



FACULTAD DE INGENIERÍA
CARRERA DE INGENIERÍA INDUSTRIAL

EXTRACCIÓN DE LUTEÍNA A PARTIR DE FLORES DE VIRREINA
(Tagetes spp)

Proyecto de grado – Año 2018
Ingeniería Industrial

Alumnas:
Espinoza, María José
Vida, Daniela Florencia

INFORME FINAL

PROYECTO DE GRADO

“EXTRACCIÓN DE LUTEÍNA A PARTIR DE FLORES DE VIRREINA (*Tagetes spp*)”



ESPINOZA, MARIA JOSÉ
ALUMNA

VIDA, DANIELA FLORENCIA
ALUMNA

TITA, GERARDO
PROFESOR GUÍA

TRIBUNAL EVALUADOR

Ing. Villagrán, Pedro

Ing. Cornejo, Rosario

Ing. Cornejo, Eduardo

Dedicatoria

A nuestras familias y amigos.

*“Si caminas solo, llegarás más rápido;
si caminas acompañado, llegarás más lejos”*

Agradecimientos

Al Ing. Gerardo Tita, quien nos brindó sus conocimientos con total entrega.

A la Universidad Católica de Salta y a la Facultad de Ingeniería por la formación brindada

CONTENIDO

Abstract	9
1. INTRODUCCIÓN	10
1.1. Objetivos específicos	10
2. VIRREINA	12
2.1. Descripción botánica.....	13
2.1.1. Taxonomía.....	13
2.2. Antecedentes históricos en Argentina.....	17
3. COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LA FLOR	19
3.1. Lípidos	20
3.1.1. Funciones.....	21
3.1.2. Clasificación	21
3.2. Carotenoides	22
3.2.1. Carotenos.....	24
3.2.2. Xantófilas	25
4. USOS DE LA LUTEÍNA	38
4.1. Uso avícola.....	38
4.1.1. Dosis en pollos parilleros	39
4.1.2. Dosis para gallinas ponedoras	40
4.2. Colorante alimenticio para consumo humano	41
4.3. Suplemento dietario	44
4.3.1. Efectos secundarios y contraindicaciones	45
4.4. Cremas fotoprotectoras	45
4.5. Insecticidas	47
4.6. Otros usos.....	48
4.6.1. Medicina tradicional	48
4.6.2. Infusión en bebidas.....	48
5. MÉTODOS DE EXTRACCIÓN	50
5.1. Extracción con solventes.....	50
5.1.1. Percolación	51
5.1.2. Extracción mediante equipo Soxhlet	53
5.1.3. Maceración o extracción alcohólica.....	55
5.1.4. Selección del disolvente de extracción y tiempo de extracción	56
5.2. Extracción con fluidos supercríticos.....	58
5.2.2. Cinética de extracción – Mecanismos de transporte en fase sólida	63

5.2.3. Planta de extracción de Universidad Católica de Salta.....	64
5.2.4. Parámetros que afectan el rendimiento	66
5.2.5. Parámetros que afectan a la extracción con fluidos supercríticos ..	69
5.3. Saponificación	71
5.3.1. Análisis de otras prácticas	72
5.4. Cuantificación	73
5.4.1. Separación cromatográfica	74
5.4.2. Espectrofotometría UV-VISIBLE	74
5.4.3. Análisis HPLC	76
5.4.4. Precauciones especiales	77
6. EXTRACCIÓN DE LUTEÍNA A PARTIR DE FLORES DE TAGETES SPP.....	78
6.1. Materiales y métodos	78
6.1.1. Producción de plantines	78
6.1.2. Corte de flores	81
6.1.3. Deshidratación.....	82
6.1.4. Cinética del secado	85
6.1.5. Molienda.....	91
6.2. Materia prima para la extracción.....	93
6.3. Extracción con etanol mediante maceración.....	94
6.4. Análisis de extracción con hexano	98
7. ANÁLISIS DE MERCADO.....	102
7.1. Análisis del entorno	102
7.1.1. Análisis porter.....	102
7.1.2. Análisis FODA	104
7.2. Mercado oferente.....	105
7.3. Mercado consumidor	105
7.3.1. Productores de huevos	105
7.3.2. Productores de pollos parrilleros	108
7.3.3. Demanda nacional de Harina de Virreina	110
7.3.4. Demanda provincial de Harina de virreina	114
8. PRESUPUESTO DE LA INVESTIGACIÓN.....	120
8.1. Gastos directos	120
8.2. Gastos indirectos.....	123
8.3. Desglose	123
8.4. Conclusiones.....	124
9. CONCLUSIONES Y FUTURAS LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN	125

Bibliografía.....	126
ANEXOS.....	138
ANEXO 1: Noticia de la provincia de Salta	138
Cien mil pesos para la virreina en Salta.....	138
ANEXO 2: Noticia de la provincia de Jujuy	140
ANEXO 3: Estudio AREDS	142
ANEXO 4: Grados de eficacia de la luteína según la Biblioteca Nacional de Medicina de los Estados Unidos.....	144
ANEXO 5: Degeneración macular relacionada con la edad.....	147
ANEXO 6: Evidencia científica de la eficacia de la luteína en suplementos dietarios	152
ANEXO 7: Suplementos dietarios con luteína disponibles en Salta.....	155
ANEXO 8: Suplementos dietarios con luteína disponibles en el mercado mundial.....	156
ANEXO 9: Descripción de tramos de alta y baja presión de la maquina de extracción con fluidos supercríticos (Universidad Católica de Salta).	158
ANEXO 10: Resultados de análisis de la muestra	161

Lista de figuras

Figura 1. Flores de virreina	12
Figura 2. Principales partes de flor de la Familia Asteraceae (Tagetes erecta).....	15
Figura 3. Tagetes erecta simple	16
Figura 4. Tagetes erecta doble.....	16
Figura 5. Tagetes patula.....	17
Figura 6. Composición química de la flor de Tagetes.....	19
Figura 7. Clasificación de los compuestos orgánicos según su origen.....	20
Figura 8. Clasificación de los carotenoides	23
Figura 9. Composición química de la oleoresina de virreina	30
Figura 10. Composición del extracto de virreina.....	31
Figura 11. Ubicación de luteína y zeaxantina en el ojo.....	36
Figura 12. Diagrama del proceso previo al percolado	51
Figura 13. Percolador de laboratorio	52
Figura 14. Esquema: armado del percolador	53
Figura 15. Extracción con equipo Soxhlet de laboratorio a partir de material vegetal.....	54
Figura 16. Partes del equipo Soxhlet.	55
Figura 17. Diagrama de fases para dióxido de carbono	60
Figura 18. Comportamiento presión – volumen – temperatura del solvente supercrítico usado en la extracción: dióxido de carbono	62
Figura 19. Disposición del material en el extractor	64
Figura 20. Etapas principales del proceso de extracción con fluidos supercríticos.....	64
Figura 21. Esquema del proceso de extracción Supercrítica de la Universidad Católica de Salta.	65
Figura 22. Rendimiento de los ésteres de luteína (mg / 100 g de caléndula, base seca) se extrajo mediante SC-CO ₂ con MCT como cosolvente en diferentes condiciones (el caudal de CO ₂ se fijó en 10 kg / h). ...	68
Figura 23. Curvas de extracción experimentales y calculadas para la extracción de SC-CO ₂ a 35 Mpa y 55°C, sin y con ultrasonido (Potencia de 240 W, frecuencia de 25 kHz. Tiempo/intervalo de irradiación=6/9s)	69
Figura 24. Saponificación	71
Figura 25. Cálculo de % III / II como indicación de la estructura fina espectral.....	75
Figura 26. Diagrama de flujo previo a la extracción.....	78
Figura 27. Tagetes erecta doble en macetas	79
Figura 28. Tagetes erecta doble en cantero	80
Figura 29. Flores cortadas de Tagetes erecta doble	82
Figura 30. Estufa utilizada de secado marca Erovne Modelo 101, n° 28	83
Figura 31. Báscula de cocina utilizada.....	84
Figura 32. Termómetro de mercurio utilizado.....	85

Figura 33. Comparación entre flores de Tagetes erecta simple. Arriba: antes de deshidratación. Abajo: Después del proceso de secado	86
Figura 34. Comparación entre flores de Tagetes erecta doble. Arriba: antes de deshidratación. A Abajo: Después del proceso de secado	87
Figura 35. Comparación entre flores de Tagetes patula. Arriba: antes de deshidratación. A Abajo: Después del proceso de secado	88
Figura 36. Representación del contenido de humedad a través del tiempo de Tagetes erecta doble, simple y patula.	91
Figura 37. Flores de Tagetes erecta simple luego del proceso de molienda.....	92
Figura 38. Máquina procesadora utilizada	93
Figura 39. Materia prima de Tagetes spp para la extracción.....	94
Figura 40. Pesaje del material seco y molido a macerar	95
Figura 41. Agitador magnético utilizado	96
Figura 42. Proceso de filtrado de la muestra	97
Figura 43. Diagrama de flujo de maceración con calor	98
Figura 44. Espectro UV-VIS de extracto acetónico de muestra de flores de virreina de producción propia.	99
Figura 45. Espectro de absorción de extracto de pétalos de Tagetes. Concentración: 8,7 10 e 4% (p/v). Disolvente: hexan. Longitud de celda: 10 mm.	99
Figura 46. Espectro de absorción UV-visible para los isómeros “all-trans-lutein” (pico 4) y “15-cis-lutein” (pico 8)	100
Figura 47. Análisis de las 5 fuerzas de Porter de la producción de Virreinas.....	103
Figura 48. Reservas de aves 2000-2011.....	106
Figura 49. Producción de huevos en América del Sur.....	107
Figura 50. Producción de carne en América Latina (2000-2011).....	109
Figura 51. Distribución de la faena avícola por provincia en el año 2017	110
Figura 52. Índices para el cálculo de harina de virreina necesaria para la demanda referida a huevos en Argentina	111
Figura 53. Índices para el cálculo de harina de virreina necesaria para la demanda referida a los pollos parrilleros en Argentina, de acuerdo al peso de la carne de pollo.....	113
Figura 54. Índices para el cálculo de harina de virreina necesaria para la demanda referida a los pollos parrilleros en Salta, de acuerdo a la cantidad de cabezas de pollos	116
Figura 55. Demanda de harina de virreina para la producción de pollos en Salta, periodo 2012-2017. ..	117
Figura 56. Proyección de la demanda de harina de virreina para la producción de pollos en Salta, en el periodo 2018-2022	118

Lista de tablas

Tabla 1. Taxonomía de Tagetes.....	14
Tabla 2. Distribución de los carotenoides en flores de Tagetes erecta.....	24
Tabla 3. Clasificación y descripción de carotenos.....	24
Tabla 4. Clasificación y descripción de xantófilas.....	26
Tabla 5. Algunas de las principales fuentes del pigmento de luteína y su contenido.....	27
Tabla 6. Concentración de ésteres en xantófilas.....	28
Tabla 7. Especificaciones del extracto de Virreina.....	32
Tabla 8. Requisitos para poder utilizar xantófilas como colorante alimentario.....	32
Tabla 9. Contenido de luteína en los alimentos.....	33
Tabla 10. Contenido de luteína en los alimentos.....	34
Tabla 11. Ventajas y desventajas de utilizar colorantes sintéticos o pigmentos naturales.....	41
Tabla 12. Luteína en el Código Alimentario Argentino.....	42
Tabla 13. Usos alimenticios previstos y niveles de uso para la luteína.....	43
Tabla 14. Recomendación para la fórmula suplementaria de AREDS 1 y 2.....	45
Tabla 15. Temperatura y presión crítica de los fluidos supercríticos más utilizados.....	58
Tabla 16. Comparación del proceso de saponificación, según otros autores.....	73
Tabla 17. Datos de absorción ultravioleta y visible para xantófilas.....	76
Tabla 18. Coeficientes de absorción ($A^{1\%}_{1\text{cm}}$) de xantófilas.....	76
Tabla 19. Porcentaje de Humedad de Tagetes erecta simple, doble y patula.....	90
Tabla 20. Comparación de secado entre Tagetes spp.....	91
Tabla 21. Gramos totales de flores almacenadas.....	93
Tabla 22. Producción de huevos en américa. Año 2011.....	106
Tabla 23. Producción de huevos con destino a industrialización.....	111
Tabla 24. Demanda anual de harina de virreina para la producción de huevos en Argentina.....	112
Tabla 25. Indicadores de oferta y demanda de carne aviar.....	113
Tabla 26. Demanda anual de harina de virreina para producción de pollos en Argentina.....	114
Tabla 27. Demanda de harina de virreina en Argentina en función de la producción avícola (toneladas)	114
Tabla 28. Faena de aves en Salta.....	115
Tabla 29. Demanda anual de harina de virreina para producción de pollos en Salta.....	116
Tabla 30. Datos para proyectar la demanda de harina de virreina en Salta.....	117
Tabla 31. Estimación de la demanda de harina de virreina en Salta.....	118
Tabla 32. Hectáreas necesarias para el cultivo de Tagetes spp, de acuerdo a la proyección de la demanda en Salta.....	119
Tabla 33. Mano de obra.....	120
Tabla 34. Material gastable.....	121
Tabla 35. Equipamiento.....	122

Tabla 36. Transporte y alimentación para dos personas	122
Tabla 37. Total de gastos directos	123
Tabla 38. Gastos indirectos	123
Tabla 39. Presupuesto del proyecto	123
Tabla 40. Desglose del presupuesto por etapas	124
Tabla 41. Grados de eficacia de luteína	146

Epígrafe

*“Mira profundamente dentro de la naturaleza, y entonces
comprenderás todo mejor”.*

Albert Einstein

ABSTRACT

Se evalúa la presencia de luteína a partir de las flores de virreina. Éstas pertenecen al género *Tagetes* y comprenden numerosas especies, se desarrollan en este trabajo *Tagetes erecta* y *Tagetes patula*.

Se determina el volumen de producción del producto industrializado harina de virreina para el uso avícola, para abastecer la demanda de alimento de pollos y gallinas, a diferentes escalas, nacional y provincial.

La inversión de este trabajo o el presupuesto de investigación es de \$30.624.

1. INTRODUCCIÓN

Este trabajo inicia con la descripción de las flores *Tagetes spp* y se analiza su composición química, con el objetivo de conocer un carotenoide particular que presenta la flor: la luteína, que es el fundamento y desarrollo de esta tesis.

Una vez estudiada esta xantófila, se detallan los diferentes usos que puede tener la misma, haciendo hincapié en la harina de virreina para el pigmentar el alimento de aves. Paralelamente, se investiga de manera extensa la evidencia científica existente acerca de la eficacia de la luteína para la degeneración macular y cataratas.

Adicionalmente, se describen los distintos métodos existentes para la extracción, por medios de los cuales se obtiene una oleoresina con alto contenido de ésteres de luteína. Se detalla el marco teórico y práctico de las extracciones. En cuanto a este último, se produce un cultivo y los pasos necesarios para realizar una extracción con maceración de autoría propia y otra con equipo soxhlet gracias a la colaboración de la Universidad Nacional de Salta, muestra que luego es analizada y cuantificada.

En relación con el uso avícola, se realiza un estudio de mercado por ser el más relevante. Al mismo tiempo, se ejecuta un presupuesto de inversión de esta investigación.

Finalmente, se exponen las conclusiones generales obtenidas a partir de este trabajo, y en base a ellas las perspectivas futuras.

1.1. **Objetivos específicos**

- Formular un análisis propio a partir de estudios previos de diversos autores acerca de *Tagetes spp*
- Evaluar condiciones óptimas
- Analizar métodos para la obtención de luteína a partir de la flor
- Analizar presencia de luteína mediante cuantificación del extracto
- Llevar a cabo la práctica
- Realizar una observación general de los distintos usos de la luteína
- Calcular la posible demanda de harina de virreina respecto al uso avícola provincial y nacional
- Dar a conocer, a través del presente proyecto, los verdaderos beneficios de las aplicaciones de la luteína.

PARTE 1: MARCO TEÓRICO

2. VIRREINA

Virreina es una planta ornamental originaria de México y Guatemala, que se usa en la medicina tradicional mexicana. Las flores poseen diferentes tonos, tales como amarillo, rojo, naranja, naranja oscuro y marrón anaranjado. Los aztecas africanos (*Tagetes erecta*) y la caléndula francesa (*Tagetes patula*) son las dos especies más comunes. El azteca africano tiene una cabeza grande de flores amarillas o anaranjadas, mientras que la maravilla francesa tiene una cabeza doble o una más pequeña de rojo, amarillo o naranja (Anonymous, 1976).

Si bien esta planta se conoce popularmente como virreina, existen muchos nombres utilizados. Algunos de ellos son: *Caléndula*, *Cempasúchil*, *Cempoal*, *Clavelón*, *Clavel de China*, *Clavel de la India*, *Clavel del moro*, *Clavel turco*, *Damasquina*, *Damasquino*, *Rosa de la India*, *Flor de la maravilla*, *Flor de muerto*, *Marigold*, *Rosa de la India*.

En México se la denomina “Cempohualxochitl” que etimológicamente significa “muchas flores” porque existía en gran cantidad entre los indígenas nativos. Se cuenta que al morir alguien, los familiares adornaban la tumba con ramos de pequeñas flores amarillas ya que se creía que tenían la habilidad de guardar en sus coronas el calor de los rayos solares.



Figura 1. Flores de virreina
Fuente: (Zapata, 2014)

2.1. Descripción botánica

Virreina es una planta de ramificación anual que se cultiva en climas templados y tiene aproximadamente 60-90 cm de altura. Las hojas son perfumadas y el color de la flor varía de amarillo limón a amarillo dorado o naranja. La floración se inicia a los 60-70 días de la siembra. La propagación puede ser por semilla, corte o tallo fresco y el cultivo de esta planta requiere 150-200 trabajadores por hectárea. Los mejores suelos son los profundos más bien drenados y sueltos, con buen contenido de materia orgánica y ricos en nitrógeno y fósforo. En lo que se refiere al clima de cultivo, esta flor resulta ser sensible al ataque de hongos, por lo tanto se recomienda su cultivo en lugares de bajo porcentaje de humedad atmosférica.

La gama de colores de virreina se debe a la presencia de diversos carotenoides, de los cuales el principal es la luteína. Actualmente sus extractos son utilizados como antioxidantes en células humanas, saborizante, aromatizante en la industria de la perfumería, obtención de resinas y con fines ornamentales.

El mayor contenido de carotenoides en la familia *Asteraceae*, se encuentra en los pétalos. La principal fuente natural de la luteína, son los pétalos de las flores de *Tagetes erecta* (Skerget, Bezjak, Makovsek , & Knez, 2010). Éstos contienen altos niveles de luteína y niveles no significativos de otros carotenoides.

Para el aprovechamiento industrial de los pigmentos florales de la virreina, las inflorescencias tipo doble son las de mayor importancia. Presentan colores que varían entre el amarillo débil y naranja intenso (Soule, Janick, & Simon, 1993).

2.1.1. Taxonomía

La taxonomía es la ciencia de la botánica que clasifica a los organismos y establece parámetros de diferencia. En la *Tabla 1*, se presenta la taxonomía de interés de este trabajo.

Tabla 1. Taxonomía de *Tagetes*

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Asterales
Familia	Asteraceae (O Compositae)
Subfamilia	Asteroideae
Tribu	Tageteae
Genero	<i>Tagetes</i>
Especies	Erecta, Patula

Fuente: (Raven & Peter, 2017)

2.1.1.1. Género *Tagetes spp*

El género *Tagetes spp* pertenece a la familia *Asteraceae*, también conocidas como compuestas y poseen más de 23.500 especies.

Asteraceae, deriva del género “aster” término proveniente del griego que significa “estrella” y hace alusión a la forma de la inflorescencia.

Se caracteriza por presentar las flores en una inflorescencia compuesta denominada capítulo¹, la cual está rodeada de una o más filas de brácteas². Se muestra en la *Figura 2*, las principales partes de la flor.

Los miembros de esta familia se distribuyen desde las regiones polares hasta los trópicos, conquistando todos los hábitats disponibles, desde los desiertos secos hasta los pantanos y desde las selvas hasta los picos montañosos (Stevens, 2013).

¹ En botánica, es un tipo de inflorescencia en la que el pedúnculo se ensancha en la extremidad formando un disco grueso.

² En botánica, es el órgano laminar que protege a las flores.

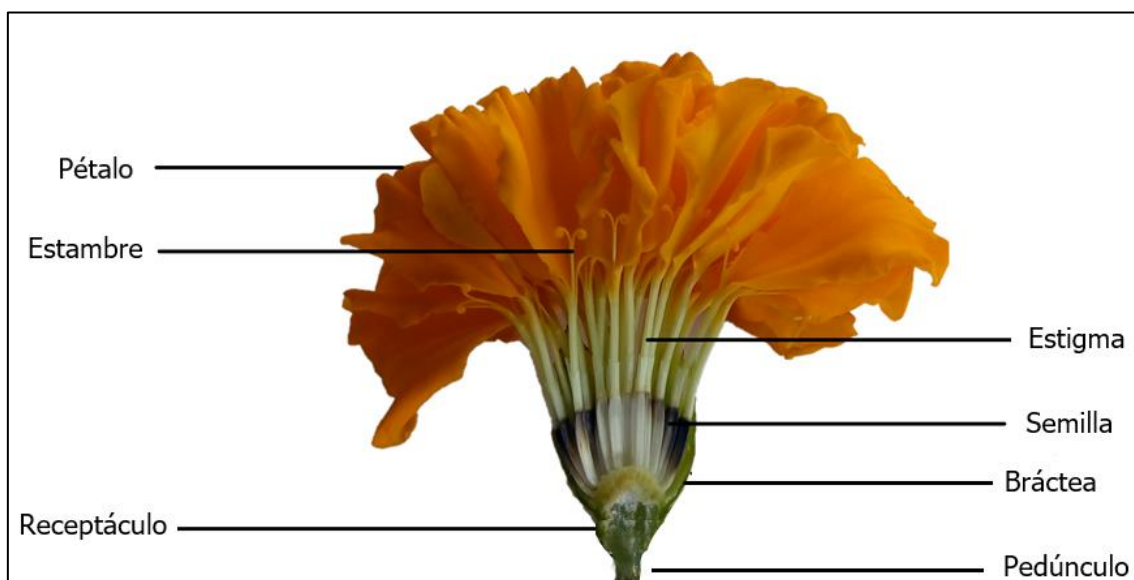


Figura 2. Principales partes de flor de la Familia Asteraceae (*Tagetes erecta*)

Fuente: Elaboración propia

2.1.1.1.1. Especie: *Tagetes erecta*

Es una planta herbácea anual o perenne, originaria de México y se conoce popularmente por ser muy utilizada en la medicina tradicional del país de origen.

La planta es erecta y muy aromática cuya flor es una cabezuela solitaria conocida como capítulo, inflorescencia que a su vez contiene numerosas flores individuales de los tipos tubulado o ligulado (Cruz & Serrato, 2006). Tiene grandes cabezas de flores con tonos amarillo, naranja o rojo, puede tener cabezas simples o dobles. Estas inflorescencias pueden tener distintas formas:

- Simple o margarita (**Figura 3**)
- Pompón o doble (**Figura 4**)
- Apétalas.



Figura 3. Tagetes erecta simple
Fuente: Autoría propia



Figura 4. Tagetes erecta doble
Fuente: Autoría propia

2.1.1.1.2. Especie: *Tagetes patula*

Es una planta anual de tipo herbáceo, originaria de México. Su época de floración se sitúa entre principios de primavera y mediados de otoño. La altura de la planta varía entre 20-50 cm. En cuanto al tamaño de la flor, son más pequeñas que las *Tagetes erecta*, el diámetro varía ente 3-5 cm. Posee un color naranja oscuro en sus pétalos y características similares a las demás especies de *Tagetes*.



Figura 5. *Tagetes patula*
Fuente: Autoría propia

2.2. Antecedentes históricos en Argentina

En el año 1998, en la provincia de Salta, hubo un boom donde los productores tabacaleros plantaban *Tagetes spp*, ya que se pueden cultivar de manera complementaria³. Existía una empresa privada, ubicada a 30 km de Salta Capital, en el Valle de Lerma, que en un principio producía harina a partir de la planta de virreina deshidratada. Luego, empezó a extraer una oleorresina de *marigold*: “la oleorresina es un extracto que conserva el aroma, el sabor y el color del producto que se trabaja”, lo que importaba en este caso es el color ya que se utiliza como colorantes naturales, entre otros usos que posee la flor (Diario la Nación, 2002). En ese entonces, la producción local se utilizaba para colorear el alimento para pollos, práctica difundida popularmente para conseguir yemas de huevo de color más intenso. Este artículo completo del diario se lo puede ver en el **ANEXO 1**.

En la provincia de Jujuy, en el año 2012, se plantaba virreina y se comercializaba su harina. “Ésta se obtiene de la deshidratación de las flores de la virreina, y se utiliza

³ Consiste en la plantación conjunta de distintos cultivos con la intención de promover y optimizar la captación de nutrientes y control de plagas.

mucho en la industria avícola porque en la mezcla con otros elementos que se utilizan en la elaboración del alimento para las gallinas ponedoras, aumenta la coloración de la yema del huevo, y a través de un proceso de laboratorio se obtiene la xantófila, sustancia colorante natural utilizada en otros productos”. En el **ANEXO 2**, se muestra el artículo completo.

Actualmente, según datos obtenidos desde el Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) no existen por el momento cultivos industriales en la provincia de Salta de *Tagetes spp.* Pese a que se tienen conocimientos de que el clima de Salta es apto para este cultivo y de que además son conocidas mundialmente como flores ornamentales, en esta provincia no se tienen en cuenta sus propiedades para incluirlas dentro de la lista de flores de corte como por ejemplo *Dianthus caryophyllus* (conocidas como claveles).

3. COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LA FLOR

Las flores de *Tagetes spp* se componen aproximadamente de 40-50% de pétalos. Éstos son excelentes fuentes de luteína, ya que contienen altos niveles del orden de 9,92 mg/g (Verghese, 1998) y niveles no significativos de otros carotenoides.

Dependiendo de las variedades de las flores de virreina, las prácticas de cultivo y horticultura, el rendimiento de la flor muestra variaciones notables en el número y en el peso de la flor, entre 11-30 toneladas / hectárea.

El rendimiento seco de las flores es de aproximadamente 10%, y el contenido de xantófilas presente en las flores van del 0,6-2,5% en una base seca, y el 88-92% del total de las mismas en las flores de virreina son luteína y zeaxantina (Quackenbush & Miller, 1972) (Martinez, 2002). La calidad del material de partida y las condiciones de deshidratación son dos de los factores críticos que influyen en la retención de xantófilas.

Del total de carotenoides presentes en la flor de virreina, algunos autores afirman que el 60% corresponde a luteína (Phillip & Berry, 1975). Otros autores afirman que entre un 70-90% pertenece a luteína mientras que entre un 10-25% a zeaxantina, existiendo también otros ésteres de carotenoides, pero en cantidades menos significativas. Lo descrito se ilustra en la **Figura 6** para mayor entendimiento.

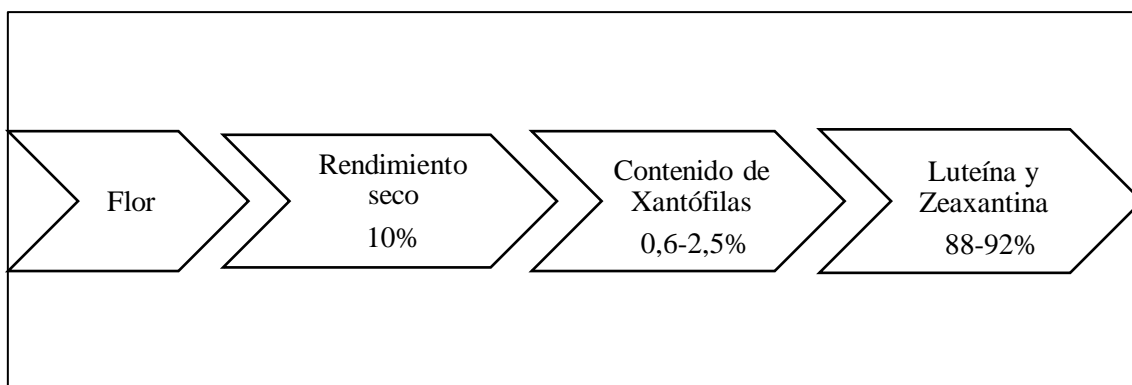


Figura 6. Composición química de la flor de *Tagetes*

Fuente: Elaboración propia en base a (Quackenbush & Miller, 1972) y (Martinez, 2002)

3.1. Lípidos

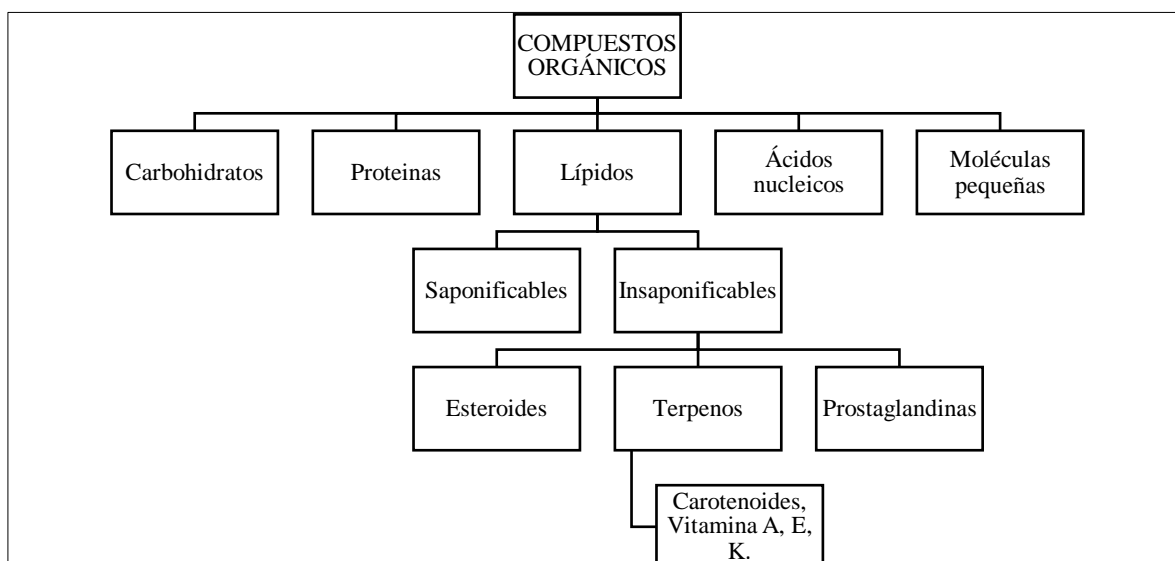


Figura 7. Clasificación de los compuestos orgánicos según su origen

Fuente: Elaboración propia en base a (Autino, Romanelli, & Ruiz, 2013) y (Morrison & Boyd, 1990)

En la actualidad, a la química orgánica se la llama también química del carbono.

