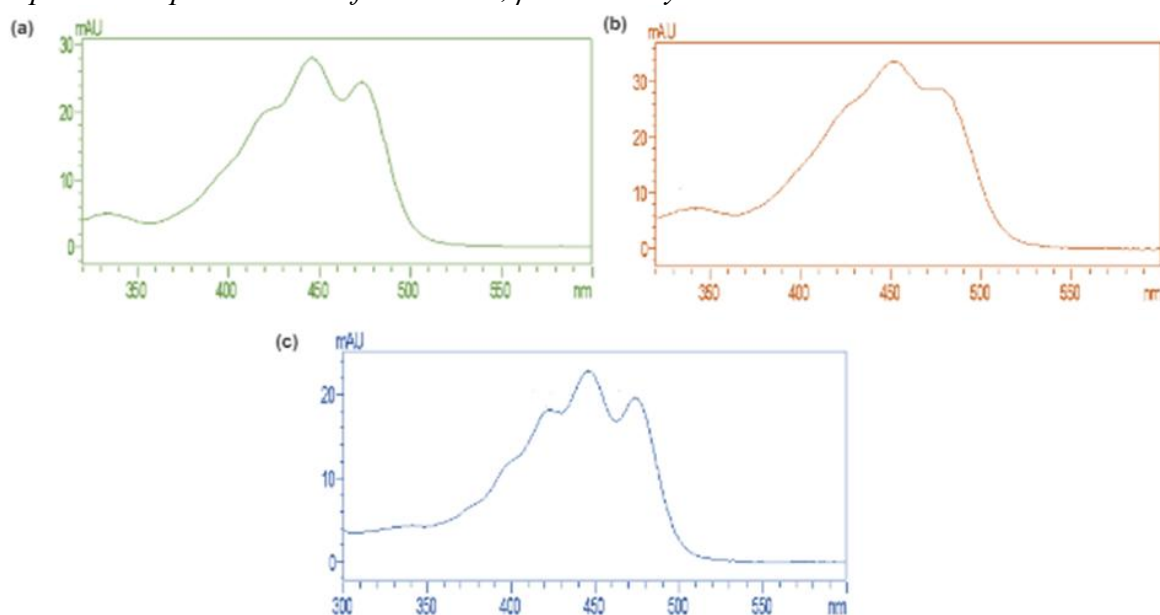
Figura 11
Espectros del β -caroteno



Nota. Espectros de absorción de los resultados obtenidos de la investigación tomado de (Otálora Orrego, 2019)

Así mismo en la figura 12 se observa los espectros de patrones de alfa caroteno, β -caroteno y luteína obtenidas por Chamorro & Rossellini (2017) que comparando con los obtenidos en este trabajo se puede afirmar que corresponde al β -caroteno.

Figura 12
Espectros de patrones de alfa caroteno, β -caroteno y luteína



Nota: (a) alfa caroteno, (b) β -caroteno, (c) luteína, (Chamorro & Rossellini, 2017)

En tabla 7 se reportan los máximos de absorción ($\lambda_{\text{máx}}$) de los espectros y se destaca que el pico mayor se encuentra alrededor de los 450 nm, también se observa en los espectros otros picos menores.

Tabla 7
Espectros de absorción ultravioleta/visible

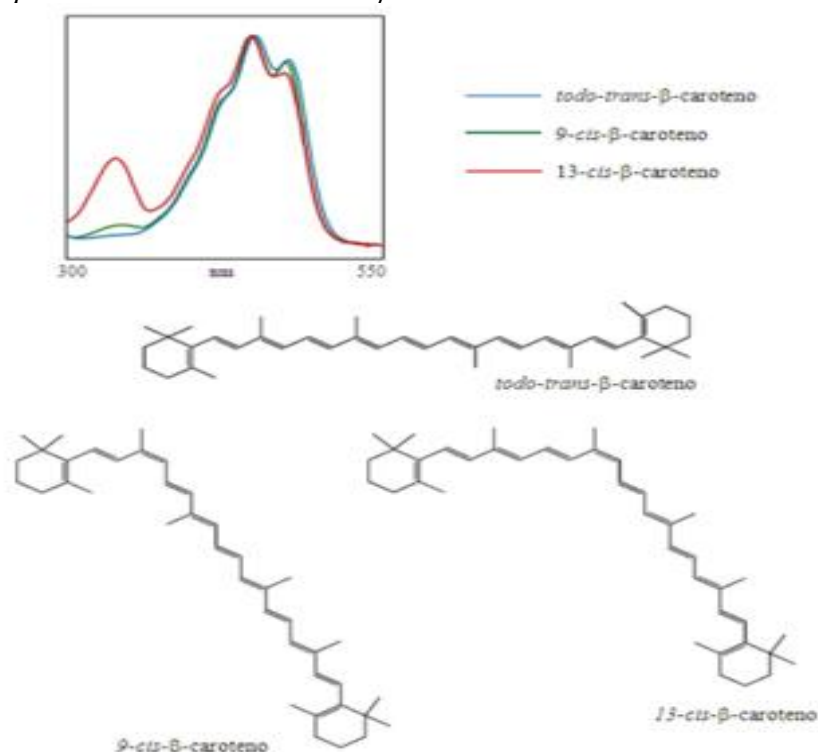
Método	Repetición 1		Repetición 2		Repetición 3	
	$\lambda_{\text{máx}}$ (nm)	Abs	$\lambda_{\text{máx}}$ (nm)	Abs	$\lambda_{\text{máx}}$ (nm)	Abs
Inmersión en etanol	474	0,487	474	0,624	449	0,308
	448	0,577	448	0,737		
	345	0,119				
Baño termostático en etanol	448	1,28	477	0,308	446	0,348
			447		270	0,293
Soxhlet en hexano	476	1,077	476	1,202	477	1,677
	448	1,235	448,5	1,363	449	1,894
	332	0,256				
	268	0,481				

López-Casero (2019) indica que la mayoría de los carotenoides absorben generalmente luz azul y violeta (aprox. 400-500 nm), de forma que exhiben coloraciones amarillentas, anaranjadas o rojizas y que β -Caroteno extraído en hexano tiene longitud de onda de absorción en sus tres picos de 420, 450, 472 nm.

