

# Determinación de la vida útil de un extracto y microencapsulado de licopenos obtenido de residuos agroindustriales del tomate de árbol (*Solanum betaceum*)

## Determination of the shelf life of a lycopene extract and its microencapsulated form obtained from agro-industrial by-products of tamarillo (*Solanum betaceum*)

Danae Fernández Rivero<sup>1</sup>; Orestes Darío López Hernández<sup>2</sup>; Antonio Iraizoz Colarte<sup>3</sup>

### ABSTRACT

Stability studies were carried out to determine the shelf life of the lycopene extract and its microencapsulated form. The extract was stored in amber glass bottles at controlled temperatures of 2 to 8°C for a period of 15 days. For microencapsulated lycopene, a storage system using high-density polyethylene-aluminum bags was used. This product was stored at a temperature of  $20 \pm 5^\circ\text{C}$  for 24 months. The shelf life of both products was determined based on the analysis of lycopene concentration over time. At the end of the study, antioxidant activity was evaluated using the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) method. The results indicated that the lycopene extract had an estimated shelf life of 7 days, while the microencapsulated product had a shelf life of 22 months.

**Keywords:** stability study, lycopene extract, microencapsulation, shelf life.

### RESUMEN

Los estudios de estabilidad se realizaron con el fin de determinar la vida útil del extracto y microencapsulado de licopenos. Para el extracto de licopenos, se utilizó un almacenamiento en frascos de vidrio color ámbar, el cual fue conservado a temperaturas controladas de 2 a 8°C durante un período de 15 días. En el caso del microencapsulado de licopenos, se utilizó un sistema de almacenamiento con bolsas de polietileno de alta densidad-aluminio. Este producto fue almacenado a una temperatura de  $20 \pm 5^\circ\text{C}$  durante un período de 24 meses. El tiempo de vida útil de ambos productos se determinó a partir del análisis de la concentración de licopenos en función del tiempo. Al finalizar el estudio, se evaluó la actividad antioxidante mediante la técnica del 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH). Los resultados indicaron que el extracto de licopenos presentó una vida útil estimada de 7 días y el microencapsulado de 22 meses.

**Palabras clave:** estudio de estabilidad, extracto de licopenos, microencapsulados, tiempo de vida útil.



1 Universidad Técnica de Ambato, Ambato, Tungurahua, Ecuador. da.fernandez@uta.edu.ec. <https://orcid.org/0000-0002-7530-7467>

2 Universidad Técnica de Ambato, Ambato, Tungurahua, Ecuador. od.lopez@uta.edu.ec. <https://orcid.org/0000-0002-3217-9493>

3 Universidad de la Habana, La Habana, Cuba. airaizoz@ifal.uh.cu. <https://orcid.org/0000-0001-7243-9176>

\*Autor para correspondencia: email: da.fernandez@uta.edu.ec

## 1. INTRODUCCIÓN

En la actualidad los antioxidantes naturales tienen un papel muy importante para el bienestar humano. Durante siglos, comunidades de todo el mundo se han beneficiado de estos compuestos para tratar diversas enfermedades y mejorar su salud. Un ejemplo destacado es el licopeno, el cual se asocia a múltiples actividades biológicas como: anticancerígenas, antioxidantes, cardioprotectoras, neuroprotectoras, inductoras del sueño, antiinflamatorias, antiagregantes plaquetarias y antihipertensivas (Shafe et al., 2024). Este pigmento carotenoide se encuentra en frutas y verduras rojas, rosadas y naranjas. El tomate es la principal fuente dietética de licopeno y también aporta cantidades considerables de vitaminas K, A, C, fibra y carbohidratos, además de pequeñas cantidades de hierro, potasio, fósforo y azufre. La obtención de extractos vegetales con alto contenido de licopenos podría ser de utilidad como suplemento alimentario (Sorriento, 2024). Para incrementar la estabilidad y biodisponibilidad del licopeno extraído, se emplea la técnica de microencapsulación. Este método consiste en encapsular el licopeno dentro de una matriz polimérica, generando microcápsulas que lo resguardan de factores externos como la luz, el oxígeno y la temperatura (Martínez, 2015).

