



UNIVERSIDAD DE TALCA
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA DE AGRONOMÍA

Evaluación de métodos de extracción asistida por ultrasonido y microondas para la liberación de compuestos de interés desde pomasa de tomate deshidratada

MEMORIA DE TÍTULO

CRISTIAN EDUARDO REYES MELINAO

TALCA, 2021

CONSTANCIA

La Dirección del Sistema de Bibliotecas a través de su unidad de procesos técnicos certifica que el autor del siguiente trabajo de titulación ha firmado su autorización para la reproducción en forma total o parcial e ilimitada del mismo.



Talca, 2021

APROBACIÓN:



Profesor guía: Gabriela Del Carmen Cofré Bravo
Ing. Agrónomo – Doctora en Ciencias Agrarias.
Profesor Conferenciante
Escuela de Agronomía
Facultad de Ciencias Agrarias



Profesor co-guía: Anibal Andrés Concha Meyer
Ing. En Alimentos. PhD.
Profesor Asociado
Escuela de Ingeniería en Alimentos
Facultad de Ciencias Agrarias y Alimentarias
Universidad Austral de Chile



Profesor co-guía: Andrea Francisca Plaza Ramírez
Ing. De Ejecución Químico. MS. Dr.
Profesor Asociado
Centro de Estudios en Alimentos Procesados CEAP

Fecha de presentación de Memoria de Título:
10 de septiembre de 2021

AGRADECIMIENTOS

Primeramente, quiero agradecer a mí mismo por lograr terminar con éxito esto que alguna vez empecé y quise dejar inconcluso muchas veces. Quiero agradecer a mi familia por creer en mí, en especial a mi madre y mis abuelas quienes siempre me alentaron a estudiar y luchar por un futuro próspero para mí. A mis hermanos de corazón quienes me han apoyado siempre, en especial a mi hermano Edgar Brito quien ha sido desde un principio un pilar fundamental en este proceso. También me es imposible no agradecer a quienes marcaron mi paso por la universidad y que fueron mi alegría y de una u otra forma un gran apoyo para mí cuando lo necesité: mis compañeros y amigos Carlos Barrera, Francisca Cornejo, José Correa, Alixandra Moya y Claudia Saavedra. Gracias a La ing. agrónomo María José Bravo quien ha sido mi amiga desde la escuela y también fue mi guía en este viaje. A mi amigo Jaime Reveco quien desinteresadamente me dio una mano cuando no sabía que lo necesitaba. Quiero agradecer a mis profesores guía por su gran disposición, empatía y apoyo. Finalmente quiero agradecer a todos aquellos que no he nombrado y han formado parte de mi camino, a los que han dejado su huella en mí y yo en ellos, muchas gracias.

RESUMEN

En Chile, el proceso de tomate industrial para pasta tomate genera cerca de 18.000 toneladas de residuos, los cuales actualmente son desaprovechados. Distintos autores han reportado que la pomasa de tomate contiene una gran cantidad de compuestos antioxidantes con potenciales beneficios para la salud humana (carotenoides y compuestos fenólicos). Este antecedente sugiere que puede ser utilizada para extraer compuestos de interés para la elaboración de productos con un valor agregado.

El objetivo de este estudio fue evaluar los métodos de extracción asistida por ultrasonido (EAU) y microondas (EAM) para la liberación de compuestos antioxidantes desde la pomasa de tomate deshidratada.

Se realizó un ensayo multifactorial en el Centro de Estudio de Alimentos Procesados (CEAP), Talca, Chile, considerando dos métodos de extracción asistida (EAU y EAM); distintos tiempos de extracción (60 y 120 min para EAU y 60 min para EAM); tres relaciones de masa-volumen (1:10, 1:8, 1:5); cinco mezclas de solvente (agua, agua-etanol 5%, agua-etanol 10%, agua-etanol 15% y agua-etanol 20%). A las distintas muestras se les midió sólidos solubles totales (° Brix), capacidad antioxidante mediante la capacidad de absorción de radicales de oxígeno (ORAC) (μmol equivalentes Trolox/g) y fenoles totales (mg EAG/g).

El tratamiento que obtuvo mayor actividad antioxidante fue 1:10 agua-etanol 20% EAM 60 min, alcanzando una media de 983,68 μmol equivalentes Trolox/g. La mejor tecnología de extracción fue EAM para todas las variables de respuesta. Se observó que la cantidad de fenoles totales presentes en la muestra es afectada por el tiempo de extracción en EAU.

EAU y EAM son métodos eficientes para la extracción de compuestos antioxidantes desde pomasa de tomate deshidratada y su eficiencia es condicionada por distintos parámetros abordados en este estudio como también otros no considerados que necesitan ser abordados en investigaciones futuras.

ABSTRACT

In Chile, the industrial tomato process to obtain tomato paste produces about 18.000 tons of by-products every year which are disposed unused as waste. Tomato pomace is a by-product that contains large amounts of antioxidant compounds (carotenoids and phenolic compounds) and its potential human health benefits have been reported by several authors. This precedent suggests that antioxidant compounds could be extracted from tomato waste to produce added-value products.

The main aim of this study was to evaluate the effect of ultrasound assisted-extraction (UAE) and microwave assisted-extraction (MAE) to obtain antioxidant compounds from dried tomato pomace.

A multifactorial assay was conducted in Centro de Estudios en Alimentos Procesados (CEAP), Talca, Chile, considering: two assisted-extraction methods (UAE and MAE); different extraction time (60 and 120 min for UAE and 60 min for MAE); three weight-volume ratio (1:10, 1:8, 1:5); and five solvent mixtures (water, water-ethanol 5%, water-ethanol 10%, water-ethanol 15%, water-ethanol 20%). Samples were analyzed measuring total soluble solids ($^{\circ}$ Brix), antioxidant capacity through oxygen radical absorbance capacity (ORAC) ($\mu\text{mol Trolox equivalents/g}$) and total phenolic content (mg GAE/g). The highest antioxidant activity was obtained by 1/10 water-ethanol 20% MAE 60 min samples, reaching a mean of 983,68 $\mu\text{mol Trolox equivalents/g}$. The best extraction technology was MAE, performing the highest value for each respond variable. Also, it was observed that phenolic compounds present in the sample were affected by the extraction time for UAE.

UAE and MAE are efficient extraction methods for antioxidant compounds from dry-based tomato pomace and their efficiency is conditioned by several parameters aborded in this study and as well others not considered that needs to be addressed in future investigations.

ÍNDICE

| | Página |
|--|---------------|
| I. INTRODUCCIÓN | 1 |
| 1.2 Objetivo general | 2 |
| 1.3 Objetivos específicos | 2 |
| II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA | 4 |
| 2.1 El cultivo de tomate | 4 |
| 2.2 Tomate industrial y producción mundial | 4 |
| 2.3 Producción en Chile | 4 |
| 2.4 Tomasa | 5 |
| 2.5 Composición y aprovechamiento..... | 5 |
| 2.6 Métodos de extracción | 6 |
| 2.6 Extracción asistida por ultrasonido (EAU) | 6 |
| 2.7 Extracción asistida por microondas (EAM) | 7 |
| III. MATERIALES Y MÉTODOS | 9 |
| 3.1 Ubicación del experimento | 9 |
| 3.2 Diseño..... | 9 |
| 3.3 Reactivos | 9 |
| 3.4 Preparación de las muestras..... | 9 |
| 3.5 Extracción asistida por ultrasonido (EAU) | 10 |
| 3.6 Extracción Asistida por Microondas (EAM)..... | 10 |
| 3.7 Preparación de muestras para cuantificación | 10 |
| 3.8 Determinación de sólidos solubles totales..... | 11 |
| 3.9 Determinación de fenoles totales | 11 |
| 3.10 Determinación de capacidad antioxidante por método ORAC | 12 |

| | | |
|--------------------------------------|-----------------------------------|----|
| 3.11 | Análisis estadístico..... | 14 |
| IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN..... | | 15 |
| 4.1 | ORAC..... | 16 |
| 4.2 | Fenoles totales..... | 18 |
| 4.3 | Sólidos solubles | 19 |
| 4.4 | Otros factores no estudiados..... | 20 |
| V. CONCLUSIONES..... | | 22 |
| VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS | | 23 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | | Página |
|------------|--|---------------|
| Figura 3.1 | Esquema de distribución de tratamientos en placa para ORAC a muestras de estudio | 16 |
| Figura 4.1 | Capacidad antioxidante de extractos de tomasa asistidos por ultrasonido y microondas | 19 |
| Figura 4.2 | Contenido de fenoles totales de extractos de tomasa asistidos por ultrasonido y microondas | 22 |
| Figura 4.3 | Sólidos solubles totales de extractos de tomasa asistidos por ultrasonido y microondas | 23 |