Según Meléndez-Martínez (2017) indica que los máximos de absorción ($\lambda_{\text{máx}}$) de cualquier carotenoide en disolventes como hexano, éter de petróleo, etanol, éter di etílico y acetonitrilo son prácticamente idénticos, aunque se observan desplazamientos batocrómicos en los espectros realizados. Además, indica que, para algunos carotenoides, cuando el contenido de agua está dentro del intervalo entre 30-50%, se han descrito importantes disminuciones en la absorbancia al $\lambda_{\text{máx}}$ y la aparición de un nuevo e intenso máximo de absorción en la región del UV cercano, que es debido a que la nitidez de las bandas de absorción disminuye (menor estructura fina) y van apareciendo una nueva en la región ultravioleta, por debajo de la correspondiente al tercer máximo de absorción en la región visible.

Por otra parte, Espinosa (2020) indica que los carotenoides pueden presentarse como isómero geométricos E (trans) e isómeros Z (cis) y que la gran mayoría se encuentran en la naturaleza como isómero E, pero por acción de factores físicos y químicos (calor, luz, uso de ácidos...) sufren una transformación espacial y se convierten en isómeros Z y en el caso de los carotenos son compuestos muy sensibles a la luz y a la temperatura los que provocan que estos pigmentos se oxiden y por ende se da la inactivación de sus propiedades antioxidantes provocando isomerización, como se observa en la figura 13 y que son similares a los obtenidos en esta investigación, concluyendo que por la temperatura y la luz se obtuvieron 13-cis-beta-caroteno.

Figura 13
Espectros de los isómeros del β -caroteno



Nota. Tomado de Espinosa (2020)

Así mismo, Otálora Orrego (2019) indica que la isomerización de los carotenoides es una consecuencia directa de la degradación causada por varios factores que van desde un cambio en la estructura de cis a trans que pueden ocurrir por una mala manipulación y almacenamiento de estos, hasta por los errores que pueden ocurrir durante la extracción o cuantificación de estos en el espectrofotómetro. Además, indican que, este fenómeno se ve reflejado en los espectros de absorción obtenidos donde se pueden evidenciar translaciones horizontales del espectro y de los valores de absorbancia máximos característicos de cada carotenoide, o bien, compresiones verticales de los picos máximos de absorbancia.

Aguilar-Espinosa et al. (2019) recomienda que las condiciones apropiadas para que la integridad de los carotenos no se vea comprometida es trabajar en ambientes inertes para evitar posibles alteraciones en la estructura de los carotenoides que va a suponer una pérdida en el rendimiento, realizar la extracción en el menor tiempo posible, trabajar con disolventes de gran pureza, usar recipientes especiales para evitar la degradación de los carotenoides y trabajar a bajas temperaturas.

4.2. Separación de carotenos por cromatografía en columna

El colorante obtenido se pasó por la columna preparada con sílica gel obteniendo 7 fracciones que fueron analizados en el espectrofotómetro cuyos picos de absorción se puede ver en la tabla 8, los máximos se encuentran a longitud de onda de 448, 447 y 452 correspondiente al compuesto beta caroteno.

Tabla 8*Longitud de onda de absorción ultravioleta/visible*

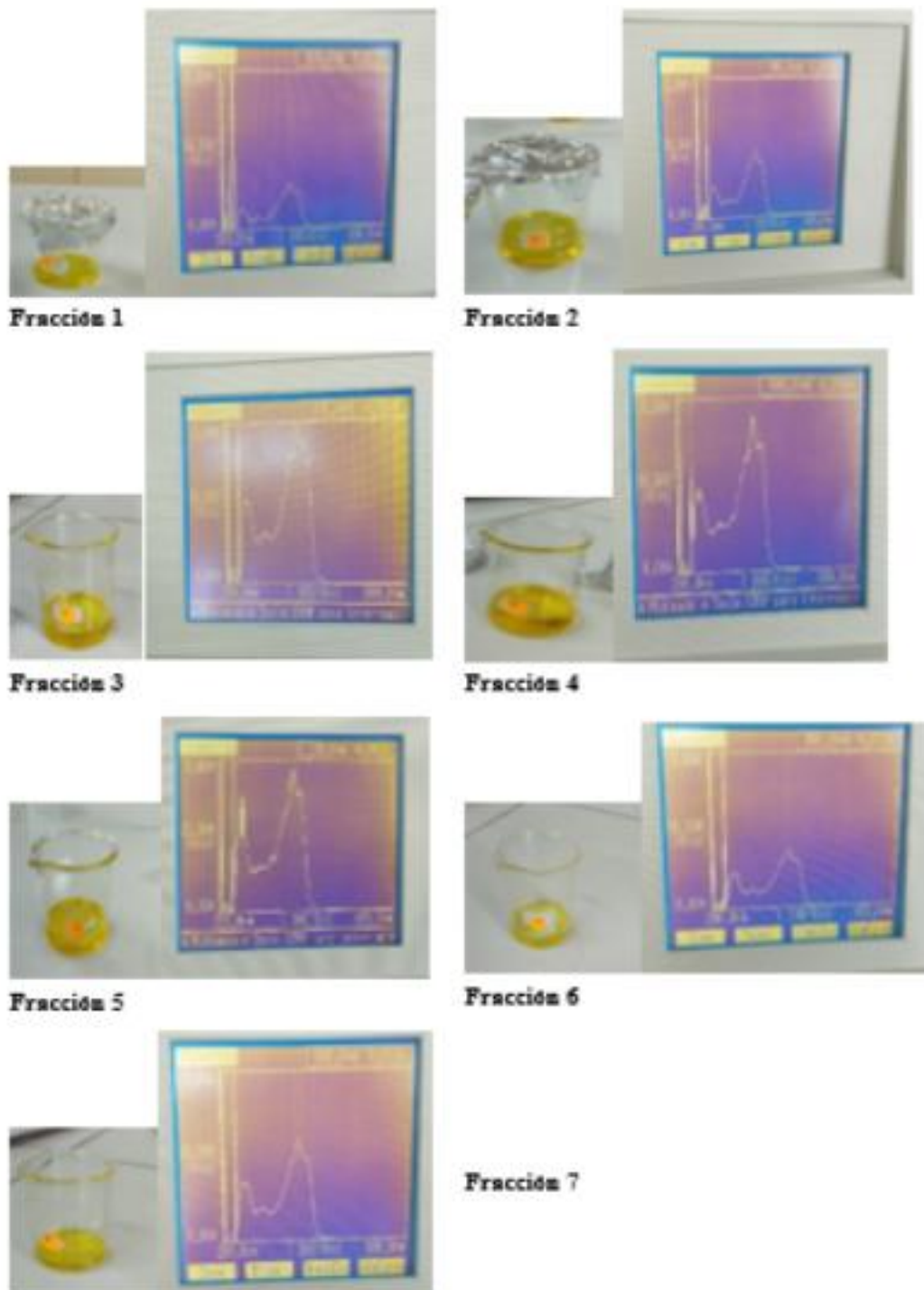
Fracción 1		Fracción 2		Fracción 3	
$\lambda_{\text{máx}}$ (nm)	Abs	$\lambda_{\text{máx}}$ (nm)	Abs	$\lambda_{\text{máx}}$ (nm)	Abs
474	0,496	474	0,838	468	0,022
448	0,588	447	1,007	448	3,263
271	0,275	270	0,488	271	1,609

