



FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

TRABAJO FIN DE GRADO

TÍTULO:

**MÉTODOS DE EXTRACCIÓN DE
CAROTENOIDES DE MUESTRAS VEGETALES**

Autor: Álvaro Espinosa Calderón

Fecha: 17/02/2020

Tutor: Elena Rodríguez Rodríguez

ÍNDICE

1. Resumen.....	3
2. Introducción y antecedentes.....	3
2.1. Estructura de los carotenoides.....	3
2.2. Propiedades de los carotenoides	4
2.3. Funciones de los carotenoides	7
2.4. Contenido en alimentos de carotenoides.....	7
3. Objetivos	8
4. Metodología... ..	8
5. Resultados y Discusión.....	9
5.1 Extracción de carotenoides en alimentos.....	9
5.1.1. Pretratamiento de la muestra	
5.1.2. Extracción	
Consideraciones generales	
Solventes de extracción	
Métodos de extracción	
5.1.3. Saponificación	
6. Conclusión	17
7. Bibliografía.....	17

1. RESUMEN

Los carotenoides son compuestos bioactivos que están presentes en una amplia variedad de seres vivos (plantas, animales, hongos e incluso bacterias). Son unos compuestos muy importantes ya que van a actuar como precursores de la vitamina A (retinol), y además van a destacar por su importante actividad antioxidante. Debido a que no se pueden sintetizar en el organismo, hay que ingerirlos con la dieta, siendo la principal fuente los alimentos de origen vegetal (hortalizas y frutas). Por ello, el objetivo de este trabajo es revisar los métodos que se emplean para su correcta extracción, pues se trata de una etapa fundamental para poder conocer el contenido de estos compuestos en los alimentos que los contienen.

Palabras clave: carotenoides y métodos de extracción.

ABSTRACT

Carotenoids are bioactive compounds that are present in a wide variety of living things (plants, animals, fungi and even bacteria). They are very important compounds since they will act as precursors of vitamin A (retinol), and they will also stand out for their important antioxidant activity. Because they cannot be synthesized in the body, they must be ingested through the diet, the main source being foods of plant origin (vegetables and fruits). Therefore, the aim of this work is to review the methods used for their proper extraction, as this is a fundamental step to know the content of these compounds in foods that contain them.

Key words: carotenoids and extraction methods.

2. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

2.1 ESTRUCTURA DE LOS CAROTENOIDES

Desde el punto de vista químico, los carotenoides son tetraterpenos constituidos por unidades múltiples de isopreno. Podemos clasificarlos en carotenoides **cíclicos** (si tienen

anillos en su estructura) o **acíclicos** (no tienen anillos en su estructura). Atendiendo a su composición química podemos clasificarlos en **carotenos** (contienen átomos de carbono e hidrógeno), y **xantofilas** (contienen átomos de carbono, hidrógeno y oxígeno). En el caso de los carotenoides típicos de nuestra dieta, el oxígeno aparece en forma de grupo hidroxilo o grupo carbonilo (aldehído, cetona, éster, ácido). (1)

Hay carotenoides que no responden a la estructura básica constituida por 40 átomos de carbono, dentro de este grupo nos encontramos con carotenoides que tienen menos de 40 átomos de carbono en su estructura como los **apocarotenoides** (*crocetina* presente en el azafrán), y los **norcarotenoides**, (*peridinina*, pigmento típico de algas dinoflageladas), y carotenoides con más de 40 átomos de carbono en su estructura como por ejemplo la *decaprenoxantina*. (1)

Las xantofilas van a encontrarse en los alimentos vegetales libres o asociadas con ácidos grasos (**ésteres**), azúcares (**glucósidos**) (2, 3, 4,5) o proteínas (**carotenoproteínas**). (6)

Finalmente, atendiendo a su disposición espacial podemos encontrar los isómeros geométricos (**cis/trans** o, más correctamente, **Z/E**) de los carotenoides. (7, 8)