ÍNDICE DE CUADROS

| | Página |
|--|---------------|
| Cuadro 2.1 Superficie de siembra de tomate industrial en Chile para el año 2020 | 8 |
| Cuadro 3.1 Variables y respectivos niveles utilizados en ensayo experimental | 11 |
| Cuadro 3.2 Diluciones de muestra para ORAC hidrofílico | 15 |
| Cuadro 3.3 Diluciones de estándar Trolox | 16 |
| Cuadro 4.1 Efecto de relación de fases, solvente y tecnología de extracción sobre la capacidad antioxidante, fenoles totales y solidos solubles totales de pomasa de tomate deshidratada | 18 |
| Cuadro 4.2 Constantes físicas y de disipación para agua y etanol en EAM (Jassie <i>et al.</i> , 1995) | 21 |

I. INTRODUCCIÓN

En la actualidad, el tomate (*Solanum lycopersicum* L.) presenta una producción mundial de 160 millones de toneladas al año, siendo tres veces más que la producción de papa y seis veces más que la de arroz (ODEPA, 2018). Del total de dicha producción cerca del 25% se destina a la industria, y de esta fracción, 70% se destina a pasta de tomates y el resto a otras conservas, como salsas, jugos y deshidratados (ODEPA, 2013).

Durante el procesamiento del tomate industrial para la elaboración de pasta se genera un subproducto conocido como pomasa de tomate tomasa, este representa al menos el 4% del peso de la fruta y que corresponde a la piel y semillas (Del Valle *et al.*, 2006). En Chile los volúmenes procesados y exportados de tomate industrial para pasta en la temporada 2020 fueron de aproximadamente 152 mil toneladas (ODEPA, 2021), generándose al menos cerca de 6 mil toneladas del subproducto industrial del proceso de tomate.

La pomasa de tomate actualmente presenta una utilidad muy reducida, ya que es vendida a bajo precio o entregada sin costo a productores de ganado para consumo animal (Albanese *et al.*, 2014). Adicionalmente, el residuo que no es consumido por los animales causa contaminación del terreno agrícola ya que muchas veces no se cuenta con depósitos específicos para su eliminación.

De acuerdo con Palomo y colaboradores (2019), la pomasa de tomate fresca está constituida por piel y pulpa (78%) además de semillas trituradas (22%); siendo una buena fuente de flavonoides, carotenoides y nucleósidos, los cuales han demostrado beneficios para la salud humana: uno de ellos es la reducción de la agregación plaquetaria en la sangre. Estas cualidades presentes en los componentes de la pomasa de tomate y su potencial beneficio para la salud humana sugieren el análisis de la viabilidad económica de extracción de compuestos bioactivos de interés y su uso en nuevos productos alimenticios con valor agregado como una real alternativa de aplicación para este subproducto.

Técnicas convencionales de extracción de compuestos desde material vegetal como maceración, infusión, sólido-líquido, requieren un largo tiempo de procesamiento e involucran muchas veces un gran número de solventes tóxicos (Panda, 2019).

Defectos de las tecnologías de extracción tradicionales han forzado a la industria química y alimenticia a buscar nuevos métodos de extracción que en su gran mayoría usan menos cantidad

de solvente y energía, como la, extracción de fluido supercrítica, extracción por ultrasonido, ultrafiltración, destilación flash, procesos de presión controlada, extracción de agua subcrítica, extracción asistida por ultrasonido y extracción asistida por microondas (Chemat, Zill-e-Huma, & Khan, 2011)

La extracción asistida por ultrasonido (EAU) tiene su principio en la propagación de ondas de ultrasonido a través del medio, lo que genera rompimiento de células por cavitación permitiendo una mejor penetración de solventes en materiales celulares y reduciendo la duración del proceso. El uso de ultrasonido ofrece ventajas sustanciales sobre métodos convencionales de extracción, debido a su capacidad de mejorar la penetración de solventes en el material celular; esto mejora la liberación y difusión de este, además de reducir la duración del proceso (Dumitrash *et al.*, 2016).

La extracción asistida por microondas (EAM) tiene su principio en la irradiación de ondas microondas las que causan el movimiento de las moléculas por migración de iones y rotación de dipolos que contribuyen a un incremento de la temperatura lo que facilita la difusión de compuestos desde la matriz al solvente. Esta tecnología puede reducir el tiempo de extracción y la cantidad de solvente utilizado, donde la agitación de partículas contribuye a un incremento de la temperatura lo que facilita la difusión de compuestos desde la matriz al disolvente (Quiñones, 2008).

El presente estudio evaluó los métodos de extracción asistida EAU y EAM; y su eficacia en la extracción de compuestos fenólicos. A continuación, se plantea la hipótesis y objetivos:

1.1 Hipótesis

El tratamiento de extracción asistida por ultrasonido y microondas aumenta la extracción de los compuestos antioxidantes desde la pomasa de tomate deshidratada.

1.2 Objetivo general

Evaluar métodos de extracción hidro-alcohólicas asistida por ultrasonido y microondas para la liberación de compuestos de interés desde la pomasa de tomate deshidratada.

1.3 Objetivos específicos

Determinar cuál tecnología de extracción asistida es la más eficiente para la extracción de antioxidantes, basándose en los resultados del método ORAC.

Determinar las mejores condiciones para la liberación de compuestos antioxidantes desde pomasa de tomata deshidratada e indicar la mejor combinación de niveles de tecnología de extracción, relación masa-volumen y solvente.

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 El cultivo de tomate

El tomate (*Solanum lycopersicum*) pertenece a la familia Solanaceae y es una planta herbácea anual o bianual, de origen centro y sudamericano. El fruto es una baya ligeramente ácida, que mide 1 a 2 cm en especies silvestres y hasta 10 cm de diámetro en variedades cultivadas; es de color rojo cuando está en estado maduro, debido a la presencia de los pigmentos licopeno y caroteno (INIA, 2017). Este fruto es de gran importancia agronómica, ya que es un cultivo cosmopolita; se produce y consume en todo el mundo tanto para consumo fresco como procesado. En este último caso, como salsa, jugo/zumo, puré, deshidratado, enlatado o en conservas (ODEPA, 2018).

2.2 Tomate industrial y producción mundial

La producción de tomate fresco alcanza a 160 millones de toneladas a nivel mundial, comparativamente, se cultiva tres veces más tomates que papas y seis veces más que arroz en todo el mundo (FAO, 2016). De ello, cerca de un 25% de la producción está destinada a la industria procesadora (CEAP, 2018). Según el Consejo Mundial de Tomate Industrial (WPTC), para el año 2020 la producción mundial de tomate industrial alcanzó un total de 38.402.000 toneladas y se estima un alza en 2,2% en la producción mundial para el año 2021 (WPTC, 2021).

El 91% de la producción de tomate se concentra en el hemisferio norte, donde el producto es procesado entre los meses de julio y diciembre; mientras el hemisferio sur procesa el 9% del total en los meses de enero y junio (ODEPA, 2018). Los diez países más importantes en el rubro concentran el 84% de la producción mundial, siendo Estados Unidos (California), China, Italia y España los países que lideran la producción (ODEPA, 2013; WPTC, 2021).

2.3 Producción en Chile

En el año 2020, Chile produjo 907.000 toneladas de tomate (WPTC, 2021), lo que representa el 2,4% de la producción global. Entre la temporada 2019/20 y la 2020/21 la superficie de tomate aumento en 1.823 hectáreas más de tomate industrial, recuperando parte de la disminución de casi 4 mil hectáreas provocadas durante la temporada anterior (ODEPA, 2021).

Cuadro 2.1. Superficie de siembra de tomate industrial en Chile para el año 2020 (ODEPA, 2021).

| Región | Superficie (ha) |
|---------------------|------------------------|
| Región de O'Higgins | 3.855,00 |
| Región del Maule | 3.719,00 |
| Región de Ñuble | 199,00 |

De acuerdo con el cuadro 2.1, la Regiones de O'Higgins, del Maule y de Ñuble concentran el total de producción de tomate industrial en el país. Solo la Región del Maule concentra cerca del 48% de la producción nacional de tomate industrial. De los grandes volúmenes de tomate que se procesan anualmente, se generan cerca de 18 mil toneladas del subproducto industrial del proceso de tomate (CEAP, 2018).