Fracción 4		Fracción 5		Fracción 6		Fracción 7	
$\lambda_{\text{máx}}$ (nm)	Abs	$\lambda_{\text{máx}}$ (nm)	Abs	$\lambda_{\text{máx}}$ (nm)	Abs	$\lambda_{\text{máx}}$ (nm)	Abs
474	3,468	474	3,652	474	1,022	474	2,203
448	3,607	452	3,806	448	1,532	477	2,432
271	1,984	274	3,087	270	0,0991	270	1,466

Por otra parte, como se pueden observar en las imágenes de la figura 14 los espectros en todas las fracciones son similares a los reportados por bibliografía, concluyendo que corresponde a beta caroteno, sin embargo, se conoce que en la zanahoria, existen además otros carotenoides como la luteína y el alfa caroteno que bajo las condiciones empleadas de extracción y separación en este trabajo no se lograron identificar, no obstante, Chamorro (2017) extrajo el colorante de la zanahoria con CO₂-supercrítico e identifican los espectros de absorción de los carotenoides obtenidos por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) donde obtuvo tres espectros de absorción y compara con los espectros de absorción de estándares de β -caroteno, α caroteno y luteína demostrando que los pigmentos que extrajo de la zanahoria tienen características similares a éstos.

Figura 14

Espectros de las fracciones tomadas por cromatografía en columna abierta



4.3. Aplicación del colorante en los productos alimenticios

La figura 15 y 16 muestran la diferencia del yogurt y de la crema chantillí con y sin colorante. Por otra parte, en el análisis de sabor y olor no presento diferencias entre las muestras sin y con colorante.

Figura 15

Aplicación en yogur natural

A

B



Nota: A yogur natural, B yogur con colorante

Figura 16

Aplicación en crema chantilly

A

B



Nota: A crema chantilly, B crema chantilly con colorante

Como se observa en las imágenes el cambio de color es notable dando una tonalidad amarilla. Así también no se observaron cambios significativos en la percepción del sabor ni del olor.

Baltazaca & Chiluisa (2017) quienes realizaron un estudio de comparación de atributos entre el yogurt aplicado colorante natural y el yogurt comercial, reportaron como resultado una mayor aceptabilidad del yogurt sometido a la aplicación del colorante sin alterar las características organolépticamente del producto.

Ortiz & Mamami (2015) de la facultad de tecnología carrera de Química Industrial de la Universidad Mayor de San Andrés desarrolló su trabajo de investigación denominado; “Obtención del beta-caroteno a partir de la zanahoria y su aplicación en la industria

alimenticia”, quienes aplicaron un método de extracción sólido-líquido mediante el uso de hexano puro como solvente, el colorante obtenido fue sometido a diversas pruebas de caracterización e identificación de beta caroteno en comparación con un testigo y su aplicación en un alimento como fue una pasta, estos autores llegaron a la conclusión que el colorante obtenido es fiable en el uso dentro de la industria alimenticia.

CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

- De los tres métodos aplicados en la obtención del colorante, el que proporcionó mayor rendimiento es por el método extracción por soxhlet utilizando como solvente hexano, con un valor medio de 29,73 mg/100g de bagazo de zanahoria en muestra húmeda y de 23, 34 mg/100g en muestra seca.
- Se obtuvieron mejores rendimientos de colorante al extraer en muestra humedad que en muestra seca, debido a que la temperatura de secado 60°C pudo disminuir el rendimiento de extracción debido a la termo-sensibilidad del β -caroteno que puede generar la isomerización o degradación de la molécula como lo indican varios autores.
- Los carotenos presentan grupos cromóforos a causa de los dobles enlaces en sus estructuras por lo que fue posible la identificación por espectrometría de absorción UV-visible, puesto que se observa en los espectros los máximos de absorción a longitud de onda de 448 nm, que varían en rangos muy pequeños a los reportados por bibliografía de los estándares cuya absorción están en 450 nm, las diferencias en los máximos de absorción se debe al método de extracción y el solvente utilizado, pero en todos los casos los espectros corresponden al β -caroteno, exclusivamente al 13-cis-beta-caroteno debido a que los carotenos son compuestos muy sensibles a la luz y a la temperatura y provocaron una isomerización.
- Se realizó la separación empacando una columna con alúmina, y haciendo eluir con éter de petróleo-acetona (95:5), recogiendo 7 fracciones según el cambio de tonalidad, los cuales se identifican cualitativamente por espectrometría de absorción correspondiendo todos al isómero 13-cis-beta-caroteno, por lo que no se pudo separar los diferentes tipos de carotenoides que presenta el zanahoria por método empleado en esta investigación.
- Se aplicó el colorante en el yogur y crema chantilly, proporcionando un color amarillo como se visualizó y se demuestra en las imágenes respectivas y sin alterar el sabor ni olor característico de las mismas.

5.2. RECOMENDACIONES

- La extracción en laboratorio establece que la obtención del producto beta caroteno a partir de desecho generado de la comercialización de jugos de zanahoria es factible y considerando lo que indica Clementz et al.(2019) de que existe hasta un 50% de desperdicio en esta actividad y que el colorante β -caroteno natural puede llegar hasta un valor de venta de 500 USD por kilogramo, se recomienda realizar

un estudio de la cantidad de desperdicios en los mercados de la ciudad y la factibilidad de su producción y comercialización..

