

# UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA “ANTONIO NARRO”

DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL

DEPARTAMENTO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS



## EVALUACIÓN DE LOS PARÁMETROS DE EXTRACCIÓN ENZIMÁTICA DE LICOPENO A PARTIR DE TOMATE (*Lycopersicon esculentum Mill*)

TESIS POR:

ANTONIO MEJÍA LÓPEZ

Presentado como requisito parcial para obtener el título profesional de  
Ingeniero en Ciencia y Tecnología de Alimentos

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México

Abril 2011

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA  
“ANTONIO NARRO”**

**DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL**

**DEPARTAMENTO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS**

**EVALUACIÓN DE LOS PARÁMETROS DE EXTRACCIÓN  
ENZIMÁTICA DE LICOPENO A PARTIR DE TOMATE  
(*Lycopersicon esculentum Mill*)**

**TESIS**

Presentada por:

**ANTONIO MEJÍA LÓPEZ**

Que somete a consideración del H. Jurado Examinador como Requisito Parcial para  
Obtener el Título de:

**INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS**

Aprobada por el Comité de Tesis

---

M.C. Xochitl Ruelas Chacón  
Presidente

---

M.C. Oscar Noé Reboloso Padilla  
Vocal

---

Dr. Antonio Aguilera Carbó  
Vocal

---

M.C. Luis Rodríguez Gutiérrez  
Vocal

---

Dr. Ramiro López Trujillo  
Coordinador de la División de Ciencia  
Animal

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México

Abril 2011

## AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer a **Dios** por proveerme de todo lo necesario, por mandarme a las personas, cosas y momentos que me tienen donde estoy. Gracias por el Amor, la Amistad y la Salud que enriquecen mi vida.

Gracias a la **Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro**, debo decirlo, mi “Alma Terra Mater”; a sus distintas Divisiones y Departamentos, refiriéndome a las personas que trabajando día a día colaboran para obtener el mejor producto: profesionistas competitivos.

De manera especial quiero agradecer a la **M.C. Xochitl Ruelas Chacón**; Maestra gracias por ser ese ejemplo que tomé en mi formación, por ser una fuente de conocimientos y experiencias que me hicieron crecer y, sobre todo por permitirme concluir con esta fase del proyecto pese al considerable aplazamiento, muchas gracias.

Al **M.C. Oscar Noé Reboloso Padilla**, al **Dr. Antonio Aguilera Carbó** y al **M.C. Luís Rodríguez Gutiérrez**, gracias por concederme el honor de contar con ustedes en el asesoramiento de este trabajo. Gracias porque con sus conocimientos ganados con estudio y experiencia han logrado formar grandes Ingenieros.

A la **M.C. María Hernández González** por compartir sus conocimientos y regalar experiencia de la forma en que lo hace, gracias por abrirnos los ojos cuando aún no conocíamos ese competitivo, difícil y real “mundo exterior”.

Quiero agradecer a todos los profesores que en su momento colaboraron en mi formación, en especial a: **Q.F.B. Carmen Julia García**, **Lic. Laura O. Fuentes Lara**, **Dra. Ma. De Lourdes Morales Caballero**, **Dra. Vero**, **M.C. Heliodoro Garza Toledo** y a todos los no mencionados, gracias por su importante trabajo.

A la **M.C. Mildred Inna Marcela Flores Verástegui**, gracias por todo su apoyo, evidente interés y disposición para ayudar.

Deseo agradecer a amigos y compañeros de la **Generación CVI de la carrera de Ingeniería en Ciencia y Tecnología de Alimentos**. De todos aprendí algo, en lo personal y profesional, todos tienen un gran potencial con sus actitudes y aptitudes propias.

Un agradecimiento especial para la **familia Vargas Negrete**, para **Rebe y Guille**, por haberme permitido vivir momentos de calidez familiar cuando parecía imposible vivirlas, muchas gracias.

Agradezco a la Empresa **Sigma Alimentos**, especialmente al equipo de la Q.F.B. Lety Mata en el departamento de Control de Calidad; a la Empresa **7-Eleven México**, a César Eduardo Flores Rodríguez y compañeros Gerentes del mercado 400, gracias porque con sus enseñanzas he complementado mi formación profesional.

## DEDICATORIAS

Dedico especialmente este logro a **MIS PADRES:**

**ALVARO MEJÍA MEDINA**  
**Ma. DOLORES LÓPEZ MEDINA**

**Papá**, este logro es tuyo, eres un gran hombre y mi mayor ejemplo, mi ejemplo de lucha y superación, gracias por tus enseñanzas por ser un hombre de grandes valores, gracias por tener esa personalidad que como buen líder nos contagias de optimismo en cada momento a toda tu familia, gracias porque con tu vida llena de sacrificios nos has entregado lo mejor a tus hijos, gracias por ser el mejor Padre, con nada podré pagarte todo lo que haz hecho por mi, Te Quiero Mucho Papá.

**Mamá**, si el amor de Madre es el mas grande, créeme que eres correspondida, gracias por estar cerca de mi siempre, por todas las preocupaciones que te hice pasar me disculpo, gracias por darme tanto y dedicar tanto tiempo y sacrificio por nosotros tus hijos, te llevo siempre en mi mente y corazón, Te Quiero Mucho Mamá.

**A mi esposa Lety y a mi hija Andy**, amor gracias por estar conmigo, por preocuparte y cuidar de mi, gracias por tu apoyo y consejos para realizar este trabajo, gracias por regalarme la dicha de ser padre, Te Amo mi vida.

Andrea, mi princesita te dedico este trabajo por ser mi luz, mi alegría y mi mayor motivación para luchar, gracias por regalarme esa sonrisa que me llena de energía y ganas de vivir, Te Amo Princesita.

**A mis hermanos: Ofe, Mane, Chely, Mago y Lupe.** Tengo los hermanos más... capaces e inteligentes, ustedes se merecen más que yo este logro, lo digo porque los conozco y se todo lo que han hecho y pueden llegar a hacer, estoy muy orgulloso de todos y cada uno de ustedes debo trabajar duro para ganarme lo mismo. Gracias por todo su apoyo ya que nunca me sentí solo pues se que cuento con ustedes.

**A mis sobrinos: Juan Diego, Christian Ricardo, José Fernando, Emily Joselyn, Rodolfo y Víctor Manuel**, por regalarme felicidad neta y una familia más unida.

**A Montse y Adolfo**, gracias por ser mis mejores amigos, por representar la amistad sincera e incondicional, por todos aquellas aventuras y momentos que vivimos los uno, los dos, los tres y los cuatro; el recordar me hace reír, animarme o reflexionar. Gracias por las innumerables charlas llenas de diversión, llenas de euforia, pero llenas también de tristeza compartida, de empatía, de motivación, de consejos. Por eso quiero y espero continuar con esta amistad.

**A Sandy, Naty, Rogelio (Rojas), Carmen, Alex (Charmín), Horacio, Alushe, Joel, Eliza, Ana Lilia (Chicana)**, ha sido difícil mantener la amistad por el tiempo y la distancia, sin embargo hemos sido necios y lo seguiremos siendo. Gracias por su amistad, por sus consejos, ánimos y motivaciones recibidas.

## ÍNDICE GENERAL

AGRADECIMIENTOS.....	iii
DEDICATORIAS.....	iv
ÍNDICE GENERAL.....	v
ÍNDICE DE CUADROS.....	vii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	viii
RESUMEN.....	9
Capítulo I	
INTRODUCCIÓN.....	10
1.1 Justificación.....	11
1.2 Objetivos.....	11
1.2.1 Objetivo general.....	11
1.2.2 Objetivos específicos.....	11
1.3 Hipótesis.....	12
Capítulo II	
REVISIÓN DE LITERATURA.....	13
2.1 Origen del tomate.....	13
2.2 Distribución geográfica.....	13
2.3 Clasificación taxonómica.....	13
2.4 Grupos ecológicos.....	14
2.5 Descripción botánica.....	15
2.6 El fruto del tomate.....	15
2.6.1 Usos del tomate.....	15
2.6.2 Estructura del fruto del tomate.....	16
2.6.3 Fisiología y calidad del fruto.....	16
2.7 Composición química del tomate.....	18
2.8 Valor nutricional.....	24
2.9 Importancia del tomate en la salud humana.....	26
2.10 Actividad antioxidante del tomate.....	27
2.11 Producción y consumo de tomate.....	29
2.11.1 Producción mundial.....	29
2.11.2 Producción nacional.....	31
2.11.3 Consumo mundial.....	32
2.12 Importancia económica.....	32
2.13 Comercialización.....	33
2.14 Industrialización.....	36
2.15 Uso y manejo de desechos.....	38
2.15.1 Las principales causas de pérdidas del tomate.....	38
2.15.1.1 Deterioro fisiológico.....	38
2.15.1.2 Daños mecánicos.....	39
2.15.2 Mermas industriales.....	39
2.15.3 Mermas comerciales.....	40
2.16 Antioxidantes.....	40
2.16.1 Los radicales libres y la oxidación.....	41
2.17 Carotenoides.....	43

2.18	El licopeno.....	43
2.18.1	Estructura química del licopeno.....	
2.18.2	Factores que afectan al licopeno.....	45
2.18.3	Formas de extracción de licopeno.....	46
2.19	Tecnología enzimática.....	47
2.19.1	Factores que influyen en la reacción enzimática.....	47
2.19.2	Aplicación en procesos industriales.....	48
2.20	Celulasa.....	49
2.20.1	Tipos de celulasa.....	50
2.20.2	Mecanismo de la hidrólisis enzimática.....	50
2.20.3	Microorganismos productores de celulasa.....	51
Capitulo III		
MATERIALES Y MÉTODOS.....		52
3.1	Materiales.....	52
3.2	Equipos.....	52
3.3	Reactivos.....	53
3.4	Material vegetal.....	53
3.5	Metodología.....	54
3.5.1	Elaboración de la curva de calibración del licopeno.....	54
3.5.2	Preparación de soluciones buffer.....	55
3.5.2.1	Preparación de Solución buffer pH 4.0.....	55
3.5.2.2	Preparación de Solución buffer pH 5.0.....	56
3.5.2.3	Preparación de Solución buffer pH 6.0.....	56
3.5.3	Preparación de la muestra.....	57
3.5.4	Análisis de las muestras por etapas.....	57
3.5.4.1	Secuenciación del análisis.....	58
Capitulo IV		
RESULTADOS Y DISCUSIONES.....		64
4.1	Curva de calibración.....	64
4.2	Análisis de las muestras por etapas.....	65
4.3	Análisis estadístico.....	72
4.3.1	Análisis de varianza (ANVA).....	74
Capitulo V		
CONCLUSIONES.....		82
Capitulo VI		
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....		83
Capitulo VII		
ANEXOS.....		90

## ÍNDICE DE CUADROS

1.	Clasificación taxonómica del tomate.....	14
2.	Composición química del tomate maduro.....	19
3.	Composición del tomate.....	19
4.	Contenido de polifenoles (mg/kg), ácidos hidroxycinámicos y carotenoides ( $\mu\text{g}/100\text{ g}$ ) del tomate.....	23
5.	Concentración de carotenoides en mg/100 g del tomate fresco y del tomate en polvo.....	23
6.	Algunos Fitoquímicos presentes en el tomate y en sus productos derivados.....	24
7.	Valor nutritivo medio del tomate.....	25
8.	Composición nutrimental de tomate fresco y productos derivados.....	26
9.	Producción mundial del tomate.....	30
10.	Etapas de análisis de las muestras.....	58
11.	Análisis de Varianza para [Licopeno].....	75
12.	Tabla de medias por mínimos cuadrados para la concentración de licopeno con intervalos de confianza del 95.0%.....	76
13.	Medias para la concentración de licopeno.....	77

## ÍNDICE DE FIGURAS

1.	Variación del Licopeno y B-caroteno en las diferentes etapas estudiadas.....	18
2.	Mecanismos del rol del licopeno en la prevención de enfermedades crónicas.....	27
3.	Evolución de la capacidad antioxidante de los tomates en diferentes estadios de madurez.....	28
4.	Promedio de la capacidad antioxidante y concentración de los antioxidantes en el tomate para cada estadio de madurez.....	29
5.	Principales países productores de tomate en el 2008.....	31
6.	Valor de las exportaciones.....	35
7.	Promedio de los principales productos agropecuarios y pesqueros exportados en millones de dólares.....	36
8.	Estructura química del licopeno predominante en los vegetales.....	44
9.	Tomates seleccionados.....	54
10.	Procedimiento de licuado de los tomates.....	57
11.	Montaje de equipos.....	59
12.	Medición de la enzima con la micropipeta.....	59
13.	Agregado de las enzimas a los reactores.....	60
14.	Toma de muestras para análisis.....	60
15.	Acomodo de tubos con muestra en la gradilla.....	61
16.	Agregado de solución extractora.....	61
17.	Agitación con equipo Vortex Genie 2.....	62
18.	Centrífuga Centra CL2 Modelo 120.....	62
19.	Separación de fase orgánica.....	63
20.	Resultado de la curva de calibración del licopeno.....	64
21.	Niveles de extracción de licopeno a una temperatura de 40°C, con Enzima a diferente pH.....	66
22.	Niveles de extracción de licopeno a una temperatura de 50°C, con enzima a diferente pH.....	67
23.	Resultados de la extracción de licopeno a temperatura de 60°C con enzima a diferente pH.....	68
24.	Niveles de extracción de licopeno a una temperatura de 40°C, sin enzima.....	70
25.	Muestra los resultados de los tratamientos a 50°C sin enzima.....	71
26.	Resultados de la extracción de licopeno a temperatura de 60°C sin enzima.....	72
27.	Gráfica de medias de factor para [LICOPENO].....	79
28.	Medias y 95.0% de Fisher LSD.....	80
29.	Grafico de interacciones.....	81



## RESUMEN

La industria y comercialización de tomate genera día a día una gran cantidad de desechos que en México equivalen aproximadamente a 146,838 ton/año de tomate desperdiciado. El licopeno es un compuesto valioso e importante que se encuentra en el tomate y que puede ser recuperado de manera eficiente con el uso de tecnología enzimática.

El objetivo de este trabajo fue evaluar los parámetros para la extracción enzimática de licopeno de tomate en contraste a los métodos tradicionales. Se evaluaron temperaturas de 40, 50 y 60°C; pH de 4.0, 5.0 y 6.0; tiempo de 0 a 120 min con lecturas cada 20 min. Con 0 ml de enzima y con 1.0 ml de enzima celulasa. Para medir la concentración de las muestras se realizó una curva de calibración mediante regresión, para ello se preparó una solución madre de licopeno con solución extractora (hexano:acetona, 3:2). Se prepararon soluciones buffer a diferente pH (4.0, 5.0 y 6.0). Los tomates se picaron, molieron y colocaron en refrigeración. Se colocaron 3 muestras en 3 reactores a diferente pH con agitación y temperatura constante, se ajustó el pH, se agregó o no enzima. Se midió la absorbancia por triplicado a 502 nm cada 20 min durante 2 hr. Se obtuvo la concentración de cada lectura en mg/100 g de muestra, con la ayuda de la ecuación de la curva de calibración.

Los resultados mostraron eficiencia en la extracción de licopeno con enzima celulasa a una temperatura de 40°C y un pH de 5.0; para un sistema no enzimático una temperatura de 60°C y un pH de 4.0 es lo adecuado. Respecto al tiempo los primeros 40 min resultaron ser los más viables.

## Capítulo I

### INTRODUCCIÓN

Las frutas y hortalizas frescas reciben el nombre de productos perecederos, ya que tienen una tendencia a deteriorarse por razones fisiológicas, daño mecánico, calor, descomposición de tipo patológica provocadas por hongos y bacterias; estas pueden ocurrir en cualquier etapa del proceso de mercadeo, se pueden iniciar durante la cosecha; el acopio, distribución y finalmente cuando el consumidor compra y utiliza el producto. Se estima que la magnitud de pérdidas poscosecha en frutas y hortalizas frescas llega hasta un 25 por ciento en países desarrollados y hasta un 60 por ciento en países en vías de desarrollo, dependiendo del producto. Todos los años se pierden millones de toneladas de cosechas en los países en desarrollo por un manejo y almacenamiento inadecuado siendo estos daños producidos por plagas, transporte y comercialización (F.A.O., 1989).

El tomate (*Lycopersicon esculentum*) es uno de los vegetales más populares y ampliamente cultivado en el mundo. Actualmente es consumido por diversas culturas, ocupando un importante lugar en el consumo mundial de productos hortícolas. El tomate maduro se consume fresco y se utiliza en la manufactura de productos procesados tales como puré, pasta, polvo, catsup, salsa, sopa y tomates enlatados

Los tomates contiene una gran variedad de micronutrientes (caroteno como provitamina A, vitamina C, folato, y potasio) y microcontituyentes, incluyendo el licopeno y polifenoles que son considerados potentes antioxidantes

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

Según Zu Yuangang (2002), el tomate es saludable por varias razones; es bajo en grasas, calorías y libre de colesterol; es buena fuente de fibra y de proteína, además son ricos en vitaminas A y C,  $\beta$ -caroteno, potasio, así como el antioxidante licopeno; por lo que un tomate promedio provee casi la mitad de los requerimientos diarios de vitamina C para un adulto.

## **1.1 JUSTIFICACIÓN**

La industria, la comercialización y la obtención de productos agroalimentarios generan día a día una gran cantidad de residuos, tales residuos contienen compuestos importantes y valiosos, como son: aceites, antioxidantes, colorantes, etc. La recuperación de estos es posible mediante varios métodos, siendo muy común la extracción tradicional utilizando solventes orgánicos debido a su mayor viabilidad. La industria extractora de este tipo de compuestos tiene en la actualidad aún varios retos científicos, el principal, debido al incremento de la demanda, es la búsqueda de nuevas alternativas para aumentar la eficiencia del proceso de extracción aumentando los rendimientos del producto.

## **1.2 OBJETIVOS**

### **1.2.1 Objetivo general**

Evaluar los parámetros para la extracción enzimática de licopeno de tomate en contraste a los métodos tradicionales.

### **1.2.2 Objetivos específicos**

- Definir los parámetros idóneos de tiempo de reacción, temperatura y pH para la extracción de licopeno por el método de tratamiento enzimático.
- Cuantificar el licopeno extraído con el método de tratamiento enzimático.

- Comparar el rendimiento de extracción con el método desarrollado, respecto al método tradicional de extracción con solventes.

### **1.3 HIPÓTESIS**

La celulasa a una temperatura, pH y tiempo determinado favorece la liberación del licopeno del tomate incrementando los rendimientos de extracción.

## Capítulo II

### REVISIÓN DE LITERATURA

#### 2.1 ORIGEN DEL TOMATE

El origen del tomate del género *Lycopersicum* se da en la región andina (Nuez, 2001). Y el origen de la domesticación, según el mismo autor, se dio en México; mediante estudios electroforéticos de la variación de las aloenzimas se ha demostrado la existencia de analogías mucho mayores entre los cultivares y los tomates pequeños silvestres de México y América central que entre los cultivares europeos y las plantas primitivas de la zona andina.

A la llegada de los españoles a América el tomate estaba integrado a la cultura azteca y en la de otros pueblos del área mesoamericana; lo cultivaban, lo vendían y consumían en una variedad de formas. El nombre moderno tiene su origen en el de *tomatl*, en la lengua náhuatl de México (Nuez, 2001).

#### 2.2 DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA

Estadísticas de la FAO muestran su presencia en la totalidad de los países, con una ligera tendencia a la reducción de los países más desarrollados, mientras que el cultivo está en expansión en África, Iberoamérica y Asia (Nuez, 2001).

#### 2.3 CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

La taxonomía generalmente aceptada se muestra en el cuadro 1.

Cuadro 1. **Clasificación taxonómica del tomate**

<b>Clase:</b>	<i>Dicotyledoneas</i>
<b>Orden:</b>	<i>Solanales (Personatae)</i>
<b>Familia:</b>	<i>Solanaceae</i>
<b>Subfamilia:</b>	<i>Solanoideae</i>
<b>Tribu:</b>	<i>Solaneae</i>
<b>Género:</b>	<i>Lycopersicum</i>
<b>Especie:</b>	Esculentum

Nuez, 2001

## 2.4 GRUPOS ECOLÓGICOS

La creación de nuevas variedades por medio de la mejora genética ha sido realizada constantemente durante muchos años, en consecuencia existe una gran diversidad de variedades que es difícil adoptar un criterio de clasificación.