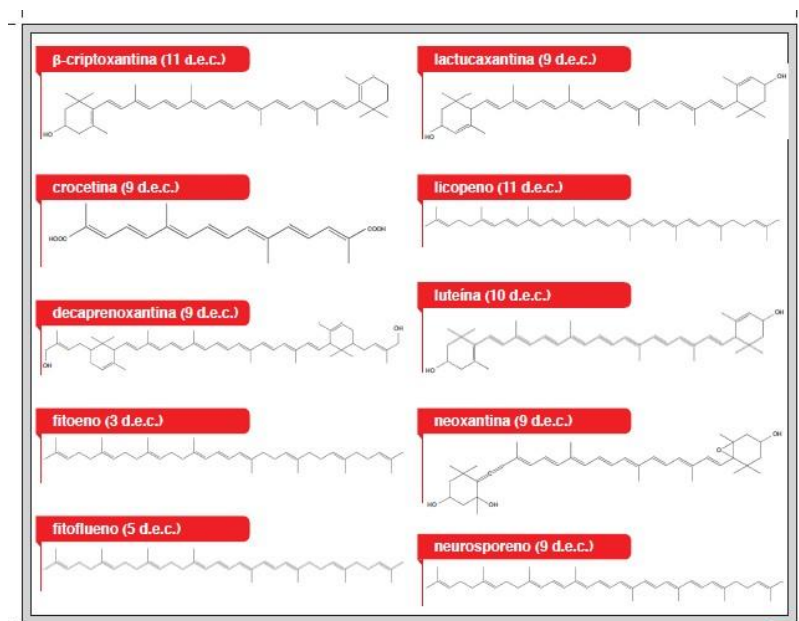


Figura 1. Estructura química de algunos carotenoides (1)

2.2 PROPIEDADES DE LOS CAROTENOIDES

2.2.1) Solubilidad

Debido a la gran cantidad de carotenoides que existen en la naturaleza, la solubilidad de los mismos va a ser muy variada. Para los carotenos lo más apropiado es usar disolventes que sean poco polares (hexano, éter de petróleo, diclorometano,..) ya que estos carotenoides están constituidos por carbono e hidrógeno, mientras que para las xantofilas lo más apropiado es usar disolventes polares (acetona, metanol, etanol, entre otros...). (9, 10)

2.2.2) Absorción de luz

Los carotenoides presentan muchos dobles enlaces conjugados en su estructura, este sistema de dobles enlaces va a ser el responsable de proporcionar a estas moléculas la capacidad de absorber luz. Dentro del espectro del ultravioleta visible estos compuestos van a absorber radiación a diferentes longitudes de onda en función de la cantidad de dobles conjugados y la presencia de grupos funcionales. En la siguiente tabla se puede observar que conforme aumenta el número de dobles enlaces conjugados los carotenoides van a absorber luz a longitudes de onda más altas. (11)

Carotenoides	Número de dobles enlaces conjugados (dobles enlaces conjugados en anillos)	Longitud de onda máxima en éter de petróleo (nm)
Fitoeno	3	276,286,297
Fitoflueno	5	331,348,367
Épsilon- caroteno	7	378,400,425
Neurosporeno	9	414,439,467
Licopeno	11	444,470,502
Gamma-caroteno	11(1)	437,462,494
Beta- caroteno	11(2)	425,449,476

Tabla 1. Efecto de la longitud del cromóforo en los máximos de absorción de carotenoides acíclicos

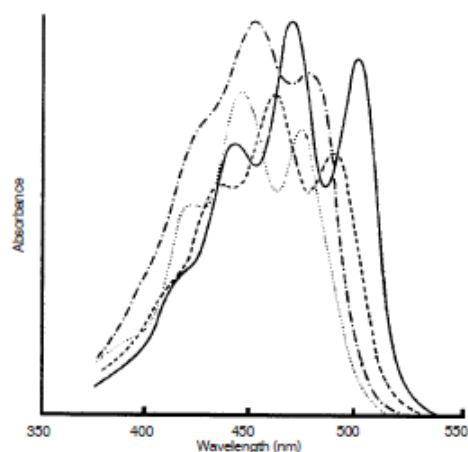


Figure 2. Visible absorption spectra of lycopene (—), γ -carotene (---), β -carotene (-.-.-), and α -carotene (....) in petroleum ether.

Figura 2: Comparacion de espectros de carotenoides acíclicos y carotenoides cíclicos (12)

Por otro lado, la presencia de grupos funcionales en la molécula también va a variar el espectro de absorción ya que si estos grupos funcionales forman parte del sistema de dobles enlaces conjugados la longitud del cromóforo va a aumentar y por lo tanto el espectro del carotenoide se desplazará hacia valores de longitud de onda todavía más altos. (13, 14).

2.2.3) Color

El color realmente no vamos a considerarlo como un factor a tener en cuenta a la hora de realizar el proceso de extracción. La información que nos puede proporcionar tiene que ver más con aspectos sensoriales, es decir, que va a influirnos a la hora de valorar el estado de un determinado producto. Un cambio de color del producto puede llevar a pensar que está en mal estado. (15)

2.2.4) Isomerización

Los carotenoides pueden presentarse como isómero geométricos E (trans) e isómeros Z (cis). La gran mayoría se encuentran en la naturaleza como isómero E, pero por acción de factores físicos y químicos (calor, luz, uso de ácidos,...) sufren una transformación espacial y se convierten en isómeros Z. (17)