- Ensayar con otras fases fijas y móviles en la columna para obtener la separación de los tipos de carotenoides de la zanahoria, recomendando que para ello el laboratorio disponga de los mismos sobre todo de solventes.

BIBLIOGRAFÍA

- Academy, K. (2023). *Luz y pigmentos fotosintéticos*. Obtenido de <https://es.khanacademy.org/science/biology/photosynthesis-in-plants/the-light-dependent-reactions-of-photosynthesis/a/light-and-photosynthetic-pigments#:~:text=El%20espectro%20de%20absorci%C3%B3n%20del,unos%20450%20y%20475%20nm.&text=La%20mayor%C3%ADa%20d>
- Aguilar, J. A. (Febrero de 2017). *Efecto de la adición de bagazo de zanahoria (Daucus carota L.) en cereales para desayuno ricos en fibra elaborados por extrusión: características químicas y capacidad antioxidante*. Obtenido de https://mcta.uas.edu.mx/pdf/repositorio/2014-2016/08_Ahumada_Aguilar_Jesus_Alberto.pdf
- Aguilar-Espinosa, M., M, A., G, A., R, Á., D, A., & O, A. (19 de Diciembre de 2019). *Carotenoides en agroalimentación y salud [Internet]*. *Hdl.handle.net*. Obtenido de <http://hdl.handle.net/10261/158244>
- Amigo, J. A. (27 de Noviembre de 2018). *Variedades de zanahoria*. Obtenido de mundohuerto.com
- Andrade, M. G. (2020). “DISEÑO DE UN PROCESO PARA LA OBTENCION DE COLORANTES NATURALES A PARTIR DE LA REMOLACHA (*Beta vulgaris*), GRANADA (*Punica granatum*) Y TOMATE DE ÁRBOL INJERTO (*Solanum betaceum cav.*), EN SECO Y HÚMEDO”. Obtenido de <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/14111/1/96T00583.pdf>
- Armando, A. Q., & Rubén, A. A. (2016). “COLORANDES UTC”. Obtenido de <https://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/3595/1/T-UTC-00832.pdf>
- Arredemo. (2024). *zanahoria*. Obtenido de <http://jrds.arredemo.org/fitoterapia/zanahoria.htm?i=1>
- Avancera. (2017). *ALIMENTOS QUE NO DEBEN FALTAR EN LA DIETA DIARIA*. Obtenido de <https://avancera.es/index.php/es/noticias/62-alimentos-que-no-deben-faltar-en-la-dieta-diaria>
- Avantor. (2024). *Cromatografía de exclusión molecular*. Obtenido de https://es.vwr.com/cms/chromatography_hichrom_sec#:~:text=Las%20columnas%

- 20SEC%20separan%20los,part%C3%ADculas%20del%20material%20de%20emp
 aquetado.
- Azabou. (2016). *Potential of the solid-state fermentation of tomato by products by Fusarium solani pisi for enzymatic extraction of lycopene*. Obtenido de <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.11.064>
- Bastidas, D. (2016). *Separacion y espectro de absorcion de pigmentos vegetales* . Obtenido de <https://es.slideshare.net/DiegoBastidas10/clorofilas-carotenos-xantofilas-separacin-de-pigmentos>
- Bonduelle. (2020). *Zanahoria*. Obtenido de <https://www.bonduelle.es/desde-1853/campo-hasta-plato/zanahoria/782/97>
- Broad, C. (2021). *¿Qué es la cromatografía en columna?* Obtenido de <https://cwsabroad.com/es/que-es-la-cromatografia-en-columna/>
- BuLLeT, B. (2019). *Extracción y Separación de Carotenos de La Zanahoria* . Obtenido de <https://es.scribd.com/doc/16675104/7-EXTRACCION-Y-SEPARACION-DE-CAROTENOS-DE-LA-ZANAHORIA>
- Calvo, M. (2024). *CAROTENOIDES*. Obtenido de <https://milksci.unizar.es/bioquimica/temas/pigmentos/carotenoides.html>
- Campomanes, F. (2013). *Production of polyphenol extracts from grape bagasse using supercritical fluids: Yield, extract composition and economic evaluation*. Obtenido de <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2013.02.006>
- Campos, M. A. (2022). *“Manejo integrado de insectos plagas en el cultivo de zanahorias (Daucus carota L.)”*. Obtenido de <http://dspace.utb.edu.ec/bitstream/handle/49000/13207/E-UTB-FACIAG-ING%20AGROP-000243.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Carreira, M. (2 de Septiembre de 2021). *Zanahoria: ¿Cuáles son sus propiedades y beneficios?* Obtenido de <https://www.salud.mapfre.es/nutricion/alimentos/zanahoria-beneficios-salud/>
- Castro, I. M., Londoño, L. F., Carvalho, J. L., Jaramillo, A. M., & Pacheco, S. (2019). *ANÁLISIS DE Carotenoides DE ALIMENTOS BIOFORTIFICADOS* . Obtenido de <https://cgspace.cgiar.org/server/api/core/bitstreams/dade7902-6c54-417e-a2f6-d08>
- Chadan, A. E. (2016). *“COLORANDES UTC”*. Obtenido de <https://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/3596/1/T-UTC-00833.pdf>
- Chamorro, R., & Rossellini, H. H. (2017). *EFFECTO DE LA PRESIÓN Y TEMPERATURA EN LA EXTRACCIÓN POR CO2 SUPERCRÍTICO DE CAROTENOIDES DE*

