

INTRODUCCIÓN

ANTECEDENTES

Desde los inicios de las civilizaciones, el ser humano pintaba todo lo que le rodeaba, como los tejidos, objetos y hasta su misma piel. Estos colorantes eran obtenidos de plantas, animales y minerales, el más antiguo colorante fue el de la cochinilla.

Un colorante no es más que una sustancia química que se aplica a sustratos para añadirles color. Actualmente, se clasifica en dos tipos: naturales, extraídos de sustancias naturales, minerales o vegetales, y artificiales, que son productos modificados químicamente.

Hoy en día diversas industrias emplean colorantes artificiales; sin embargo, la industria alimentaria opta por colorantes menos tóxicos para la salud, como los colorantes naturales. Entre estos se encuentra el beta caroteno, un carotenoide que posee una sexta parte de la actividad biológica del retinol o pro vitamina A.

Se utiliza al beta caroteno en diversas industrias: como colorante natural y aditivo nutricional en la industria alimentaria, en productos de cuidado personal en la industria cosmética, y como suplemento en la industria farmacéutica.

En 1831, Wackenroder logró cristalizar el beta caroteno extraído de la zanahoria. A partir de este momento, se realizaron diversas técnicas para su cuantificación, entre ellas la espectrofotometría UV y la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).

En 2009 Burgos y Calderón, trabajaron en la *Determinación del contenido de carotenoides totales en ocho especies de frutas y verduras comercializadas en la zona metropolitana de san salvador*; donde concluyeron que el contenido de carotenoides totales varía considerablemente de una especie a otra debido a factores genéticos, etapa de madurez, diferentes cultivares, efectos climáticos o geográficos, manejo postcosecha y almacenamiento.

En 2016, Catalán trabajó en la *Extracción y caracterización de β -caroteno obtenido de la cáscara de banano (*musa paradisiaca l.*) evaluando el rendimiento de tres diferentes solventes de distinta polaridad para su utilización como colorante natural, a escala*

laboratorio, concluyó que la concentración del beta caroteno es inversamente proporcional a la polaridad de solvente y obtuvo la mayor concentración utilizando como solvente al etanol.

En 2018 Ullah, Saranjam, Shah, Hina, y Bilal, trabajaron en *Variaciones dependientes del tiempo-temperatura en el contenido de beta caroteno en zanahoria usando diferentes técnicas espectrofotométricas*, concluyeron que existe degradación del contenido de beta caroteno con el tiempo y la temperatura de almacenamiento, donde no debe superar los 4°C.

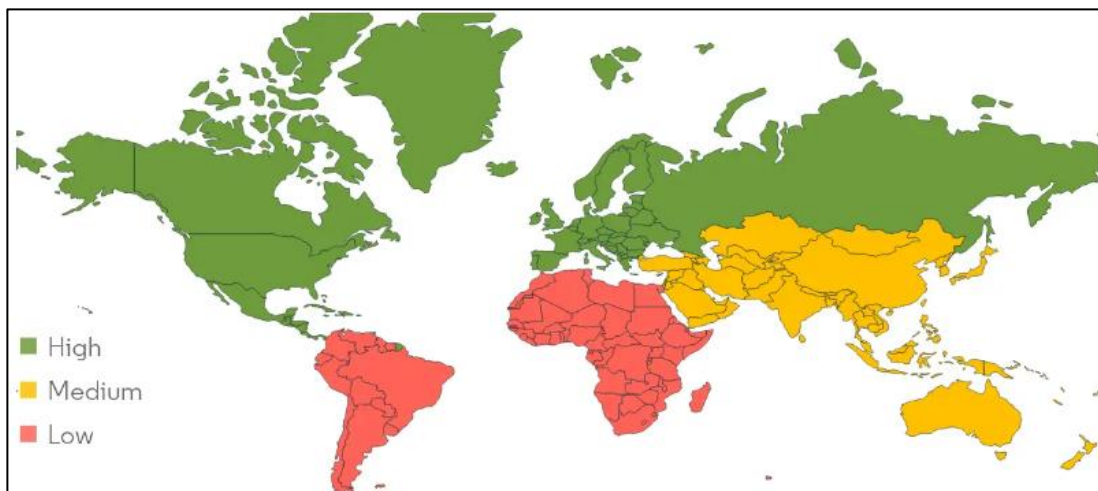
En 2020 Otálora-Orrego y Martin, en su trabajo *Técnicas emergentes de extracción de beta caroteno para la valorización de subproductos agroindustriales de la zanahoria (daucus carota l.)*, realizaron la evaluación y comparación en los resultados obtenidos aplicando diversas técnicas de extracción del beta caroteno, donde la extracción asistida por ultrasonido muestra resultados satisfactorios y considerablemente mayores.

Demanda Mundial:

En América del Norte, el mercado beta caroteno está dominado por Estados Unidos, con Canadá contribuyendo a la demanda tanto en productos alimenticios como en bebidas y suplementos dietéticos. También, Estados Unidos lidera la investigación y el desarrollo, con innovaciones que mejoran las aplicaciones de beta caroteno en diversas industrias, desde alimentos a cosméticos (Pulidindi y Tandle, 2024).

El beta caroteno también cuenta con un importante mercado en Europa, especialmente en países como Alemania, Francia, Italia, España, Rusia y Reino Unido. Además, su demanda se extiende a Asia, en naciones como China, India, Japón, Corea del Sur y Australia, entre otros.

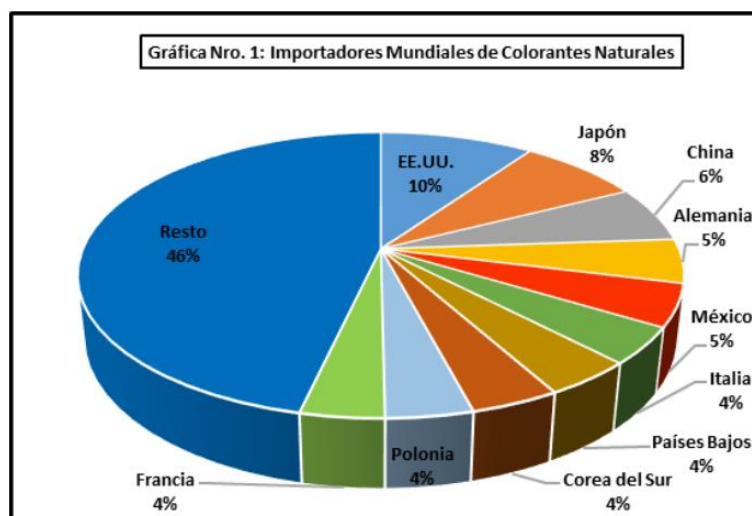
FIGURA 1: Mercado del beta caroteno en % en 2019



Fuente: Mordor Intelligence, 2022.

Entre los colorantes naturales más demandados y con una proyección de crecimiento cercana al 5% al 2026, están el carmín, antocianinas, caramelo, annatto, carotenoides, clorofila, espirulina y otros naturales como betalainas, cantaxantina, antraquinonas, curcumina, cúrcuma, y gardenia (INIA, 2023).

FIGURA 2: Importadores de colorantes de origen vegetal o animal



Fuente: Departamento de inteligencia de Mercados, PROMPERU, 2019.

En Latinoamérica, Perú se destaca como el principal productor y exportador de colorantes naturales, entre los cuales se tiene a los carotenoides.

La producción nacional de beta caroteno en Bolivia es muy escasa y no existen datos sobre la producción.

JUSTIFICACIÓN

Justificación Tecnológica

La presente investigación aplicada busca contribuir al progreso científico e impulsar al desarrollo de la tecnología colorativa. La tecnología empleada para la obtención de beta caroteno a partir de la espinaca (extracción sólido-líquido) está disponible dentro del país, al igual que los insumos necesarios, los cuales se encuentran en cantidad, calidad y costos accesibles. Este proceso está diseñado a nivel de laboratorio y puede ser replicado a gran escala, lo que permitirá avanzar hacia un desarrollo productivo de beta caroteno.

Justificación Económica

La producción de beta caroteno en Bolivia es nula, actualmente el país importa este producto natural de otros países, lo que genera un alto costo y un valor comercial elevado. Existen diversas industrias en el país como: Bandy en Tarija, PIL Tarija S.A., Dillman en Cochabamba, etc., que utilizan colorantes naturales. En vista de esto, el beta caroteno puede convertirse en una alternativa viable para suplantar a estos colorantes naturales. Por lo que, es factible la venta del producto en el área alimenticia, no olvidando que también puede ser utilizado en el área farmacéutica y cosmetológica.

Justificación Ambiental

El método de extracción del proyecto y el debido cuidado de protección en el manejo de reactivos, no ocasionarán un impacto ambiental negativo, asimismo el solvente que se utilizará, etanol, es reutilizable después de la destilación, paralelamente los residuos al momento de la selección de materia prima (tallos) pueden utilizarse tanto en compostaje como en alimento de animales. Además, son comestibles para los seres

humanos cuando se cocinan o se incorporan en diversas recetas, como por ejemplo en jugos verdes.

Justificación Social

Existe producción de espinaca en el Valle Central de Tarija, sin embargo, no es muy alta, por lo que el presente trabajo promueve la producción de esta hortaliza dándole un valor agregado, lo cual influirá económicamente a los productores, logrando así una reactivación económica del departamento y de las familias productoras.

Además, la utilización del producto beta caroteno en el departamento de Tarija es aprovechable para generar productos con provitamina A, que contribuiría en la salud de la población tarijeña mediante la alimentación.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Obtener beta caroteno a partir de la espinaca (*Spinacia oleracea* L.) procedente del Valle Central de Tarija, a escala laboratorio.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar las propiedades físicoquímicas de la espinaca (*Spinacia oleracea* L.), procedente del Valle Central de Tarija.
- Ejecutar la parte experimental del proceso de obtención del beta caroteno a partir de la espinaca (*Spinacia oleracea* L.), a escala laboratorio.
- Cuantificar el extracto concentrado obtenido de beta caroteno a partir de la espinaca (*Spinacia oleracea* L.) procedente del Valle Central de Tarija.
- Caracterizar el extracto concentrado obtenido de beta caroteno a partir de la espinaca (*Spinacia oleracea* L.) procedente del Valle Central de Tarija.
- Determinar el costo de producción, a escala laboratorio, del extracto concentrado de beta caroteno obtenido a partir de la espinaca (*Spinacia oleracea* L.) procedente del Valle Central de Tarija.

CAPÍTULO I

MARCO TEÓRICO

1. MARCO TEÓRICO

1.1 Colorante

Son compuestos orgánicos que sirven para dar color, es decir, tiñe o pinta fibras textiles, cuero, papel, plástico o alimentos. Generalmente son solubles en el medio donde se aplican.

El ser humano ha recurrido a colorantes desde la prehistoria. Así como la cochinilla (el insecto de nombre científico *Dactylopius coccus*), la cúrcuma y otros recursos, el hombre prehistórico podía pintarse la piel, colorar su vestimenta y decorar todo tipo de objetos de uso recreativo o ritual (Pérez, 2021).

Los colorantes sintéticos surgieron a partir de mediados del siglo XIX, en 1856. El químico inglés William Henry Perkin, quien con 18 años de edad, descubrió de manera casual que la oxidación de la anilina daba lugar a un tinte (Pérez, 2021).

1.1.1 Tipos de colorantes

Existen dos tipos de colorantes según su procedencia: colorantes artificiales y colorantes naturales.

1.1.1.1 Colorantes artificiales

Son sustancias de procedencia química, elaboradas en un laboratorio, pueden ser solubles en agua, debido a la presencia de grupos de ácido sulfónico y, consecuentemente, fáciles de utilizar, generalmente en forma de sales sódicas, en líquidos y materiales pastosos y son también, más resistentes a los tratamientos térmicos, pH extremos, luz, etc., que los colorantes naturales (Sánchez, 2022).

Sin embargo, dado a los efectos adversos que podrían tener sobre la salud, tiene una regulación estricta y deben seguir normativas, tanto de alimentación como de etiquetado y permisivos.

1.1.1.2 Colorantes naturales

Son pigmentos extraídos de una fuente natural, como verduras, frutas, minerales y plantas. Su extracción tiene un costo más elevado y ofrecen mayores beneficios para la salud.

Existen distintos tipos de colorantes naturales orgánicos, los más importantes son: carotenoides, antocianinas, betalainas, porfirinas, quinonas, guaninas y otros.

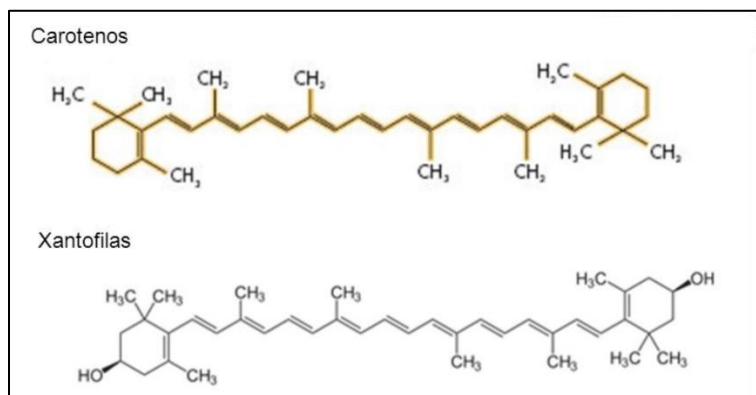
1.2 Carotenoides

Los carotenoides son pigmentos orgánicos solubles en grasa que se encuentran de forma natural en algas, plantas y algunas clases de hongos y bacterias.

Debido a sus características fisicoquímicas, los carotenoides son responsables de la gran mayoría de los colores verdes, anaranjados o rojos presentes en algunos vegetales y también animales.

Se dividen en dos grandes grupos: los carotenos, que contienen carbono e hidrógeno, y las xantofilas, que contienen carbono, hidrógeno y oxígeno.

FIGURA I-1: Carotenos y Xantofilas



Fuente: Monar, 2018.

López, Hurtado, Hernández y Palacios (2018), indican que los pigmentos β -caroteno, α -caroteno, licopeno y criptoxantina se encuentran principalmente en micro y macroalgas, así como en vegetales terrestres: zanahorias, papayas, melones y naranjas,

entre otros. En contraste, algunos ejemplos de las xantófilas son la luteína, zeaxantina, capsantina y astaxantina, pigmentos que le dan la coloración amarillenta, roja y anaranjada a las algas, bacterias y plantas superiores, como el pimiento rojo y el arándano, entre otros.

La presencia de gran número de dobles enlaces hace a los carotenoides muy sensibles a la oxidación, especialmente en reacciones de fotooxidación con el oxígeno. También se oxidan en presencia de lipoxigenasas, pero no de forma directa, sino por reacción con los hidroperóxidos. Las reacciones de oxidación dan lugar en todos los casos a la pérdida de color. Generalmente, existe una gran dependencia entre la velocidad de oxidación y el ambiente en el que se encuentran. Dentro de los alimentos, los carotenoides son mucho más resistentes a la oxidación que en materiales pulverizados y secos, o en extractos (Calvo, 2010).

Aunque en principio la configuración trans de los dobles enlaces sería la más estable, las repulsiones que inducen los grupos metilos laterales hacen que algunos de los dobles enlaces puedan pasar a la configuración cis. Esta isomerización puede producirse por calentamiento, exposición a la luz o de forma espontánea en ciertos disolventes o en presencia de superficies activas (Calvo, 2010).

CUADRO I-1: Contenido de carotenoides en algunos alimentos de origen vegetal

Carotenoides mayoritarios	Alimento
α - y β -caroteno, luteína/zeaxantina	Zanahoria (<i>Daucus carota</i>)
licopeno, luteína/zeaxantina, β -caroteno	Tomate (<i>Lycopersicum esculentum</i>)
β -caroteno, luteína/zeaxantina	Espinaca (<i>Spinacea oleracea</i>)
luteína/zeaxantina, β -caroteno	Lechuga (<i>Lactuca sativa</i>)
luteína/zeaxantina, β -criptoxantina, α - y β -caroteno	Pimiento rojo (<i>Capsicum annum</i> , var. <i>Grosum</i>)
luteína/zeaxantina, β -criptoxantina, α - y β -caroteno	Albaricoque (<i>Prunus armeniaca</i>)
luteína/zeaxantina, α - y β -caroteno	Plátano (<i>Musa paradisiaca</i>)

luteína/zeaxantina, β -criptoxantina, licopeno, α - y β -caroteno	Sandía (<i>Citrus vulgaris</i>)
luteína/zeaxantina, β -criptoxantina, α - y β -caroteno	Naranja (<i>Citrus sinensis</i>)
luteína/zeaxantina, β -criptoxantina, α - y β -caroteno	Melocotón (<i>Prunus persica</i>)

Fuente: Omedilla, Granado y Navarro, 2001.

1.3 Beta caroteno

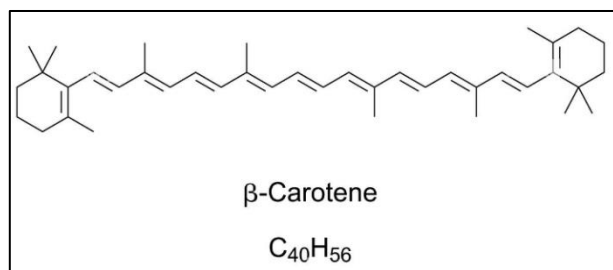
El beta caroteno (β -caroteno) fue el primer carotenoide purificado. En 1831, Wackenroder lo aisló en forma cristalina a partir de la zanahoria, dándole el nombre que lleva, derivado de la denominación latina de este vegetal *Daucus carota*.

El beta caroteno pertenece a la familia de los carotenoides. Es una molécula apolar de alto peso molecular (536,85 g/mol), compuesta estructuralmente por una cadena insaturada de hidrocarburos cuyos extremos poseen anillos de ciclohexano (Vasconcelos et al., 2020).

Es lipofílico, lo cual indica que no se disuelve en medios acuosos, pero es soluble en solventes no polares como grasas, aceites o solventes orgánicos no polares. En el espectro visible, este pigmento absorbe una máxima longitud de onda de 450 nm.

Al igual que la mayoría de carotenoides, el β -caroteno es usado como agente colorante en varios tipos de alimentos, bebidas, suplementos alimenticios e incluso medicamentos. De igual forma, sus beneficios en la actividad biológica y, por ende, en la salud humana, son atribuidos a su efecto antioxidante y por ser precursor de la vitamina A (Martins y Ferreira, 2017).

Requiere condiciones controladas en cuanto a pH, temperatura y presencia de oxígeno, ya que es sensible a la oxidación. Tiene una alta sensibilidad a la luz, por lo que se lo almacena en frascos ámbar y se lo lleva a refrigeración, ya que esto ralentiza la degradación.

FIGURA I-2: Estructura molecular del beta caroteno

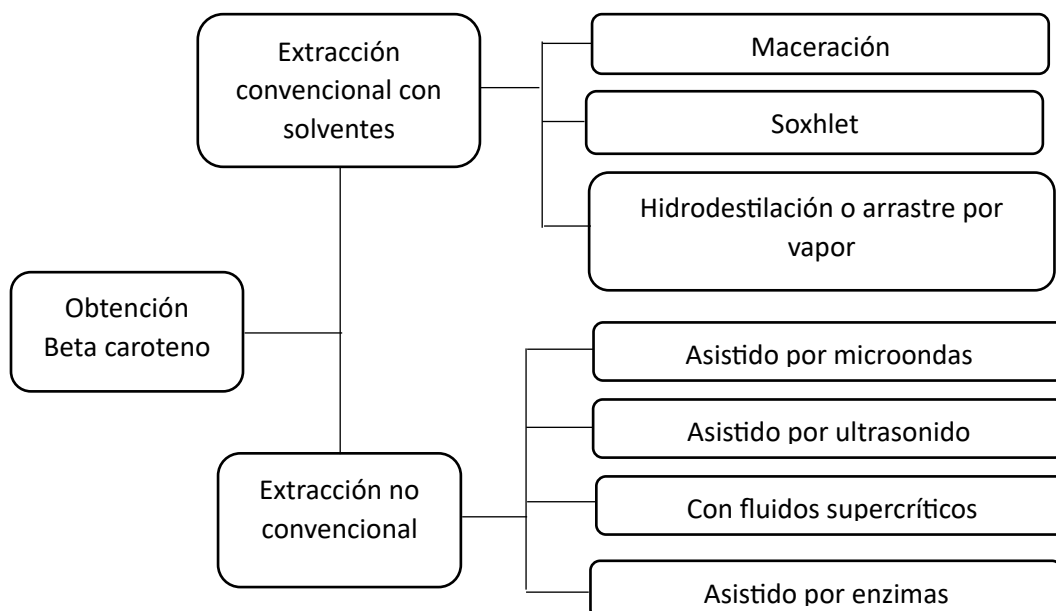
Fuente: Furian, 2010.