2.2.5) Oxidación

Los carotenoides son muy susceptibles a la acción del oxígeno y se degradan con mucha facilidad en presencia de esta molécula, por este motivo es necesario trabajar en ambientes inertes para evitar posibles alteraciones en la estructura de los carotenoides que va a suponer una pérdida en el rendimiento de carotenoides. (17)

2.3 FUNCIONES DE LOS CAROTENOIDES

La función principal de los carotenoides en el organismo es que algunos de ellos (α -caroteno, β -caroteno y β -criptoxantina) actúan como precursores de vitamina A, vitamina esencial para prevenir problemas relacionados con la vista (ceguera nocturna), mejorar nuestra protección contra infecciones y proteger nuestra piel de los efectos nocivos de la radiación solar. Su deficiencia provoca enfermedades oculares como la xeroftalmia caracterizada por sequedad ocular y opacidad de la córnea, aumenta el riesgo a infecciones y aumenta el riesgo de enfermedades dermatológicas.

No todos los carotenoides tienen la misma capacidad para actuar como precursores de vitamina A, la estructura que presenten va a influir mucho en este aspecto. El organismo humano no puede sintetizar carotenoides en el organismo y es por ello que necesita incorporarlos en su dieta. Dentro del amplio grupo de alimentos que forman parte de la dieta, las frutas y las verduras las principales fuentes de este nutriente.

Los carotenos, además de su papel como provitamina A, también actúan como antioxidantes y anticancerígenos en el organismo, jugando un importante papel preventivo en algunas enfermedades degenerativas. (18)

2.4 CONTENIDO EN ALIMENTOS DE CAROTENOIDES

Los carotenoides son unos pigmentos que se encuentran en los cloroplastos y en los cromoplastos; estructuras fotosintéticas características de los alimentos de origen vegetal (frutas y verduras). Según la parte del producto que estemos analizando (semilla, piel o pulpa) el contenido de carotenoides va a verse afectado debido a que cada parte del fruto requiere de un tratamiento específico para que el rendimiento en la obtención de los carotenoides sea óptimo. En la Figura 3 se muestra aquellos alimentos que son mayoritarios en un carotenoide determinado.

Carotenoides mayoritarios	Fuente
Alfa-caroteno y beta-caroteno	Zanahoria (<i>Daucus carota</i>)
Licopeno	Tomate (<i>Lycopersicum.spp</i>)
Luteína/Zeaxantina	Alfalfa (<i>Medicago sativa</i>), maíz (<i>Zea mays</i>)
Violaxantina,beta-criptoxantina, luteína/zaexantina	Naranja (<i>Citrus sinensis</i>)
Astaxantina	Salmón (<i>Salmo.spp</i>), microalgas y levaduras
Cantaxantina	Crustáceos
Crocentina	Azafrán (<i>Crocus sativus</i>)

Figura 3.. Presencia de carotenoides en diferentes alimentos (11, 16)

El contenido de carotenoides de los alimentos pueden verse afectados por muchos factores, pudiendo clasificarlos en factores pre-cosecha y factores post-cosecha. Los factores pre-cosecha son todos aquellos relacionados con el cultivo; pudiendo ser factores externos al producto (condiciones climatológicas, prácticas de cultivo;...) o factores propios del producto (especie vegetal, estado de maduración,...)

Por otra parte tenemos los factores post-cosecha que engloba a todos los procesos que transcurren desde la recogida del producto hasta que pasa a manos del consumidor.

3. OBJETIVOS

Teniendo en cuenta las importantes funciones que los carotenoides realizan, y que no pueden ser sintetizados en el organismo, hay que introducirlos a través de la dieta, siendo la principal fuente las hortalizas y las frutas; por lo que el principal objetivo de este trabajo ha consistido en realizar una búsqueda bibliográfica para conocer los métodos de extracción de dichos compuestos en alimentos vegetales, pues es un proceso fundamental para poder conocer el contenido en estos alimentos.

4. METODOLOGÍA

Se ha realizado una revisión bibliográfica de artículos científicos de libre acceso publicados en la base de datos: ScienceDirect; y de libros disponibles en formato PDF. Para la búsqueda sistemática de la información se han empleado las palabras clave: ``carotenoids`` and ``methods of extraction``.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1) Extracción de carotenoides en alimentos

En la determinación de carotenoides en los alimentos se incluyen tres etapas: extracción, separación analítica y detección (identificación y/o cuantificación). En el presente trabajo se hará una revisión de la primera etapa de las tres.