Los estudios de estabilidad son fundamentales para garantizar la eficacia, seguridad y calidad de los suplementos y productos farmacéuticos a lo largo del tiempo. Estos estudios evalúan cómo las propiedades de un principio activo varían bajo la influencia de diversos factores ambientales con respecto al tiempo. De acuerdo con la ICH Topic Q 1 A (R2), (2023) los estudios de estabilidad comienzan con la selección de los lotes, estos deben almacenarse en condiciones controladas. Se monitorean varios parámetros a lo largo del estudio, como el contenido de principio activo, el cual se analiza para identificar tendencias y determinar la vida útil del producto.

El objetivo principal de este estudio es estimar el tiempo de vida útil de un extracto y un microencapsulado de licopenos obtenidos a partir de los residuos agroindustriales del tomate de árbol (*Solanum betaceum*) durante su almacenamiento.

## 2. MATERIALES Y MÉTODOS

Se obtuvieron tres lotes de extracto de licopenos a partir de las cáscaras del tomate de árbol (*Solanum betaceum*) con las condiciones establecidas por Urbina et al., (2020), el cual fue microencapsulado de acuerdo con la metodología descrita por Pazmiño et al., (2022) utilizando maltodextrina y goma arábiga como polímeros de pared. Se realizó un estudio de estabilidad en vida de estante según lo establecido en la ICH Topic Q 1 A, (2003) con el objetivo de determinar el tiempo de estabilidad, estudio similar fue realizado por Fernández et al., (2024), al estudiar la estabilidad de las cápsulas elaboradas con estos microencapsulados de licopenos. Este estudio es importante para conocer las condiciones en las que se debe almacenar el extracto y el microencapsulado, ya que en un proceso de producción se deben establecer los tiempos de estabilidad de los productos intermedios y final, considerando que el extracto y microencapsulado pueden considerarse productos intermedios en la elaboración de una forma farmacéutica.

Se evaluó la estabilidad del extracto mediante mediciones de la concentración de licopenos en los días: 0, 3, 6, 9, 12 y 15, a la temperatura 2 - 8°C en frascos de vidrio color ámbar ya que este material impide el paso de la luz.

Adicionalmente se evaluó la estabilidad de los microencapsulados durante 24 meses mediante mediciones de la concentración de licopenos cada 3 meses durante el primer año y cada 6 meses en el segundo año, a la temperatura de  $20 \pm 5^\circ\text{C}$  y humedad de  $65 \pm 5\%$  conservado en bolsas de polietileno de alta densidad-aluminio (HDPE-Al-HDPE) de 100 gramos. Estas bolsas protegen de la luz, humedad y el oxígeno al microencapsulado, además de que son fáciles de manejar y transportar.

A partir de los resultados obtenidos de la concentración de licopenos en el tiempo, se determinó: la constante de velocidad de degradación (k), el tiempo de vida media ( $t_{1/2}$ ) y el tiempo de estabilidad ( $t_{10\%}$ ) (Lozano et al., 2012).

## 2.1 Ensayos realizados en el estudio de estabilidad

### 2.1.1 Determinación de la concentración de licopenos

Se determinó la concentración de licopenos directamente al extracto de licopenos, mientras que para el microencapsulado primeramente se disolvió 1 gramo en 20 ml de agua destilada durante 10 minutos. Utilizando un espectrómetro (Fisher Scientific, Finlandia), se determinó la absorbancia (A) a una longitud de onda de 472 nm. Se calculó la concentración de licopenos (C, mg/ml) utilizando un valor de absortividad del etanol de 3450 (E) (Ecuación 1) (Strati y Oreopoulou, 2011).