1.3.1 Diferencia entre vitamina A y pro vitamina A

Se conoce como vitamina A a un conjunto de compuestos que poseen la actividad biológica del retinol. En la dieta la encontramos en dos presentaciones: preformada (principalmente en productos de origen animal) o como provitamina (principalmente en productos de origen vegetal). La vitamina A preformada la constituyen ésteres de retinilo que al ser digeridos en el intestino originan retinol. La provitamina A la integran una serie de pigmentos naturales denominados carotenoides que son capaces de convertirse en vitamina A. Es preciso señalar que no todos los carotenoides deben ser considerados provitamina A puesto que de los casi 600 existentes en la naturaleza solo 50 poseen esta propiedad. El principal carotenoide provitamina A es el beta caroteno (Cruz, 2007).

1.4 Método de obtención de beta caroteno

Entre los métodos más destacados de extracción de beta caroteno a partir de la espinaca se encuentran el convencional con solventes, el cual incluye la extracción convencional Soxhlet, y los métodos de extracción no convencionales, conformados por la extracción asistida con microondas, la extracción asistida con ultrasonido, la extracción con fluidos supercríticos y la extracción asistida con enzimas.

FIGURA I-3: Métodos de obtención de beta caroteno

Fuente: Elaboración propia basado en el trabajo de Otálora-Orrego y Martin, 2024.

1.4.1 Extracción convencional con solventes

Según Varón et al. (2017), un solvente se define como: “un líquido capaz de disolver, diluir o extraer otras sustancias sin causar modificación química a la sustancia o a sí mismo”.

La extracción convencional es conducida a escala laboratorio y tiene como propósito principal evaluar el rendimiento de diferentes solventes a diferentes condiciones. Dentro de esta encontramos tres métodos principales, extracción Soxhlet, maceración e hidrodestilación (Selvamuthukumaran y Shi, 2017).

1.4.1.1 Extracción por maceración

Es un proceso de extracción sólido-líquido. Consiste en dejar reposar la materia prima en un solvente durante un tiempo determinado, los compuestos presentes en el sólido pasarán al líquido extractante si son solubles en él (Magazine, 2021).

FIGURA I-4: Maceración en aceite de las flores del hipérico



Fuente: Carballido, 2025.

1.4.1.2 Extracción Soxhlet

Se emplea un equipo de vidrio, que consta de tres partes: balón, corneta, condensador. El funcionamiento es el siguiente: En el balón se dispone el disolvente, en contacto con una manta calefactora; en la corneta es donde se deposita un cartucho de papel filtro o tela que contiene un peso dado de materia colorante; en el condensador es donde se condensa el disolvente que por efecto de la gravedad cae en la corneta embebiendo el material vegetal (Membreño, 2006).

FIGURA I-5: Equipo Soxhlet

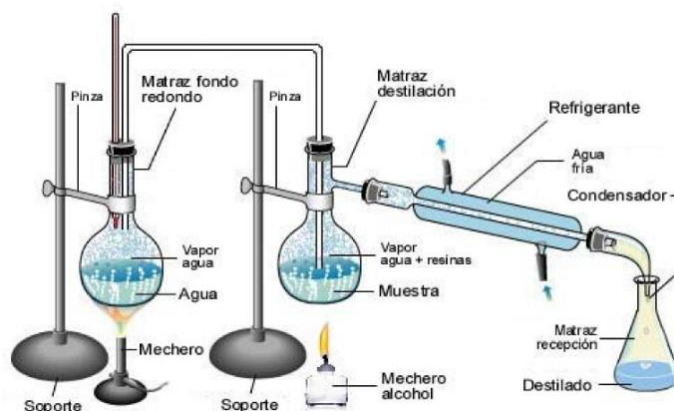


Fuente: Dobado, 2024.

1.4.1.3 Extracción por hidrodestilación o arrastre con vapor

Este tipo de extracción utiliza el agua como el solvente, cuando el vapor entra en contacto con el material vegetal, hace que los compuestos aromáticos, que generalmente posee un punto de ebullición más bajo que el agua, se vaporicen y sean arrastrados junto con el vapor hasta el condensador, donde se condensan junto con el vapor de agua (Néstor, 2016).

FIGURA I-6: Montaje del instrumento para destilación por arrastre de vapor



Fuente: Leon, 2018.

1.4.2 Extracción no convencionales

Los métodos de extracción no convencionales son:

1.4.2.1 Extracción asistida con microondas

Consiste en el uso de irradiación electromagnética en frecuencias entre los 0,3 y 300 GHz, la radiación por microondas genera el aumento de la temperatura interna a través del volumen de la célula o matriz vegetal donde se almacena el compuesto de interés, provocando un aumento de presión interno que termina causando una lisis o ruptura del sistema, facilitando el acceso a la molécula objetivo (Vinatoru et al., 2017).

1.4.2.2 Extracción asistida por ultrasonido

Esta técnica de extracción no convencional se basa en el uso de ondas ultrasónicas, comprendidas entre las frecuencias de 20 kHz y los 10 MHz y se divide en sonicación

de baja y alta intensidad. La fuerza que genera el proceso de extracción se conoce como la cavitación acústica, en la cual microburbujas se generan por la diferencia de presión localizada en diferentes puntos del medio extractivo, las cuales posteriormente colapsan y generan focos de calor y energía que permiten el rompimiento de la matriz vegetal, facilitando el ingreso del solvente o agente de extracción al compuesto de interés (Vernès, Vian y Chemat, 2020).

La efectividad de este método depende de las siguientes variables: amplitud, intensidad, potencia y frecuencia ultrasónica, temperatura y tiempo de extracción, naturaleza y propiedades fisicoquímicas del solvente y, por último, la naturaleza de la matriz (Tiwari, 2015).

1.4.2.3 Extracción con fluidos supercríticos

Es un proceso que utiliza un fluido supercrítico como agente de extracción. El fluido supercrítico es una sustancia que se encuentra en condiciones termodinámicas de presión y temperatura críticas, bajo estas condiciones, la sustancia o fluido se difunde como un gas a través de los sólidos, pero a su vez, se comporta como líquido con la capacidad de disolver y arrastrar los constituyentes presentes en la materia prima (García y Barba de la Rosa, 2020).

Esta extracción usa, principalmente, dióxido de carbono CO₂ en estado supercrítico, pues este no crea residuos tóxicos tras la extracción; además, evita la degradación del compuesto bioactivo y permite su obtención en alta pureza rápidamente luego del proceso sin requerir un tratamiento posterior de purificación o recuperación del extracto (Andrade et al., 2018).

1.4.2.4 Extracción asistida con enzimas

En realidad, la extracción asistida con enzimas no está dirigida directamente a la etapa de extracción, en cambio, utiliza enzimas hidrolíticas para romper la estructura o matriz que encubre los compuestos bioactivos de interés, es decir, centrándose en la etapa de separación de micro y macromoléculas. Las enzimas más usadas en la extracción de β -caroteno son la celulasa y pectinasa. La primera se encarga de romper o hidrolizar la

celulosa presente en la pared celular principal de las células vegetales, degradando las uniones 1,4- β -d-glicosídicos. La segunda degrada la pectina presente en la interface de la pared celular (Saini y Keum, 2018).

Según Otálora-Orrego y Martin (2020), el uso de enzimas provee una mayor estabilidad, pues posteriormente a este tratamiento, la extracción no requerirá de técnicas elaboradas para obtener altos rendimientos de extracción. Sin embargo, algunos estudios combinan esta técnica junto con otras no convencionales para obtener el mayor rendimiento posible.

1.5 Factores que influyen en el proceso de obtención de beta caroteno

Temperatura de extracción: Una temperatura superior a los 50 °C puede disminuir el rendimiento de extracción, lo cual, puede estar relacionado con la termo-sensibilidad del beta caroteno que puede generar la isomerización o degradación de la molécula (Juliana, Yuliati e Indrawati, 2019).

Tiempo de extracción: Es directamente proporcional al rendimiento de extracción, sin embargo, este comportamiento ocurre hasta cierto punto, donde el rendimiento alcanza un valor constante y máximo para la extracción a ciertas condiciones (Purohit y Gogate, 2015). Por otra parte, se debe tener precaución, ya que una exposición prolongada del beta caroteno a altas temperaturas puede tener un efecto negativo en la estabilidad del pigmento.

Tipo de solvente: El solvente debe ser lo más selectivo posible y se recomienda de baja viscosidad. Para la obtención de beta caroteno se busca un solvente no polar, ya que favorecen a la solubilización del beta caroteno

Relación soluto-solvente: indica cuál es el volumen adecuado de solvente para un peso determinado de soluto. Esta relación influye en la capacidad de disolución del beta caroteno, ya que la solubilidad puede verse limitada si se trabaja con una cantidad considerable de solvente.

1.6 Separación del beta caroteno del extracto obtenido

1.6.1 Cromatografía en capa fina (TLC)

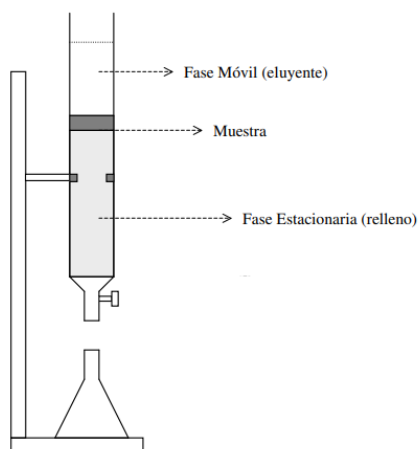
La cromatografía en capa fina (en inglés thin layer chromatography o TLC), es una técnica cromatográfica que utiliza una placa inmersa verticalmente en una fase móvil.

La fase estacionaria es una fina capa de material adsorbente, normalmente gel de sílice u óxido de aluminio, que recubre una superficie de placa inerte, normalmente vidrio, plástico o aluminio. Se deposita una pequeña cantidad de la muestra en un extremo de la placa de TLC, que se coloca verticalmente en una cámara cerrada con un disolvente orgánico (fase móvil). La fase móvil se desplaza hacia arriba por la placa por capilaridad y los componentes de la muestra migran distancias variables en función de sus afinidades diferenciales por las fases estacionaria y móvil. Cuando el disolvente llega a la parte superior de la placa, ésta se retira de la cámara de desarrollo y se seca. Los componentes separados aparecen como puntos en la placa, y se evalúa el factor de retención (RF) de cada componente (Merk, 2010).

1.6.2 Cromatografía en columna

La cromatografía en columna es una técnica que se utiliza para separar compuestos de un fluido.

FIGURA I-7: Cromatografía en columna



Fuente: Universidad Pablo de Olavide, 2004.

La fase estacionaria consiste en un sólido adsorbente empaquetado, comúnmente se utiliza sílica gel o alúmina, en una columna de vidrio, la muestra a separar se deposita sobre la parte superior de la fase estacionaria quedando adsorbida en ella, se vierte la fase móvil en la parte superior de la columna y se permite su paso a través de la fase estacionaria, durante el proceso cromatográfico los componentes de la muestra son arrastrados por la fase móvil a distintas velocidades efectuándose la separación, dependiendo de su grado de adsorción y de su afinidad por la fase móvil, la cual consiste en un disolvente o mezcla de disolventes, seleccionado en base a su polaridad con el fin de optimizar la separación de los componentes de la muestra en la columna (Zumbado, 2010).

1.7 Cuantificación del beta caroteno

El beta caroteno puede cuantificarse por medio de espectrofotometría UV-VIS.

1.7.1 Espectrofotometría UV-VIS

Es una técnica analítica que permite determinar la concentración de un compuesto en solución. Se basa en que las moléculas absorben las radiaciones electromagnéticas y a su vez que la cantidad de luz absorbida depende de forma lineal de la concentración. Para hacer este tipo de medidas se emplea un espectrofotómetro, en el que se puede seleccionar la longitud de onda de la luz que pasa por una solución y medir la cantidad de luz absorbida por la misma (Nieves y Aurora, 2009).

Ley de Lambert-Beer

La ley de Lambert establece que la disminución de la intensidad de la luz es proporcional a la longitud del camino óptico en un medio homogéneo, y la ley de Beer, postula que esta disminución es proporcional a la concentración del absorbente (Cañadas, 2024).

Combinando ambas leyes, la ley de Lambert-Beer articula que la absorción de la luz al pasar a través de un medio absorbente, es directamente proporcional a la longitud del camino que la luz recorre dentro del medio y a la concentración del absorbente presente (Cañadas, 2024).

Matemáticamente se le expresa como:

$$A = \varepsilon * l * c \quad \text{Ec. 1.1}$$

Donde:

A= Absorbancia de la disolución a una longitud de onda dada

l= longitud del paso de la cubeta (cm)

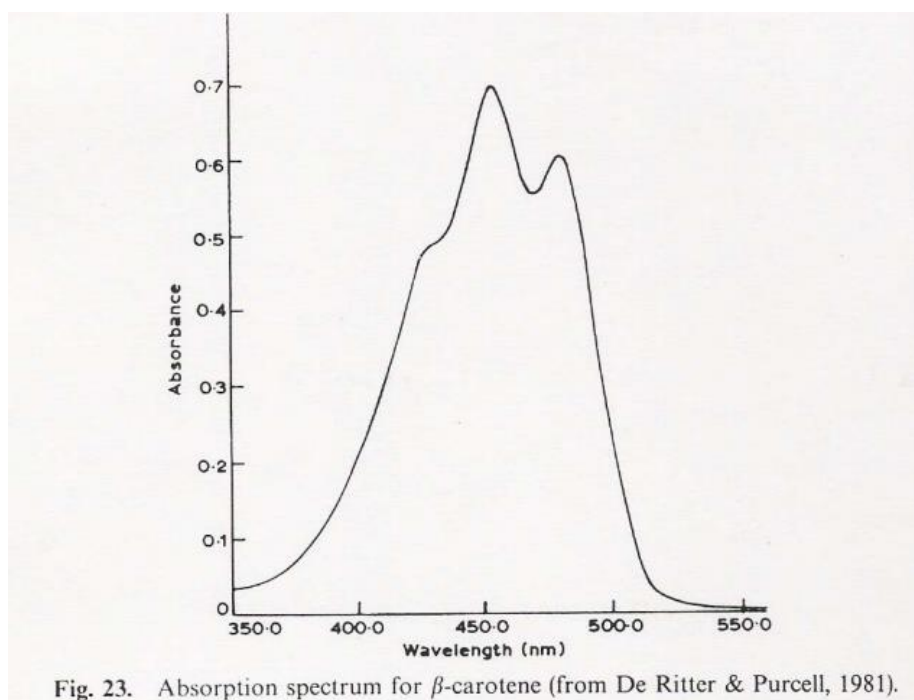
ε = coeficiente de absortividad molar ($l \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)

c= concentración de la disolución (M)

En la práctica espectroscópica, la ley de Lambert-Beer permite calcular la concentración de una sustancia en una solución al medir la cantidad de luz absorbida a una longitud de onda específica.

Para el beta caroteno, se tiene que su longitud de onda oscila entre los 440 a 460 nanómetros.

FIGURA I-8: Longitud de onda del beta caroteno



Fuente: Rosales, et. al., 2005.

Se observa que la longitud de onda del beta caroteno es aproximadamente 450 nm, ya que es el pico más alto.

1.8 Espinaca

Las espinacas o (*Spinacia oleracea* L.) pertenecen a la familia de las Quenopodiáceas. Esta familia comprende unas 1.400 especies de plantas propias de zonas costeras o de terrenos salinos templados. El nombre de espinaca deriva del término spina o espina, debido a que los frutos de esta planta hortícola, cuando están en su punto de maduración, se presentan armados de espinas (Espinoza, 2019).

A lo largo de la historia, fue cultivada por varias culturas ubicadas en el Mediterráneo, Medio Oriente y Sudeste Asiático. Sin embargo, el origen de las espinacas tiene diversas lagunas, por los cuales incluso a día de hoy los expertos en botánica no han podido determinar uno en específico.

El botánico francés Pyramus de Candolle en su libro “Origen de las Especies Cultivadas” (1883), sostiene que esta planta procede de Oriente Medio, pues su nombre parece derivar del persa “aspanach” o del árabe “isfinag”.

El botánico ruso Vavilov, autor del libro “Origen de las Especies” (1883), ubica su centro de dispersión en el Cáucaso, Irán y Afganistán.

El botánico inglés Boswell, autor del libro “Nuestros Vegetales Viajeros” (1949), nos dice que es oriunda del Sudeste Asiático. De allí habría sido traída por el conquistador macedonio Alejandro Magno a Grecia, adaptándose al lugar.

Sin embargo, las hipótesis más aceptadas son que la espinaca proviene de la antigua Persia (Yépez, 2016) ya que fueron los árabes quienes en el siglo XI introdujeron la espinaca por primera vez en España (Espinoza, 2019).

Su cultivo se extendió por Europa en los siglos XV y XVI, donde países como Holanda, Inglaterra o Francia fueron los principales consumidores. Más tarde llegó a América, aunque no fue hasta la década de 1920 cuando la espinaca logró ser popular, momento en el que se descubrieron sus magníficas propiedades nutricionales (Espinoza, 2019).

Actualmente el cultivo de la espinaca se extendió por todo el mundo, según la publicación de la FAO del año 2000 indican que la producción mundial es de unas 7.755.161 toneladas, donde el continente de mayor producción viene siendo Asia.

CUADRO I-2: Producción Mundial de la espinaca por continentes

Continente	Toneladas
Africa	85.000
Asia	6.872.577
Europa	512.675
América Norte y Central	266.890
Oceanía	7.200
Sudamérica	10.819
Total	7.755.161

Fuente: FAOSTAT Database Results, 2000.

Los principales países productores son:

CUADRO I-3: Producción Mundial de la espinaca por países

País	Toneladas
China	6.012.000
Japón	329.100
Estados Unidos de América	247.090
Turquía	190.000
Francia	130.000
Corea	129.000
Italia	85.367
Pakistán	80.212
Indonesia	61.124
Alemania	60.503

Fuente: FAOSTAT Database Results, 2000.

La espinaca en Bolivia, también se encuentra difundido a lo largo y ancho del país, donde las condiciones ecológicas posibilitan su desarrollo en una o dos épocas del año.

En el Departamento de Tarija se cultiva en diferentes partes del Valle Central, principalmente en Concepción, Calamuchita y otras comunidades aledañas al municipio de Uriondo, pero también se cultiva en otras comunidades pertenecientes al municipio de San Lorenzo (Tejerina y Nelson, 2019).

CUADRO I-4: Taxonomía de la espinaca

Reino	Vegetal
Phylum	Teleomorphytae
División	Tracheomorphytae
Sub división	Anthomorphyta
Clase	Angiospermae
Sub clase	Dicotyledoneae
Grado Evolutivo	Archichlamydeae
Grupo de Órdenes	Corolinos
Orden	Centrospermales
Familia	Chenopodiaceae
Nombre científico	<i>Spinacia oleracea</i> L.
Nombre común:	Espinaca

Fuente: Acosta y Florez (ver Anexo III), 2024.

1.8.1 Variedades de espinaca

1.8.1.1 Saboy: Tiene hojas oscuras, carnosas y gruesas, de color verde oscuro, presenta arrugas o pliegues y es la variedad de espinaca más tradicional que hay.

FIGURA I-9: Espinaca Saboy



Fuente: Morales, 2020.

1.8.1.2 Espinaca de hoja plana y suave: Este tipo tiene hojas lisas, sin arrugas ni ondulaciones. No acumulan tierra por ser lisas y son fáciles de limpiar.

FIGURA I-10: Espinaca de hoja plana y suave



Fuente: Sánchez, 2024.

1.8.1.3 Semi-saboy: Este es un tipo híbrido que normalmente tiene hojas semi arrugadas. Presenta menos pliegues en sus hojas y son resistentes a enfermedades, son de menor tamaño a las de saboy.