5.1.1) Pretratamiento de la muestra

Previamente a la extracción de los carotenoides hay que someter las muestras a métodos físicos (cocción, congelación- descongelación, choque osmótico), químicos (uso de ácidos y bases, surfactantes,...) y biológicos con el objetivo de facilitar la extracción de los carotenoides de las matrices celulares en las que se encuentran. En función de la muestra que se vaya a tratar se llevará a cabo uno u otro procedimiento de los anteriormente mencionados para una correcta extracción de los carotenoides. Una correcta elección en esta fase del proceso de extracción nos va a permitir obtener un mayor o menor rendimiento de carotenoides ya que no todos estos métodos de tratamiento son igualmente de eficaces en todas las muestras. (19)

5.1.2) Extracción

CONSIDERACIONES GENERALES

Antes de iniciar el proceso de extracción hay que tener en cuenta una serie de aspectos relacionados con los carotenoides para que el rendimiento del proceso sea lo más alto posible.

Los carotenoides son unas moléculas que se encuentran dentro de una matriz celular protegidas contra los factores ambientales, el calor, la luz, el oxígeno,... van a alterar la estructura de estos compuestos dando como resultado a una baja eficacia del proceso de

extracción. Es por ello que hay que trabajar en unas condiciones apropiadas para que la integridad de los carotenoides no se vea comprometida. Realizar la extracción en el menor tiempo posible, trabajar con disolventes de gran pureza, usar recipientes especiales para evitar la degradación de los carotenoides y trabajar a bajas temperaturas son algunas de las medidas que se intentan aplicar para que la extracción se realice de forma exitosa. (19)

SOLVENTES DE EXTRACCIÓN

El disolvente o mezcla de disolventes que se van a utilizar para llevar a cabo el proceso de extracción se va a seleccionar teniendo en cuenta la solubilidad del compuesto a extraer. También tenemos que tener en cuenta el contenido de agua de la muestra, que influirá en el uso de un disolvente u otro. Si la muestra tiene un alto contenido acuoso, se empleará en primer lugar un disolvente que tenga afinidad con el agua para facilitar la extracción de los carotenoides de la estructura celular en la que se encuentran. Una vez sacados de la matriz, se empleará un disolvente u otro teniendo en cuenta la solubilidad de la molécula, empleando disolventes poco polares (hexano, éter de petróleo, diclorometano,...) para extraer carotenos, y disolventes polares (etanol, acetona, metanol,...) para extraer xantofilas (Tabla 2). Seleccionar el disolvente idóneo es una fase crítica que va a influir en el rendimiento final de la extracción. (19)

Disolvente	Polaridad	PE (°C)	Ventajas	Desventajas
AC	Polar	56	Penetra bien en matrices alimentarias. Facilita partición a un disolvente apolar. Barato. Disuelve muy bien carotenos y xantofilas.	
THF	Polaridad media	66	Disuelve muy bien carotenos y xantofilas.	Acumula peróxidos.
ED	Poco polar	35	Disuelve muy bien carotenos y xantofilas.	Acumula peróxidos. Riesgo de incendio.
DCM	Polar	40	Fácil evaporación.	Riesgo de incendio.
HX	No polar	69	Buen disolvente para carotenos.	Neurotóxico. No muy apropiado para alimentos ricos en xantofilas (hojas).
BC	No polar	80		Cancerígeno.
ME	Polar	65	Penetra muy bien en las matrices alimentarias.	
ET	Polar	79	Penetra muy bien en las matrices alimentarias. Poco riesgo para la salud.	
AE	Polaridad media	77		
CL	Poco polar	61	Disuelve muy bien el licopeno.	Posibles trazas de ácidos y etanol. Neurotóxico.
EP	No polar	35-60	Buen disolvente para carotenos. Equivalente al hexano.	
TL	No polar	111		

TABLA 2: Propiedades de disolventes comunes usados en la extracción de carotenoides (19)

MÉTODOS DE EXTRACCIÓN

1) Extracción líquida con maceración

El proceso de maceración no es más que un tipo de extracción sólido-líquido. Este tipo de extracción se fundamenta en el uso de un disolvente orgánico sobre una muestra sólida con el objetivo de obtener determinados compuestos que forman parte de su composición. Esta extracción se puede realizar en frío o en caliente; la principal diferencia entre un método y otro recae en la duración del proceso de extracción ya que conforme aumenta la temperatura el tiempo de extracción es menor debido a un aumento de la solubilidad de la muestra por el solvente. Los factores críticos que determinan la eficacia de la extracción por maceración son: la elección del disolvente, la temperatura de trabajo, la cantidad de disolvente empleada y el tiempo de extracción. (20)

2) Extracción Soxhlet

Este método de extracción (extracción sólido-líquido) tiene gran utilidad cuando la materia prima de la que partimos tiene un alto contenido en lípidos y triglicéridos. Estos compuestos de naturaleza hidrófoba son solubles en disolventes poco polares como pueden ser el hexano o éter de petróleo entre otros, por lo tanto cuando la materia prima entre en contacto con el disolvente va a arrastrar las sustancias grasas y con ellas los carotenoides.