En la actualidad este subproducto es visto como un desecho por parte de las empresas productoras de pasta de tomate. Debido a esto, su utilidad económica es muy reducida por lo que es vendida a muy bajo precio (CLP \$6/kg) o donada para consumo animal. Adicionalmente, el residuo no consumido por los animales termina descomponiéndose en el suelo causando contaminación del terreno agrícola ya que no existen depósitos específicos para su eliminación (CEAP, 2018).

2.4 Tomasa

Durante el procesamiento del tomate industrial, el mayor residuo generado es la pomasa de tomate o tomasa; es un residuo agroindustrial sólido que corresponde a la piel y semilla del tomate junto a una pequeña fracción de pulpa (Palomo *et al.*, 2019). La cantidad de tomasa producida puede variar dependiendo de la planta procesadora, debido a las diferentes características de la materia prima y condiciones del procesado, algunos autores han reportado de un 1,5% hasta un 5% del peso inicial de tomate puede corresponder a este desperdicio (Knoblich *et al.*, 2005; Del Valle *et al.*, 2006; Ruiz Celma *et al.*, 2009; Silva *et al.*, 2018).

2.5 Composición y aprovechamiento

De acuerdo con Del Valle (2016), la tomasa deshidratada contiene 9,0% de fibra neta disponible (FND); 25,7% azúcares totales; 19,3% proteína; 7,6% pectinas; 5,9% grasa total y 3,9 % de contenido mineral. es abundante en nutrientes, pudiendo ser usada como una fuente potencial de fibra, proteína y grasas (Saini, 2018). La pomasa de tomate deshidratada tiene un alto contenido de compuestos antioxidantes benéficos para la salud humana, siendo

principalmente carotenoides (aproximadamente 950 mg/kg), especialmente licopeno, luteína y β -caroteno, y compuestos fenólicos como quercitina y kaempferol (Knoblich *et al.*, 2005; Nawal *et al.*, 2008).

Las grandes cantidades de desecho de la industrial de la pasta de tomate combinadas con las potenciales características benéficas presentes en la tomasa justifican el actual interés de los investigadores y empresas en la extracción de carotenoides desde la pomasa de tomate, específicamente en zonas geográficas donde se concentra esta agroindustria. Además, el aprovechamiento de este subproducto puede suponer un ingreso extra para la industria del tomate, y al mismo tiempo reducir el problema de depósitos de los desperdicios (CEAP, 2018; Ruiz Celma *et al.*, 2012).

2.6 Métodos de extracción

La extracción de compuestos bioactivos puede realizarse con extracción sólido-líquido, presurizada, extracción fluida, extracción fluida supercrítica extracción de campo de pulsos eléctricos, extracción asistida por enzimas, extracción asistida por ultrasonido y extracción asistida por microondas (Wijngaard, 2012). Los últimos dos mencionados presentan ventaja sobre métodos convencionales como la maceración, puesto que estos implican en muchos casos el uso de solventes tóxicos y un largo tiempo de procesamiento, mientras que los métodos de extracción asistida por ultrasonido y por microondas no presentan esta limitante (Panda, 2019).

2.6 Extracción asistida por ultrasonido (EAU)

La EAU es una tecnología ampliamente estudiada que ha despertado gran interés en los últimos años. A nivel de laboratorio se emplea barras de ultrasonido o baño de ultrasonido. La EAU ofrece ventajas substanciales sobre métodos de extracción convencional en comparación a métodos tradicionales de extracción, ya que la propagación de ondas de ultrasonido crea rompimiento de material celular por el fenómeno de cavitación, lo que genera una mejor penetración de solventes en materiales celulares y reduce la duración del proceso (Dumitreash *et al.*, 2016; Vinatoru, *et al.*, 2017). En efecto, la tecnología de extracción asistida por ultrasonido puede mejorar potencialmente la extracción de componentes tales como polifenoles, antocianinas, compuestos aromáticos, polisacáridos, aceites y compuestos funcionales cuando se usa como pretratamiento en una unidad de proceso (Vilkhu *et al.*, 2008).

Ahmadi y colaboradores (2014) investigaron la extracción de aceite desde semillas de tomate comparando el método de extracción asistida por ultrasonido y percolación, demostrando que EAU es una efectiva y rápida técnica de extracción de aceite en comparación al método de percolación.

Grassino y colaboradores (2016), compararon 2 métodos de extracción para la obtención de pectinas desde pomasa de tomate: extracción tradicional (bajo reflujo) y extracción asistida por ultrasonido a 37 kHz, ambos a 60 y 80 ° C. La pectina obtenida fue analizada comparando rendimiento, propiedades químicas y estructura. De los 2 métodos, la extracción tradicional a 60° C fue la que obtuvo mejor rendimiento, pero la extracción asistida por ultrasonido durante 15 min a 37 kHz produjo pectinas de mejor calidad. Mientras que el rendimiento de extracción obtenido a 80° C con extracción tradicional por 24 h fue similar a 15 min de extracción asistida por ultrasonido; concluyendo que EAU puede disminuir significativamente el tiempo de extracción en comparación a la extracción tradicional.

Kumcuoglu y colaboradores (2014), investigaron la EAU de licopeno desde residuos de tomate, concluyendo que alrededor del 80% de licopeno fue extraído en 10 min mientras que con extracción convencional tardó al menos 20 min. La comparación de estos dos métodos mostró que EAU requiere un menor tiempo y menor cantidad de solvente que la extracción convencional a menor temperatura, siendo más eficiente para la extracción de licopeno.

2.7 Extracción asistida por microondas (EAM)

La EAM se realiza mediante hornos de microondas donde es introducida la muestra hidratada. De acuerdo con Quiñones (2008), la muestra es sometida a la irradiación de ondas microondas causando el movimiento de las moléculas por migración de iones y rotación de dipolos que contribuyen al incremento de la temperatura, facilitando la difusión de compuestos desde la matriz al disolvente.

Elfakir y colaboradores (2012), realizaron un estudio comparativo de extracción de antioxidantes desde pomasa de distintas variedades de manzanas usando diferentes métodos de extracción: maceración, extracción líquida presurizada, EAU y EAM con diferentes solventes, demostrando que EAM con etanol era el mejor tratamiento para la extracción de antioxidantes.

El-Malah y colaboradores (2014), compararon los métodos de EAU y EAM en tomate egipcio con el fin de encontrar el mejor rendimiento de extracción y de actividad de antioxidantes. Concluyeron que EAU y EAM eran más eficientes que los métodos de extracción convencional

no sólo en cuanto al rendimiento de extracción para el solvente, sino también en la actividad de antioxidantes obtenida.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Ubicación del experimento

El estudio fue realizado en laboratorio del Centro de Estudios en Alimentos Procesados (CEAP) ubicado en la Universidad de Talca, campus Talca, Región del Maule, Chile.

3.2 Diseño

En la presente investigación, se trabajó con un diseño factorial considerando dos métodos de extracción asistida, 3 relaciones de fase masa-volumen de solvente, 5 mezclas de solventes distintos (agua con distinto porcentaje de etanol). Para EAU la variable Tiempo se evaluó en dos niveles: 60 y 120 min; mientras que EAM contó con un solo nivel: 60 min, con un total de 45 tratamientos.

Cuadro 3.1. Variables y respectivos niveles utilizados en ensayo experimental.

| VARIABLES | Tecnología de extracción | Tiempo | Relación masa-volumen | Solvente |
|------------------|---|---------------|------------------------------|-----------------|
| NIVELES | Extracción Asistida por Ultrasonido EAU | 60 min | 1:10 1:8 1:5 | Agua |
| | | 120 min | | Agua 5% etanol |
| | Extracción Asistida por Microondas EAM | 60 min | | Agua 10% etanol |
| | | | | Agua 15% etanol |
| | | | | Agua 20% etanol |

Las variables de respuesta a evaluar fueron: sólidos solubles totales (°Brix), ORAC (μmol equivalentes Trolox/g) y fenoles totales (mg EAG/g).

3.3 Reactivos

Los reactivos utilizados fueron: sal de fluoresceína sódica (Sigma-Aldrich, E.E. U.U.), di-potasio hidrogenofosfato (Emsure, Alemania), carbonato de sodio (Emsure, Alemania), ácido gálico monohidrato (Sigma-Aldrich, E.E. U.U.). Todos los reactivos utilizados fueron de grado analítico.