Los químicos consideran hoy compuestos orgánicos a aquellos que contienen carbono en su estructura, además de otros elementos (que pueden ser uno o más), entre los cuales los más comunes son: hidrógeno, oxígeno, nitrógeno, azufre y los halógenos⁴.

Se desarrolla los conocimientos acerca de los lípidos ya que los carotenoides forman parte de ellos, y resulta de suma importancia para poder entender sus características respecto a la extracción.

Básicamente, la característica común a todos los lípidos es su alta solubilidad en solventes orgánicos poco polares y su escasa o nula solubilidad en agua. Pueden clasificarse según la solubilidad en:

- Hidrofílicos: Solubles en agua
- Hidrofóbicos⁵: Solubles en disolventes orgánicos, debido a que la principal porción de su estructura está formada por hidrógeno y carbono, también pueden contener fósforo, azufre y nitrógeno. La mayoría de los lípidos son hidrofóbicos.

Por tener estas dos particularidades juntas, se dice que tiene carácter de anfipático.

⁴ Elementos químicos pertenecientes al grupo 17 de la tabla periódica: Flúor, Cloro, Bromo, Yodo, Astatio y Téneso.

⁵ “Que le teme al agua o la rechaza”.

A los lípidos se les llama incorrectamente grasas, ya que las grasas son solo un tipo de lípidos procedentes de animales y son los más ampliamente distribuidos en la naturaleza. Resultan ser constituyentes importantes de la alimentación, presentes por ejemplo en aceites, manteca y yema de huevo.

3.1.1. Funciones

Los lípidos desempeñan diversas funciones biológicas de gran importancia, se puede simplificar las más relevantes en:

- Constituyen las principales reservas energéticas de los seres vivos (kilo calorías)
- Forman parte de las membranas celulares: grasas, aceites, ciertas vitaminas y hormonas, y la mayor parte de los componentes no proteicos de las membranas son lípidos
- Regulan la actividad de las células y los tejidos
- Son precursores de hormonas y vitaminas.

3.1.2. Clasificación

Aun siendo muy poco solubles en agua, algunos lípidos son capaces de reaccionar con ésta, experimentando una hidrólisis. Por esto, la posibilidad de hidrolizarse es la principal propiedad que se aplica para su clasificación:

3.1.2.1. Lípidos saponificables

Son semejantes a las ceras⁶ y grasas y pueden hidrolizarse, es decir, que la molécula de agua puede tener una reacción química con otra dividiéndose. Esta reacción resulta importante para poder usar el agua como disolvente.

Pueden ser:

- Simples: Contienen carbono, hidrógeno y oxígeno (como ceras, aceites vegetales y animales). En las plantas, forman recubrimientos en las hojas y los frutos evitando la deshidratación y protegiéndolos del agua
- Complejos: Contienen otros elementos como nitrógeno, flúor y azufre. Son los principales de las membranas celulares (como fosfolípidos).

⁶ Moléculas que se obtienen por esterificación, reacción química entre un ácido carboxílico y un alcohol.

3.1.2.2. Lípidos insaponificables

No pueden hidrolizarse, lo que significa que necesitamos la ayuda de otros solventes como por ejemplo los orgánicos. El grupo está formado por:

- Terpenos: Hidrocarburos de origen generalmente vegetal. Se pueden mencionar, entre otros, vitaminas A, K, E y los carotenoides, los cuales son el objeto de estudio de esta tesis. Los terpenos de las plantas se encuentran generalmente en los aceites esenciales. Le confieren olores o colores, por ejemplo, en el caso de los carotenoides confieren color amarillo-rojo.
- Esteroides: Hormonas sexuales, colesterol
- Prostaglandinas.

3.2. Carotenoides

Los carotenoides son compuestos pertenecientes al grupo de los terpenoides, todos ellos originados de un precursor común, una molécula de cinco carbonos llamada isopreno (Vargas, Delgado, Paredes, & Lopez, 2003). Se conocen alrededor de 600 compuestos de carotenoides. La mayoría, son insolubles en agua y por lo tanto las pérdidas por lixiviación⁷ durante el lavado y procesamiento de frutos son mínimas (Rodríguez-Amaya, 1999).

En la naturaleza están presentes en diversas estructuras de plantas y en gran variedad de animales, algas, hongos y bacterias. Estos pigmentos son responsables del color de flores y frutos o de estructuras animales como las plumas y picos de algunos pájaros (Meléndez, Martínez, Vicario, & Heredia, 2007).

La mejor manera de almacenar carotenoides para mantener su contenido es mediante el congelamiento y esterilización de éstos, en atmósferas libres de oxígeno (Sanchez & Flores - Cotera, 1999).

Son considerados compuestos indispensables para la vida, fundamentalmente debido a las funciones que llevan a cabo en relación con la fotosíntesis: captación de luz y foto protección. Los antioxidantes naturales presentes en los vegetales y en algunos animales han sido estudiados por su papel en la protección de diversas enfermedades como ciertos tipos de cáncer, enfermedad cardiovascular y la degeneración macular relacionada con la edad (DMRE).

⁷ Proceso en el que un disolvente líquido pasa a través de un sólido pulverizado para que se produzca la disolución de uno o más de los componentes solubles del sólido.

La búsqueda de nuevos y más eficientes antioxidantes al parecer va dirigida a los carotenoides, que a través de su consumo podría disminuir la incidencia de ciertas enfermedades. En el cuerpo humano actúan como antioxidantes biológicos, protegiendo a las células y tejidos del daño provocado por los radicales libres.

El radical libre es un átomo de oxígeno con 7 electrones (el átomo estable de oxígeno tiene 8 electrones y se torna inestable al perder uno). Debido a la falta del electrón, el átomo toma uno prestado de la membrana celular produciendo, de esta forma, un radical libre más que da lugar a una reacción en cadena.

Esta reacción en cadena se combate con la acción de los antioxidantes, los cuales neutralizan los átomos de oxígeno. De este modo, las xantófilas en el cuerpo humano actúan como antioxidantes biológicos, protegiendo a las células y tejidos del daño provocado por los radicales libres.

Como se puede observar en la *Figura 8*, los carotenoides se clasifican principalmente en dos grupos. Los carotenos presentan una estructura que solo contiene carbono e hidrógeno; mientras que las xantófilas, además de poseer estos dos elementos, contienen oxígeno.

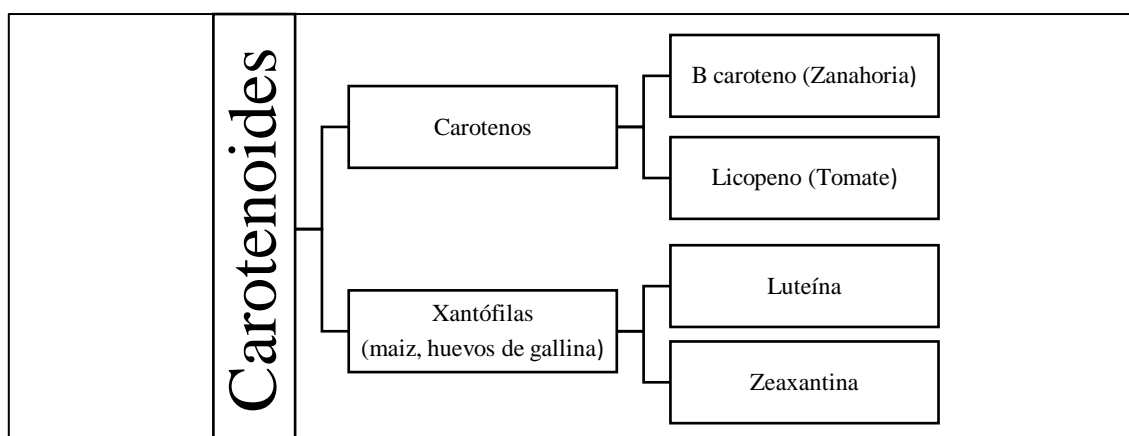


Figura 8. Clasificación de los carotenoides

Fuente: Elaboración propia

En *Tabla 2* se presenta la distribución de carotenoides en las flores de *Tagetes erecta*.

Tabla 2. Distribución de los carotenoides en flores de *Tagetes erecta*

Carotenoides	Distribución
CAROTENOS	
Alfa – caroteno	0.15%
Beta – caroteno	0.6%
XANTÓFILAS	
Luteína	64.1%

Fuente: (Alam & Couch, 1968)

3.2.1. Carotenos

Su denominación deriva de “carota” que significa “zanahoria”.

Debido a que los carotenoides no pueden ser sintetizados por los humanos, es necesario obtenerlos a partir de los alimentos vegetales en la dieta. Se encuentra en alimentos, tales como:

- Ananá
- Calabaza
- Durazno
- Mandarina
- Mango
- Melón
- Naranja
- Papaya
- Pimiento rojo, verde y amarillo
- Pomelo amarillo y rosado
- Salmón
- Sandía
- Trucha
- Zanahoria

Los carotenos son liposolubles, esto quiere decir que pueden diluirse en grasas y aceites vegetales. En la **Tabla 3** se muestra la principal clasificación y una breve descripción de los carotenos.

Tabla 3. Clasificación y descripción de carotenos

	Descripción	Color	Presente en	Beneficios
Betacaroteno	Compuesto liposoluble	Rojo, naranja, amarillo	Zanahoria, calabaza.	Se pueden convertir en vitamina A activa, por ello son considerados provitaminas.
Licopeno	Presente en hígado, pulmones, próstata, colon y piel.	Rojo	Tomate, sandía, pomelo, papaya.	Es antioxidante y anti proliferante. Protege contra el cáncer de próstata.

Fuente: Elaboración propia en base a (Wliszewski & Blasco, 2009) y Sociedad Argentina de Nutrición

Cuando los antioxidantes son metabolizados por el organismo se transforman en vitamina A. Los carotenos tienen importantes propiedades para la salud:

- Retraso del envejecimiento
- Aumentan defensas del organismo
- Son antioxidantes
- Protectores contra la radiación ultravioleta
- Ayudan al sistema inmunológico
- Se estima que previenen algunos tipos de cáncer.

El almacenamiento en el cuerpo de los carotenos se produce en mayor parte en el hígado, y en menor proporción se encuentra en el tejido graso.

Las grasas del cuerpo humano absorben este compuesto antioxidante, tomando el color de a poco de los mismos, por eso la grasa observada puede ser color amarillo.

3.2.1.1. Importancia del betacaroteno

El betacaroteno desempeña una función importante en la nutrición humana, ya que es precursor de la vitamina A, o también conocido como retinol. Esta vitamina es esencial para el correcto funcionamiento de la visión, especialmente la visión nocturna, además para el fortalecimiento del sistema inmunológico y para la reparación de los tejidos del organismo, tales como piel, mucosas, cabello, uñas, entre otros.

Por otra parte, favorece la piel y la protege frente a la propagación de los radicales libres⁸. Algunas cremas solares los incluyen en su composición.

3.2.2. Xantófilas

La palabra xantófila deriva del griego “xantho” que significa “amarillo” y “filos” que significa “hoja”.

Pertenecen al grupo de carotenoides que poseen uno o más átomos de oxígeno en su estructura. Al igual que los carotenos, presentan colores llamativos, tales como rojo, naranja y amarillo, y además presentan acción fotosintética. Estos pigmentos, más resistentes a la oxidación que las clorofilas, proporcionan los tonos amarillentos a las hojas secas, por ejemplo.

Las xantófilas son propias del reino vegetal, se encuentran en muchas plantas y semillas, como por ejemplo el maíz. Los animales no las producen, pero se pueden

⁸ Moléculas inestables que pueden conducir al estrés oxidatorio y dañar células retinales del ojo.

encontrar en su organismo debido a la ingestión. Por ejemplo, el color amarillo de las yemas se debe a las xantófilas, como se desarrollará más adelante con mayor detalle. No son precursores de la vitamina A, ya que no se convierten en retinol, que es una forma activa de esta vitamina.

Luteína y zeaxantina a menudo se encuentran juntas en alimentos y tejidos humanos. Estas xantófilas están presentes en las verduras de hoja verde y también en las frutas de color amarillo y rojo. En general, en comparación con la zeaxantina, la luteína está presente en mayor cantidad en la dieta y en la sangre y los tejidos humanos (Khachik, Lusby, & Beecher, 1989). Las xantófilas parecen ser sensibles a la cocción, al cocer por mucho tiempo los vegetales de hojas verdes, el contenido se ve reducido. La *Tabla 4* muestra la principal clasificación y una breve descripción de las xantófilas.

Los datos de estudios epidemiológicos indican un efecto protector de los carotenoides dietéticos contra una variedad de enfermedades crónicas (Mayne, 1996) y, más específicamente, luteína y zeaxantina se han asociado con un menor riesgo de enfermedad ocular en los ancianos (Bunce, 1994).

Luteína y zeaxantina, son isómeros por lo que poseen fórmulas químicas idénticas ($C_{40}H_{56}O_2$). La masa molar de ambos es 568,88 gr/mol.

Tabla 4. Clasificación y descripción de xantófilas

Xantófilas	Descripción	Color	Beneficios
Luteína	Presente principalmente en los laterales de la mácula del ojo	Amarillo, naranja	Protege a la retina de la acción oxidante de la luz azul, así mismo de la degeneración macular asociada con la edad.
Zeaxantina	Presente principalmente en el centro de la macula del ojo	Amarillo.	Antioxidante. Se combina con la luteína en menor proporción. Protege contra la degeneración macular asociada a la edad.

Fuente: Elaboración propia en base a (Meléndez, Martínez, Vicario, & Heredia, 2007)

3.2.2.1. Ésteres de luteína de *Tagetes erecta*

La palabra luteína deriva del latín “luteus”, que significa “amarillo”. De acuerdo al estudio AREDS 2 (ANEXO 3), se recomienda una dosis de luteína de 10 mg diarios.

La luteína es un miembro de un grupo de pigmentos conocidos como xantófilas y no tiene actividad de provitamina A. Ésta es un polvo naranja-rojo que fluye libremente y es insoluble en agua, pero es soluble en disolventes orgánicos.

La luteína en forma natural existe tanto en formas libres como esterificadas. Un éster es la unión de un ácido graso con un alcohol. Según la ubicación de los carbonos, la luteína puede tener el prefijo “cis” cuando están del mismo lado y “trans” cuando están en lados opuestos. La luteína cambia de forma por acción de la luz, calor, oxígeno y ácido. No obstante, ambas formas, trans y cis de luteína, tienen un valor biológico para mantener la salud del ojo (Anthony & Shankaranarayana, 2001), esto se debe principalmente a que en la isomería geométrica se mantiene la composición (número y clase de átomos) y constitución (orden de unión de los átomos) de la molécula. En la naturaleza se presentan como una mezcla de trans (60-90%) y cis (10-40%). Se informa que los carotenoides trans son más efectivos y estables.

La **Tabla 5** presenta diversas plantas y la cantidad de luteína contenida expresada en mg / kg, según distintos autores.

Tabla 5. Algunas de las principales fuentes del pigmento de luteína y su contenido

Nombre científico	Nombre popular	Luteína (mg/kg)	Autor
<i>Tagetes Erecta</i>	Virreina (pétalos)	9000	(Phratheesh, Benny, & Sujatha, 2009)
<i>Spinacia oleracea</i>	Espinaca	640	(Kadeem, 2011)
<i>Commelina benghalensis</i>	Flor de Santa Lucía	1100-1200	(Vasala & Rekha, 2013)
<i>Kale</i>	Col verde	1310	(Lefsrud, Kopsell, Kopsell, & Celentano, 2005)
<i>Chlorella vulgaris</i>	Alga Clorela	24 mg/l	(Li, Feng, Tian-You, Fu-Quan, & Guo-Qing, 2001)

La concentración de luteína varía en diferentes tonos de flores de *marigold*, las flores de color oscuro contienen aproximadamente 200 veces más ésteres de luteína que las flores de color claro. Es decir, la concentración de éster de luteína en las flores de *Tagetes spp* fresca varía de 4 mg/g en flores de color amarillo verdoso a 800 mg/g en flores de color marrón anaranjado (Gregory, Chen, & Philip, 1986).

Se informó que los ésteres de luteína totales están en el rango de 3,8 a 791 mg/g de flor. Éstos son solubles en aceite vegetal, en una proporción del 20-25% y pueden encontrar aplicación como colorante alimenticio. Además, disminuyen rápidamente al secarse, moler y almacenar, así como después de mezclarse con otros ingredientes para preparar alimentos para aves de corral (Anthony & Shankaranarayana, 2001).

Mediante diversos estudios, se confirmó la presencia de dipalmitato y dimiristato como principales ésteres de la luteína, lo que se muestra más detalladamente en *Tabla 6*.

Tabla 6. Concentración de ésteres en xantófilas

Ésteres de xantófilas	Concentración en porcentaje de área	
	Estudio 1 (Karrer & Jucker, 1951)	Estudio 2 (Alam & Couch, 1968)
Dipalmitato	35,5	37,57
Dimiristato	12,6	11,57
Palmitato de miristato	24,7	24,23
Estereato de palmitato	14,4	15,55
Distearate	2,4	3,63

Fuente: (Gregory, Chen, & Philip, 1986)

3.2.2.1.1. Extracto de virreina

La luteína de *Tagetes erecta* es un extracto purificado obtenido de oleorresina de virreina, que se extrae de los pétalos de las flores. El método convencional para la extracción de luteína de virreina se logra por extracción con solvente (hexano), seguido de la eliminación del disolvente para obtener oleorresina, que se somete a nuevas etapas de purificación para obtener una mezcla de luteína y xantófilas que sean adecuadas para el consumo humano como aditivo alimentario o como suplemento nutricional (Breithaupt & Schlatter, 2005).

Alternativamente, el solvente de extracción no tóxico y respetuoso con el medio ambiente como el dióxido de carbono supercrítico (SC-CO₂), también se puede usar para proporcionar condiciones de extracción más suaves (Palumpitag, Prasitchoke, Goto, & Shotipruk, 2011).

Dado que solo en su forma libre la luteína puede ser absorbida por el cuerpo humano (Khachik, Lusby, & Beecher, 1989) (Europa Patente nº EP 0 672 655 A1), el extracto o la oleorresina de caléndula debe saponificarse con una solución alcalina (Olmedilla, Granado, Blanco, & Blanco, 1997). Desafortunadamente, la mezcla de luteína saponificada contiene muchas impurezas tales como aceite, ésteres de ácidos grasos de luteína sin reaccionar. Por lo tanto, generalmente se requiere un proceso de purificación para obtener luteína purificada para aplicaciones humanas.

La luteína purificada se obtiene de la oleorresina mediante procesos como saponificación y cristalización. Otras materias primas utilizadas en el proceso de fabricación son hidróxido de potasio, metanol o propilenglicol. En condiciones de saponificación, los ácidos grasos y las ceras se eliminan de los ésteres de luteína y los ésteres de zeaxantina. Este proceso emplea mezcla y calentamiento y las reacciones usan hidróxido de potasio, metanol o propilenglicol y agua. Durante estos procesos se forman cristales de luteína. La mezcla de reacción de la etapa de cristalización se diluye a continuación con agua y los cristales resultantes se secan mediante la eliminación del agua residual.

La cristalización es un proceso común para purificar la luteína libre, sin embargo, da como resultado un rendimiento y pureza bastante bajos. Aunque se puede lograr una alta pureza por recristalización, el proceso requiere varios pasos, lo que lo hace bastante complicado y, por lo tanto, reduce el rendimiento general (Vechpanich & Shotipruk, 2011). Los cristales resultantes de luteína y zeaxantina obtenidos de sus respectivas fuentes son aproximadamente 70% puros y pueden purificarse hasta 97% mediante recristalización.

El extracto de luteína contiene más del 80% de carotenoides totales de los cuales está presente la luteína a 70-78%, zeaxantina a 2-9% y otros carotenoides también están presentes en menor proporción. Las ceras (14%) y los ácidos grasos (1%), presentes en la oleorresina no procesada, constituyen el resto del material (*Figura 9*).

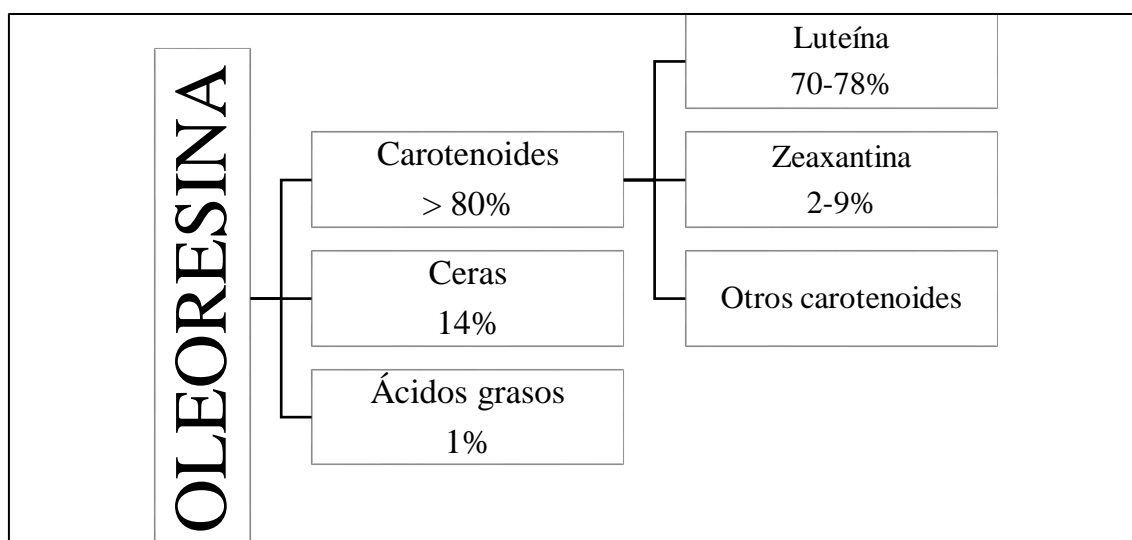


Figura 9. Composición química de la oleoresina de virreina
Fuente: Elaboración propia en base a (Cantril, 2004)

Los ácidos grasos forman parte de las moléculas de los aceites y grasas vegetales y animales. Al ser compuestos considerados necesarios para un organismo vivo, de acuerdo con el criterio biológico, se pueden clasificar en esenciales y no esenciales. Los ácidos grasos esenciales son aquellos que no pueden ser biosintetizados por el organismo en cuestión y los debe procurar en su alimentación. De lo contrario, son no esenciales.

La oleoresina de virreina es de color marrón oscuro y altamente viscosa, con un olor a hierbas característico. Los ésteres de xantófilas se encuentran 15-30% en la oleoresina dependiendo de la calidad de la comida, condición de extracción y prácticas de cultivo.

Como lo ilustra la *Figura 10*, la oleoresina está compuesta en su mayoría de carotenoides esterificados con un contenido de 70-120 mg / g de xantófilas. La extracción contiene de 80-90% luteína, 5% zeaxantina y los demás son otros carotenoides (Fletcher, Papa, & Tirado, 1986).

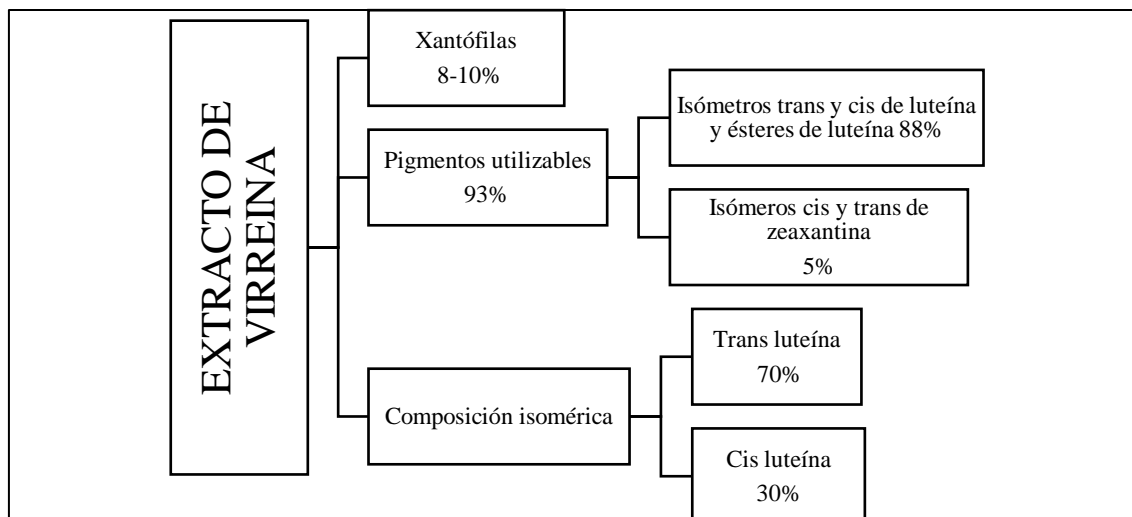


Figura 10. Composición del extracto de virreina
Fuente: Elaboración propia en base a (Verghese, 1998)

Se conoce que 1 kg de oleorresina tiene entre 130-170 g de xantófilas. El rendimiento de la oleorresina es de aproximadamente de 8-10% con un contenido de xantófila de 8 a 12 g por 100 g de oleorresina. Se informa que el contenido de xantófila en la oleorresina de caléndula será un mínimo del 8% y deseable es entre el 9-11%, lo que se prefiere en el comercio, aunque 7,5% mínimo es aceptable (Verghese, 1998).

El extracto contiene 93% de pigmentos utilizables, que consisten en isómeros trans y cis de zeaxantina (5%), isómeros trans y cis de luteína y ésteres de luteína (88%). Posee una composición isomérica de 70% de trans-luteína y 30% de isómeros cis-luteína, como se muestra en la figura 10.

Los extractos de flores de *marigold*, col rizada fresca, harina de maíz, espinaca y plasma humano también contienen pequeñas cantidades de isómeros cis de luteína (Krinsky & Johnson, 2005) (Khachik, Steck, & Pfander, 1999).

3.2.2.1.1.1. Especificaciones técnicas del extracto de Virreina

De acuerdo con el código de Regulaciones Federales (Marmion, 1985), el extracto de virreina se ajustará a las especificaciones de *Tabla 7* y *Tabla 8*.

Tabla 7. Especificaciones del extracto de Virreina.

Característica	Valores
Punto de fusión	53,5-55%
Valor de yodo	132-145%
Valor de saponificación	175-200
Valor ácido	0,6-1,2
Valor del título ⁹	35,5-37
Materia insaponificable	23-27%
Residuo de hexano	< 25 ppm

Fuente: Código de Regulaciones Federales

Tabla 8. Requisitos para poder utilizar xantófilas como colorante alimentario

Características	Valores
Fórmula química	C ₄₀ H ₅₆ O ₂
Peso de la fórmula	568,88
Ensayo	> 80% carotenoides totales > 70% luteína
CARACTERÍSTICAS	
Solubilidad	Insoluble en agua, soluble en hexano
Rango de fusión	177-178°
PUREZA	
Humedad	< 1%
Cenizas	< 1%
Zeaxantina	< 9%
Plomo	< 3 mg/kg
Hexano	< 50 mg/kg
Metanol	< 10 mg/kg
Propilenglicol	< 1000 mg/kg
Ceras	< 14%
TIEMPOS DE RETENCIÓN (minutos)	
Luteína	7,7
Zeaxantina	8,1
PICOS DE HPLC	
Luteína- Zeaxantina	3,06-3,09

Fuente: (F.A.O.)

⁹ En química analítica, es el valor obtenido del procedimiento utilizado para determinar el volumen de una solución que es necesario para reaccionar con una cierta cantidad de otra sustancia.

3.2.2.1.2. Presencia y estabilidad en los alimentos

La mayoría de los americanos consumen solo 1-2 mg de luteína por día (CDC. National Health and Nutrition Examination Survey , 2001-2002).

En las plantas, la luteína está presente en la forma libre en verduras de hoja como espinaca o brócoli, o en forma de ésteres con grasas ácidos en las siguientes frutas y verduras: mango, naranja, papaya, pimiento rojo o verde, maíz amarillo, etc. (Calvo, 2005) (Breithaupt & Schlatter, 2005) (Khachik, Lusby, & Beecher, 1989).

El contenido de luteína en fuentes naturales depende de su tipo, variedad, nivel de madurez, parte de fruta, y también en el camino de procesamiento por calor, preservación o almacenamiento (Calvo, 2005).

Los vegetales, las frutas y las yemas de huevo son las fuentes alimenticias más importantes de luteína. Las frutas y verduras difieren ampliamente en su composición de xantófilas:

- Acelga
- Apio
- Arveja
- Brócoli
- Calabaza
- Espárragos
- Espinaca
- Kiwi
- Lechuga
- Maíz
- Mango
- Naranja
- Papaya
- Pimiento
- Uva
- Zapallo

En la *Tabla 9*, se presenta el contenido de luteína en los alimentos de acuerdo la Biblioteca Nacional de Medicina de los EE.UU, reconocida como la biblioteca de medicina más grande del mundo, y además según el departamento de cultura de EE.UU.

Tabla 9. *Contenido de luteína en los alimentos*

Alimento	Miligramos/ 1Taza
Col rizada cocida	44
Espinaca cocida	26
Brócoli	3

Fuente: (Biblioteca Nacional de Medicina de los EE.UU. , 2018)

Por otro lado, la

Tabla 10 muestra el contenido de luteína de los alimentos acorde al departamento de cultura de los Estados Unidos.

Tabla 10. *Contenido de luteína en los alimentos.*

Alimento	Miligramos/ 1Taza
Col rizada cruda	26.5
Col rizada cocida	23.7
Espinaca cocida	20.4
Col Berza cocida	14.6
Nabo cocido	12.2
Arvejas cocidas	4.1
Espinaca cruda	3.7
Maíz cocido	1.5
Brócoli crudo	1.3
Lechuga romana cruda	1.1
Chaucha cocida	0.9
Papaya	0.3
Huevo	0.2
Naranja	0.2

Fuente: (Agrícola, 2007)

Las pruebas de estabilidad realizadas en los productos de luteína en el comercio indicaron que son estables a temperatura ambiente durante un período de 12 meses. También se realizaron pruebas de estabilidad con luteína en varios productos alimenticios, incluyendo salsa de pasta, barras de cereal y cereal listo para comer. No se prevé que la luteína reaccione con otros componentes de la matriz alimentaria o con componentes ambientales.

De acuerdo con estudios realizados sobre la luteína presente en las semillas de trigo, se determina que el contenido disminuye con el almacenamiento por un largo tiempo.

3.2.2.1.3. Consumo y absorción

Las personas que consumen los 10 mg/día de luteína, recomendado por el estudio AREDS, tienen un menor riesgo de desarrollar DMRE (Degeneración Macular Relacionada con la Edad) y cataratas.

Se demostró que los ésteres de luteína extraídos a partir de las flores de *Tagetes* son absorbidos eficientemente en el torrente sanguíneo humano (Bowen, Hussain, Stavewics - Sapuntzakis , Damayanti, & Burns, 1997).