El proceso de extracción es muy sencillo, para ello se precisa de una fuente de calor externa para que el disolvente se evapore; el disolvente evaporado asciende por el brazo del matraz y llega al refrigerante donde sufre una condensación por el cambio de la temperatura y desciende poco a poco en forma de gotas sobre la muestra con la que estamos trabajando. La extracción de la fase grasa se va a producir de forma gradual, por lo tanto según vayan cayendo las gotas de disolvente sobre la muestra se van a ir arrastrando pequeñas fracciones de grasa hasta que la extracción sea completa. Finalmente el extracto graso será sometido a una evaporación con el fin de eliminar el exceso de disolvente.

Los factores que van a influir en el proceso de extracción son: la naturaleza del alimento, su composición química y el tiempo de extracción (va a depender de la composición del alimento). (21)

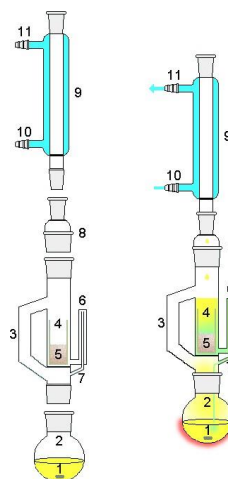


Figura 4: Equipo Soxhlet

1. Agitador, **2.** Balón, **3.** Brazo para ascenso del vapor, **4.** Cartucho de extracción o Soxhlet, **5.** Muestra, **6.** Entrada del sifón, **7.** Descarga del sifón, **8.** Adaptador, **9.** Refrigerante para reflujo, **10.** Entrada de agua de refrigeración, **11.** Salida de agua de refrigeración.

3) Extracción asistida por microondas

La extracción asistida por microondas consiste en aplicar ondas electromagnéticas de intensidad variable sobre la muestra en combinación con el disolvente de trabajo. En los estudios realizados se quiso encontrar un procedimiento de trabajo que permitiese obtener un rendimiento de carotenoides elevado y que las pérdidas por el exceso de calor y la isomerización de los carotenoides fueran mínimas. Para ello se llevó a cabo un estudio en el que se aplicaba durante un intervalo de tiempo ondas de intensidad elevada seguido de un periodo de descanso para luego continuar con ondas de intensidad reducida. A diferencia de la extracción Soxhlet en la extracción asistida por microondas no es necesario secar la muestra antes de iniciar el proceso. El tratamiento al que sometamos la muestra previa a la extracción va a influir en la eficacia de este proceso. Con este método de trabajo se consiguió reducir las pérdidas de carotenoides producidas por el exceso de temperatura.

(22)

4) Extracción asistida por ultrasonidos

Es un método de extracción en el que las ondas acústicas que se emplean tienen por misión romper las células de la muestra para que los compuestos de interés estén disponibles en el

medio de reacción y el disolvente pueda extraerlos con mayor facilidad. Todos los estudios que se han llevado a cabo tienen por finalidad optimizar las condiciones de trabajo para optimizar la extracción de los carotenoides. Además se realizaron estudios comparando diferentes disolventes y usando diferentes intensidades de ultrasonido para averiguar cuál era el método más apropiado para la muestra con la que se estaba trabajando. (20)

5) Extracción acelerada con disolventes

Es un método de extracción que requiere de unas condiciones de presión elevadas para que el proceso sea eficaz. Como ya hemos visto, los carotenoides pueden encontrarse en los alimentos libres o unidos a lípidos, proteínas y azúcares. Aplicando altas presiones conseguimos que los carotenoides que se encuentran unidos a proteínas se separen aumentando de esta forma el rendimiento del proceso ya que lo que interesa en el proceso de extracción es obtener los carotenoides que se encuentren libres para que su posterior análisis sea más eficaz. No es necesario aplicar altas temperaturas en este proceso evitando con ello la pérdida de carotenoides por degradación térmica (23)

6) Extracción con campo eléctrico pulsado y campo eléctrico moderado

Este método de extracción no requiere de una fuente de calor que acelere el proceso para que el tiempo de extracción se reduzca. El fundamento de este método se basa en el uso de corrientes eléctricas de intensidad moderada con el objetivo de alterar la permeabilidad de las células para que los carotenoides pueden extraerse con mayor rapidez y empleando bajas cantidades de disolvente. El aumento de la permeabilidad de la célula se rige por un fenómeno físico que se conoce como electroporación. Al aplicar una corriente eléctrica sobre la muestra a analizar se produce una alteración en la estructura de la célula que lleva a la formación de unos pequeños poros por los que el disolvente de extracción difundirá para que todos los carotenoides sean arrastrados y la muestra quede vacía de estos compuestos. (24).