3.4 Preparación de las muestras

Para esta investigación se utilizó tomasa de la temporada 2018 proveniente de la empresa Agrozzi, planta Tenó. Las muestras utilizadas fueron obtenidas al final del proceso de pulpeado y tamizado de la línea de proceso para la obtención de pasta de tomate. Una vez obtenida la muestra, fue trasladada en condiciones de asepsia en contenedores hasta los laboratorios de CEAP para ser secada durante dos días mediante calor a 60 °C. Finalmente, las muestras fueron trituradas con molinillo martillo y juguera (Oster 10-Speed Blender, China). La tomasa deshidratada alcanzó un tamaño aproximado de 425 µm.

3.5 Extracción asistida por ultrasonido (EAU)

En balanza (Kern ABT 320-4NM, Alemania), sobre un pesa-sales se pesó tomasa deshidratada, luego se dispuso en un vaso precipitado de 250 mL. Se utilizaron distintas relaciones de fase: 1:10, 1:8 y 1:5. Las muestras fueron hidratadas con agua calidad miliQ y etanol a distintas concentraciones: 5%, 10%, 15% y 20% V/V. Se utilizó una barra de ultrasonido (QSonica Q125, EE. UU.), a 50% de amplitud (10 kHz) en 2 tiempos de sonicado: 60 min y 120 min a temperatura ambiente (20 °C). Se evaluó temperatura cada 5 min.

3.6 Extracción asistida por microondas (EAM)

Se pesó tomasa deshidratada en balanza (ABT 320-4NM, Kern Alemania). Luego se dispuso en un vaso precipitado de 250mL. Se utilizaron distintas relaciones solvente-soluto: 1:5, 1:8, 1:10. Las muestras fueron hidratadas con agua calidad miliQ y etanol a distintas concentraciones: agua, agua 5% etanol, agua 10% etanol, agua 15% etanol y agua 20% etanol. Se utilizó un microondas (WMW606ADWC Whirlpool, China) de 1.200 W de potencia. El tiempo de extracción fue de 10 min a potencia 1, equivalente al 10% (120 W). Se observó la temperatura al inicio y al término del proceso.

3.7 Preparación de muestras para cuantificación

Las muestras obtenidas en los procesos de extracción asistida por microondas y ultrasonido fueron centrifugadas tubos cónicos de 50 mL en centrífuga (K2015R Centurion Scientific, Reino Unido) a 3.500 rpm por 10 min. Posteriormente se separó el sobrenadante con filtros de células Corning Falcon de 100, 70, y 40 µm respectivamente. Las muestras se llevaron a congelador a temperatura -18 °C para su posterior análisis.

3.8 Determinación de sólidos solubles totales

El principio de medición de ° Brix se basa en la refracción de la luz creada por la naturaleza y la concentración de los solutos (Vera, 2016). El porcentaje de sólidos solubles presente en el jugo de un fruto se puede cuantificar en ° Brix. Para la determinación de sólidos solubles se utilizó refractómetro digital (Hanna Instruments HI 96801, Italia). Sobre el refractómetro calibrado y a temperatura ambiente (20 °C), se depositó 0,5 mL de sobrenadante filtrado y se leyó. El procedimiento de lectura se realizó por triplicado.

3.9 Determinación de fenoles totales

El contenido de fenoles totales se determinó por el método de Folin-Ciocalteu. Este método cuantifica el poder reductor de los compuestos fenólicos sobre el reactivo Folin-Ciocalteu, a través de la formación de un complejo azul que se lee a 750nm (Ahmad-Qasem *et al.*, 2013).

La metodología utilizada se basa en OIV-MA-AS2-10, Compendium of International Methods of Analysis – OIV Folin-Ciocalteu Index, edición 2019.

3.9.1 Preparación de solución de carbonato de sodio 20 % p/v

Se disolvieron 20 g de carbonato de sodio en 80 mL de agua MiliQ hirviendo. Se dejó enfriar a temperatura ambiente por 24 h. Se filtró y aforó con agua MiliQ en matraz aforado de 100 mL.

3.9.2 Curva de calibración

Para preparar el patrón primario de ácido gálico 5 g/L, se pesaron 500 mg de ácido gálico y se diluyó en 10 mL de etanol. Se aforó con agua MiliQ en matraz aforado de 100 mL.

La curva de calibración fue preparada con el patrón primario de ácido gálico 5 g/L en distintas concentraciones.

3.9.3 Procedimiento y lectura

En matraz de 10 mL se agregaron los reactivos en el siguiente orden: 250 µL de muestra, patrón o agua en el caso del blanco; 5 ml de agua MiliQ; 500 µL de reactivo de Folin; 2 ml de solución carbonato de sodio p/v. Se aforó con agua MiliQ, se agitó y posteriormente se almacenó por 30 minutos en oscuridad a temperatura ambiente. Finalmente se midió absorbancia en espectrofotómetro (Spectro UV-11, MCR, China) a 750 nm.

3.10 Determinación de capacidad antioxidante por método ORAC

De acuerdo con Zuleta *et al.*, (2016), el método ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) consiste en la medición de la pérdida de fluorescencia de una proteína como resultado del deterioro en su conformación cuando esta sufre daño oxidativo causado por una fuente de radicales peróxido (ROO). Es muy utilizado para determinar la capacidad antioxidante de los alimentos y productos naturales.

Se siguió el procedimiento indicado en el manual Metodología para determinación de actividad antioxidante (ORAC) en alimentos (CEAP, 2019).

Para el análisis de capacidad antioxidante mediante ORAC se empleó un lector de microplato (Synergy HTX Multi-Mode Reader, Biotek, Estados Unidos). Este instrumento es capaz de evaluar absorbancia de UV-Vis, fluorescencia y luminiscencia. Para la medición se utilizaron placas negras con 96 pocillos permitiendo analizar tres muestras por placa.

3.10.1 Preparación de muestras

Consistió en la reparación de muestras para ORAC hidrofílico. Primeramente, la muestra líquida es descongelada a temperatura ambiente. Una vez lista se procedió a realizar la dilución por cada muestra en conjunto con solución buffer de trabajo (solución D) (75mM) (**Cuadro 3.2**). Las diluciones fueron realizadas por triplicado.

Cuadro 3.2. Diluciones de muestra par ORAC hidrofílico.

| Dilución | Volumen deseado | Volumen de muestra |
|-----------------|------------------------|-----------------------------------|
| 1:40 | 5 mL | 122 μ L + 4,878 mL solución D |
| 1:80 | 5 mL | 62 μ L + 4,938 mL solución D |
| 1:160 | 5 mL | 122 μ L + 4.969 mL solución D |
| 1:320 | 5 mL | 122 μ L + 4,984 mL solución D |

Para preparar la muestra control, se pesaron 0,47 g de ácido gálico y se aforó en matraz de 100 mL con agua destilada.

3.10.2 Preparación de estándar Trolox

Se descongeló el estándar de Trolox a temperatura ambiente y posteriormente se diluyó en distintas concentraciones de acuerdo con el **Cuadro 3.3**. Cada dilución se hizo por triplicado.

Cuadro 3.3. Diluciones de estándar Trolox.

| Dilución | Volumen deseado | Volumen de muestra |
|----------|-----------------|------------------------------|
| 6,25 | 5 mL | 0,31 mL + 4,69 mL solución D |
| 12,5 | 5 mL | 0,63 mL + 4,37 mL solución D |
| 25 | 5 mL | 1,25 mL + 3,75 mL solución D |
| 50 | 5 mL | 2,5 mL + 2,5 mL solución D |
| 100 | 5 mL | 0 mL + 5 mL solución D |

3.10.3 Preparación placa y layout

Se colocó 150 μ L de solución de fluoresceína de trabajo en cada pocillo de la placa, 25 μ L de buffer diluido, standard, control y muestra, luego se adicionaron a cada pocillo correspondientemente. Posteriormente la placa se incubó en el lector de microplato a 37 °C por 30 min. A continuación, se adicionaron 25 μ L de solución AAPH en cada pocillo, obteniendo un volumen final de 200 μ L. La lectura y registro de cada placa se hizo durante una hora utilizando el software KC4 TM (BioTek Instruments, Wisnooki, Vermont, EE. UU.). La distribución de tratamientos se presenta a continuación en la **Figura 3.2**.