Según Melchor Rodríguez (2006), las variedades presentan grandes diferencias, tanto en la planta como en el fruto, en cuanto a tamaño existe desde una grosella pequeña hasta una esfera de 10 cm; en cuanto a la forma hay frutos redondos, piriformes y alargados; de colores rojo, amarillo y verde.

Dentro de los principales tipos de tomate comercializados se encuentran: Tipo Beefsteak, tipo americano, tipo marmande, tipo vemone, tipo francés, tipo moneymaker, tipo cocktail, tipo cereza (cherry) y de larga vida comercial (Nuez, 2001).

De acuerdo a las investigaciones hechas por Brandan y González *et al.* (2009), existen 2 tipos de variedades. Las de tipo determinado que producen flores en casi cada entrenudo y terminan en un racimo floral en el ápice, a partir de este momento la planta deja de crecer. Las de tipo indeterminado crecen casi indefinidamente, poseen racimos florales cada tres entrenudos, en la parte distal del tallo se encuentra el meristemo apical, donde se inician los nuevos primordios foliares y florales.

## **2.5 DESCRIPCIÓN BOTÁNICA**

El tomate (*Lycopersicon esculentum Mill*) es una planta dicotiledónea perteneciente a la familia de las solanáceas.

Es una planta perenne de porte arbustivo, se desarrolla bien en un amplio rango de latitudes, tipos de suelos, temperaturas, métodos de cultivo, y es moderadamente tolerante a la salinidad; aunque prefiere ambientes cálidos, con buena iluminación y drenaje. La exposición prolongada a temperaturas inferiores a 10°C la escarcha, una iluminación diurna inferior a las 12 h, un drenaje deficiente o un abono nitrogenado excesivo le afectan desfavorablemente (Brandan, González *et al.*, 2009).

El fruto está unido a la planta por un pedicelo con un engrosamiento articulado que contiene la capa de abscisión o por la zona peduncular de unión al fruto (Nuez, 2001).

Temperaturas superiores a 35°C afectan a la formación de licopeno, sobre todo si la planta es de porte poco vegetativo. Se recomiendan suelos de textura media con tendencia a arcillosos debido a que favorecen la calidad organoléptica. Requiere de un buen aporte de humedad; el exceso o déficit produce desórdenes fisiológicos y aumenta el riesgo de enfermedades (Brandan, González *et al.*, 2009).

## **2.6 EL FRUTO DEL TOMATE**

### **2.6.1 Usos del tomate**

Por su alto contenido en vitaminas y minerales y por su agradable sabor, el tomate tiene importantes aplicaciones en medicina (estimula el aparato digestivo, es desinfectante y antiescorbútico) y en gastronomía, ya que está incluido en numerosos platos de la cocina internacional (Melchor, 2006).

De acuerdo a Nuez (2001), señala que el tomate puede tener varias aplicaciones en la industria Química y Farmacológica. Dentro de la gastronomía pueden mencionarse los siguientes productos: tomates para consumo en fresco, tomates para procesado industrial, tomate al natural pelado, jugo de tomate, puré, pasta, concentrado de tomate, salsas de tomate, tomate en polvo, tomates confitados y tomates encurtidos.

### **2.6.2 Estructura del fruto del tomate**

El fruto está constituido, básicamente por el exocarpo, mesocarpo y las cavidades locales. La piel o exocarpo consta de una capa epidérmica externa, sin estomas y prácticamente sin almidón, la epidermis está cubierta por una fina cutícula que se engrosa a medida que madura el fruto. El mesocarpo de la pared externa está compuesto principalmente por células parenquimáticas, que son mayores en la región central y disminuyen junto a la epidermis y los lóculos. Las cavidades locales son huecos en el pericarpo, los lóculos contienen las semillas rodeadas por una masa gelatinosa de células de paredes delgadas de tipo parenquimatoso que llenan las cavidades locales cuando el fruto está maduro.

### **2.6.3 Fisiología y calidad del fruto**

La pared celular del tomate es un compartimento dinámico, continuamente modificado durante el crecimiento y diferenciación celular (Pérez y Carpita, 2006).

Los cambios más evidentes durante la maduración del fruto, en término de tamaño y composición, ocurren en la fracción péctica de la pared celular, incluyendo un aumento en la solubilidad, despolimerización, desesterificación y una significativa pérdida neta en cadenas laterales de azúcares neutros, siendo la galactosa el residuo más dinámico durante el desarrollo de los frutos del tomate (Pérez y Carpita, 2006).

En las etapas iniciales de desarrollo, los frutos de tomate acumulan almidón, que al hidrolizarse, se vuelve el contribuyente importante a la cantidad de azúcares en



el fruto maduro. El contenido de azúcares de los frutos de tomate se incrementa durante el desarrollo, y se acelera cuando el color empieza a cambiar a amarillo. La acumulación de azúcares que caracteriza a los frutos maduros tiene su origen en los fotosintatos que el fruto recibe durante el periodo de maduración (Martínez, 2003).

El color en el tomate es una característica de calidad importante, determina la madurez y vida post cosecha. La coloración roja aumenta a medida que comienza a manifestarse la maduración de los frutos; debido a la degradación de la clorofila en los cromoplastos de las células y síntesis de carotenos, entre los que se destaca el licopeno (Zapata, Gerard *et al.*, 2007).

Zapata, Gerard *et al.* (2007) mencionan que la presencia de carotenoides no se detecta durante la etapa de crecimiento, pero si en el almacenamiento, maduración y comercialización. El alto grado de insaturación los hace fácilmente oxidables, siendo especialmente sensibles a la luz, calor y oxígeno. Además de la degradación oxidativa, se lleva a cabo con facilidad la isomerización *cis-trans* (Candelas *et al.*, 2005).

En el tomate el  $\beta$ -caroteno y el licopeno se encuentran en forma de estructuras semicristalinas unidas a la membrana de los cromoplastos o cloroplastos (Zapata y Gerard, 2007).

La degradación del licopeno afecta la calidad organoléptica y nutricional del tomate. La causa principal de su deterioro es la oxidación, que es mayor cuando se pierde la integridad celular (Candelas *et al.*, 2005).

La textura disminuye con el transcurso del tiempo, debido al cambio en la composición química, tales como sólidos insolubles y totales, pectinas solubles, tamaño y grado de polimerización y esterificación de polímeros insolubles y actividad de enzimas. Además existe correlación lineal entre la fuerza de punción, el peso y diámetro de los frutos de tomate (Zapata y Gerard, 2007).

Zapata y Gerard, (2007) muestran en su estudio que la concentración de licopeno es mucho más baja cuando los frutos han sido madurados a 32°C, que cuando se ha trabajado con temperaturas de 21°C. Si la temperatura de almacenamiento es de 4°C se inhibe la producción de licopeno. La temperatura óptima para la producción de este carotenoide es entre 18 y 26°C.

En la figura 1 se muestran los resultados de un estudio donde se evaluó la variación en el contenido de licopeno y  $\beta$ -caroteno en las etapas de almacenamiento, maduración y comercialización del fruto del tomate.

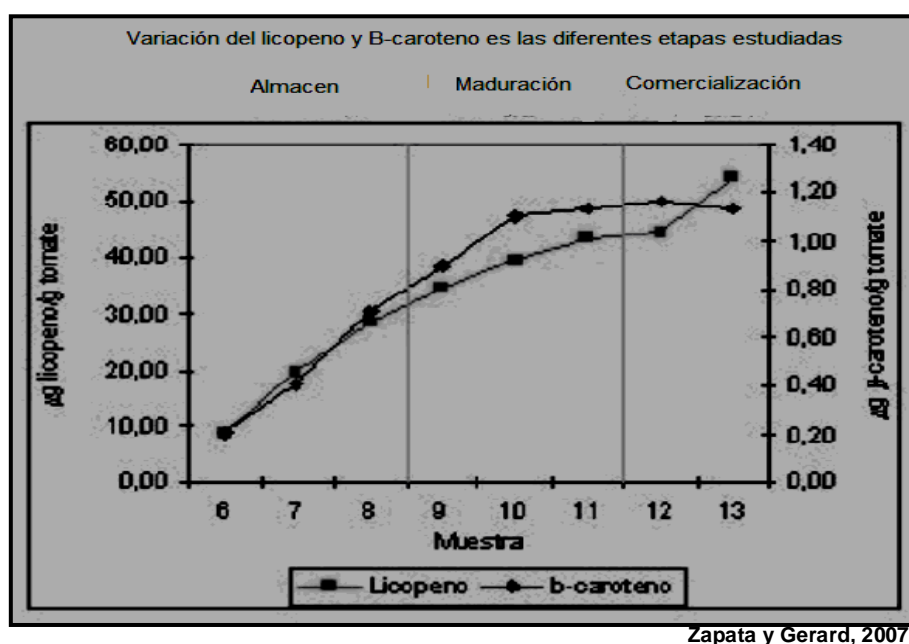


Figura 1. Variación del licopeno y  $\beta$ -caroteno en las diferentes etapas

## 2.7 COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL TOMATE

Tanto el contenido del agua en el tomate como el resto de los componentes depende tanto de la variedad, nutrición, condiciones de cultivo, etc., por lo que los valores no serán del todo precisos, en el cuadro 2 Nuez (2001) y en el cuadro 3 Melchor (2006) nos dan valores orientativos de los componentes de mayor interés.

**Cuadro 2.** Composición química del tomate maduro

<b>Componente</b>	<b>(%) Peso fresco</b>
Materia seca	6.5
Carbohidratos totales	4.7
Grasas	0.15
N proteico	0.4
Azúcares reductores	3.0
Sacarosa	0.1
Sólidos solubles totales (°Brix)	4.5
Ácido málico	0.1
Ácido cítrico	0.2
Fibra	0.5
Vitamina C	0.02
Potasio	0.25

Nuez, 2001

**Cuadro 3.** Composición del tomate

<b>Componente</b>	<b>Valor</b>
Residuos (%)	6.0
Materia seca (g)	6.2
Proteínas (g)	1.2
Fibra (g)	0.7
Calcio (mg)	7.0
Hierro (mg)	0.6
Caroteno (mg)	0.5
Tiamina (mg)	0.06
Riboflavina (mg)	0.04
Niacina (mg)	0.6
Vitamina C (mg)	23.0

Melchor, 2006

Los tomates inmaduros tienen concentraciones relativamente elevadas de almidón. El almidón se acumula preferentemente en el tejido locular y placentario, empieza a hidrolizarse cuando el crecimiento del fruto alcanza el máximo, puede superar el 1% del peso fresco pero descienden a un 0.1% en los frutos maduros

rojos. La acumulación de almidón durante el periodo de crecimiento rápido parece tener influencia en el contenido final de sólidos solubles totales (Nuez, 2001).

Los azúcares constituyen la mayoría de los sólidos solubles con valores del 1.5% al 4.5% del peso fresco, lo que equivale al 65% de los sólidos solubles totales. La glucosa y la fructosa se encuentran en proporciones similares y representan alrededor de la mitad de la materia seca. El contenido experimenta un brusco crecimiento cuando el fruto alcanza un color amarillento y aumenta paulatinamente durante la maduración. El contenido de azúcares oscila entre el 1.7% y el 4% del peso fresco del fruto y los sólidos solubles totales entre el 4% y el 9% en los cultivares comerciales (Nuez, 2001).

El contenido en sólidos solubles totales es inversamente proporcional al rendimiento en frutos. El contenido en azúcares reductores aumenta desde el 0.1% del peso fresco del ovario al 3.5% en la maduración, el contenido en azúcares es mayor en las paredes que en los lóculos. La sacarosa supone sólo el 1% de la materia seca al iniciarse la maduración pero el metabolismo de la sacarosa es importante para el crecimiento del fruto (Nuez, 2001).

Los ácidos orgánicos son importantes por su efecto sobre el sabor del fruto y por su efecto en los procesos de industrialización. La acidez máxima durante la maduración coincide con la aparición del color rosado, descendiendo después progresivamente; la acidez del tomate, así como la relación entre ácido málico y ácido cítrico, dependen en gran medida de la variedad. Los principales ácidos orgánicos en el tomate son el málico y el cítrico que representan el 13% de la materia seca y se acumulan en los lóculos. Al principio del crecimiento el ácido málico es el predominante, mientras el cítrico sólo representa el 25%. El pH del fruto maduro oscila entre 4 y 4.8 (Nuez, 2001).

Respecto a los compuestos nitrogenados, el contenido de nitrógeno total disminuye desde la formación del fruto hasta el inicio de la madurez. El ácido glutámico es el predominante en el tomate maduro, seguido del ácido aspártico, serina y treonina; alcanzan un máximo antes de la completa madurez del fruto.

La fracción volátil del tomate está constituida por más de 400 sustancias, entre las que se encuentran hidrocarburos, éteres, fenoles, aldehídos, alcoholes, cetonas, ésteres, lactonas, compuestos sulfurados, aminas y una amplia gama de moléculas heterocíclicas.

El contenido de lípidos del tomate es muy escaso, entre 10 y 30 mg de lípidos insaponificables por gramo de materia seca (Nuez, 2001).

Durante el crecimiento del fruto, el contenido en materia seca, referido al peso fresco, disminuye, debido a la dilución producida por la rápida incorporación de agua (Nuez, 2001).

El nitrógeno, fósforo y potasio suponen más del 90% del contenido en minerales. Durante el desarrollo del fruto, el nitrógeno y el fósforo disminuyen desde el 3% al 0.6% y del 2% al 0.4% de la materia seca, respectivamente, mientras el potasio permanece constante, alrededor del 3% (Nuez, 2001).

La pared celular contiene de 6 a 7% de cenizas, de 16 a 20% de proteínas y el resto está constituido por carbohidratos, fundamentalmente pectinas, hemicelulosa y celulosa en la relación 11:6:3. Los compuestos pépticos insolubles de la lámina media actúan como cemento intercelular y son en gran medida, responsables de la firmeza y plasticidad de los frutos jóvenes. La pared celular está constituida por fibrillas de celulosa impregnadas por una matriz de sustancias pépticas, hemicelulosa y proteínas, en la que el calcio desempeña un papel importante al estabilizar las cadenas de ácido poligalacturónico (Nuez, 2001). La hidrólisis de la celulosa por la celulasa puede también estar involucrada en la degradación de la pared pero el enzima más importante en el ablandamiento del tomate es la poligalacturonasa (Nuez, 2001).

El color verde de los tomates inmaduros se debe a la clorofila. Con el inicio de la maduración los cloroplastos empiezan a transformarse en cromoplastos, inicialmente en el tejido placentario gelatinoso que rodea las semillas y luego en el pericarpio desde la zona distal hacia el pedúnculo. La clorofila empieza a

degradarse y se sintetizan los pigmentos amarillos, fundamentalmente xantofilas, y  $\beta$ -caroteno, que se hacen más aparentes con la progresiva destrucción de la clorofila, posteriormente aunque continúa la síntesis de dichos compuestos, el tomate adquiere una coloración roja debido a la rápida acumulación de licopeno (Nuez, 2001).

En un estudio realizado por Zapata y Gerard (2007), los promedios y desviación estándar de licopeno en las fases de almacenamiento, maduración y comercialización fueron:  $18.96 \pm 9.68 \mu\text{g/g}$ ,  $39.05 \pm 4.41 \mu\text{g/g}$ , y  $49.19 \pm 6.90 \mu\text{g/g}$  de tomate, respectivamente. Y en estudios realizados para diferentes tomates comerciales en España se obtuvieron valores de 1.8 a 6.5 mg/100 g, por otra parte estudios en 3 variedades de tomate de Nueva Zelanda se obtuvieron:  $13.24 \pm 0.86 \mu\text{g/g}$ ,  $24.18 \pm 3.47 \mu\text{g/g}$  y  $23.45 \pm 3.10 \mu\text{g/g}$  (Zapata y Gerard, 2007).

En variedades comunes de tomate, la concentración de licopeno es de 3 a 12.2 mg/100 g de fruta madura (Candelas y Alanís, 2002).

Algunos resultados de la concentración de licopeno en el tomate fresco, en mg/g de sólidos, reportados en la literatura son los siguientes: 784, 176 – 840, 1854 (Candelas y Alanís, 2002).

El contenido de licopeno en los tomates puede variar significativamente con la maduración y en las diferentes variedades de tomate. Las concentraciones de licopeno en las cepas muy rojas se aproximan a 50 mg/kg comparados con sólo 5 mg/kg en las variedades amarillas (Candelas y Alanís, 2002).

En el cuadro 4 se muestran los contenidos de polifenoles, ácidos hidroxynámicos y carotenoides en el tomate fresco.

**Cuadro 4.** Contenido de polifenoles (mg/kg), ácidos hidroxycinámicos y carotenoides ( $\mu\text{g}/100\text{ g}$ ) del tomate

Componente	Contenido
Flavonoides	
Quercetina	9.7 +/- 3.3
Kaempferol	18.0 +/- 0.4
Ácidos hidroxycinámicos	
Ácido cafeíco	46.7 +/- 1.1
Ácido cumárico	13.0 +/- 1.2
Ácido ferúlico	4.0 +/- 0.3
Carotenoides	
Luteína	58.7 +/- 11.6
Licopeno	2 205 +/- 997
$\beta$ -caroteno	496 +/- 100

Pineda, Salucci *et al.*, 1999

En el cuadro 5 se pueden ver los promedios de la concentración de licopeno,  $\beta$ -caroteno y xantofila para tomate fresco y el tomate en polvo.

**Cuadro 5.** Concentración de carotenoides en mg/100 g del tomate fresco y del tomate en polvo

Carotenoide	Tomate fresco		Tomate en polvo	
	mg/100 g		mg/100 g	
	Media	Desv. Std.	Media	Desv. Std.
Licopeno	4.59	0.704	47.20	22.8
$\beta$ -caroteno	0.17	0.088	2.26	1.65
Xantofila	1.17	0.328	19.02	7.87

Candelas *et al.*, 2005

En el cuadro 6 se enlistan algunos fitoquímicos presentes en el tomate y en sus productos derivados.

**Cuadro 6.** Algunos Fitoquímicos presentes en el tomate y en sus productos derivados

Carotenoide	Productos de tomate				
	Tomate fresco	Catsup	Jugo de tomate	Salsa de tomate	Sopa de tomate
	µg/100 g				
β-caroteno	449	560	270	290	75
α-caroteno	101	0	0	0	0
Licopeno	2573	17007	9037	15152	5084
Luteina	123	0	60	0	1
Fitoeno	1860	3390	1900	2950	1720
Fitoflueno	820	1540	830	1270	720

Campbell, Canene-Adams *et al.*, 2004

## 2.8 VALOR NUTRICIONAL

Los tomates y productos relacionados ocupan el tercer lugar como contribuyente de vitamina C y el número cuatro como contribuyente de provitamina A y el contribuyente noveno más alto de potasio (Giovannucci , 2005).

El tomate ocupa el lugar 16 en cuanto a concentración relativa de un grupo de 10 vitaminas y minerales; por lo que su valor nutricional del tomate no es muy elevado (Nuez, 2001). No obstante su popularidad, demostrada por el alto nivel de consumo convierte a este cultivo en una de las principales fuentes de vitaminas y minerales.

En su trabajo Melchor (2006), menciona que el tomate posee minerales como el hierro, fósforo, calcio, magnesio, zinc, cobre, potasio y sodio. Por todo ello, es un conocido mineralizante, desintoxicante, desinfectante, antiescorbútico y diurético al eliminar el ácido úrico.

Los productos de tomate son una excelente fuente de ácido fólico y vitaminas A, C y E. Los productos derivados del tomate contienen cantidades similares de potasio y ácido fólico, pero son una fuente superior de tocoferol y la vitamina C. Es bajo en grasas y calorías, y libre de colesterol; es una buena fuente de fibra y proteína. El tomate y sus derivados son la principal fuente de licopeno para el hombre. Un



tomate mediano provee casi la mitad de los requerimientos diarios de vitamina C para un adulto (Giovannucci , 2005; Melchor, 2006; Candelas *et al.*, 2005).

Los tomates también contienen una gran variedad de fitoquímicos, como carotenoides y polifenoles. En los tomates y los productos de tomate, el licopeno es el carotenoide con la mayor concentración, pero los tomates también contienen otros carotenoides, incluyendo fitoeno, fitoflueno, y la provitamina A (Campbell, 2004; Reboul, Borel *et al.*, 2005; Giovannucci , 2005). Cabe mencionar que el licopeno es relativamente estable durante el procesamiento y cocción de los alimentos (Candelas, Alanís *et al.*, 2006).