7) Extracción con fluidos supercríticos

Lo primero que hay que saber para hablar sobre este método de extracción es preguntarnos qué es un fluido supercrítico. Un fluido supercrítico es una sustancia que se encuentra por

encima de su temperatura crítica; es decir; la temperatura en la que se produce el paso de líquido a vapor, y su presión crítica, que es aquella presión en la que se produce un cambio de gas a líquido. Por lo tanto los fluidos supercríticos no pueden ser considerados ni como un líquido ni como un gas, más bien se les considera como un estado intermedio entre ambos. (25)

Esta característica de ser considerado como un gas y un líquido va a ser lo que le proporcione un uso eficiente para la extracción ya que al comportarse como líquido va a permitir una correcta disolución de los carotenoides y al comportarse como gas el arrastre de los carotenoides solubilizados va a ser más sencillo. El disolvente más empleado en este proceso de extracción es el CO₂ supercrítico por tener las propiedades propias de todos los fluidos supercríticos y además su nula toxicidad. Este CO₂ supercrítico tiene otra ventaja muy importante, y es que es un disolvente de fácil recuperación (reciclable). Para recuperarlo lo único que hay que hacer es disminuir la presión a valores que se encuentren por debajo de la presión crítica para que el líquido pase a estado gaseoso y se pueda reutilizar en una extracción posterior. (20)

Las propiedades que presentan estas sustancias las hace aptas para que este proceso de extracción sea reconocido como un proceso ``verde``.

8) Extracción asistida por enzimas

Este proceso se fundamenta en el empleo de enzimas que alteren la estructura de la muestra para que la extracción sea más sencilla. Esta degradación por acción de enzimas se lleva a cabo antes de la extracción para que la extracción pueda realizarse con rapidez y facilidad. Todos los estudios llegaron a la conclusión de que el rendimiento de la extracción era más favorable para aquellas muestras que habían sido sometidas a la acción de enzimas en comparación con las muestras que no habían sido alteradas ya que al alterar la estructura de la célula la capacidad de difusión del disolvente iba a verse incrementada y con ello su capacidad para liberar carotenoides. Pero también hay que tener en cuenta la naturaleza de la muestra porque no es lo mismo trabajar con un producto que tenga una alta humedad comparándolo con otro que tenga una baja proporción de agua en su interior, por ello se elegirá un disolvente que sea miscible en agua en el caso de que el producto de partida tenga mucha humedad, y en el caso de que el producto tenga poca agua se elegirá un disolvente que tenga poca afinidad por el agua (26).

9) Extracción de carotenoides usando disolventes verdes

La mayoría de los disolventes que se emplean en los procesos de extracción son altamente inflamables, volátiles, tóxicos y por lo tanto perjudiciales para el medio ambiente. Por este motivo las industrias empezaron a promover el uso de disolventes procedentes de la biomasa y residuos petroquímicos no tóxicos y biodegradables (27). Dentro del grupo de disolventes verdes podemos hablar de aceites vegetales; como el aceite de girasol; y los llamados líquidos iónicos que no son inflamables y tampoco son volátiles. Estos líquidos iónicos son sales constituidas por aniones, como el metilsulfato, el bromuro, el cloruro, entre otros,... y cationes como el amonio o el imidazolio. A estos líquidos iónicos se les ve un futuro muy prometedor para ser los sustitutos de los disolventes orgánicos utilizados tradicionalmente en los procesos de extracción, pero a día de hoy se siguen empleando los disolventes orgánicos debido a que todavía faltan muchos estudios por realizar que respalden la seguridad y eficacia de estos compuestos. (28)

5.1.3) Saponificación

La saponificación es un proceso que tiene como finalidad aislar las xantofilas (carotenoides polares). Estos carotenoides tienen átomos de oxígeno en su estructura que pueden encontrarse libres o bien esterificados con ácidos grasos. En la naturaleza existe una amplia variedad de ácidos grasos, por lo tanto encontraremos una gran cantidad de xantofilas esterificadas. Esto va a suponer un inconveniente cuando con posterioridad queramos identificar todos los carotenoides contenidos en la muestra mediante métodos cromatográficos ya que obtendremos un espectro cromatográfico con un número elevado de picos, correspondiendo cada uno de ellos a uno de los carotenoides presentes en la muestra.

Para facilitar la interpretación del cromatograma previamente se realiza un proceso llamado saponificación con el fin de descomponer las xantofilas esterificadas, obteniendo por un lado la xantofila y por otra parte los ácidos grasos que estaban unidos a la molécula de la xantofila.