FIGURA I-11: Espinaca Semi-saboy

Fuente: Frank, 2020.

1.8.2 Composición de la espinaca

El valor nutritivo de las espinacas radica en su contenido en vitaminas y minerales.

CUADRO I-5: Composición nutritiva de las espinacas por 100 g

Nombres	Cantidad promedio	Unidad
Proximales		
Humedad	92,4	g
Nitrógeno	0,46	g
Proteína	2,91	g
Grasa	0,6	g
Ceniza	1,42	g
Carbohidratos	2,64	g
Fibra	1,6	g
Minerales		
Calcio	67	mg
Hierro	1,05	mg

Magnesio	93	mg
Fósforo	41	mg
Potasio	460	mg
Sodio	107	mg
Zinc	0,42	mg
Cobre	0,079	mg
Manganeso	0,426	mg
Yodo	6,1	µg
Selenio	<2,5	µg
Vitaminas y otros componentes		
Vitamina C	30,3	mg
Tiamina	0,076	mg
Riboflavina	0,192	mg
Niacina	0,51	mg
Vitamina B-6	0,214	mg
Biotina	4,25	µg
Folato total	113	µg
Beta caroteno	3670	µg
Luteína/zeaxantina	7920	µg

Fuente: Departamento de agricultura de los Estados Unidos, USDA, 2021.

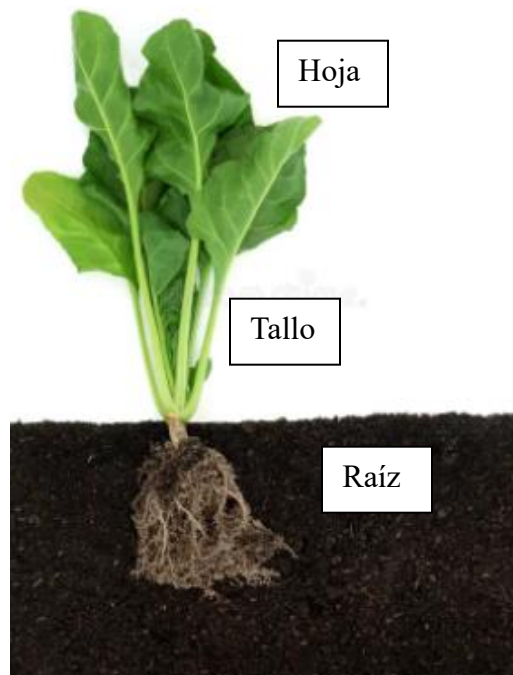
1.8.3 Morfología

1.8.3.1 Planta

En una primera fase forma una roseta de hojas de duración variable según condiciones climáticas y posteriormente emite el tallo. De las axilas de las hojas o directamente del cuello surgen tallitos laterales que dan lugar a ramificaciones secundarias, en las que pueden desarrollarse flores. Existen plantas masculinas, femeninas e incluso hermafroditas, que se diferencian fácilmente, ya que las femeninas poseen mayor

número de hojas basales, tardan más en desarrollar la semilla y por ello son más productivas (Ivonne y González, 2004).

FIGURA I-12: Planta de la espinaca



Fuente: Barbone, 2022.

1.8.3.2 Raíz

Es sencilla, poco ramificada, de tipo pivotante, capaz de alcanzar apenas un metro de profundidad, ya que es superficial. El ancho de la raíz de espinaca suele oscilar entre 30 y 180 centímetros aproximadamente (Espinoza, 2020).

1.8.2.3 Tallo

Su estructura es rudimentaria, de consistencia herbácea, de corta longitud y grosor, con medidas que oscilan entre 0,1 y 1 cm de diámetro. Funciona como sostén o soporte para una roseta de hojas (Espinoza, 2020).

1.8.2.4 Hoja

Son pecioladas, con un peciolo de forma cóncava, delgado, de color verdoso hacia la hoja y rosado a rojo en el punto de inserción en el tallo, éste también se caracteriza por ser largo (aproximadamente 1 cm) e ir disminuyendo hasta desaparecer en las hojas ubicadas en la parte superior. Las hojas de la espinaca son de color verde oscuro, con filotaxis alterna y poseen morfología heterogénea, que depende de la variedad y de la metodología utilizada para la siembra, de esta manera se pueden encontrar con formas desde ovaladas hasta sagitadas y triangulares. Sus bordes son enteros o también sinuosos y poseen una lámina carente de vellosidades (Espinoza, 2020).

1.8.2.5 Flores

Las flores son de tonalidades blancas o verdosas, dispuestas en grupos de 2 o 3, en estructuras llamadas glomérulos. Las flores son unisexuadas: Las masculinas poseen un perianto conformado por 5 sépalos, con pétalos ausentes, con 4 estambres ubicados en la base del mismo y las femeninas están agrupadas en glomérulos, poseen un ovario súpero, uniovular, un estilo y un estigma fragmentado en varios segmentos, en número de 3 a 5. La localización de las flores varía en función del sexo, así las femeninas están en la parte axilar, por su parte, las masculinas en la terminal del tallo (Espinoza, 2020).

FIGURA I-13: Flores de la planta de espinaca



Fuente: Gutierrez, 2014.

1.8.2.6 Semilla

La semilla de la espinaca es simple, seco e indehiscente, de tipo aquenio y es monospermo, es decir, contienen una única semilla de morfología orbicular, que se encuentra rodeada por un pericarpio de textura membranosa, bien sea liso o espinoso (Espinoza, 2020).

FIGURA I-14: Semilla secas de la planta de espinaca



Fuente: Perez, 2011.

CAPÍTULO II
PARTE EXPERIMENTAL

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1 Descripción de la materia prima

La espinaca es una verdura producida en distintos lugares de la ciudad de Tarija. Sin embargo, hay un lugar que se destaca con su producción y del cual se abastece la mayoría del mercado campesino, la comunidad de Erquis.

Es por ello que el presente proyecto utilizará las espinacas provenientes de esta comunidad, ya que tienen las hojas más grandes las cuales son de interés.

Las hojas de espinaca son de distintos tamaños y de distintos grosores, se lo encuentra en todas las épocas del año en los mercados, sin embargo, tiene un poco de escasez en la época de invierno.

FIGURA II-1: Espinaca obtenida del mercado campesino proveniente de la comunidad de Erquis



Fuente: Elaboración Propia, 2024.

2.2 Selección del método de obtención del beta caroteno

TABLA II-1: Ventajas y desventajas para la selección del método

MÉTODO	VIABILIDAD	VENTAJAS	DESVENTAJAS
EXTRACCIÓN SOXHLET	Es viable	-Permite extraer una buena cantidad debido al reflujo del solvente. -Accesible y fácil de usar	-Se extrae en tiempos mayores que en otro método. -Se usan altas relaciones masa:soluto.
EXTRACCIÓN POR MACERACIÓN	Es viable	Los tiempos de extracción son relativamente menores.	Se extrae cantidades mayores en comparación con el de Soxhlet. Tiempos de extracción considerablemente altos para extraer mayores cantidades
EXTRACCIÓN POR HIDRODESTILACIÓN	Es viable	El tiempo de extracción es mucho menor comparado con el Soxhlet.	Se extrae en cantidades menores y de baja calidad. Esta técnica es muy recomendada para extraer aceites esenciales en general, pero no para aislar compuestos determinados. No se obtiene altos rendimientos. Desventaja en tiempo de extracción

EXTRACCIÓN ASISTIDA POR MICROONDAS	No se dispone del equipo	El tiempo de extracción es mucho menor comparado con el ultrasonido	Si la temperatura se eleva demasiado provoca la degradación del compuesto. Contaminante al medio ambiente.
EXTRACCIÓN ASISTIDA POR ULTRASONIDO	No se dispone del equipo	Flexibilidad en el diseño de procesos continuos y por lotes	Alto consumo energético
EXTRACCIÓN CON FLUIDOS SUPERCRÍTICOS	No se dispone del equipo	No es tóxico, es amigable con el medio ambiente. Extraen compuestos y almacena sin afectar a los demás	Alto costo. Requiere equipos especiales. Presiones altas a manejar. Se trabaja a temperaturas bajas. Poca accesibilidad
EXTRACCIÓN ASISTIDA POR ENZIMAS	No es viable	Se obtienen altos rendimientos	No se dispone de las enzimas para la extracción.

Fuente: Elaboración propia con base en los trabajos de Carvallo, Colque, Cruz, Espinosa, Huasco y Medina, 2023.

En base a lo explicado, se analiza el método más viable según los equipos y requerimientos con los que se dispone en la Universidad Autónoma Juan Misael Saracho, de lo cual se obtiene:

- Extracción mediante el equipo de Soxhlet.
- Extracción por maceración.
- Extracción por hidrodestilación.

Para la selección del método de extracción, se realiza una matriz de selección, donde se califica tres factores a los tres métodos y se les asigna una puntuación del 0-1 (donde 0 es no viable y 1 es viable, valores intermedios es que puede ser como no puede ser viable tal factor en el método de extracción), el cual se multiplica por el porcentaje de importancia para luego ser sumado y posteriormente se selecciona el de mayor puntaje.

Donde:

A= Calificación

%= Porcentaje de importancia de cada factor

$B = A * \%$

TABLA II-2: Matriz de selección

Nº	%	Factores evaluados	Maceración		Soxhlet		Hidrodestilación	
			A	B	A	B	A	B
1	20	Viabilidad del equipo	1	20	1	20	1	20
2	30	Tiempo de extracción	0.4	12	0.8	24	0.6	18
3	30	Temperatura de extracción	1	30	0.8	24	0.6	18
4	20	Costos	1	20	1	20	0.7	14
Total				82		88		70

Fuente: Elaboración Propia, 2023.

La matriz muestra que el método de mayor puntaje es el método de extracción mediante el equipo soxhlet.

Para la realización de una extracción por solventes se debe de analizar el tipo de solventes que se va a utilizar, por lo que se realiza una tabla de ventajas y desventajas de los distintos disolventes que se usan para la obtención de beta caroteno.

TABLA II-3: Selección del solvente a utilizar

Tipo de Disolvente	Ventajas	Desventajas
Hexano	<ul style="list-style-type: none"> -Rendimiento de extracción alto -Bajo punto de ebullición -Buena selectividad del compuesto a separar 	<ul style="list-style-type: none"> -Sustancia Controlada -Precio elevado -Contaminante con el medio ambiente -Tóxico
Acetona	<ul style="list-style-type: none"> -Buen rendimiento -Bajo punto de ebullición -Menos tóxico que el hexano 	<ul style="list-style-type: none"> -Sustancia Controlada -Precio elevado
Etanol	<ul style="list-style-type: none"> -Eficiente en la extracción -Baja toxicidad -Punto de ebullición moderado -Accesible -Amigable con el medio ambiente 	<ul style="list-style-type: none"> -No es selectivo -Evaporación rápida
Agua	<ul style="list-style-type: none"> -No es tóxico -Extrae compuestos hidrosolubles -No deja residuos de otros solventes -Bajo costo y accesible -Amigable con el medio ambiente 	<ul style="list-style-type: none"> -No es eficiente para extraer compuestos como terpenos o flavonoides -Alto punto de ebullición -Poca selectividad -Presencia de agua residual -Formación de emulsiones

Fuente: Elaboración propia, 2023.

Observando las ventajas y desventajas, se concluye trabajar con etanol como solvente en este proyecto de investigación.

2.3 Diseño experimental

2.3.1 Variables que afectan en la obtención del beta caroteno

Como variable dependiente se tiene a la concentración del extracto obtenido. Las variables independientes identificadas son el tiempo de extracción, porcentaje de humedad, temperatura de extracción, concentración del solvente y la relación soluto:solvente.

2.3.1.1 Selección de las variables para el proceso de la obtención de beta caroteno

En este proyecto de investigación, se estudiarán tres factores en la etapa de extracción: Tiempo, temperatura y concentración del solvente.

Muchos trabajos y autores determinan que el tiempo y temperatura de extracción son elementos fundamentales para obtener una mayor cantidad de beta caroteno, sin embargo, se debe tener cuidado, ya que, si la extracción es realizada en un alto periodo de tiempo, a una temperatura elevada, se tiene una degradación del beta caroteno y lleva consigo impurezas.

Wiyarath y Watanapa (2014), en su trabajo *Evaluar la extracción de β -caroteno del aceite de palma crudo utilizando extracción Soxhlet*, utilizaron una mezcla de isopropanol y hexano con una relación de soluto:solvente de 1:100, a un tiempo de 180 minutos y una temperatura mayor a 80 °C. Obtuvieron un rendimiento de 21,91% en peso de beta caroteno, lo cual demuestra una alta eficiencia del método bajo las condiciones empleadas. Destacan la combinación de solvente utilizado y demuestran que la extracción Soxhlet a temperaturas superiores a 80°C es efectiva para obtener beta caroteno.

Cardenas-Toro, Alcázar-Alay, Coutinho, Godoy, Forster-Carneiro y Meireles (2015), en su trabajo *Extracción de carotenoides de fibra de palma prensada mediante líquidos presurizados y extracción con solventes a baja presión: evaluación experimental y*

económica, lograron extraer α y β -caroteno de la fibra de palma a través de la técnica estandarizada Soxhlet. Los autores evaluaron diversas variables de proceso de extracción, como el tipo de solvente, el tiempo de extracción, la temperatura y la relación soluto:solvente, en donde obtuvieron un rendimiento con una concentración final de $30 \pm 2 \mu\text{g } \beta\text{-caroteno/g Palma (base seca)}$ a un tiempo de 360 minutos y a temperatura de 78.4°C .

En el año 2020, Tarazona-Díaz, Becerra, Piedra y Beltrán, trabajaron en *Obtención de un colorante a partir de corteza de maracuyá con el uso de técnicas convencionales de extracción*, donde obtuvieron el mayor rendimiento por el método de extracción Soxhlet, en el cual se empleó etanol al 90% como solvente, una proporción de 50 ml/g de corteza y un tiempo de 150 min de operación. Bajo estas condiciones, lograron obtener un 6,51% de extracto, correspondiente a $2208,53\mu\text{g}\beta\text{-caroteno/100g muestra}$.

En el año 2020 Becerra-Ospina, Muñoz-Betancourt y Lucero-Bustos, trabajaron en *Obtención de un extracto antociánico a partir del residuo de mora de castilla (Rubus glaucus Benth)*, donde realizaron pruebas tanto en el equipo Soxhlet como con el equipo de ultrasonido, utilizando para la extracción etanol en concentraciones de 75%, 85% y 96% (v/v). Se obtuvo el mayor rendimiento de 65,8 g de extracto/100g de residuo, en el cual la concentración del compuesto fue de 661,944 mg/l de cianidin-3-glucosido. Estos resultados se consiguieron bajo condiciones específicas: 240 minutos de extracción, concentración de etanol al 75% y una temperatura al punto de ebullición del solvente.

Castro y Mendoza (2021), en su trabajo titulado *Evaluación de la obtención de colorante natural a partir del hollejo de uva (vitis vinifera 'cabernet sauvignon') y la cáscara de mandarina (citrus reticulata) para aplicación en la industria alimentaria*, trabajaron con el equipo Soxhlet y obtuvieron 1139 μg de beta caroteno, usando etanol al 96% a una temperatura de 70°C y un tiempo de extracción de 240 min.

Por tanto, en base a la bibliografía consultada, se determina realizar el proyecto de investigación con las siguientes variables y niveles:

- **Temperatura:** Se seleccionó un nivel bajo de 75°C, cercano al punto de ebullición del etanol en el departamento de Tarija (aproximadamente 73°C) y un nivel alto de 100 °C. Con esta elección se evaluará la eficiencia del proceso tanto en condiciones cercanas al punto de ebullición como en un escenario de mayor temperatura.
- **Tiempo:** Se tomo un nivel bajo de 240 minutos y un nivel alto de 360 minutos, esto debido a que en un tiempo más bajo no se lograría apreciar la influencia de diferencia de rendimiento con el tiempo más alto, por lo que se opta por 240 min para ver el rango de impacto de dos horas y la diferencia que genera.
- **Concentración de solvente (etanol):** Con nivel bajo de 90% y un nivel alto de 96%, esto debido a las investigaciones de diversos autores que trabajaron con ambas concentraciones y sacaron buenos rendimientos, es por ello que se quiere investigar la influencia que se tiene en el cambio de concentración del solvente.

2.4 Diseño factorial para la obtención de beta caroteno

El diseño experimental es una serie de pruebas en las cuales se inducen cambios deliberados en las variables de un proceso o sistema, de manera que sea posible observar e identificar las causas de los cambios en las respuestas de salida (Montgomery, 1991).

Se aplica el diseño factorial 2^k , donde cada uno de los factores cuentan con dos niveles, estos niveles pueden ser cuantitativos o cualitativos. Este diseño describe como realizar los experimentos de la forma más adecuada para conocer simultáneamente qué efecto tienen k factores sobre una respuesta y descubrir si interaccionan entre ellos (Fernández, 2020).

Por lo cual, se aplicó el siguiente diseño factorial:

$$2^3=2*2*2= 8 \text{ pruebas a realizar}$$

Sin embargo, se estima la realización de una repetición, por lo cual se obtiene:

16 experimentos

Los factores escogidos y su dominio experimental en el proceso de extracción sólido-líquido de beta caroteno se muestra en la siguiente tabla:

TABLA II-4: Variables para el diseño factorial

VARIABLES	Unidad de medida	DOMINIO EXPERIMENTAL	
		NIVEL (-)	NIVEL (+)
Tiempo (Variable 1)	Minutos (min)	240	360
Temperatura (Variable 2)	Grados Celsius (°C)	75	100
Concentración del solvente (Variable 3)	Grado alcohólico (%)	90	96

Fuente: Elaboración Propia, 2024.

En este diseño se realizan todas las combinaciones posibles entre los efectos, para ello se crea la matriz de diseño. En ella se utilizan los signos – y + para ambos niveles de un factor y se realiza de la siguiente forma: en la primera columna se alternan los signos comenzando por el -. En la segunda columna se alternan los signos de dos en dos, en la tercera de cuatro en cuatro, en la cuarta de ocho en ocho y así sucesivamente. Siempre comenzando con el signo - (Fernandez, 2020).

TABLA II-5: Matriz de experimentos y plan de experimentación

Prueba	Matriz de experimentos			Plan de experimentación		
	Variable 1	Variable 2	Variable 3	Tiempo (min)	Temperatura (°C)	Concentración del solvente (%)
1	-1	-1	-1	240	75	90%
2	1	-1	-1	360	75	90%
3	-1	1	-1	240	100	90%

4	1	1	-1	360	100	90%
5	-1	-1	1	240	75	96%
6	1	-1	1	360	75	96%
7	-1	1	1	240	100	96%
8	1	1	1	360	100	96%

Fuente: Elaboración Propia, 2024

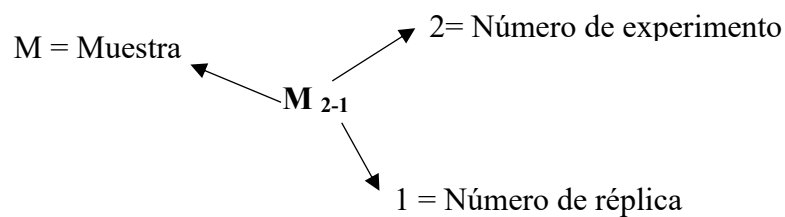
Se realiza entonces el plan de experimentación para cada repetición

TABLA II-6: Plan de experimentación para cada repetición

Muestra	Tiempo (min)	Temperatura (°C)	Concentración del solvente (%)	
M ₁₋₁	240	75	90	Réplica 1
M ₂₋₁	360	75	90	
M ₃₋₁	240	100	90	
M ₄₋₁	360	100	90	
M ₅₋₁	240	75	96	
M ₆₋₁	360	75	96	
M ₇₋₁	240	100	96	
M ₈₋₁	360	100	96	
M ₁₋₂	240	75	90	Réplica 2
M ₂₋₂	360	75	90	
M ₃₋₂	240	100	90	
M ₄₋₂	360	100	90	
M ₅₋₂	240	75	96	
M ₆₋₂	360	75	96	
M ₇₋₂	240	100	96	
M ₈₋₂	360	100	96	

Fuente: Elaboración Propia, 2024.