$$C = \frac{A \cdot 10^4}{E} \quad (1)$$

### 2.1.2 Determinación de la actividad antioxidante

Se utilizó el método DPPH siguiendo la metodología de Bobo et al. (2015), para la determinación de la actividad antioxidante del extracto y microencapsulado de licopenos al final del estudio de estabilidad. Este es un método químico que se basa en la capacidad de los antioxidantes para neutralizar el radical libre estable DPPH. Se procedió a la determinación de la actividad antioxidante del extracto y a la disolución de microencapsulados como se indica en el epígrafe 2.1.1. En una placa de 96 pocillos se colocó 20  $\mu\text{l}$  de la muestra o de la solución estándar, con 180  $\mu\text{l}$  del reactivo DPPH (Sigma-Aldrich, USA) disuelto en metanol-agua en una proporción (80:20) a una concentración de 150  $\mu\text{mol/l}$  y se agitó por 60 segundos. Se incubó la placa por 40 minutos en ausencia de la luz a temperatura ambiente, posteriormente se determinó la absorbancia a 515 nm a la temperatura de  $25^\circ\text{C}$  en el espectrofotómetro (Fisher Scientific, Finlandia).

La capacidad antioxidante se calculó como el porcentaje de inhibición del radical DPPH utilizando la ecuación 2, a partir de los valores de absorbancia obtenida de la muestra (Abs muestra) y el control (Abs control), con la previa elaboración de una curva estándar de Trolox (50-500  $\mu\text{mol/l}$ ) (Bobo et al., 2015).

$$\% \text{ inhibición de DPPH} = \left[ 1 - \left( \frac{\text{Abs muestra} - \text{Abs control}}{\text{Abs control}} \right) \right] * 100 \quad (2)$$

### 2.1.3 Análisis de datos

Los datos fueron analizados mediante Minitab 18 Statistical Software (Pensilvania, Estados Unidos) para el cálculo de la media y la desviación estándar de los resultados obtenidos en cada ensayo.

## 3. RESULTADOS

A continuación, se muestran los resultados obtenidos en los estudios de estabilidad en vida de estante del extracto y el microencapsulado de licopenos.

La Tabla 1 refleja los resultados del estudio de estabilidad del extracto de licopenos. La velocidad de reacción, el tiempo de vida media y el tiempo de estabilidad fueron obtenidos a partir de la variación de la concentración de licopenos en el tiempo. Los lotes 1, 2 y 3 muestran valores similares de la constante de velocidad de reacción ( $k$ ), aunque el lote 3 tiene la menor  $k$  ( $0,0124 \text{ días}^{-1}$ ), lo que indica que su reacción es la más lenta, mientras que el lote 2 tiene la mayor  $k$  ( $0,0138 \text{ días}^{-1}$ ), indicando que su reacción es la más rápida.

**Tabla 1**  
*Resultados obtenidos en el estudio de estabilidad del extracto de licopenos*

Lote	Velocidad de reacción $k$ ( $\text{días}^{-1}$ )	Tiempo de vida media (días) $t_{1/2} = \ln 2/k$	Tiempo de estabilidad (días) $t_{10\%} = 0,104/k$
1	0,0129	53,7	8,06
2	0,0138	50,2	7,54
3	0,0124	55,9	8,39

El tiempo de vida media ( $t_{1/2}$ ) representa el tiempo que tarda en degradarse el 50% del principio activo, estos valores reflejan la diferencia entre las velocidades de reacción de los lotes, siendo el lote 3 el que tiene el tiempo de vida media más largo.

El tiempo de estabilidad ( $t_{10\%}$ ) representa el tiempo que tarda en disminuir al 90% el valor inicial de la concentración del principio activo. Estos valores también reflejan la diferencia en las velocidades de reacción entre los lotes. El lote 3 tiene el tiempo de estabilidad más largo, lo que significa que le toma más tiempo para que la concentración de licopenos disminuya al 90%, mientras que el lote 2 tiene el tiempo de estabilidad más corto, por lo que se puede considerar un tiempo de aproximadamente de 7 días estable el extracto de licopenos a la temperatura  $2 - 8^\circ\text{C}$  en frascos de vidrio color ámbar.

En la Tabla 2 se observan los valores de tiempo de vida media, tiempo de estabilidad y velocidad de reacción obtenidos del estudio de estabilidad del microencapsulado de licopenos durante 24 meses almacenado en bolsas de polietileno de alta densidad-aluminio a la temperatura de  $20 \pm 5^\circ\text{C}$ .