La absorción de luteína es mayor cuando se toma con una comida alta en grasas. Algunos autores afirman que se absorbe mejor la ingerida por un huevo (contenida en la yema de éste) que la luteína de vegetales, a pesar de que el contenido sea menor. La razón es que la yema contiene grasas, tales como el colesterol.

Una solución al ingerir luteína contenida en vegetales sería agregar aceite a los mismos (Reardon & Troxler, 2013). Sin embargo, en caso de necesitar una alta ingesta de luteína, la cantidad de grasas necesarias para una buena absorción superan lo recomendado por la “*American Heart Association*” (Asociación Americana del Corazón).

Además, la edad es un factor importante en la capacidad del cuerpo humano para absorber luteína, debido a que la actividad enzimática normalmente disminuye con el envejecimiento. Es por ello que se recomienda la ingesta previamente, para evitar las enfermedades relacionadas con la edad, y no así una ingesta alta una vez que ya se tiene la deficiencia.

3.2.2.1.4. Beneficios de la luteína

Pese a que no existe suficiente evidencia, hay estudios realizados anteriormente que afirman lo siguiente:

- Según el autor *Chew*, el extracto suprime el crecimiento del tumor mamario y aumenta la proliferación de linfocitos¹⁰

- Según diversos autores, existe una relación directa entre la ingesta de xantófilas y la reducción en el riesgo de padecer ciertos tipos de cáncer, particularmente el mamario y pulmonar

- Según *Kritchevsky* la ingesta de xantófilas puede contribuir a la prevención de enfermedades cardiovasculares, además de tener menor incidencia en cáncer de colon.

Otros autores aseguran que mantiene el cuerpo libre de toxinas y virus, evitan arteriosclerosis (reduciendo inflamación en paredes arteriales) y evita la ceguera.

Por otro lado, la Base Exhaustiva de Datos de Medicamentos Naturales es una base de datos elaborada por la prestigiosa Biblioteca Nacional de Medicina de los Estados Unidos que clasifica la eficacia de determinados componentes en función de la evidencia científica que existe en el momento actual. En ella, se clasifica a la luteína como

¹⁰ Tipo de glóbulos blancos presentes en la sangre.

posiblemente eficaz para la enfermedad de degeneración macular y los pacientes con cataratas.

Lo que significa que informaciones de fuentes fidedignas sugieren que el producto podría funcionar para la indicación determinada sobre la base de uno o más ensayos clínicos dando resultados positivos de criterios clínicos de evaluación relevantes. En **ANEXO 4** se presenta la lista de los distintos grados de eficacia de la luteína.

3.2.2.2. Zeaxantina

En la palabra zeaxantina, “zea” se refiere al maíz. De acuerdo con el estudio AREDS 2 (**ANEXO 3**), se recomienda una dosis de zeaxantina de 2 mg diarios.

Esta xantófila es un pigmento natural liposoluble de color amarillento presente en bacterias, algas y ciertas plantas. En los humanos, la zeaxantina se acumula en el área central de la mácula (Landrum J. , Bone, Moore, & Gomez, 1999). Se diferencia de la luteína por la ubicación en la mácula, mientras ésta ocupa las partes laterales de la retina del ojo, la zeaxantina se encuentra en el centro de la mácula (**Figura 11**).

La función de la zeaxantina en las plantas es protegerlas contra la radiación solar. Esta misma propiedad resulta eficaz para proteger la retina humana del ojo, de las radiaciones ultravioletas del sol. Es decir, junto con la luteína, brindar protección a la vista.

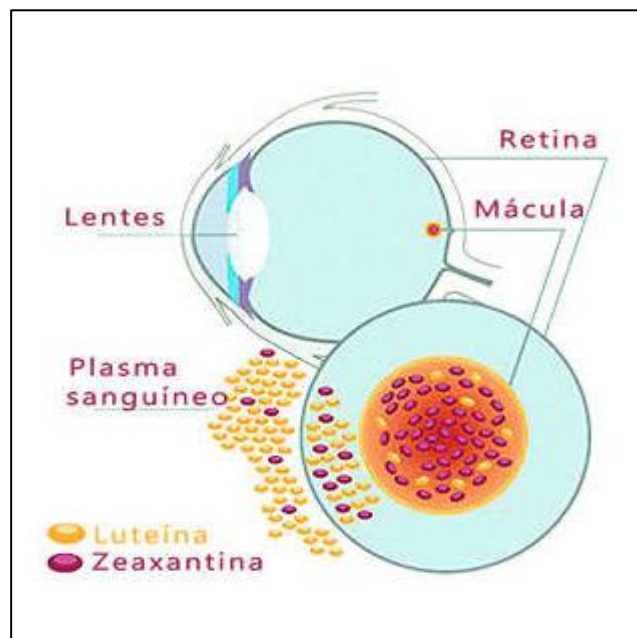


Figura 11. Ubicación de luteína y zeaxantina en el ojo
Fuente: (Ácido hialurónico.org, 2017)

Las principales propiedades o beneficios que se conocen de la zeaxantina son la protección frente al estrés oxidativo, retraso de la vejez y es un antioxidante eficaz.

Las fuentes dietéticas de zeaxantina son las frutas y verduras de color amarillento o verde, tales como:

- Acelgas
- Arvejas
- Brócoli
- Calabaza
- Choclo
- Coles de Bruselas
- Espinaca
- Lechuga
- Maíz
- Nabo
- Naranja
- Papaya
- Pimiento rojo
- Puerro
- Repollo
- Zanahoria

Los suplementos de zeaxantina vienen normalmente junto con luteína, pero en menor proporción. En general, las contraindicaciones de zeaxantina son bajas, excepto algunos grupos de personas que tienen una respuesta inmune alta en ingerir suplementos con antioxidantes. Las contraindicaciones pueden ser:

- Alergia a las xantófilas
- Hipersensibilidad a zeaxantina y luteína
- Baja tolerancia a los antioxidantes y sus ingredientes en suplementos.

4. USOS DE LA LUTEÍNA

A propósito de describir los usos de la luteína, clasificamos a grandes rasgos sus beneficios en dos áreas. Por un lado, es un buen pigmento natural, con alto poder tintóreo que nos permite tanto colorear los alimentos de consumo avícola para permitir un mejor aspecto de su piel y huevos, como también puede ser utilizado para consumo humano. Por otro lado, es un potente antioxidante, encontrando entre sus usos destacados los suplementos dietarios destinados a la salud ocular principalmente, y las cremas fotoprotectoras.

En segunda instancia, se da a conocer otros usos menos relevantes a los fines de este proyecto.

4.1. Uso avícola

El consumidor final de pollo y huevo asocia la salud de las aves, con una buena presentación y frescura del producto, así como un buen sabor agradable, conteniendo un alto nivel de pigmentación en el mismo (Fernández, 2014). Sin embargo, vale la pena aclarar que de ninguna manera la pigmentación buscada por el sector avícola infiere en el valor nutricional del producto, sino simplemente en la percepción y preferencia del consumidor.

Se cree que esta tendencia se debe especialmente a que, en épocas anteriores, las aves se criaban en un sistema de semipastoreo libres en una superficie de terreno que les permitía tener acceso a fuentes naturales de carotenoides.

Cuando las aves consumen carotenoides, permite el cambio de color en ellos mismos, de acuerdo al sexo. En los machos, se deposita básicamente en la piel y por consiguiente en el plumaje ya que el colorido les permite sobresalir y atraer a las hembras. Por el contrario, en las hembras, la necesidad de mantener un perfil bajo para no atraer a los predadores resulta en la consecuencia de depositar la coloración en la grasa y sobre todo en los ovarios. Una vez allí, se convierte en una fuente de antioxidantes para que el futuro embrión pudiera sortear el estrés oxidativo de la transformación de óvulo germinado a polluelo (Pérez - Vendrell, Hernández, Llauradó, Schierle, & Braufau, 2001).

Con la evolución de la producción los animales dejaron de tener acceso a esas fuentes naturales de pigmento y la intensidad de color disminuye. Por lo cual, los

productores comenzaron a preocuparse por la dieta y alimentación de los pollos y gallinas a fines de conseguir una mejora en su coloración. Fue entonces que se decide suministrar esta pigmentación extra a través del alimento, ya que no es producida por el cuerpo de manera natural. Se concluye entonces, que la intensidad del color depende de factores críticos, tales como:

- Composición de la dieta
- Concentración de pigmentos en la dieta
- Estado de salud de las aves
- Fuente de pigmentos: harina de maíz amarillo, harina de alfalfa, polvo de pimentón y flores de virreina

Se inicia para entonces el uso de carotenoides para modificar los parámetros de coloración en las aves. Por una parte, un grupo de científicos mexicanos encabezados por el Dr. Sergio Brambila del Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias de México se dio a la tarea de resolver este problema y descubren, entre otros aspectos relevantes, que el uso de alfalfa era una posibilidad, pero era poco rentable. Por otro lado, las flores de virreina resultaban ser una fuente rica en luteína y zeaxantina, pero además rentable económicamente. Así, estos elementos se posicionan como los dos carotenoides agregados a la alimentación de aves más relevantes económicamente.

La flor de virreina imparte un buen color amarillo a la piel, tejido graso, hígado, las yemas de huevo y el tejido muscular (Ganguly, Mehl, & Deuel, 1953).

Algunos autores afirman que el producto más prometedor es simplemente la harina de virreina gracias a su alto poder pigmentante. Es necesario recordar que el concepto de harina engloba, entonces, la separación de flores frescas, secado y molienda de las mismas (Cuca, Pino, Mendoza, & Brambila, 1963).

Se realiza más adelante, en el capítulo 7, un estudio de oferta y demanda referido a la harina de virreina para la producción avícola.

4.1.1. Dosis en pollos parilleros

Los pollos de consumo humano, llamados también popularmente pollos parrilleros, fueron foco de diversos estudios abocados a la coloración de su piel. Algunos autores experimentaron alimentando al ave directamente con pétalos de virreina mezclados en el alimento habitual. Las dosis fueron de 33, 66 y 99 mg de pigmento por kg de alimento y se produjo una deposición de color en los órganos y piel del ave de

manera aceptable aún a partir de los 33 mg. A mayores cantidades, la pigmentación aumentó, pero se redujo la eficiencia de la utilización (Fletcher, Papa, & Tirado, 1986).

Paralelamente, otros evidencian que el extracto de Marigold saponificado aumenta notablemente la capacidad de coloración de la piel, con respecto al extracto no saponificado. De este modo, las puntuaciones de amarillez de la piel aumentaron considerablemente (Fletcher, Papa, & Tirado, 1986).

Según algunos autores del Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias de México, la pigmentación adecuada se alcanza con un consumo promedio de aproximadamente 55 mg de xantófilas por kg de alimento para pollo (Cuca, Pino, Mendoza, & Brambila, 1963).

4.1.2. Dosis para gallinas ponedoras

En lo que respecta a las dosis para pigmentación de huevos de gallina, algunos autores estudiaron el efecto del pigmento de flores de virreina para la coloración de la yema de sus huevos. Alimentaron gallinas ponedoras durante 20 días con raciones que contenían alguno de los siguientes elementos:

- Harina de pétalos de virreina
- Extracto de pimentón
- Polvo de pimentón
- Harina de maíz.

Los resultados arrojaron que la suplementación de pimentón indujo un alto grado de pigmentación roja, mientras que la harina de gluten de maíz y pétalos de virreina indujo pigmentación amarilla. Con niveles iguales de adición de xantófila, el aumento en el puntaje de color fue mayor en el caso del pimentón que en la harina de maíz y virreina (Guenter, Carlson, Olson, Kohler, & Livingston, 1973).

En otro experimento, se usaron diversas combinaciones de oleoresina de virreina y de pimentón con distintos contenidos de xantófilas para alimentar a gallinas ponedoras durante 21 días. Los hallazgos declararon que la intensidad del color de la yema aumenta con el aumento de la concentración de xantófilas en la dieta, independientemente de la fuente de xantófilas (Fletcher & Halloran, 1981).

4.2. Colorante alimenticio para consumo humano

Las especies *Tagetes spp* tienen un alto poder tintóreo y buena estabilidad al calor y la luz. La luteína es un pigmento natural que puede dar un buen tono naranja a los alimentos.

La denominación de natural resulta atractiva en el área alimenticia, ya que la palabra “natural” genera un prejuicio favorable (Multon, 2000). En la *Tabla 11*, se muestran ventajas y desventajas de colorantes naturales y sintéticos.

Los carotenoides de virreina tienen potencial como colorante alimentario natural (Verghese, 1998). La luteína se utiliza como agente colorante en alimentos como productos horneados y mezclas para hornear, bebidas y bases para bebidas, cereales para el desayuno, chicles, análogos de productos lácteos, productos de huevo, grasas y aceites, postres lácteos congelados y mezclas, salsas, alimentos para bebés y niños pequeños (que no sean preparados para lactantes), productos lácteos, frutas procesadas y jugos de fruta, dulces suaves y sopas y mezclas de sopa. También se estudió la adición de color de los pétalos secos de virreina a las cremas de mantequilla, y se descubrió que aumenta la calidad y la vida útil de las mismas.

Tabla 11. Ventajas y desventajas de utilizar colorantes sintéticos o pigmentos naturales

	Ventajas	Desventajas
Colorantes sintéticos	<p>Mayor poder tintóreo</p> <p>Mayor estabilidad en las condiciones de procesado y almacenamiento</p> <p>Presentación líquida y sólida</p> <p>Solubles en agua</p>	<p>Producen efectos en la salud como alergias, cáncer, hiperactividad y déficit de atención en los niños</p>
Pigmentos naturales	<p>No producen efectos en la salud</p>	<p>Carecen de fuerza tintórea</p> <p>Aportan sabores no deseados al producto</p> <p>Generalmente son sensibles a la luz y a la oxidación</p>

Fuente: Elaboración propia basado en (Sanz Perez, 1999)

En tanto, el Código Alimentario Argentino permite el uso de luteína como colorante alimenticio natural. Se puede encontrar la luteína permitida en los siguientes capítulos:

- Capítulo 16: correctivos y coadyuvantes¹¹.
 - Salsas: Permite utilizar Luteína como colorante con el numero INS 161 b en una concentración máxima de 0,05 gr cada 100 gr.
 - Anexo 13.23: Mayonesas. Permite utilizar Luteína como colorante con el numero INS 161 b en una concentración máxima de 0,05 gr cada 100 gr.
 - Autorizado también para mostaza de mesa y condimentos preparados.
- Capítulo 18: aditivos alimentarios. Se encuentran los colorantes autorizados de aplicación exclusiva sobre superficie de alimentos (en este caso la luteína con el número de inscripción 161 b).

Además, la luteína se encuentra generalmente reconocido como seguro (*GRAS* por sus siglas en inglés) según la Administración de Alimentos y Drogas de los EE. UU. (FDA) desde el año 2011. El uso permitido varía entre 0.3 a 3 mg equivalentes de luteína por porción.

Con la finalidad de mostrar de manera simplificada, se muestra a continuación la *Tabla 12* con usos y concentraciones máximas de luteína permitidas de acuerdo al Código Alimentario Argentino (CAA) y los niveles según el uso previsto de acuerdo a la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación (FAO) en *Tabla 13*.

Tabla 12. Luteína en el Código Alimentario Argentino

ANEXO		
ASIGNACIÓN DE ADITIVOS		
CATEGORÍA 13 - SALSAS Y CONDIMENTOS		
Número INS	FUNCIÓN / NOMBRE	CONCENTRACIÓN MÁXIMA / LIMITE MÁXIMO g/100g
13.2. SALSAS EMULSIONADAS (incluye salsas o aderezos a base de mayonesa)		
	ANTIOXIDANTE	
	COLORANTE	
161 b	Luteína	0,05

Fuente: Código Alimentario Argentino

¹¹ Sustancia o materia que no se consume como ingrediente alimenticio por sí mismo.

Tabla 13. Usos alimenticios previstos y niveles de uso para la luteína

Categoría de Alimentos	Categorización de alimentos y uso de alimentos de la GSFA	Niveles de uso para luteína (mg/kg2)	
Productos horneados y mezclas para hornear	Barras de cereales	50	
Bebidas	Galletas	67	
	Agua embotellada	2.1	
	Bebidas con gas	8.3	
	Reemplazo de comidas	8.3	
	Té, listo para beber	2.6	
Cereales de desayuno	Cereales calientes instantaneos	8,3	
	Cereales listos para el consumo	36-130	
Goma de mascar	Goma de mascar	130	
Análogos de Productos Lácteos	Leches de imitación	8.3	
	Leches de soja	6.3	
Productos de huevos	Líquido, Congelado, o sustitutos de huevos secos	40	
	Grasas y aceites	Margarina	100
		Aderezos para ensalada	50-100
Postres y mezclas lácteos congelados	Yogur congelado	8.3	
Caramelo duro	Salsas a base de tomate	2.6	
	Caramelo duro	67	
Productos lácteos	Leche en polvo	13	
	Bebidas de leche fermentada	2.6	
	Bebidas con sabor a leche y leche	13	
	Reemplazos de comida a base de leche	13	
	Yogurt	13	
	Frutas procesadas y jugos de fruta	Energía, Deporte, y bebidas isotónicas	8.3
		Bebidas con sabor a fruta	8.3
Jugos de fruta		8.3	
Néctares		8.3	
Jugo de vegetales		8.3	
Dulces suaves	Caramelo masticable y turrón	25	
	Bocados de fruta	25	
Sopas y mezclas de sopa	Sopas enlatadas	2.6	

Fuente: (Cantril, 2004)

4.3. Suplemento dietario

El cuerpo humano no puede producir carotenoides, así que deben ser ingeridos a través de la dieta, combinando distintas fuentes, a partir de alimentos enriquecidos o suplementos (Badui, 1993).

En la Argentina, los suplementos dietarios se encuentran incorporados al CAA desde el año 1998, en el artículo 1381. En cuanto a la composición de los suplementos dietarios en general, estos deben aportar nutrientes, como proteínas, vitaminas, minerales, lípidos, carbohidratos, fibras, aunque también permite el uso de algunas hierbas, inicialmente sólo las incluidas en el Código Alimentario Argentino.

En el año 2012, el Instituto Nacional de Alimentos (INAL) dependiente de la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT), efectuó un relevamiento en farmacias y dietéticas del país, que permitió evidenciar que el 33 % de los suplementos dietarios ofrecidos contenían hierbas como ingrediente principal. El porcentaje restante de los suplementos dietarios relevados estuvo destinado a deportistas, los de aceite de pescado y, por último, aquellos a base de vitaminas y minerales.

Respecto a este uso, el estudio AREDS, desarrollado en el **ANEXO 3**, es un estudio muy significativo ya que a partir de los resultados de los estudios AREDS 1 y AREDS 2, se comprueba los resultados positivos en la salud humana y desde allí, siendo entonces el puntapié inicial para la comercialización suplementos dietarios con las dosis adecuadas. Estudios sugieren que la absorción de la luteína por medio de un suplemento es mucho mejor, ya que puede contener casi el doble de los niveles obtenidos en la espinaca o de otras fuentes de vegetales. Las dosis recomendadas por el estudio AREDS, se ilustran en *Tabla 14*.

Tabla 14. Recomendación para la fórmula suplementaria de AREDS 1 y 2

	AREDS 1	AREDS 2
Vitamina C	500 mg.	-
Vitamina E	400 UI ¹²	-
Betacaroteno	15 mg	Se elimina
Zinc (óxido de zinc)	80 mg	25 mg
Cobre (óxido cúprico)	2 mg	-
Luteína	-	10 mg
Zeaxantina	-	2 mg
Omega 3	-	1000 mg

Fuente: Elaboración propia a partir de (Wong, Koo, & Chan, 2011)

La fórmula suplementaria propuesta por el AREDS puede demorar el desarrollo de la etapa avanzada y puede ayudar a preservar la visión de las personas con un riesgo alto de desarrollar la degeneración macular avanzada. En el **ANEXO 5**, se desarrolla a mayor profundidad esta enfermedad.

En **ANEXO 6**, se muestra además la evidencia científica acerca de la eficacia de la luteína en los suplementos dietarios naturales.

Por otro lado, estos suplementos ya se comercializan en el mercado. En el **ANEXO 7** se encuentra la información disponible del mercado provincial y en el **ANEXO 8** del mercado mundial.

4.3.1. Efectos secundarios y contraindicaciones

No se ha observado ningún efecto secundario serio en el aporte complementario de luteína en las dosis recomendadas.

La toma de dosis más elevadas de luteína puede producir molestias gastrointestinales, reacciones alérgicas en la piel (sarpullidos) y piel amarilla, que desaparece a los pocos días de dejar la ingesta.

En personas con hipersensibilidad a cualquiera de los componentes del preparado, se recomienda no empezar con la toma. No está indicado para mujeres embarazadas o en período de lactancia.

4.4. Cremas fotoprotectoras

La foto protección tiene como objetivo prevenir el daño que ocurre en nuestra piel como resultado de su exposición a la radiación ultravioleta (UV). Por tanto, las estrategias de foto protección se centran en la reducción del tiempo global de exposición

¹² Unidades internacionales

al sol, especialmente en las horas del mediodía (de 12:00 a 16:00 hs), llevar ropas adecuadas, utilizar gorros y gafas y aplicar foto protectores.

Los fotoprotectores tópicos o productos anti solares son preparados farmacéuticos de aplicación tópica que tienen la propiedad de reflejar, absorber o refractar la radiación ultravioleta de origen solar o de fuentes artificiales, atenuando la acción perjudicial de los rayos solares (Sanchez - Saldaña, Lanchipa, Pancorbo, Regis, & Sánchez, 2002). Los más utilizados son los preparados tópicos, aunque también existen sustancias con capacidad foto protectora que se administran por vía oral.

Los antioxidantes contrarrestan el daño oxidativo que se produce en nuestra piel en la vida diaria, su incorporación a los fotoprotectores aumenta la eficacia y seguridad de éstos (Emerit, 1992). Los antioxidantes tópicos proporcionan varias ventajas para la fotoprotección frente a su administración oral, ya que actúan directamente sobre la piel, alcanzando concentraciones suficientes.

Hasta ahora se investigó de manera exitosa el uso de carotenoides (Gilaberte, Coscojuela, Santamaria, & Gonzalez, 2000). Se demostró que éstos sacian tanto el estado de los fotosensibilizadores como el oxígeno sin gluten que son responsables de la formación de radicales libres (Krinsky & Johnson, 2005). Este tipo de actividad ha sido previamente demostrada para la administración oral de carotenoides (Lee, Jiang, Levine, & Watson).

Un estudio valora la actividad foto protectora¹³ de luteína y zeaxantina midiendo el enrojecimiento de la superficie de la piel del antebrazo derecho después de haber sido expuesta 2 minutos a luz ultravioleta. (240–320 nm). Se analizan los resultados, conforme se suministre vía oral o tópica¹⁴.

Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

- Todos los tratamientos de luteína y zeaxantina proporcionan protección contra el daño inducido por la radiación UV, independientemente de su vía de administración
- Actividad foto protectora: Es mayor si se combina vía oral y tópica

¹³ Que protege de los efectos nocivos de las radiaciones solares en la piel.

¹⁴ Utiliza la piel y las mucosas para la administración de fármaco. La característica de esta vía es que se busca fundamentalmente el efecto a nivel local, no interesando la absorción de los principios activos.

- Elasticidad de la piel: el tratamiento tópico es más eficaz
- Hidratación de la piel: el tratamiento combinado (vía oral y tópica) muestra mayor efecto que un tratamiento individual
- Los estudios en animales han demostrado que estas xantófilas se acumulan en la piel como resultado de la ingestión oral de luteína y zeaxantina (Lee, y otros, 2004)
- La ingesta dietética de pasta de tomate, que contiene una cantidad de carotenoides que incluyen betacaroteno, licopeno, luteína y zeaxantina, puede proporcionar actividad foto protectora (Stahl, y otros, 2001).

Además, los estudios en animales demostraron que la luteína y la zeaxantina pueden proporcionar protección contra la inflamación, hiperplasia epidérmica (engrosamiento de la piel), formación de células apoptóticas (quemaduras solares) (Lee, y otros, 2004) (Gonzalez, y otros).

4.5. Insecticidas

En los cultivos puede utilizarse las plantas de *Tagetes* para repeler nematodos y es eficaz especialmente contra la especie *Pratylenchus penetrans*, que ataca algunos cultivos como el tomate (Olabiyi, 2007). Los *Tagetes* atraen a las mariquitas y moscas de las flores, insectos beneficiosos para el jardín ya que se alimentan de gran cantidad de pulgones y áfidos¹⁵ evitando plagas.

Algunos campesinos usan una especie de licuado o de infusión realizada con esta flor para desparasitar a sus cultivos. La planta presenta piretrinas, como se mencionó anteriormente, y tiofenos (Jacobs, y otros, 1995) que son las sustancias vegetales responsables de los efectos contra insectos y gusanos, respectivamente (Serrato-Cruz, Agosto 2004).

Otros campesinos siembran una temporada de flor de cempasúchil en sus campos cuando quieren eliminar alguna plaga que esté presente en la tierra de cultivo. La rotación de maíz con cempoalxóchitl (*Tagetes erecta*) en tierras templadas con antecedentes de plagas en el suelo, como la gallina ciega, abate drásticamente las poblaciones de este insecto, lo cual es una alternativa importante para las áreas maiceras con similares

¹⁵ Familia de insectos que se alimenta de materias vegetales formando plagas perjudiciales.

condiciones ambientales. En otros casos, la rotación de cultivos con *Tagetes spp* o tan sólo su intercalación, constituyen estrategias efectivas para controlar nematodos.

En asociación con otros cultivos, como el melón, funciona como barrera para atraer insectos por el colorido de las flores. *Tagetes patula* ha tenido efectos fungicidas y bactericidas, mediante la aplicación directa de extractos acuosos a cultivos agrícolas (Chi, Flores, & Rivera, 2002)

Además, se tienen conocimientos de que diferentes especies de *Tagetes* han sido utilizadas con éxito como plantas fitorremediadoras de lugares contaminados con arsénico (Chintakovid, W.; Visoottiviseth, P.; Khokiattiwong, S.; Lauengsuchonkul, S., 2008) ó cadmio (Lal, Minhas, Chaturvedi, & Yadav, 2008).

Actualmente, existe un creciente interés en las modificaciones genéticas de la planta para el control de malezas como insecticida, larvicida, atrayente o repelente de insectos.

4.6. Otros usos

4.6.1. Medicina tradicional

Marigold también se usa ampliamente como hierba medicinal por sus propiedades antiinflamatorias, analgésicas y antiedematosas¹⁶, que son importantes tanto para la fitoterapia como para la dermatología y la cosmetología (Hamburger, Adler, Baumann, Forg, & Weinreich, 2003) (Zitterl-Eglseer, y otros, 1991). Según lo reportado por el Ministerio de Salud Pública de Moscú (1988), las flores de caléndula poseen tratamiento de diversas afecciones: en la curación de heridas; en gingivitis; en el tratamiento de gastritis; en úlceras, hepatitis y otras enfermedades gastrointestinales; en el tratamiento de la hipertensión, taquicardia, arritmia; en el tratamiento de diversas afecciones del sistema urinario.

4.6.2. Infusión en bebidas

Según una patente de la URSS (Zotov, Bokov, Kovaeko, & Sultakeey, 1990), se informa que se usa una infusión alcohólica acuosa al 5% de la flor de *marigold* (4-6%) en la preparación de una bebida no alcohólica con el nombre de “Melpol”. Incluyen otros compuestos además como almidón (25-30%), azúcar de ricino (10%), ácido nítrico (0,17-2%), miel (5-7%), entre otros.

¹⁶ Que ayuda a reducir o eliminar las causas del edema.

PARTE 2: EXTRACCIÓN DE LUTEINA

5. MÉTODOS DE EXTRACCIÓN

La extracción de luteína a partir de *Tagetes* puede realizarse mediante diversos métodos. Entre ellos se destaca de manera integral la extracción con solventes y la extracción con fluidos supercríticos.

La extracción con solventes es el método más tradicional y consiste en el reposo de material vegetal en el mismo, variando ciertas características para obtener finalmente luteína. Al ser un método más antiguo, se obtienen menores rendimientos.

Si bien los solventes orgánicos se usaron de manera extensa para el procesamiento de biomateriales, y se siguen usando, la preocupación respecto a la industria alimentaria y problemas ambientales se fue acrecentando. Es por ello, que se presta especial atención a la extracción con el uso de fluidos supercríticos, tecnología más reciente en la cual se aprovechan las propiedades de un fluido, en este caso dióxido de carbono, en estado supercrítico obteniendo mayor eficacia.

Algunas veces se recomienda saponificar el extracto a fines de tener pigmentos libres, sin embargo, no es recomendable para las xantófilas.

En cuanto al análisis, una vez obtenido el extracto se somete a uno o más procesos de cuantificación de pigmentos carotenoides.

5.1. Extracción con solventes

Para la extracción de luteína, un método existente y tradicional es por medio de solventes. Específicamente los pigmentos carotenoides son compuestos liposolubles, que normalmente se extraen con hexano, acetona, etanol, entre otros.

Si bien en un principio se pensó que este método traía grandes rendimientos y se usó de manera extensa, el proceso no es económico debido a que presenta algunas desventajas como la degradación y pérdida de los componentes bioactivos, los grandes volúmenes de solventes que se utilizan, el tiempo de los procesos y el alto costo de los insumos y mano de obra (Sovová, Sajfrtová, & Bartlová, 2004).

Además, trajo preocupaciones en la industria alimenticia y en las cuestiones medioambientales. Esto se debe a que los grandes volúmenes de solvente utilizados traen mayores complicaciones para el medio ambiente obteniendo, por el contrario, menores cantidades de luteína, en comparación al método de extracción supercrítica. Es por ello

que el campo de investigación hacia la extracción con fluidos supercríticos fue agrandándose considerablemente en las últimas dos décadas.

Los extractos obtenidos con este tipo de disolventes suelen ser más oscuros, ya que llegan a arrastrar algunos pigmentos. Pero, sin embargo, son capaces de recuperar muchos compuestos aromáticos. La extracción y la filtración son repetidos hasta que el residuo no tenga color, generalmente tres extracciones son suficientes para tal fin.

Desventajas

- La cantidad de ésteres de luteína obtenidos es menor comparada con la extracción de fluidos supercríticos
- Requiere periodos de tiempo largos
- Los aceites esenciales obtenidos contienen trazas de los disolventes utilizados, limitando a veces, su uso en caso de industria de alimentos, cosmética y farmacéutica
- Este procedimiento solo puede utilizarse a escala de laboratorio, debido a que:
 - A nivel industrial resulta costoso por el valor comercial de los disolventes
 - Se obtienen esencias contaminadas con otras sustancias
 - El riesgo de explosión e incendio al utilizar estos solventes a gran escala, es alto.