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|---|---|---------------|---------------|--------------|---------------|----------------|---------------|----------------|---------------|----------------|------------------|----|
| A | A | A | A | A | A | A | A | A | A | A | A | A |
| B | A | STD 1 0 | STD 3 12.5 | STD 5 50 | SPL 1:1 40 | SPL 1:3 160 | SPL 2:1 40 | SPL 2:3 160 | SPL 3:1 40 | SPL 3:3 160 | BLK | A |
| C | A | STD 1 0 | STD 3 12.5 | STD 5 50 | SPL 1:1 40 | SPL 1:3 160 | SPL 2:1 40 | SPL 2:3 160 | SPL 3:1 40 | SPL 3:3 160 | BLK | A |
| D | A | STD 1 0 | STD 3 12.5 | STD 5 50 | SPL 1:1 40 | SPL 1:3 160 | SPL 2:1 40 | SPL 2:3 160 | SPL 3:1 40 | SPL 3:3 160 | BLK | A |
| E | A | STD 2 6.25 | STD 4 25 | STD 6 100 | SPL 1:2 80 | SPL 1:4 320 | SPL 2:2 80 | SPL 2:4 320 | SPL 3:2 80 | SPL 3:4 320 | CTL ₁ | A |
| F | A | STD 2 6.25 | STD 4 25 | STD 6 100 | SPL 1:2 80 | SPL 1:4 320 | SPL 2:2 80 | SPL 2:4 320 | SPL 3:2 80 | SPL 3:4 320 | CTL ₁ | A |
| G | A | STD 2 6.25 | STD 4 25 | STD 6 100 | SPL 1:2 80 | SPL 1:4 320 | SPL 2:2 80 | SPL 2:4 320 | SPL 3:2 80 | SPL 3:4 320 | CTL ₁ | A |
| H | A | A | A | A | A | A | A | A | A | A | A | A |

Figura 3.2. Esquema de distribución de tratamientos en placa para ORAC a muestras de estudio. Los pocillos de color celeste son llenados con 200 μ L de agua destilada; STD

corresponde a estándar Trolox, SPL a muestra; BLK a blanco (buffer de trabajo ORAC (75 mM)); y CTL a control (ácido gálico 25 μ M).

3.11 Análisis Estadístico

Se utilizó un software estadístico, StatGraphics Centurion 18 (Statgraphics Technologies, The Plains, Virginia, EE. UU.), para realizar un análisis de varianza (ANOVA) multifactorial, con el fin de establecer las diferencias entre las variables tecnología de extracción, relación de fases y solvente, además se realizaron pruebas de múltiples rangos LSD y HSD.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El **Cuadro 4.1** muestra el efecto de la relación de fases, solvente y tecnología de extracción sobre la capacidad antioxidante, contenido de fenoles totales y sólidos solubles totales de pomasa de tomate deshidratada. De las tecnologías de extracción asistida evaluadas, EAM a 10 min resultó ser la mejor tanto para la variable ORAC ($437,70 \pm 174,07$ μmol equivalentes Trolox/g) como para fenoles totales ($2,89 \pm 0,07\text{mg}$ EAG/g). Si bien fue la más alta también en sólidos solubles, las diferencias no fueron significativas ($6,09 \pm 2,23$ ° Brix). Las interacciones resultaron significativas en todas las variables.

Cuadro 4.1. Efecto de relación de fases, solvente y tecnología de extracción sobre la capacidad antioxidante, contenido de fenoles totales y sólidos solubles totales de pomasa de tomate deshidratada.

| Tratamiento | ORAC (μmol equivalentes Trolox/g) | Fenoles totales (mg EAG/g)** | Sólidos Solubles Totales (°Brix)** |
|------------------------------|---|------------------------------|------------------------------------|
| Relación Masa-Volumen (A) | | | |
| 1/5 | 285,65 \pm 94,62 a | 2,17 \pm 0,12 a | 6,84 \pm 2,39 b |
| 1/8 | 392,86 \pm 174,09 b | 2,55 \pm 0,13 b | 5,59 \pm 2,05 a |
| 1/10 | 461,80 \pm 226,43 c | 2,59 \pm 0,14 b | 4,98 \pm 2,16 a |
| p-valor | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| Solvente (B) | | | |
| Agua | 269,10 \pm 94,12 a | 2,28 \pm 0,19 a | 2,93 \pm 0,93 a |
| Etanol 5% | 314,73 \pm 107,05 ab | 2,16 \pm 0,15 b | 4,17 \pm 0,85 b |
| Etanol 10% | 370,70 \pm 131,05 b | 2,42 \pm 0,16 c | 6,18 \pm 1,13 c |
| Etanol 15% | 461,25 \pm 211,33 c | 2,65 \pm 0,17 d | 6,82 \pm 0,99 c |
| Etanol 20% | 484,77 \pm 248,00 c | 2,67 \pm 0,16 d | 8,93 \pm 1,06 d |
| p-valor | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| Tecnología de extracción (C) | | | |
| Ultrasonido 60 min | 337,17 \pm 163,37 a | 2,87 \pm 0,08 b | 5,82 \pm 2,51 a |
| Ultrasonido 120 min | 365,45 \pm 209,78 a | 1,55 \pm 0,03 a | 5,50 \pm 2,25 a |
| Microondas 60 min | 437,70 \pm 174,07 b | 2,89 \pm 0,07 b | 6,09 \pm 2,23 a |
| p-valor | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| Interacciones | | | |
| AB | 00 | 0,00 | 0,00 |
| AC | 00 | 0,00 | 0,00 |
| BC | 00 | 0,00 | 0,00 |
| ABC | 00 | 0,00 | 0,00 |

*Promedios \pm desviación estándar seguidos por la misma letra minúscula en columna no difirieron significativamente según la prueba de rango múltiple de HSD ($P < 0,05$). **Promedios \pm desviación

estándar seguidos por la misma letra minúscula en columna no difirieron significativamente según la prueba de rango múltiple de LSD ($P < 0,05$).

4.1 ORAC

La **Figura 4.1** grafica todos los tratamientos y su efecto en la capacidad antioxidante evaluada por el método ORAC. Es posible observar de que tratamiento menos eficiente corresponde a EAU 120 min 1/5 agua. Los mejores tratamientos fueron EAU 120 min 1/10 agua etanol 20% y EAM 60 min 1/10 agua etanol 20% siendo el valor de este el más alto alcanzando una media de 983,68 μmol equivalentes Trolox/g.

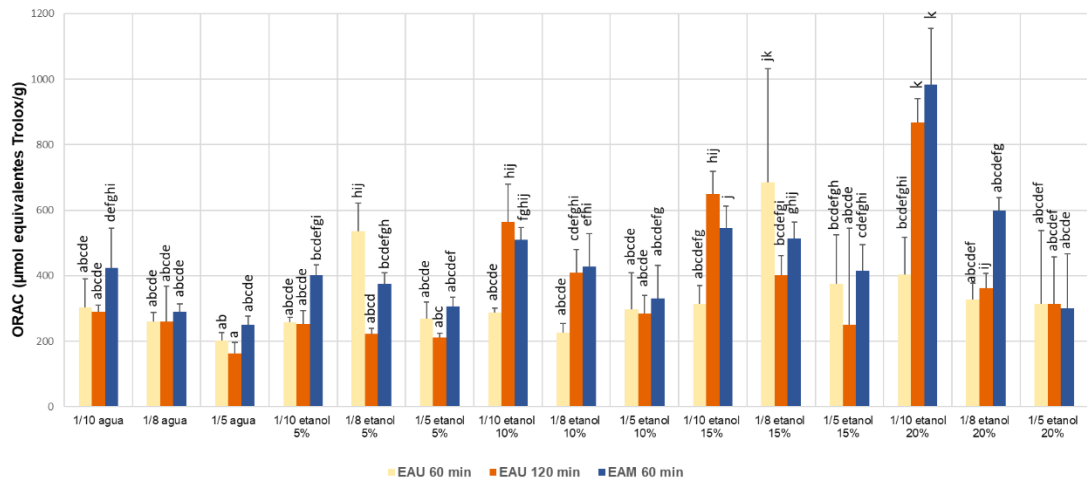


Figura 4.1. Capacidad antioxidante de extractos de toma asistidos por ultrasonido y microondas.

Para comprender el porqué de los resultados es necesario discutir en función del efecto de cada factor estudiado.

4.1.1 Efecto de solvente

la capacidad antioxidante evidenciada en ensayo ORAC depende en su mayoría del solvente utilizado, ya que la eficiencia del proceso de extracción depende en gran parte de la polaridad del solvente; la polaridad afecta también la interacción de los antioxidantes con otros compuestos lo

que también jugará un rol importante en la capacidad antioxidante resultante (Moere *et al.*, 2001). El agua posee una mayor polaridad que el etanol lo cual debiese indicarlo como un mejor solvente. Según Xiao *et al.* (2008), el agua hincha de mejor manera el material vegetal e incrementa la superficie de contacto entre la matriz de la planta y el solvente, resultando en un incremento de la eficiencia de extracción. Sin embargo, según Markham (1982), los compuestos bioactivos son mejor extraídos usando mezcla de solventes alcohólicos con agua en vez de alcohol y agua por separado.