- ZANAHORIA (*Daucus carota*). Obtenido de <https://repositorio.uncp.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12894/1584/Chamorro%20Requena%20-%20TESIS.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Cientec. (2022). *¿Qué es Cromatografía?* Obtenido de <https://cientecinstrumentos.cl/que-es-cromatografia/>
- Clementz, A., Torresi, P., Molli, J., Cardell, D., Mammarella, E., & Yori, J. (2019). *Novel method for valorization of by-products from carrot discards*. Obtenido de <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0023643818309319?via%3Dihub>
- Consumidor, E. P. (06 de mayo de 2021). *El poder de la zanahoria* . Obtenido de <https://elpoderdelconsumidor.org/nuestros-documentos/>
- Corzo, A. (2019). *Técnicas de análisis en Química Orgánica : cromatografía : Cátedra de Química orgánica y Biológica Universidad Nacional de Santiago del Estero - UNSE. Facultad de Ciencias Forestales., Libro digital, PDF ISBN 978-987-1676-86-6*. Obtenido de <https://fcf.unse.edu.ar/archivos/series-didacticas/SD-44-Cromatografia-CORZO.pdf>
- Cristian, M. (Febrero de 2019). *“EXTRACCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE UN COLORANTE A PARTIR DEL SANGORACHE (*Amaranthus hybridus* L.) APLICADO EN UN YOGUR NATURAL.”* . Obtenido de <https://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/8515/1/PC-000680.pdf>
- Cruz, J. d. (2018). *CAROTENOIDES: sustancias protectoras*. Obtenido de <https://steemit.com/stem-espanol/@josedelacruz/carotenoides-sustancias-protectoras>
- Cuzco, T. M. (21 de 10 de 2019). *Obtención de harina a partir de zanahoria blanca (*Arracacia xanthorrhiza*) en condiciones óptimas de temperatura, tiempo y espesor de la rodaja y su aplicación en dietas alimenticias*. Obtenido de <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/33534/1/Trabajo%20de%20Titulaci%C3%B3n.pdf>
- De Andrade, M., Charalampopoulos, D., & Chatzifragkou, A. (2018). *Optimisation and modelling of supercritical CO2 extraction process of carotenoids from carrot peels*. Obtenido de The Journal of supercritical fluids: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0896844617304679?via%3Dihub>

- EcuRed. (18 de enero de 2018). *Zanahoria para la vida*. Obtenido de https://www.ecured.cu/Zanahoria_para_la_vida
- EFSA. (14 de 09 de 2016). *Colorantes alimentarios*. Obtenido de <https://www.efsa.europa.eu/es/topics/topic/food-colours>
- Eroski, C. (2024). *Zanahoria*. Obtenido de <https://verduras.consumer.es/zanahoria/introduccion>
- Esneca. (08 de 01 de 2023). *¿Qué es y qué tipos de cromatografía hay?* Obtenido de <https://www.esneca.com/blog/tipos-cromatografia-fases/>
- Espinosa, Á. C. (17 de 02 de 2020). *Métodos de extracción de carotenoides de muestras vegetales*. Obtenido de Facultad de Farmacia. Universidad Complutense de Madrid: <http://147.96.70.122/Web/TFG/TFG/Poster/ALVARO%20ESPINOSA%20CALDERON.pdf>
- Flavorix. (2017). *LOS COLORANTES AYUDAN A QUE LOS ALIMENTOS SEAN ATRACTIVOS*. Obtenido de <https://flavorix.com/productos/colorantes/>
- Flores, M., Torres, F., Monzon, J., Escobedo, M., Glossman, D., & Barraza, D. (2017). "Electronic Structure of Carotenoids in Natural and Artificial Photosynthesis". En Cvetkovic, D., Nikolic, G (eds.), *Carotenoids*, IntechOpen, London. Obtenido de doi:10.5772/67636.
- Garcia, C. D., & R. P. (2017). "ESTANDARIZACIÓN DE LA TÉCNICA BLANQUEAMIENTO DEL BETACAROTENO PARA LA EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE EXTRACTOS LIPOFÍLICOS: PLANTAS MEDICINALES, FRUTOS Y MICROALGAS". Obtenido de <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/27662/1/Tesis.pdf>
- Gavilanez, A. S. (2015). *PLAN DE EXPORTACIÓN DE ZANAHORIA PRE-COCIDA DE LA CORPORACIÓN DE PRODUCTOS AGRÍCOLAS HUERTOS G.Z. DE LA PROVINCIA CHIMBORAZO HACIA PARIS - FRANCIA, PERIODO 2014*. Obtenido de <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/11082/1/52T00327.pdf>
- Geovanny, H. O. (2022). *UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO FACULTAD DE INGENIERIA CARRERA DE AGROINDUSTRIAL Uso de colorantes alimentarios (artificiales y naturales) y su impacto en la salud: revisión de la literatura*. Obtenido de <http://dspace.unach.edu.ec/bitstream/51000/9714/1/Hidalgo%20O.%20Byron%20G>.

- %20%282022%29%20Uso%20de%20colorantes%20alimentarios%20%28artificiales%20y%20naturales%29%20y%20su%2
- Goula, A., Ververi, M., Adamopoulou, A., & Kaderides, K. (2017). *Green ultrasound-assisted extraction of carotenoids from pomegranate wastes using vegetable oils. Ultrasonics Sonochemistry*, 34, 821-830. . Obtenido de <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1350417716302619?via%3>
Dihub
- Griselda. (2022). *Cromatografía: qué es y tipos*. Obtenido de <https://inensal.com/cromatografia/>
- Guaranda, B., Silva, E., & Pamela, C. J. (2017). “*COLORANTE AVOCADO*” . Obtenido de <https://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/4195/1/UTC-PC-000154.pdf>
- Guartán, C., & Arturo, B. (2021). *Colorantes a partir de fuentes naturales*. Obtenido de https://dspace.utpl.edu.ec/visorHub/?handle=20.500.11962_27707
- Heraldo, E. (6 de julio de 2020). *Sangorache o ataco, planta medicinal*. Obtenido de <https://www.elheraldo.com.ec/sangorache-o-ataco-planta-medicinal/>
- Herrera, O. (24 de Septiembre de 2018). *Extracción y Separación de Lípidos Terpenicos Carotenos*. Obtenido de <https://es.scribd.com/document/389342633/Extraccion-y-Separacion-de-Lipidos-Terpenicos-Carotenos-1>
- Hidalgo O. Byron G. (2022) *Uso de colorantes alimentarios (artificiales y naturales) y su impacto en la salud revisión de la literatura*. UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO FACULTAD DE INGENIERIA CARRERA DE AGROINDUSTRIAL.pdf
- Iberica. (10 de Marzo de 2023). *Cromatografía*. Obtenido de <https://www.pce-iberica.es/instrumentos-de-medida/instrumentos-laboratorios/cromatografia.htm>
- INCOLTEC. (06 de 04 de 2020). *LINICOL ZANAHORIA EN POLVO*. Obtenido de <https://incoltec.com/wp-content/uploads/2020/11/70510.-linicol-zanahoria-en-polvo-esp.pdf>
- Integra, F. (2021). *Zanahoria*. Obtenido de https://www.regmurcia.com/servlet/s.SI?sit=c,543,m,2714&r=ReP-20382-DETALLE_REPORTAJESPADRE
- Interempresas Media, S. (2024). *ZANAHORIA, DAUCUS CAROTA*. Obtenido de <https://www.frutas-hortalizas.com/Hortalizas/Presentacion-Zanahoria.html>
- Interlab. (2020). *Tipos de cromatografía: ¿cuáles existen?* Obtenido de <https://net-interlab.es/tipos-de-cromatografia/>