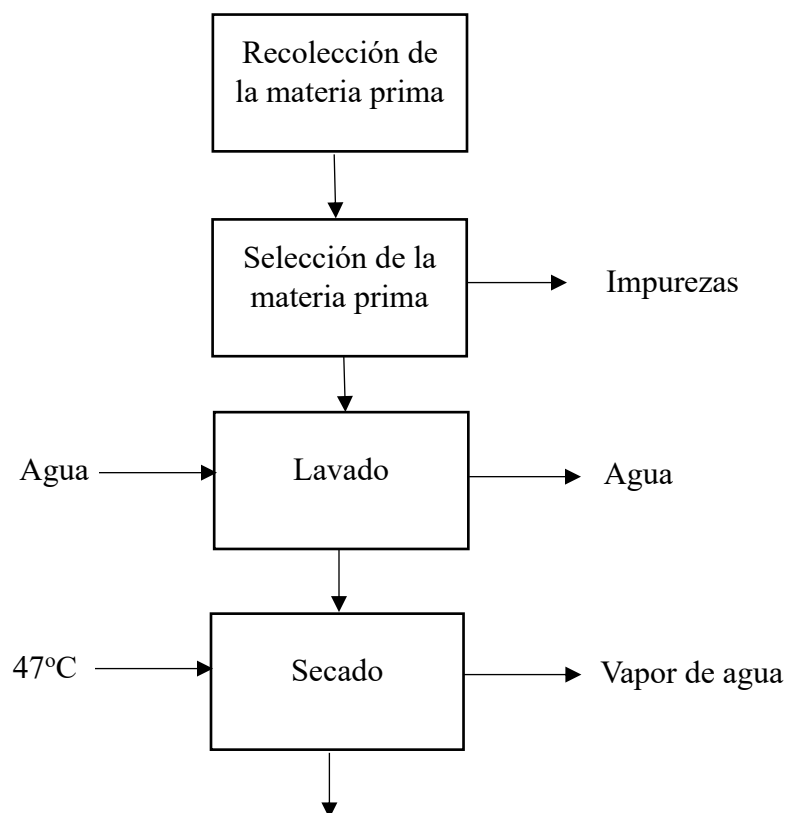
Descripción de la abreviación M_{2-1} :

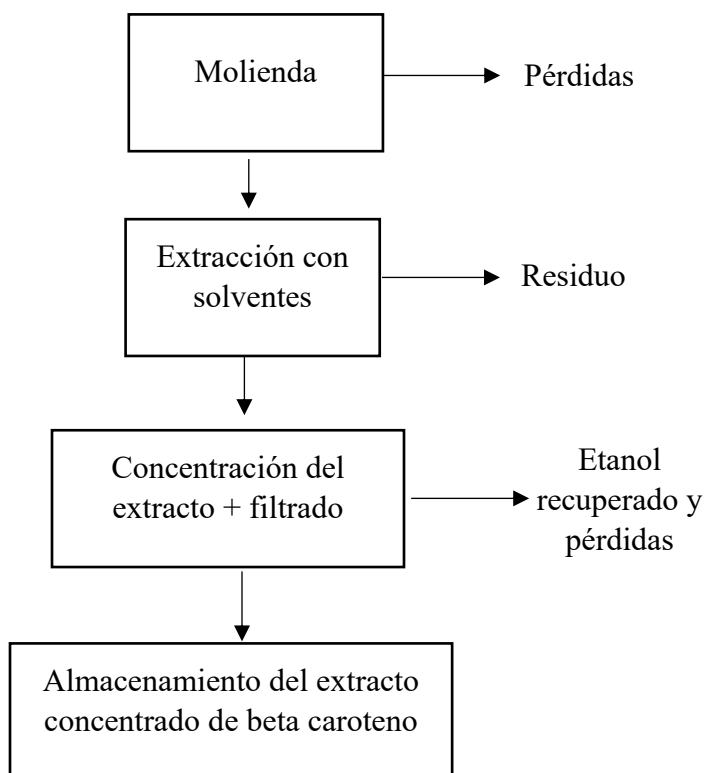


2.5 Descripción del método experimental seleccionado para la obtención del beta caroteno

En la figura II-2 se observan las etapas del método experimental para la obtención de beta caroteno a partir de la espinaca que se va a realizar, mostrando con claridad los parámetros que se tomarán en cuenta para cada etapa.

FIGURA II-2: Diagrama de bloques del método de obtención de beta caroteno a partir de la espinaca





Fuente: Elaboración propia, 2024.

A continuación, se describe el proceso de las etapas:

2.5.1 Recepción de la materia prima

La materia prima que se utiliza en este proyecto de investigación es la espinaca (*Spinacia oleracea* L.) procedente de la comunidad de Erquis, ya que es la comunidad que más abastece a los mercados internos de Tarija.

2.5.2 Selección de la materia prima

Se selecciona las hojas de las espinacas que están en buen estado, ya que puede contaminar nuestra materia prima de interés, por lo que es esencial el descarte de impurezas y la separación de los tallos.

FIGURA II-3: Selección de las hojas de espinaca



Fuente: Elaboración propia, 2024.

Procedimiento:

1. Pesar la materia prima obtenida del mercado campesino en la balanza digital (especificaciones en el Anexo IV).
2. Se separa manualmente las hojas de la espinaca, cortando los tallos y retirando impurezas.
3. Seleccionar las hojas que se encuentran en buen estado y libres de daños o signos de deterioro.
4. Pesar las hojas seleccionadas en la balanza digital.
5. Medir el contenido de humedad de las hojas seleccionadas utilizando el secador infrarrojo (especificaciones en el Anexo IV).

2.5.3 Lavado de la materia prima

Las hojas seleccionadas proceden a lavado para remover impurezas adheridas en su superficie. Este lavado se realiza en el fregadero del Laboratorio de Operaciones Unitarias, ubicado en el primer piso.

FIGURA II-4: Lavado de la materia prima



Fuente: Elaboración propia, 2024.

Procedimiento:

1. Lavar las hojas seleccionadas en el fregadero, eliminando las impurezas y posibles residuos sobrantes si hubiera.
2. Pesar las hojas lavadas en la balanza analítica.
3. Medir la humedad en el secador infrarrojo.

2.5.4 Secado de la materia prima

El secado de la materia prima es indispensable para evitar la interferencia del agua con el solvente al momento de la extracción.

Se tiene en cuenta que la temperatura de secado no sobrepase una temperatura de 50°C, dado que, según bibliografía consultada, temperaturas superiores pueden inducir a la degradación del beta caroteno.

El secado de las hojas de espinaca se realiza hasta obtener una humedad constante. Experimentalmente se obtuvo un tiempo de secado de aproximadamente 810 min y una humedad de 3,47 %.

FIGURA II-5: Secado de la materia prima



Fuente: Elaboración propia, 2024.

Procedimiento:

1. Precalentar la estufa (especificaciones en el Anexo IV) hasta alcanzar una temperatura estable menor a 50°C.
2. Se trocear las hojas de espinaca y se distribuye uniformemente sobre la rejilla de secado, posteriormente se lo introduce a la estufa.
3. Realizar mediciones periódicas de humedad hasta obtener un valor de humedad constante.
4. Retirar y pesar las hojas deshidratadas obtenidas.
5. Almacenar la muestra en una bolsa hermética y en un lugar oscuro.

2.5.5 Molienda

Posterior al secado se procede a la molienda, donde se utiliza el molino de martillos (especificaciones en el Anexo IV) para obtener partículas finas de las hojas secas de espinaca y favorecer el contacto con el solvente al momento de la extracción. Como no se necesita un tamaño específico de partícula, no se realizó una separación granulométrica mediante tamizado. El molino de martillos se encuentra en el Laboratorio de Operaciones Unitarias de la carrera de Ingeniería Química.

FIGURA II-6: Molienda de la materia prima



Fuente: Elaboración propia, 2024.

Procedimiento:

1. Armar el equipo de molino de martillos, teniendo en cuenta las recomendaciones dadas para su uso.
2. Estrujar la muestra seca obtenida para reducir su tamaño.
3. Introducir la muestra en la carga para proceder a la molienda.
4. Pesar la muestra pulverizada obtenida y almacenarlo en una bolsa hermética en un lugar oscuro para evitar degradación.

2.5.6 Extracción con solvente sólido-líquido

Según la Tabla II-1, se seleccionó la extracción Soxhlet, por lo que se utiliza el Equipo Soxhlet que se encuentra en el primer piso del Laboratorio de Operaciones Unitarias (ver especificaciones en el Anexo V). Se usa como solvente el etanol debido a la observación de ventajas y desventajas de la Tabla II-3.

FIGURA II-7: Equipo Soxhlet del Laboratorio de Operaciones Unitarias



Fuente: Elaboración propia, 2024.

Procedimiento:

1. Preparar un cartucho con papel filtro y pesarlo
2. Pesar 30 gramos de espinaca pulverizada e introducirlo al cartucho
3. Cerrar el cartucho y pesarlo
4. Añadir a la olla de tapa roja 1500 ml de solvente etanol, que es la cantidad mínima que se necesita para hacer la recirculación en el equipo.
5. Introducir el cartucho con la muestra dentro del recipiente en forma de tarro lechero y poner encima un objeto que evite que éste flote a medida que suceda la extracción
6. Armar el equipo como muestra la figura II-7
7. Calentar el equipo y soltar el agua para su circulación en el condensador de la parte superior. Tras el primer ciclo, inicia el control del tiempo.

8. Posteriormente, se deja enfriar el extracto obtenido y se mide la densidad con el alcoholímetro.

FIGURA II-8: Medición con el alcoholímetro del extracto obtenido



Fuente: Elaboración propia, 2024.

2.5.7 Concentración del extracto de beta caroteno

La concentración del extracto se realiza en un evaporador rotativo (especificaciones en el Anexo IV), perteneciente al Laboratorio de Operaciones Unitarias en planta baja.

Este equipo utiliza una bomba al vacío que ayuda a reducir la presión del proceso, lo cual disminuye el punto de ebullición del etanol permitiendo que se evapore a una temperatura inferior a 50°C y así evitar la degradación del beta caroteno.

Se realizaron pruebas preliminares para observar la degradación del beta caroteno con forme a la velocidad de giro y la concentración final obtenida (ver Anexo VII), donde se determinó las condiciones de trabajo de 120 rpm y una concentración final de 30 ml (concentración en la que se obtiene mayor cantidad de beta caroteno).

FIGURA II-9: Equipo de Evaporador Rotativo



Fuente: Elaboración propia, 2024.

FIGURA II-10: Extracto obtenido trasvasado al balón con forma de pera



Fuente: Elaboración propia, 2024.

Procedimiento:

1. Armar el equipo evaporador rotativo, teniendo en cuenta las recomendaciones y el manual pegado en la pared.
2. Transferir el extracto obtenido mediante el equipo Soxhlet al balón de fondo redondo con forma de pera.
3. Conectar el balón con el extracto al adaptador del evaporador rotativo y en el extremo opuesto al sistema, conectar un balón receptor de fondo redondo para la recolección del etanol recuperado por la destilación.

4. Se establece en el panel de mando del equipo una temperatura de calentamiento de 41 °C y una velocidad de rotación de 30 rpm.
5. A medida que el equipo se acerque a la temperatura seleccionada, se abre el grifo para que circule el agua en el condensador, se enciende la bomba de vacío y se cierra la válvula de entrada de aire del condensador.
6. Se aumenta los rpm hasta 120, teniendo cuidado en la formación de burbujas que se crean dentro del balón.
7. Cuando la concentración llegue a 30 ml, se apaga la bomba al vacío, se desmonta el balón tipo pera y se filtra el extracto concentrado obtenido
8. Se pesa el extracto concentrado obtenido y se mide el volumen de etanol recuperado

Procedimiento para la determinación de humedad del extracto:

1. Se pesa una alícuota de extracto concentrado y se lleva a secado en estufa (especificaciones en el Anexo IV) a 105°C, realizándose pesadas periódicas hasta alcanzar una masa constante.

2.5.8 Almacenamiento del extracto concentrado de beta caroteno de la espinaca

El extracto concentrado obtenido es recolectado en frascos de vidrio color ámbar y se lo almacena en el equipo de refrigeración (especificaciones en el Anexo IV) a una temperatura de 4°C.

FIGURA II-11: Muestras de Extracto Concentrado



Fuente: Elaboración propia, 2024.

2.6 Análisis cuantitativo de beta caroteno

Para la realización del análisis cuantitativo del beta caroteno en el extracto concentrado obtenido, se utiliza el espectrofotómetro UV-Visible (especificaciones en el Anexo IV) que se encuentra en el Laboratorio de Suelos de la carrera de Agronomía.

FIGURA II-12: Equipo Espectrofotómetro UV-VIS del Laboratorio de Suelos de Agronomía



Fuente: Elaboración propia, 2024.

Para la cuantificación de los extractos obtenidos, se requiere la elaboración de una curva patrón utilizando beta caroteno de alta pureza como estándar de referencia.

El beta caroteno empleado para esta curva patrón fue adquirido de la empresa Biopharma (ficha técnica en Anexo XI), localizada en el departamento de Tarija.

FIGURA II-13: Beta caroteno comercial utilizado



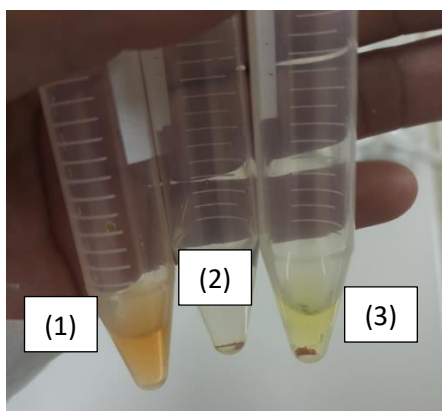
Fuente: Elaboración propia, 2024.

2.6.1 Curva patrón de beta caroteno comercial

Se realiza una curva patrón para la determinación de concentración de una muestra incógnita, esta curva se construye con cantidades conocidas y refleja una relación lineal entre la absorbancia y la concentración de la solución madre.

Antes, se realizó la solubilidad del beta caroteno comercial en tres distintos solventes: (1) agua ultra pura; (2) alcohol isopropílico; (3) acetona.

FIGURA II-13: Prueba de solubilidad del beta caroteno comercial en tres distintos solventes

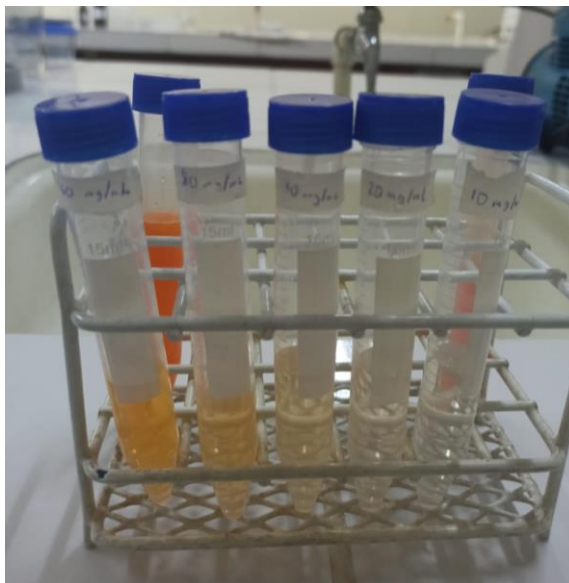


Fuente: Elaboración propia, 2024.

Se observa que el beta caroteno comercial tiene una mayor solubilidad en agua ultra pura en comparación con los otros solventes evaluados, por ello, se determinó trabajar con este solvente para la preparación de la solución madre.

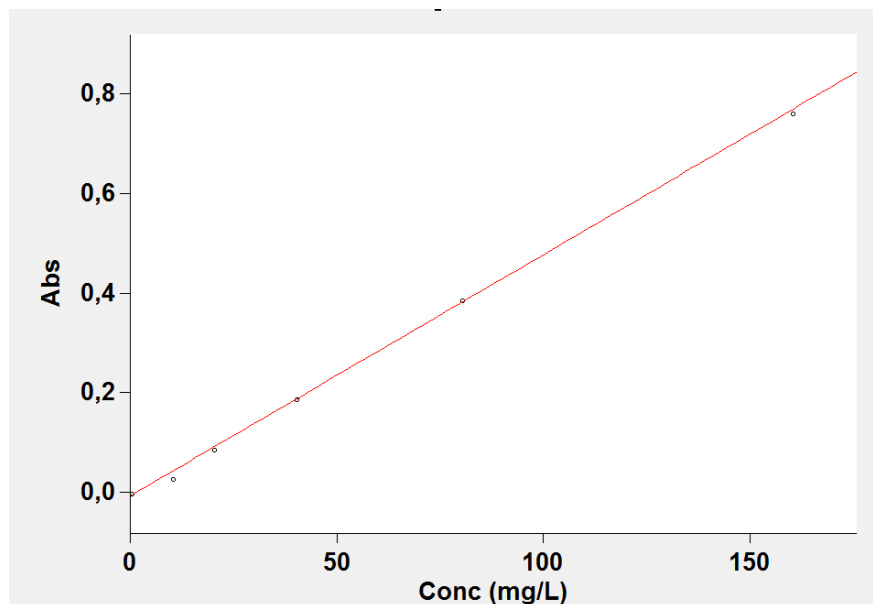
Para la elaboración de la curva patrón, se trabajó con cuatro concentraciones conocidas: 15 ppm, 20 ppm, 60 ppm y 1000 ppm, de las cuales la última fue la que dio un coeficiente de relación lineal cercano a 1 ($R^2=0,99933$) entre la concentración y la absorbancia (ver Anexo VI).

FIGURA II-14: Concentraciones de la solución madre preparada



Fuente: Elaboración propia, 2024.

FIGURA II-15: Curva patrón de beta caroteno comercial a una concentración de 1000 ppm



Fuente: Resultados obtenidos por el espectrofotómetro UV-VIS (ver Anexo VI), 2024.

Procedimiento:

1. Pesar 0,01 g de beta caroteno comercial en una balanza analítica.

2. Introducirlo en un matraz aforado de 10 ml.
3. Añadir el solvente, agua ultra pura, hasta el aforo.
4. Esperar 30 minutos para la observación del menisco, en caso de que bajara, añadir más solvente hasta el aforo.

$$\text{Concentración (ppm)} = \frac{10 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} * 1000 \quad \text{Ec. 2. 1}$$

$$\text{Concentración (ppm)} = 1000$$

5. Se prepara soluciones hijas con concentraciones de 10, 20, 40, 80 y 160 ppm, los volúmenes que se toman de la solución madre fueron calculados de la siguiente manera:

$$V_1 * C_1 = V_2 * C_2 \quad \text{Ec. 2. 2}$$

$$V_1 = \frac{V_2 * C_2}{C_1} \quad \text{Ec 2. 3}$$

Soluciones hijas:

$$V_1 = \frac{10 \text{ ppm} * 10 \text{ ml}}{1000 \text{ ppm}} = 0,1 \text{ ml}$$

$$V_2 = \frac{20 \text{ ppm} * 10 \text{ ml}}{1000 \text{ ppm}} = 0,2 \text{ ml}$$

$$V_3 = \frac{40 \text{ ppm} * 10 \text{ ml}}{1000 \text{ ppm}} = 0,4 \text{ ml}$$

$$V_4 = \frac{80 \text{ ppm} * 10 \text{ ml}}{1000 \text{ ppm}} = 0,8 \text{ ml}$$

$$V_5 = \frac{160 \text{ ppm} * 10 \text{ ml}}{1000 \text{ ppm}} = 1,6 \text{ ml}$$

TABLA II-7: Volúmenes y concentración de las soluciones hijas

Concentración (ppm)	Volumen que se toma de la solución madre (ml)	Volumen añadido de agua ultra pura (ml)
0	0	10
10	0.1	9,9
20	0.2	9,8
40	0.4	9,6
80	0.8	9,2
160	1,6	8,4

Fuente: Elaboración propia, 2024.

Nota: Como son volúmenes muy pequeños, se utilizó micropipetas para la precisión.

6. Se toma una solución hija y se le realiza un barrido espectral en el espectrofotómetro, donde se obtiene un pico máximo a 442 nm (ver Anexo IX).
7. Con la longitud de onda obtenida, se procede a la lectura de las demás soluciones hijas en el espectrofotómetro y se crea una curva de absorbancia vs concentración (ver Anexo VI).