En el caso particular de EAU, el uso de mezclas agua-etanol también reduce la cantidad de compuestos oxidativos resultados de la descomposición del agua en el proceso de extracción (Vinatoru, 2000). Esto se debe a que no solo entra agua a las burbujas consecuentes de la acción del ultrasonido en el medio, si no también entra la mezcla de etanol y agua, teniendo etanol enlaces homolíticos más estables lo que se traduce a una generación menor de compuestos oxidativos (Vinatoru *et al.*, 2017); por esta razón, el nivel con mayor porcentaje de etanol presente en el solvente resultó ser el más eficiente.

De acuerdo con Routray, & Orsat (2011) el calentamiento por uso de energía de microondas se basa en el efecto directo de las ondas de microondas en las moléculas por conducción iónica y rotación de dipolos, siendo la conducción iónica la migración electroforética de iones cuando un campo electromagnético es aplicado, mientras que la rotación de dipolo significa el realineamiento de dipolos con el campo aplicado a 2.450 MHz, la cual es la frecuencia usada en sistemas comerciales; el dipolo se alinea y aleatoriza 4.9×10^9 veces por segundo, y esta fuerza resulta en calentamiento. La resistencia de la solución a este flujo de iones resultará en fricción y esta calentará la solución. La habilidad de un solvente de absorber energía de microondas y pasarla en forma de calor a otras moléculas dependerá particularmente del factor de disipación ($\tan \delta$) (Kingston & Jassie, 1988).

Cuadro 4.2. Constantes físicas y de disipación para agua y etanol en EAM (Jassie *et al.*, 1995).

| Solvente | Constante dieléctrica ^a , ϵ' | Momento de dipolo ^b | Factor de disipación, $\tan \delta$ ($\times 10^{-4}$) | Punto de ebullición ^c (°C) | Temperatura en Sistemas cerrados ^d (°C) |
|----------|--|--------------------------------|--|---------------------------------------|--|
| Agua | 78,8 | 2,3 | 1.570 | 100 | SD |
| Etanol | 24,3 | 1,96 | 2.500 | 78 | 164 |

^aDeterminado a 20°C; ^bDeterminado a 25°C; ^cDeterminado a 101.4 kPa; ^dDeterminado a 1207 kPa; SD= sin datos.

El **Cuadro 4.2** muestra constantes físicas y de disipación para agua y etanol en MAE con uso de sistemas cerrados indicados por Jessie *et al.*, 1995, en donde se muestra que etanol tiene una menor constante dieléctrica pero mayor pérdida dieléctrica que el agua. Esto indica que el etanol, comparado con el agua tienen menor habilidad para obstruir las ondas de microondas a medida que lo atraviesan, pero una mayor habilidad para transformar la energía en calor. Además, etanol alcanza temperaturas más altas por sobre la del agua: esto mejora la eficiencia y velocidad en la que ocurre la extracción (Veggi *et al.*, 2012). Lo anterior podría explicar por qué agua 20% etanol es mejor que los tratamientos con menor porcentaje de etanol, ya que esta mezcla de solvente conduciría más eficientemente el calor hacia el soluto y además alcanzaría mayores temperaturas, contribuyendo en parte a la eficiencia de extracción de los compuestos de interés. Comportamiento similar se reportó por Zhang *et al.* (2009), donde se estudió la extracción asistida de antioxidantes (quercitina y rutina) desde tallos *Euonymus alatus* usando EAM y EAU y diferentes concentraciones de etanol, donde se evidenció que el rendimiento de extracción aumentaba cuando la concentración de etanol aumentaba de 30% a 50%.

4.1.2 Efecto de la relación masa-volumen

Al presentar los resultados de menor a mayor porcentaje de etanol en el solvente, es posible identificar que, en la mayoría de los casos, los resultados muestran la tendencia a disminuir el efecto de la extracción de acuerdo con la relación de fase de cada tratamiento, en donde 1:10 es mayor que 1:8 y estos dos mayores que 1:5. En cuanto a la extracción convencional, un mayor volumen de solvente puede disolver los ingredientes bioactivos de interés de manera más efectiva y conducir a un mayor rendimiento de extracción (Wang, Li, Bao, *et al.*, 2008; Zhang, *et al.* 2009), el mismo efecto ha sido reportado por algunos autores en EAM (Gao, *et al.*, 2007; Li, *et al.*, 2004). Eskilson y Björklund (2000) concluyeron que la proporción de la muestra en la solución de extracción no debería exceder 30-34% masa-volumen; pues de lo contrario la extracción se ve afectada y la eficiencia decae.

4.2 Fenoles Totales

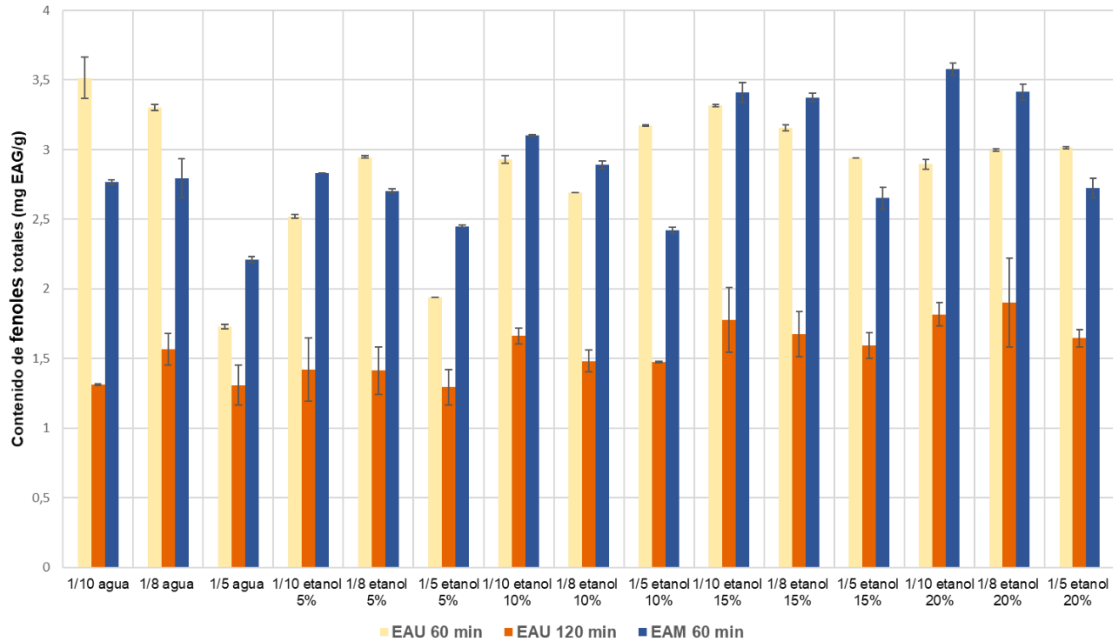


Figura 4.2. Contenido de fenoles totales de extractos de tomata asistidos por ultrasonido y microondas.

La **Figura 4.2** evidencia gráficamente la tendencia de los resultados para fenoles totales, donde, EAU con un tiempo de extracción de 120 min. tiene un menor efecto en la extracción de fenoles totales ($1,557 \pm 0,03$ mg EAG/g muestra) en comparación a EAU 60 min. ($2,871 \pm 0,08$ b mg EAG/g muestra) y MAE 60 min. ($2,888 \pm 0,07$ b mg EAG/g muestra). Lo anterior puede tener su explicación en la mecánica de acción de EAU. En el caso de la extracción asistida por ultrasonido las ondas de ultrasonido generan burbujas por cavitación, que aumentan en tamaño hasta volverse inestables y colapsar violentamente, esto produce rompimiento de células y difusión del material celular hacia el solvente. Durante este proceso, la descomposición del solvente agua genera radicales hidroxilo como iones de hidrógeno (H^+), radicales libres (O^- , OH^-) y peróxido de hidrógeno (Kumcuoglu, *et al.*, 2013). Si se alcanza la máxima extracción posible y se sigue aplicando ultrasonido de forma prolongada puede generar una degradación de los compuestos bioactivos debido a la acción de los radicales libres (Vinatoru *et al.*, 2017).