- Jácome, W. D. (Mayo de 2022). *Evaluación del proceso de encapsulación mediante secado por aspersión para la conservación de betacarotenos contenidos en la *Daucus carota* var. *chantenay* (zanahoria) de rechazo de poscosecha de Agrocomercial Don Luis*. Obtenido de <https://core.ac.uk/download/539283853.pdf>
- Josselyn, H., Vannessa, R., Diego, T., & Ileana, U. (2020). *OBTENCIÓN DE COLORANTES NATURALES POR EXTRACCIÓN*. Obtenido de <https://www.docsity.com/es/extraccion-de-colorantes/5773709/>
- Juliana, J., Indrawati, R., & Yuliati, L. (2019). *Effects of pH and Storage Time on the Stability of Papaya and Carrot Extracts*. *Indonesian Journal of Natural Pigments*, 1(1), 25-25. Obtenido de <https://doi.org/10.33479/ijnp.2019.01.1.25>
- Kumari, S., Rajarani, A., Bansal, N., Dahuja, A., & Praveen, S. (2019). *Extraction and estimation of provitamin A carotenoids from carrot*. In: V. Krishnan; S. Kumar; S. Praveen (Eds.). *Omics meet Plant Biochemistry: Applications in nutritional enhancement with one health perspective* (pp. 56-55).
- Kyriakopoulou, K., Papadaki, S., & Krokida, M. (2015). *Life cycle analysis of β -carotene extraction techniques*. Obtenido de *Journal of Food Engineering*: <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2015.03.008>
- Labster. (noviembre de 2017). *Cromatografía de intercambio iónico*. Obtenido de <https://theory.labster.com/es/iexchromatography/>
- Lau, W. (2018). *Physical properties, carotenoids and antioxidant capacity of carrot (*Daucus carota* L.) peel as influenced by different drying treatments*. Obtenido de <http://dx.doi.org/https://doi.org/10.1515/ijfe-2017-0042>
- Lavorix Aromáticos, S. (s.f.). *Colorante Natural metta-carotenoE-160*. Obtenido de <https://flavorix.com/producto/colorante-natural-beta-caroteno/>
- Li. (2016). *An efficient homogenate-microwave-assisted extraction of flavonols and anthocyanins from blackcurrant marc: Optimization using combination of Plackett-Burman design and Box-Behnken design*. Obtenido de <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.09.063>
- Lidiana. (2018). *The Effect of maceration period on contents and color brightness of phycoerythrin from *Gracilaria* sp.* Obtenido de <https://doi.org/10.1088/1755-1315/137/1/012017>
- López, S. G. (2014). *“Extracción y actividad antioxidante del colorante natural de la pulpa del fruto de *Opuntia ficus-indica* “tuna morada” y su aplicación en crema chantilly”*. Obtenido de

- https://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/4243/L%c3%b3pez_gs.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- López-Casero, I. I. (Junio de 2019). *DETERMINACIÓN DE CAROTENOIDES EN SUERO MEDIANTE HPLC*. Obtenido de <http://147.96.70.122/Web/TFG/TFG/Memoria/IGNACIO%20INIESTA%20LOPEZ-CASERO.pdf>
- Machuca, M. A., & Paida, J. P. (02 de 05 de 2023). *Evaluación de la correlación entre las imágenes multiespectrales y el contenido de carotenoides en Jungia rugosa*. Obtenido de <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/41801/4/Trabajo-de-Titulaci%C3%B3n.pdf>
- Machuca, M. A., & Paida, J. P. (02 de mayo de 2023). *Evaluación de la correlación entre las imágenes multiespectrales y el contenido de carotenoides en Jungia rugosa*. Obtenido de <https://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/41801/4/Trabajo-de-Titulaci%c3%b3n.pdf>
- MANCILLA, C. G., ROSAS, T. M., PÉREZ, S. L., & CASTREJÓN, C. R. (2020). *EXTRACCIÓN Y SEPARACIÓN DE LÍPIDOS TERPENICOS CAROTENOS*.
- Martinez, K. D. (2022). *ADAPTACIÓN DE DIEZ GENOTIPOS DE ZANAHORIA (Daucus carota) PARA ZONAS DE ALTURA EN QUERO-TUNGURAHUA*. Obtenido de <https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/36444/1/008%20Agronom%C3%ADa%20-%20Pallo%20Mart%C3%ADnez%20Klever%20Daniel.pdf>
- Martínez Tocagón Cristian Orlando, Muentes Navas Jonathan Fabricio (2019); Innovación, caracterización, fitoquímicos, alteración. Extracción y caracterización de un colorante a partir del sangorache (amaranthus hybridus l.) aplicado en un yogur natural. UTC. Latacunga. 104 p
- Martins, N., & Ferreira, I. (2017). *Wastes and by-products: Upcoming sources of carotenoids for biotechnological purposes and health-related applications*. Obtenido de <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.01.014>
- Meléndez-Martínez, at el. (2017). *Carotenoides en agroalimentación y salud*. . Obtenido de:
<https://idus.us.es/bitstream/handle/11441/150138/Cap%C3%ADtulo%201%20Carotenoides%20en%20agroalimentaci%C3%B3n%20y%20salud.pdf>
https://www.academia.edu/94981410/Carotenoides_en_agroalimentaci%C3%B3n_y_salud