2.6.2 Cuantificación de los extractos concentrados obtenidos de beta caroteno

Ya teniendo la curva patrón, se puede cuantificar cuánto de beta caroteno se tiene en los extractos concentrados obtenidos. Para ello se realizan las mismas diluciones (1/1000) a cada extracto concentrado y se leen en el espectrofotómetro UV-VIS (ver Anexo VIII).

FIGURA II-16: Dilución de los extractos concentrados



Fuente: Elaboración propia, 2024.

Procedimiento:

1. Se toma una alícuota de 0,1 ml de extracto concentrado y se deposita en los tubos de ensayo cónicos, como es un volumen muy bajo se usa las micropipetas.
2. Añadir 9,9 ml de agua ultra pura, tapar y agitar para una mezcla uniforme.
3. Tomar otra alícuota de esta mezcla de 1 ml y depositar en otro tubo de ensayo cónico.
4. Añadirle 9 ml de agua ultra pura, tapar y agitar para mezcla uniforme.
5. Realizar los pasos 1,2,3,4 para los extractos concentrados obtenidos

Primera dilución: 1/100,

Segunda dilución 1/10

Dilución Total= 1/1000

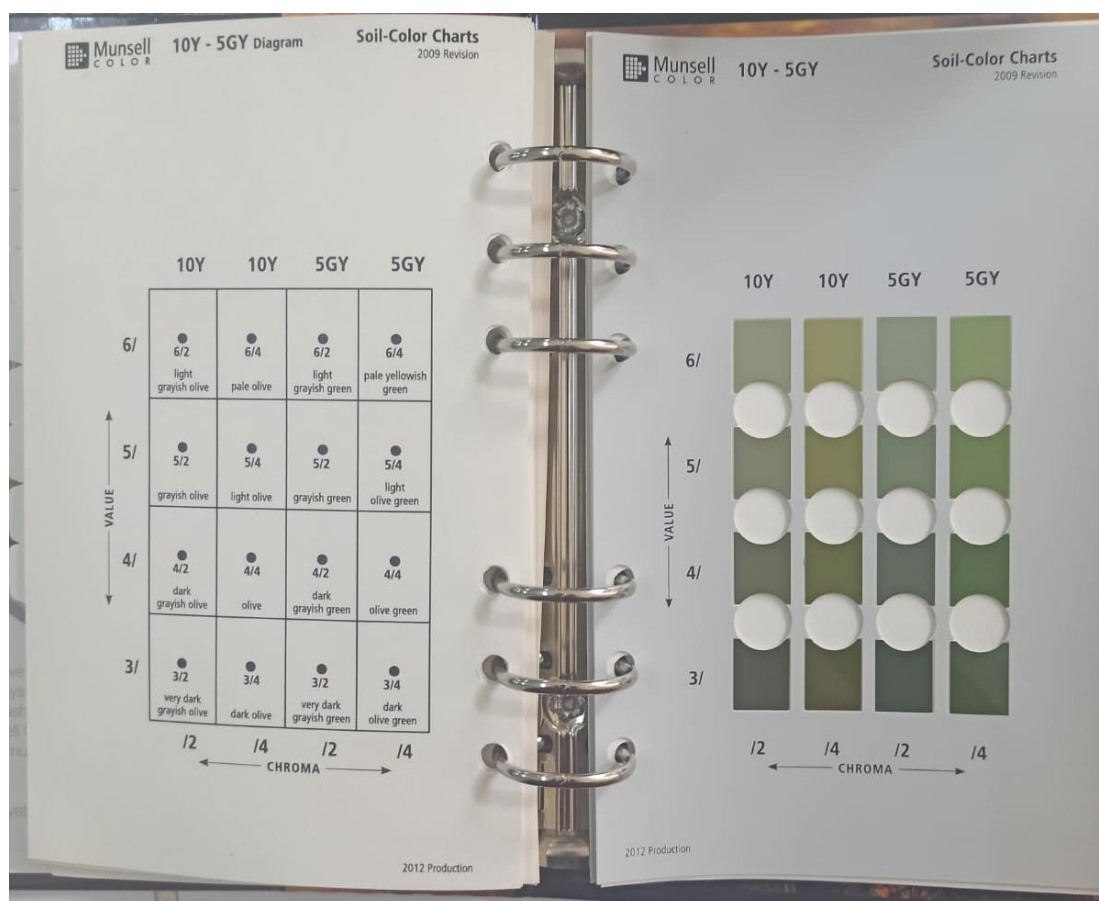
6. Introducir las muestras en las celdas del espectrofotómetro y dar lectura, teniendo en cuenta que la primera lectura se hace al blanco.

Nota: El blanco utilizado es el agua ultra pura.

2.7 Análisis de color al extracto concentrado de beta caroteno de espinaca

Para el análisis de color del extracto concentrado obtenido, se usa la tabla Munsell (especificaciones en Anexo X), donde se coloca la muestra en un recipiente de vidrio y se busca el color similar, poniendo detrás de los orificios en las tablas de color Munsell para observar su tonalidad.

FIGURA II-17: Tabla de color Munsell utilizado (especificaciones en Anexo X)



Fuente: Elaboración propia, 2024.

FIGURA II-18: Tonalidad del extracto concentrado obtenido



Fuente: Elaboración propia en base a la tabla Munsell utilizada (especificación en Anexo X), 2024.

Procedimiento:

1. Buscar la tonalidad en la tabla de color Munsell (ver Figura II-17).
2. Una vez identificado el color, se observa el número de valor y croma en el que se encuentra (en este caso 3/4), se busca en la página adyacente la expresión obtenida y se halla el nombre del color.
3. Se registra de la siguiente forma:

Nombre de la tabla de color utilizada-Número de valor/número de croma

Nombre de color

Por lo que, a la muestra de extracto concentrado de beta caroteno a partir de la espinaca se lo registra como:

10Y-5GY-3/4 verde oliva oscuro

2.8 Cuantificación y análisis de color a la muestra separada del extracto concentrado de beta caroteno

Para la cuantificación e identificación del color al beta caroteno de la espinaca, se realiza una separación por cromatografía en columna al extracto concentrado obtenido que presentó mayor concentración.

2.8.1 Cromatografía en columna

Procedimiento:

1. Armar el equipo como se arma para el método analítico de titulación, la bureta se lava con etanol previamente.
2. Introducir un trozo de algodón hasta el final de la bureta, teniendo cuidado de no taponar la llave de paso.
3. Añadir una cantidad de etanol para humedecer el algodón y descargar para evitar presencia de burbujas.
4. Pesar 15 gramos de silica gel 60 y mezclar con 37,5 ml de agua destilada, agitar continuamente.
5. Añadir nuevamente etanol en la columna y se deja abierta la llave de paso.
6. Se añade la mezcla de silica gel antes de que el etanol se baje por completo de la bureta.
7. Se compacta la columna dando golpecillos con una varilla de vidrio a los costados de la bureta durante 10 minutos, teniendo en cuenta que la llave de paso siempre esté abierta y que en la parte superior se tenga sigue el etanol.
8. Añadir cloruro de sodio en pequeña cantidad para que actúe como filtro.
9. Cuando quede aproximadamente 2 ml de etanol arriba, se introduce 2 ml del extracto concentrado obtenido de beta caroteno.
10. A medida que pase el tiempo, la columna mostrará la separación de los componentes en forma descendente. Añadir etanol en la parte superior si es que se estuviera acabando.
11. Recolectar la muestra separada en tubos de ensayo y taponar.

FIGURA II-19: Cromatografía en columna para la separación de beta caroteno de la extracción concentrada obtenida



Fuente: Elaboración propia, 2024.

Según Khabe (2024), el primer componente separado es el beta caroteno, los demás componentes separados son clorofila a, clorofila b y luteína.

FIGURA II-20: Separación del betacaroteno de la clorofila



Fuente: Elaboración propia, 2024.

2.8.2 Cuantificación de la muestra separada de beta caroteno por cromatografía en columna.

Para la cuantificación del beta caroteno, se realiza una dilución de 1/100 de la muestra separada, posteriormente se da lectura en el espectrofotómetro UV-VIS ubicado en el Laboratorio de Suelos de Agronomía (ver Anexo XII).

FIGURA II-21: Dilución de la muestra separada de beta caroteno por cromatografía en columna



Fuente: Elaboración propia, 2025.

Procedimiento:

1. Se toma una alícuota de 0,1 ml de la muestra separada y se deposita en el tubo de ensayo.
2. Se añade 9,9 ml de agua ultra pura, tapar y agitar para una mezcla uniforme.

$$\text{Dilución Total} = 1/100$$

3. Se introduce la muestra en la celda del espectrofotómetro y se da lectura, teniendo en cuenta que la primera lectura se hace al blanco.

Nota: El blanco utilizado es el agua ultra pura.

2.8.3 Análisis de color a la muestra separada del extracto concentrado de beta caroteno de espinaca

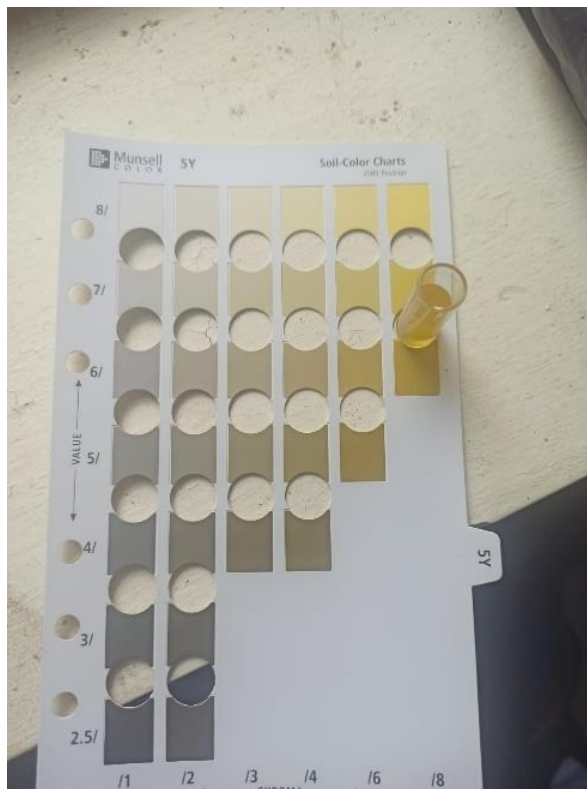
Para el análisis de color de la muestra separada del extracto concentrado obtenido, se procede a los mismos pasos que cuando se hizo el análisis de color del extracto concentrado obtenido de beta caroteno, es decir, se usa la tabla Munsell (especificaciones en Anexo X), donde se coloca la muestra en un recipiente de vidrio y se busca el color similar, poniendo detrás de los orificios en las tablas de color Munsell hasta observar una tonalidad similar.

FIGURA II-22: Tabla de color Munsell utilizado (especificaciones en Anexo X).



Fuente: Elaboración propia, 2024.

FIGURA II-23: Tonalidad de la muestra separada de beta caroteno



Fuente: Elaboración propia en base a la tabla Munsell utilizada (especificación en Anexo X), 2024.

Procedimiento:

1. Buscar la tonalidad en la tabla de color Munsell (ver Figura II-22).
2. Una vez identificado el color, se observa el número de valor y croma en el que se encuentra (en este caso 6/8), se busca en la página adyacente la expresión obtenida y se halla el nombre del color.
3. Se registra de la siguiente forma:

Nombre de la tabla de color utilizada-Número de valor/número de croma

Nombre de color

Por lo que, a la muestra separada del extracto concentrado de beta caroteno a partir de la espinaca se lo registra como:

5Y-6/8 amarillo oliva

CAPÍTULO III

DISCUSIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

3. DISCUSIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

3.1 Resultados de la caracterización fisicoquímica de la espinaca

Los análisis fisicoquímicos realizados a la espinaca se detallan a continuación en la Tabla III-1:

TABLA III-1: Características fisicoquímicas de la Espinaca

Espinaca (<i>Spinacia Oleracea</i> L.)		
Parámetro	Valor	Unidad
Ceniza	1,79	g/100g
Fibra	0,95	g/100g
Grasa	0,29	g/100g
Hidratos de carbono	4,61	g/100g
Humedad	89,38	g/100g
Proteína Total (N _{x6,25})	3,93	g/100g
Valor energético	37	Kcal/100g
Beta caroteno *	3670	μg/100g

Fuente: Centro de Análisis, Investigación y Desarrollo (CEANID), 2024.

*Cantidad de beta caroteno determinada a partir de los datos proporcionados por el Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA), 2021.

3.2 Datos obtenidos de la variación de la humedad con respecto al tiempo en el proceso de secado de las hojas de espinaca

Se realizó el análisis del contenido de humedad utilizando el secador infrarrojo (especificaciones en el Anexo IV). Este proceso se inicia cuando la muestra ingresa a la estufa (especificaciones en el Anexo IV) y se registra el contenido de humedad cada hora y media.

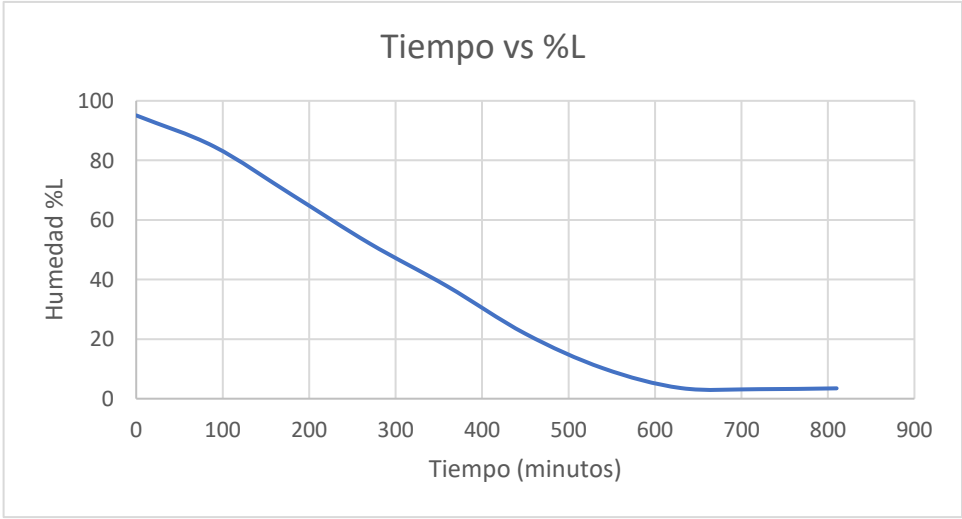
En la siguiente tabla se muestra los datos registrados de porcentaje de humedad respecto al tiempo de las hojas de espinaca:

TABLA III-2: Variación del porcentaje de humedad respecto al tiempo

Tiempo (min)	Porcentaje de Humedad %L
0	95,1
90	84,65
180	68,46
270	52,13
360	37,69
450	21,82
540	10,2
630	3,57
720	3,20
810	3,48

Fuente: Elaboración propia, 2024.

FIGURA III-1: Variación de la humedad respecto al tiempo



Fuente: Elaboración propia, 2024.

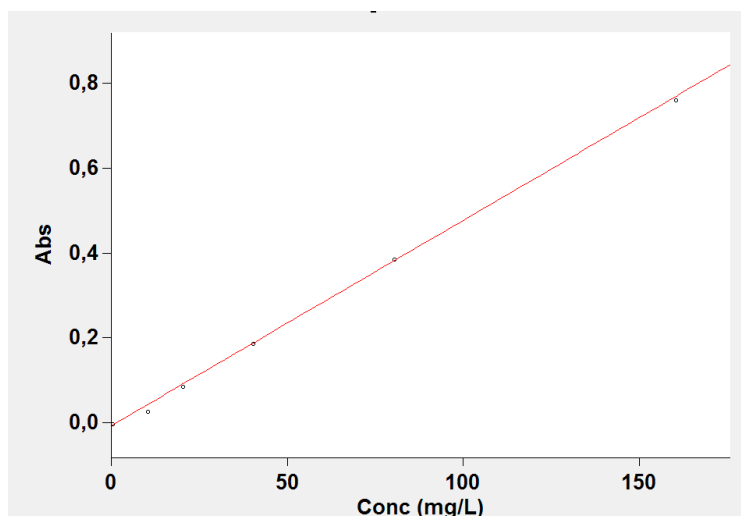
3.3 Resultados de la cuantificación en el espectrofotómetro de los extractos concentrados obtenidos

3.3.1 Resultados de la Curva patrón

Para la realización de la curva patrón, se explicó el procedimiento en el capítulo II punto 2.6.1, donde se preparó una solución madre y soluciones hijas de beta caroteno a determinadas concentraciones. En el Anexo VI se muestra la absorbancia para cada concentración.

En la siguiente figura se muestra la gráfica obtenida, teniendo un coeficiente de aproximación lineal de 0,99933 (ver Anexo VI).

FIGURA III-2: Curva patrón del beta caroteno comercial



Fuente: Elaboración propia utilizando el espectrofotómetro UV-VIS (especificaciones en el Anexo IV), 2024.

La ecuación de concentración vs absorbancia obtenida fue la siguiente:

$$Abs = 0,00484 * Concentración - 0,00732 \quad \text{Ec. 3.1}$$

Coeficiente de correlación: $R^2 = 0,99933$

3.3.2 Cuantificación de los extractos obtenidos de betacaroteno

Teniendo la curva patrón, se da lectura a la concentración de los extractos concentrados obtenidos de beta caroteno en el espectrofotómetro UV-VIS (especificaciones en el Anexo IV), se sigue el procedimiento explicado del capítulo II punto 2.6.2, donde se preparan diluciones de 1/1000.

En la siguiente tabla, se muestra los resultados de concentración de beta caroteno de los extractos concentrados obtenidos (ver Anexo VIII).

TABLA III-3: Resultados de la concentración de extractos concentrados con dilución 1/1000

Muestras de extractos concentrados	Concentración obtenida (mg/l)
M ₁₋₁	16,5
M ₂₋₁	19,4
M ₃₋₁	3,3
M ₄₋₁	9,1
M ₅₋₁	66,8
M ₆₋₁	53,3
M ₇₋₁	43,1
M ₈₋₁	37,5
M ₁₋₂	14,8
M ₂₋₂	21,1
M ₃₋₂	4,1
M ₄₋₂	10,8
M ₅₋₂	67,3
M ₆₋₂	56,2
M ₇₋₂	44,5
M ₈₋₂	35,3

Fuente: Elaboración propia, 2024.

Se observa que la muestra cinco y su respectiva réplica tienen el máximo de concentración de beta caroteno.

3.3.3 Cuantificación de la muestra separada de beta caroteno por cromatografía en columna

Se realizó la separación por cromatografía en columna de la muestra obtenida con mayor concentración, muestra 5, mediante el proceso descrito en el capítulo II punto 2.8.1., posteriormente se cuantifica en el espectrofotómetro UV-VIS mediante el procedimiento descrito en el capítulo II punto 2.8.2., donde se realizó una dilución de 1/100.

En la siguiente tabla, se muestra los resultados de concentración de beta caroteno de la muestra separada (ver Anexo XII).

TABLA III-4: Resultados de la concentración de la muestra separada de beta caroteno con dilución 1/100

Muestras de extractos concentrados	Concentración obtenida de la muestra separada (mg/l) Dilución 1/100	Concentración obtenida de la muestra separada (mg/l) Sin dilución
M ₅₋₂	84,1	8410

Fuente: Elaboración propia, 2024.

Esta concentración obtenida es para los 2ml de extracto separado, por tanto, se realiza el cálculo para los 30 ml de extracto concentrado:

$$\text{Concentración en el extracto} = 8410 \frac{\text{mg}}{\text{l}} * \frac{30\text{ml}}{2\text{ml}} = 126150 \frac{\text{mg}}{\text{l}}$$

De la ecuación 3.1, se obtiene la absorbancia:

$$Abs = 0,00484 * \text{Concentración} - 0,00732$$

$$Abs = 0,00484 * 126150 - 0,00732 = 610,5587$$

Según Rojas (2018), la siguiente ecuación determina la cantidad de beta caroteno presente en el extracto concentrado obtenido:

$$\beta - \text{caroteno} \frac{\mu g}{100g} = \frac{A * V * 10^6}{A_{1cm}^{1\%} * 100 * P_m} \quad \text{Ec. 3.2}$$

Donde:

A= Absorbancia de la muestra

V= Volumen total del extracto (ml)

$A_{1cm}^{1\%}$ = Coeficiente de absortividad del beta caroteno (2500)

P_m = Peso de la muestra (g)

Utilizando la ecuación 3.2, se determina la masa de beta caroteno obtenido en el extracto de mayor concentración:

$$\beta - \text{caroteno} \frac{\mu g}{100g} = \frac{610,5587 * 30 * 10^6}{2500 * 100 * 25,497}$$

$$\beta - \text{caroteno} \frac{\mu g}{100g} = 2874$$

Se obtuvo 2874 μg de beta caroteno/100 g de extracto concentrado.