5.1.1. Percolación

Se refiere al flujo de agua o de otro líquido a través de los poros de una capa permeable, que, en este caso será el material de flores deshidratado y molido. Para realizar la prueba de laboratorio, el material se pesa y luego, se coloca la cantidad necesaria de en un recipiente adecuado. Por consiguiente, se agrega suficiente solvente para humectarlo de manera completa y uniforme. Se requiere un reposo de 24 horas (*Figura 12*). Este paso previo a la extracción sirve para favorecer la permeabilidad del material vegetal.

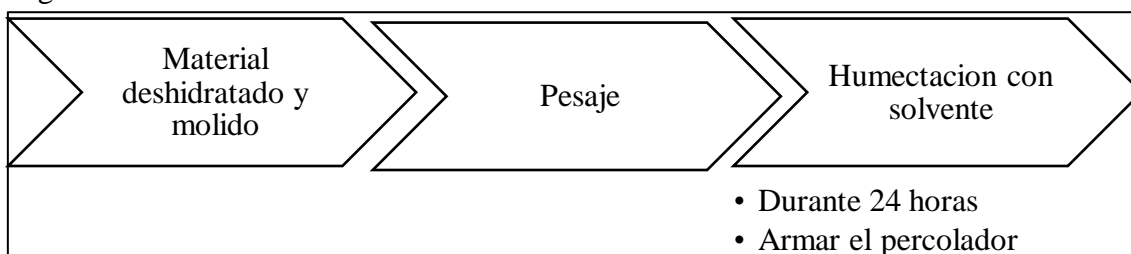


Figura 12. Diagrama del proceso previo al percolado
Fuente: Elaboración propia

El percolador es un aparato que debe adaptarse a las características del material usado como permeable (**Figura 13**). Cuando el material es susceptible a hincharse, especialmente con solventes acuosos o levemente alcohólicos se prefiere forma cónica. Cuando no se hinchan fácilmente y los solventes son fuertemente alcohólicos o es difícil de agotar se prefiere la forma cilíndrica.



Figura 13. Percolador de laboratorio
Fuente: (Moscateli & Redko)

El armado del percolador se hace de la siguiente manera: se coloca en la parte inferior algodón impregnado con el solvente. A continuación, se transfiere el material a tratar al percolador evitando la formación de espacios vacíos o canaletas. Cuando se encuentra bien distribuido se cubre la parte superior con papel de filtro, se agrega suficiente cantidad de solvente y se abre la válvula inferior para comenzar a coleccionar el percolado. Este se vuelve a introducir por la parte superior y se repite. Se puede continuar sin agregar disolvente nuevo, la cantidad de veces estimada dadas las características del material (**Figura 14**).

Este proceso es uno de los más difundidos ya que se puede hacer con disolventes orgánicos y mezclas hidroalcohólicas en frío para conservar los componentes termolábiles¹⁷ que pueda tener el material vegetal. No es apropiado para material vegetal rico en resinas o materiales que se hinchen dado que el disolvente no percolará, es decir, no ocurrirá un correcto paso del fluido. Una de las desventajas puede referirse a su tiempo y necesidad de cuidado ya que se requiere agregar solvente constantemente.

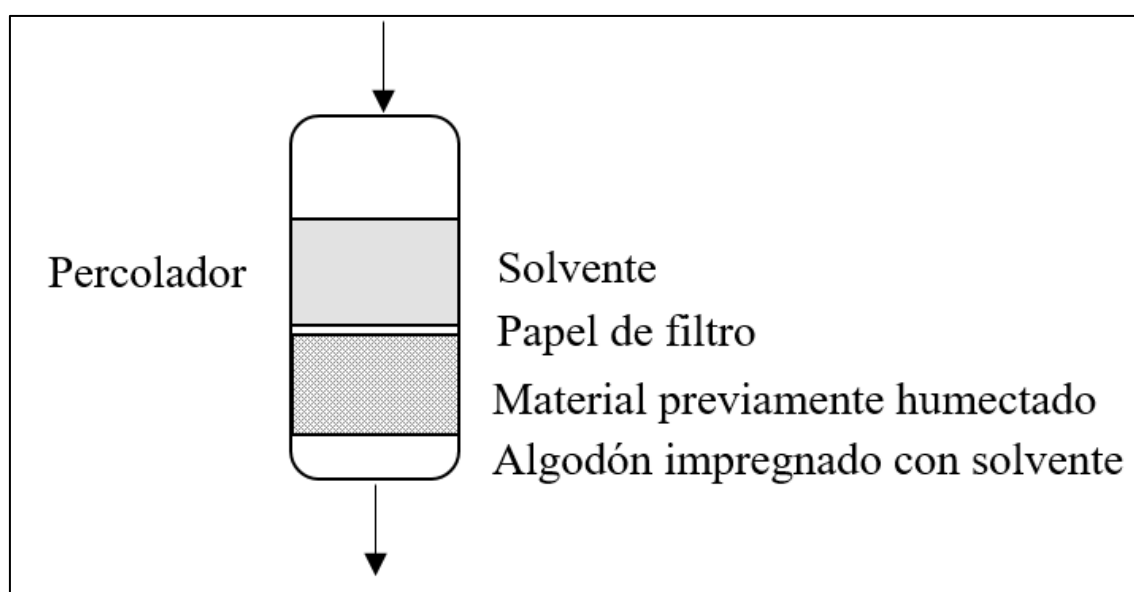


Figura 14. Esquema: armado del percolador
Fuente: Elaboración propia

5.1.2. Extracción mediante equipo Soxhlet

Consiste en una extracción con calor donde se utilizan solventes con puntos de ebullición bajo para evitar la degradación. Es adecuado para tener extractos crudos de

¹⁷ Sustancia o material que se destruye al alcanzar temperaturas más o menos elevadas.

plantas porque es un proceso semi continuo donde el solvente sigue extrayendo hasta agotar el material vegetal. En este caso se describe el proceso acorde a la escala de laboratorio (*Figura 15*).



*Figura 15. Extracción con equipo Soxhlet de laboratorio a partir de material vegetal
Fuente: (Moscateli & Redko)*

En este proceso no se debe trabajar con mezcla de solventes porque comienzan a ebullición cada uno con su temperatura, de modo que la cantidad de disolvente que llegue a contactar con el material vegetal no será la misma que existía inicialmente.

Se comienza pesando el material y luego se coloca dentro de un cartucho de papel en el equipo. Por consiguiente, se aplica calor en el balón con el solvente a utilizar. También se le agrega trozos de material poroso, que puede ser por ejemplo trozos de plato, para dispersar las burbujas generadas durante la ebullición.

Una representación del proceso se ilustrará en la *Figura 16*.

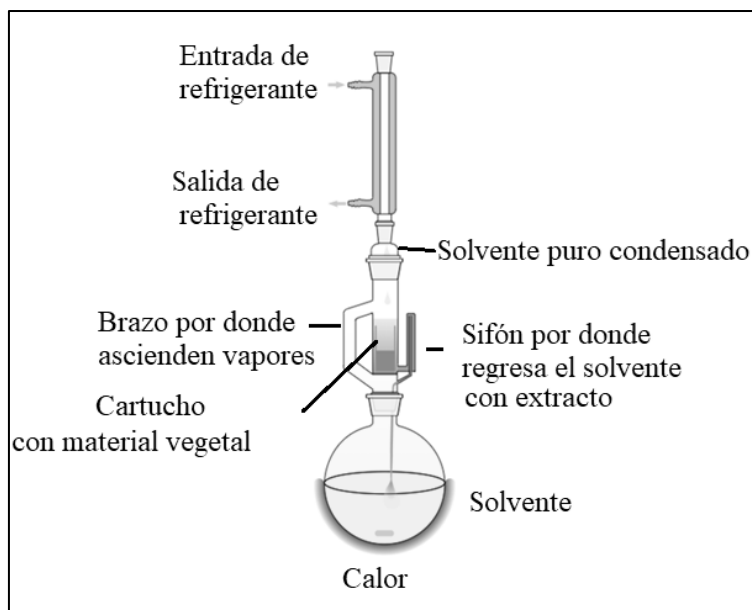


Figura 16. Partes del equipo Soxhlet.

Fuente: Elaboración propia a partir de (Extractor Soxhlet, 2018)

Se abre la válvula que permite el paso del refrigerante que generalmente es agua, la temperatura dependerá de las características necesarias. Una vez que comienza a ebullición el solvente, evapora por el brazo lateral del extractor (que en este caso es el izquierdo en la figura). El solvente, al tener contacto con el refrigerante, se enfría y cae sobre el material vegetal del cartucho. Se va formando el extracto y se va acumulando hasta alcanzar la altura del brazo (que en este caso es el derecho en la figura) y gracias al efecto sifón, el extracto se vierte en el balón.

El solvente continúa evaporándose y condensándose y el proceso se repite cuantas veces se requiera hasta que se decide que el material vegetal fue convenientemente extraído.

Este método es muy utilizado para componentes termolábiles y solventes volátiles. Las características destacadas del proceso semi continuo son: la posibilidad de utilizar solventes orgánicos y un tiempo de extracción dependiente del material vegetal, generalmente 2-4 horas.

5.1.3. Maceración o extracción alcohólica

La maceración es un proceso de extracción sólido-líquido donde la materia prima tiene una serie de compuestos solubles en el líquido de extracción.

Generalmente se puede usar etanol, agua y 45% de álcali durante aproximadamente 3-5 horas a una temperatura de 45-80 °C. Estos disolventes solubilizan la esencia, pero también solubilizan y extraen otras sustancias tales como grasas y ceras.

Luego se filtra la mezcla con el objetivo de separar las impurezas y se evapora el disolvente a presión atmosférica o con un evaporador. Los restos de disolvente pueden separarse a bajas temperaturas.

5.1.3.1. Maceración en frío

Consiste en sumergir el producto a macerar en un recipiente con la cantidad suficiente de solvente para cubrir totalmente lo que se desea macerar.

Esto se lleva a cabo por un lapso de tiempo largo. Las ventajas consisten en la utilización de equipos simples que requieren mínimas cantidades de energía y en la capacidad de extraer la mayoría de las propiedades de lo que se macera, prácticamente en su totalidad sin alterarla por efectos de la temperatura.

Sin embargo, los periodos que se necesitan son muy extensos.

5.1.3.2. Maceración con calor

Se pone en contacto las fases, el producto a macerar y el solvente, con la diferencia de la variación en la temperatura. El tiempo es mucho menor ya que el calor acelera notablemente el proceso.

La desventaja es que no logra extraer totalmente pura la esencia del producto ya que regularmente destruye algunas propiedades, provenientes de aquellos compuestos termolábiles que se ven afectados por la temperatura.

Además, requiere de equipamiento más sofisticado para controlar la temperatura, sin mencionar el consumo energético que dicho proceso implica. No obstante, los tiempos de extracción se reducen favorablemente.

La aplicación de este tratamiento térmico reduce la viscosidad del aceite y con ello facilita la fluidez y el desplazamiento. A la misma vez, disminuye la tensión superficial.

Sin embargo, este tratamiento puede afectar negativamente la calidad química del aceite, incrementando los parámetros de oxidación.

5.1.4. Selección del disolvente de extracción y tiempo de extracción

La eficacia de la extracción dependerá de la capacidad del disolvente para solubilizar los pigmentos sin modificar sus estructuras (Sarkar, Das, Bhagawati, &

Goswami, 2012). Por lo tanto, la selección del disolvente es un paso importante en la extracción de pigmentos, presentando una alta eficacia y selectividad con los compuestos que se extraen.

Se tienen conocimientos de que el hexano es el mejor disolvente para la extracción de xantófilas y, por lo general, se sigue la técnica de extracción Soxhlet y, en algunos casos, el extracto en sí mismo se recicla. Para una mejor retención de xantófilas, la temperatura de extracción debe mantenerse entre 40-45 °C.

Los autores *Surendranath, Ganga, Jawaharlal y Anitha* realizaron un estudio para determinar el sistema de disolvente más adecuado que se puede aprovechar para la extracción de luteína de virreina (preferiblemente incrustado en oleoresina) utilizando los siguientes solventes:

- Acetona
- Acetonitrilo
- Benceno
- Cloroformo
- Diclorometano
- Etanol
- Éter dietílico
- Etil acetato
- Hexano
- Isopropanol
- Metanol
- Propanol
- Tetrahidrofurano (THF)
- Xileno

Los datos arrojaron que para la mayoría de los solventes una duración de tiempo de hasta 9 horas fue suficiente para la extracción máxima de xantófilas. Entre todos los disolventes, la acetona dio los valores más altos, lo que indica su eficacia para la extracción de luteína a partir de virreina. Los otros disolventes, hexano, diclorometano, isopropanol, propanol, xileno dieron rendimientos de luteína superiores a las 3 horas en espera, lo que indica su eficacia para el uso como disolventes de extracción.

Se tienen conocimiento acerca de que el uso de hexano es mucho más alto en extracciones de laboratorio (*Arunkumar, Prashanth, & Baskaran, 2013*) (*Boonnoun, Opaskonkun, Prasitchoke, Goto, & Shotipruk, 2012*) (*Navarrete - Bolanos, Hugo, Enrique, Ramiro, & Octavio, 2004*) (*Sarkar, Bagmita, Lima, & Bhabesh, 2012*) (*Rao & Reddy, 2004*) (*Swaminathan & Kunhiraman, 2009*). No obstante, esto puede ser contradictorio con los hallazgos de *Craft y Soares* quienes mencionan que la solubilidad de luteína en hexano (20mg/l) es mediocre.

El tetrahidrofurano (THF) y el benceno dieron un mayor rendimiento de luteína después de 9 horas de tiempo en espera (Estados Unidos Patente n° 53, 82, 714, 1995), pero su uso está limitado por la precaución de que pueden formar peróxidos nocivos y son cancerígenos por naturaleza.

En conclusión, la mayoría de los estudios científicos acerca del tema utiliza hexano como fuente principal de disolvente para este tipo de extracción.

5.2. Extracción con fluidos supercríticos

La extracción con fluidos supercríticos de ésteres de luteína se presenta como una nueva alternativa tecnológica que mejora las condiciones de la extracción en términos económicos de tiempo y rendimiento.

En este tipo de extracción, los solventes bajo condiciones normales de presión y temperatura son gases, pero al aplicarle altas presiones se convierten en líquidos. En la *Tabla 15*, se muestran los distintos puntos de temperatura y presión crítica acorde a la sustancia utilizada como solvente, listando los solventes más utilizados.

Tabla 15. Temperatura y presión crítica de los fluidos supercríticos más utilizados

Sustancia	Tc (°C)	Pc (Mpa)
Acetona	234,95	4,7
Agua	374,4	22,24
Dióxido de carbono	31	7,40
Etano	32,15	4,87
Etanol	243	5,37
Etileno	9,25	5,04
Éter dietílico	192,6	3,61
Metano	-82,75	4,60
Metanol	239,45	8,09
Propano	96,65	4,25

Fuente: Elaboración propia en base a (Brunner, 1994)

Las ventajas de la extracción con fluidos supercríticos son las siguientes:

- Es posible tener extractos libres de disolventes
- La extracción es más rápida
- El rendimiento es mayor
- Se puede seleccionar sustancias y composición de los extractos cambiando los parámetros de extracción
- Se requiere menos energía
- Es ecológicamente compatible

- El solvente se puede volver a utilizar
- Las bajas temperaturas utilizadas para la extracción no cambian químicamente los componentes del aceite. Además de conservar sus cualidades organolépticas.
- La baja viscosidad, dota a los fluidos supercríticos de una gran facilidad de transporte, y una velocidad de transferencia de masa mayor.
- Su elevada difusividad y tensión superficial prácticamente nula permite una mejor penetración en las matrices sólidas.

Entre las desventajas de la extracción con fluidos supercríticos, se puede enunciar que:

- El aceite esencial, resultado de la extracción, puede estar acompañado de ceras cuticulares y compuestos de alto peso molecular
- El equipo es relativamente costoso, ya que se requieren bombas de alta presión y sistemas de extracción.

Incluso utilizando este método, prácticamente más rentable que los demás, la extracción supercrítica no llega a una concentración de ésteres de luteína en el sustrato mayor al 45%. Es por ello, que existe el deseo de encontrar un proceso alternativo que reduzca la cantidad de disolventes alcalinos y orgánicos utilizados en la extracción con solventes y al mismo tiempo rinda de forma eficiente como la extracción supercrítica.

5.2.1. Fluido de extracción: Dióxido de carbono

Un fluido supercrítico es aquel que se calienta por encima de su temperatura crítica y se comprime por encima de su presión crítica. En virtud del trabajo de tesis, se detallará precisamente las características del fluido dióxido de carbono, dado a que la máquina de extracción con fluidos supercríticos de la Universidad Católica de Salta trabaja con este.

5.2.1.1. Diagrama de fases

La *Figura 17* representa un diagrama de Presión–Temperatura o diagrama de fases correspondiente al dióxido de carbono. La extracción con dióxido de carbono es la más utilizada debido a su baja temperatura crítica y presión, (31°C y 7,4 Mpa respectivamente), gracias a su inercia química y su bajo costo. A su vez, este fluido permite una alta selectividad de microcomponentes valiosos en productos naturales

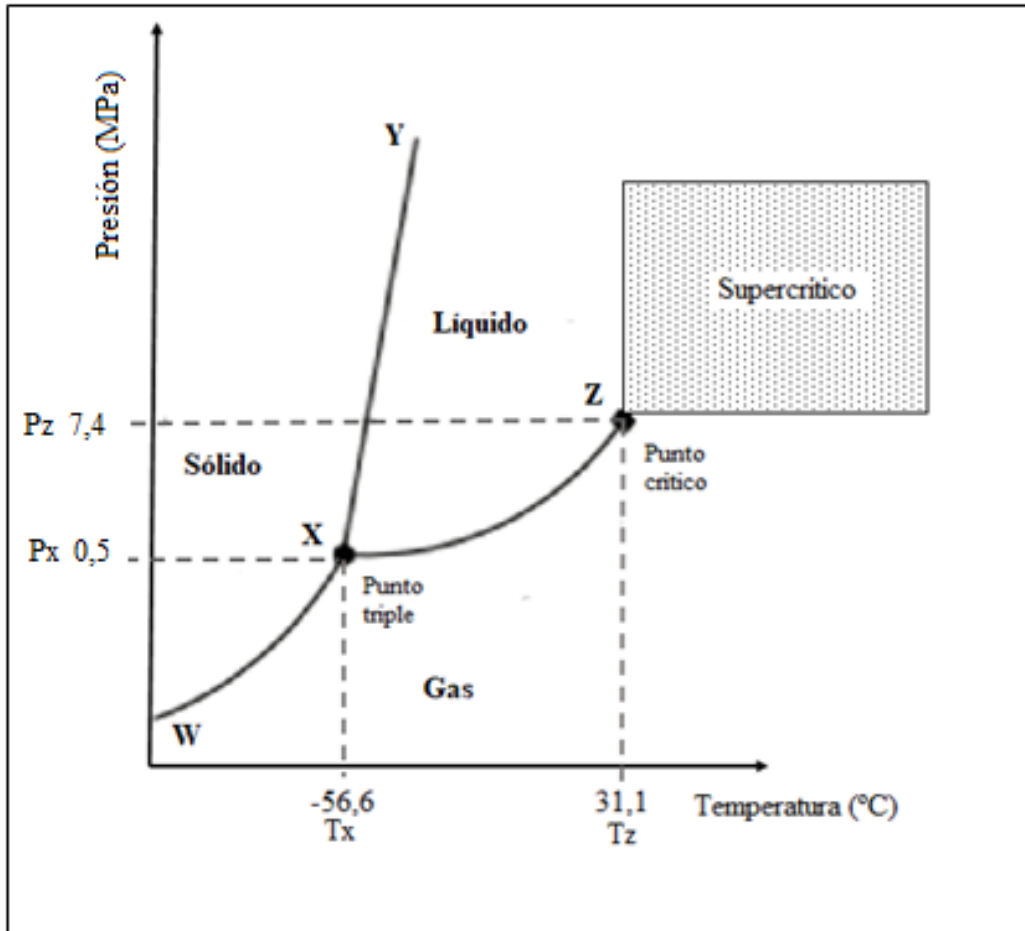


Figura 17. Diagrama de fases para dióxido de carbono
 Fuente: Elaboración propia en base a (Brunner, 1994)

- X: punto triple
- Tx: Temperatura en el punto triple
- Px: Presión en el punto triple
- Z: punto crítico
- Tz: Temperatura en el punto crítico
- Pz: Presión en el punto crítico

Las curvas de coexistencia son:

- XW: Coexisten en equilibrio sólido y gas. Se conoce como curva de vapor del sólido. El cambio de estado de sólido a gas se hace por medio de sublimación. De lo contrario, deposición.
- XZ: Coexisten en equilibrio líquido y gas. El cambio de estado de líquido a gas se hace por medio de vaporización, de lo contrario condensación (licuación).
- XY: Coexisten en equilibrio sólido y líquido. El cambio de sólido a líquido se hace por medio de fusión. Lo contrario es congelación.

Punto crítico (Z): La línea de coexistencia XZ (equilibrio líquido-gas) se detiene, estableciendo un punto al final que se denomina crítico. Esto se debe a que luego de 31,1

°C y 7,4 Mpa de presión, la distinción fundamental entre líquido y gas se desvanece: simplemente se tiene un fluido supercrítico. En otras palabras, corresponde a la temperatura y presión máxima en la que puede existir el equilibrio líquido-gas. Por arriba de los 31°C, el dióxido de carbono en estado gaseoso no puede licuarse independientemente de la presión que se le aplique. Además, es la temperatura más alta a la que puede existir en forma líquida.

La manipulación de la temperatura y presión sobre el punto crítico modifica las propiedades del fluido y mejora su habilidad para penetrar en las estructuras, extrayendo determinadas moléculas. Esta selectividad del CO₂ es apropiada para la extracción de aceites esenciales, pigmentos carotenoides antioxidantes, antimicrobianos y sustancias relacionadas que son usadas como ingredientes para alimentos, medicinas, productos de perfumería y cosmética.

5.2.1.2. Diagrama termodinámico

La interdependencia de volumen, temperatura y presión son de suma importancia para la extracción, ya que las propiedades supercríticas de los compuestos varían con las condiciones del estado y estas variaciones son las bases de muchas aplicaciones. El diagrama general de PVT muestra la dependencia de volumen y presión a diferentes temperaturas (*Figura 18*).

La isoterma A muestra la variación a una temperatura menor que la supercrítica. ($T < T_c$). En a₂, todo es gas. En a₃, todo el fluido es líquido. Entre estos dos puntos, el estado líquido y gaseoso coexisten. Una reducción adicional del volumen en el punto a₃, resulta en un rápido aumento de la presión. Esto se debe a que la compresibilidad de un líquido es muy baja en comparación con la de un gas.

La isoterma B, muestra la variación cuando la temperatura es igual a la supercrítica ($T = T_c$). Esta isoterma crítica tiene una tangente horizontal en el punto crítico. En el punto crítico, el líquido y la rama de gas de la línea de límite de fase se encuentran y las fases se vuelven idénticas.

La isoterma C, muestra la variación cuando la temperatura es mayor a la supercrítica ($T > T_c$). En esas condiciones, el gas (c1) puede comprimirse a un volumen similar al líquido (c2) sin cambio visible de fases.

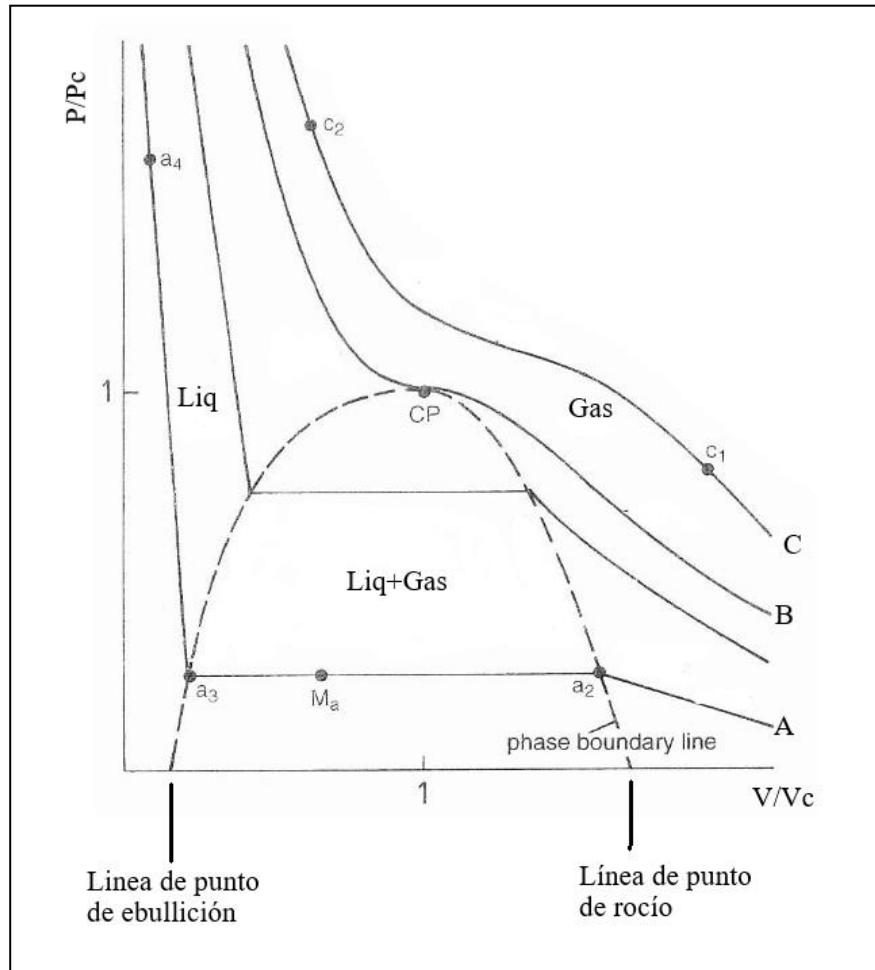


Figura 18. Comportamiento presión – volumen – temperatura del solvente supercrítico usado en la extracción: dióxido de carbono
 Fuente: Elaboración propia a partir de (Brunner, 1994)

5.2.1.3. Ventajas

Aunque la solubilidad de la luteína incrementa considerablemente con los solventes, la extracción con dióxido de carbono como fluido supercrítico se presenta como una alternativa tecnológica atractiva en términos económicos y de rendimiento.

Existen numerosas ventajas del dióxido de carbono como fluido de extracción tales como:

- Baja temperatura crítica, lo que permite extraer productos naturales sin degradación térmica
- Bajo costo

- Comercialización en un grado de alta pureza
- Naturaleza ecológicamente compatible
- Carácter no tóxico ni inflamable
- Fácil eliminación del producto mediante una despresurización una vez que terminó la extracción
- Baja viscosidad → Buenas características dinámicas
- Alta difusividad → propiedades de transporte
- Compresibilidad → Densidad variable → Poder solvente variable
- Muy baja tensión superficial → Penetrabilidad.

5.2.2. Cinética de extracción – Mecanismos de transporte en fase sólida

La membrana primaria de una célula es de carácter semi permeable, lo que significa que puede ser atravesada por el solvente, pero no así por el soluto.

La pared celular tiene varias capas que proporcionan la estabilidad estructural necesaria. Además, posee poros donde la pared celular se reduce y a través de los cuales puede ocurrir el transporte de masa.

En los siguientes párrafos, se describen los mecanismos mediante los cuales la luteína logra salir de la flor en el proceso de extracción supercrítica.

Al comienzo, la planta absorbe el solvente. Las estructuras celulares se hinchan, motivo por el cual, los canales intercelulares y membranas aumentan su volumen. Debido a ello, la resistencia de transporte de masa disminuye.

Conjuntamente, algunos compuestos de la flor (tales como la luteína) se disuelven por el dióxido de carbono. Luego son transportados a la superficie externa de la planta mediante difusión principalmente. Cuando estos compuestos disueltos atraviesan la superficie externa, puede ocurrir un cambio de fase.

Finalmente, se elimina la mayor parte del solvente y componentes de la planta (Lide, 2003) (Brunner, 1994).

El esquema de elaboración propia de la *Figura 19* muestra con profundidad la disposición del material para un mayor entendimiento.

Es evidente que las rutas de transporte y transferencia de masa se estrechan si el material se tritura. Entonces, al moler las flores, se destruyen células y estructuras celulares, reduciendo así la resistencia a través de las membranas de transporte.

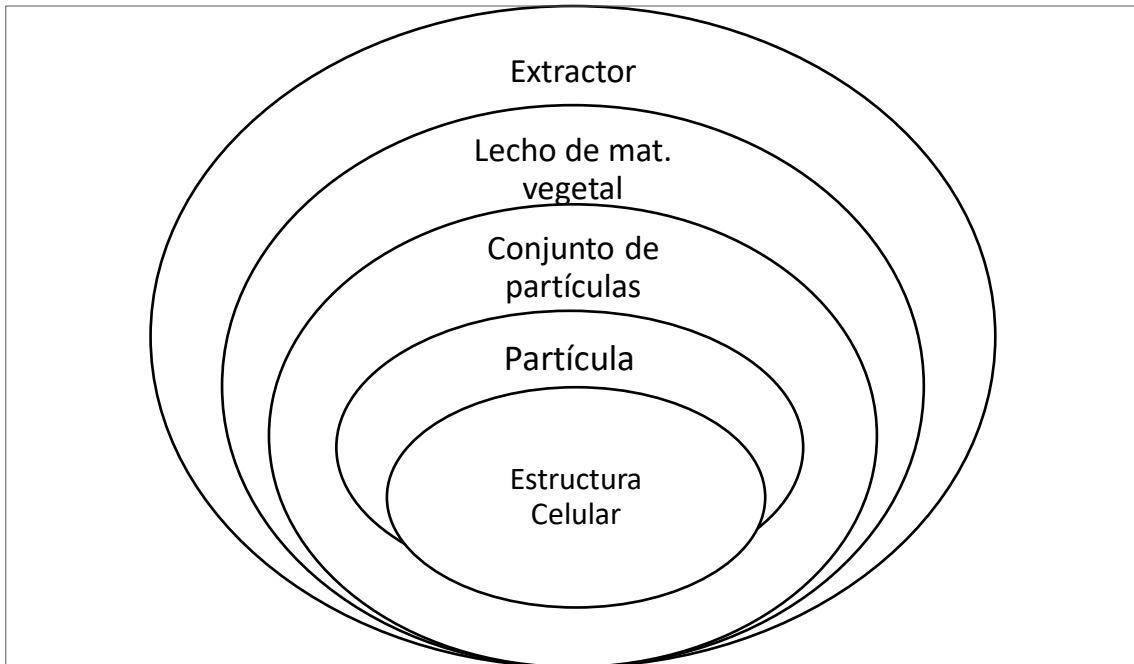


Figura 19. Disposición del material en el extractor
Fuente: Elaboración propia

5.2.3. Planta de extracción de Universidad Católica de Salta

La planta opera a una presión máxima de trabajo de 50 MPa, una temperatura de 80°C y un caudal regulable de hasta 20 kg/hr de CO₂, funcionando con un circuito cerrado que permite reciclar el solvente (Tita, 2012). Las etapas principales del proceso se pueden observar en la **Figura 20**. El principio de la extracción se basa en que el fluido es llevado a un estado supercrítico específico para extraer un soluto determinado.