De 14 carotenoides que se encuentran en el suero humano, el tomate y productos derivados son la principal fuente de aproximadamente la mitad (Giovannucci, 2005). En comparación con otros vegetales regularmente consumidos, sólo las zanahorias son una mejor fuente de vitamina A que los tomates (Canene-Adams, Campbell *et al.*, 2005). El consumo de esta verdura por lo tanto es beneficioso para el estado antioxidante (Tyssandier, Feillet-Coudray *et al.*, 2004). Los carotenoides se liberan en los alimentos en el intestino delgado y se absorben junto con la grasa de la dieta (Zapata y Gerard, 2007).

En el cuadro 7 se presenta el valor nutritivo medio del tomate por cada 100 g de producto comestible.

**Cuadro 7.** Valor nutritivo medio del tomate

Valor nutritivo medio del tomate por 100 g de producto comestible			
Residuos	6.0%	Caroteno	0.5 mg
Materia seca	6.2 g	Tiamina	0.06 mg
Energía	20.0 Kcal	Riboflavina	0.04 mg
Proteínas	1.2 g	Niacina	0.6 mg
Fibra	0.7 g	Vitamina C	23.00 mg
Calcio	7.0 g	Valor nutritivo medio (VNM)	2.39
Hierro	0.6 g	VNM/100 g de materia seca	38.5

Nuez, 2001

Campbell, Canene-Adams *et al.* (2004), presentan en la literatura de su investigación la composición nutrimental de tomate fresco y algunos productos relacionados, dicha información se muestra en el cuadro 8.

**Cuadro 8.** Composición nutrimental de tomate fresco y productos derivados

Composición nutrimental de tomate fresco y productos derivados					
Nutriente	Productos de tomate 100 g				
	Tomate fresco	Cátsup	Jugo de tomate	Salsa de tomate	Sopa de tomate
Potasio (mg)	237	382	229	331	181
$\alpha$ -tocoferol (mg)	0.54	1.46	0.32	2.08	0.50
Vitamina A (IU)	833	933	450	348	193
Vitamina C (mg)	12.7	15.1	18.3	7.0	27.3
Folato total ( $\mu$ g)	15	15	20	9	7

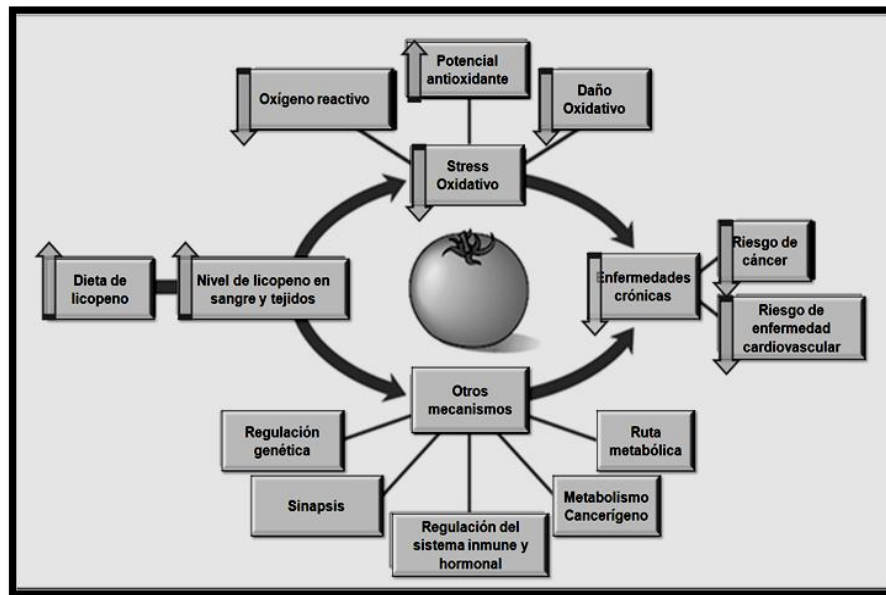
Campbell y Canene-Adams, *et al.*, 2004

## 2.9 IMPORTANCIA DEL TOMATE EN LA SALUD HUMANA

Gran atención se ha centrado recientemente en el tomate, después de que un gran número de estudios epidemiológicos y clínicos han demostrado que el consumo frecuente de tomate y sus derivados (por su contenido principalmente de licopeno) esta asociado con un riesgo reducido de desarrollar cáncer en próstata, hígado, páncreas, boca, laringe, faringe, esófago, estómago, colon, recto, además de cáncer de mama, cervical, de ovario e inclusive cáncer de vejiga. También reduce el riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares y disminuye el daño al ADN (Tyssandier, Feillet-Coudray *et al.*, 2004; Weisburger, 2001; Rao y Agarwal, 2000).

El tomate y sus derivados son una importante fuente de muchos nutrientes, contienen una notable combinación de antioxidantes como el licopeno y caroteno, contienen vitamina C, vitamina E, polifenoles y oligoelementos como el Selenio, Cobre, Manganeso y Zinc, que son cofactores de enzimas antioxidantes (Tyssandier, *et al.*, 2004). El licopeno es el mayor responsable de los efectos positivos para la salud (Canene-Adams, Campbell *et al.*, 2005).

En la figura 2 se proponen los mecanismos del rol del licopeno en la prevención de enfermedades crónicas; la dieta de licopeno incrementa el nivel de licopeno en el cuerpo y, actuando como antioxidante, puede “atrapar” oxígeno reactivo, aumenta el potencial antioxidante reduciendo el daño oxidativo para lípidos (lipoproteínas, membrana celular), proteínas (enzimas) y ADN, de este modo reduce el stress oxidativo. El reducir el stress oxidativo conlleva a reducir el riesgo de padecer cáncer y enfermedades cardiovasculares. Además al incrementar el nivel de licopeno en el cuerpo, se puede regular las funciones genéticas, mejorar la sinapsis, modular la respuesta del sistema hormonal e inmunológico, o regular el metabolismo, por consiguiente reducir el riesgo de padecer enfermedades crónicas.



Agarwal et al., 2000

**Figura 2.** Mecanismos del rol del licopeno en la prevención de enfermedades crónicas

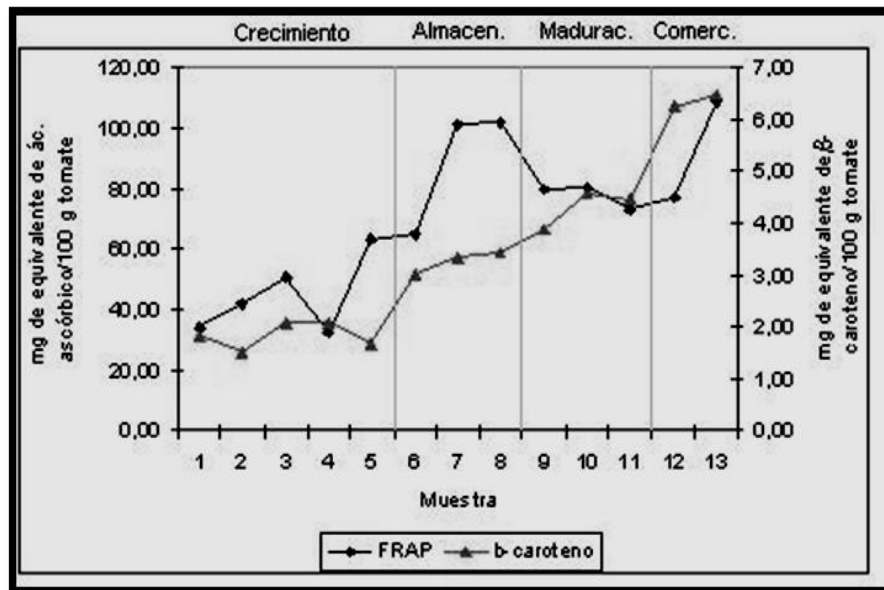
## 2.10 ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL TOMATE

La actividad antioxidante de un alimento depende de la naturaleza y concentración de los antioxidantes naturales presentes en él, en términos generales. El tomate tiene mayor efecto protector sobre los radicales generados en fase lipofílica, que sobre los generados en fase hidrofílica, lo cual era de esperar por su alto

contenido de antioxidantes lipofílicos (como licopeno,  $\beta$ -caroteno y luteína) y estos son los más efectivos en el atrapamiento de radicales lipofílicos (Pineda *et al.*, 1999).

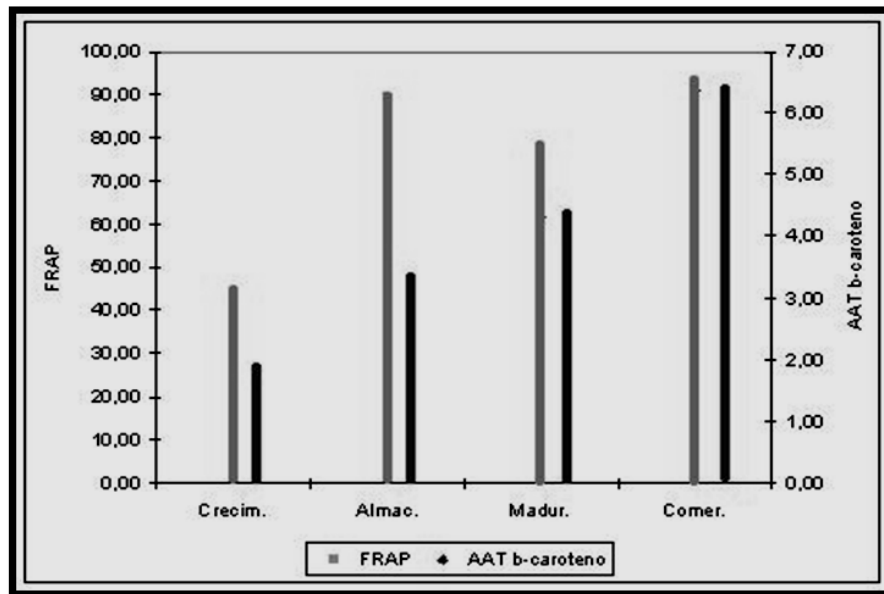
El consumo continuo de tomates ha sido correlacionado con una reducción del riesgo de contraer varios tipos de cáncer y enfermedades coronarias. Este efecto positivo atribuido a la presencia de compuestos antioxidantes esta soportado en estudios epidemiológicos que asocian la ingesta de derivados del tomate con la disminución del riesgo de desarrollo de cáncer de próstata (Kuc *et al.*, 2005).

En la figura 3 se puede observar los valores promedios de capacidad antioxidante del tomate. En el método de decoloración del  $\beta$ -caroteno los valores están expresados en mg de equivalente de  $\beta$ -caroteno/100 g tomate y en el método "Ferric reducing/antioxidant power" la capacidad reductora está expresada en mg de equivalente de ácido ascórbico/100 g tomate (Candelas *et al.*, 2005). Así también en la figura 4 se presenta el promedio de la capacidad antioxidante y concentración de los antioxidantes en el tomate para cada estadio de madurez.



Zapata y Gerard, 2007

**Figura 3.** Evolución de la capacidad antioxidante de los tomates en diferentes estadios de madurez.



Zapata y Gerard, 2007

**Figura 4.** Promedio de la capacidad antioxidante y concentración de los antioxidantes en el tomate para cada estadío de madurez

## 2.11 PRODUCCIÓN Y CONSUMO DE TOMATE

La producción de frutas y hortalizas se ha extendido mundialmente, a partir de las década de los ochenta. Entre los factores que más han influido en este desarrollo encontramos la dieta, la salud, la variedad de sabores agradables al paladar, aspectos relativos a la importancia de comer alimentos naturales y consecuentes con el respeto al ambiente, las reacciones a la vida moderna, cuya dinámica exige alimentos frescos y fáciles de consumir (Macías, 2003).

### 2.11.1 Producción mundial

Según la FAO, el tomate junto con la papa contribuye con el 50% de la producción de hortalizas en el mundo. El tomate ocupa la posición número 6 en la escala de los productos agropecuarios con mayor volumen de producción con un volumen en el 2008 de 2,936,773 ton.

En el corto plazo, esto es, para los últimos cinco años, la producción de tomate no ha tenido crecimientos significativos, excepto por Asia, que creció a una

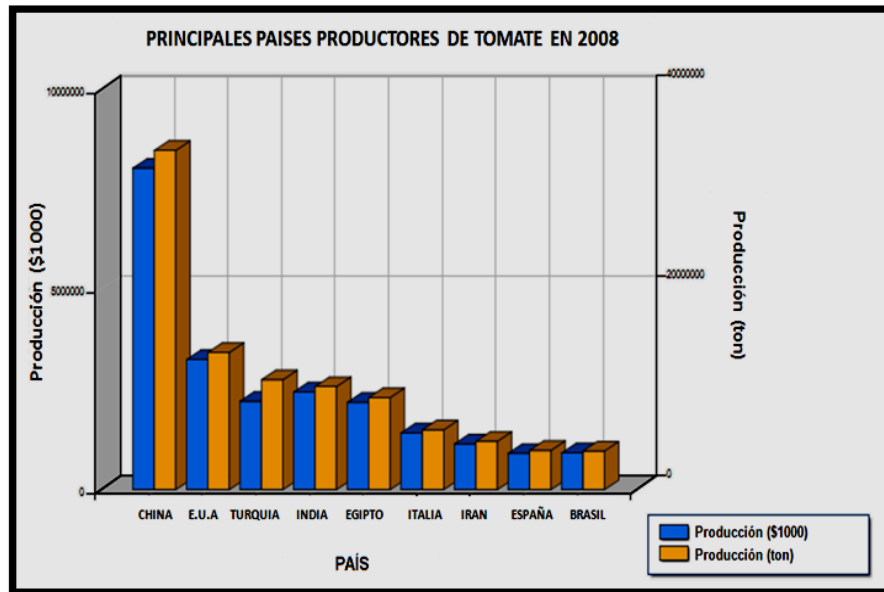
tasa anual promedio de 5%. Los pequeños aumentos observados en el resto de continentes y que van desde -1% hasta el 2%, se deben principalmente a un nivel mayor de rendimientos, en proporción mayor que las superficies cultivadas. Asia lidera la producción mundial con el 49% del total, seguida por América y Europa que reportan participaciones del 21% y 18%, respectivamente (Espitia, 2006).

Según la división de Estadística de la FAO en 2008 China fue el mayor productor con 33,911,702 ton, el segundo mayor productor fue Estados Unidos con 13,718,171 ton seguido por Turquía que produjo 10,985,355 ton; México ocupó el décimo lugar con 2,936,773 ton, etc. En el cuadro 9 se muestran los valores con orden de importancia según la producción mundial de tomate de cada país. Y en la figura 5 se muestran los principales productores del tomate en el año 2008.

**Cuadro 9.** Producción mundial del tomate

Rango	País	Producción (\$1000)	Producción (ton)
1	China	8034699	33911702
2	Estados Unidos	3250246	13718171
3	Turquía	2212343	10985355
4	India	2441089	10303000
5	Egipto	2180726	9204097
6	Italia	1416109	5976912
7	Iran	1143518	4826396
8	España	905664	3922500
9	Brasil	916363	3867655
<b>10</b>	<b>México</b>	<b>695809</b>	<b>2936773</b>
11	Rusia	459338	1938710
12	Uzbekistan	457274	1930000
13	Nigeria	403017	1701000
14	Ucrania	353523	1492100
15	Grecia	317154	1338600
16	Marruecos	310925	1312310
17	Chile	300901	1270000
18	Tunez	277208	1170000
19	Arabia Saudita	275620	1163300
20	Portugal	271900	1147600

FAO, 2008



FAO, 2008

Figura 5. Principales países productores de tomate en el 2008

### 2.11.2 Producción nacional

La producción de tomate en México sigue una ruta de “ventanas productivas”; inició masivamente en la década de los 60, por la intervención de capital estadounidense, con el objetivo de cubrir la demanda de Estados Unidos durante la época invernal (Macías, 2003).

Las hortalizas contribuyen aproximadamente con poco más de 3% de la superficie agrícola sembrada en México (Macías, 2003). Según cifras del Servicio de Información Estadística Agroalimentaria y Pesquera (SIAP) la superficie sembrada en 2008 fue de 57,200 ha, lográndose un volumen de producción de 2,263,200 ton, siendo la hortaliza con mayor volumen de producción en México (SAGARPA, 2010).

La superficie del estado de Sinaloa dedicada a la siembra de este cultivo representó el 33.5% respecto al total nacional, San Luís Potosí el 9.3%, Baja

California el 8.8% y Michoacán 7.7% (Melchor, 2006). Los anteriores estados junto a Jalisco y Baja California Sur aportan el 65.7% de la producción.

Produce México 39.5 ton/ha. En cuanto al rendimiento, Jalisco, Querétaro, Baja California tienen un rendimiento por encima del promedio nacional. Con base en cifras preliminares en 2009 la superficie sembrada ascendió a 101 mil 328 ha, superficie superior a las extensiones territoriales de países completos, como Andorra (46 mil 800), Malta (31 mil 600), o San Marino (6 mil 100); entre otros (Tonche, 2005; Ramos y Carballo, 2006).

### **2.11.3 Consumo mundial**

Pocas son las hortalizas que a nivel mundial presentan una demanda tan alta como el tomate. De acuerdo a Zapata, Gerard *et al.* (2007) del total de la producción mundial del tomate, las dos terceras partes se consumen en fresco. Los países que más consumen tomate en términos per cápita se encuentran en el mediterráneo, tanto del lado europeo como del asiático y africano. Los mayores consumidores per cápita son Grecia y Libia al superar los 100 Kg/hab/año. En Estados Unidos se consume en promedio 35-37 Kg/hab y 24 Kg/hab en Europa (Macías, 2003). Según Ghezán (2002) el promedio mundial es de 5.6 kg/hab/año.

### **2.12 IMPORTANCIA ECONÓMICA**

Las hortalizas contribuyen aproximadamente con poco más de 3% de la superficie agrícola sembrada en México, pero aportan el 16% del valor de la producción agrícola y más del 50% del valor de las exportaciones de este sector. El cultivo del tomate es pionero en este contexto (Macías, 2003).

En México, el tomate es la segunda hortaliza de mayor importancia después del chile, y se considera como el producto hortícola de mayor importancia económica, debido al valor de su producción y a la demanda de mano de obra que genera (Ramos y Carballo, 2006). El cultivo, cosecha y comercialización de esta hortaliza



genera 72,000 empleos directos y aproximadamente 10.7 millones de empleos indirectos.

La extensión de su cultivo ha ocupado una superficie de 80 mil hectáreas que responde a una demanda creciente, derivado de su papel fundamental en los hábitos alimenticios de una amplia parte de la población mundial (Ramos y Carballo, 2006).

Sus cualidades esenciales para adecuarse a la dieta alimenticia, sea consumido en fresco o procesado (Ramos y Carballo, 2006) lo hacen importante en numerosos países y su popularidad aumenta constantemente; en la actualidad este cultivo ha adquirido importancia económica en todo el mundo, y es gracias a esta hortaliza por la cual México ha desarrollado la industria hortofrutícola, tanto para abastecer al mercado interno como para exportar a Estados Unidos (Macías, 2003).

Es una de las hortalizas que generan más divisas para el país, ya que cerca del 30% de la producción nacional se exporta, principalmente a Estados Unidos (Hernández, García *et al.*, 2004). En los últimos años, por ventas al extranjero ingresaron al país más de 1,000 millones de dólares en promedio anual. Es el principal producto hortícola de exportación, que representa 37% del valor total de las exportaciones de legumbres y hortalizas, y 16% del valor total de las exportaciones agropecuarias, sólo superado por el ganado vacuno (SIAP, 2002; Ramos y Carballo, 2006).

### **2.13 COMERCIALIZACIÓN**

El interés cada vez mayor por la salud y los productos naturales así como los diversos modelos de consumo, han elevado la demanda de hortalizas y particularmente la del tomate (Nuez, 2001). El tomate ocupa el tercer lugar en el comercio mundial de hortalizas, luego de las leguminosas (29%) y otras hortalizas (24%) (Espitia, 2006).

Referente a los canales de comercialización, la relación productor-comerciante mayorista abarca el 70% del tomate consumido en fresco; el 15% se comercializa mediante intermediarios regionales; el 8% mediante una cadena de comercialización constituida por el productor - intermediario local -intermediario regional - mayorista; y el 7% restante por comisionistas independientes (Melchor, 2006).

Los flujos intercontinentales aparecen claramente delimitados: de México hacia Estados Unidos y Canadá en Norteamérica, y de los países mediterráneos hacia el norte de Europa, con la única excepción de Holanda, primer exportador mundial de tomate, seguido de México y España, los tres países ofertan casi 2/3 de las exportaciones mundiales. Por el lado de la demanda internacional, entre Estados Unidos, Canadá, Alemania, Reino Unido y Francia absorben los 2/3 de las importaciones (Nuez, 2001).