Para llevar a cabo este proceso de saponificación se va a emplear un disolvente de carácter básico (hidróxido de sodio o de potasio) para que la xantofila esterificada se separe dando

como productos agua y la xantofila libre en forma de sal. Al tener la xantofila libre de ácidos grasos la cromatografía se simplificará y la interpretación del cromatograma será mucho más sencilla. (19)

	VENTAJAS	DESVENTAJAS
Extracción por maceración	-Alto rendimiento de extracción - No se necesitan equipos sofisticados	- Se necesitan grandes cantidades de disolvente, los cuáles aumentan el coste del proceso
Extracción Soxhlet	-Método sencillo con alto rendimiento de carotenoides -No se necesitan equipos sofisticados	-Se necesitan grandes cantidades de disolvente. -Largos tiempos de extracción -Degradación térmica e isomerización de los carotenoides
Extracción asistida por microondas	-Método rápido, sencillo y económico	-Puede causar degradación térmica e isomerización de los carotenoides
Extracción asistida por ultrasonidos	-Método rápido, eficiente -No necesita fuente de calor.	-La eficiencia de la extracción puede verse alterada por desgaste del equipo -Se requiere pequeño tamaño de partícula
Extracción con líquido presurizado	-Rápido -Pequeñas cantidades de disolvente -Aplicable a escala de laboratorio	-No aplicable a grandes volúmenes
Extracción con campo eléctrico pulsado	-Alto rendimiento de la extracción -Proceso no térmico	-Equipamiento caro -La presencia de burbujas en la muestra puede causar problemas técnicos -Un cambio en las propiedades eléctricas de la muestra puede reducir el rendimiento
Extracción con fluidos supercríticos	-Uso de disolventes no inflamables, no tóxicos y reciclables -Extracción continua -Alta pureza -Útil para compuestos termolábiles	-Equipamiento caro -No aplicable en muestras con mucha humedad -Mala extracción de carotenoides polares

Extracción asistida por enzimas	-Extracción rápida y eficiente -Mínima cantidad de disolvente	-Alto coste de las enzimas
Extracción con disolventes verdes	-Uso de disolventes procedentes de recursos renovables	-Escasa información sobre seguridad y eficacia

6. CONCLUSIÓN

Los carotenoides son unas moléculas que se encuentran en pequeña cantidad en los alimentos, y dentro de todos los tipos de alimentos donde más se concentran son las frutas y las verduras. Una vez fuera de la estructura celular en la que se encuentran van a estar expuestos a los factores ambientales (luz, temperatura, oxígeno,...), por lo tanto cuando trabajemos con ellos hay que tener en cuenta una serie de consideraciones para que el rendimiento en el proceso de extracción sea el mejor posible. Con los métodos tradicionales de extracción, hoy en día se obtienen unos rendimientos que no son del todo favorables porque son procesos en los que hay que controlar muy de cerca la temperatura y la presión que empleemos ya que van a ser dos factores críticos que determinan la eficacia del proceso. Con la aparición de nuevos métodos de extracción (extracción asistida por ultrasonidos, extracción con fluidos supercríticos;...) lo que se ha conseguido es desarrollar modelos de trabajo que procuren trabajar a bajas temperaturas para reducir la degradación de los carotenoides y promover el uso de disolventes que no resulten tan nocivos para nuestra salud y que sean más respetuosos con el medio ambiente.

7. BIBLIOGRAFÍA

- 1) Britton, G., Liaaen-Jensen, S., Pfander, H. 2004. *Carotenoids Handbook*. Basilea: Birkhäuser.
- 2) Breithaupt, D.E. y Bamedi, A. 2002. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50: 7175-7181.
- 3) Hornero-Méndez, D. y Mínguez-Mosquera, M.I. 2000. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48: 1617-1622.

- 4) Murillo, E., Giuffrida, D., Menchaca, D., Dugo, P., Torre, G., Meléndez-Martínez, A.J. y Mondello, L. 2013. Food Chemistry, 140: 825-836.
- 5) Pott, I., Breithaupt, D.E. y Carle, R. 2003. Phytochemistry 64: 825-829.
- 6) Bhosale, P. y Bernstein, P.S. 2007. Archives of Biochemistry and Biophysics 458: 121-127.
- 7) Britton, G. 1995a. FASEB Journal 9: 1551-1558.
- 8) Weedon, B.C.L. y Moss, G.P. 1995. En G. Britton, S. Liaaen-Jensen y H. Pfander (eds.). Carotenoids. Volume 1A: Isolation and Analysis, pp. 27-70. Basilea: Birkhäuser.
- 9) Rodríguez-Amaya, D.B. 2001. *A Guide to Carotenoid Analysis in Foods*. Washington, D.C.: ILSI Press.
- 10) Schiedt, K. y Liaaen-Jensen, S. 1995. En G. Britton, S. Liaaen-Jensen y H. Pfander (eds.). Carotenoids. Volume 1A: Isolation y Analysis, pp. 81-108. Basilea: Birkhäuser.
- 11) Rodríguez- Amaya, D.B. 1997. *Carotenoids and Food Preparation: The Retention of Provitamin A Carotenoids in Prepared, Processed and Stored Foods*. Washington, D.C.: OMNI/USAID.
- 12) Britton G (1995) UV/visible spectroscopy. In Britton G, Liaaen-Jensen S, Pfander H (eds), Carotenoids: spectroscopy, vol 1B. Birkhäuser Verlag, Basel, pp 13-63.
- 13) Britton, G. 1995b. En G. Britton, S. Liaaen-Jensen y H. Pfander (eds.). *Carotenoids. Volume 1B: Spectroscopy*, pp. 13-62. Basilea: Birkhäuser.
- 14) Mínguez-Mosquera, M.I. 1997. *Clorofilas y Carotenoides en Tecnología de los Alimentos*. Sevilla: Secretariado de Publicaciones de la Universidad de Sevilla.
- 15) Moyano, M.J., Heredia, F.J. y Meléndez-Martínez, A.J. 2010. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety 9: 278-291.
- 16) Meléndez-Martínez AJ, Vicario IM, Heredi FJ. Estabilidad de los pigmentos carotenoides en los alimentos. Arch Lat Nutr. 2004; 54(2): 209-215.