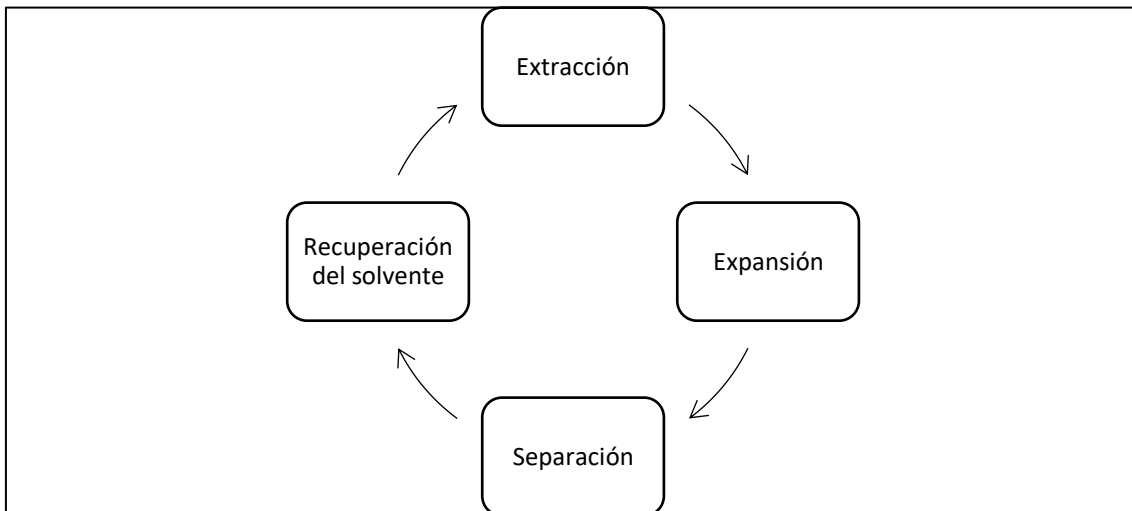


Figura 20. Etapas principales del proceso de extracción con fluidos supercríticos
Fuente: Elaboración propia

Para presentar el diagrama de flujo de la *Figura 21* se debe tener en cuenta que el proceso previo consta de corte y deshidratación de la flor.

Se posee un tramo de alta presión y otro de baja presión, ambos consecutivos y cada uno esta adecuado con las cañerías, válvulas y accesorios necesarios para cada presión. Se expone el material a un fluido bajo condiciones de tiempo, temperatura y presión controladas permitiendo así la disolución de los solutos en el fluido supercrítico. Este soluto disuelto, luego se separa mediante la disminución de temperatura (Moreno - Acosta, 2011).

Se denomina circuito principal al circuito cerrado por donde se transporte el dióxido de carbono:

- Bomba
- Extractor
- Válvula reguladora
- Separador
- Buffer

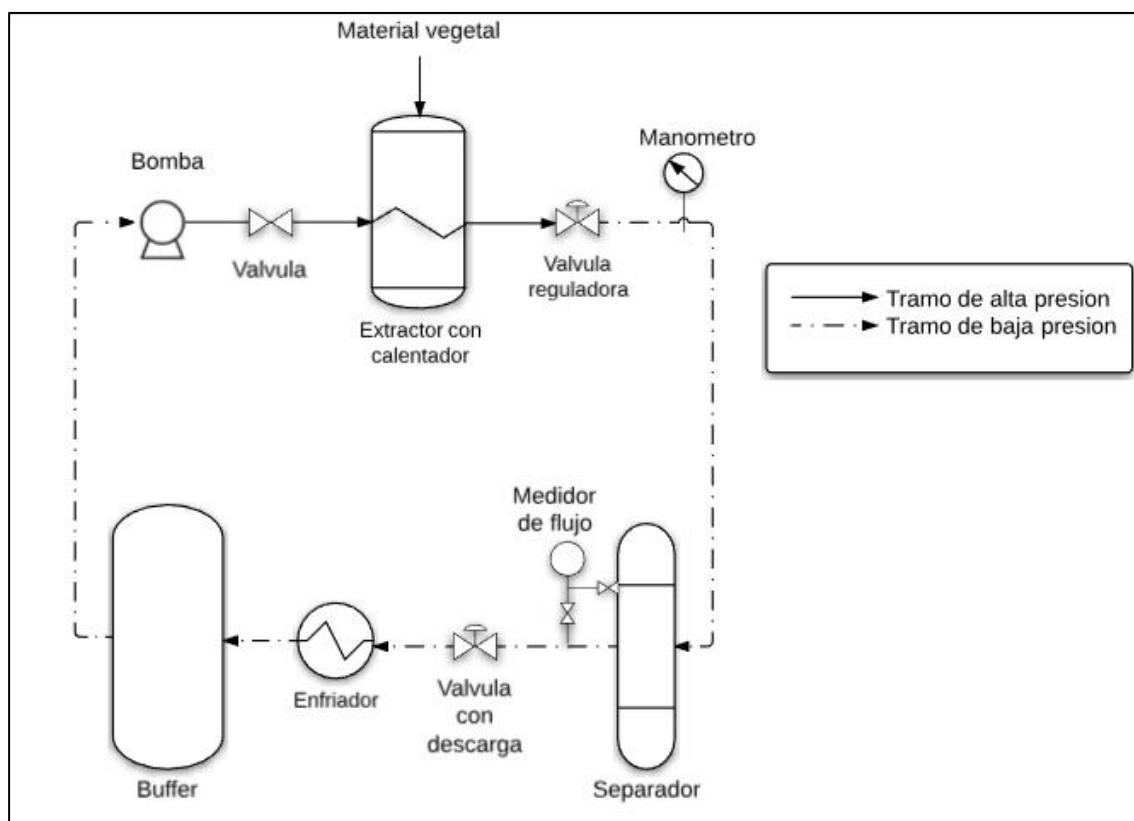


Figura 21. Esquema del proceso de extracción Supercrítica de la Universidad Católica de Salta
Fuente: Elaboración propia basado en (Tita, 2012)

Una descripción más detallada del proceso se encuentra en el **ANEXO 9**.

5.2.4. Parámetros que afectan el rendimiento

El rendimiento de la extracción depende en gran medida de pasos de pretratamiento. Estos procesos de acondicionamiento del material sólido pueden ser mecánicos, térmicos o biológicos. Sirven para homogeneizar la materia prima mejorando las operaciones de transferencia de masa (Bart & Pilz, 2011).

Una buena comprensión de algunas de las propiedades físicas y químicas de los carotenoides permite a los analistas determinar los carotenoides con mayor facilidad y fiabilidad.

- Contenido de humedad

En este caso particular no es deseable un alto contenido de humedad porque actúa como barrera en la transferencia de masa.

- Porosidad

Permite que el líquido penetre a través de los canales formados por los poros dentro del sólido, aumentando así el área activa para la extracción.

- Solubilidad

Es directamente proporcional a la presión a temperatura constante. Generalmente la presión de separación es ejecutada entre 15-20 MPa para la extracción de aceites.

Con muy pocas excepciones, los carotenoides son lipofílicos. Es decir, insolubles en agua y solubles en solventes orgánicos, como acetona, alcohol, éter etílico, cloroformo y acetato de etilo. El betacaroteno y licopeno son fácilmente solubles en éter de petróleo, hexano y tolueno; las xantófilas se disuelven mejor en metanol y etanol (Schiedt & Liaaen-Jensen, 1995).

Se demostró que la solubilidad de betacaroteno y de la xantófilas luteína en tetrahidrofurano es excelente (Craft & Soares, 1992).

- Tamaño, morfología y distribución de las partículas

El tamaño, morfología y distribución de los materiales sólidos afectan directamente la tasa de transferencia de masa.

Cuanto menor sea el tamaño de las partículas, mayor es el área superficial, y más corta la longitud entre los poros. Por lo tanto, aumenta la tasa de extracción.

Sin embargo, las partículas extremadamente pequeñas generan un efecto contraproducente. Por ejemplo, en el caso de las cáscaras de semilla de cacao se comprobó que un mayor tamaño de partícula de geometría elipsoidal favorece el flujo del solvente. De lo contrario, partículas más pequeñas laminares casi planas, forman capas densas obstruyendo los canales de flujo del fluido.

5.2.4.1. Optimización del rendimiento

Una de las formas existentes que optimiza el rendimiento de la extracción es el uso de cosolventes en la misma. Un cosolvente es un segundo disolvente añadido en menor proporción, para mejorar el poder disolvente del utilizado como primario.

Se ha demostrado que en presencia de aceite de canola¹⁸, el rendimiento de luteína extraída de la zanahoria fue más de 4 veces mayor en comparación con la extracción de SC-CO₂ sin ningún cosolvente (Sun & Temelli, 2006).

Este estudio determina que el rendimiento aumentó sustancialmente con la adición de cualquiera de los cosolventes estudiados, concluyendo que las condiciones de extracción óptimas para la mayoría son 42,5 Mpa, 65 °C y 1,5% de cosolvente.

Estos resultados estuvieron en amplio acuerdo con los hallazgos de Krichnavaruk quien informó que la adición de aceite de soja, etanol y aceite de oliva como cosolventes mejoró significativamente el rendimiento de astaxantina de *Haematococcus pluvialis*. Estas mejoras se atribuyeron principalmente a un aumento en la densidad de ventilación y al hinchamiento de la matriz (Krichnavaruk, Shotipruk, Goto, & Pavasant, 2008).

De los cinco cosolventes probados, MCT (triglicérido de cadena media) resultó ser el más eficaz para mejorar el rendimiento de extracción, seguido de n-hexano, aceite de semilla de girasol, aceite de soja y aceite de colza. Las curvas de extracción para MCT se muestran en la *Figura 22*. El rendimiento de los ésteres de luteína aumentó con la extensión del tiempo de extracción en todas las condiciones.

¹⁸ Especie de planta cultivada conocida por su uso culinario en forma de aceite.

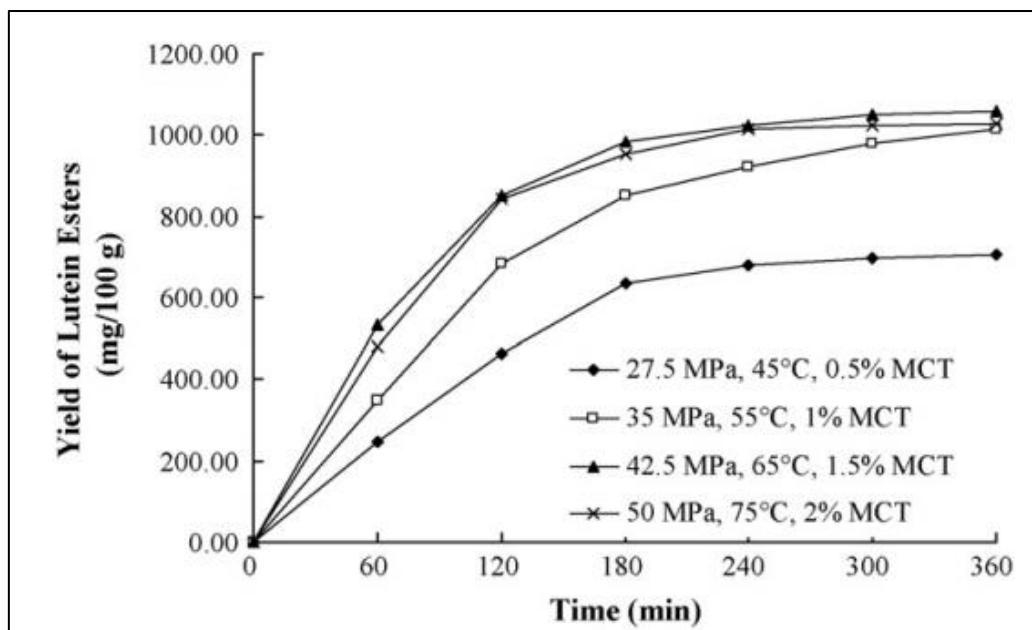


Figura 22. Rendimiento de los ésteres de luteína (mg / 100 g de caléndula, base seca) se extrajo mediante SC-CO₂ con MCT como cosolvente en diferentes condiciones (el caudal de CO₂ se fijó en 10 kg/h)

Fuente: (Yanxiang, y otros, 2010)

El aumento en el rendimiento fue mucho más rápido en las primeras 3 h, después de lo cual se observó un efecto de meseta para todas las condiciones de extracción (Yanxiang, y otros, 2010).

Otra forma comprobada para el aumento del rendimiento se basa en la utilización de ultrasonido. Varios estudios han demostrado que las técnicas ultrasónicas pueden mejorar la extracción de SC-CO₂.

Entre otros estudios, se menciona que el rendimiento de aceite de almendras incrementa en un 20% mediante esta técnica en comparación con la extracción tradicional (Riera, Golás, Blanco, Gallego, & Blasco, 2004). Además, el rendimiento de compuestos pungentes de jengibre aumentó dramáticamente bajo la influencia de del ultrasonido con una mejora de hasta 30% en comparación con la extracción tradicional de fluidos supercríticos (Balachandran, Kentish, Mawson, & Ashokkumar, 2006).

Con respecto a la extracción de luteína a partir de virreina, las curvas de extracción experimentales y calculadas para la extracción de SC-CO₂ con y sin ultrasonido se muestran en la **Figura 23**. Es evidente que el rendimiento total de la extracción de SC-CO₂ es mayor con el uso de ultrasonido. Cabe aclarar que los parámetros fueron los mismos en ambos casos.

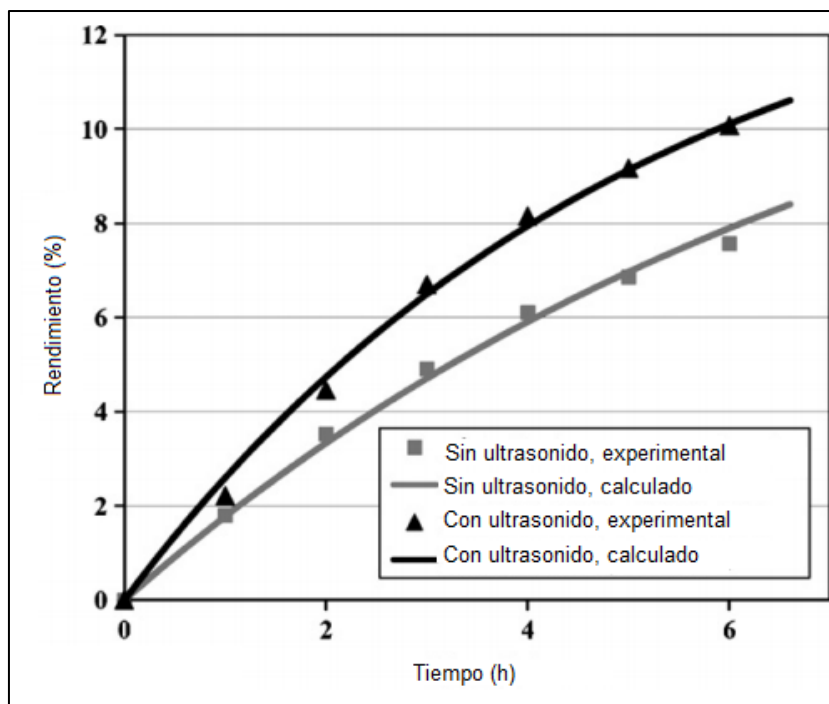


Figura 23. Curvas de extracción experimentales y calculadas para la extracción de SC-CO₂ a 35 Mpa y 55°C, sin y con ultrasonido (Potencia de 240 W, frecuencia de 25 kHz. Tiempo/intervalo de irradiación=6/9s)

Fuente: (Yanxiang, Bence, Xuan, Béla, & Qi, 2009)

Para concluir, la extracción supercrítica de dióxido de carbono de los ésteres de luteína de la caléndula (*Tagetes erecta* L.) se puede optimizar con aceites vegetales como cosolventes y/o con el uso de ultra sonido. En este trabajo de tesis no se lleva a cabo dichas mejoras, pero queda a disposición de posibles líneas futuras de investigación.

5.2.5. Parámetros que afectan a la extracción con fluidos supercríticos

La velocidad y eficiencia de la extracción se ve perjudicada por diversos valores.

- Agitación

Otorga mayor eficiencia debido a que disminuye la resistencia a la difusión, eliminando la película del fluido que cubre la superficie del sólido en reposo. Además, se evita la sedimentación y apelmazamiento de las partículas sólidas.

- Densidad

Al aumentar la densidad, aumenta la tasa de extracción (siempre que la temperatura sea constante) y la solubilidad.

- Presión

La presión es directamente proporcional con la capacidad de extracción.

En el caso de gases, la presión aumenta junto con la capacidad del solvente. Esto se debe a que la capacidad de solvatación¹⁹ y la solubilidad de los extractos vegetales también lo hacen.

- Relación de solvente

Cuando aumenta, la tasa de extracción puede mejorar.

Para gases, es el parámetro más importante. Para soluciones acuosas, es importante debido a la saturación y existencia de reacciones químicas.

Generalmente, las proporciones de solvente de alimentación en procesos industriales son menores a 30:1. Sin embargo, los coeficientes más altos se justifican para productos cuyo valor agregado es alto.

Este parámetro no puede ser discutido sin tener en cuenta la influencia en los costos:

- Una alta relación de solvente aumenta los costos de operación por unidad de producto
- Una alta relación de solvente, sin embargo, aumenta la cantidad de extracto en una menor cantidad de tiempo, disminuyendo los costos de producción.

Pueden existir además otros parámetros, por ejemplo, cuando los tiempos de extracción cortos influyen de manera negativa en calidad de producto.

Entonces se puede concluir que la cantidad óptima a utilizar depende del tipo de proceso y tamaño de las instalaciones.

- Temperatura

A mayor temperatura, aumenta la tasa de extracción porque la solubilidad es mayor (siempre y cuando la presión no baje).

La temperatura máxima para cada sistema está limitada por:

- Criterios de calidad del producto: como el punto de degradación o solubilidad de impurezas
- Criterios económicos en relación a los costos
- Criterios de seguridad respecto al disolvente: como el punto de ebullición del mismo.

¹⁹ Interacción de un soluto con un solvente, donde los iones del soluto se dispersan y son rodeados por moléculas de solvente.

- Tiempo de extracción

A mayor tiempo, mayor capacidad de producción. Pero a la misma vez aumentan los costos de operación y de capital. Las velocidades lineales van desde 1 a 5 mm/s.

- Tipo de disolvente

El disolvente debe ser lo más selectivo posible y se recomienda de baja viscosidad.

- Uso de cosolventes

5.3. Saponificación

Luego de la extracción a partir de harina de virreina, la oleorresina puede someterse a saponificación. Este proceso remueve las grasas, ácidos grasos y muchos ésteres, produciendo entonces xantófilas “libres”. El proceso de saponificación nos otorga luteína libre, es decir, se libera a las xantófilas, de las cuales de 80-90% resulta ser luteína y 5% zeaxantina (Fletcher, Papa, & Tirado, 1986).

Durante este proceso, generalmente se aplican altas temperaturas y soluciones alcalinas²⁰ concentradas para obtener la hidrólisis completa del éster. Esta hidrólisis, es el proceso inverso a la esterificación, por lo tanto, logra la separación del ácido graso del alcohol. Químicamente, la saponificación es un proceso mediante el cual se logra la obtención de jabón y glicerina. No se puede realizar con sustancias que en su estructura molecular contienen restos de ácidos grasos (*Figura 24*).

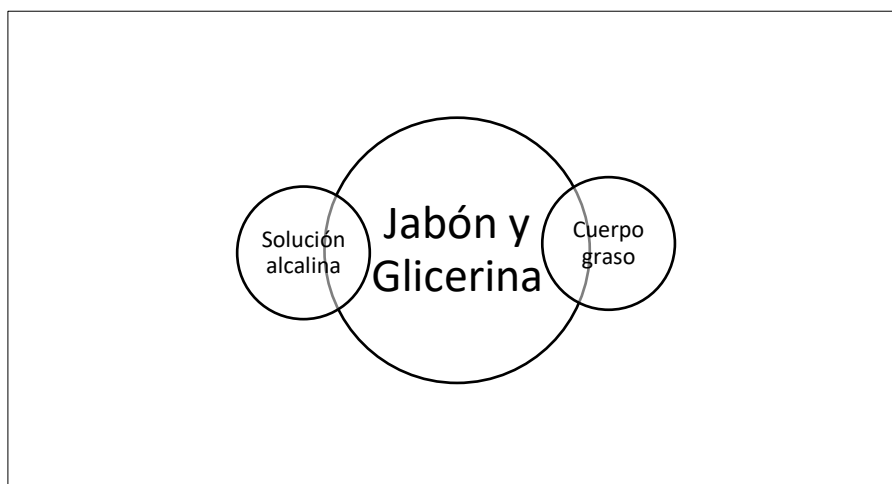


Figura 24. Saponificación
Fuente: Elaboración propia

²⁰ Ejemplos de soluciones alcalinas: hidróxido de sodio (soda cáustica), hidróxido de potasio, hidróxido de magnesio, carbonato de calcio.

La mayoría de los métodos utilizan de hidróxido de potasio (KOH) metanólico al 10% como solución alcalina. La reacción se realiza durante la noche, en la oscuridad y a temperatura ambiente. Posteriormente, la solución de carotenoides se lava cinco veces con agua para retirar el álcali y después puede secarse con sulfato de sodio anhidro.

Conviene destacar que este tratamiento también conduce a la degradación y pérdida de información sobre los compuestos nativos. Aunque los carotenoides provitamina A (α -caroteno, β -caroteno, γ -caroteno y β -criptoxantina) pueden resistir la saponificación, luteína, violaxantina y otros dihidroxi-, trihidroxi- y epoxicarotenoides se reducen considerablemente durante la saponificación y la posterior etapa de lavado (Riso & Porrini, 1997).

La extracción con solventes reduce las cantidades de luteína obtenidas en comparación con una extracción con fluidos supercríticos. Conforme a lo descrito, adicionar el proceso de saponificación resulta entonces menos atractivo en cuanto a pureza y producción dado a que el procedimiento de purificación conlleva la inevitable pérdida de luteína valiosa en cada paso. En ese caso, se recomienda no saponificar a menos que se absolutamente necesario (Kimura, Rodríguez- Amaya, & Godoy, 1990).

En cuanto a la pigmentación, un producto no saponificado requerirá dosis mayores que uno saponificado para lograr la misma calidad. A su vez, los extractos no saponificados presentan cromatogramas más complejos y más información de pigmentos, como xantófila esterificada.

5.3.1. Análisis de otras prácticas

Distintos autores utilizaron el proceso de saponificación a partir del extracto de luteína. En la siguiente tabla se recopilan algunas de estas prácticas con los resultados obtenidos en estos artículos científicos (*Tabla 16*).

Tabla 16. Comparación del proceso de saponificación, según otros autores

Autor	Proceso	Resultados
(Estados Unidos Patente nº 53, 82, 714, 1995)	Luego de saponificar la oleorresina de <i>Tagetes erecta</i> : Aísla, purifica y recristaliza la luteína.	Presenta como desventaja la utilización de múltiples solventes.
(Xu, Shao, Zhou, Ye, & Wang, 2007)	Saponificación de oleorresina cruda de extracto de <i>Tagetes erecta</i> utilizando etanol, agua y 45% de álcali durante 3-5 horas a una temperatura de aproximadamente 45-80°C.	Tiene mayor rendimiento, pero resulta ser un proceso de alto costo debido a la alta cantidad de álcali utilizado y un menor contenido de éster de luteína en el sustrato
(Peter, Hymavathi, & Yasoda, 2012)	Desarrolla un proceso que permite aumentar el rendimiento de la extracción pre concentrando la luteína extraída para recién saponificarla.	Con este método se pueden obtener una concentración de luteína que oscila entre 60 y 68%, en comparación al 45% obtenido en condiciones normales.

5.4. Cuantificación

El procedimiento general de los análisis consiste de:

- 1) Extracción
- 2) Partición con éter de petróleo o hexano
- 3) Saponificación
- 4) Concentración
- 5) Separación cromatográfica
- 6) Identificación y cuantificación.

La partición puede ser eliminada en los métodos que emplean HPLC (cromatografía líquida de alta eficiencia). La saponificación se usa para remover clorofilas y lípidos indeseables y en hidrolizar hidroxicarotenoides esterificados con ácidos grasos, liberando los carotenoides. Sin embargo, esta etapa debe ser evitada siempre que sea posible, puesto que puede causar degradación y producir compuestos artificiales (Kimura, Rodríguez- Amaya, & Godoy, 1990), además de prolongar el análisis.

Tres factores dificultan los análisis:

- El gran número de carotenoides naturales
- La variación cualitativa y cuantitativa en la composición de carotenoides en alimentos
- El posible deterioro durante el análisis al tratarse de compuestos altamente insaturados (Rodríguez - Amaya, 1989; Rodríguez - Amaya, 1990).

Se puede detectar la presencia de xantófilas con diversos métodos, entre los que se pueden destacar:

5.4.1. Separación cromatográfica

La cromatografía en capa delgada (TLC) ha sido muy útil en el análisis cualitativo, especialmente en el monitoreo de reacciones químicas. Sin embargo, esta técnica ha tenido poca aplicabilidad en análisis cuantitativos, debido a la posibilidad de isomerización y degradación de los carotenoides en una superficie altamente expuesta. La cromatografía en fase de gas no es apropiada por causa de la termolabilidad y falta de volatilidad de los carotenoides. El método tradicional para separar estos compuestos es la cromatografía descendente en columna (flujo por gravedad auxiliado con trompa de vacío) llamada cromatografía en columna abierta (CCA) (Morón, Zacarías, & De Pablo, 1997).

El color permite el control visual de la separación de carotenoides en la cromatografía de columna abierta, y principalmente por esta razón esta técnica clásica sigue siendo una opción viable para el análisis cuantitativo de carotenoides.

5.4.2. Espectrofotometría UV-VISIBLE

Los carotenoides en solución obedecen a la ley de *Beer-Lambert*: su absorbancia es directamente proporcional a la concentración. Por tanto, la espectrometría UV/VIS se usa para determinar la concentración de una solución y suele ser la primera herramienta de diagnóstico para la identificación de carotenoides.

El instrumento utilizado en la espectrometría ultravioleta-visible se llama espectrofotómetro UV-Vis. Mide la intensidad de luz que pasa a través de una muestra (I), y la compara con la intensidad de luz antes de pasar a través de la muestra (I₀). La relación I/I₀ se llama transmitancia, y se expresa habitualmente como un porcentaje (%T).

La mayoría de los carotenoides se absorben al máximo a tres longitudes de onda, dando como resultado espectros de tres picos. Los espectros de absorción ahora raramente se presentan en trabajos publicados.

Para dar una idea de la forma del espectro, se puede presentar el % III/II (*Figura 25*) junto con los valores λ_{max} , donde:

- λ_{max} es la longitud de onda máxima medida en nanómetros
- III es la altura del pico de absorción de longitud de onda más larga
- II es la altura del pico de absorción de longitud de onda media o central
- % III/II porcentaje que representa la relación de alturas entre III y II, tomando el mínimo entre los dos picos como línea de base, multiplicado por 100.

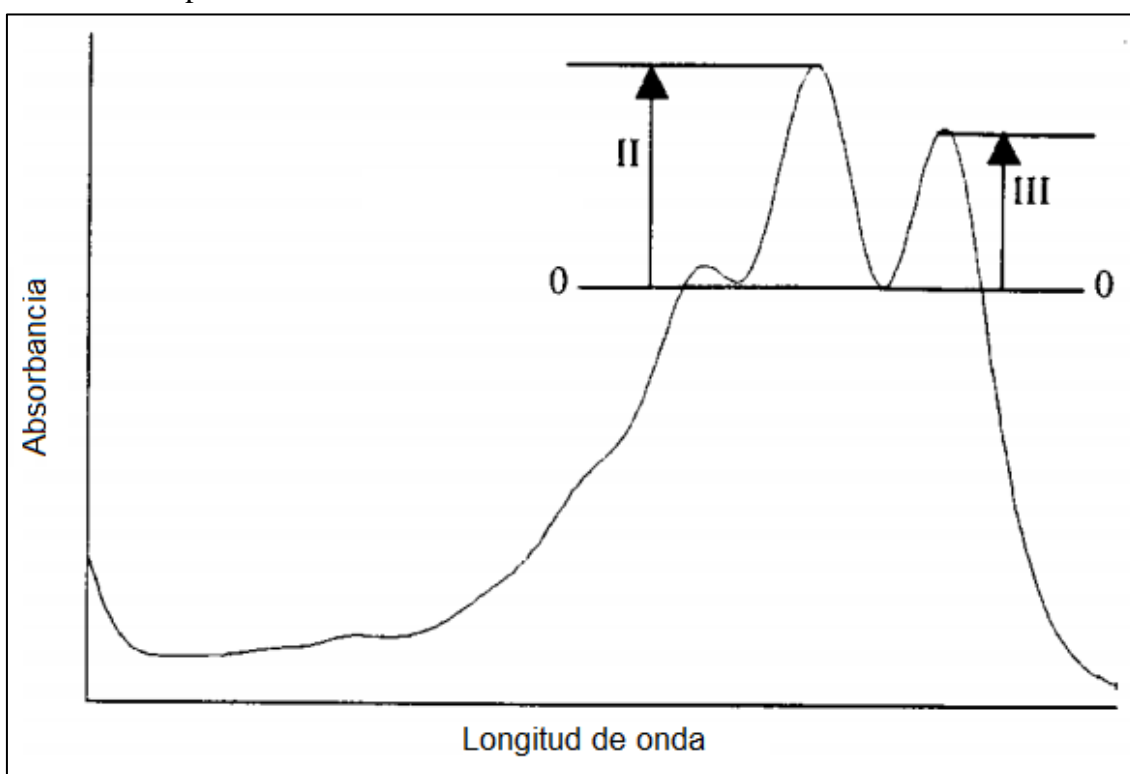


Figura 25. Cálculo de % III / II como indicación de la estructura fina espectral
Fuente: (Delta & Rodríguez - Amaya, 2001)

En cuanto a los disolventes, no todos son adecuados para usar en espectrofotometría UV. Los espectros de absorción de los carotenoides son marcadamente dependientes del solvente, como se puede observar en la *Tabla 17*.