En México, la principal hortaliza para exportación es el tomate. Esta Hortaliza se exporta principalmente a Estados Unidos (Macías, 2003). Tal flujo se relaciona principalmente con la cercanía geográfica y la baja producción de Estados Unidos durante el invierno (Hernández, García *et al.*, 2004). En la época de primavera y verano disminuyen radicalmente las exportaciones (Macías, 2003).

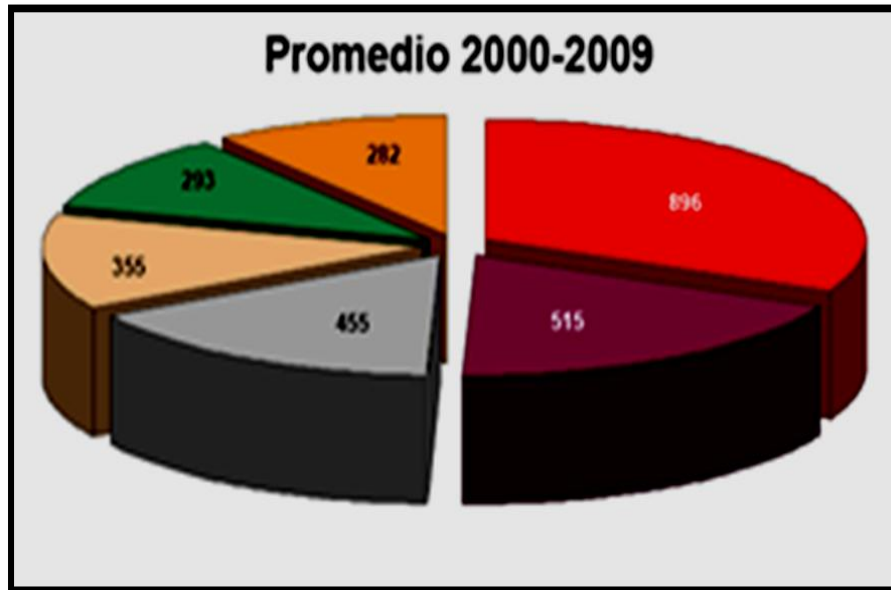
El mercado mundial de tomate en fresco, no tiene mucha importancia (5% de la producción) por ser un producto perecedero y altos costos de flete en relación al valor del producto. En el comercio internacional de derivados de tomate las proporciones son similares. El mercado de conservas está muy concentrado, Italia aporta casi el 80% del total comercializado. En cambio la oferta de pasta de tomate se encuentra distribuida entre los países mediterráneos de la UE (Italia, Grecia, Portugal) Turquía, Estados Unidos, China y en el hemisferio sur, Chile. Los principales importadores de estos productos son los países de la UE que no son productores o tienen déficit (Reino Unido, Alemania, y Francia) Estados Unidos y Japón (Ghezán, 2002).

En los indicadores básicos del sector agroalimentario y pesquero publicados hasta Diciembre del 2009 por el SIAP-SAGARPA, se da a conocer el valor de las exportaciones de tomate desde el 2000 hasta 2009; como se puede observar en la figura 6 la tendencia es positiva del valor de las exportaciones.



**Figura 6.** Valor de las exportaciones

En la figura 7 el Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP-SAGARPA) con datos del Banco de México, presenta el promedio de los principales productos agropecuarios y pesqueros exportados en millones de dólares; se aprecia que el tomate fresco ha tenido un valor de exportación promedio de 896 millones de dólares.



SAGARPA, 2010

**Figura 7.** Promedio de los principales productos agropecuarios y pesqueros exportados en millones de dólares

## 2.14 INDUSTRIALIZACIÓN

El tomate es la materia prima más importante en la industria de conservas vegetales, destinándose a la industrialización entre el 25 y el 30% de la producción mundial.

A la industrialización se destinan dos tipos de tomate, cada uno con numerosas variedades comerciales, el tipo bola o “tomate redondo” y el alargado o “tomate pera”; el tipo predefine el producto industrial obtenido.

El Servicio de Investigación Económica de la USDA calcula que el 35% de tomates crudos son procesados en salsas, 18% en pasta de tomate, 17% para las conservas de tomate, 15% en jugos, y el 15% en salsa de tomate (Canene-Adams, Campbell *et al.*, 2005). La pasta de tomate es un típico producto industrial, con bajo grado de diferenciación y precios altamente variables de acuerdo a las oscilaciones de oferta. En cambio, algunos productos finales (puré, pulpa, salsas) tienen mercados muy dinámicos y mayores niveles de estabilidad de precios (Ghezán, 2002).

El tomate maduro se consume fresco y se utiliza en la manufactura de productos procesados tales como puré, zumos, concentrados, tomate frito, pasta, polvo, cátsup, salsas, sopas y tomates enlatados. En este sentido, una pequeña cantidad se consume en fresco, mientras que la mayoría se ingiere después del procesamiento, principalmente en salsas (Candelas, Alanís *et al.*, 2006).

Estados Unidos es el principal productor mundial de conservas de tomate, más del 85% de su producción en fresco se destina a la industrialización. El segundo país productor de conservas es Italia, que con una producción equivalente al 50% de la de Estados Unidos, supone la tercera parte de la producción industrializada de los países de la cuenca mediterránea; Grecia, España, Turquía, Portugal, Francia y China son también importantes productores a nivel mundial. Las características del sector industrial difieren mucho de una zona productora a otra; así en Estados Unidos nos encontramos con altos niveles de concentración de la oferta de productos de primera transformación, con tamaños empresariales grandes. California concentra el 90% de la producción industrial de primera transformación, con sólo el 22% del total de las industrias conserveras, mientras en la Unión Europea existe una clara tendencia en el minifundismo empresarial (Nuez, 2001).

En la industrialización del tomate se toman especificaciones para su recolección, recepción, e industrialización (Nuez, 2001). En resumen se consideran los siguientes índices de calidad industrial:

- Sólidos solubles totales: Esta correlacionado con el contenido de sólidos solubles (°Bx), es el índice que más influye sobre el rendimiento de la fabricación, se sitúa entre 4.5 y 5.5 °Bx. Es influido por la variedad y factores agrológicos.
- pH: Se sitúa normalmente entre 4.2 y 4.4, si llegara a sobrepasar tal pH se pueden presentar problemas en la esterilización, siendo necesario acidular.
- Extracto seco: Condiciona el rendimiento en la fabricación de concentrado.
- Viscosidad: Depende del tiempo que se tarde en inactivar por calor las enzimas peptolíticas, es fundamental para la fabricación de cátsup.

- Acidez total y azúcares reductores: La acidez suele oscilar entre 0.35 y 0.40 g/100.

## **2.15 USO Y MANEJO DE DESECHOS**

En la actualidad en la industria alimentaria, en los centros comerciales y las centrales de abasto se generan grandes cantidades de desechos de tomate rojo, de los cuales es posible aprovechar el licopeno presente. En la industria alimentaria los desechos generados del tomate rojo son de aproximadamente 3% y en los centros comerciales y centrales de abastos el porcentaje es de alrededor del 2.8% (Melchor, 2006).

De acuerdo con Nuez (2001) teniendo en cuenta el destino de la producción las mermas y pérdidas de mercado, que dadas las características del producto, se situarían entre el 5 y 10% de la producción.

### **2.15.1 Las principales causas de pérdidas del tomate**

Todas las frutas, hortalizas y raíces son partes de plantas vivas que contienen de un 65 a un 95% de agua y cuyos procesos vitales continúan después de la recolección. Su vida después de la cosecha depende del ritmo al que consumen sus reservas almacenadas de alimentos y del ritmo de pérdida de agua.

Cualquier factor que acelere el proceso puede hacer que el producto se vuelva incomedible antes de que llegue al consumidor, hay que tener en cuenta que en el proceso de comercialización del producto fresco todas están relacionadas entre si, y en todas influyen condiciones externas tales como la temperatura y la humedad relativa.

#### **2.15.1.1 Deterioro fisiológico**

Las pérdidas causadas por los cambios fisiológicos normales se intensifican cuando intervienen condiciones que aceleran el proceso natural de deterioro, como temperaturas elevadas, baja humedad atmosférica y daños físicos.

Cuando el producto se expone a temperaturas extremas, a modificaciones de la composición de la atmósfera o la contaminación, sufre un deterioro fisiológico anormal, que puede causar sabores desagradables, la detención del proceso de maduración u otras modificaciones de los procesos vitales, y puede dejar de ser apto para el consumo.

#### **2.15.1.2 Daños mecánicos**

La manipulación negligente del producto fresco es causa de magulladuras internas que dan lugar a un deterioro fisiológico anormal o a hendiduras y grietas de la piel, que aumentan rápidamente la pérdida de agua y aceleran el proceso normal de modificaciones fisiológicas. Las grietas en la piel también propician las infecciones por los organismos patógenos causantes de la descomposición.

#### **2.15.2 Merms industriales**

Los residuos que se generan en las industrias transformadoras de tomate pueden ser valorizados dando lugar a diferentes productos con usos varios, de esta manera un subproducto que podría generar problemas medioambientales se puede convertir en licopeno, pienso de animales, combustible para calderas o biogás.

Se considera residuo industrial a la piel y las pepitas de los tomates, ya que las aguas de lavado que se generan en las industrias, suelen ser recicladas para volverse a utilizar en otras fases del proceso industrial. En algunas ocasiones incluyen trozos deteriorados que no sirven para la elaboración del producto.

Si estos residuos no se valorizaran, terminarían dando lugar a problemas medioambientales como malos olores, contaminación de aguas o fomento de plagas. Además este tipo de residuos se genera en una época determinada justo después de la finalización de la recogida del tomate, lo que hace que en poco tiempo se obtengan grandes cantidades en las procesadoras (Marín Isabel, 2010).

### **2.15.3 Mermas comerciales**

Estas mermas se producen durante el almacenamiento y comercialización del producto lo que implica exposición prolongada a temperaturas del medio ambiente provocando su deterioro, sin embargo no son tratadas o aprovechadas de una manera correcta y son desechadas generando contaminación, estos casos se dan principalmente en centrales de abasto, y tiendas de auto servicios, siendo buenas fuentes para aprovechar estos recursos.

### **2.16 ANTIOXIDANTES**

En la actualidad hay una demanda creciente de productos de origen natural que se presume son más seguros, funcionales (antioxidantes y colorantes), además, aportan beneficios nutricionales y a la salud (Gaviria *et al.*, 2007).

Los productos vegetales poseen una variedad de compuestos químicos que actúan como agentes antioxidantes, inhibiendo la formación y daño producido por radicales libres, que no solo producen rancidez y pérdidas de alimentos en su almacenamiento, sino que están asociados con enfermedades crónicas como el cáncer, el mal de Alzheimer, enfermedades cardiovasculares y están fuertemente ligados al proceso de envejecimiento (Botero, Ricaurte *et al.*, 2007).

Los antioxidantes son un conjunto heterogéneo de sustancias formado por vitaminas, minerales, pigmentos naturales y otros compuestos vegetales y enzimas, que se caracterizan por impedir a retrasar la oxidación de diversas sustancias principalmente de los ácidos grasos cuyas reacciones se producen tanto en los alimentos como en el organismo humano. Impide la oxidación perjudicial de otras sustancias químicas, ocasionadas en las reacciones metabólicas o producidas por los factores exógenos como las radiaciones ionizantes (Zamora, 2007).

Las sustancias antioxidantes se han clasificado en dos principales sistemas, el sistema enzimático y el sistema no enzimático, también conocidos como



endógeno y exógeno respectivamente, los cuales pueden actuar en el espacio intracelular como extracelular (Zamora, 2007).

Los dos antioxidantes pueden formar parte de enzimas que directa o indirectamente protegen a las células contra los efectos adversos de numerosas drogas y sustancias carcinogénicas (Huerta y Ortega, 2005).

Los antioxidantes juegan un papel importante en las patologías cardiovasculares, en numerosos tipos de cáncer, en el SIDA e incluso otras directamente asociadas con el proceso de envejecimiento, como las cataratas o las alteraciones del sistema nervioso.

La función y efecto de los antioxidantes en la salud, es evitar la oxidación de sustancias que puedan provocar alteraciones fisiológicas, facilitar el uso fisiológico del oxígeno por parte de las mitocondrias ayudando a reducir los efectos del estrés oxidativo y la falta de oxígeno, formando complejos que mitigan las reacciones productoras de radicales libres y por consiguiente desempeñando una función fundamental en la prevención de las enfermedades derivadas del estrés oxidativo (Zamora, 2007).

### **2.16.1 Los radicales libres y la oxidación**

La respiración en presencia de oxígeno resulta esencial en la vida celular de nuestro organismo, pero como consecuencia de la misma se producen unas moléculas, los radicales libres, que ocasionan a lo largo de la vida efectos negativos para la salud por su capacidad de alterar el ADN, las proteínas y los lípidos (Anónimo 1, 2007).

El oxígeno es el responsable de la formación de intermediarios parcialmente reducidos y dotados de alta reactividad, conocidos como especies oxigénicas reactivas (ROS) o radicales libres. Los radicales libres son moléculas inestables de alta energía con electrones desapareados en sus órbitas exteriores, que tienden a reaccionar con otros compuestos (Botero, Ricaurte *et al.*, 2007).

Entre los radicales libres cabe destacar:

1. Radicales: ion superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ), radical hidroxilo ( $\cdot OH$ ), alcoxilo ( $RO\cdot$ ), peroxilo ( $ROO\cdot$ ) y óxido de nitrógeno ( $NO\cdot$ ).
2. No radicales: peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ), oxígeno singlete ( $\cdot O_2$ ) y peroxinitrito ( $ONOO^-$ ).

Las especies oxigénicas reactivas tienen un origen tanto endógeno, de la propia célula, como exógeno. Entre las fuentes endógenas destacan:

- La cadena respiratoria.
- Las células fagocitarias (neutrófilos, monocitos o macrófagos), utilizan el sistema de la NADPH oxidasa generando directamente ión superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ).
- La autooxidación de compuestos de carbono reducido.
- La actividad catalítica de diversas enzimas del metabolismo intermediario.

Las fuentes exógenas de radicales libres pueden ser ambientales, farmacológicas o nutricionales.

Los sistemas biológicos en ambientes oxigenados han desarrollado mecanismos de defensa, tanto a nivel biológico como bioquímico. Las células utilizan una serie de compuestos antioxidantes como son: vitamina E, vitamina C,  $\beta$ -caroteno, ferritina, celuloplasma, selenio, glutatión reducido (GSH), manganeso, ubiquinona, zinc, ácido úrico, flavonoides, licopeno, como los más representativos e importantes.

## **2.17 CAROTENOIDES**

Los carotenoides son compuestos que actúan como antioxidantes y como secuestradores de radicales libres, son responsables de los colores amarillos,

anaranjados y rojos de los frutos y vegetales actúan como antioxidantes de los lípidos (Fernández, Pitre *et al.*, 2007).

El alto grado de insaturación los hace fácilmente oxidables, siendo especialmente sensibles a la luz, calor y oxígeno. Otros factores físicos y químicos que los degradan, son temperaturas elevadas, exposición a la luz, al oxígeno y a pH extremos. Además de la degradación oxidativa, con facilidad se lleva a cabo la isomerización *cis-trans* (Candelas y Alanís, 2002).

Entre los más importantes para el organismo se tienen los:  $\beta$ -carotenos,  $\alpha$ -carotenos, licopeno, criptoxantina, luteína y zeaxantina (Fernández, Pitre *et al.*, 2007; Candelas y Alanís, 2002).

## **2.18 EL LICOPENO**

El licopeno es un carotenoide que se encuentra en tomates, toronjas rojas, sandías y pimientos rojos. Es un antioxidante probado que posee el mayor efecto protector contra los radicales libres (Fernández, Pitre *et al.*, 2007). Es un hidrocarburo alifático, soluble en lípidos, cuya principal fuente es el jitomate, y tiene un importante papel fisicoquímico en la fisiología humana, que una vez absorbido por el cuerpo, ayuda a prevenir y reparar las células dañadas (Periago M.J., Martínez Valverde I., et al. 2001).

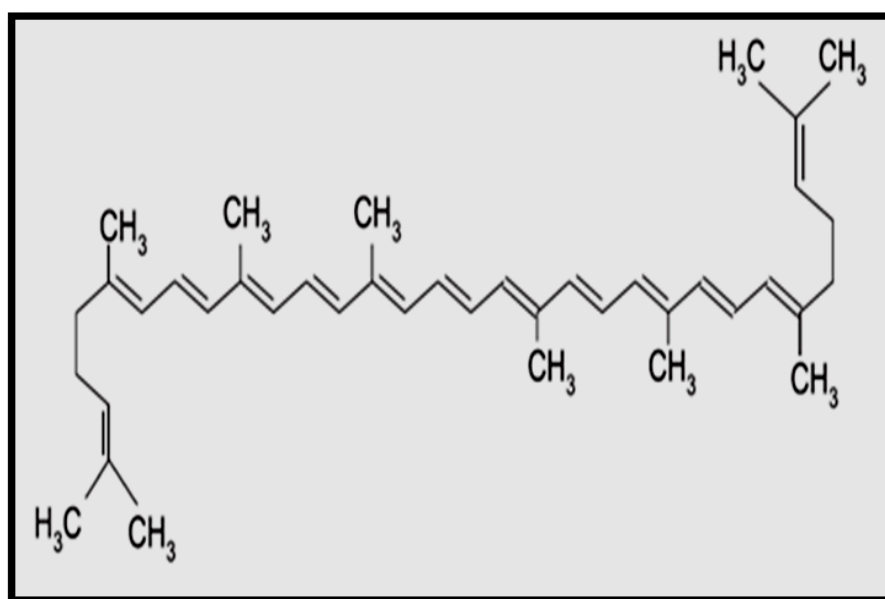
### **2.18.1 Estructura química del licopeno**

La estructura química de los carotenoides es un factor determinante de sus propiedades físicas, reactividad química y de sus funciones biológicas. El licopeno es uno de los primeros que aparecen en la síntesis de este tipo de compuestos, constituyendo la base molecular para la síntesis de los restantes carotenoides (Giovannucci, 2005).

La estructura química del licopeno, está integrada por carbono e hidrógeno, con una cadena alifática formada por 40 átomos de carbono y 56 de hidrógeno, con la

formula:  $C_{40}H_{56}$ . Teniendo tanto enlaces sencillos como enlaces dobles que se alternan (Llamas, 2008).

En general, su estructura molecular es la de un hidrocarburo acíclico, sus átomos unidos por 11 enlaces conjugados, constituyéndose en la cadena más larga de todos los carotenoides conocidos; esta configuración es responsable de su capacidad para anular la acción de los radicales libres (Cardona y Ríos, 2006).



Periago M.J., Martínez Valverde I., et al. 2001

**Figura 8.** Estructura química del licopeno predominante en los vegetales

Puede presentarse como isómero *cis* e isómero *trans* aunque, salvo pocas excepciones, su forma natural en las plantas es la configuración *trans*, que a su vez constituye la forma química más estable a los tratamientos térmicos, y, debido a esta configuración es un compuesto hidrofóbico y sensible a la degradación por luz y calor (Liu *et al.*, 2006).

Los isómeros *cis* del licopeno presentan distintas características y comportamiento que los isómeros *trans*: disminución de la intensidad de color, menor punto de fusión, menor coeficiente de extinción molar y cambio en el valor máximo de absorción en el espectro ultravioleta-visible.

La estructura del licopeno tiene una zona llamada cromóforo, que es un grupo o contorno de átomos que absorben y emiten determinadas longitudes de onda, generando su color (Llamas, 2008).

En general es necesario que existan al menos siete dobles enlaces conjugados, para que un carotenoide produzca color. Cuanto mayor es el número de enlaces dobles, mayor es la longitud de onda de la luz absorbida y también más rojo será el vegetal. Mientras el número de enlaces conjugados aumente, la longitud de onda de la luz absorbida también lo hace, dando al compuesto un color rojo más intenso.