**Tabla 2**

*Resultados obtenidos en el estudio de estabilidad del microencapsulado de licopenos*

Lote	Velocidad de reacción $k$ (mes <sup>-1</sup> )	Tiempo de vida media (mes) $t_{1/2} = \ln 2/k$	Tiempo de estabilidad (mes) $t_{10\%} = 0,104/k$
1	0,0045	154,00	23,11
2	0,0044	157,50	23,64
3	0,0046	150,65	22,61

Los tres lotes de microencapsulados mostraron resultados similares, presentando los lotes 1 y 2 igual tiempo de estabilidad (23 meses), lo que sugiere una buena reproducibilidad en el proceso de fabricación ya que se elaboraron de forma consecutiva. El lote 3 presentó una degradación ligeramente más rápida ya que la velocidad de reacción fue mayor ( $k=0,0046$  mes<sup>-1</sup>), esta diferencia podría ser causada por pequeñas variaciones en las condiciones de almacenamiento. La diferencia en el tiempo de estabilidad entre los lotes es de aproximadamente un mes, por lo que pudiera sugerirse un tiempo de estabilidad para el microencapsulado de 22 meses a la temperatura de  $20 \pm 5^\circ\text{C}$  en bolsas de polietileno de alta densidad-aluminio.

La concentración equivalente de Trolox del extracto y microencapsulado de licopenos se analizó al final del estudio de estabilidad (Tabla 3), estos valores fueron obtenidos a partir de la ecuación de la recta obtenida en la curva estándar ( $y = 0,1801x + 14,238$ ;  $R^2 = 0,9909$ ), estos resultados sugieren que tanto el extracto, como el microencapsulado presentaron actividad antioxidante al final del estudio de estabilidad. El cálculo de la concentración equivalente de Trolox por gramo de muestra se realizó considerando que se utilizó una muestra de 10 mg de microencapsulados de licopenos disueltos en 10 ml de agua destilada.