Tabla 17. Datos de absorción ultravioleta y visible para xantófilas

Carotenoide	Solvente		λ_{max} , (nm)		% III / II
Luteína	Cloroformo	435	458	485	
	Etanol	422	445	474	60
	Éter de petróleo	421	445	474	60
Zeaxantina	Acetona	430	452	479	
	Cloroformo	433	462	493	
	Etanol	428	450	478	26
	Éter de petróleo	424	449	476	25

El coeficiente de absorción de denomina $A^{1\%}_{1\text{cm}}$ y es la absorbancia a una longitud de onda dada de una solución al 1% en una cubeta de espectrofotómetro con una trayectoria de luz de 1 cm. En la **Tabla 18.** Coeficientes de absorción ($A^{1\%}_{1\text{cm}}$) de xantófilas, se muestra la longitud de onda máxima medida en nanómetros y el coeficiente de absorción según los solventes comúnmente utilizados para xantófilas.

Tabla 18. Coeficientes de absorción ($A^{1\%}_{1\text{cm}}$) de xantófilas

Carotenoide	Solvente	λ_{max} (nm)	$A^{1\%}_{1\text{cm}}$
Luteína	Etanol	445	2250
	Éter dietílico	445	2480
	Éter dietílico	445	2600
Zeaxantina	Éter de petróleo	449	2348
	Etanol	450	2480
	Etanol	450	2540
	Acetona	452	2340

5.4.3. Análisis HPLC

El estudio comúnmente llamado “HPLC” es una cromatografía líquida de alta eficacia. A grandes rasgos, se trata de separar los componentes de una mezcla basándose en las interacciones químicas y una columna cromatográfica.

HPLC es la técnica preferida en la actualidad, especialmente en países desarrollados. La mayoría de los métodos utiliza HPLC de fase inversa con columna C18, en la cual las interacciones son suaves, por lo tanto, se evita la degradación de los carotenoides durante la cromatografía (Morón, Zacarías, & De Pablo, 1997). Si bien, es una técnica que proporciona un análisis avanzado acerca de los componentes, en este trabajo de tesis no se pudo llevar a cabo el análisis de la extracción por este método. Queda a disposición de posibles líneas futuras de investigación.

5.4.4. Precauciones especiales

El problema principal en el análisis de carotenoides surge de su inestabilidad. Por lo tanto, sea cual sea el método analítico elegido, las medidas de precaución para evitar la formación de artefactos y las pérdidas cuantitativas deben ser prácticas estándar en el laboratorio. Estos incluyen la finalización del análisis en el menor tiempo posible, la exclusión de oxígeno, la protección de la luz, evitar las altas temperaturas, evitar el contacto con el ácido y el uso de solventes de alta pureza libres de impurezas nocivas (Schiedt & Liaaen-Jensen, 1995). Los errores típicos son:

- Extracción incompleta
- Pérdidas en la saponificación, lavadas y partición
- Separación cromatográfica incompleta
- Identificación errónea
- Errores en la cuantificación y cálculo
- Isomerización y oxidación durante el análisis.

La exposición a la luz, especialmente a la luz solar directa o a la luz ultravioleta, induce la fotoisomerización trans-cis y la fotodestrucción de carotenoides. Por lo tanto, el trabajo con carotenoides debe realizarse bajo luz tenue.

Se recomienda además el uso de cristalería ámbar y frascos con papel de aluminio. Este último tiene la ventaja de que uno puede verificar visualmente en caso de ser necesario.

6. EXTRACCIÓN DE LUTEÍNA A PARTIR DE FLORES DE TAGETES SPP

Se presentan los procesos realizados para la extracción en el proyecto. El cultivo de plantines fue de producción propia y luego se procedió a realizar corte, deshidratación y molienda de las flores.

En el proceso de secado, se tiene en cuenta el contenido de humedad de las flores y se presenta la cantidad de horas óptimas para la producción. Luego, se realiza una extracción con solventes en el laboratorio de la Universidad Católica de Salta y una extracción mediante equipo Soxhlet gracias a la Universidad Nacional de Salta.

6.1. Materiales y métodos

Como se puede observar, los resultados de los estudios realizados acerca de los beneficios que aportan a la salud los carotenoides y en particular las xantófilas son realmente alentadores.

En este capítulo se presenta la preparación de flores para su posterior extracción y las técnicas utilizadas para ello (**Figura 26**). Todo lo realizado es de propia autoría.

6.1.1. Producción de plantines

La planta de *Tagetes* se reproduce fácilmente por semillas con una necesidad de mantenimiento medio. Crece en suelos de pH neutro y su crecimiento es rápido, teniendo además un largo periodo de floración que se extiende durante todo el verano y el otoño.

Es capaz de crecer en lugares como terrazas y balcones, con una exposición al sol media-alta. La necesidad de agua para su cultivo es moderada y es apta además para cualquier jardín ya que no presenta púas peligrosas, no es tóxica y no tiene bayas que ensucien el suelo.

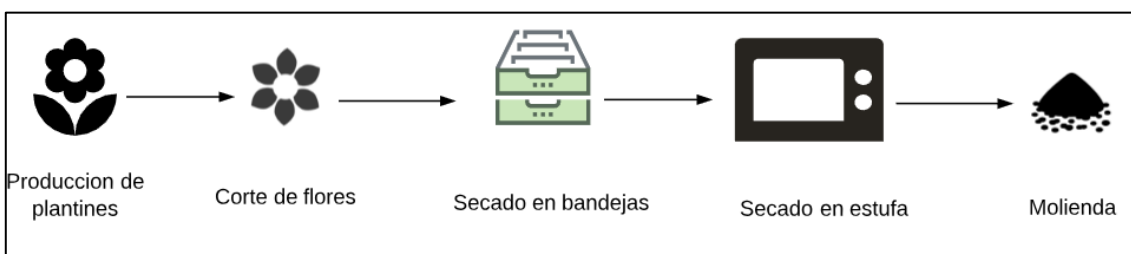


Figura 26. Diagrama de flujo previo a la extracción
Fuente: Elaboración propia

La obtención de *Tagetes spp* se hará a partir de cultivo propio. El cultivo puede iniciarse a partir de semillas o plantines. En este caso se eligió comenzar el cultivo a partir del trasplante de plantines a terreno definitivo. El beneficio es que se puede anticipar la producción aprovechando los meses de verano. Al hablar de plantines, se refiere a una planta de tamaño pequeño ya establecida, con hojas y un sistema radicular parcialmente desarrollado.

El trasplante se hizo primero en macetas (**Figura 27**). Una vez que se obtuvo un número considerable de plantines, se trasladó toda la producción a canteros expuestos al sol y con muy poca sombra (**Figura 28**).

Al traspasar los plantines, se debe tener especial cuidado en las raíces que ya se encuentran desarrolladas. El deterioro de éstas produce un estrés llamado “shock de trasplante” que trae como consecuencia una reducción del crecimiento y desarrollo normal que venía teniendo hasta ese momento la planta. El color de las raíces es un factor importante, se realizó el trasplante cuando éstas todavía eran blanquecinas, lo que indica que son jóvenes. Cuando van envejeciendo, se tornan más oscuras.

Se tienen conocimientos de que el tipo de suelo, riego y fertilización de este no afectan de manera significativa el contenido de carotenoides en las plantas de *Tagetes spp*.



Figura 27. *Tagetes erecta* doble en macetas
Fuente: Autoría propia



Figura 28. Tagetes erecta doble en cantero
Fuente: Autoría propia

A continuación, se presentan los principales factores necesarios para una mejor producción:

- **Abonado:** Es preciso abonar antes de la plantación y reforzar este proceso en caso de que el follaje empiece a ponerse amarillento.

- **Plantación:** Se planta a principios de la primavera, protegiendo los plantines de heladas y fríos tardíos. En este caso, los plantines fueron 97 y se los trasplantó en el mes de septiembre del año 2017.
- **Riego:** Se precisa cada tres o cuatro días de manera regular.
- **Poda:** Solo se necesita una ligera poda de mantenimiento, eliminando aquellas hojas y flores marchitas para estimular el crecimiento de nuevas flores. En el caso del proyecto, al cortar constantemente las flores para la extracción, se debe realizar una poda más profunda que nos permita el espacio suficiente para el crecimiento de las nuevas flores.
- **Exposición al sol:** Si bien son plantas que se desarrollan de manera normal a pleno sol, se observó que en el verano de 2017 con temperaturas constantes de alrededor de 32°C, las plantas necesitan mayores cuidados en cuanto a riego y, si es posible, mayor protección de los rayos del sol.

6.1.2. Corte de flores

Una vez que las flores están desarrolladas por completo, se cortan. Esto se debe realizar a tiempo, evitando que las mismas se sequen y marchiten en la planta.

Las flores se cortan al ras del pedúnculo y, en este caso, no se tuvo en cuenta la separación de pétalos para realizar la extracción. Los cortes en este caso no se realizan a detalle, ya que cuando se fabrica a niveles industriales generalmente no se obtiene este beneficio.

Debido a que se usó toda la flor completa, se tiene que tener especial cuidado en la forma de almacenar hasta el secado, ya que dentro del tálamo y demás estructuras de la flor puede acumularse humedad y llevar a la putrefacción de la misma.

Se plantea la necesidad del secado de las flores de virreina lo más inmediato a su colecta ya que se demostró por otros autores que un almacenamiento de entre 3 a 5 horas en sacos de polietileno conlleva una pérdida del 28-30 % de los carotenoides.

Es por ello que una vez cortadas, se exponen al aire libre, con temperatura ambiente y a la sombra, protegidas de situaciones de humedad (tales como llovizna, rocío o la propia humedad del ambiente). En este caso, se distribuyeron en bandejas lo suficientemente grandes como para tener una superficie amplia, evitando el contacto entre ellas. Estas condiciones permiten un secado natural de las mismas durante un máximo de

24 horas y luego se acumulan en cajas aireadas para el traslado hasta el laboratorio, donde se introducen a la estufa (*Figura 29*).



Figura 29. Flores cortadas de Tagetes erecta doble
Fuente: Autoría propia

6.1.3. Deshidratación

Este proceso consiste en remover la humedad de una sustancia, en donde se involucran fenómenos de transferencia de calor y masa en forma simultánea. La transferencia de masa ocurre cuando el sólido pierde humedad. La de calor, cuando el medio ambiente entrega calor al sólido.

El secado puede llevarse a cabo a una temperatura de 80 °C porque se obtienen los mayores rendimientos de carotenoides en comparación con el rendimiento 20 °C, debido al menor tiempo de secado y por tanto a una menor actuación de las enzimas. Sin embargo, diversas fuentes recomiendan que para una mejor retención de xantófilas, la temperatura de extracción debe mantenerse entre 40-45 °C. Asimismo, se debe prestar especial atención al concepto de que temperaturas mayores de 100 °C tienden a reducir la cantidad de principios activos.

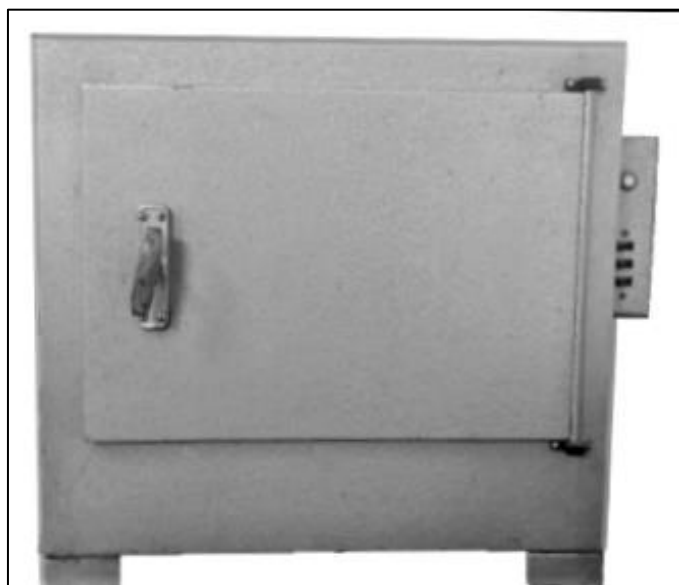
6.1.3.1. Instrumentos

- Estufa

Tanto para la extracción por solventes como para la extracción por fluidos supercríticos se requiere un previo proceso de deshidratación de las flores. En este caso, para poder tener condiciones controladas de temperatura, el proceso de deshidratación se lleva a cabo en una estufa de secado a 45°C. La estufa es de marca *Erovne* Modelo 101, N° 28. Esta estufa alcanza la temperatura de 180°C. Su precio aproximado es de \$14.000

(catorce mil pesos argentinos)²¹. Mantiene temperatura, humedad y otras condiciones en grado óptimo, tales como el contenido de dióxido de carbono (*Figura 30*).

Figura 30. Estufa utilizada de secado marca Erovne Modelo 101, n° 28



Fuente: Autoría propia

- Balanza digital

La balanza (*Figura 31*) se utiliza durante el proceso de deshidratación para poder tener en cuenta la pérdida de pesos a fines de calcular el contenido de humedad de las flores. Con ello, podemos diagramar una curva de secado que nos servirá para tener información acerca de los tiempos necesarios. En este caso, es un modelo común de cocina, de 1 g a 7 Kg de precisión. El precio es de \$200²² (doscientos pesos argentinos).

²¹ Precio referido a agosto del 2017.

²² Precio referido a agosto del año 2017.

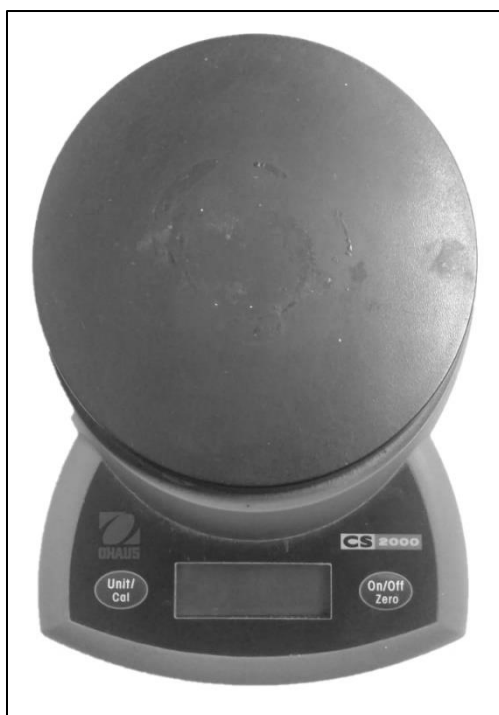


Figura 31. Báscula de cocina utilizada
Fuente: Autoría propia

- Termómetro

Se necesita para poder controlar la temperatura y alcanzar la deseada en la estufa de secado, 45°C.

En este caso se utiliza un termómetro de mercurio (*Figura 32*), con precisión de 0 a 150°C. El precio es de \$360²³ (trescientos sesenta pesos argentinos).

²³ Precio referido a agosto del año 2017.

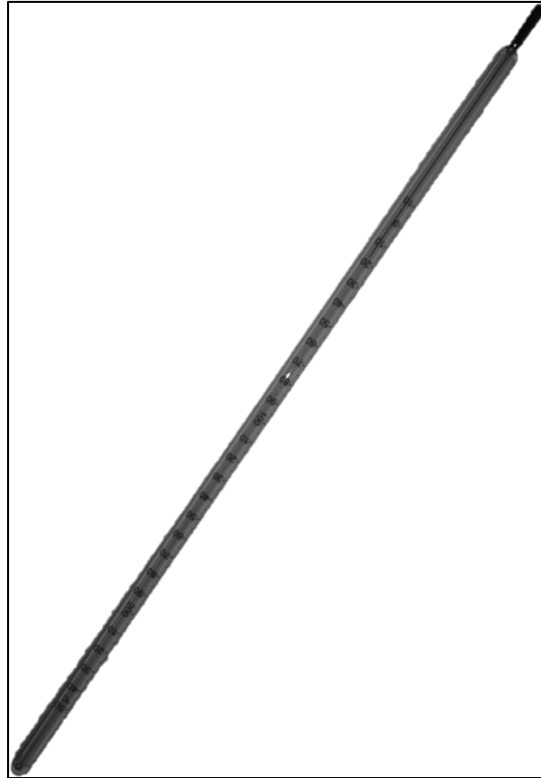


Figura 32. Termómetro de mercurio utilizado
Fuente: Autoría propia

6.1.4. Cinética del secado

Las muestras de flores de distintas especies se secan en el horno de cultivo o estufa de secado, controlando su gramaje cada 60 minutos a fin de poder determinar una curva de secado mediante su contenido de humedad. En la *Figura 33*, se muestran las flores de *Tagetes erecta simple* antes y después del proceso de deshidratación. En las mismas condiciones, se presenta en la *Figura 34* a las *Tagetes erecta doble* y en *Figura 35* a las *Tagetes patula*.



Figura 33. Comparación entre flores de *Tagetes erecta simple*. Arriba: antes de deshidratación. Abajo: Después del proceso de secado
Fuente: Autoría propia



*Figura 34. Comparación entre flores de Tagetes erecta doble. Arriba: antes de deshidratación. A Abajo: Después del proceso de secado
Fuente: Autoría propia*



Figura 35. Comparación entre flores de *Tagetes patula*. Arriba: antes de deshidratación. A Abajo: Después del proceso de secado
Fuente: Autoría propia

6.1.4.1. Porcentaje de humedad

El porcentaje de humedad de cada especie se determinará a partir de la siguiente fórmula:

$$\text{Porcentaje de humedad} = \frac{\text{masa húmeda} - \text{masa seca}}{\text{masa húmeda}}$$

Para ello, se procede a secar las flores hasta el punto en que dejan de perder peso. En ese momento tenemos el dato de masa seca. Masa húmeda se refiere al peso original de la flor.

- *Tagetes erecta simple*

$$\text{Porcentaje de humedad} = \frac{26,124 \text{ gr} - 3,601 \text{ gr}}{26,124 \text{ gr}} = 86\%$$

- *Tagetes erecta doble*

$$\text{Porcentaje de humedad} = \frac{55 \text{ gr} - 8 \text{ gr}}{55 \text{ gr}} = 85\%$$

- *Tagetes patula*

$$\text{Porcentaje de humedad} = \frac{20,19 \text{ gr} - 2,6 \text{ gr}}{20,19 \text{ gr}} = 87\%$$

Las flores, sin importar la especie, llegan a perder aproximadamente el 15% de su peso²⁴.

En la *Tabla 19*, se presentan los distintos porcentajes de humedad, acorde al transcurso de las horas de las distintas especies utilizadas para el proyecto.

²⁴ La diferencia en la cantidad de decimales en el peso de las distintas especies se debe a la disponibilidad de una báscula con mayor precisión al comienzo de los análisis. Al ser la especie "*Tagetes erecta*" doble la última en analizarse se utilizó una báscula común.

Tabla 19. Porcentaje de Humedad de *Tagetes erecta simple, doble y patula*

<i>T. Erecta Simple</i>			<i>T. Erecta Doble</i>		<i>T. Patula</i>	
Horas	Gramos	% de Humedad	Gramos	% de Humedad	Gramos	% de Humedad
0	26,124	26	55	55	20,19	20
1	19,017	19	50	50	10,697	11
2	17,406	17	47	47	9,693	10
3	16,473	16	44	44	8,862	9
4	15,816	16	39	39	8,336	8
5	12,866	13	36	36	6,662	7
6	11,262	11	32	32	5,729	6
7	8,675	9	29	29	4,35	4
8	7,945	8	24	24	3,802	4
9	7,101	7	23	23	3,508	3
10	5,845	6	20	20	3,166	3
11	5,123	5	19	19	3,151	3
12	4,877	5	17	17	3,028	3
13	4,832	5	16	16	2,98	3
14	4,543	5	15	15	2,95	3
15	4,012	4	13	13	2,836	3
16	3,843	4	13	13	2,822	3
17	3,7712	4	13	13	2,756	3
18	3,713	4	13	13	2,701	3
19	3,612	4	13	13	2,6	3
20	3,601	4	12	12	2,6	3
21			12	12		
22			11	11		
23			10	10		
24			10	10		
25			10	10		
26			9	9		
27			9	9		
28			8	8		

Fuente: Elaboración propia

6.1.4.2. Curvas de secado

La velocidad de secado se puede determinar por medio de una curva de contenido de humedad relacionado con el tiempo de secado. Esto resulta ser una herramienta muy útil y de gran importancia para mostrar el comportamiento de este (Figura 36).

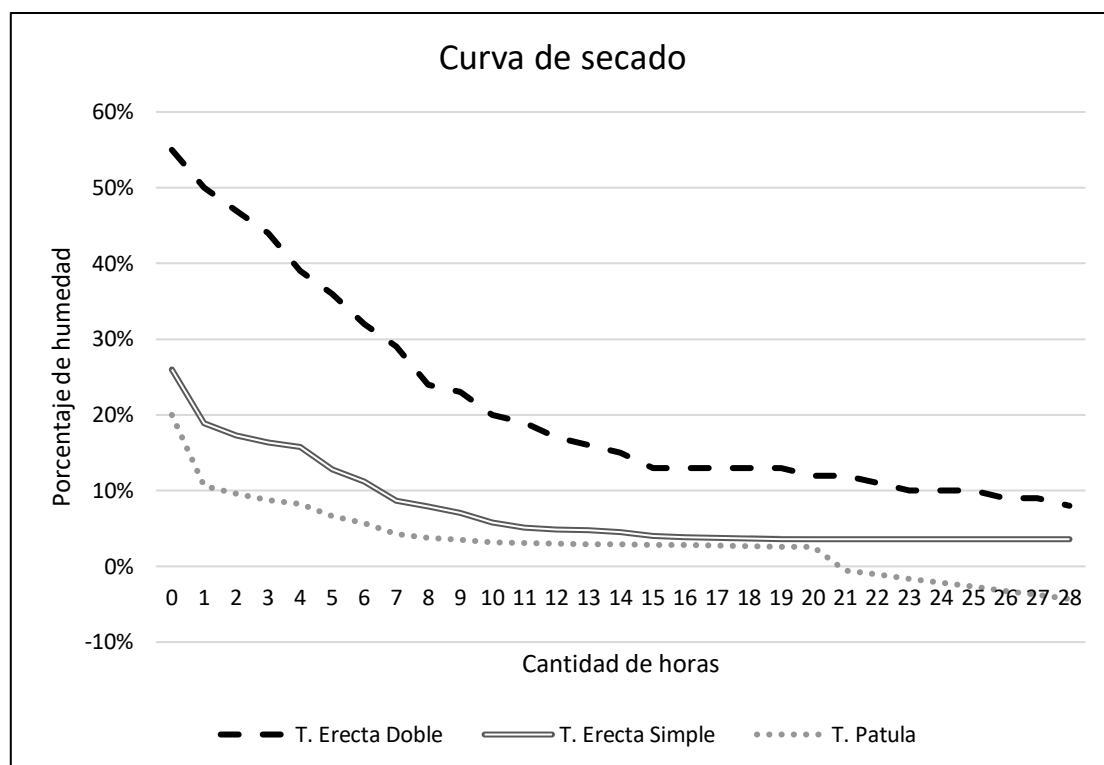


Figura 36. Representación del contenido de humedad a través del tiempo de *Tagetes erecta* doble, simple y patula
Fuente: Elaboración propia

Tabla 20. Comparación de secado entre *Tagetes* spp

	Cantidad de horas de secado	Porcentaje de peso perdido tras el secado
<i>Tagetes erecta simple</i>	20 horas	86% de su peso original
<i>Tagetes patula</i>	20 horas	87% de su peso original
<i>Tagetes erecta doble</i>	28 horas	85% de su peso original

Fuente: Elaboración propia

En la **Tabla 20** se muestra de manera simplificada la cantidad de horas de secado y el porcentaje perdido en peso. Como podemos observar, la flor de *Tagetes erecta doble* al ser más voluminosa demora mayor cantidad de horas en secar completamente en comparación con las especies simples. Esto se debe también a que tiene mayor cantidad de pétalos aglomerados.

6.1.5. Molienda

Para facilitar el proceso de extracción es útil reducir el tamaño de la materia. Esto se debe a características de los parámetros de extracción que mejoran gracias al tamaño de las partículas.

Se debe tener atención en los materiales a moler. En este caso, la molienda de flores no presenta mayores complicaciones. Sin embargo, en casos de materiales con alto

contenido de aceite, la molienda podría perjudicar el proceso de extracción debido a que se forma una masa que puede obstruir el paso de solvente en el extractor.

Un buen proceso de secado nos permite menor adherencia de las partículas al sistema de molienda (*Figura 37*).

Para la tesis se utiliza una procesadora *Moulinex* Picadora de 750 watt que se exhibe en la *Figura 38* . El precio de esta procesadora es de \$1600 (mil seiscientos pesos argentinos).²⁵



Figura 37. Flores de *Tagetes erecta* simple luego del proceso de molienda
Fuente: Elaboración propia

²⁵ Precio referido al mes de agosto del año 2017.



Figura 38. Máquina procesadora utilizada
Fuente: Autoría propia

6.2. Materia prima para la extracción

Luego de la preparación previa del material que incluye corte, deshidratación y molienda, se obtiene las cantidades de material detallados en *Tabla 21*.

El material pulverizado se almacenó en recipientes plásticos con tapa a rosca y traslúcidos. Para proteger el material de la luz, se guardaron también en una caja de cartón. Al estar dentro del laboratorio, se mantuvieron a temperatura ambiente protegidos de rayos solares (*Figura 39*). La temperatura adecuada para el almacenamiento de los pétalos de caléndula secos es de 25 ± 2 °C.

Tabla 21. Gramos totales de flores almacenadas

Especie	Gramos
<i>Tagetes erecta doble</i>	146
<i>Tagetes erecta simple</i>	118
<i>Tagetes patula</i>	48
TOTAL <i>Tagetes spp.</i>	312

Fuente: Elaboración propia



Figura 39. Materia prima de Tagetes spp para la extracción
Fuente: Elaboración propia

6.3. Extracción con etanol mediante maceración

En esta ocasión se selecciona como solvente de extracción etanol, popularmente conocido como “alcohol etílico”. Esto se debe a que al ser lípidos de carácter hidrofóbico son solubles en solventes orgánicos.

El proceso consiste en remojar el polvo de flores en etanol y dejarlo reposando con calor. Posteriormente, el etanol se evapora.

Se colocan 10,636 gr de *Tagetes erecta simple*, previamente seca y molida, en 500 ml de alcohol. Una fotografía del pesaje se exhibe en la *Figura 40*.

Este material, luego se vierte en un matraz Erlenmeyer y con la ayuda de un agitador magnético se deja 24 horas con calor y agitación. El matraz se cubre de la luz con papel aluminio.



Figura 40. Pesaje del material seco y molido a macerar
Fuente: Autoría propia

Para continuar, este matraz cubierto por la luz se coloca sobre un agitador magnético que tiene la capacidad de agitar la mezcla de manera automática y a la misma vez otorgarle calor. Para este proyecto se utiliza un agitador magnético marca *Decalab Fbr* (Figura 41). Posee regulación de velocidad de agitación y calefacción. El precio es de \$12.800 (doce mil ochocientos pesos argentinos)²⁶.

Luego del transcurso de unos minutos de agitación las semillas flotan. Este paso es de vital importancia, dado a que en ensayos futuros las semillas podrían ser separadas justo en esta etapa.

²⁶ Precio referido al mes de Enero de 2018.



*Figura 41. Agitador magnético utilizado
Fuente: Autoría propia*

Transcurridas las 24 horas de maceración, la muestra se filtra (**Figura 42**). El producto filtrado se lleva nuevamente a maceración para lograr la evaporación del solvente. Este proceso se realiza a 60°C. En este ensayo, por cuestiones de tiempo, se redujo la solución evaporando el 35% de la misma. El resultado obtenido fue una oleorresina muy líquida, que podría mejorar sus propiedades si se deja evaporar el solvente por más tiempo. Para mayor eficacia, podría ser recuperado, pero en este proyecto se pierde.

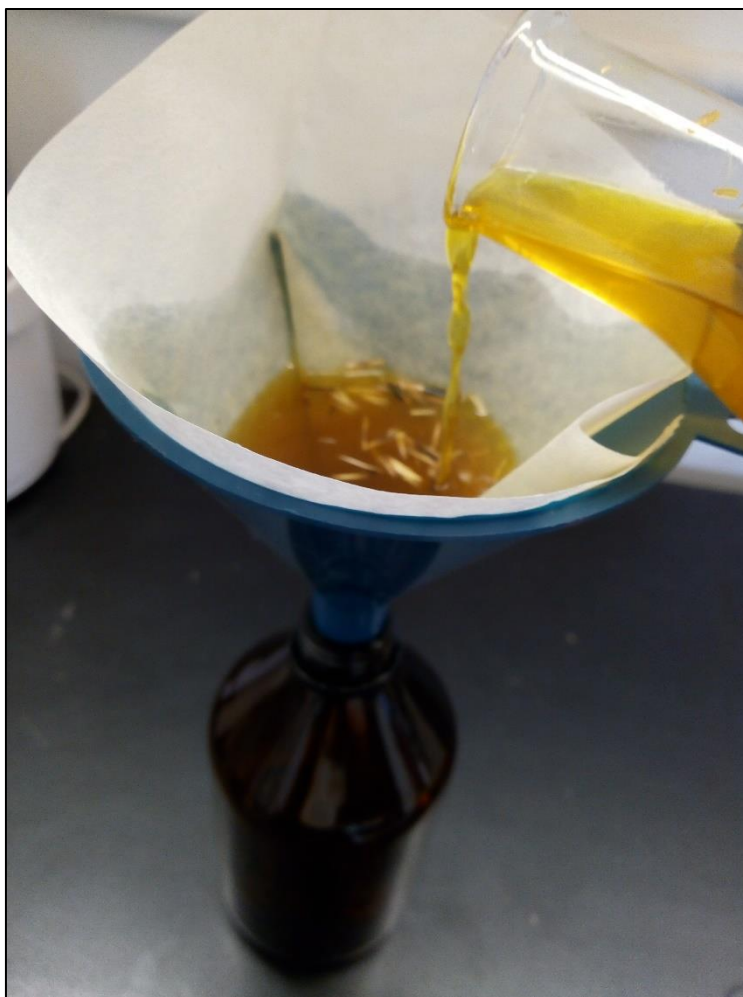


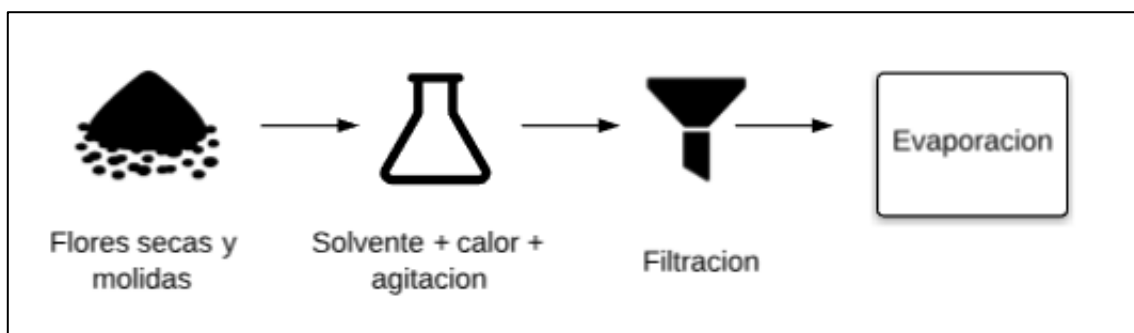
Figura 42 *Proceso de filtrado de la muestra*
Fuente: Elaboración propia

La cantidad de material residual retenida en el filtro es de 6.369 gr. Es decir, un 61,5% del peso inicial corresponde a semillas y otras partes no disueltas en la maceración. Este material podría mezclarse nuevamente con etanol y repetir el proceso hasta que la solución filtrada sea clara, lo cual demuestra un bajo porcentaje de luteína. No obstante, en este caso solo se realizó una vez.