### **2.18.2 Factores que afectan al licopeno**

En relación a las propiedades químicas derivadas de su estructura, hay que tener en cuenta que todos los factores físicos y químicos capaces de degradar otros carotenoides afectan también al licopeno. La causa principal de deterioro de los carotenoides es la oxidación, que es mayor cuando se pierde la integridad celular. El alto grado de insaturación los hace fácilmente oxidables, siendo especialmente sensibles a la luz, calor y oxígeno. Otros factores físicos y químicos que se sabe degradan a los carotenoides, son temperaturas elevadas, exposición a la luz, al oxígeno y pH extremos. Además de la degradación oxidativa, con facilidad se lleva a cabo la isomerización de la forma *trans* a la forma *cis* (Candelas, Alanís *et al.*, 2006).

Todos estos factores han de tenerse en cuenta a la hora de la extracción, almacenamiento y manipulación de las muestras cuando se analiza el contenido en licopeno. Dicho análisis tiene que desarrollarse minimizando la degradación oxidativa y evitando la aparición de isómeros no presentes de forma natural. Debe ser, por tanto, evitada la exposición a la luz utilizando únicamente luz roja o amarilla. Se pueden adicionar antioxidantes como el BHT (butilhidroxi-tolueno) para controlar la oxidación y la reacción de isomerización. El oxígeno presente en el espacio de cabeza ha de ser sustituido por nitrógeno o argón (Periago M.J., Martínez Valverde I., *et al.* 2001).

### 2.18.3 Formas de extracción de licopeno

Para la extracción de este tipo de sustancias se utilizan diversas técnicas; la más común es la extracción con solventes por etapas. En la mayoría de los estudios se han usado para la fase móvil metanol, ACN, THF y otro solvente (diclorometano, agua, 2-propanol) (Candelas y Alanís, 2002). El sistema de solventes de extracción empleado es importante para la estabilidad de los carotenoides en términos de isomerización. En tetrahidrofurano (THF), metanol y acetonitrilo (ACN) no existe o es muy poca la isomerización (Candelas, Cadillo *et al.*, 2006).

Algunos estudios reportan la extracción de compuestos orgánicos mediante ultrasonido (Zu *et al.*, 2002), se ha comparado la extracción de oleorresina de tomate mediante métodos de arrastre por vapor y extracción soxhlet (Cardona, Ríos *et al.*, 2006).

Diversos autores reportan que, mediante HPLC, el licopeno se separa de otros carotenoides usando columnas C<sub>18</sub> en fase reversa y que para separar sus isómeros se usa una columna C<sub>30</sub> (Candelas, Alanís *et al.*, 2006).

Actualmente se ha utilizado la extracción con fluidos supercríticos, con grandes ventajas sobre los demás métodos (Candelas y Alanís, 2002; Candelas, Alanís *et al.*, 2006).

Desde que se comprendió que la célula vegetal esta constituida por celulosa y pectina, enzimas hidrolíticas como la celulasa y pectinasa han sido utilizadas con éxito en la extracción de varios tipos compuestos orgánicos como carotenoides, aceites y flavonoides a partir de frutos y/o semillas (Guerra y Zúñiga, 2003). Debido a la eficiencia y fácil operación ha sido propuesta la extracción enzimática para la obtención de compuestos naturales, sin embargo, la utilización de solventes sigue siendo presente en la mayoría de los estudios para el análisis de la fase móvil.

## **2.19 TECNOLOGÍA ENZIMÁTICA**

### **2.19.1 Factores que influyen en la reacción enzimática**

Los enzimas son proteínas que actúan en pequeña cantidad catalizando las reacciones químicas en los seres vivos al disminuir la energía de activación.

#### **- Cambios en el pH**

Las enzimas poseen grupos químicos en las cadenas laterales de sus aminoácidos. Según el pH del medio, estos grupos pueden tener carga eléctrica positiva, negativa o neutra. Como la conformación de las proteínas depende, en parte, de sus cargas eléctricas, habrá un pH en el cual la conformación será la más adecuada para la actividad catalítica.

La mayoría de los enzimas son muy sensibles a los cambios de pH. Desviaciones de pocas décimas por encima o por debajo del pH óptimo pueden afectar drásticamente su actividad.

#### **- Cambios en la temperatura**

Los aumentos de temperatura por lo general aceleran las reacciones químicas. Las reacciones catalizadas por enzimas siguen esta ley, solo que al ser proteínas a partir de cierta temperatura se empiezan a desnaturalizar.

#### **- Presencia de cofactores**

Los cofactores son sustancias no proteicas que colaboran en la catálisis con la enzima para realizar su función. Pueden ser iones inorgánicos o coenzimas.

#### **- Concentración de sustrato y productos finales**

#### **- Presencia de Inhibidores**

Estos inhibidores bien pueden ocupar temporalmente el centro activo por semejanza estructural con el sustrato original (inhibidor competitivo) o bien alteran

la conformación espacial del enzima, impidiendo su unión al sustrato (inhibidor no competitivo).

### **2.19.2 Aplicación en procesos industriales**

La industria química está explorando en el uso de desechos comerciales e industriales para incrementar la sustentabilidad, proponiendo la exploración de bioprocesos para la producción de químicos (Stuart, DiCosimo *et al.*, 2002). Al mismo tiempo, el rápido desarrollo tecnológico está estimulando la unión de la industria química con la tecnología enzimática (Van y Li, 2002).

Los procesos industriales que involucran la transformación de sustratos mediante el tratamiento químico han migrado durante las últimas décadas hacia el uso de biocatalizadores que generen mayor velocidad de proceso con menor impacto negativo en el ambiente (Castellanos y Ramírez, 2006). Recientemente estudios han descrito un incremento en el uso de biocatalizadores para la extracción de productos comerciales para la industria farmacéutica, alimentaria y nutricional. Dentro de dichos biocatalizadores están las enzimas solubles o inmovilizadas (Stuart, Di Cosimo *et al.*, 2002).

En la actualidad las enzimas o biocatalizadores pueden ser clasificados en dos grandes categorías según su actividad y los volúmenes de producción. En la primera se ubican aquellas que tienen gran actividad biológica y por lo tanto sus volúmenes de producción son pequeños. En el segundo grupo se encuentran las enzimas que cuentan con menor actividad biológica y sus volúmenes de producción y aplicación son mayores, en este grupo se encuentran las enzimas con mayor aplicación en diferentes procesos industriales, como en la obtención o tratamiento de alimentos (Castellanos y Ramírez, 2006).

El interés sobre el estudio de la aplicación de enzimas en la industria de la extracción de productos vegetales se ha incrementado de manera importante en las últimas dos décadas, debido a que ha demostrado ser una herramienta factible facilitando la liberación de los componentes de las células del tejido además de



liberar el compuesto extra que se encuentra encerrado dentro de las células incrementando la producción. Extracción de jugo, extracción de leche de coco, extracción de almidón, extracción de aceite, extracción de colorantes y extracción de antioxidantes (Ovando y Waliszewski, 2005).

La aplicación de la catálisis enzimática se da en cuatro campos bien diferenciados: como agentes terapéuticos, como herramienta para la manipulación de materiales biológicos, como reactivos analíticos y como catalizadores industriales.

Según Castellanos y Ramírez (2006), sus aplicaciones tienen el fin de mejorar el proceso y/o el producto; son comúnmente utilizadas en la industria alimentaria, textil y papelera principalmente, en la agricultura, tratamiento de pieles, en la producción de compuestos químicos, farmacéuticos y agroquímicos; tales como compuestos aromáticos, carbohidratos, ácidos orgánicos, alcoholes y metabolitos secundarios.

La aplicación de enzimas en la industria alimentaria es muy antigua, al usarse de manera inconsciente hasta finales del S. XIX. El uso en la industria láctea, específicamente en la fabricación de queso, es una de las más antiguas aplicaciones donde la operación más importante en la coagulación de la caseína. Así también se aplica en la industria panadera, cervecera, vinícola, fabricación de zumos, etc.

## **2.20 CELULASA**

La celulasa es una enzima del grupo de las hidrolasas que degrada la celulosa. La celulosa es el principal componente estructural de los vegetales, la cual funciona en la mayoría de la materia prima vegetal como un secuestrador o barrera estructural que limita la liberación de componentes de interés para la industria alimentaria. La celulosa es un polisacárido formado por unidades de anhidro glucosa, las cuales se mantienen unidas mediante enlaces  $\beta$ -1,4 glucósidos. Pero además, la configuración  $\beta$  le permite a la celulosa formar cadenas largas y lineales, las cuales no se presentan aisladas sino unidas entre sí mediante enlaces

de hidrógeno intramolecular formando una estructura supramolecular cristalina y organizada, resistente a la hidrólisis (Ovando y Waliszewski, 2005).

### **2.20.1 Tipos de celulasa**

El sistema de celulasa típico incluye tres tipos de enzimas: la endo- $\beta$ -1,4-glucanasa E.C.3.2.1.4, la exo- $\beta$ -1,4-glucanasa E.C.3.2.1.91 y la  $\beta$ -1,4-glucosidasa E.C.3.2.1.21 (Ovando y Waliszewski, 2005).

### **2.20.2 Mecanismo de la hidrólisis enzimática**

El mecanismo propuesto en la literatura para la degradación de la celulosa puede resumirse en tres etapas: Primero la endo  $\beta$ -1,4-glucanasa actúa al azar sobre los enlaces  $\beta$ -1,4 glucosídicos internos presentes entre las unidades de glucosa que forman la molécula de celulosa, y convierte las cadenas largas de oligosacáridos, los cuales mantienen la configuración  $\beta$  de su estructura. La acción de esta enzima es sobre las regiones amorfas de la molécula de celulosa o sobre la superficie de los microfibrillas, y tiene como resultado la disminución de la longitud de la cadena de celulosa y la creación de nuevos extremos reactivos que sirven de sustrato para la posterior acción de la exo- $\beta$ -1,4-glucanasa (Çinar, 2004; Ovando y Waliszewski, 2005).

En la segunda etapa actúa la exo- $\beta$ -1,4-glucanasa, la cual es la enzima que corta la cadena 1,4  $\beta$ -D-glucano a partir del extremo no reductor de la molécula de celulosa y de las celodextrinas, lo que provoca la remoción de unidades de celobiosa o glucosa. Ambas enzimas endoglucanasa y exoglucanasa son inhibidas por uno de los productos de la hidrólisis enzimática, la celobiosa, lo que disminuye la eficiencia de la hidrólisis (Ovando y Waliszewski, 2005).

Una vez degradadas las zonas amorfas de la celulosa, tiene lugar la tercera etapa de la hidrólisis, en donde la región cristalina comienza a ser hidrolizada, como resultado de la acción sinérgica de la endoglucanasa y la exoglucanasa. Finalmente, una etapa que limita la degradación de la celulosa es la hidrólisis de la

celobiosa a glucosa mediante la acción de la  $\beta$ -1,4-glucosidasa, por que las glucanasas son inhibidas por la celobiosa (Ovando y Waliszewski, 2005).

### **2.20.3 Microorganismos productores de celulasa**

Las enzimas celulasa son producidas por una variedad de bacterias y hongos aeróbicos y anaeróbicos, mesófilos o termófilos. Sin embargo, sólo algunos de ellas producen enzima celulasa extracelular capaz de hidrolizar la celulosa (Ovando y Waliszewski, 2005).

A partir de hongos aeróbicos, tales como: *Trichoderma viride*, *Trichoderma reesei*, *Penicillium pinophilum*, *Sporotrichum pulverulentum*, *Fusarium solani*, *Talaromyces emersonii* y *Trichoderma koningii*, se han obtenido los complejos celulóticos utilizados en la mayoría de los estudios (Miettinen-Oinonen y Suominen, 2002).

Entre estos microorganismos, el hongo filamentoso *T. reesei* se caracteriza por la efectividad que tiene en la degradación de celulosa nativa y cristalina con el complejo celulolítico con endo- $\beta$ -1,4-glucanasa, exo- $\beta$ -1,4-glucanasa y  $\beta$ -1,4-glucosidasa; también las celulasa de *T. reesei* tienen la ventaja de ser resistentes a inhibidores químicos y estables en reactores agitados (Ovando y Waliszewski, 2005).

## Capítulo III

### MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo fue realizado en las instalaciones del Laboratorio de Ciencia y Tecnología de Alimentos, dentro de la “Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro”.

#### 3.1 MATERIALES

- Celdillas
- Cuchillo
- Gradillas
- Manguera de látex, 2 fracciones de 40 cm y 2 de 15 cm
- Matraz de aforación (1 L)
- Papel aluminio
- Pipeta (10 ml) marca Kimax.
- Probeta 500 ml marca Pyrex.
- Puntillas para micropipeta
- Tabla para cortar.
- Tubos de ensaye con rosca Kimax (15 x 1 cm)
- Tubos para centrifuga Nalgene de 15 ml
- Vasos de precipitados (200 ml)
- Vasos de precipitados (500ml)

#### 3.2 EQUIPOS

- 3 Reactores cubiertos
- Agitador Bigger Bill Termolyne modelo M49235
- Baño maría Novatech modelo BMA-3015
- Balanza analítica Ohaus (Cap. 120 g)
- Bomba Artic Cicle modelo B-92

- Centrífuga Centra CL2 modelo 120
- Cronómetro Casio
- Espectrofotómetro Genesys 10 UV
- Licuadora Osterizer Blender modelo 450-10
- Micropipeta Labmate
- Termómetro de Mercurio (-20 a150°C)
- Vortex Genie 2 modelo G560.

### **3.3 REACTIVOS**

- Licopeno en estado puro
- Enzima celulasa
- Hexano
- Acetona
- Soluciones buffer pH 4.0, pH 5.0, pH 6.0.
- Agua destilada

### **3.4 MATERIAL VEGETAL**

El tomate rojo variedad huaje (*Lycopersicum esculentum Mill periforme*) (figura 9) se adquirió en un supermercado de la ciudad de Saltillo, Coahuila; las principales características del material vegetal fue la homogeneidad de los frutos, madurez completa y sin magulladuras.



**Figura 9.** Tomates seleccionados

### **3.5 METODOLOGÍA**

#### **3.5.1 Elaboración de la curva de calibración del licopeno**

Para predecir la concentración de las muestras y medir las respuestas de las lecturas se realizó una curva de calibración, que es la función matemática producida por la regresión de las respuestas del detector a lo largo de un rango de concentraciones y es utilizada para predecir la concentración de una muestra desconocida.

Primeramente se preparó la mezcla extractora, compuesta por los solventes hexano y acetona en una relación 3:2, dicha mezcla sirvió como solvente del licopeno y fue utilizada como blanco durante los ensayos (Espitia, 2006).

Después se preparó la solución madre, para lo cual se agregó 1 mg de licopeno puro en un matraz de aforación de 10 ml previamente forrado con papel aluminio para frenar la oxidación del licopeno, aforando con mezcla extractora (hexano:acetona, 3:2); se agitó vigorosamente hasta disolver completamente. Se obtuvo una concentración de 0.1g/L en la solución madre.

Se calibró el espectrofotómetro a 502 nm con 2 ml de mezcla extractora como blanco (Espitia, 2006).

Posteriormente se prepararon las diluciones para ser leídas en el espectrofotómetro; una a la vez para minimizar el tiempo de exposición a la luz. Se completó un volumen de 2 ml en cada lectura, preparándose de la siguiente manera, la primera celdilla con 0.00 ml de solución madre más 2 ml de mezcla extractora, la segunda celdilla con 0.010 ml de solución madre más 1.990 ml de mezcla extractora, la tercera celdilla con 0.020 ml de solución madre más 1.980 ml de mezcla extractora, se continuó con el mismo intervalo de concentración hasta que la lectura superó las 3 unidades de absorbancia, es decir, fuera de rango; esto sucedió con la lectura número 22 con 0.210 ml de solución madre más 1.790 ml de mezcla extractora.

Se consideraron los primeros 20 datos que mejor predecían la tendencia, para realizar la gráfica con el *software Microsoft Office Excel 2007* y mediante regresión obtener la ecuación para tratar los resultados.

### **3.5.2 Preparación de soluciones buffer**

#### **3.5.2.1 Preparación de Solución buffer pH 4.0**

Para la preparación de la Solución buffer pH 4.0 se utilizaron los siguientes reactivos:

- Biftalato de Potasio
- HCl 0.2 M

Preparación:

- Preparar Solución Biftalato de Potasio siguiendo la relación de 40.85 g en 1000 ml de agua destilada.
- Preparar HCl 0.2 M, considerando que:
  - 83.5 ml HCl → 1 M → 1000 ml agua destilada.

- Para preparar 2500 ml de Solución buffer, agregar 625 ml de Solución Biftalato de Potasio y 1.25 ml de HCl 0.2 M, aforando con agua destilada.

### **3.5.2.2 Preparación de Solución buffer pH 5.0**

Para la preparación de la Solución buffer pH 5.0 se utilizaron los siguientes reactivos:

- Biftalato de Potasio
- NaOH 0.2 M

Preparación:

- Preparar Solución Biftalato de Potasio siguiendo la relación de 40.85 g en 1000 ml de agua destilada.
- Preparar NaOH 0.2 M, considerando que:
  - $40 \text{ g NaOH} \rightarrow 1 \text{ M} \rightarrow 1000 \text{ ml agua destilada}$ .
- Para preparar 2500 ml de Solución buffer pH 5.0, agregar 625 ml de Solución Biftalato de Potasio y 282.5 ml de NaOH 0.2 M, aforando con agua destilada.

### **3.5.2.3 Preparación de Solución buffer pH 6.0**

Para la preparación de la Solución buffer pH 6.0 se utilizaron los siguientes reactivos:

- Fosfato de Potasio
- NaOH 0.2 M

Preparación:

- Preparar Solución Fosfato de Potasio monobásico siguiendo la relación de 27.22 g en 1000 ml de agua destilada.
- Preparar NaOH 0.2 M, considerando que:



- 40 g NaOH → 1 M → 1000 ml agua destilada.
- Para preparar 2500 ml de Solución buffer pH 6.0, agregar 625 ml de Solución Fosfato de Potasio monobásico y 70 ml de NaOH 0.2 M.

### 3.5.3 Preparación de la muestra

Se seleccionaron suficientes tomates con las características deseadas (3.3), se picaron y se molieron durante 60 s en una licuadora Osterizer Blender modelo 450-10, como se muestra en la figura 10. Inmediatamente se pasó a un vaso de precipitados forrado con papel aluminio para minimizar la reacción de oxidación del licopeno, al quedar parcialmente expuesto, y se colocó en refrigeración (0 – 4°C).



**Figura 10.** Procedimiento de licuado de los tomates

### 3.5.4 Análisis de las muestras por etapas

En el análisis de las muestras se manejaron las siguientes variables:

1. Temperatura: 40°C, 50°C y 60°C.
2. Concentración de enzima: Sin enzima y con enzima.
3. pH: 4.0, 5.0 y 6.0.
4. Tiempo: 0', 20', 40', 60', 80', 100' y 120'.

La experimentación con las muestras se realizaron en 6 etapas diferenciadas, tomando como referencia las variables temperatura y concentración de enzima. Las etapas del experimento se resumen en el cuadro 10.

**Cuadro 10.** Etapas de análisis de las muestras

ETAPA	VARIABLES			
	Temperatura	[E]	pH	Tiempo
1	40 °C	Sin enzima	4.0, 5.0, 6.0	0', 20', 40', 60', 80', 100' y 120'
2	50°C	Sin enzima	4.0, 5.0, 6.0	0', 20', 40', 60', 80', 100' y 120'
3	60°C	Sin enzima	4.0, 5.0, 6.0	0', 20', 40', 60', 80', 100' y 120'
4	40 °C	Con enzima	4.0, 5.0, 6.0	0', 20', 40', 60', 80', 100' y 120'
5	50°C	Con enzima	4.0, 5.0, 6.0	0', 20', 40', 60', 80', 100' y 120'
6	60°C	Con enzima	4.0, 5.0, 6.0	0', 20', 40', 60', 80', 100' y 120'

#### 3.5.4.1 Secuenciación del análisis

Se tomaron 3 muestras de 22.5 g procurando fueran lo más homogéneas posibles, se colocaron en tres reactores que se encontraban con una agitación constante a 100 r.p.m., tal como se muestra en la figura 11, y por los cuales se hacía circular agua a una temperatura constante (40°C, 50°C o 60°C); el primer reactor contenía 150 ml de buffer a pH 4.0 en las seis etapas, el segundo reactor contenía 150 ml de buffer a pH 5.0 en las seis etapas, y el tercer reactor contenía 150 ml de buffer a pH 6.0 en las seis etapas.



**Figura 11.** Montaje de equipos

Se permitió la homogenización durante un minuto después de depositadas las muestras al tiempo que se verificaba el pH de cada reactor y si era necesario se ajustaba con NaOH 0.01 N. En las etapas 4, 5 y 6 se agregó un ml de enzima celulasa medido con micropipeta como se muestra en las figuras 12 y 13.