- Melissa Román Páez, N. C. (2017). IMPLEMENTACIÓN DE LA EXTRACCIÓN Y ANÁLISIS DE β -CAROTENO EN ZANAHORIA (*DAUCUS CAROTA L.*) POR FLUIDOS SUPERCRÍTICOS (FSC) Y UHPLC-DAD.
- Méndez, A., Matthew, P., Carrillo, J. G., & Ortega Jiménez, F. (septiembre de 2023). *Cromatografía en Capa fina y Columna (monografía)*. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. UNAM. Obtenido de <https://ru.cuautitlan.unam.mx/retrieve/16449c20-525d-4885-8526-9b526f0e937b>
- Mercado, F. (2020). *Bagazo de la zanahoria*. Obtenido de https://prezi.com/p/4nkgja_u0xey/bagazo-de-la-zanahoria/
- Merck. (2016). *Cromatografía en capa fina (TLC)*. Obtenido de <https://www.sigmaaldrich.com/EC/es/products/analytical-chemistry/analytical-chromatography/tlc-plates-and-adsorbants>
- Miękus, N., Iqbal, A., Marszałek, K., Puchalski, C., & Świergiel, A. (2019). *Green Chemistry Extractions of Carotenoids from *Daucus carota L.*—Supercritical Carbon Dioxide and Enzyme-Assisted Methods*. Obtenido de <https://www.mdpi.com/1420-3049/24/23/4339>
- Mirele da Silveira Vasconcelos, L. M.-P. (2020). *Analysis of tetraterpenes and tetraterpenoids (carotenoids)*. Obtenido de <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780128164556000123?via%3Dihub>
- Mirheli, M., & Dinani, S. (2018). Extraction of β -carotene pigment from carrot processing waste using ultrasonic-shaking incubation method. . *Journal of Food Measurement and Characterization*, 1818-1828. .
- Mojica, L. (2017). *Black bean anthocyanin-rich extracts as food colorants: Physicochemical stability and antidiabetes potential*. Obtenido de <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.02.124>
- Murray, M. T., & Capelli, B. (2020). *Beta-Carotene and Other Carotenoids*. Obtenido de <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780323430449000571?via%3Dihub>
- Naturals, F. (2015). *¿Qué son los colorantes para alimentos?* Obtenido de <https://farbe.com.mx/que-son-los-colorantes-para-alimentos/#:~:text=Los%20colorantes%20para%20alimentos%20son,modificar%20las%20preferencias%20del%20consumidor.>

- Nayhua, C. M. (2017). *OBTENCIÓN DE COLORANTE NATURAL A PARTIR DE LA CÁSCARA DE TUNA PÚRPURA (Opuntia ficus-indica) POR EL MÉTODO DE EXTRACCIÓN SÓLIDO-LÍQUIDO PARA SU APLICACIÓN EN LA INDUSTRIA DE ALIMENTOS, FRUTO PROVENIENTE DEL DISTRITO DE SAN CRISTÓBAL-MOQUEGUA*. Obtenido de http://tesis.unap.edu.pe/bitstream/handle/20.500.14082/6391/Nayhua_Yana_Candelaria_Milagros.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Ojha, S., Aznar, R., O'Donnell, C., & Tiwari, B. (2020). *Ultrasound technology for the extraction of biologically active molecules from plant, animal and marine sources*. . Obtenido de TrAC Trends in Analytical Chemistry, 122, 115663: <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.11566>
- Otálora Orrego, D. (2019). *EVALUACIÓN DE LA FACTIBILIDAD TÉCNICO-FINANCIERA PARA EL PROCESO DE EXTRACCIÓN DE β -CAROTENO PARTIENDO DE DESECHOS DE ZANAHORIA VARIEDAD CHANTENAY (Daucus carota L.)*. Obtenido de <https://repository.uamerica.edu.co/bitstream/20.500.11839/7603/1/6141218-2019-2-IQ.pdf>
- Otálora-Orrego, D., & Martin, D. (2020). *Técnicas emergentes de extracción de β -caroteno para la valorización de subproductos agroindustriales de la zanahoria (Daucus carota L.): una revisión*. Obtenido de <file:///C:/Users/Sony/Downloads/Dialnet-TecnicasEmergentesDeExtraccionDeCarotenoParaLaValo-7868821.pdf>
- Oviedo. (2020). *Estos son los colorantes artificiales más utilizados en nuestra comida*. Obtenido de <https://foodandwineespanol.com/estos-son-los-colorantes-artificiales-mas-utilizados-en-nuestra-comida/>
- Owolade, S. (2017). Study on physico-chemical properties, antioxidant activity and shelf stability of carrot (Daucus carota) and pineapple (Ananas comosus) juice blend. *International Food Research Journal*, 534-540.
- Paltán, G. (2013). *“OBTENCIÓN DEL PIGMENTO ROJO (Betacianina) A PARTIR DE LA REMOLACHA (Betavulgaris) Y SU APLICACIÓN EN LA ELABORACIÓN DE UN REFRESCO EN LA CIUDAD DE RIOBAMBA CHIMBORAZO”*. Obtenido de <http://dspace.unach.edu.ec/bitstream/51000/411/1/UNACH-EC-IAGRO-2013-0001.pdf>

- Paltán, G. A., & Ruchi, G. O. (2013). “*OBTENCIÓN DEL PIGMENTO ROJO (Betacianina) A PARTIR DE LA REMOLACHA (Betavulgaris) Y SU APLICACIÓN EN LA ELABORACIÓN DE UN REFRESCO EN LA CIUDAD DE RIOBAMBA CHIMBORAZO*”. Obtenido de <http://dspace.unach.edu.ec/bitstream/51000/411/1/UNACH-EC-IAGRO-2013-0001.pdf>
- Profeco. (11 de Octubre de 2020). *colorantes artificiales en los alimentos*. Obtenido de <https://www.gob.mx/profeco/prensa/informa-profeco-sobre-colorantes-artificiales-en-los-alimentos>
- Purohit, A., & Gogate, P. (2015). *Ultrasound-assisted extraction of β -carotene from waste carrot residue: effect of operating parameters and type of ultrasonic irradiation*. Obtenido de <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/01496395.2014.978472>
- QuestionPro. (2020). *Investigación aplicada: Definición, tipos y ejemplos*. Obtenido de <https://www.questionpro.com/blog/es/investigacion-aplicada/>
- Rodriguez, I. (22 de diciembre de 2020). *EFFECTO DE LA DENSIDAD POBLACIONAL EN PARÁMETROS MORFOLÓGICOS Y AGRONÓMICOS DE LA ZANAHORIA (DAUCUS CAROTA) EN LA GRANJA SANTA INÉS*. Obtenido de <http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/16150/1/TTUACA-2020-IA-DE00033.pdf>
- Rojas, J. A. (2018). *Obtención de β -Caroteno en zanahorias (Daucus carota L) utilizando ultrasonido y aceite esencial de naranja (Citrus sinensis) como alternativa para el proceso de extracción*. Obtenido de https://www.unpa.edu.mx/tesis_Tux/tesis_digitales/maestria_biotecnologia/MB35-Janis_Axidi_Esp%C3%ADritu_Rojas.pdf
- Rosa, A. A. (2019). *APROVECHAMIENTO DE RESIDUOS AGROINDUSTRIALES, A BASE DE CÁSCARA DE ZANAHORIA (Daucus carota), REMOLACHA (Beta vulgaris) Y MORA (Rubus glaucus) PARA UNA BEBIDA MEDIANTE LIOFILIZACIÓN*”. Obtenido de <http://dspace.unach.edu.ec/bitstream/51000/5938/1/UNACH-EC-ING-AGRO-IND-2019-0011.pdf>
- Saini, R. K., & Keum, Y. S. (2018). *Study on factors affecting extraction of carotene from carrot by using Soxhlet extraction method*. Obtenido de Facultad de Ingeniería Química y de Recursos Naturales. Universidad de Malaysia Pahang:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814617312529?via%3>