- 17) Beauty-review.nl. (2020). [online] Disponible en: <http://beauty-review.nl/wp-content/uploads/2014/11/A-guide-to-carotenoid-analysis-in-foods.pdf> [Accessed 15 Ene. 2020].
- 18) Mínguez Mosquera M, Pérez Gálvez A, Hornero-Méndez D. Pigmentos carotenoides en frutas y vegetales: mucho más que simples “colorantes” naturales [Internet]. Hdl.handle.net. [cited 5 February 2020]. Available from: <http://hdl.handle.net/10261/5754>
- 19) Aguilar-Espinosa M, Alcalde M, Alonso G, Álvarez R, Angaman D, Arhazem O et al. Carotenoides en agroalimentación y salud [Internet]. Hdl.handle.net. [cited 19 December 2019]. Available from: <http://hdl.handle.net/10261/158244>
- 20) Redirecting [Internet]. Doi.org. [cited 15 December 2019]. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.07.099>
- 21) Mondragón M. SOXHLET, DEL INVENTOR AL MÉTODO [Internet]. Revista de divulgación Saber más UMSNH. [cited 24 January 2020]. Available from: <https://www.sabermas.umich.mx/archivo/articulos/244-numero-29/450-soxhlet-del-inventor-al-metodo.html>
- 22) Hiranvarachat, B., & Devahastin, S. (2014). Enhancement of microwave-assisted extraction via intermittent radiation: Extraction of carotenoids from carrot peels. Journal of Food Engineering, 126, 17–26. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.10.024>.
- 23) Strati, I. F., & Oreopoulou, V. (2011). Process optimisation for recovery of carotenoids from tomato waste. Food Chemistry, 129(3), 747–752. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.05.015>.
- 24) Luengo, E., Martínez, J. M., Coustets, M., Álvarez, I., Teissié, J., Rols, M.-P., & Raso, J. (2015). A Comparative Study on the Effects of Millisecond- and Microsecond-Pulsed Electric Field Treatments on the Permeabilization and Extraction of Pigments from *Chlorella vulgaris*. The Journal of Membrane Biology, 248(5), 883–891. <http://dx.doi.org/10.1007/s00232-015-9796-7>.
- 25) ¿Qué son los fluidos supercríticos? | Aprende Ciencia y Tecnología [Internet]. Aprende Ciencia y Tecnología. [cited 27 January 2020]. Available from: <https://aprendecienciaytecnologia.com/2018/03/14/que-son-los-fluidos-supercriticos/>

- 26) Strati, I. F., Gogou, E., & Oreopoulou, V. (2015). Enzyme and high pressure assisted extraction of carotenoids from tomato waste. Food and Bioproducts Processing, 94, 668–674. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fbp.2014.09.012>
- 27) Yara-Varón, E., Fabiano-Tixier, A. S., Balcells, M., Canela-Garayoa, R., Bily, A., & Chemat, F. (2016). Is it possible to substitute hexane with green solvents for extraction of carotenoids? A theoretical versus experimental solubility study, 6(33), 27750–27759
- 28) Desai, R. K., Streefland, M., Wijffels, R. H., & Eppink, M. H. M. (2016). Novel astaxanthin extraction from *Haematococcus pluvialis* using cell permeabilising ionic liquids. Green Chemistry, 18(5), 1261–1267. <http://dx.doi.org/10.1039/C5GC01301A>.

Este trabajo tiene una finalidad docente. La Facultad de Farmacia y el/la Tutor/a no se hacen responsables de la información contenida en el mismo.