**Figura 12.** Medición de la enzima con la micropipeta



**Figura 13.** Agregado de la enzima a los reactores

Una vez ajustado el pH se inicio la cuenta como tiempo 0'; se tomaron alícuotas de 5 ml en tubos de ensaye con rosca con 3 repeticiones por tratamiento (ver figura 14). Posterior a esto se fueron acomodando en orden de muestreo como se presenta en la figura 15.



**Figura 14.** Toma de muestras para análisis



**Figura 15.** Acomodo de tubos con muestra en la gradilla

Se agregó a cada alícuota 5 ml de mezcla extractora (hexano:acetona, 3:2) (ver figura 16) y se agitaron vigorosamente durante 5 minutos con un Vortex Genie 2 Modelo G560, figura 17.



**Figura 16.** Agregado de solución extractora



**Figura 17.** Agitación con equipo Vortex Genie 2

Transcurrido el tiempo de agitación se pasaron a tubos Nalgene de 15 ml para ser centrifugados a 4,000 r.p.m. durante 7 min en una centrífuga Centra CL2 modelo 120 (figura 18), con el objetivo de separar las fases orgánica y acuosa aprovechando la diferencia en densidad; como se puede observar en la figura 19.



**Figura 18.** Centrífuga Centra CL2 Modelo 120



**Figura 19.** Separación de la fase orgánica

Posteriormente, con cuidado y utilizando una micropipeta, se sustrajo 1 ml de la fase orgánica que contiene el licopeno y fue colocado en una celdilla, la cual ya contenía el mismo volumen (1 ml) de acetona, y fue leída en el espectrofotómetro Genesys 10 UV, previamente calibrado con la mezcla extractora como blanco a 502 nm. Por último se tomaron los datos de las lecturas para su análisis.

Las alícuotas se tomaron cada 20 min, es decir, a tiempo 0', 20', 40', 60', 80', 100' y 120'; siguiendo el mismo método de experimentación.

El experimento tuvo 5 repeticiones en cada una de las seis etapas.

Cabe mencionar que lo ideal hubiese sido integrar en el mismo experimento los 6 tratamientos, es decir, los 3 reactores a diferente pH con enzima y los 3 reactores a diferente pH como control; sin embargo, la capacidad técnica y el tiempo involucrado en cada experimento hubiese complicado el correcto seguimiento del mismo.

## Capítulo IV

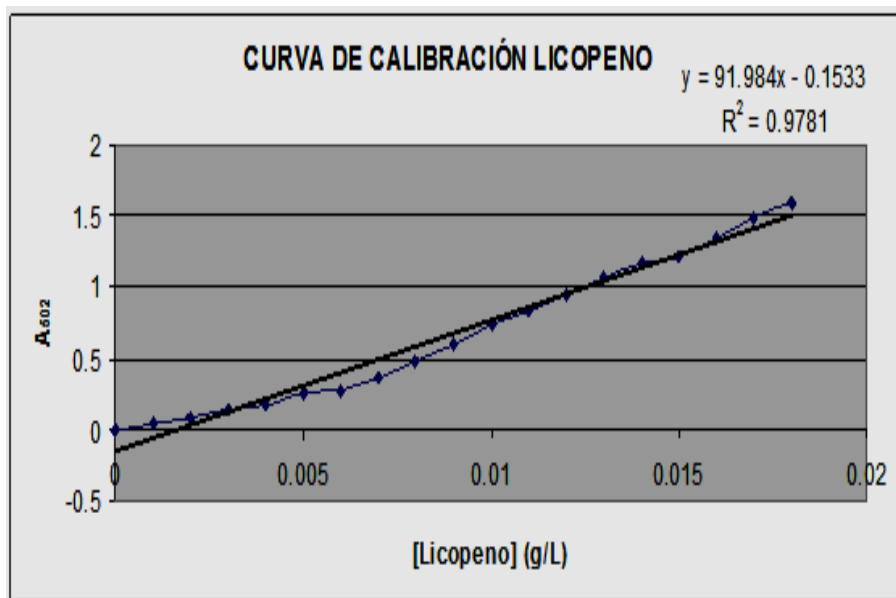
### RESULTADOS Y DISCUSIONES

A continuación se presentan los resultados obtenidos durante la investigación.

#### 4.1 CURVA DE CALIBRACIÓN

En el gráfico de la figura 20 se muestra la interacción entre la absorbancia a 502 nm ( $A_{502}$ ) y la concentración de licopeno en las diferentes diluciones. El valor de la  $A_{502}$  fue incrementándose conforme la concentración de licopeno lo hacía, en una relación directa.

Se trabajó con los valores que ayudaran a trazar la recta más probable con el Software Microsoft Excel 2007, quedando el siguiente gráfico (Figura 20).



**Figura 20.** Resultado de la curva de calibración del licopeno

El software utiliza el método de mínimos cuadrados para calcular la línea recta que mejor se ajuste a los datos y, a continuación, devuelve una matriz que describe la línea, especificada como una fórmula o ecuación de matrices.

Para el experimento la ecuación de la línea es:



Con un coeficiente de correlación de  $R^2=0.9781$ .

Donde:

y:  $A_{502}$ , es la variable dependiente de los valores x

x: [Licopeno], variable independiente.

Con esta ecuación se procesaron los datos de las lecturas de absorbancia, despejando, la ecuación para calcular la concentración de licopeno quedó como sigue:

\_\_\_\_\_

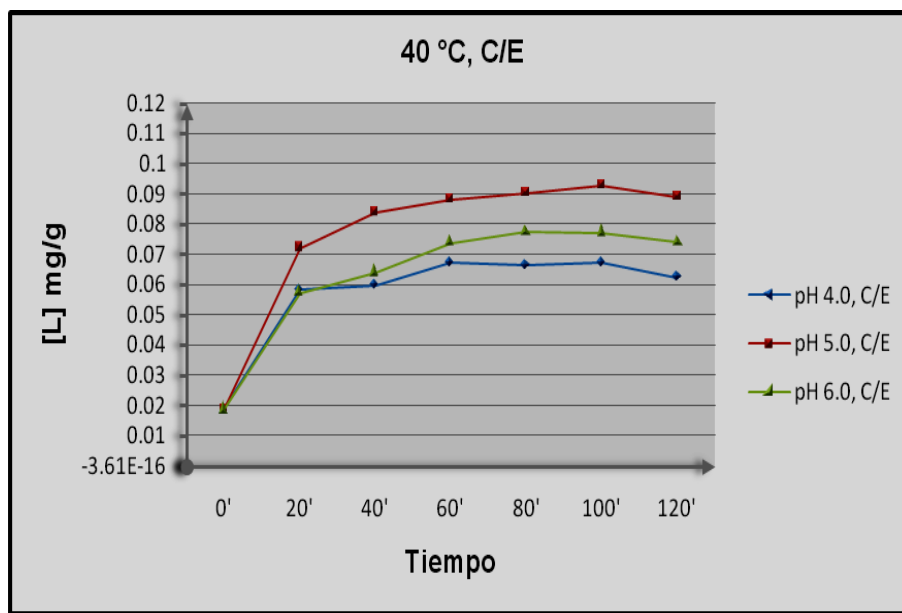
Los resultados se multiplicaron por 2, ya que fue el factor de dilución.

\_\_\_\_\_

## 4.2 ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS POR ETAPAS

**Etapa 1.** Descripción de los resultados obtenidos a 40°C; con enzima; pH 4.0, pH 5.0 y pH 6.0; tiempos de 0', 20', 40', 60', 80', 100' y 120'.

El resumen de los resultados se presenta en la figura 21; observando una tendencia similar en los tres tratamientos respecto al tiempo, siendo éste una variable determinante en el grado de extracción de licopeno, donde la creciente y, posteriormente, relativa estabilidad en las lecturas obtenidas se deben a la liberación creciente del licopeno y a la diferenciación de la pared celular (Pérez y Carpita, 2006).



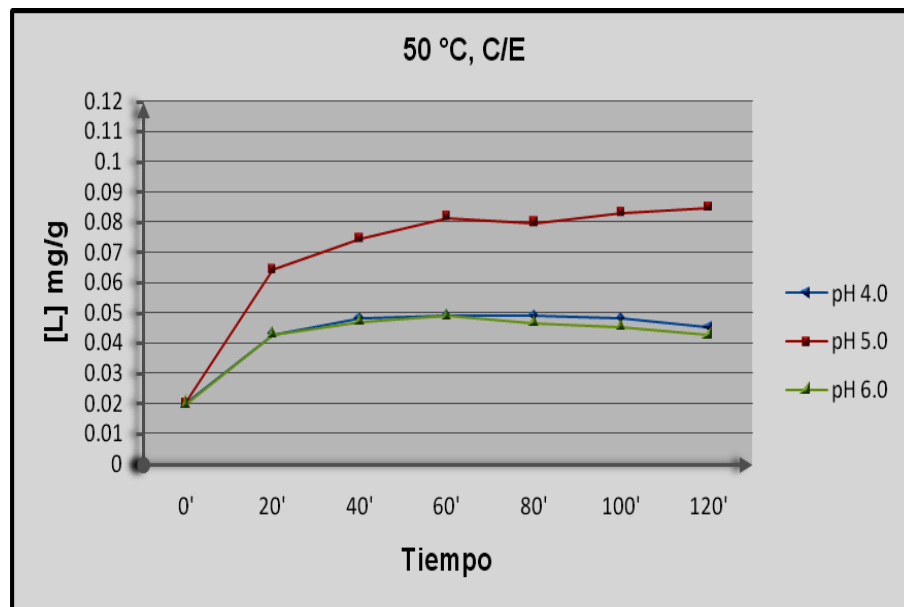
**Figura 21.** Niveles de extracción de licopeno a una temperatura de 40°C, con Enzima a diferente pH

El tratamiento más efectivo fue aplicando un pH de 5.0, esto concuerda con investigadores que han utilizado soluciones buffer con pH 5.0, como buffer Citrato 0.05 M pH 5.0 (Miettinen-Oinonen y Suominen, 2002). La Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC) en un estudio sobre las medidas de la actividad de la celulasa, determinó que para la celulasa de origen fúngico, específicamente del género *Trichoderma*, se recomienda utilizar un buffer Citrato 0.05 M pH 4.8; sin embargo, deben considerarse las demás variables como el origen del enzima, tiempo, sustrato y concentración (Ghose, 1987). La celulasa de *Trichoderma reesei* tiene la ventaja de que es resistente a inhibidores químicos bajo condiciones de pH de 4.8 (Ovando y Waliszewski, 2005). La celulasa actúa sobre las fibrillas de celulosa que conforma junto con pectinas, hemicelulosa, proteínas y cenizas la pared celular (Nuez, 2001), el licopeno es liberado ya que se encuentra en forma de estructuras semicristalinas unidas a la membrana de los cromoplastos o cloroplastos (Zapata y Gerard, 2007). El mejor rendimiento a los 100 min con una extracción de 9.27 mg/100 g, superior a lo reportado por Zapata y Gerard (2007) para los tomates en fase de comercialización (4.919 mg/100 g); sin embargo concuerda con lo dicho por Candelas y Alanís (2002), quienes en su literatura

mencionan que en las variedades comunes de tomate la concentración de licopeno es de 3 a 12.2 mg/100 g en fruta madura.

**Etapa 2.** Descripción de los resultados obtenidos a 50°C; con enzima; pH 4.0, pH 5.0 y pH 6.0; tiempos de 0', 20', 40', 60', 80', 100' y 120'.

La figura 22 muestra los resultados a los que se llegó durante esta etapa. En el tratamiento con pH 5.0 se obtuvo la mejor respuesta a la adición de enzima, sin embargo los rendimientos fueron inferiores a los logrados a 40°C; a los 60 min hubo una extracción de 8.14 mg/100 g, mostró una tendencia positiva al final del ensayo, alcanzándose una extracción de 8.47 mg/100 g a los 120 min, mayor que los logrados en un estudio en España (1.8 a 6.5 mg/100 g) (Zapata y Gerard, 2007).



**Figura 22.** Niveles de extracción de licopeno a una temperatura de 50 °C, con Enzima a diferente pH

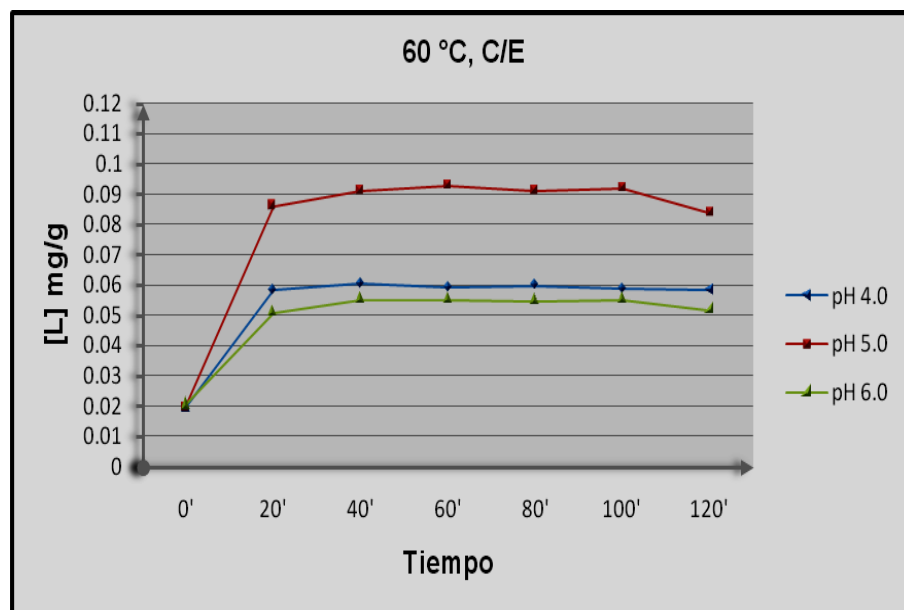
En los tratamientos con un pH 4.0 y 6.0 hubo una tendencia similar; el rendimiento de extracción en estos 2 tratamientos fue menor respecto a los rendimientos a 40°C, al ser menor a 5.0 mg/100 g. Dichos tratamientos resultaron los menos productivos durante la investigación.

El pH influye en la eficiencia del enzima para romper los enlaces glucosídicos, generalmente por los residuos aminoacídicos del sitio activo. El pH 4.0 y 5.0 mostraron ser factores decisivos para la eficiencia de la celulasa al mostrar su punto de inflexión con bajas extracciones del carotenoide.

El pH ejerce una variación sobre la concentración de las especies catalíticamente activas, pudiendo deberse a la desnaturalización del enzima, cambio en la forma iónica de la proteína o sustrato (Anónimo 2, 2010).

**Etapas 3.** Descripción de los resultados obtenidos a 60°C; con enzima; pH 4.0, pH 5.0 y pH 6.0; tiempos de 0', 20', 40', 60', 80', 100' y 120'.

Al igual que en las dos anteriores etapas, el tratamiento con mejores rendimientos fue utilizando un pH 5.0; con la diferencia de que la temperatura actuó como catalizador obteniéndose mejores rendimientos en poco tiempo. A los 20 min se tuvo un rendimiento de 8.61 mg/100 g; a los 40 min se tuvo un rendimiento de 9.09 mg/100 g y a los 60 min se tuvieron 9.28 mg/100 g, siendo el mejor rendimiento durante el ensayo; lo anterior es observable en la figura 23 que se presenta a continuación.



**Figura 23.** Resultados de la extracción de licopeno a temperatura de 60°C, con enzima a diferente pH

El contenido puede variar con la etapa de maduración, así como por la variedad de tomate (Candelas y Alanís, 2002).

Los tratamientos con pH 4.0 y pH 6.0 nuevamente tuvieron un comportamiento similar, lográndose mejores rendimientos con un pH 4.0, promediando los 6.0 mg/100 g desde los 20 min hasta el final del ensayo.

Si bien el tiempo es un factor importante en la extracción de licopeno, en realidad el gráfico muestra que al poco tiempo podemos alcanzar rendimientos comparables a si esperamos mucho tiempo. Los factores que determinaron con mayor claridad la extracción son el pH y la temperatura. El pH muy ácido (4.0) y el pH relativamente alcalino (6.0) resultan ser inapropiados para el actuar del enzima sobre el sustrato, lo que demuestra que las enzimas son inestables a valores de pH extremos.

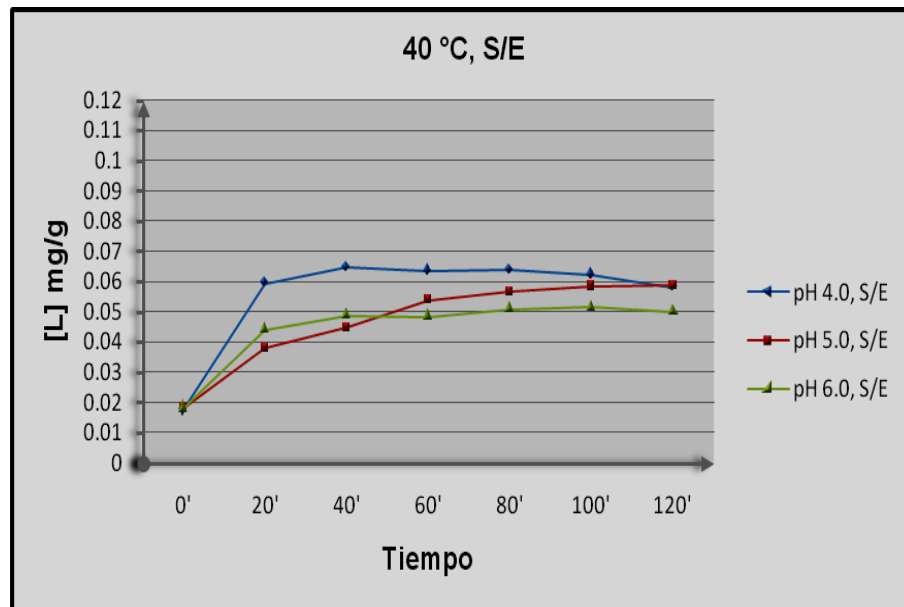
La caída en la actividad del enzima es más pronunciada a una temperatura de 60°C que a 50°C y mayor que a los 40°C, debido a que a una cierta temperatura el enzima mantiene más estable su actividad y a cierta temperatura sufre desnaturalización proteica (Anónimo 2, 2010).

**Etapa 4.** Descripción de los resultados obtenidos a 40°C; sin enzima; pH 4.0, pH 5.0 y pH 6.0; tiempos de 0', 20', 40', 60', 80', 100' y 120'.

Los resultados de la etapa cuatro se pueden ver en el gráfico de la figura 24. En la etapa cuatro, se repite el ensayo de la etapa 1, con la diferencia de que no se realizó el tratamiento enzimático. Se manejó una temperatura de 40°C; pH 4.0, pH 5.0 y pH 6.0; tiempos de 0', 20', 40', 60', 80', 100' y 120'.

Comparativamente con las demás etapas, en esta, los rendimientos fueron bajos, siendo el pH 4.0 el tratamiento más efectivo, el máximo valor de extracción tuvo lugar a los 40 min con 6.45 mg/100 g, superior a los 5 mg/100 g que se establece como la media para las variedades rojas (Candelas y Alanís, 2002).

Cabe mencionar que la extracción de licopeno con un pH de 4.0 no muestra una variación significativa con o sin enzima. Sin embargo, con un pH de 5.0 y 6.0 el incremento es considerable si se realiza el tratamiento enzimático a esta temperatura.