4.3 Sólidos solubles

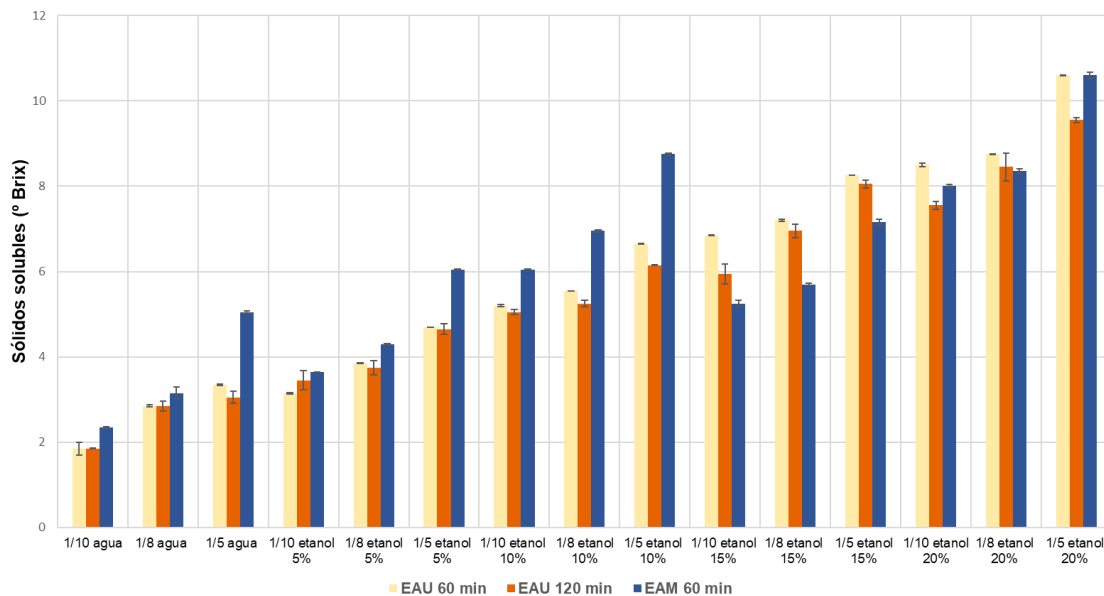


Figura 4.3. Sólidos solubles totales de extractos de toma asistidos por ultrasonido y microondas.

EAU 60 min presenta valores más altos de °Brix que EAU 120 min, esto se puede deber a que en EAU 120 min el tiempo de exposición es superior al óptimo; una exposición prolongada a ultrasonido termina oxidando y descomponiendo los compuestos bioactivos a extraer. La relación masa-volumen 1:5 presenta los valores más altos ($6,84 \pm 2,39$ °Brix) y disminuyen los valores a medida que esta relación es más baja; probablemente debido a la misma concentración de masa-volumen, ya que al haber más cantidad de toma deshidratada en la muestra, hay mayor cantidad de soluto en los mismos 100 mL de cada muestra. Lo anterior no deja de lado, que al igual en las demás variables de respuesta estudiadas, la tendencia de los datos indica que la cantidad de sólidos solubles aumenta de acuerdo con el porcentaje de etanol presente en el solvente.

4.4 Otros factores no estudiados

Existen otros factores determinantes en la eficiencia de la extracción para cada tecnología que no fueron estudiados directamente. Según Wang & Weller (2006), la extracción asistida por microondas de metabolitos secundarios de plantas puede ser afectados por una gran variedad de otros factores como el poder y la frecuencia de microondas, duración de la radiación de microondas, contenido de agua de la muestra vegetal y tamaño de partículas, tipo y concentración de solvente, presión de extracción y número de ciclos de extracción. En el caso de EAU otros factores a considerar son poder, frecuencia, amplitud, temperatura.

Si bien los factores mencionados fueron tomados en cuenta al momento de diseñar y establecer el ensayo, muchos fueron determinados como constantes y no se estudió el efecto de la variación de estos como parte de los tratamientos.

V. CONCLUSIONES

De acuerdo con los resultados y la literatura citada, EAU y EAM efectivamente aumentan la extracción de los compuestos de interés desde pomasa de tomate deshidratada. En este ensayo, la mejor tecnología de extracción asistida fue EAM 10 min tanto para ORAC ($437,699 \pm 174,07$ μmol equivalentes Trolox/g) como para contenido de fenoles totales ($2,888 \pm 0,07$ mg EAG/g) y sólidos solubles totales ($6,09 \pm 2,23$ °Brix). El mejor tratamiento resultó ser EAM 1:10 agua 20% etanol presentando $983,68 \pm 166$ μmol equivalentes Trolox/g, $2,896 \pm 0,07$ mg EAG/g y $8 \pm 0,5$ °Brix.

Los factores estudiados explican gran parte del resultado de la actividad antioxidante de los extractos de tomasa al ser sometidas a estas tecnologías, siendo el solvente un factor clave tanto para EAU como para EAM. En investigaciones futuras sería necesario evaluar otros factores que también podrían influir en EAU y EAM, como por ejemplo el tamaño de la muestra triturada, el tiempo y temperatura de almacenamiento en frío de las muestras antes de los ensayos. También es necesario comparar el efecto de distintos métodos de EAU en donde exista un mejor manejo de las condiciones como el baño de ultrasonido.

Para la evaluación comercial de la extracción es necesario someter las muestras a pruebas de rendimiento de la extracción y encontrar el tiempo de sonicado y exposición de microondas ideal a través de estudios de maximización, además de evaluar la cantidad de energía y solvente consumido con el fin de encontrar el mejor tratamiento tanto económica como ecológicamente, alineándose con los perfiles de sustentabilidad actuales.

Pensando en sus potenciales beneficios para la salud, el estudio del aprovechamiento de la tomasa de tomate por parte de la industria alimentaria podría lograr entregar un valor agregado a este residuo y a la vez solventar el manejo sustentable de los desperdicios, siendo EAU y EAM eficientes métodos de extracción de compuestos antioxidantes que deben seguir siendo estudiados.

VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Ahmad-Qasem, H., Cánovas, J., Barraji3n-Catal3n, E., Micol, V., C3rcel, A., & Garc3a-P3rez, J. 2013. Kinetic and compositional study of phenolic extraction from olive leaves (var. Serrana) by using power ultrasound. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 17, 120–129.

Ahmadi, K., Tavakolipour, H., Hasani, M., & Amiri, M. 2014. Evaluation and analysis of the ultrasound-assisted extracted tomato seed oil.

Albanese, D., Adiletta, G., D'Acunto, M., Cinquanta, L. and Di Matteo, M. 2014, Tomato peel drying and carotenoids stability of the extracts. *International Journal of Food Science and Technology* , 49: 2458-2463.

Centro de Estudios en Alimentos Procesados (CEAP) 2018. Proyecto Polo IFA: Extracto de Pomasa. [En l3nea] Recuperado de: <<http://www.poloifae.cl/producto/extracto-de-pomasa>>. consultado el 25 de marzo de 2020.

Centro de Estudio en Alimentos Procesados (CEAP), 2019. Procedimiento: Metodolog3a para determinaci3n de actividad antioxidante (ORAC) en Alimentos. Talca: CEAP.

Centro de Estudios en Alimentos Procesados (CEAP), 2019. Protocolo para elaboraci3n de muestras para ser sometidas a estudios cl3nicos detallando metodolog3a de obtenci3n, cantidad y condiciones de almacenamiento. Talca: CEAP.

Del Valle, M., C3mara, M., & Torija, M.-E. 2006. Chemical characterization of tomato pomace. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86(8), 1232–1236.

Dumitrash, P., Bologa, M. and Shemyakova, T. 2016. Ultrasound-assisted extraction of biologically active substances from tomato sedes. *Surface Engineering and Applied Electrochemistry*. 52: 270-275.

Elfakir, C., Lazar, G., Grigoras, C., Destanda, E. 2012. Bioactive compounds extraction from pomace of four apple varieties. *Journal of Engineering Studies and Research*, 18(1), 96-103.

El-Malah, M., Mahmoud, M., Hassanein, Helmy-Areif M., Al-Amrousi E. 2015. Utilization of Egyptian Tomato Waste as a Potential Source of Natural Antioxidants Using Solvents, Microwave and Ultrasound Extraction Methods. *American Journal of Food Technology*, 10: 14-25.