3.4 Resultados obtenidos de los análisis fisicoquímicos del extracto concentrado de beta caroteno a partir de la espinaca

El análisis fisicoquímico se realizó al mejor extracto obtenido de beta caroteno a partir de la espinaca, que fue la muestra **M5**, se hizo el análisis de: densidad (20°C/20°C) que dio un resultado de 0,8499 g/ml; pH con un resultado de 6,2; sólidos insolubles de 0,12 g/100g y sólidos solubles 31°Brix (ver Anexo II).

Estos análisis fueron realizados en el Laboratorio de CEANID-Centro de Análisis, Investigación y Desarrollo.

Observando el pH obtenido, el extracto concentrado puede ser adecuado para aplicaciones donde se requiere un pH cercano a la neutralidad, como en alimentos o cosmetología. El resultado de la densidad relativa es la esperada, ya que se está utilizando un solvente que tiene una densidad más baja que del agua.

El resultado de los sólidos solubles indica que el extracto está relativamente concentrado, por lo que tendrá una viscosidad moderada.

Los sólidos insolubles indican la presencia de partículas que no se disuelven en el extracto, sin embargo, es un porcentaje menor, aunque no se descarta posibles sedimentaciones con el tiempo.

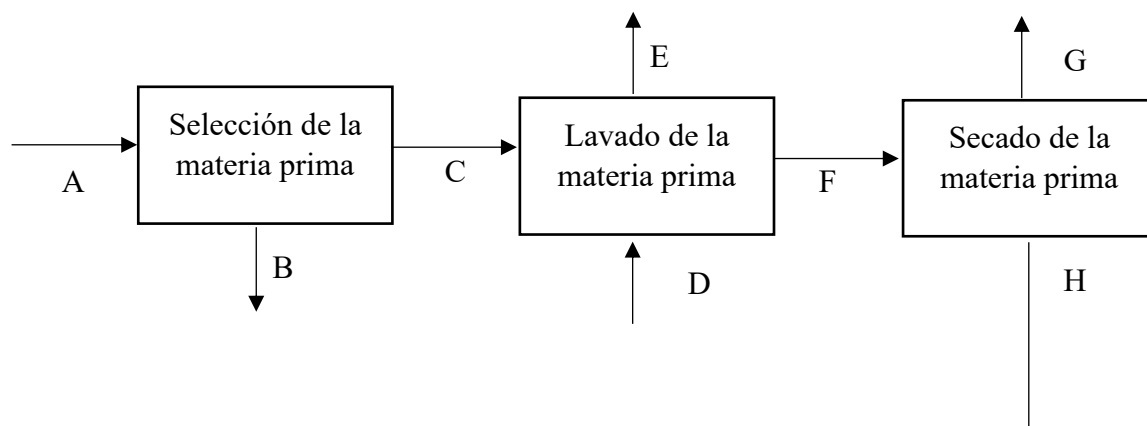
3.5 Balance de materia y Energía

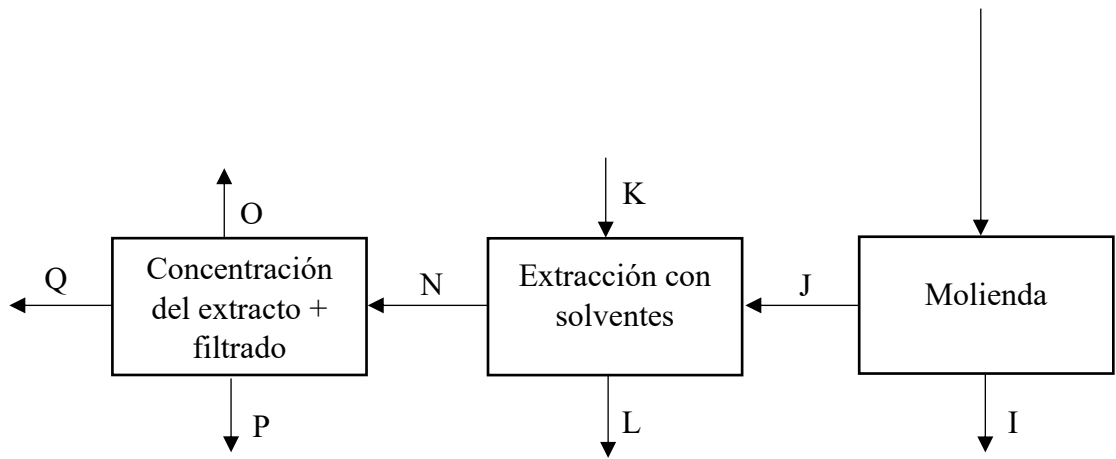
Los balances de materia y energía se realizaron según los resultados obtenidos durante la parte experimental del proyecto.

3.5.1 Balance de materia del proceso tecnológico experimental

Se realiza el balance de materia del proceso de obtención de beta caroteno con la muestra que obtuvo el mayor rendimiento, que es la muestra M₅, el cual usó las variables de: temperatura de 75°C, tiempo de 4 horas, 96% concentración de solvente.

FIGURA III-3: Diagrama de bloques para el proceso experimental de la obtención de beta caroteno a partir de la espinaca





Fuente: Elaboración propia, 2024

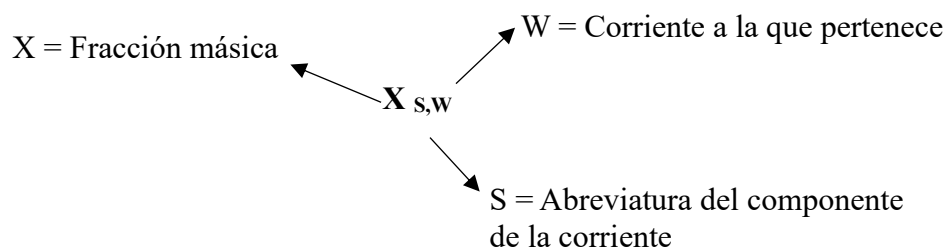
En la siguiente tabla se muestra las especificaciones de las corrientes del diagrama de bloques del proceso.

TABLA III-5: Corrientes del proceso

Corriente	Especificación	Corriente	Especificación
A (g)	Espinacas e impurezas	B (g)	Impurezas
C (g)	Hojas de espinaca seleccionadas	D (g)	Agua
E (g)	Agua	F (g)	Hojas húmedas
G (g)	Vapor de agua	H (g)	Hojas de espinaca secas
I (g)	Pérdidas del molino	J (g)	Hojas de espinacas molidas
K (g)	Masa de etanol	L (g)	Residuo sólido + solvente
N (g)	Extracto obtenido	O (g)	Pérdidas de la concentración
P (g)	Etanol Recuperado	Q (g)	Extracto concentrado de betacaroteno

Fuente: Elaboración propia, 2024.

Para las fracciones másicas de cada componente se utiliza la siguiente nomenclatura:



Las abreviaturas de los componentes que se utilizarán son:

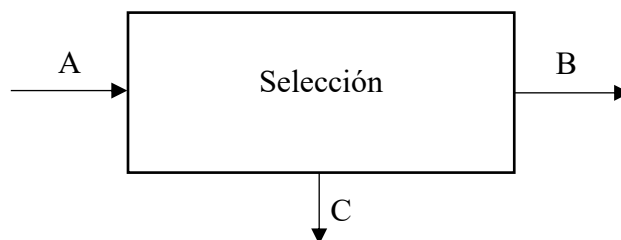
β = Beta caroteno

H₂O = Agua

ET = Etanol

Z = Residuos

3.5.1.1 Balance de beta caroteno en la etapa de selección



A (Espinacas e impurezas) = 358 g

B (Impurezas)

C (Hojas de espinaca seleccionadas) = 217 g

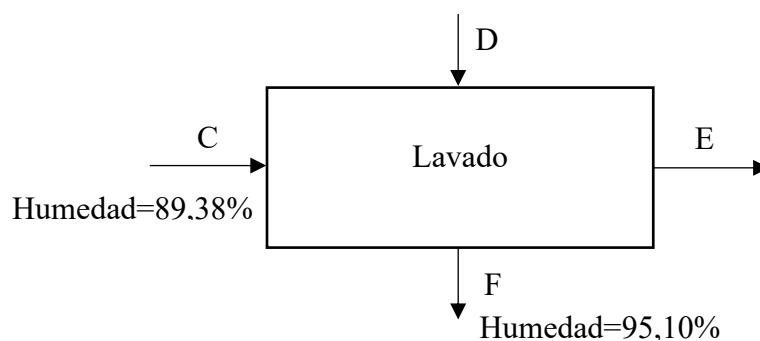
Balance Global:

$$A = B + C \quad \text{Ec. 3.3}$$

$$B = A - C$$

$$B = 358g - 217g = 141g$$

3.5.1.2 Balance de beta caroteno en la etapa de lavado



C (Hojas de espinaca seleccionadas) = 217 g

D (Agua) = 10000 g

E (Agua + impurezas)

F (Hojas de espinaca húmedas) = 670 g

Balance global:

$$C + D = E + F \quad \text{Ec. 3.4}$$

$$E = C + D - F$$

$$E = 217g + 10000g - 670g = 9547g$$

Balance parcial del agua:

$$C + D = E + F$$

$$X_{H_2O,C} * C + X_{H_2O,D} * D = X_{H_2O,E} * E + X_{H_2O,F} * F \quad \text{Ec. 3.5}$$

$$X_{H_2O,D} = 1$$

$$X_{H_2O,C} = \frac{89,38}{100} = 0,8938$$

$$X_{H_2O,F} = \frac{95,10}{100} = 0,9510$$

$$X_{H_2O,E} = 1$$

Balance parcial del beta caroteno:

$$C = F$$

$$X_{\beta,C} * C = X_{\beta,F} * F \quad \text{Ec. 3.6}$$

Para la fracción másica $X_{\beta,C}$:

Según la Tabla III-1, por cada 100 g de espinaca se tiene 3670 μg , por tanto:

$$\frac{3670 \mu\text{g}}{100 \text{ g}} * 217 \text{ g} * \frac{1 \text{ mg}}{1000 \mu\text{g}} * \frac{1 \text{ g}}{1000 \text{ mg}} = 7,9639 \times 10^{-3} \text{ g}$$

$$X_{\beta,C} = \frac{7,9639 \times 10^{-3} \text{ g}}{217 \text{ g}} = 3,6700 \times 10^{-5}$$

De la ecuación 3.6, se despeja la fracción másica de betacaroteno para la corriente F:

$$X_{\beta,F} = \frac{X_{\beta,C} * C}{F} = \frac{3,6700 \times 10^{-5} * 217}{670} = 1,1886 \times 10^{-5}$$

Balance parcial de residuos:

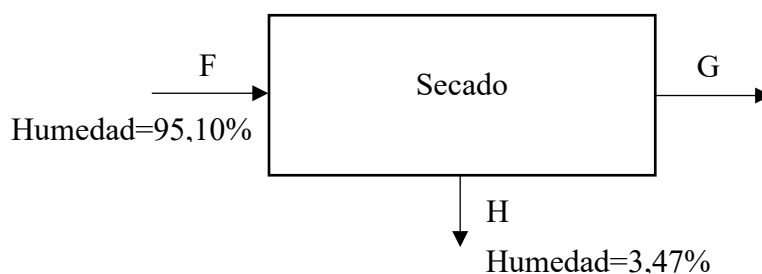
$$X_T = X_{H_2O} + X_{\beta} + X_Z = 1 \quad \text{Ec. 3.7}$$

De la ecuación 3.7, se despeja la fracción residuos

$$X_{Z,C} = 1 - X_{H_2O,C} - X_{\beta,C} = 1 - 0,8938 - 3,6700 \times 10^{-5} = 0,1062$$

$$X_{Z,F} = 1 - X_{H_2O,F} - X_{\beta,F} = 1 - 0,9510 - 1,1886 \times 10^{-5} = 0,0490$$

3.5.1.3 Balance de beta caroteno en la etapa de secado



F (Hojas de espinaca húmedas) = 670 g

G (Vapor de agua)

H (Hojas de espinaca secas) = 34 g

Balance Global:

$$F = G + H \quad \text{Ec. 3.8}$$

$$G = F - H$$

$$G = 670g - 34g = 636g$$

Balance parcial del agua:

$$X_{H_2O,H} = \frac{3,47}{100} = 0,0347$$

$$X_{H_2O,G} = 1$$

Balance parcial del beta caroteno:

$$F = H$$

$$X_{\beta,F} * F = X_{\beta,H} * H \quad \text{Ec. 3.9}$$

De la ecuación 3.9, se despeja la fracción másica de beta caroteno para la corriente H:

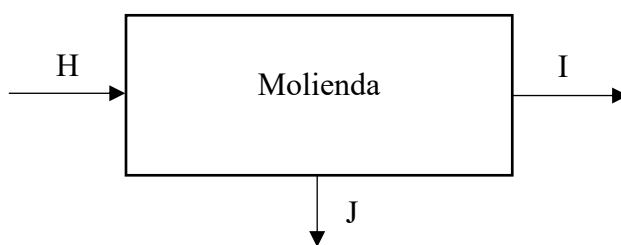
$$X_{\beta,H} = \frac{X_{\beta,F} * F}{H} = \frac{1,1886 \times 10^{-5} * 670}{34} = 2,3423 \times 10^{-4}$$

Balance parcial de residuos:

De la ecuación 3.7, se despeja la fracción residuos

$$X_{Z,H} = 1 - X_{H_2O,H} - X_{\beta,H} = 1 - 0,0347 - 2,3423 \times 10^{-4} = 0,9651$$

3.5.1.4 Balance de beta caroteno en la etapa de molienda



H (Hojas de espinaca secas) = 34 g

I (Pérdidas)

J (Hojas de espinacas molidas) = 30 g

Balance Global:

$$H = I + J \quad \text{Ec. 3.10}$$

$$I = H - J$$

$$I = 34g - 30g = 4g$$

Balance parcial del agua:

$$X_{H_2O,H} = X_{H_2O,I} = X_{H_2O,J} = 0,0347$$

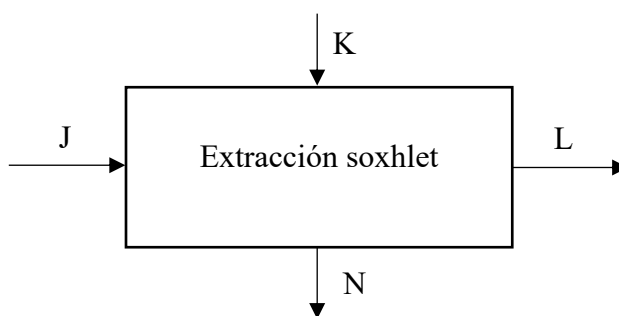
Balance parcial del beta caroteno:

$$X_{\beta,H} = X_{\beta,I} = X_{\beta,J} = 2,3423 \times 10^{-4}$$

Balance parcial de residuos:

$$X_{Z,H} = X_{Z,I} = X_{Z,J} = 0,9651$$

3.5.1.5 Balance de beta caroteno en la etapa de extracción con solvente



J (Hojas de espinacas molidas) = 30 g

K (etanol al 96%) = 1500 ml

ρ (etanol al 96%) = 0,789 g/ml

L (Residuo sólido + solvente) = 96 g

N (Extracto obtenido)

Cálculos para determinar la masa en la corriente K:

Determinación de masa de etanol:

$$1500 \text{ ml} * \frac{96\%}{100\%} = 1440 \text{ ml}$$

$$1440 \text{ ml} * 0,789 \frac{\text{g}}{\text{ml}} = 1136,16 \text{ g}$$

Determinación de masa de agua:

$$1500 \text{ ml} * \frac{4\%}{100\%} = 60 \text{ ml}$$

$$60 \text{ ml} * 1 \frac{\text{g}}{\text{ml}} = 60 \text{ g}$$

Masa total en la corriente K:

$$K = \text{masa de etanol} + \text{masa de agua} \quad \text{Ec. 3.11}$$

$$K = 1136,16\text{g} + 60\text{g} = 1196,16\text{g}$$

Balance Global:

$$J + K = L + N \quad \text{Ec. 3.12}$$

$$N = J + K - L$$

$$N = 30\text{g} + 1196,16\text{g} - 96\text{g} = 1130,16\text{g}$$

Balance parcial del agua:

$$J + K = L + N$$

$$X_{H_2O,J} * J + X_{H_2O,K} * K = X_{H_2O,L} * L + X_{H_2O,N} * N \quad \text{Ec. 3.13}$$

$$X_{H_2O,K} = \frac{60}{1196,16} = 0,0502$$

$$X_{H_2O,J} = 0,0347$$

$$X_{H_2O,N} = 0,0497 \text{ (Ver Ec. (**))}$$

De la ecuación 3.13, se despeja la fracción másica del agua de la corriente L:

$$X_{H_2O,L} = \frac{X_{H_2O,J} * J + X_{H_2O,K} * K - X_{H_2O,N} * N}{L}$$

$$X_{H_2O,L} = \frac{0,0347 * 30 + 0,0502 * 1196,16 - 0,0497 * 1130,16}{96}$$

$$X_{H_2O,L} = 0.0507$$

Balance parcial del beta caroteno:

$$J = L + N$$

$$X_{\beta,J} * J = X_{\beta,L} * L + X_{\beta,N} * N \quad \text{Ec. 3.14}$$

$$X_{\beta,J} = 2,3423 \times 10^{-4}$$

$$X_{\beta,N} = 6,48 \times 10^{-7} \text{ (Ver Ec. (*))}$$

De la ecuación 3.14, se despeja la fracción másica de beta caroteno para la corriente L:

$$X_{\beta,L} = \frac{X_{\beta,J} * J - X_{\beta,N} * N}{L} = \frac{2,3423 \times 10^{-4} * 30 - 6,48 \times 10^{-7} * 1130,16}{96}$$

$$X_{\beta,L} = 6,5557 \times 10^{-5}$$

Balance parcial de etanol

$$K = L + N$$

$$X_{ET,K} * K = X_{ET,L} * L + X_{ET,N} * N \quad \text{Ec. 3.15}$$

$$X_{ET,K} = \frac{1136,16}{1196,16} = 0,9498$$

Se realizó la medida del grado alcohólico del extracto obtenido con el alcoholímetro de laboratorio, dando como resultado un resultado de 96%.

$$X_{ET,N} = 0,9498$$

De la ecuación 3.15, se despeja la fracción másica de etanol para la corriente L:

$$X_{ET,L} = \frac{X_{ET,K} * K - X_{ET,N} * N}{L} = \frac{0,9498 * 1196,16 - 0,9498 * 1130,16}{96} = 0,6530$$

Balance parcial de residuos:

De la ecuación 3.7, se despeja la fracción residuos

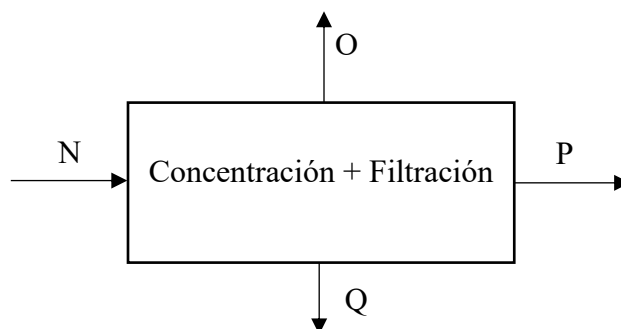
$$X_{Z,J} = 0,9651$$

$$X_{Z,N} = 4,9935 \times 10^{-4} \text{ (Ver Ec. (***))}$$

$$X_{Z,L} = 1 - X_{H_2O,L} - X_{\beta,L} - X_{ET,L}$$

$$X_{Z,L} = 1 - 0,0507 - 6,5557 \times 10^{-5} - 0,6530 = 0,2962$$

3.5.1.6 Balance de beta caroteno en la etapa de concentración



N (Extracto obtenido) = 1130,16 g

O (Pérdidas de la concentración)