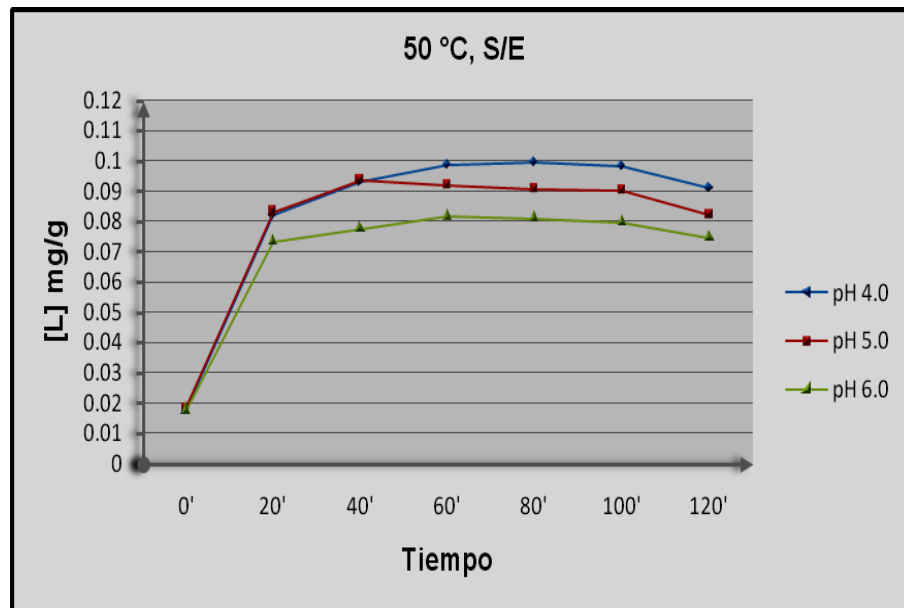
**Figura 24.** Niveles de extracción de licopeno a una temperatura de 40 °C, sin Enzima

**Etapa 5.** Descripción de los resultados obtenidos a 50°C; sin enzima; pH 4.0, pH 5.0 y pH 6.0; tiempos de 0', 20', 40', 60', 80', 100' y 120'.

La extracción del licopeno se comportó de manera similar en los tres tratamientos, resultando un rendimiento relativamente alto en un tiempo de 20 min. Lo anterior se debe a que al inicio de los ensayos se encuentra licopeno más accesible a la extracción ya sea liberado por el daño físico durante el licuado o se encuentra en las cavidades locales cuyas células poseen paredes más delgadas de tipo parenquimatoso no fibroso fácil de romper (Nuez, 2001).

Con el tratamiento pH 6.0 se logró una extracción máxima de 8.15 mg/100 g a un tiempo de 60 min. Los tratamientos con pH 4.0 y 5.0 se comportaron de manera ecuaníme hasta los 40 min del ensayo donde los rendimientos a un pH 5.0

comenzaron a decaer y con pH 4.0 llegaron a 9.95 mg/100 g a los 80 min, a partir de este momento empezó a declinar el rendimiento. Según Salucci *et al.* (1999) la media es de 2.205 mg/100 g, Candelas *et al.* (2005), reporta 4.59 mg/100 g en tomate fresco. Dicho lo anterior se puede observar el comportamiento grafico en la figura 25.



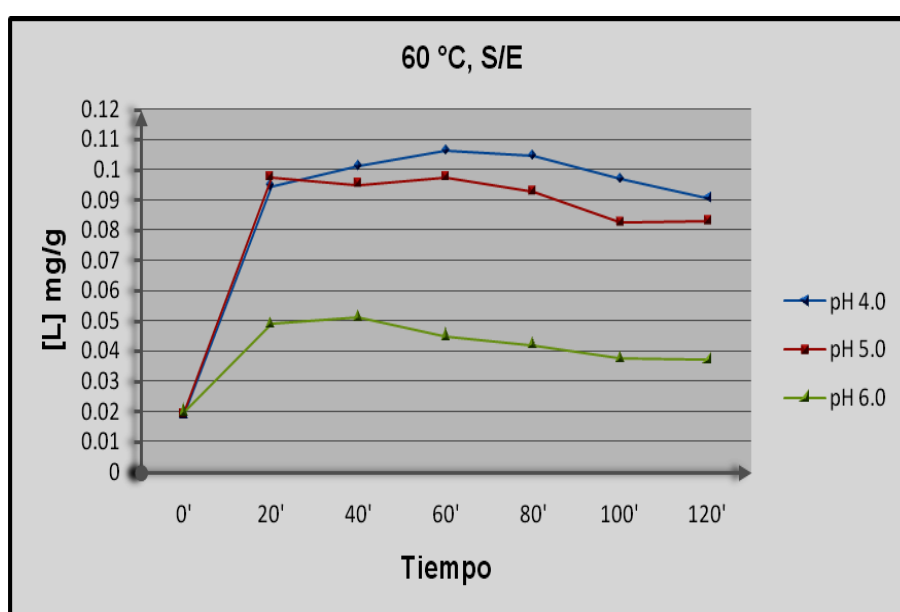
**Figura 25.** Muestra los resultados de los tratamientos a 50 °C, sin enzima

**Etap 6.** Descripción de los resultados obtenidos a 60°C; sin enzima; pH 4.0, pH 5.0 y pH 6.0; tiempos de 0', 20', 40', 60', 80', 100' y 120'.

Durante este ensayo, y como se puede apreciar en la figura 26, en los tratamientos pH 6.0 y 5.0 se obtuvieron rendimientos muy similares, siendo mayores a un pH 4.0, el mayor rendimiento en la extracción de licopeno se dio a los 60 min, con pH 4.0, con un rendimiento de 10.63 mg/100 g de tejido. Tal resultado es superior a los citados en bibliografía: 4.919 mg/100 g (Zapata y Gerard, 2007), 1.8 a 6.5 mg/100 g (Zapata y Gerard, 2007), 3 a 12.2 mg/100 g (Candelas y Alanís, 2002), 5 mg/100 g (Candelas y Alanís, 2002), 2.205 mg/100 g (Pineda, Salucci *et al.*, 1999), 4.59 mg/100 g (Candelas, *et al.*, 2005), 2.573 mg/100 g (Campbell, Canenne-Adams *et al.*, 2004) y los reportados en un estudio

en Nueva Zelanda en tres variedades con 1.324, 2.418 y 2.345 mg/100 g (Zapata y Gerard, 2007).

El buen rendimiento se debe a que el licopeno es relativamente estable durante el procesamiento y cocción de alimentos (Candelas, Alanis *et al.*, 2006), además generalmente presenta una configuración trans haciéndolo más estable a los tratamientos térmicos (Liu *et al.*, 2006); sin embargo la conformación de su estructura alifática de un hidrocarburo acíclico con enlaces conjugado le confieren la característica de ser fácilmente oxidable (Fernández, Pitre *et al.*, 2007).



**Figura 26.** Resultado de la extracción de licopeno a 60°C sin enzima

### 4.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para probar el efecto de los factores en el valor de la extracción de licopeno y evaluación de las diferentes condiciones o tratamientos comparando simultáneamente todos los factores con sus respectivos niveles, se optó por utilizar un diseño completamente al azar con arreglo factorial para el análisis estadístico.



**Factores involucrados:**

A: Enzima

B: Temperatura

C: pH

D: Tiempo

**Niveles en cada factor:**A: a<sub>1</sub>, a<sub>2</sub>B: b<sub>1</sub>, b<sub>2</sub>, b<sub>3</sub>C: c<sub>1</sub>, c<sub>2</sub>, c<sub>3</sub>D: d<sub>1</sub>, d<sub>2</sub>, d<sub>3</sub>, d<sub>4</sub>, d<sub>5</sub>, d<sub>6</sub>, d<sub>7</sub>**Tratamientos:**

$$[2 * 3 * 3 * 7] = 126$$

Unidad experimental:

$$(\text{No. Tratamientos})(\text{No. repeticiones}) = (126)(5) = 630 \text{ u.e.}$$

**Modelo estadístico:**

$$Y_{ijkl} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \gamma_k + \delta_l + (\alpha\beta)_{ij} + (\alpha\gamma)_{ik} + (\alpha\delta)_{il} + (\beta\gamma)_{jk} + (\beta\delta)_{jl} + (\gamma\delta)_{kl} + (\alpha\beta\gamma)_{ijk} + (\alpha\beta\delta)_{ijl} + (\alpha\gamma\delta)_{ikl} + (\beta\gamma\delta)_{jkl} + (\alpha\beta\gamma\delta)_{ijkl} + \varepsilon_{ijkl}$$

Donde:

Y: Observación

μ: Media general

α: Factor enzima

β: Factor temperatura

γ: Factor pH

δ: Factor tiempo

αβ: Interacción entre factores

εε: Error de experimentación

#### **4.3.1 Análisis de varianza (ANVA)**

Mediante el uso del software Statgraphics versión 15.2.14 se realizó el Análisis de Varianza Multifactorial para la concentración de licopeno para todos los tratamientos.

Variable dependiente: [LICOPENO]

Factores: ENZIMA, TEMPERATURA, pH y TIEMPO.

Número de casos completos: 630

En el cuadro 11 se muestra el análisis de varianza (ANVA) para la concentración de licopeno con varias pruebas para determinar que factores tienen un efecto estadísticamente significativo sobre la concentración de licopeno. El cuadro del ANVA descompone la variabilidad de la concentración de licopeno en contribuciones de varios factores y la contribución de cada factor se mide eliminando los efectos de los demás factores. En referencia a los efectos principales los resultados de los valores P son todos inferiores a 0.05, lo que significa que todos los factores tienen un efecto estadísticamente significativo con un 95.0% de confiabilidad; es decir, existe una diferencia altamente significativa de aplicar enzima o no, entre utilizar una temperatura u otra, un pH u otro y encontraremos valores de extracción diferentes en los distintos tiempos.

En congruencia al modelo estadístico se realizó un análisis de las interacciones posibles entre los factores, detectándose en 10 de las 11 interacciones valores P inferiores a 0.05, indicando que los efectos escalados entre las interacciones son altamente significativos con una probabilidad del 95.0%; sólo en el caso de la interacción entre los 4 factores no existe una diferencia significativa al resultar un valor P de 0.5038.

**Cuadro 11.** Análisis de Varianza para [Licopeno]

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
<b>EFFECTOS PRINCIPALES</b>					
A:ENZIMA	0.00554781	1	0.00554781	77.80	0.0000
B:TEMPERATURA	0.00787313	2	0.00393656	55.20	0.0000
C:pH	0.0535423	2	0.0267712	375.40	0.0000
D:TIEMPO	0.199283	6	0.0332139	465.75	0.0000
<b>INTERACCIONES</b>					
AB	0.0467277	2	0.0233638	327.62	0.0000
AC	0.0166624	2	0.00833122	116.83	0.0000
AD	0.00206108	6	0.000343513	4.82	0.0001
BC	0.0189765	4	0.00474413	66.53	0.0000
BD	0.00428526	12	0.000357105	5.01	0.0000
CD	0.0108777	12	0.000906479	12.71	0.0000
ABC	0.00606286	4	0.00151571	21.25	0.0000
ABD	0.00881265	12	0.000734387	10.30	0.0000
ACD	0.00302325	12	0.000251937	3.53	0.0000
BCD	0.00401086	24	0.000167119	2.34	0.0004
ABCD	0.00166165	24	0.0000692355	0.97	0.5038
<b>RESIDUOS</b>	0.0359417	504	0.0000713128		
<b>TOTAL (CORREGIDO)</b>	0.42535	629			

Se realizó un análisis conjunto de las medias, con los tratamientos con enzima y sin enzima, resultando el siguiente cuadro 12. En dicho cuadro se muestran el número de casos y la media de la concentración de licopeno para cada uno de los niveles de los factores. También muestra los errores estándar como medida de variabilidad en el muestreo, así como los intervalos de confianza del 95.0% para cada una de las medias.

**Cuadro 12.** Tabla de medias por mínimos cuadrados para la concentración de licopeno con intervalos de confianza del 95.0%

Nivel	Casos	Media	Error Estándar	Límite Inferior	Límite Superior
<b>MEDIA GLOBAL</b>	630	0.062168			
<b>ENZIMA</b>					
0	315	0.0651355	0.000879934	0.0634109	0.0668601
1	315	0.0592005	0.000879934	0.0574759	0.0609251
<b>pH</b>					
1	210	0.0752451	0.00107769	0.0731329	0.0773574
2	210	0.0600068	0.00107769	0.0578945	0.062119
3	210	0.0512521	0.00107769	0.0491399	0.0533644
<b>TEMPERATURA</b>					
1	210	0.0571959	0.00107769	0.0550837	0.0593082
2	210	0.0642021	0.00107769	0.0620899	0.0663144
3	210	0.065106	0.00107769	0.0629937	0.0672182
<b>TIEMPO</b>					
1	90	0.0190908	0.00164621	0.0158643	0.0223173
2	90	0.0640059	0.00164621	0.0607794	0.0672324
3	90	0.0695568	0.00164621	0.0663303	0.0727833
4	90	0.072273	0.00164621	0.0690465	0.0754995
5	90	0.0719472	0.00164621	0.0687207	0.0751737
6	90	0.0707899	0.00164621	0.0675634	0.0740164
7	90	0.0675124	0.00164621	0.0642859	0.0707389

Para un análisis más preciso de las medias de concentración de licopeno el cuadro 13 presenta la misma información a diferentes combinaciones de los 4 factores.

La media global de extracción durante el experimento fue de 6.2168 mg/100 g de muestra; en general sin la aplicación de enzima se logró un mejor resultado con una media de 6.51355 mg/100 g contra los 5.92005 mg/100 g aplicando enzima; en general el pH óptimo fue 4.0 con una media de 7.52451 mg/100 g; la temperatura más adecuada fue 60°C con una media de 6.5106 mg/100 g; respecto al tiempo los mejores valores se lograron a los 60 min con una media de 7.2273 mg por cada 100 g de muestra.

El cuadro de medias para la concentración de licopeno nos dice que si el tratamiento no incluye enzima el pH recomendable es 4.0 con una media de 7.53521 mg/100 g, la mejor temperatura es de 50°C con una media de 7.68837

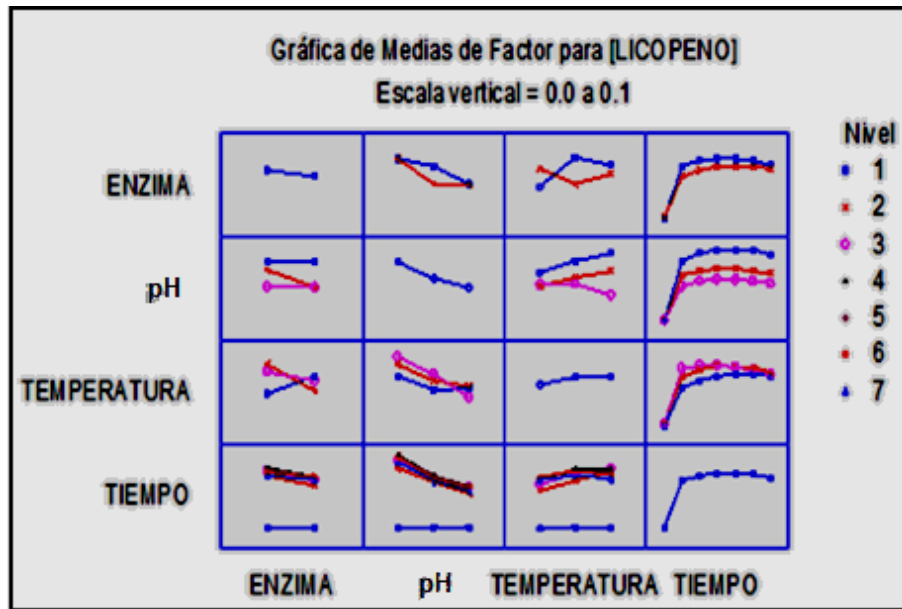
mg/100 g y a un tiempo de 60 min con una media de 7.61827 mg por cada 100 g de tomate. Si aplicamos enzima el pH adecuado a utilizar es 4.0 con una media de 7.51381 mg/100 g, una temperatura de 40°C con una media de 6.54481 mg/100 g y un tiempo de 100 min con una media de 6.86742 mg por cada 100 g de tomate.

**Cuadro 13.** Medias para la concentración de licopeno

NIVEL	RECUESTO	MEDIA	NIVEL	RECUESTO	MEDIA
MEDIA GLOBAL	630	0.062168	PH por TEMPERATURA		
ENZIMA			1,1	70	0.0658397
0	315	0.0651355	1,2	70	0.0762923
1	315	0.0592005	1,3	70	0.0836034
PH			2,1	70	0.0519754
1	210	0.0752451	2,2	70	0.0608254
2	210	0.0600068	2,3	70	0.0672195
3	210	0.0512521	3,1	70	0.0537726
TEMPERATURA			3,2	70	0.0554886
1	210	0.0571959	3,3	70	0.0444951
2	210	0.0642021	PH por TIEMPO		
3	210	0.065106	1,1	30	0.0189385
TIEMPO			1,2	30	0.0763757
1	90	0.0190908	1,3	30	0.0846487
2	90	0.0640059	1,4	30	0.0884153
3	90	0.0695568	1,5	30	0.0881103
4	90	0.072273	1,6	30	0.0873885
5	90	0.0719472	1,7	30	0.0828388
6	90	0.0707899	2,1	30	0.019226
7	90	0.0675124	2,2	30	0.0628854
ENZIMA por PH			2,3	30	0.0669076
0,1	105	0.0753521	2,4	30	0.0697195
0,2	105	0.0687578	2,5	30	0.0690522
0,3	105	0.0512965	2,6	30	0.0674291
1,1	105	0.0751381	2,7	30	0.0648276
1,2	105	0.0512557	3,1	30	0.0191079
1,3	105	0.0512077	3,2	30	0.0527567
ENZIMA por TEMPERATURA			3,3	30	0.0571141
0,1	105	0.0489437	3,4	30	0.0586841
0,2	105	0.0768837	3,5	30	0.0586791

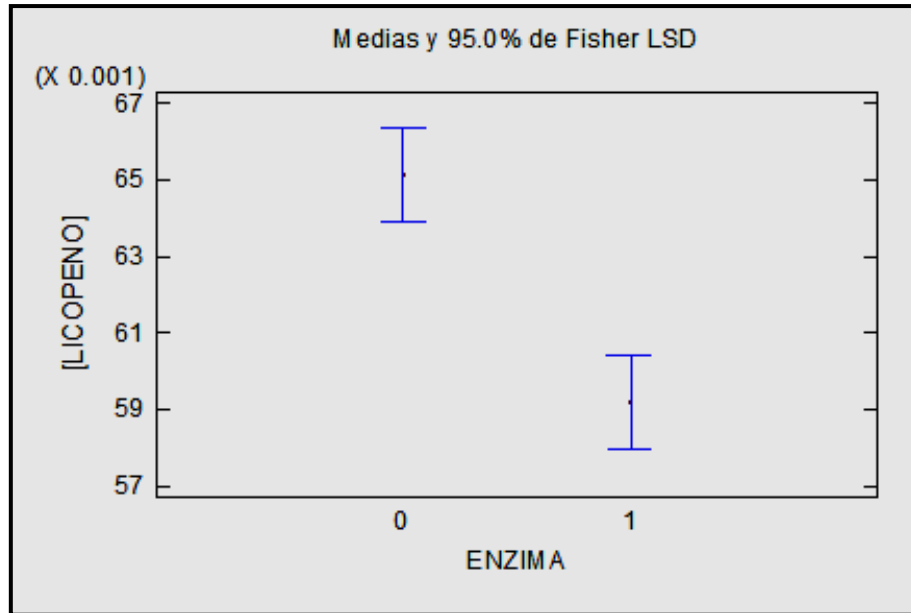
0,3	105	0.0695791		3,6	30	0.0575521
1,1	105	0.0654481		3,7	30	0.0548708
1,2	105	0.0515205		TEMPERATURA por TIEMPO		
1,3	105	0.0606328		1,1	30	0.0182951
ENZIMA por TIEMPO				1,2	30	0.0547613
0,1	45	0.0185354		1,3	30	0.0608584
0,2	45	0.0688959		1,4	30	0.0656673
0,3	45	0.0743773		1,5	30	0.0674369
0,4	45	0.0761827		1,6	30	0.0680698
0,5	45	0.0756619		1,7	30	0.0652826
0,6	45	0.0729055		2,1	30	0.0191553
0,7	45	0.0693898		2,2	30	0.0646365
1,1	45	0.0196463		2,3	30	0.072212
1,2	45	0.059116		2,4	30	0.0751853
1,3	45	0.0647362		2,5	30	0.0743286
1,4	45	0.0683632		2,6	30	0.0739433
1,5	45	0.0682325		2,7	30	0.0699537
1,6	45	0.0686742		3,1	30	0.0198221
1,7	45	0.065635		3,2	30	0.07262
				3,3	30	0.0756
				3,4	30	0.0759663
				3,5	30	0.0740762
				3,6	30	0.0703564
				3,7	30	0.0673009

La figura 27 muestra en forma gráfica la información del cuadro anterior, basándose en el promedio de la concentración de licopeno obtenida en diferentes combinaciones de los 4 factores. Las gráficas en las diagonales muestran las medias globales por nivel, mientras que las gráficas fuera de la diagonal muestran las medias de cada par de niveles del factor.