Dihub

- Selvamuthukumar, M. (2017). *Avances recientes en la extracción de antioxidantes de las industrias procesadoras de subproductos vegetales*. Obtenido de <https://academic.oup.com/fqs/article/1/1/61/4791727#107645101>
- Sharmin, T., Ahmed, N., Hossain, A., Hosain, M., Mondal, S., Haque, R., . . . Siddik, A. (2016). *Extraction of bioactive compound from some fruits and vegetables (pomegranate peel, carrot and tomato)*. *American Journal of Food and Nutrition*, 4(1), 8-19.
- Syafa'atullah. (2020). *Anthocyanin from butterfly pea flowers (Clitoria ternatea) by ultrasonic-assisted extraction*. Obtenido de <https://doi.org/10.1063/5.0005289>
- Tamaulipas, U. A. (2018). *Espectro de absorción de la radiación electromagnética para los pigmentos fotosintetizadores*. Obtenido de <https://www.studocu.com/es-mx/document/universidad-autonoma-de-tamaulipas/biologia/tarea-13-espectro-de-absorcion-de-la-radiacion-electromagnetica-para-los-pigmentos-fotosintetizadores/10886462>
- Tarazona-Díaz, M. B. (Junio de 2020). *Obtención de un colorante a partir de corteza de maracuyá con el uso de técnicas convencionales de extracción*. Obtenido de Actualidad & Divulgación Científica: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-42262020000100018
- Tech, T. F. (21 de Junio de 2023). *Clasificación de los colorantes alimentarios, un recurso esencial para los expertos en alimentos*. Obtenido de <https://thefoodtech.com/ingredientes-y-aditivos-alimentarios/clasificacion-de-los-colorantes-alimentarios-un-recurso-esencial-para-los-expertos-en-alimentos/>
- Tiwari, S., Upadhyay, N., Singh, A., Meena, G., & Arora, S. (2019). Organic solvent-free extraction of carotenoids from carrot bio-waste and its physico-chemical properties. *Journal of food science and technology*, 4678-4687.
- Tsiaka, T. (2017). *Chapter 8 - Extracting Bioactive Compounds From Natural Sources Using Green High-Energy Approaches: Trends and Opportunities in Lab- and Large-Scale Applications*. Obtenido de <http://dx.doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811521-3.00008-9>
- Tyler, El- Mashad, H., Zhang, R., & Pan, Z. (2019). *Integrated Processing Technologies for Food and Agricultural By-Products*. Obtenido de Chapter 12 - Carrots:

- <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780128141380000125?via%3Dihub>
- Vasconcelos, M., de Oliveira, L., Nunes-Pinheiro, D., da Silva, F., de Sousa, F., de Siqueira, L., . . . de Melo, D. (2020). *Chapter 12 - Analysis of tetraterpenes and tetraterpenoids (carotenoids)*. Obtenido de <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780128164556000123?via%3Dihub>
- Vegaffinity. (2019). *Zanahoria: Beneficios e Información Nutricional*. Obtenido de <https://www.vegaffinity.com/comunidad/alimento/zanahoria-beneficios-informacion-nutricional--f22>
- Yara-Varón. (2016). *Solvent from forestry biomass. Pinane a stable terpene derived from pine tree byproducts to substitute n-hexane for the extraction of bioactive compounds*. Obtenido de <https://doi.org/10.1039/C6GC02191C>
- Yarlaqué, M. d. (2014). *OBTENCIÓN DE COLORANTE A PARTIR DE LA CÁSCARA DE BERENJENA Solanum melongena Y SU EMPLEO EN UN PRODUCTO LÁCTICO: YOGURT*. Obtenido de <https://repositorio.unprg.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12893/120/BC-TES-3843.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

ANEXOS

Anexo 1: Tipos de extracciones

Método soxhlet



Materia prima



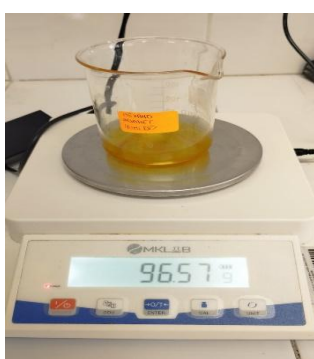
Proceso soxhlet



Peso después de extracción



Producto con solvente



colorante

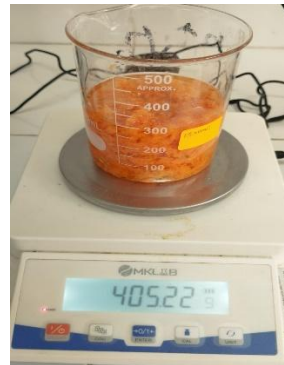


Espectro de absorción

Extracción con hexano



Muestra



Peso con hexano



Filtración



Después de filtración

Método hexano en muestra seca



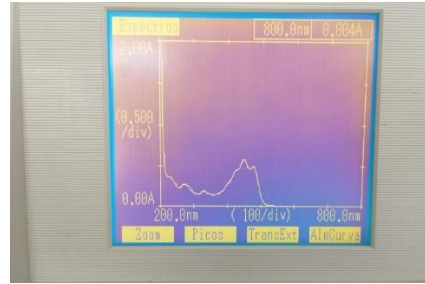
Muestra



Después de filtración



Colorante



Especetro

Método inmersión



Muestra



Muestra con alcohol



Después filtración



Colorante



Espectro