Eskilsson, C., & Björklund, E. 2000. Analytical-scale microwave-assisted extraction. *Journal of Chromatography A*, 902(1), 227–250. doi:10.1016/s0021-9673(00)00921-3

Flórez-Fernández, N., Casas, M., González Muñoz, M., & Domínguez González, H. 2017. Combination of Water-Based Extraction Technologies. *Water Extraction of Bioactive Compounds*, 421–449.

Gao, M., Huang, W., Moytri, R., & Liu, C. 2007. Microwave assisted extraction of scutellarin from *Erigeron breviscapus* Hand Mazz and its determination by high-performance liquid chromatography. *Analytica Chimica Acta*, 591, 161e166.

Instituto Nacional de Innovación Agropecuaria (INIA), 2017. Instituto Nacional de Innovación Agraria Boletín 11: Manual del cultivo de tomate al aire libre. [En línea] Recuperado de: <<http://www.inia.cl/wpcontent/uploads/ManualesdeProduccion/11%20Manual%20Tomate%20Aire%20Libre.pdf>> Consultado el 22 de marzo del 2020.

Kingston H., Jassie L. 1988. Introduction to microwave sample preparation. American Chemical Society, Washington, DC.

Knoblich M., Anderson B., Latshaw D. 2005. Analyzes of tomato peel and seed byproducts and their use as a source of carotenoids. *J Sci Food Agr*. 85: 1166–1170.

Kumcuoglu, S., Yilmaz, T., & Tavman, S. 2013. Ultrasound assisted extraction of lycopene from tomato processing wastes. *Journal of Food Science and Technology*, 51(12), 4102–4107. doi:10.1007/s13197-013-0926-x

Li, H., Chen, B., Zhang, Z., & Yao, S. 2004. Focused microwaveassisted solvent extraction and HPLC determination of effective constituents in *Eucommia ulmodies* Oliv. (*E. ulmodies*). *Talanta*, 63, 659e665.

Lianfu, Z., & Zelong, L. 2008. Optimization and comparison of ultrasound/microwave assisted extraction (UMAE) and ultrasonic assisted extraction (UAE) of lycopene from tomatoes. *Ultrasonics Sonochemistry*, 15(5), 731-737.

Majeed, M., Hussain, I., Chatha, S., Khosa, M., Kamal, G., Kamal, M., Liu, M. 2016. Optimization protocol for the extraction of antioxidant components from *Origanum vulgare* leaves using response surface methodology. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 23(3), 389–396.

Moure, A., Cruz, J., Franco, D., Domínguez, J., Sineiro, J., Domínguez, H., Parajó, J. C. 2001. Natural antioxidants from residual sources. *Food Chemistry*, 72(2), 145–171.

Nawal N., Zeitoun M., Barbary O. 2008. Utilization of some vegetables and fruits waste as natural antioxidants. *J.Food Sci. Technol.* 5: 1-11.

Oficina de Estudios y Políticas Agrarias (ODEPA). 2013. La industria de la pasta de tomate, boletín junio de 2013. Ministerio de Agricultura, Gobierno de Chile. [En línea] Recuperado en: <<http://www.odepa.gob.cl>>. Consultado el 22 de septiembre del 2019.

Oficina de Estudios y Políticas Agrarias (ODEPA). 2018. Caracterización económica de la cadena agroalimentaria del tomate de uso industrial, Informe final diciembre de 2018. Ministerio de Agricultura, Gobierno de Chile. [En línea] Recuperado en: <<http://www.odepa.gob.cl>>. Consultado el 22 de septiembre del 2019.

Oficina de Estudios y Políticas Agrarias (ODEPA). 2021. Boletín de hortalizas, junio 2021. Ministerio de Agricultura, Gobierno de Chile. [En línea] Recuperado en: <<https://www.odepa.gob.cl/publicaciones/boletines/boletin-de-hortalizas-junio-2021>>. Consultado el 12 de agosto de 2021.

Palomo, I., Concha-Meyer, A., Lutz, M., Said, M., Sáez, B., Vásquez, A., Fuentes, E. 2019. Chemical Characterization and Antiplatelet Potential of Bioactive Extract from Tomato Pomace (Byproduct of Tomato Paste). *Nutrients*, 11, 456.

Panda, D., Manicmam, S. 2019, Cavitation Technology - The Future of Greener Extraction Method: A Review on the Extraction of Natural Products and Process Intensification Mechanism and Perspectives. *Appl. Sci.* 9 (4), 766.

Quiñones, A. 2008. Eficacia de la extracción asistida por microondas para determinar plaguicidas organofosforados en aceites vegetales mediante cromatografía gaseosa. Memoria para optar al título de Químico Farmacéutico. Santiago, Chile. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.

Ruiz Celma, A., Vizcaíno Galán, A., Tapia Delgado, M., Cuadros Blázquez, F., González González, A., Rubiales, F., 2009. Primeros resultados del secado solar de pieles-semillas del tomate industrial. I Congreso Tecnológico del Tomate para Industria. Badajoz, 12 a 13 de noviembre de 2009.

Ruiz Celma, A., Cuadros, F., & López-Rodríguez, F. 2012. Characterization of pellets from industrial tomato residues. *Food and Bioproducts Processing*, 90(4), 700–706.

Routray, W., & Orsat, V. 2011. Microwave-Assisted Extraction of Flavonoids: A Review. *Food and Bioprocess Technology*, 5(2), 409–424.

Saini, R., Moon, S., & Keum, Y. 2018. An updated review on use of tomato pomace and crustacean processing waste to recover commercially vital carotenoids. *Food Research International*, 108, 516–529.

Singleton V., Rossi J. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *AJEV*. 16: 144-58.

The International Organisation of Vine and Wine (OIV), 1994. Compendium of International Methods of Analysis - OIV-MA-AS2-10 Folin-Ciocalteu Index. [En línea] Recuperado en: <<https://www.oiv.int/public/medias/2477/oiv-ma-as2-10.pdf>>. Consultado el 22 de septiembre del 2019.

Veggi, P., Martinez, J., & Meireles, M. 2012. Fundamentals of Microwave Extraction. *Microwave-Assisted Extraction for Bioactive Compounds*, 15–52. doi:10.1007/978-1-4614-4830-3_2

Vera, G. 2016. Determinación de azúcares totales, Hidratos de carbono disponibles y Factores de cálculo de energía en alimentos. [En línea] Recuperado en: <<http://www.achipia.cl/wp-content/uploads/2016/06/8-M--todos-Az--cares-Totales-H.-de-Carbono-F--ctores-c--lculo-energ--a-Dra.-Gloria-Vera.pdf>>. Consultado el 24 de marzo del 2020.

Vilkhu, K., Mawson, R., Simons, L., & Bates, D. 2008. Applications and opportunities for ultrasound assisted extraction in the food industry — A review. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 9(2), 161-169.

Vinatoru, M., Mason, T., & Calinescu, I. 2017. Ultrasonically assisted extraction (UAE) and microwave assisted extraction (MAE) of functional compounds from plant materials. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 97, 159–178. doi.org/10.1016/j.trac.2017.09.002

M. Vinatoru, en: COPERNICUS Research Program ERB-CIPA-CT94-0227-1995, 2000.

Zulueta, A., Esteve, M. J., Frígola, A. 2009. ORAC and TEAC assays comparison to measure the antioxidant capacity of food products. *Food Chemistry*, 114(1), 310–316.

Wang, H., Dong, Y., & Xiu, Z. 2008. Microwave-assisted aqueous two-phase extraction of piceid, resveratrol and emodin from *Polygonum cuspidatum* by ethanol/ammonium sulphate systems. *Biotechnology Letters*, 30, 2079e2084.

Wang, L., & Weller, C. 2006. Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends in Food Science & Technology*, 17, 300e312.

Wijngaard, H., Hossain, M., Rai, D., & Brunton, N. 2012. Techniques to extract bioactive compounds from food by-products of plant origin. *Food Research International*, 46(2), 505–513.

World Processing Tomato Council. 2021. WPTC crop update as of 22 October 2020. [En línea] Recuperado en: <<http://www.wptc.to/pdf/releases/WPTC%20crop%20update%20as%20of%2022%20October%202020.pdf>> Consultado el 12 de agosto de 2021.

Zhang, H., Yang, X., Zhao, L., & Wang, Y. 2009. Ultrasonicassisted extraction of epimedin C from fresh leaves of *Epimedium* and extraction mechanism. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 10, 54e60.

Zhang, L., & Liu, Z. 2008. Optimization and comparison of ultrasound/microwave assisted extraction (UMAE) and ultrasonic assisted extraction (UAE) of lycopene from tomatoes. *Ultrasonics Sonochemistry*, 15, 731e737.