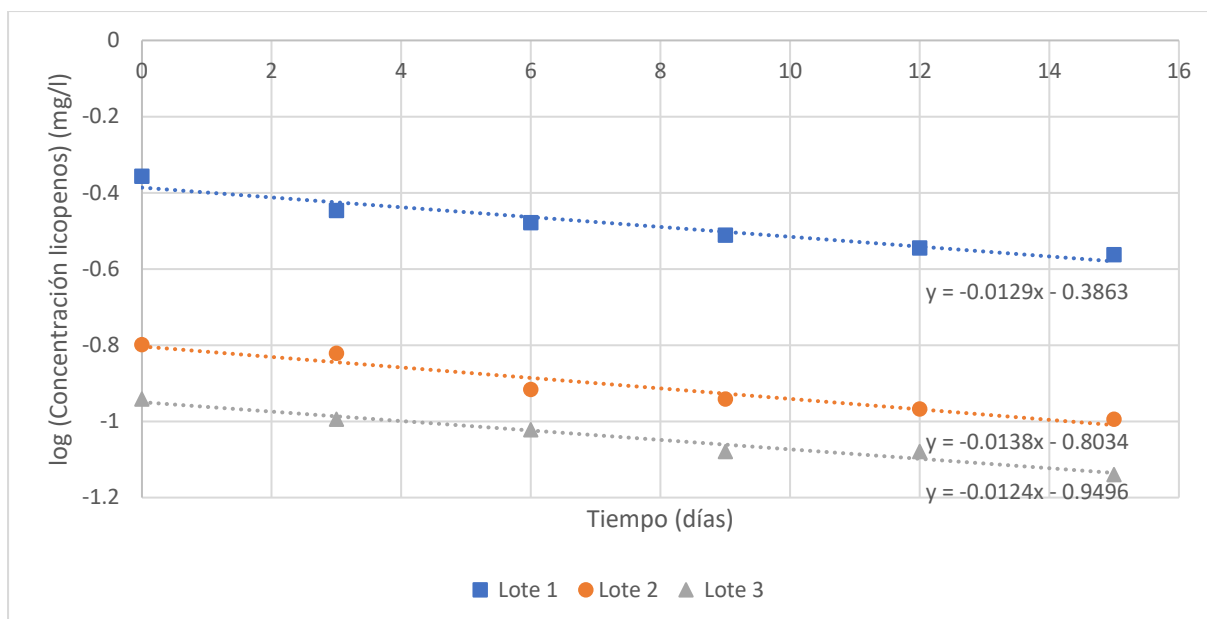
**Tabla 3**

*Resultados obtenidos en el ensayo de DPPH*

Lotes	Extracto de licopenos		Microencapsulado de licopenos	
	% Inhibición DPPH	C(Trolox) $\mu\text{mol/g}$	% Inhibición DPPH	C(Trolox) $\mu\text{mol/g}$
1	96,46	$456,55 \pm 0,23$	38,28	$133,5 \pm 0,56$
2	96,50	$456,78 \pm 0,25$	38,41	$134,2 \pm 0,67$
3	96,56	$457,10 \pm 0,31$	38,51	$134,8 \pm 0,44$

#### 4. DISCUSIÓN

En la Figura 1 se muestra el gráfico obtenido entre el logaritmo de la concentración de licopenos y el tiempo, observando un buen ajuste en la ecuación de la recta obtenida, por lo que se puede considerar que la degradación del licopeno en el extracto sigue una cinética de primer orden, donde la degradación depende de la concentración del principio activo, resultados similares fueron obtenidos por Tumer y Tulek, (2023) para el licopeno durante la conservación del tomate.