Los instrumentos necesarios son los siguientes:

- Alcohol
- Embudo
- Matraz Erlenmeyer
- Filtro
- Frasco ámbar
- Agitador magnético con calor

Para este análisis, no se efectúa el proceso de saponificación. En la **Figura 43** se observa el diagrama de flujo de maceración con calor.



*Figura 43. Diagrama de flujo de maceración con calor
Fuente: Elaboración propia*

6.4. Análisis de extracción con hexano

Gracias a la colaboración de la Universidad Nacional de Salta, se pudo realizar una extracción con hexano de oleorresina mediante equipo soxhlet, proceso descrito en el título 5.1.2 de este proyecto.

Para ello, se otorgó a la universidad mencionada 50 g de muestra de flores molidas de *Tagetes erecta doble* obtenidas a partir de producción propia. El análisis consiste en la determinación de color en muestra además del contenido de oleorresina en las flores y rendimiento de extracción. Los resultados arrojan los siguientes datos:

- Contenido de Xantófilas totales: 7,53 g/kg
- Contenido de oleorresina extraíble (Hexanos): 6,97%
- Contenido Xantófilas en oleorresina: 103,75 g/Kg
- Rendimiento de Xantófilas extraíbles: 95,81%

El análisis original se encuentra en **ANEXO 10**.

En la *Figura 44* se puede apreciar la curva del espectro UV visible analizado. Se compara la curva con la obtenida por los autores *Wolfgang Gau, Hans Ploschke & Christian Wunsche (Figura 45)* y se afirma que el espectro de absorción del extracto exhibe máximos similares, típicos de xantófilas.

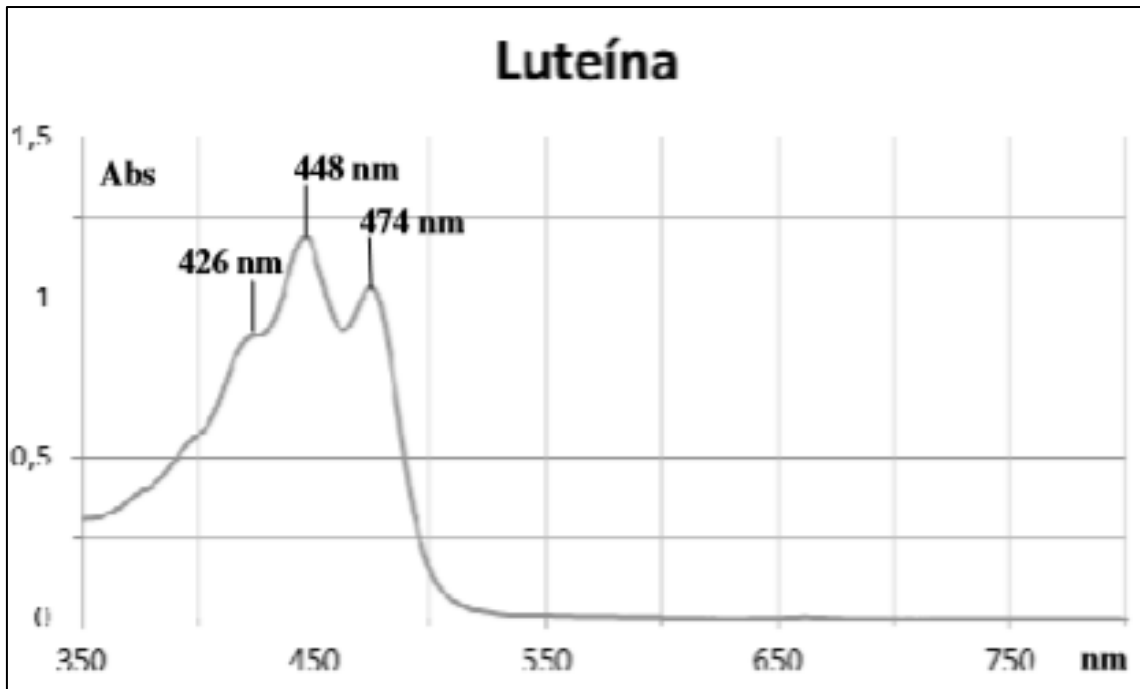


Figura 44. Espectro UV-VIS de extracto acetónico de muestra de flores de virreina de producción propia.

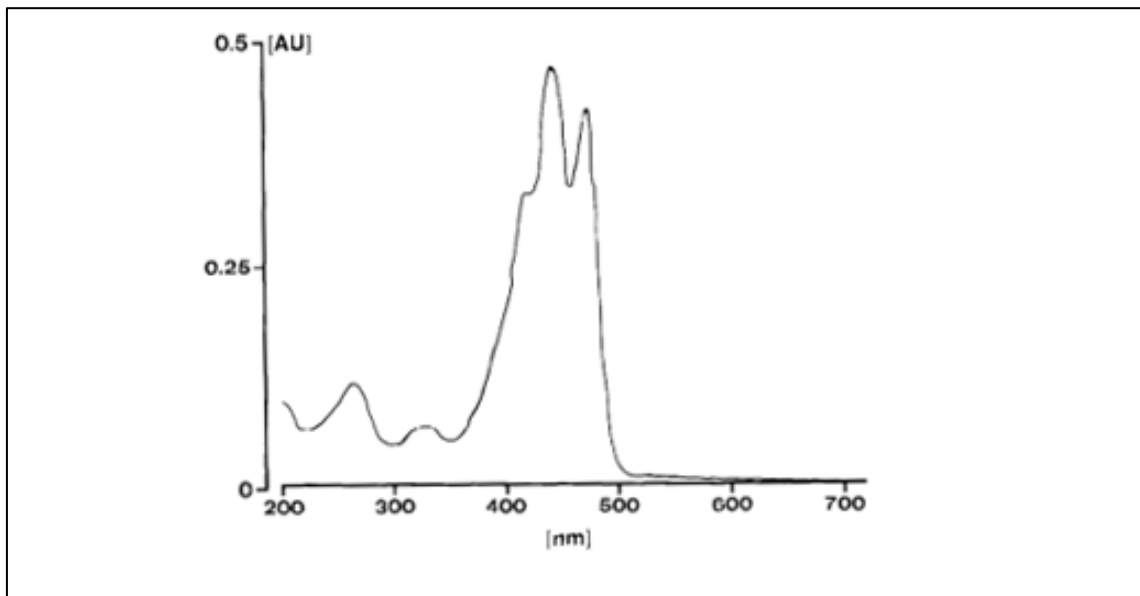


Figura 45. Espectro de absorción de extracto de pétalos de Tagetes. Concentración: 8,7 10 e 4% (p/v).
Disolvente: hexano. Longitud de celda: 10 mm.
Fuente: (Gau, Plosche, & Wunsche, 1983)

En la **Figura 46** se puede observar el estudio realizado por los autores *Watkins, Levy* y otros en la revista *J. Agric. Food Chem.* 47 acerca de la composición de carotenoides a partir del extracto de *Tagetes Erecta* usado como suplemento nutricional. Los picos obtenidos se identificaron como luteína cis y trans.

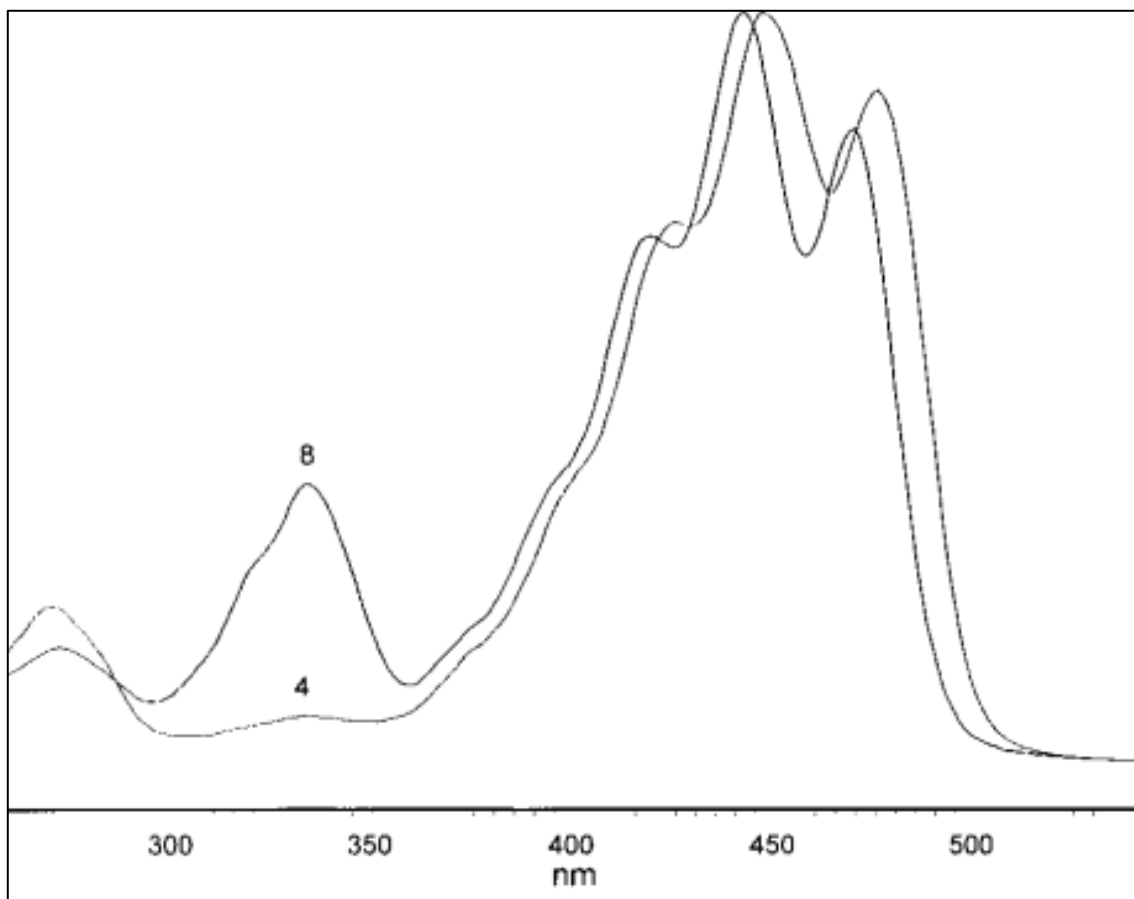


Figura 46. Espectro de absorción UV-visible para los isómeros “all-trans-lutein” (pico 4) y “15-cis-lutein” (pico 8)

Fuente: (Watkins, y otros, 1999)

En el análisis realizado en la Universidad Nacional de Salta obtenemos que el contenido de xantófilas totales es de 7,53 g/kg. Es decir, que con 1 kg de muestra de flores secas se obtiene 7,53 g de xantófilas (luteína y zeaxantina).

Es por ello que se deduce que para la obtención de 1 tonelada de xantófilas se necesitaría aproximadamente 132,8 ton de flores secas.

Como se observa anteriormente en el capítulo **6.1.4. Cinética del secado**, la flor pierde aproximadamente el 85% de su peso original al secarse. Entonces para la obtención de 1 tonelada de xantófilas se necesitan aproximadamente 913 ton de flores en condiciones normales de humedad.

Se recuerda que para el cultivo se necesitan entre 11 y 30 toneladas de virreina por hectárea.

Cálculos:

$7,53 \cdot 10^{-6}$ ton de xantófilas _____ 1 kg de flores secas

1 ton de xantófilas _____ $X = 132.802,1$ kg de flores secas

$132,8$ ton de flores secas

55 g de flores de *Tagetes erecta doble* terminan pesando 8 g al final del secado.

$8 \cdot 10^{-6}$ ton de flores secas _____ $5,5 \cdot 10^{-5}$ ton flores

132,8 ton de flores secas _____ $X = 913$ ton de flores

7. ANÁLISIS DE MERCADO

En este apartado se analiza, por un lado, el análisis del entorno del mercado de la virreina. Adicionalmente, dado lo extenso del tema y los diversos usos que presenta la luteína, descritos en el capítulo 4 de este proyecto, se dedicará el análisis de la oferta y la demanda específicamente al producto industrializado “Harina de Virreina”. Este producto atiende al uso más amplio y popular que indiscutiblemente es el avícola. Es importante recordar que las xantófilas se utilizan para pigmentar la piel de pollos y las yemas de huevos de gallina.

7.1. Análisis del entorno

Se realiza un análisis del entorno del proyecto, el cual está compuesto por un análisis Porter de la producción de virreina, y un análisis FODA, con el fin de comprender el contexto del mercado.

7.1.1. Análisis porter

También conocido como las 5 fuerzas de Porter: Amenaza de productos sustitutos, amenaza de nuevos entrantes, rivalidad entre competidores, poder de negociación de los proveedores y poder de negociación de los clientes. Este estudio establece un marco para analizar el nivel de competencia dentro de una industria, señala aquellos factores críticos para identificar las innovaciones estratégicas que mejorarían la utilidad del sector y la propia. El análisis se realiza basado en la producción de nuestra materia prima: flores de virreina (**Figura 47**).

7.1.1.1. Poder de negociación de los clientes

En Argentina, la producción de pollos parrilleros se centra principalmente en las provincias de Entre Ríos y Buenos Aires, y con menor participación Santa Fe, Córdoba, Rio Negro, Neuquén, Salta y Mendoza. En cuanto a la producción de huevos, las provincias de Buenos Aires, Entre Ríos, Córdoba y Santa Fe son las más relevantes ((SENASA), 2012-2017)

7.1.1.2. Rivalidad entre las empresas

Sobre el cultivo de la virreina, México es el principal productor de la flor de la flor. Además, Perú y Ecuador también son grandes productores.

7.1.1.3. Amenaza de los competidores potenciales

De acuerdo a los factores climáticos, los países de Chile y Bolivia son países que presentan el clima adecuado; con lo que pueden llegar a ser competidores potenciales dentro del entorno más cercano.

7.1.1.4. Poder de negociación de los proveedores

El insumo principal para la producción de la flor de virreina son las semillas. Otros insumos son los fertilizantes y los combustibles, éstos son críticos para el cultivo óptimo de *Tagetes spp.*

7.1.1.5. Amenaza de productos sustitutos

Los productos sustitutos son principalmente los colorantes artificiales. En cuanto al costo actual de los colorantes naturales, no presentan valores competitivos respecto a los sintéticos. Sin embargo, esto puede disminuir con una materia prima de mayor calidad, mejoras en los procesos de producción o un aumento en el volumen de producción. No obstante, la creciente demanda ecológica tiende a retornar al consumo de los productos naturales.

Se debe tener en cuenta, además, que otros productos sustitutos son otros colorantes naturales, como por ejemplo la cúrcuma o el maíz amarillo (aunque es más económico que la harina de virreina, pero con menor poder tintóreo).

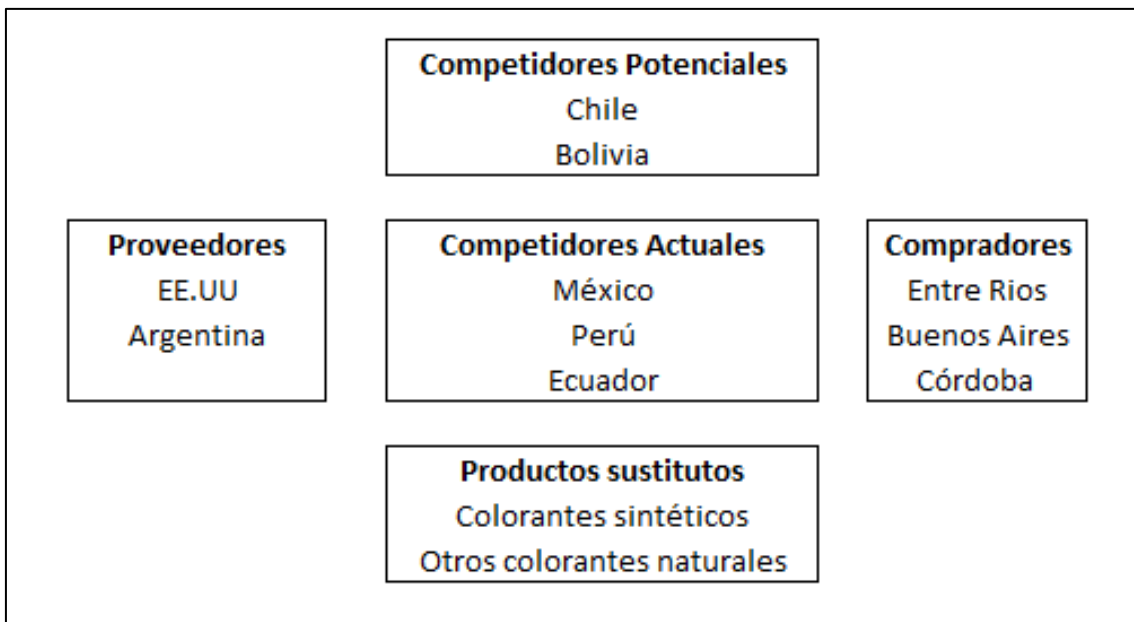


Figura 47. Análisis de las 5 fuerzas de Porter de la producción de virreinas
 Fuente: Elaboración propia

7.1.2. Análisis FODA

El análisis FODA comprende: Fortalezas, oportunidades, debilidades y amenazas. Es una herramienta para observar la situación de una empresa, analizando sus características internas y su situación externa.

Se realiza un análisis FODA de interés para este proyecto.

7.1.2.1. Fortalezas

- Disponibilidad de hectáreas que puedan ser destinadas al cultivo en la provincia de Salta
- Clima favorable
- La maquinaria y los equipos necesarios para la producción pueden ser utilizadas en otras actividades productivas
- No se requiere gran inversión en infraestructura de edificios
- Producto aprobado por el CAA para colorantes, y por la ANMAT para suplementos dietarios
- Pocos competidores, por lo cual es poco probable una variación en el precio del producto
- El cultivo no requiere cuidados específicos en comparación con otros más delicados
- El color es un atributo importante para el consumidor al momento de elegir un producto.

7.1.2.2. Oportunidades

- Incremento en la demanda de productos saludables, orgánicos, ecológicos y funcionales
- Tendencia creciente a la sustitución de colorantes artificiales por colorantes naturales
- Interés por el uso de harina de virreina en otros usos además del destinado al sector avícola
- Demanda creciente de consumo de pollo y huevos

7.1.2.3. Debilidades

- Si la producción es por semilla, existe poca disponibilidad de productores cercanos

- No son muy conocidos los beneficios de la luteína

7.1.2.4. Amenazas

- Preferencias de la sociedad
- Competidores en el NOA, ya que posee un clima apto
- Factores naturales adversos y aleatorios tales como clima, plagas, enfermedades.

7.2. Mercado oferente

Actualmente no hay datos públicos sobre la comercialización de harina de virreina. Sin embargo, se conoce que en Salta y Jujuy la producían hasta hace algunos años, como muestran en **ANEXO 1 y 2**.

De acuerdo al análisis FODA se sostiene que por un lado, producir “harina de virreina” tiene bajas barreras de salida, lo que permite utilizar las tierras para otros tipos de cultivo representando así, una buena oportunidad en el mercado. Por otro lado, se debe agregar también que, al tener bajas barreras de entrada, existe un mínimo riesgo implicado, principalmente por no requerir de grandes inversiones iniciales.

7.3. Mercado consumidor

Avanzando en nuestro razonamiento de explicar la producción de harina de virreina en función del uso avícola, se analiza como clientes de harina de virreina a los productores de alimento balanceado para pollos y gallinas.

Dado a que la demanda es, a grandes rasgos, la cantidad de mercancía que los consumidores piden y están dispuestos a comprar, se analiza entonces las cantidades necesarias para cubrir los requerimientos del sector.

7.3.1. Productores de huevos

Si analizamos la reserva de aves, se expone en la *Figura 48* la distribución de producción. Se puede evidenciar de forma clara que América del Sur se fue posicionando en el mercado y en 2010 alcanzó las cifras de América del Norte.

Este panorama, evidencia que tanto las tendencias de consumo como el posicionamiento de la producción apuntan al desarrollo de un futuro venidero para el sector avícola.

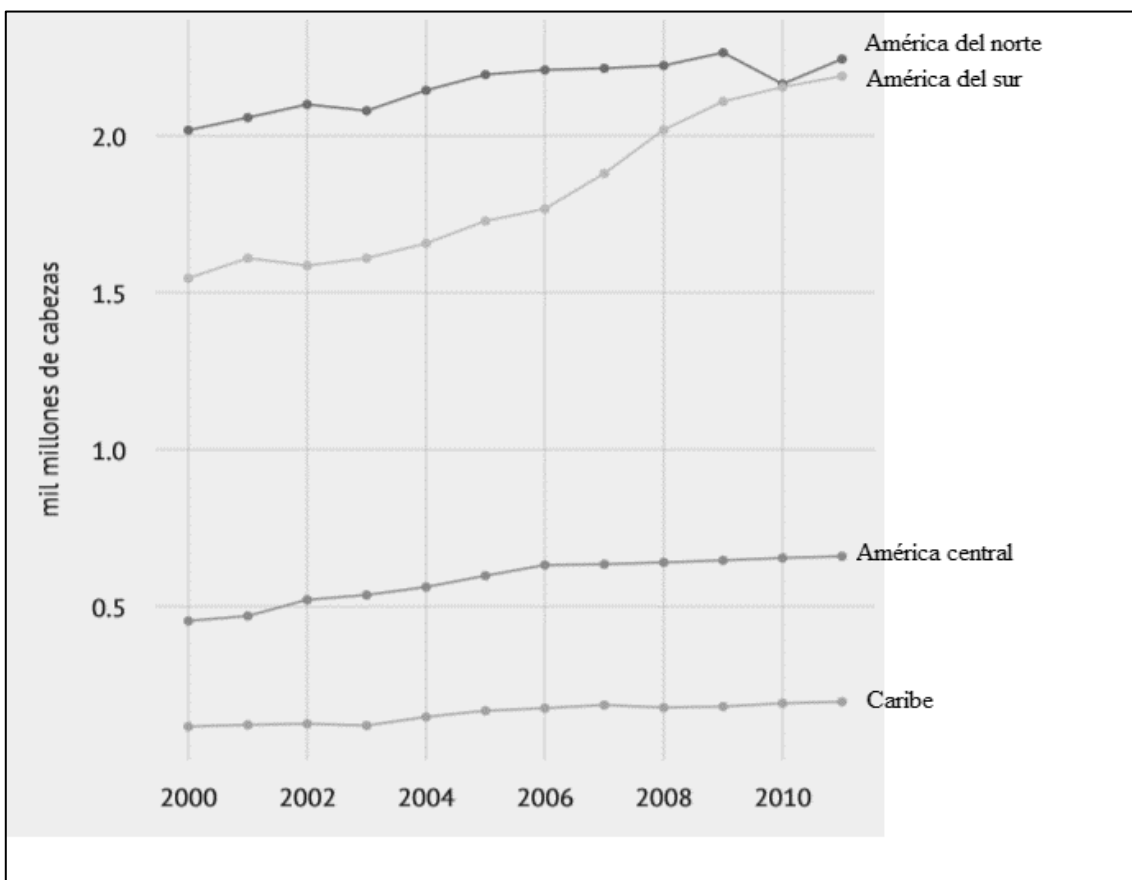


Figura 48. Reservas de aves 2000-2011
Fuente: (FAO., 2014)

Ahora bien, adicionalmente se puede utilizar la harina de virreina para la coloración de huevos de gallina. Por lo tanto, se presenta en *Tabla 22* los datos correspondientes a la producción en América.

Tabla 22. Producción de huevos en américa. Año 2011

Región	Mil toneladas de huevos
América latina	7252
América del norte	5852
América del sur	4359
América central	2892
Caribe	245
TOTAL	20600

Fuente: FAO, División de Estadística (FAOSTAT)

América concentró casi el 30% de la producción mundial de huevos. Entre 2000-2011, el crecimiento anual de la región en los sectores de los huevos y la leche era más o menos 3,5%. Se puede decir entonces, que el mercado está en continuo crecimiento.

La distribución de producción en América del Sur para el año 2011 se presenta en *Figura 49*.

En Argentina se consumen 284 huevos per cápita cada año, según la cámara de productores avícolas (CAPIA), en el año 2017. Este consumo mostró un aumento del 2% comparado con el mismo periodo de 2016. En términos económicos esto representa una facturación de 18 millones de pesos argentinos para el sector productor. Según Javier Prida, presidente de CapiA, este incremento en el consumo se debe a varios aspectos. “Es una combinación de factores: cada vez se conocen más los beneficios nutricionales del huevo y, además, resulta muy competitivo en precio versus otros alimentos proteicos”.

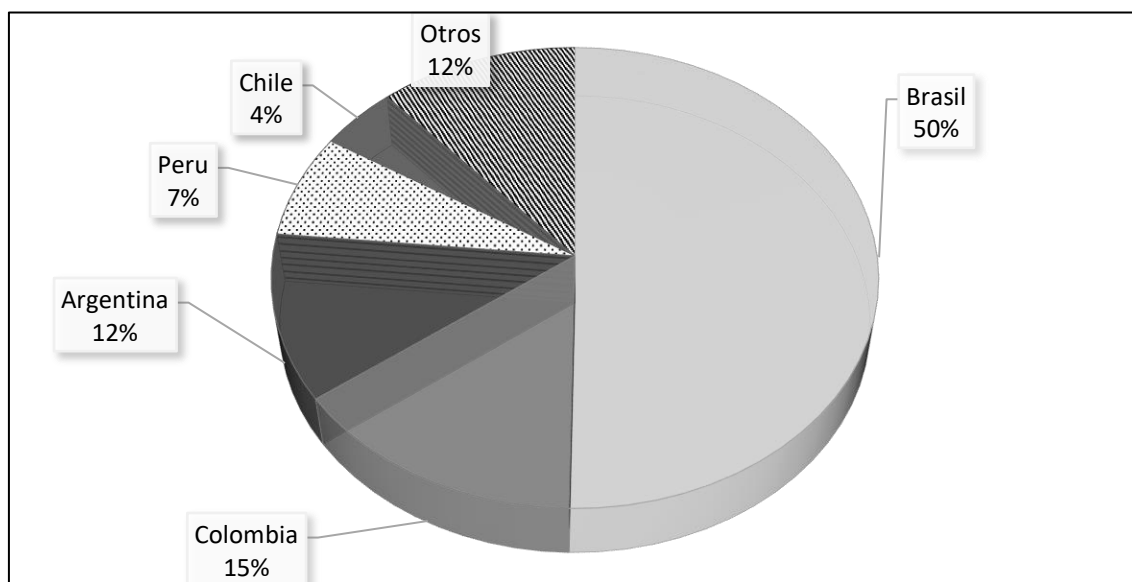


Figura 49. Producción de huevos en América del Sur
Fuente: Elaboración propia basado en (FAO., 2014)

Considerando ahora las exportaciones de huevo industrializado para el año 2017, se tienen conocimiento que la composición de envíos fue la siguiente:

- 53% huevo de uso industrial
- 20% Albúmina
- 27% Yema
- Sin registros para huevo en cáscara

Es un panorama alentador, si tenemos en cuenta que no existen registros de importaciones de huevo industrializado de acuerdo con los datos del SENASA. Esto

conduce a que el comportamiento de producción en Argentina se aboca a la calidad del huevo y satisface no solo el mercado interno, sino que también logra exportar.

7.3.2. Productores de pollos parrilleros

América, en los últimos años, fue la región productora avícola más grande a nivel mundial. Según datos obtenidos a partir del anuario estadístico de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación (FAO) para el año 2014 en América Latina, los inventarios de aves de corral han aumentado en un 5,3% al año y registran un incremento del 35,6% en la última década, lo que se traduce en que la región representa actualmente el 14% de las aves de corral del mundo. En la *Figura 50*, se puede observar que la carne de ave tiene un campo muy amplio que casi se asemeja a la producción de carne vacuna y de búfalo.

En cuanto a Argentina, cabe destacar que el año 1976 fue el punto de inflexión para la industria avícola que hasta entonces tenía un consumo per cápita de 7 kg por año.

En ese entonces, el producto se vendía vivo y se preparaba en el momento para el consumidor. A partir de ese año, la calidad del producto escaló y terminó con un pollo industrializado saliendo del frigorífico como producto integrado.

Actualmente, conforme al anuario Avícola del Ministerio de Agroindustria de la Nación, se puede destacar que la producción nacional se encuentra en una etapa récord de producción superando los 2 millones de toneladas en el año 2017, y triplicando la producción de los últimos quince años.

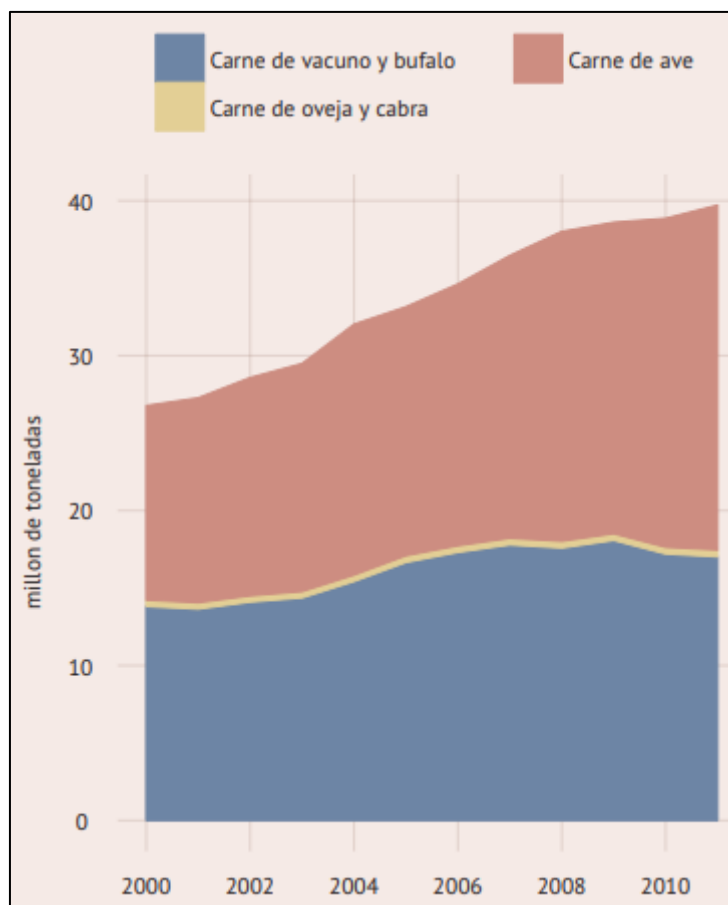


Figura 50. Producción de carne en América Latina (2000-2011)
Fuente: (FAO., 2014)

En la **Figura 51** se describe la distribución de la faena avícola que fue habilitada por el Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA) en 2017 en Argentina. Salta representa el 1% a nivel nacional, con un total de más de 6 millones y medio de aves. El SENASA interviene en varios eslabones de la cadena avícola, con el objetivo de garantizar la sanidad animal, la calidad y la inocuidad de los alimentos y de certificar estas cualidades en los productos destinados al comercio.