P (Etanol recuperado) = 1174 ml

ρ (etanol al 96%) = 0,789 g/ml

Q (extracto concentrado obtenido)

ρ (extracto) = 0,8499 g/ml (Ver Anexo II)

Cálculos para determinar la masa en la corriente P:

Determinación de masa de etanol:

$$1174 \text{ ml} * \frac{96\%}{100\%} = 1127,04 \text{ ml}$$

$$1127,04 \text{ ml} * 0,789 \frac{\text{g}}{\text{ml}} = 889,23 \text{ g}$$

Determinación de masa de agua:

$$1174 \text{ ml} * \frac{4\%}{100\%} = 46,96 \text{ ml}$$

$$46,96 \text{ ml} * 1 \frac{\text{g}}{\text{ml}} = 46,96 \text{ g}$$

Masa total en la corriente P:

$$P = \text{masa de etanol} + \text{masa de agua}$$

$$P = 889,23 \text{ g} + 46,96 \text{ g} = 936,19 \text{ g}$$

Ec. 3.16

Cálculos para determinar la masa en la corriente Q:

$$30ml * 0,8499 \frac{g}{ml} = 25,497 g$$

Balance Global:

$$N = O + P + Q \quad \text{Ec. 3.17}$$

$$O = N - P - Q$$

$$O = 1130,16g - 936,19g - 25,497g = 168,473g$$

Balance parcial de etanol:

$$X_{ET,N} = X_{ET,O} = X_{ET,P} = X_{ET,Q} = 0,9498$$

Balance parcial del beta caroteno:

$$N = Q$$

$$X_{\beta,N} * N = X_{\beta,Q} * Q \quad \text{Ec. 3.18}$$

Cálculos para determinar la fracción en la corriente Q:

$$\frac{2874 \mu g}{100 g} * 25,497g * \frac{1 mg}{1000 \mu g} * \frac{1 g}{1000 mg} = 7,3278 \times 10^{-4} g$$

$$X_{\beta,Q} = \frac{7,3278 \times 10^{-4} g}{25,497g} = 2,874 \times 10^{-5}$$

De la ecuación 3.18, se despeja la fracción másica de beta caroteno para la corriente N:

$$X_{\beta,N} = \frac{X_{\beta,Q} * Q}{N} = \frac{2,874 \times 10^{-5} * 25,497}{1130,16} = 6,48 \times 10^{-7} \quad \text{Ec. (*)}$$

Balance parcial del agua:

$$N = O + P + Q$$

$$X_{H_2O,N} * N = X_{H_2O,O} * O + X_{H_2O,P} * P + X_{H_2O,Q} * Q \quad \text{Ec. 3.19}$$

$$X_{H_2O,P} = \frac{46,9600}{936,1900} = 0,0502$$

$$X_{H_2O,O} = 0,0502$$

Según el procedimiento descrito en el capítulo II punto 2.5.7, se determina la humedad del extracto mediante la diferencia de la masa de la alícuota menos la masa de los otros componentes volátiles:

$$m_T(\text{alícuota}) = 24,9870g$$

$$m_T = m_{H_2O} + m_\beta + m_{ET} \quad \text{Ec. 3.20}$$

$$m_{H_2O} = m_T - m_\beta - m_{ET} = 24,9870g - 3,4454 \times 10^{-4}g - 24,2170g = 0,7696g$$

$$X_{H_2O,Q} = \frac{0,7696}{25,4970} = 0,0302$$

De la ecuación 3,19, se despeja la fracción másica del agua de la corriente N:

$$X_{H_2O,N} = \frac{X_{H_2O,O} * O + X_{H_2O,P} * P + X_{H_2O,Q} * Q}{N}$$

$$X_{H_2O,N} = \frac{0,0502 * 168,473 + 0,0502 * 936,19 + 0,0302 * 25,497}{1130,16}$$

$$X_{H_2O,N} = 0,0497 \quad \text{Ec. (**)}$$

Balance parcial de residuos:

De la ecuación 3.7, se despeja la fracción residuos

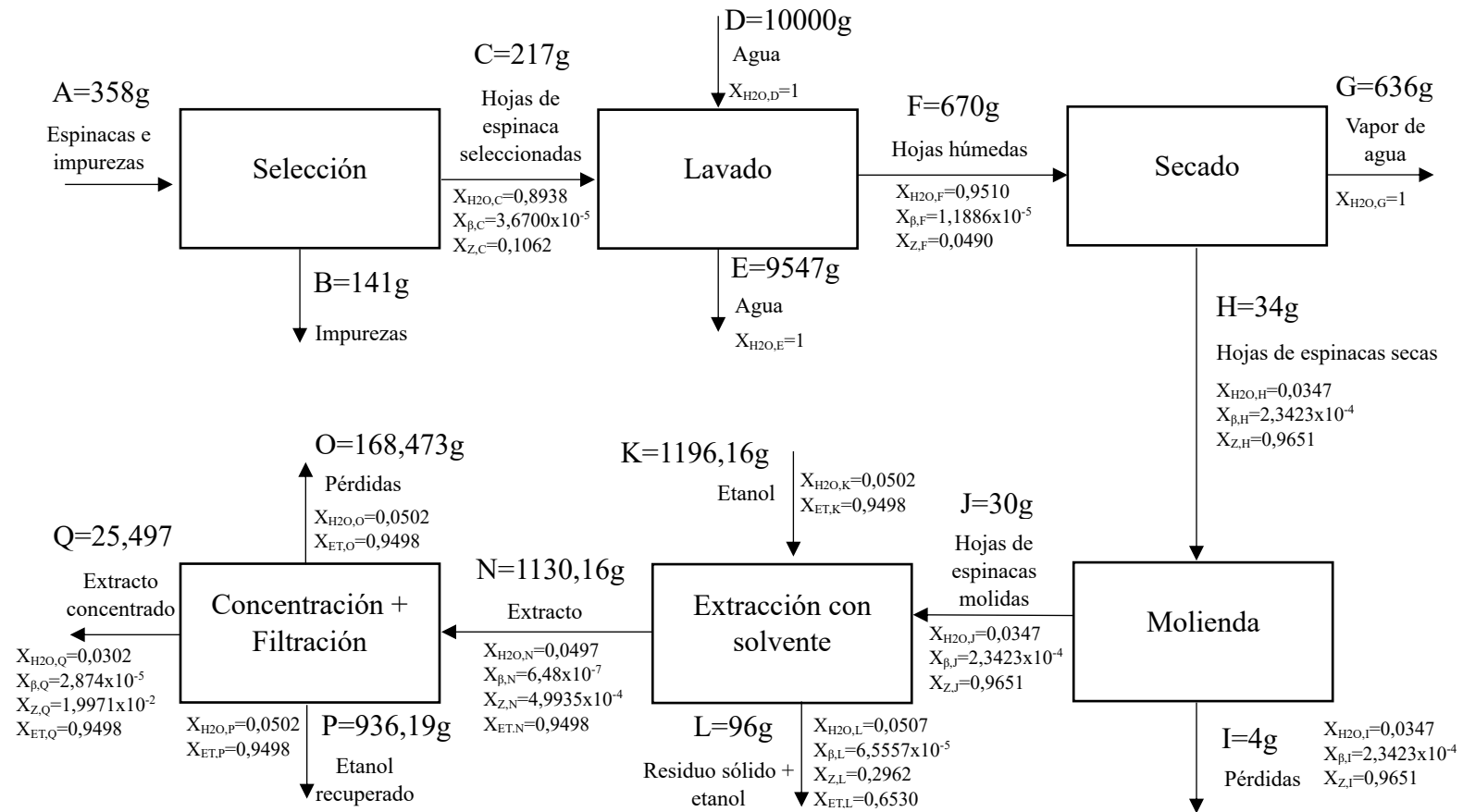
$$X_{Z,N} = 1 - X_{H_2O,N} - X_{\beta,N} - X_{ET,N}$$

$$X_{Z,N} = 1 - 0,0497 - 6,48 \times 10^{-7} - 0,9498 = 4,9935 \times 10^{-4} \quad \text{Ec. (***)}$$

$$X_{Z,Q} = 1 - X_{H_2O,Q} - X_{\beta,Q} - X_{ET,Q}$$

$$X_{Z,Q} = 1 - 0,0302 - 2,874 \times 10^{-5} - 0,9498 = 1,9971 \times 10^{-2}$$

FIGURA III-4: Diagrama de flujo del balance de materia para la obtención de beta caroteno a partir de la espinaca (*Spinacia oleracea* L.)



Fuente: Elaboración propia, 2025.

3.5.2 Balance de energía del proceso tecnológico experimental

Se desarrolla el balance de energía del proceso de obtención de beta caroteno en las etapas donde hubo consumo de energía eléctrica, este balance de igual forma se realiza con la muestra que obtuvo el mayor rendimiento, que es la muestra M₅₋₂, el cual usó las variables de: temperatura de 75°C, tiempo de 4 horas, 96% concentración de solvente.

3.5.2.1 Balance de energía en la etapa de secado

La etapa de secado se realizó en una estufa (Ver anexo 1V), el cual tiene un factor de consumo de 0,5. Se trabajó a una temperatura de 47°C por un tiempo de 810 minutos.

Datos:

Tiempo = $t = 13,5$ h

Temperatura = 47°C

Factor = $f = 0,5$

Potencia de la estufa = $P_{estufa} = 2$ kW

Energía consumida por la estufa = E_{estufa}

$$E_{estufa} = P_{estufa} * t * f \quad \text{Ec. 3.21}$$

$$E_{Estufa} = 2kW * 13,5h * 0,5$$

$$E_{Estufa} = 13,5 kWh$$

$$E_{Estufa} = 13,5kWh * 3600 \frac{kJ}{kWh} = 48600 kJ$$

La energía consumida en la etapa de secado es de 48600 kJ.

3.5.2.2 Balance de energía en la etapa de molienda

La molienda de las hojas secas de espinaca se realizó en un molino de martillos (ver Anexo IV), por el tiempo de 7,20 minutos.

Datos:

Tiempo = $t = 7,20 \text{ min} = 0,12 \text{ h}$

Potencia del molino de martillo = $P_{m.martillo} = 1 \text{ kW}$

Energía consumida por el molino de martillo = $E_{m.martillo}$

$$E_{m.martillo} = P_{m.martillo} * t \quad \text{Ec. 3.22}$$

$$E_{m.martillo} = 1kW * 0,12h$$

$$E_{m.martillo} = 0,12 kWh$$

$$E_{m.martillo} = 0,12kWh * 3600 \frac{kJ}{kWh} = 432 kJ$$

La energía consumida en la etapa de molienda de las hojas de espinacas secas es de 432 kJ.

3.5.2.3 Balance de energía en la etapa de extracción con solvente

El método de extracción seleccionado, según la tabla II-2, es la extracción soxhlet. El equipo soxhlet utilizado posee un calentador eléctrico que calienta a la olla que contiene al solvente.

Datos:

Tiempo = $t = 4 \text{ h}$

Potencia del calentador eléctrico = $P_{calentador} = 1000 \text{ W} = 1 \text{ kW}$

Energía consumida por el calentador eléctrico = $E_{calentador}$

$$E_{calentador} = P_{calentador} * t \quad \text{Ec. 3.23}$$

$$E_{calentador} = 1kW * 4h$$

$$E_{calentador} = 4 kWh$$

$$E_{calentador} = 4kWh * 3600 \frac{kJ}{kWh} = 14400 kJ$$

Balance del condensador:

$$Q_{condensador} = m_{agua} * Cp_{agua} * \Delta T \quad \text{Ec. 3.24}$$

$$Q_{condensador} = m_{agua} * Cp_{agua} * (T_{salida} - T_{entrada})$$

La temperatura de entrada es la temperatura a la que entra el agua de la pileta, que fue de 18°C y la temperatura de salida es la temperatura a la que sale el agua luego de circular por el serpentín del condensador, que es de 26°C.

El calor específico del agua es de 1Kcal/Kg°C (Smith, Van Ness & Abbott, 1996)

$$Q_{condensador} = 300Kg * 1 \frac{Kcal}{Kg * ^\circ C} * (26 - 18)^\circ C$$

$$Q_{condensador} = 2400 Kcal$$

$$Q_{condensador} = 2400 Kcal * \frac{4,184kJ}{1Kcal} = 10041,6 kJ$$

3.5.2.4 Balance de energía en la etapa de concentración

La etapa de concentración se la realiza en el equipo de evaporador rotativo con una bomba al vacío que reduce la presión del sistema.

$$P_{sistema} = P_{atm} - P_{vacío} \quad \text{Ec. 3.25}$$

$$P_{sistema} = 101,3 kPa - 60,9kPa = 40,4kPa$$

A esta presión, la temperatura de ebullición del etanol es de 41°C.

$$Q_{baño calefactor} = m_{agua-baño} * \Delta T * Cp_{agua} \quad \text{Ec. 3.26}$$

$$Q_{baño calefactor} = 4Kg * (42^\circ C - 18^\circ C) * 1 \frac{Kcal}{Kg * ^\circ C}$$

$$Q_{baño calefactor} = 96 Kcal$$

$$Q_{baño calefactor} = 96 Kcal * \frac{4,184kJ}{1Kcal} = 401,66 kJ$$

Balance del condensador:

Se utiliza la ecuación Ec.3.24:

$$Q_{condensador} = m_{agua} * Cp_{agua} * (T_{salida} - T_{entrada})$$

La temperatura de entrada es la temperatura a la que entra el agua de la pileta, que fue de 18°C y la temperatura de salida es la temperatura a la que sale el agua luego de circular por el serpentín del condensador, que es de 22°C.

$$Q_{condensador} = 30Kg * 1 \frac{Kcal}{Kg * ^\circ C} * (22 - 18)^\circ C$$

$$Q_{condensador} = 120 Kcal$$

$$Q_{condensador} = 120 Kcal * \frac{4,184kJ}{1Kcal} = 502,08 kJ$$

Balance de la bomba al vacío:

Sumando el tiempo de las tres concentraciones que se realizaron en la concentración del extracto, se tiene un tiempo de 3 horas, las especificaciones de la bomba se encuentran en el Anexo IV.

Datos:

Tiempo = t = 3h

Potencia de la bomba al vacío = P_{bomba al vacío} = 0,23 Kw

Energía consumida por la bomba de vacío = E_{bomba de vacío}

$$E_{bomba al vacío} = P_{bomba al vacío} * t \quad \text{Ec. 3.27}$$

$$E_{bomba al vacío} = 0,23kW * 3h = 0,69kWh$$

$$E_{bomba al vacío} = 0,69kWh * 3600 \frac{kJ}{kWh} = 2484 kJ$$

3.6 Determinación del Rendimiento del Proceso tecnológico

Para determinar el rendimiento del proceso tecnológico se toma en cuenta la relación de la cantidad de extracto concentrado obtenido entre la masa de hojas de espinaca seleccionadas.

$$\eta_{rendimiento} = \frac{\text{masa del extracto}}{\text{masa de espinaca seleccionada}} * 100 \quad \text{Ec. 3.28}$$

$$\eta_{rendimiento} = \frac{25,4970g}{217g} * 100 = 11,75\%$$

3.7 Determinación del Rendimiento del Beta caroteno

Según la ecuación 3.2, se tiene 2874 µg de beta caroteno/100 g de extracto concentrado, por tanto:

$$\frac{2874 \mu g}{100 g} * 25,4970g = 732,7838 \mu g$$

La cantidad de beta caroteno que se obtuvo en la parte experimental del proyecto de investigación es de 732,7838 µg.

En base húmeda:

Toma en cuenta la masa de la espinaca antes del proceso de lavado.

$$\frac{3670 \mu g}{100 g} * 217 g = 7963,9 \mu g$$

Para determinar el rendimiento del beta caroteno en base húmeda, se toma en cuenta la relación de la masa de beta caroteno obtenido en el extracto concentrado entre la masa de beta caroteno que se tiene en las hojas de espinaca seleccionadas.

$$\eta_{rendimiento} = \frac{\text{masa de beta caroteno del extracto}}{\text{masa de beta caroteno de las hojas de espinaca}} * 100$$

Ec. 3.29

$$\eta_{rendimiento} = \frac{732,7838 \mu g}{7963,9000 \mu g} * 100 = 9,20\%$$

En base seca:

Toma en cuenta la diferencia de la masa de hojas de espinaca seleccionadas con la masa de agua que tiene.

$$2,3423 \times 10^{-4} * (217 - 193,9546) g * \frac{1000 mg}{1g} * \frac{1000 \mu g}{1 mg} = 5397,9240 \mu g$$

Para determinar el rendimiento del beta caroteno en base seca, se toma en cuenta la relación de la masa de beta caroteno obtenido en el extracto concentrado entre la masa de beta caroteno que se tiene en la espinaca seca.

$$\eta_{rendimiento} = \frac{\text{masa de beta caroteno del extracto}}{\text{masa de la espinaca seca}} * 100$$

Ec. 3.30

$$\eta_{rendimiento} = \frac{732,7838 \mu g}{5397,9240 \mu g} * 100 = 13,58\%$$

3.8 Análisis Estadístico

El análisis estadístico se realizó mediante el programa IBM SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) versión 25. El cual permite realizar el análisis de datos mediante un tratamiento integrado de todas las fases, obteniendo de esta manera resultados confiables y significativos.

3.8.1 Análisis de Varianza Univariante

Se realiza el análisis de varianza univariante para determinar la influencia que tiene los factores tiempo, temperatura, concentración de solvente y sus interacciones sobre la variable respuesta, el cual es la concentración.

3.8.1.2 Análisis de Varianza Univariante del Rendimiento

En la Tabla III-6 se muestra los datos introducidos al programa IBM SPSS de acuerdo al diseño factorial planteado.

TABLA III-6: Datos para el uso del programa IBM SPSS.

Muestra	Variables independientes			Variable dependiente
	Tiempo	Temperatura	Concentración del solvente	Concentración mg/l Dilución 1/1000
M ₁₋₁	-1	-1	-1	16,5
M ₂₋₁	1	-1	-1	19,4
M ₃₋₁	-1	1	-1	3,3
M ₄₋₁	1	1	-1	9,1
M ₅₋₁	-1	-1	1	66,8
M ₆₋₁	1	-1	1	53,3
M ₇₋₁	-1	1	1	43,1
M ₈₋₁	1	1	1	37,5
M ₁₋₂	-1	-1	-1	14,8
M ₂₋₂	1	-1	-1	21,1
M ₃₋₂	-1	1	-1	4,1
M ₄₋₂	1	1	-1	10,8
M ₅₋₂	-1	-1	1	67,3
M ₆₋₂	1	-1	1	56,2
M ₇₋₂	-1	1	1	44,5
M ₈₋₂	1	1	1	35,3

Fuente: Elaboración propia, 2025.

Los factores inter-sujetos se muestran en la figura III-5 con la codificación de cada nivel para la determinación de variables significativas.

FIGURA III-5: Factores inter-sujetos

Factores inter-sujetos		
		N
tiempo	-1,00	8
	1,00	8
temperatura	-1,00	8
	1,00	8
Conc.solvente	-1,00	8
	1,00	8

Fuente: Elaboración propia utilizando el programa SPSS, 2025.

En la figura III-6 se muestra las pruebas inter sujeto donde se observa si las variables y sus interacciones son significativas.

FIGURA III-6: Pruebas Inter-Sujetos

Pruebas de efectos inter-sujetos					
Variable dependiente: Concentración					
Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	7186,694 ^a	6	1197,782	717,444	,000
Intersección	15819,351	1	15819,351	9475,423	,000
tiempo	19,581	1	19,581	11,728	,008
temperatura	1019,206	1	1019,206	610,480	,000
Conc.solvente	5810,251	1	5810,251	3480,205	,000
tiempo * temperatura	10,726	1	10,726	6,424	,032
tiempo * Conc.solvente	233,326	1	233,326	139,757	,000
temperatura * Conc.solvente	93,606	1	93,606	56,068	,000
Error	15,026	9	1,670		
Total	23021,070	16			
Total corregido	7201,719	15			

a. R al cuadrado = ,998 (R al cuadrado ajustada = ,997)

Fuente: Elaboración propia utilizando el programa SPSS, 2025.

Se puede observar que las variables tiempo, temperatura, concentración de solvente y sus interacciones tiempo*temperatura, tiempo*concentración de solvente, temperatura*concentración de solvente, son significativas ya que poseen una significancia menor al 0,05 para un nivel de confianza del 95%.