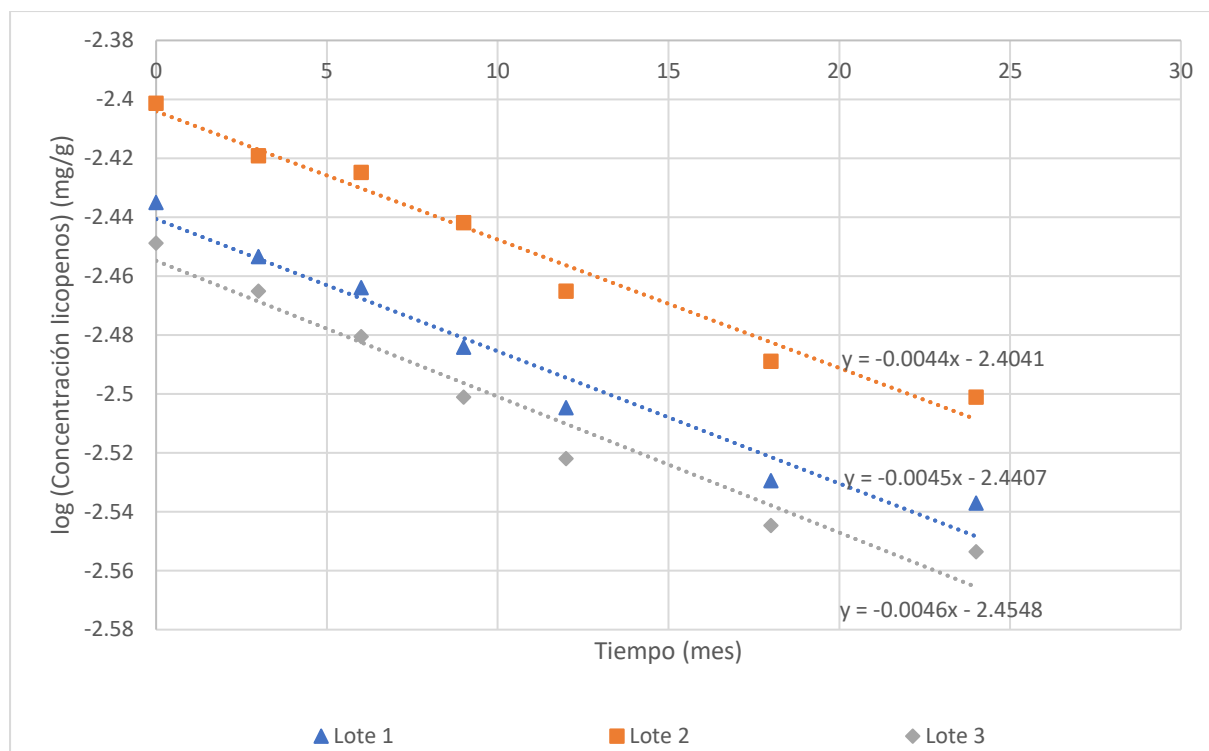


**Figura 1**

*Variación de la concentración de licopenos en el extracto*

De acuerdo con los resultados obtenidos en este estudio de estabilidad se puede indicar que el extracto de licopenos es estable durante 7 días almacenado en frascos de vidrio color ámbar. Cabe destacar que la temperatura de conservación durante todo el estudio se mantuvo de 2 a 8°C.

La Figura 2 muestra el gráfico obtenido entre el logaritmo de la concentración de licopenos y el tiempo, observando un buen ajuste en la ecuación de la recta obtenida, por lo que se puede considerar que la degradación del licopeno en el microencapsulado sigue también una cinética de orden 1, donde la degradación depende de la concentración del principio activo.



**Figura 2**

*Variación de concentración de licopenos en los microencapsulados*

De acuerdo con los resultados obtenidos en este estudio de estabilidad se demuestra que el microencapsulado de licopenos es estable durante 22 meses a la temperatura de  $20 \pm 5^\circ\text{C}$  en bolsas de polietileno de alta densidad-aluminio.

Conocer el tiempo de estabilidad del extracto y microencapsulado de licopenos resulta fundamental, ya que facilita la planificación y organización entre los tiempos en el proceso productivo. Además, mejora la coordinación entre las distintas etapas del proceso de producción, asegurando la eficacia de ambos productos intermedios antes de su uso en la elaboración del producto final.

Que presenten actividad antioxidante es importante para garantizar una efectividad en el producto final que se elabore, estos resultados se relacionan con los valores obtenidos previamente para el microencapsulado de licopenos obtenido por Miranda et al. (2023), donde los valores estuvieron entre 123,52 a 192,50  $\mu\text{mol/g}$  equivalentes de Trolox. Los resultados se expresaron en equivalentes de Trolox, un análogo de la vitamina E, utilizado como antioxidante de referencia (Valderrama y García, 2019).

## 5. CONCLUSIONES

La evaluación de la estabilidad del extracto de licopenos determinó una vida útil estimada de 7 días a una temperatura de  $2-8^\circ\text{C}$  cuando se almacena en frascos de vidrio ámbar, mientras que el microencapsulado presentó una estabilidad de 22 meses a  $20 \pm 5^\circ\text{C}$  en bolsas de polietileno de alta densidad con aluminio. Estos tiempos de estabilidad son fundamentales, ya que la producción del microencapsulado requiere garantizar la calidad del extracto durante al menos

una semana, dependiendo de la coordinación entre las distintas etapas del proceso. Por otro lado, el microencapsulado de licopenos actúa como Ingrediente Farmacéuticamente Activo en la fabricación de cápsulas y otras formas farmacéuticas. En un entorno industrial, es esencial contar con un periodo de almacenamiento que asegure la estabilidad del IFA durante al menos un año.

Estos resultados sirven como referencia para definir las especificaciones de control de calidad del extracto y el microencapsulado de licopenos como productos intermedios en un entorno de producción industrial. Asimismo, es importante considerar que las condiciones de almacenamiento evaluadas en el estudio, como la temperatura y el tipo de envase, influyen directamente en la estabilidad del producto, por lo que deben ser estrictamente supervisadas en la fabricación de lotes futuros.