**Figura 27.** Gráfica de medias de factor para [LICOPENO]

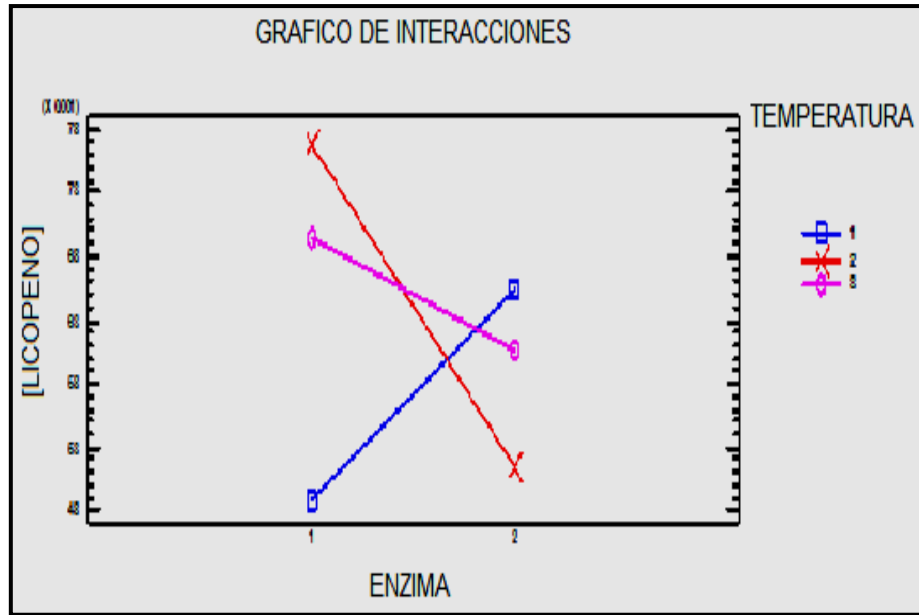
La figura 28 muestra la media de concentración de licopeno para cada uno de los niveles de enzima, las líneas horizontales sobre y bajo la media es el intervalo basado en el procedimiento de la diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher. Como puede observarse los intervalos no se traslapan horizontalmente por lo que confirmamos que existe una diferencia significativa entre las medias, esto se comprobó con la prueba de múltiple rangos para la concentración de licopeno por enzima. En general se obtienen mejores rendimientos con los tratamientos sin enzima.



**Figura 28.** Medias y 95.0% de Fisher LSD

Para el análisis del factor temperatura respecto al factor enzima se recurrió a un gráfico de interacciones el cual se muestra en la figura 29; se observa que hay diferencia entre aplicar o no enzima para los tres niveles de temperatura, para el caso de 50°C y 60°C el aplicar enzima a los tratamientos conlleva a un decremento en los rendimientos de extracción y sólo para el nivel 1 de temperatura (40°C) el incremento en rendimiento es considerable, sin llegar a las medias obtenidas con 50°C y 60°C sin enzima.





**Figura 29.** Gráfico de interacciones

## Capítulo V

### CONCLUSIONES

La temperatura más adecuada para el sistema enzimático es de 40 °C, ya que muestra mejor comportamiento y mayor estabilidad en la extracción de licopeno. La temperatura en un sistema no enzimático, es un factor directamente proporcional al rendimiento de la extracción, a mayor temperatura mayor el rendimiento, con la limitante de la oxidación y/o isomerización del licopeno.

La enzima celulasa cataliza de mejor manera la reacción de hidrólisis de la celulosa de las paredes celulares en un medio con valores de pH de 5.0 o cercanos a éste, siendo más estables y coherentes los factores que intervienen en la reacción, como son el sustrato y el mismo sitio activo de la enzima. El pH, como factor decisivo en la eficiencia de las reacciones en un sistema no enzimático para la extracción de licopeno a partir de tomate, infiere de manera inversa al rendimiento de la extracción, es decir, a menor pH mayor daño a las paredes celulares y por tanto mayor en el licopeno liberado.

La reacción catalizada por la celulasa sigue un comportamiento michaeliano o hiperbólico respecto al tiempo, gráficamente corresponde a una pendiente positiva con rendimientos cada vez mayores hasta alcanzar un punto de inflexión, continuando con rendimiento máximos hasta cierto tiempo donde un segundo punto de inflexión da paso a una pendiente negativa con rendimientos cada vez menores. Para el caso en estudio, el primer punto de inflexión aparece al poco tiempo de iniciado el experimento, obteniéndose rendimientos relativamente elevados en los primeros 20 y 40 min. En las reacciones sin enzima el comportamiento hiperbólico es similar, haciendo inviable continuar con el experimento desde el punto de vista de ahorro energético.

En el experimento se obtuvieron rendimientos relativamente superiores a los obtenidos en otros trabajos de investigación, siendo un método apropiado para la extracción de licopeno mediante el uso de cinéticas enzimáticas y no enzimáticas.

La interacción de factores (temperatura, pH y tiempo) modifica el comportamiento de los rendimientos. El mejor rendimiento se obtuvo aplicando una temperatura de 60°C a un tratamiento con pH de 4.0 en un tiempo de 60 minutos.

## Capítulo VI

### REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

**ANÓNIMO 1.** “Antioxidantes”. [En línea]. Consultado el 23 de Septiembre del 2007. Disponible en: [<http://es.wikipedia.org/wiki/Antioxidante>].

**ANÓNIMO 2.** “Cinética enzimática”. [En línea]. Consultado el 03 de Marzo del 2010. Disponible en: [<http://cineticaenzimatica.files.wordpress.com/efectos-de-ph.pdf>].

**Botero,** María, Sandra Ricaurte, Carlos Monsalve, y Benjamín Rojano. Capacidad reductora de 15 frutas tropicales. *Scientia Et Technica* 13 (Abril 2007): 295-296.

**Brandán,** Estela, Ana González, y Ernestina Seco. Tomate destinado a la industria. Facultad de ciencias agrarias-Universidad Nacional de Catamarca. 2009.

**Campbell,** Jessica K., Kirstie Canene-Adams, Brian L. Linshield, and Thomas W. Boileau, eds. Tomato phytochemicals and prostate cancer risk. *The Journal of Nutrition* (November 2009): 3486-3492.

**Candelas,** María Guadalupe, y María Guadalupe Alanís. Extracción y cuantificación por HPLC de licopeno en tomate y polvo de tomate. Facultad de Ciencias Químicas de la UJED. 2002.

**Candelas,** María Guadalupe, María Guadalupe Alanís, Justo Bautista, y Felipe del Río. Contenido de licopeno en jugo de tomate secado por aspersion. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 4, 2005, 299-307.

**Candelas,** María Guadalupe, María Guadalupe Alanís, y Felipe del Río. Cuantificación de licopeno y otros carotenoides en tomate y polvo de tomate. *Revista Mexicana de Agronegocios* 19, Julio-Diciembre 2006.

**Canene-Adams**, Kirstie, Jessica K. Campbell, Susan Zaripheh, and Elizabeth H. Jeffery, eds. The tomato as a functional food. *The Journal of Nutrition*, November 2009, 1226-1230.

**Cardona**, Eliana M., Luís A. Ríos, y Gloria M. Restrepo. Extracción del carotenoide licopeno del tomate chonto (*Lycopersicum esculentum*). *Vitae, Revista de la Facultad de Química Farmacéutica* 13, Octubre 2006, 44-53.

**Castellanos**, Oscar, Diana C. Ramírez, y Víctor M. Montañez. Perspectiva en el desarrollo de las enzimas industriales a partir de la inteligencia tecnológica. *Revista Ingeniería e Investigación* 26, Agosto 2006, 52-67.

**Cinar**, Inci. Storage stability of enzyme extracted carotenoid pigments from carrots. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry* 3, 2004, 609-616.

**Espitia**, Pilar. Cuantificación de licopeno a partir de tomate (*Lycopersicum esculentum Mill*). Tesis Ing. en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, 2006.

**Fernández**, Celeste, Alberto Pitre, María J. Llobregat, y Yadrenia Rondón. Evaluación del contenido de licopeno en pastas de tomates comerciales. *Información Tecnológica* 18, 2007, 31-38.

**Gaviria**, Carlos A., Octavio A. Cifuentes, Carlos E. Monsalve, y Benjamín A. Rojano. Actividad antioxidante de extractos metanólicos de *Attalea butyracea*. *Scientia el Technica* 33, Mayo 2007, 297-298.

**Ghezán**, Graciela. Trayectoria y Demandas Tecnológicas de las Cadenas Agroindustriales en el Mercosur: Hortalizas. Universidad Nacional de Mar del Plata, Argentina. 2002.

**Ghose**, T.K. Measurement of cellulase activities. *Pure and Applied Chemistry* 59, 1987, 257-268.

**Giovannucci**, Edward, Eric B. Rimm, Yan Liu, y Meir J. Stampfer. A prospective study of tomato products, lycopene, and prostate cancer risk. *Journal of the National Cancer Institute* 94, March 2002, 391-398.

**Giovannucci**, Edward. Tomato products, lycopene, and prostate cancer: A review of the epidemiological literature. *The Journal of Nutrition* 135, 2005, 2030-2031.

**Guerra**, E. G. y Zúñiga M. E. Tratamiento enzimático en la extracción de aceite de pipa de uva, *Vitis vinifera*, por prensado en frío. *Grasas y Aceite* 54, 2003, 53-57.

**Hernández**, Juvencio, Roberto García, Anibal Vaca, y Ramón Valdivia, eds. Evolución de la competitividad y rentabilidad del cultivo del tomate rojo (*Lycopersicon Esculentum L.*) en Sinaloa, México. *Agrociencia* 38, Julio-Agosto 2004, 431-36.

**Huerta**, Mariana, María Ortega, Mario Cobos, y José Herrera, eds. Estrés oxidativo y el uso de antioxidantes en animales domésticos. *Interciencia* 30, Diciembre 2005, 728-734.

**Kuc**, Alejandro, Sonia C. Sgroppo, y Jorge R. Avanza. Tomates triturados, cambios físico-químicos durante el almacenamiento. *FACENA* 21, 2005, 85-91.

**Liu**, Ang, Natasa Pajkovic, Yan Pang, and Dongwei Zhu, eds. Absorption and subcellular localization of lycopene in human prostate cancer cells. *Mol Cancer Ther* 11, November 2006, 2879-2885.

**Llamas O.** José Ma. Licopeno. Asociación Nacional de Tiendas de Autoservicio y Departamentales, A. C., Enero 2008.

**Macías**, Alejandro. Enclaves agrícolas modernos: el caso del jitomate mexicano en los mercados internacionales. *Región y Sociedad*, revista del colegio de Sonora 15, Enero-Abril 2003, 103-151.

**Marín**, Isabel. 2010. Revista Electrónica. Valorización de residuos industriales de tomate. Disponible en: <http://www.ambientum.com/revista/2010/abril/valorizacion-residuos-industriales-tomate.asp>; accesado el 18 de Enero del 2011.

**Martínez**, Eleazar. Análisis de la acumulación de azúcares en pericarpios de dos genotipos silvestres de jitomate (*Lycopersicon esculentum*). Agrociencia 37, Julio-Agosto 2003, 363-370.

**Melchor**, Julio J. Evaluación funcional de licopeno del tomate rojo variedad huaje (*Lycopersicum esculentum Mill pyriforme*). Tesis Ing. en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. 2006.

**Miettinen-Oinonen**, Arja and Pirkko Suominen. Enhanced production of *Trichoderma reesei* endoglucanases and use of the new cellulase preparations in producing the stonewashed effect on denim fabric. Applied and Environmental Microbiology 68, 2002, 3956-3964.

**Nuez**, Fernando. El cultivo del tomate. Madrid España: Ediciones Mundi-Prensa. 2001.

**Ovando**, Chacón S.L., Waliszewski K. N. Preparativos de celulasas comerciales y aplicaciones en procesos extractivos. Universidad y Ciencia 21, Diciembre 2005, 113-122.

**Pérez**, Iris y Nicholas C. Carpita. La  $\beta$ -galactosidasas y la dinámica de la pared celular. Interciencia 31, Julio 2006, 476-483.

**Periago** M.J., Martínez Valverde I., eds. Propiedades químicas, biológicas y valor nutritivo del licopeno. Universidad de Murcia, Campus Universitario de Espinardo Murcia, España. 2001.

**Pineda**, Alonso, Monica Salucci, Regina Lázaro, y Giuseppe Maiani, eds. Capacidad antioxidante y potencial de sinergismo entre los principales constituyentes antioxidantes de algunos alimentos. *Revista Cubana de Alimentación y Nutrición* 13, 1999, 104-111.

**Ramos**, Adriana, Aquiles Carballo, Adrian Hernández, y Tarsicio Corona, eds. Caracterización de líneas de jitomate en hidroponía. *Agricultura Técnica en México* 32, Mayo-Agosto 2006, 213-223.

**Rao**, Venket and Sanjiv Agarwal. Role of antioxidant lycopene in cancer and heart disease. *Journal of the American College of Nutrition* 19, 2000, 563–569.

**Reboul**, Emmanuelle, Patrick Borel, and Monique Charbonnier. Enrichment of tomato paste with 6% tomato peel increases lycopene and Carotene bioavailability in men. *The Journal of Nutrition*, 2004, 790-794.

**SAGARPA**. Indicadores Básicos del Sector Agroalimentario y Pesquero. Abril 2010.

**Stuart**, Thomas, Robert DiCosimo, and Vasantha Nagarajan. Biocatalysis: applications and potentials for the chemical industry. *TRENDS in Biotechnology* 20, June 2009, 238-241.

**Tonche**, Luis Armando. Determinación del pH óptimo para la proteasa obtenida del cardo (*Cynara cardunculus L.*) aplicable en la tecnología quesera. Tesis Ing. en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. 2005.

**Tyssandier** Viviane, Christine Feillet-Coudray, Catherine Caris-Veyrat, and Jean-Claude Guillent, eds. Effect of tomato product consumption on the plasma status of antioxidant microconstituents and on the plasma total antioxidant capacity in healthy subjects. *Journal of the American College of Nutrition* 23, 2004, 148–156.



**Van**, Jan and Zhi Li. Enzyme technology: an overview. *Current Opinion of Biotechnology* 13, 2002, 338-344.

**Weisburger**, John H. Lycopene and tomato products in health promotion. *Society for Experimental Biology and Medicine*, April 2001, 924-927.

**Zamora**, Juan Diego. Antioxidantes micronutrientes en lucha por la salud. *Revista Chilena de Nutrición* 34, Marzo 2007.

**Zapata**, Luz, Liliana Gerard, Cristina Davies, y María del C. Schvab. Estudio de los componentes antioxidantes y actividad antioxidante en tomates. *Ciencia, Docencia y Tecnología* 18, Noviembre 2007, 175-193.

**Zapata**, Luz, Liliana Gerard, Cristina Davies, y Leticia Oliva, eds. Correlación matemática de índices de color del tomate con parámetros texturales y concentración de carotenoides. *Ciencia, Docencia y Tecnología* 18, Mayo 2007, 207-226.

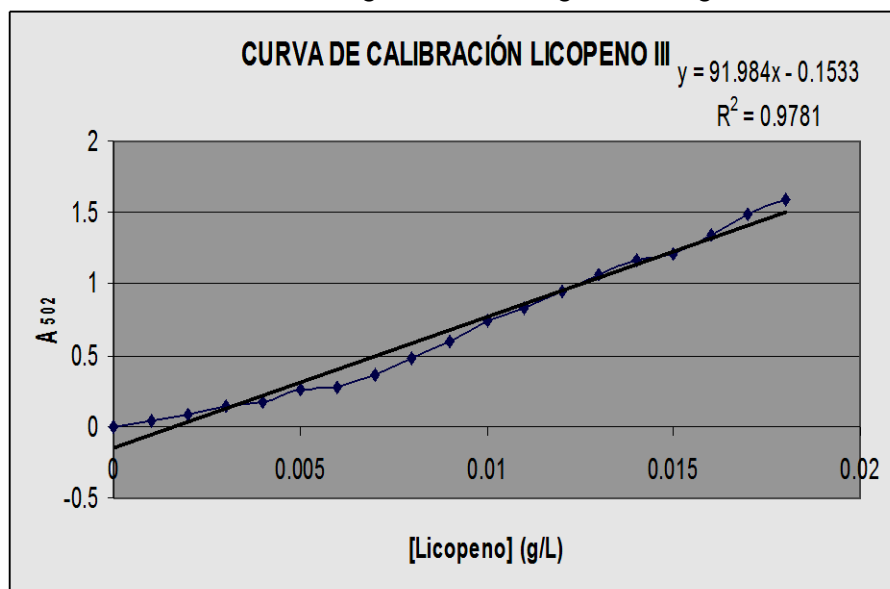
## Capítulo VII

### ANEXOS

#### I. Curva de calibración

Sol. Std. (mL)	Sol. Ext. (mL)	[Licopeno] g/L	A <sub>502</sub>
0.000	2.000	0	0
0.010	1.990	0.001	0.045
0.020	1.980	0.002	0.089
0.030	1.970	0.003	0.144
0.040	1.960	0.004	0.178
0.050	1.950	0.005	0.263
0.060	1.940	0.006	0.27
0.070	1.930	0.007	0.364
0.080	1.920	0.008	0.484
0.090	1.910	0.009	0.594
0.100	1.900	0.01	0.741
0.110	1.890	0.011	0.836
0.120	1.880	0.012	0.947
0.130	1.870	0.013	1.059
0.140	1.860	0.014	1.164
0.150	1.850	0.015	1.214
0.160	1.840	0.016	1.343
0.170	1.830	0.017	1.491
0.180	1.820	0.018	1.591

Sol. Std. = 1mg/10mL = 0.1mg/mL = 0.1g/L



## II. Cuadro de resumen de resultados

t	Concentración de licopeno (mg/g)					
	pH 4.0 (SE,40°C)	pH 5.0 (SE,40°C)	pH 6.0 (SE,40°C)	pH 4.0 (CE,40°C)	pH 5.0 (CE,40°C)	pH 6.0 (CE,40°C)
0'	0.017542231	0.018153458	0.018126564	0.018819972	0.018521708	0.018608498
20'	0.059345305	0.037815426	0.043998604	0.058183492	0.071979427	0.057244694
40'	0.06451629	0.044631835	0.048800407	0.059821499	0.083672844	0.063716046
60'	0.063244937	0.053729346	0.048335874	0.067263432	0.087921884	0.073517198
80'	0.063660571	0.056457866	0.050885916	0.066371085	0.090007288	0.077252833
100'	0.062005367	0.058298883	0.051514258	0.067048291	0.092728336	0.076837219
120'	0.058061727	0.058690069	0.050013083	0.062263842	0.088853348	0.07383502
t	Concentración de licopeno (mg/g)					
	pH 4.0 (SE,50°C)	pH 5.0 (SE,50°C)	pH 6.0 (SE,50°C)	pH 4.0 (CE,50°C)	pH 5.0 (CE,50°C)	pH 6.0 (CE,50°C)
0'	0.017947234	0.018856945	0.017668452	0.02010699	0.020488351	0.019864973
20'	0.081993843	0.083064954	0.073231758	0.04278572	0.06417858	0.042573038
40'	0.09316226	0.093607334	0.077389041	0.04797809	0.074272411	0.046868233
60'	0.098556946	0.091729221	0.081509641	0.049075724	0.081418032	0.048836152
80'	0.099513121	0.090423345	0.081013213	0.048819039	0.079618793	0.046589547
100'	0.09802139	0.089966044	0.07958751	0.048117434	0.082887248	0.045090995
120'	0.09100781	0.081908251	0.074398242	0.045208337	0.08467182	0.042531479
t	Concentración de licopeno (mg/g)					
	pH 4.0 (SE,60°C)	pH 5.0 (SE,60°C)	pH 6.0 (SE,60°C)	pH 4.0 (CE,60°C)	pH 5.0 (CE,60°C)	pH 6.0 (CE,60°C)
0'	0.019004551	0.019723365	0.019811383	0.019711796	0.020098253	0.020570319
20'	0.094526431	0.097272103	0.048854874	0.058269525	0.086099381	0.050652882
40'	0.101186459	0.095012975	0.051121337	0.060468422	0.090937442	0.054810972
60'	0.106364851	0.097426135	0.044774262	0.059167184	0.092835488	0.055150957
80'	0.104592266	0.092563141	0.041872114	0.059754208	0.091125779	0.054473433
100'	0.096841793	0.082455742	0.037478549	0.058748929	0.091705466	0.054823202
120'	0.090587626	0.082827373	0.037043349	0.058142337	0.083721932	0.05141846

### III. Gráfico de resumen de resultados