Determinación del Modelo Matemático:

Una vez identificadas las variables significativas, se realiza una regresión lineal para determinar el modelo matemático.

FIGURA III-7: Resumen del Modelo Matemático

Resumen del modelo^b				
Modelo	R	R cuadrado	R cuadrado ajustado	Error estándar de la estimación
1	,999 ^a	,998	,997	1,29210
a. Predictores: (Constante), TemperaturaConc.solvente, tiempoConc.solvente, tiempoTemperatura, Conc.solvente, temperatura, tiempo				
b. Variable dependiente: Concentración				

Fuente: Elaboración propia utilizando el programa SPSS, 2025.

La figura III-8 muestra el análisis de varianza (ANOVA), donde se observa el nivel de significación tiende a cero, que indica que el modelo matemático es correcto.

FIGURA III--8: Resultados del Análisis ANOVA

ANOVA ^a						
Modelo		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
1	Regresión	7186,694	6	1197,782	717,444	,000 ^b
	Residuo	15,026	9	1,670		
	Total	7201,719	15			

a. Variable dependiente: Concentración

b. Predictores: (Constante), TemperaturaConc.solvente, tiempoConc.solvente, tiempoTemperatura, Conc.solvente, temperatura, tiempo

Fuente: Elaboración propia utilizando el programa SPSS, 2025.

FIGURA III-9: Coeficientes del Modelo Matemático

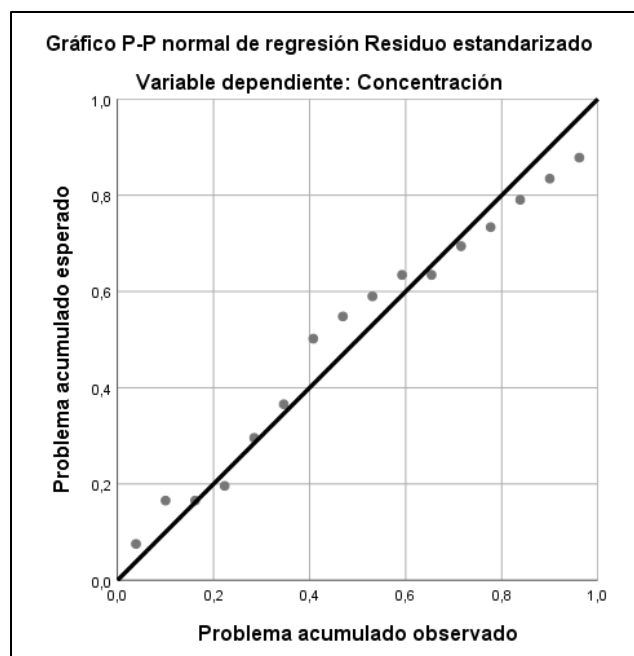
Coeficientes^a								
		Coeficientes no estandarizados		Coeficientes estandarizados			95,0% intervalo de confianza para B	
Modelo		B	Desv. Error	Beta	t	Sig.	Límite inferior	Límite superior
1	(Constante)	31,444	,323		97,342	,000	30,713	32,174
	tiempo	-1,106	,323	-,052	-3,425	,008	-1,837	-,376
	temperatura	-7,981	,323	-,376	-24,708	,000	-8,712	-7,251
	Conc.solvente	19,056	,323	,898	58,993	,000	18,326	19,787
	tiempoTemperatura	,819	,323	,039	2,535	,032	,088	1,549
	tiempoConc.solvente	-3,819	,323	-,180	-11,822	,000	-4,549	-3,088
	TemperaturaConc.solvente	-2,419	,323	-,114	-7,488	,000	-3,149	-1,688
a. Variable dependiente: Concentración								

Fuente: Elaboración propia utilizando el programa SPSS, 2025.

De acuerdo al diseño factorial propuesto, se observa que todas las variables son significativas ya que poseen un nivel de significancia menor a 0,05 como se observa en la figura. Con los Valores numéricos de B se obtiene la ecuación de la regresión lineal para la concentración.

$$\text{Concentración} = 31,444 - 1,106 t - 7,981 T + 19,056 C + 0,819 t * T - 3,819 t * C - 2,419 T * C \quad \text{Ec. 3.31}$$

Donde: t = tiempo; T = temperatura; C = Concentración de solvente

FIGURA III-10: Modelo Lineal

Fuente: Elaboración propia utilizando el programa SPSS, 2025.

Se observa que algunos puntos no se ajustan al modelo, sin embargo, el análisis ANOVA no muestra gran significancia de ajuste, por lo que el modelo es correcto.

Con esta regresión lineal realizada se obtuvo nuevos datos de concentración, los cuales se grafican para verificar el ajuste de la ecuación del modelo matemático.

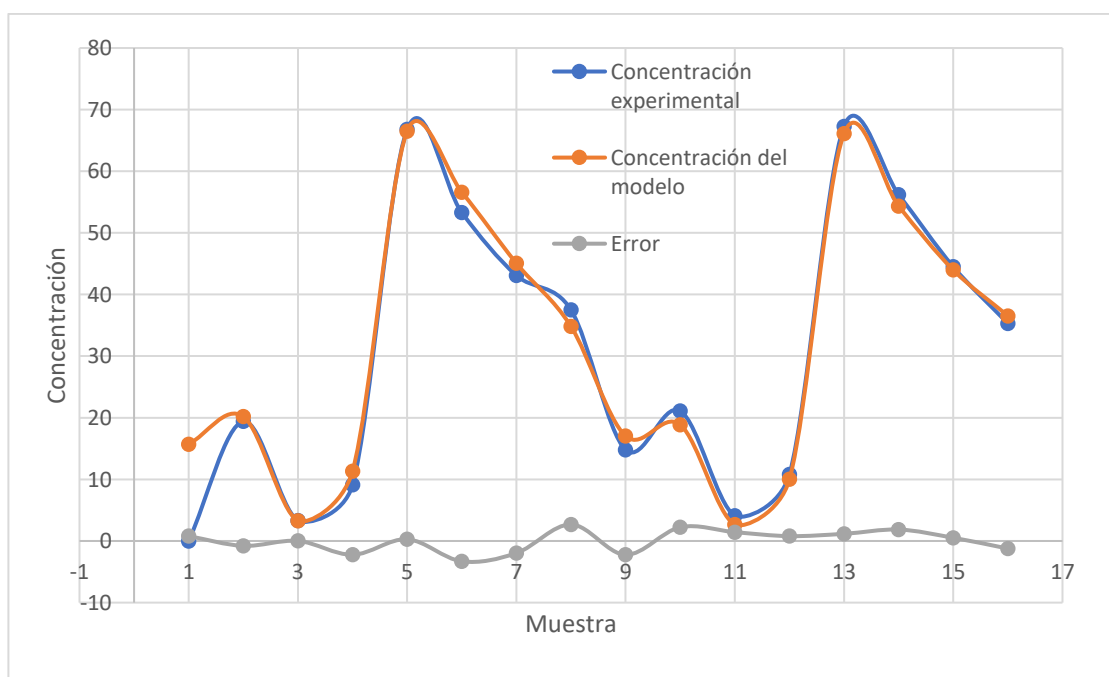
TABLA III-7: Comparación de la concentración obtenida experimentalmente y la corrección de la concentración obtenida por del programa SPSS.

Muestra	Concentración experimental	Concentración del modelo	Error
M ₁₋₁	16,5	15,7	0,79
M ₂₋₁	19,4	20,2	-0,79
M ₃₋₁	3,3	3,3	0,01
M ₄₋₁	9,1	11,3	-2,23
M ₅₋₁	66,8	66,5	0,28

M ₆₋₁	53,3	56,6	-3,30
M ₇₋₁	43,1	45,1	-1,97
M ₈₋₁	37,5	34,8	2,68
M ₁₋₂	14,8	17,0	-2,23
M ₂₋₂	21,1	18,9	2,23
M ₃₋₂	4,1	2,7	1,43
M ₄₋₂	10,8	10,0	0,79
M ₅₋₂	67,3	66,1	1,17
M ₆₋₂	56,2	54,3	1,86
M ₇₋₂	44,5	44,0	0,52
M ₈₋₂	35,3	36,5	-1,23

Fuente: Elaboración propia, 2025.

FIGURA III-11: Concentración experimental vs Concentración del modelo vs Error



Fuente: Elaboración propia, 2025.

3.9 Comparación del beta caroteno obtenido con otros trabajos de investigación

En este proyecto de investigación se obtuvo como resultado 2874 µg de beta caroteno/100 g de extracto concentrado. En los 30 ml de extracto concentrado se tiene 732,78 µg de beta caroteno. El rendimiento obtenido en base húmeda es de 9,20% y en base seca de 13,58%.

Convirtiendo a µg/100 gramos de espinaca se tiene lo siguiente:

$$732,78 \mu g * \frac{100 g}{217 g} = 337,69 \mu g$$

Por tanto, se tiene 337,69 µg/100 gramos de espinaca

En el año 2015, Lightfoot, Kinsel y Watson, en su trabajo titulado *Employing Response Surface Methodology for the Optimization of Ultrasound Assisted Extraction of Lutein and β-Carotene from Spinach*, realizaron el método densitométrico por TLC y el diseño de Box-Behnken, en el cual obtuvieron 307 µg de beta caroteno/100g de espinaca.

Ullah, Khan, Khurram, Hussan, Khayam, Amin y Hussain (2011), mediante su trabajo *Composition and Isolation of Beta Carotene from Different Vegetables and Their Effect on Human Serum Retinal Level*, realizaron la extracción de carotenoides mediante el método de Sistema HPLC de fase inversa, donde obtuvieron 9940 µg de beta caroteno/100 g de espinaca.

Comparando los resultados experimentales obtenidos con los reportados por los autores, se muestra una cercanía significativa al trabajo realizado por Lightfoot et al., lo que indica que el procedimiento experimental es válido y presenta un buen desempeño. Sin embargo, observando los datos reportados por Ullah et al., muestra una cantidad superior de beta caroteno, por lo que se concluye que la obtención de beta caroteno puede ser optimizada, lo cual representa una base para investigaciones futuras.

CAPÍTULO IV

COSTOS DEL PROYECTO

4. COSTOS DEL PROYECTO

4.1 Evaluación de Costos

Para determinar el presupuesto del presente proyecto de investigación, se realizó la evaluación de costos de los gastos en la elaboración de todo el proyecto, tanto como costos directos e indirectos.

TABLA IV-1: Detalle de costos de reactivos y materia prima utilizados en la parte experimental en la obtención de beta caroteno a partir de la espinaca

Nº	Detalle	Unidad	Cantidad	Precio Unitario (Bs)	Costo (Bs)
1	Espinaca	Kg	12	13	156
2	Etanol al 96%	l	48	9,5	456
3	Agua destilada	l	3	4	12
4	Beta caroteno comercial	g	1	40	40
5	Silica gel 60	Kg	1	1540	1540
Total					2204

Fuente: Elaboración propia, 2024.

TABLA IV-2: Detalle de costos de materiales adquiridos en la parte experimental del proceso de obtención de beta caroteno a partir de la espinaca

Nº	Detalle	Unidad	Cantidad	Precio Unitario (Bs)	Costo (Bs)
1	Espátula para laboratorio	pza.	1	16	16
2	Embudo de laboratorio	pza.	1	87	87

3	Vaso precipitado PP 250 mL	pza.	1	12	12
4	Vaso precipitado vidrio 600 mL	pza.	1	60	60
5	Probeta 100 mL	pza.	1	84	84
6	Pipeta 5 mL	pza.	1	16	16
7	pH metro	pza.	1	150	150
8	Frascos ámbar	pza.	18	2,80	50,40
9	Papel filtro	pliegue	9	8	72
10	Bolsa hermética	paquete	1	20	20
Total					567,40

Fuente: Elaboración propia, 2024.

El resto de los materiales necesarios para la realización de estudio, fueron proporcionados por el Laboratorio de Operaciones Unitarias de la Universidad Autónoma Juan Misael Saracho.

TABLA IV-3: Detalle de costos de análisis fisicoquímicos

Nº	Detalle	Cantidad	Precio Unitario (Bs)	Costo (Bs)
1	Ceniza	1	28	28
2	Fibra	1	40	40
3	Grasa	1	36	36
4	Hidratos de carbono	1	8	8
5	Humedad	1	16	16
6	Proteína total	1	40	40

7	Valor energético	1	8	8
8	Densidad relativa	1	16	16
9	pH	1	16	16
10	Solidos insolubles	1	16	16
11	Solidos solubles	1	8	8
Total				232

Fuente: CEANID, 2024.

El costo de análisis fisicoquímicos tuvo un descuento del 60% del precio real debido al convenio que tiene la Facultad de Ciencias y Tecnología con el Centro de Análisis, Investigación y Desarrollo (CEANID).

TABLA IV-4: Detalle de costos de material de apoyo

Nº	Detalle	Unidad	Cantidad	Precio Unitario (Bs)	Costo (Bs)
1	Investigación en internet	Mes	4	170	680
2	Impresión	Hoja	1100	0,3	330
3	Anillados	anillado	6	6	36
4	Empastado	empastado	4	50	200
5	Transporte diario	pasaje	576	2	1152
6	Transporte materia prima	pasaje	24	1	24
Total					2422

Fuente: Elaboración propia, 2024.

TABLA IV-5: Detalle de costos de energía en los equipos utilizados

Nº	Detalle	Potencia (KW)	Tiempo (h)	Costo (Bs)
1	Estufa	2	384	691,20

2	Calentador eléctrico	1	128	115,20
3	Baño María	1,32	96	114,05
4	Bomba de vacío	0,23	96	19,87
5	Molino de martillo	1	1,4	1,26
Total				941,58

Fuente: Elaboración propia, 2024.

TABLA IV-6: Detalle de costos totales del estudio

Nº	Descripción	Costo (Bs)
1	Costo de reactivos y materia prima	2204
2	Costo de materiales adquiridos para realizar la parte experimental	567,4
3	Costo de análisis físicoquímicos	232
4	Costo de material de apoyo	2422
5	Costo de energía utilizada	941,6
6	Costo de mano de obra	5000
Total		11397

Fuente: Elaboración propia, 2024.

El costo total de la investigación es de 11397 Bs.

5.2 Costo de producción

A partir del balance de materia y energía y el gasto energético de los equipos utilizados, se estima el costo de producción para la obtención de beta caroteno a partir de la espinaca (*Spinacia oleracea* L.) procedente del valle central de Tarija a escala laboratorio.

El costo de producción se realiza al mejor experimento obtenido en el diseño experimental, el cual tiene las siguientes variables en el proceso de extracción: tiempo de 4 horas, temperatura de 75°C y una concentración de solvente al 96%, siendo este

extracto el que se concentró en el rota evaporador, separado por cromatografía en columna y posteriormente leído en el espectrofotómetro para cuantificarlo.

Los costos fijos asociados a los servicios básicos fueron: energía eléctrica 0,9 Bs/kWh y agua 0,7 Bs/m³

Las siguientes tablas, IV-7 y VI-8, estiman el costo de producción.

TABLA IV-7: Detalle de costos del proceso de obtención

Nº	Detalle	Unidad	Cantidad	Precio Unitario (Bs)	Costo (Bs)
1	Espinaca	g	409	0.015	6
2	Etanol al 96%	l	1,5	9,5	14,25
3	Agua destilada	l	0,5	4	2
4	Beta caroteno comercial	g	0,5	40	20
5	Papel filtro	pliegue	1	8	8
6	Silica gel 60	g	15	1,54	23,10
Total					73,35

Fuente: Elaboración propia, 2025.

TABLA IV-8: Detalle de costos de energía en los equipos utilizados

Nº	Detalle	Potencia (KW)	Tiempo (h)	Costo (Bs)
1	Estufa	2	13,5	24,30
2	Calentador eléctrico	1	4	3,60
3	Baño María	1,32	3	3,56
4	Bomba de vacío	0,23	3	0,62
5	Molino de martillos	1	0,12	0,11
Total				32,19

Fuente: Elaboración propia, 2025.

El costo total de producción es la suma de los costos del proceso de obtención y del consumo energético de los equipos usados.

$$\text{Costo total} = 73,35 \text{ Bs} + 32,19 \text{ Bs}$$

Costo total = 105,54 Bs / 30 ml de extracto concentrado que contiene 732,78 µg de beta caroteno

Para la producción de 30 ml de extracto concentrado que contiene 732,78 µg de beta caroteno, a partir de la espinaca procedente del valle central de Tarija, comunidad de Erquis, se tiene un costo aproximado de 105,54 Bs (Redondeado a 105,60 Bs).

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

De acuerdo a lo realizado en el presente proyecto de investigación de obtención de beta caroteno a partir de la espinaca, según objetivos planteados y observando los resultados obtenidos de los mismos, las conclusiones son las siguientes:

Se caracterizó la espinaca utilizada (*Spinacia oleracea* L.) procedente del Valle Central de Tarija, donde se obtuvieron los siguientes resultados fisicoquímicos por el laboratorio del CEANID: Ceniza 1,79%, Fibra 0,95%, Grasa 0,29%, Hidratos de Carbono 4,61%, Humedad 89,38%, Proteína total 3,93% y Valor energético de 37 kcal/100g.

El método de extracción empleado fue el método de Soxhlet, el cual fue seleccionado mediante una matriz de selección que evaluó factores de viabilidad, tiempo, temperatura y costos. Se utilizó 217 g de hojas de espinaca donde se extrajo un extracto concentrado que contiene 732,78 µg de beta caroteno, obteniendo un rendimiento de 9,20% en base húmeda y 13,58% en base seca.

En el análisis estadístico se muestra que las variables independientes seleccionadas de tiempo, temperatura, concentración de solvente y sus interacciones, son significativas en relación con la variable dependiente que es la concentración del extracto. Por tanto, realizando un análisis en los resultados obtenidos de la cuantificación del concentrado, se llega a la conclusión de:

- La temperatura a la que se obtiene mayor concentración de beta caroteno, utilizando como solvente etanol, es en su punto de ebullición (la temperatura utilizada en este proyecto de investigación es de 75°C, cercano al punto de ebullición del etanol que es de 73°C en la ciudad de Tarija). Esto porque al utilizar la temperatura elevada de 100°C, se ve una disminución de la cantidad de beta caroteno en los resultados, por lo que no es adecuado ya que se comprueba que induce a la degradación térmica.
- Los resultados obtenidos de la concentración a 360 minutos, muestran una significativa reducción de beta caroteno en comparación con el del nivel bajo del

diseño experimental. Por lo tanto, 240 minutos es el tiempo de exposición adecuado en la extracción para no llegar a la oxidación del beta caroteno.

- La concentración de etanol al 96% es óptima para obtener una mayor concentración de beta caroteno en comparación con el etanol al 90%. Esto indica que la solubilidad del beta caroteno es inversamente proporcional a la polaridad del solvente, ya que la concentración de etanol al 96% posee menor polaridad. Esta afirmación coincide con lo expuesto en el trabajo de Catalán (2016).

Al extracto concentrado, que posee mayor cantidad de beta caroteno, se le realizó la caracterización por el laboratorio del CEANID, donde se obtuvieron los siguientes resultados fisicoquímicos: Densidad relativa (20°C/20°C) de 0,8499 g/ml, pH de 6,2, Sólidos Insolubles de 0,12% y Sólidos Solubles de 31°Brix. Con una tonalidad de verde oliva oscuro, determinado en base a la Tabla Munsell.

El costo de producción determinado para la obtención de beta caroteno, a escala laboratorio, es de 105,60 Bs / 30 ml de extracto concentrado que contiene 732,78 µg de beta caroteno.

Los resultados obtenidos muestran el potencial del proceso como base para futuras investigaciones, ya que, según la comparación realizada en el capítulo III punto 3.9, la obtención de beta caroteno aún puede optimizarse.

5.2 Recomendaciones

- El proceso de extracción como de la concentración conllevan una pérdida de agua considerables, ya que la extracción necesita una circulación de agua de 4 horas y la concentración de 3 horas, por lo que se recomienda explorar iniciativas que busque el aprovechamiento del agua y no se desperdicie en estos procesos.
- Realizar el análisis cuantitativo luego de la extracción y en posteriores días, para una comparación de la degradación del beta caroteno en distintos tiempos.
- Realizar la extracción con la otra variedad de espinaca que se encuentra en la ciudad de Tarija, para una comparación de la cantidad de beta caroteno que se puede llegar a extraer en condiciones similares.