**Materiales complementarios:** no aplica

**Contribuciones de los autores:** Conceptualización, Danae Fernández, Orestes López y Antonio Iraizoz; metodología Danae Fernández; validación Orestes López y Antonio Iraizoz; análisis formal Danae Fernández y Orestes López; investigación Danae Fernández; redacción-revisión y edición, Danae Fernández, Orestes López y Antonio Iraizoz. Todos los autores han leído y aceptado la versión publicada del manuscrito

**Financiamiento:** "Esta investigación no recibió financiamiento externo"

**Declaración de consentimiento informado:** "No aplicable"

**Conflictos de interés:** "Los autores declaran no tener conflicto de interés".

## REFERENCIAS

- Bobo-García, G., Davidov-Pardo, G., Arroqui, C., Vírveda, P., Marín-Arroyo, M. R. y Navarro, M. (2015). Intra-laboratory validation of microplate methods for total phenolic content and antioxidant activity on polyphenolic extracts, and comparison with conventional spectrophotometric methods. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(1), 204–209. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6706>
- ICH Topic Q 1 A (R2) *Stability Testing of new Drug Substances and Products Step 5 NOTE FOR GUIDANCE ON STABILITY TESTING: STABILITY TESTING OF NEW DRUG SUBSTANCES AND PRODUCTS*. (2003). <http://www.emea.eu.int>
- Lozano, M. del C., Córdoba, D. y Córdoba, M. (2012). *Manual de tecnología farmacéutica* Fotoletra S.A, 1. ELSEVIER.
- Martínez, O. LA. (2015). Microencapsulación mediante secado por aspersión de compuestos bioactivos. *Rev. Iber. Tecnología Postcosecha*, 16(2).
- Miranda, P. P., Fernández, D., Coello-Fiallos, D., López, O. D. y Iraizoz, A. (2023). Microencapsulation of lycopene extracted from the agroindustrial waste of the tree tomato (*Solanum Betaceum*). *Bionatura*, 8(2). <https://doi.org/10.21931/RB/2023.08.02.3>



- Pazmiño, D. A., Fernández, D., López, O. D. y Iraizoz, A. (2022). Evaluation of different polymer combinations in the microencapsulation of lycopenes from tree tomato (*Solanum betaceum*) residues. *Bionatura*, 7(2). <https://doi.org/10.21931/RB/2022.07.02.29>
- Ramón-Valderrama, J. A. y Galeano-García, P. L. (2019). Actividad antioxidante y antimicrobiana de extractos metanólicos de hojas de plantas del género *Solanum*. Antioxidant and antimicrobial activities in leaf methanolic extracts from the plant genus *Solanum*. *Información Tecnológica*, 31(5), 33–42. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642020000500033>
- Fernández, D., Bautista, S. N., Pazmiño, N. P., López, O. D. y Iraizoz, A. (2024). Evaluación de la estabilidad fisicoquímica de cápsulas de gelatina dura con microencapsulados de licopenos. *Alimentos Ciencia e Ingeniería*, 31(02), 1–10. <https://doi.org/10.31243/aci.v31i02.2555>
- Shafe, M. O., Gumede, N. M., Nyakudya, T. T. y Chivandi, E. (2024). Lycopene: A Potent Antioxidant with Multiple Health Benefits. *Journal of Nutrition and Metabolism*, 2024(1). <https://doi.org/10.1155/2024/6252426>
- Sorriento, D. (2024). Oxidative Stress and Inflammation in Cancer. *Antioxidants*, 13(11), 1403. <https://doi.org/10.3390/antiox13111403>
- Strati, I. F. y Oreopoulou, V. (2011). Process optimisation for recovery of carotenoids from tomato waste. *Food Chemistry*, 129(3), 747–752. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2011.05.015>
- Tumer, E. y Tulek, Y. (2023). Effects of dehydrofreezing conditions on tomato lycopene and kinetics of lycopene change in dehydrofrozen tomatoes during storage. *Journal of Food Process Engineering*, 46(2). <https://doi.org/10.1111/JFPE.14237>
- Urbina, W. R., Fernández, D., López, O. D. y Iraizoz, A. (2020). Obtaining an extract rich in carotenoids with antioxidant capacity on a bank scale from agro-industrial residues of tree tomato (*Solanum betaceum*). *Bionatura*, 5(4), 1356–1362. <https://doi.org/10.21931/RB/2020.05.04.13>