El trabajo de este organismo ha permitido a la Argentina lograr una gran ventaja competitiva en lo que respecta a la carne de aves, que favorece su posicionamiento tanto en el mercado externo como interno. Este estatus ubica a los productos y subproductos avícolas argentinos en una condición sanitaria favorable para la exportación y la apertura de nuevos mercados.

En cuanto a las tendencias de consumo aparente total de carne de pollo registrado durante el 2017, el mismo aumentó un 2% con respecto al mismo periodo del año anterior. Esto conlleva a un consumo per cápita de 44,08 kg por año. En relación con el consumo per cápita de carne bovina que fue de 58.3 kg por año, se puede destacar en pocas palabras que las cifras son muy aproximadas.

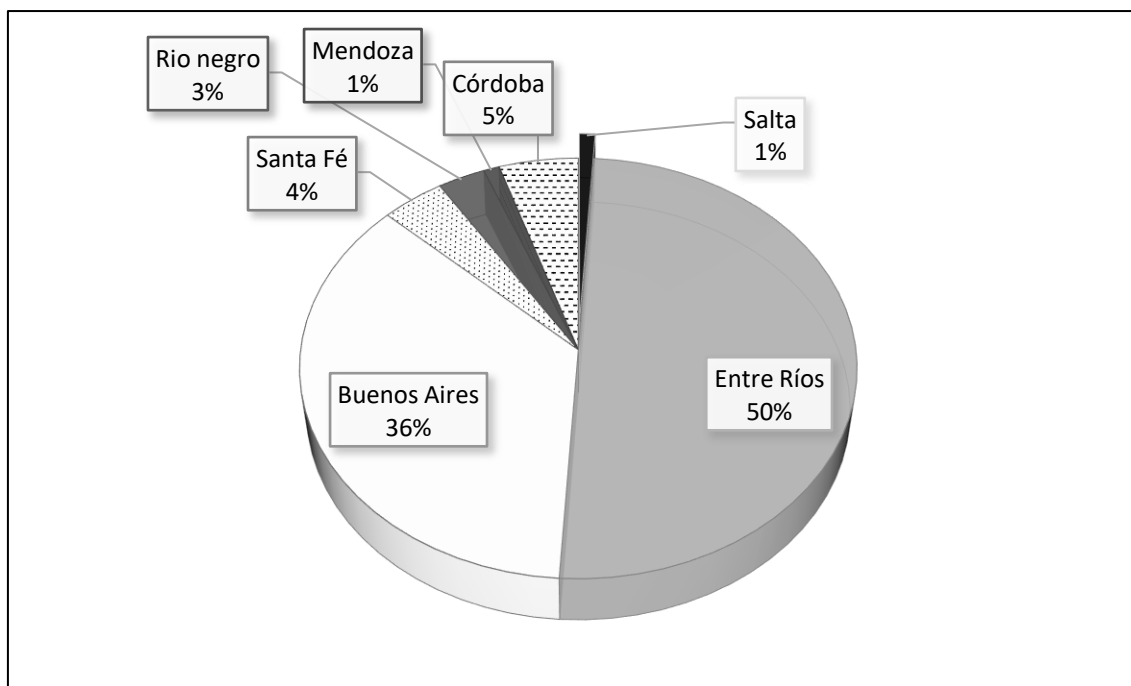


Figura 51. Distribución de la faena avícola por provincia en el año 2017
Fuente: Elaboración propia en base a ((SENASA), 2012-2017)

7.3.3. Demanda nacional de Harina de Virreina

7.3.3.1. Harina para la producción de huevos

Respecto a la producción de huevos de gallinas a nivel nacional se encuentran y exponen los datos que muestra la *Tabla 23*.

Teniendo en cuenta que una gallina ponedora da un promedio de 290 huevos, puedo calcular aproximadamente la cantidad de gallinas para la producción.

Se necesita saber entonces, cuánto alimento consumiría en promedio una gallina ponedora. Cuando se calcula la producción esperada de energía en términos de masa de huevo y aumento en el peso corporal y se relaciona este valor al consumo de alimento, se calcula que una gallina ponedora marrón consume cerca de 100 gramos de alimento diarios, en promedio (Gonzales, 2017).

Ahora bien, teniendo en cuenta la cantidad de xantófilas necesarias en la dieta de una gallina ponedora, la coloración adecuada para la yema de huevo se alcanza con un consumo de aproximadamente 27,5 mg de xantófilas por kg de alimento (Cuca, Pino, & Mendoza). De acuerdo a la muestra analizada en el contenido de xantófilas de *Tagetes erecta*, dio como resultado 7,53 g de xantófilas / kg de harina de virreina.

Tabla 23. Producción de huevos con destino a industrialización

Año	Miles
2012	861.728
2013	839.930
2014	1.071.720
2015	1.133.153
2016	1.092.267
2017	1.017.915

Fuente: Elaboración propia a partir de datos del SENASA

Se puede realizar entonces una relación directa desde la cantidad de gallinas ponedoras a la harina de virreina, tal como se muestra en la **Figura 52**.

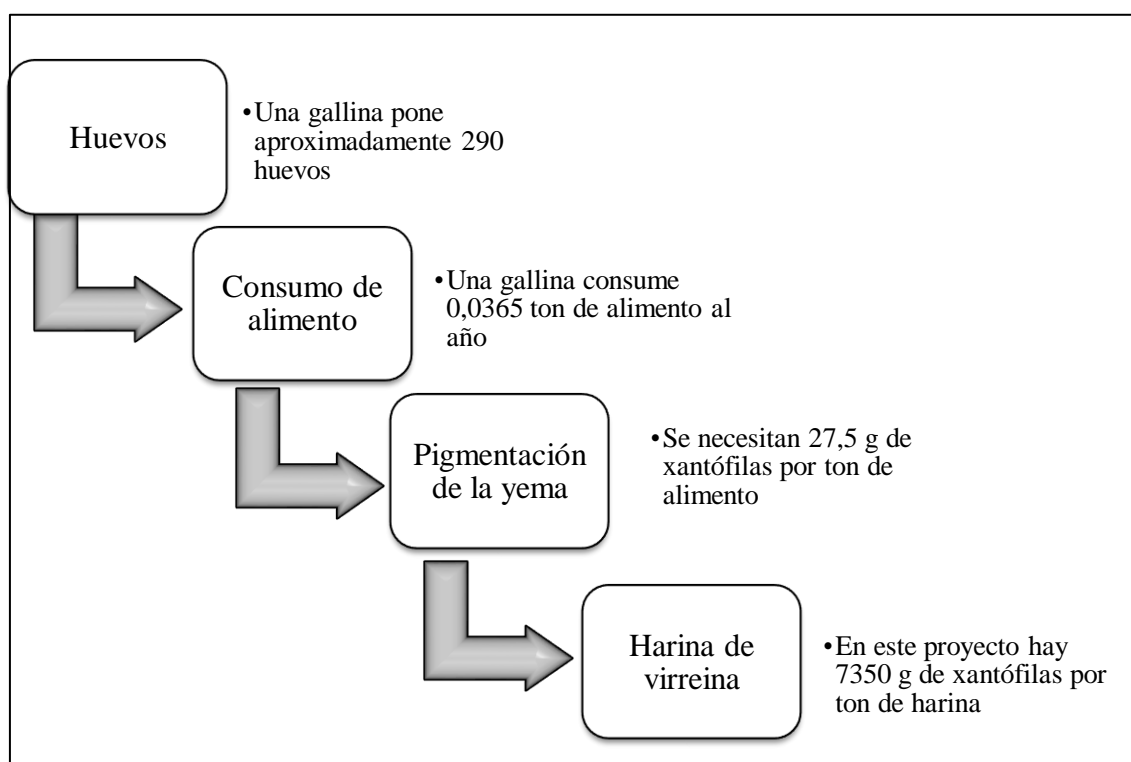


Figura 52. Índices para el cálculo de harina de virreina necesaria para la demanda referida a huevos en Argentina

Fuente: Elaboración propia

Se muestra en **Tabla 24**, la demanda anual de harina de virreina para la producción de huevos en Argentina, entre el periodo 2012-2017, de acuerdo a la relación antes detallada.

Tabla 24. Demanda anual de harina de virreina para la producción de huevos en Argentina

Año	Huevos por año	Cantidad de gallinas	Alimento necesario (ton)	Xantófilas necesarias (g)	Harina de virreina necesaria (ton)
2012	861.728.000	2.971.476	108.459	2.982.619	396
2013	839.930.000	2.896.310	105.715	2.907.172	386
2014	1.071.720.000	3.695.586	134.889	3.709.445	493
2015	1.133.153.000	3.907.424	142.621	3.922.077	521
2016	1.092.267.000	3.766.438	137.475	3.780.562	502
2017	1.017.915.000	3.510.052	128.117	3.523.214	468

Fuente: Elaboración propia

7.3.3.2. Harina para la producción de pollos

Ya que la demanda de harina de virreina se puede llegar a inferir en función de las cantidades producidas de pollos parrilleros y huevos, se expone en esta sección, los índices de conversión necesarios para el cálculo de demanda en Argentina.

Para la demanda correspondiente a la alimentación de pollos parrilleros o de engorde, se tendrá en cuenta en primera medida las toneladas de producción de oferta en **Tabla 25**. Con el dato de las toneladas de pollo producidas, podemos calcular la cantidad de alimento necesaria. Según la Cámara de Empresas Procesadoras Avícolas (CEPA), los productores calculan que una vez que llega a la venta, el pollo parrillero lleva consumidos (en su corta vida de entre 48-52 días) unos 2,10 kg de alimento por kg de animal.

Teniendo en cuenta la cantidad de xantófilas necesarias en la dieta del pollo parrillero, la pigmentación adecuada se alcanza con un consumo de aproximadamente 55 mg de xantófilas por kg de alimento para pollo (Cuca, Pino, Mendoza, & Brambila, 1963).

Como se puede observar en el **ANEXO 10**, se realizó una muestra propia de *Tagetes erecta* y se analizó el contenido de xantófilas en la UNSa. Este análisis arrojó un resultado de 7,53 g de xantófilas / kg muestra.

Tabla 25. Indicadores de oferta y demanda de carne aviar

Año	Oferta			Demanda			
	Faena (miles cab)	Producción (miles ton)	Importación (miles ton)	Exportación 1 ²⁷ (miles ton)	Exportación 2 ²⁸ (miles ton)	Consumo aparente ²⁹ (miles ton)	Consumo total (kg/cap/año)
2012	734.646	1.903	16	271	337	1.648	40,23
2013	732.463	1.921	13	304	366	1.630	39,55
2014	729.244	1.934	11	261	323	1.685	40,51
2015	729.929	1.696	10,1	182	242	1.803	42,95
2016	704.023	2.055	18	149	195	1.924	45,43

Fuente: Ministerio de producción y trabajo – Secretaría de Agroindustria

Se puede realizar entonces, una relación directa entre la producción en cuanto a cantidad de carne de pollo y la harina de virreina, tal como se muestra la **Figura 53**.

Dicho lo anterior, se plasma entonces en la **Tabla 26**, la demanda anual de harina de virreina para la producción de los pollos en Argentina, en el periodo de 2012-2016; de acuerdo a la relación antes explicada.

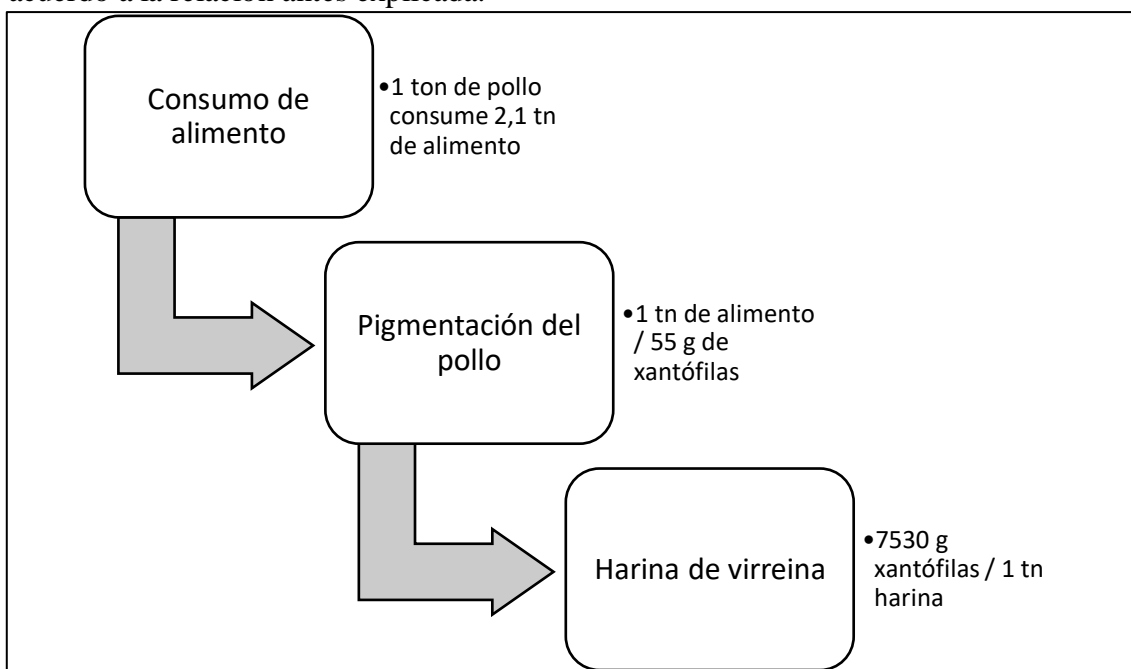


Figura 53. Índices para el cálculo de harina de virreina necesaria para la demanda referida a los pollos parrilleros en Argentina, de acuerdo al peso de la carne de pollo

Fuente: Elaboración propia

²⁷ Productos comestibles exportados que inciden en el cálculo del consumo sin tener en cuenta productos no comestibles ni garras.

²⁸ Totales de producción avícola (pollos y pavos entero trozado y subproductos)

²⁹ Consumo aparente=producción + importación - exportación

Tabla 26. Demanda anual de harina de virreina para producción de pollos en Argentina

Año	Producción de pollos (ton)	Alimento necesario (ton)	Xantófilas necesarias (g)	Harina de virreina necesaria (ton)
2012	1.903.000	3.996.300	219.796.500	29.189
2013	1.921.000	4.034.100	221.875.500	29.466
2014	1.934.000	4.061.400	223.377.000	29.665
2015	1.696.000	3.561.600	195.888.000	26.014
2016	2.055.000	4.315.500	237.352.500	31.521

Fuente: Elaboración propia

7.3.3.3. Demanda nacional total

Se presenta la *Tabla 27*, con el fin de mostrar los datos pertinentes necesarios para la demanda nacional de harina de virreina para productores de pollos y huevos.

Tabla 27. Demanda de harina de virreina en Argentina en función de la producción avícola (toneladas)

Años	Harina para pollos	Harina para huevos	Harina total uso avícola
2012	29.189	396	29.585
2013	29.466	386	29.852
2014	29.665	493	30.158
2015	26.014	521	26.535
2016	31.521	502	32.023
2017	Sin datos	468	Sin datos

Fuente: Elaboración propia

Durante el periodo 2012-2017, se puede observar un crecimiento del mercado nacional y una visible diferencia entre las toneladas necesarias para pollos parrilleros en comparación con las de huevos, teniendo mayor necesidad de producción la primera.

7.3.4. Demanda provincial de Harina de virreina

7.3.4.1. Harina para la producción de huevos

No se encuentran datos públicos provinciales de la producción de huevos, con lo que este análisis solo se realiza a nivel nacional.

7.3.4.2. Harina para la producción de pollos

Se estudia la producción de pollos en Salta, de acuerdo a los datos disponibles de faena de aves según el SENASA, entre el periodo 2012-2017 (*Tabla 28*) y se realiza el cálculo de virreina para la alimentación de los mismos.

Acorde con lo expresado, es importante señalar que la faena de aves ha crecido casi hasta alcanzar el triple de sus cifras originales en 2012.

Del mismo modo al cálculo para la demanda nacional, se convierten las unidades necesarias para facilidad del cálculo de la demanda provincial de harina de virreina.

Tabla 28. Faena de aves en Salta

Año	Cabezas
2012	2.350.047
2013	5.087.222
2014	5.561.789
2015	5.839.432
2016	6.125.376
2017	6.750.468

Fuente: Elaboración propia a partir de datos de ((SENASA), 2012-2017)

Se puede relacionar el dato de las cabezas de pollo faeneadas con su consumo de alimento, teniendo en cuenta de que en promedio un pollo parrillero consume en su vida 5 kg de alimento (Edilson, 2014). Este consumo se divide entre el alimento iniciador (1 kg/ ave), el de crecimiento (2 kg/ave) y el terminador (2 kg /ave) según la etapa de vida del animal. Teniendo en cuenta la cantidad de xantófilas necesarias en la dieta del pollo parrillero, la pigmentación adecuada se alcanza con un consumo de aproximadamente 55 mg de xantófilas por kg de alimento para pollo (Cuca, Pino, & Mendoza).

De acuerdo a la muestra analizada en el contenido de xantófilas de *Tagetes erecta*, se obtuvo como resultado 7,53 g de xantófilas / kg de harina de virreina.

Se puede realizar entonces una relación directa desde la cantidad de cabezas pollos a la harina de virreina, tal como se muestra en la **Figura 54**.

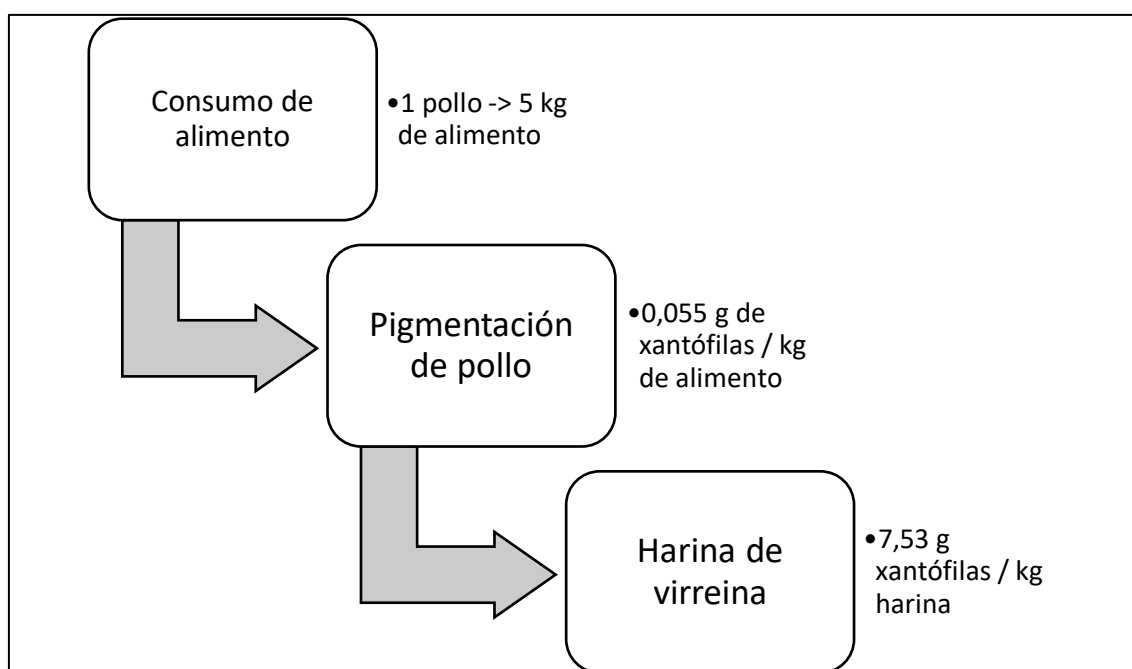


Figura 54. Índices para el cálculo de harina de virreina necesaria para la demanda referida a los pollos parrilleros en Salta, de acuerdo a la cantidad de cabezas de pollos
Fuente: Elaboración propia

Se plasma entonces, en la **Tabla 29**, la demanda anual de harina de virreina para la producción de los pollos en Salta, en los años 2012-2017; de acuerdo con la relación antes explicada.

Tabla 29. Demanda anual de harina de virreina para producción de pollos en Salta

Año	Cabezas	Alimento necesario (kg)	Xantófilas necesarias (g)	Harina de virreina necesaria (kg)
2012	2.350.047	11.750.235	646.263	85.825
2013	5.087.222	25.436.110	1.398.986	185.788
2014	5.561.789	27.808.945	1.529.492	203.120
2015	5.839.432	29.197.160	1.605.844	213.259
2016	6.125.376	30.626.880	1.684.478	223.702
2017	6.750.468	33.752.340	1.856.379	246.531

Fuente: Elaboración propia

7.3.4.2.1. Proyección de la demanda

Teniendo en cuenta el total de cabezas faenadas en Salta con el respectivo cálculo de kilogramos de harina de flores de virreinas necesarias, se procede a estimar la tasa de crecimiento anual en un plazo de cinco años.

En principio, se recuerda en la **Tabla 30** los datos de demanda relacionado además con la **Figura 55**. Es importante destacar que para calcular la tasa de crecimiento anual no se tendrá en cuenta la demanda de 2012. Esto se debe a que, como podemos observar en el siguiente gráfico, en ese año existió un punto de inflexión en el año 2012 que permitió un aumento que supera el doble de las cifras para 2013. Este crecimiento precipitado puede deberse, a grandes rasgos, a la adquisición de nuevas tecnologías

Tabla 30. Datos para proyectar la demanda de harina de virreina en Salta.

Año	Cabezas	Harina de virreina (kg)
2012	2.350.047	85.825
2013	5.087.222	185.788
2014	5.561.789	203.120
2015	5.839.432	213.259
2016	6.125.376	223.702
2017	6.750.468	246.531

Fuente: Elaboración propia

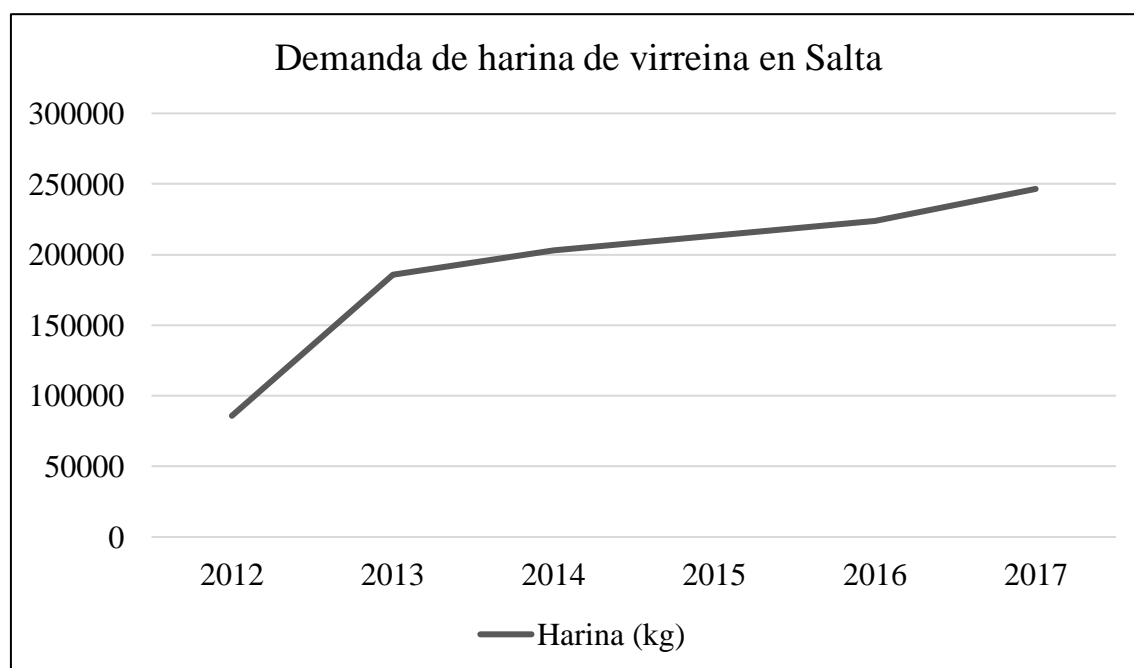


Figura 55. Demanda de harina de virreina para la producción de pollos en Salta, periodo 2012-2017

Fuente: Elaboración propia

La tasa de crecimiento anual se calcula con la siguiente fórmula:

$$\text{Tasa de crecimiento anual} = 100 * \left(\left(\frac{\text{valor final}}{\text{Valor inicial}} \right)^{\frac{1}{n}} - 1 \right)$$

Donde “n” se refiere a la cantidad de años.

En nuestro proyecto, la calculamos de la siguiente manera:

$$Tasa\ de\ crecimiento\ anual = 100 * \left(\left(\frac{6.750.468}{5.087.222} \right)^{\frac{1}{4}} - 1 \right)$$

Lo que nos da un valor de 7,32%. A partir de allí, pronosticamos la demanda de harina para los siguientes 5 años en **Tabla 31**. El gráfico correspondiente se encuentra en **Figura 56**.

Tabla 31. Estimación de la demanda de harina de virreina en Salta

Año	Harina de virreina(kg)
2018	264.577
2019	283.944
2020	304.729
2021	327.035
2022	350.974

Fuente: Elaboración propia

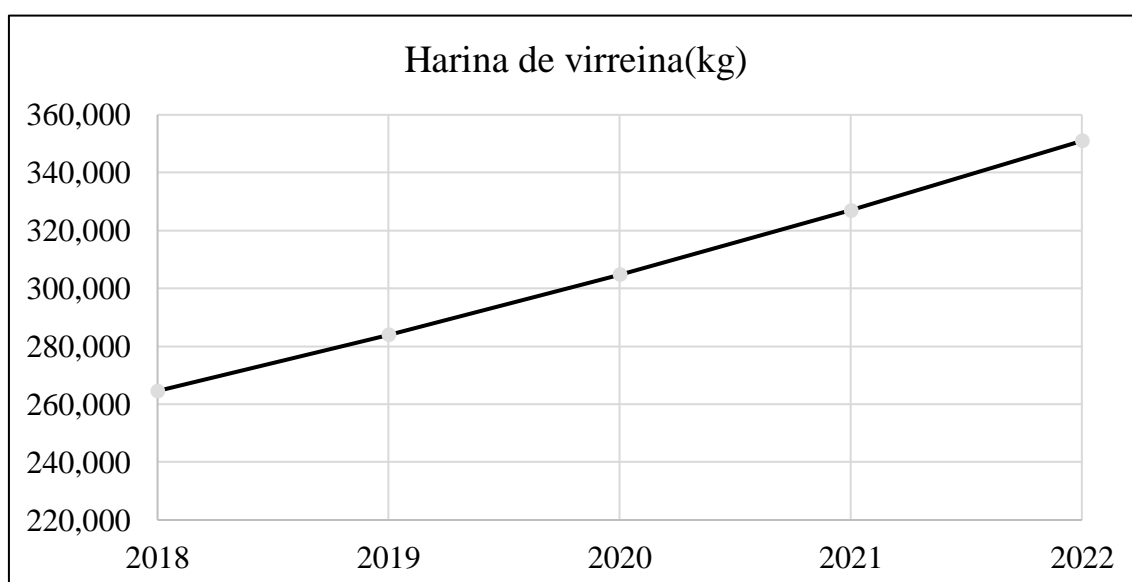


Figura 56. Proyección de la demanda de harina de virreina para la producción de pollos en Salta, en el período 2018-2022

Fuente: Elaboración propia

Pese a que según las proyecciones el crecimiento será sostenido, se debe tener en cuenta también que el consumo interno de carne de pollos en Argentina se encuentra próximo a alcanzar un techo. Esto afecta básicamente las posibilidades de expansión de producción. De todos modos, según las estimaciones del departamento de Agricultura de Estados Unidos; la carne aviar seguirá dominando la canasta de consumo de carne a nivel

global por ser considerada una fuente accesible de proteína animal, más económica respecto al resto de las carnes y de mayor aceptación en términos religiosos.

7.3.4.2.1.1. Cálculo de hectáreas necesarias

Resulta de interés obtener un número aproximado de la cantidad de hectáreas necesarias para producir la harina de virreina que podría abastecer la alimentación de pollos destinados a faena en la provincia de Salta.

Para ello, de acuerdo a lo expresado en el capítulo 6, se conmemoran los siguientes datos expuestos:

- En cuanto a *Tagetes erecta doble*, la flor molida pierde aproximadamente el 85% de su peso al secarse. Es decir, 55 g de estas flores terminan pesando 8 g al final del secado.
- El rendimiento del cultivo es entre 11-30 toneladas de flores por hectárea. Es decir, una media de 20,5 tn / ha.

Se ilustran los resultados en *Tabla 32*.

Tabla 32. Hectáreas necesarias para el cultivo de *Tagetes spp*, de acuerdo a la proyección de la demanda en Salta

Año	Harina de virreina (kg)	Flores (kg)	Hectáreas necesarias
2017	246.531	1.694.900	83
2018	264.577	1.818.966	89
2019	283.944	1.952.115	96
2020	304.729	2.095.011	103
2021	327.035	2.248.365	110
2022	350.974	2.412.946	118

Fuente: *Elaboración propia*

Queda disponible a futuras líneas de investigación los costos de producción para obtener, mantener y administrar estos cultivos.

8. PRESUPUESTO DE LA INVESTIGACIÓN

Se realiza un análisis sobre el procedimiento establecido para el cálculo del presupuesto del proyecto de investigación “Extracción de luteína a partir de flores de virreina (*Tagetes spp*)”.

Se describen los gastos que integran el orden de: mano de obra, recursos, materiales, equipamiento, gastos para viajes, otros gastos directos y gastos indirectos; todos ellos constituyendo el valor total de la investigación. Posteriormente se realizan los desgloses requeridos de acuerdo con las etapas fundamentales de la ejecución y con el tiempo que comprende esta investigación.

A continuación, se realiza un desglose de gastos directos e indirectos incluidos en esta investigación.

8.1. Gastos directos

Conforman aquellos completamente relacionados con la ejecución del proyecto. En la *Tabla 33* se muestran los elementos relacionados con la fuerza de trabajo participante.

Tabla 33. Mano de obra

Categoría	Importe
Mano de obra para construcción del cantero	\$ 900
Total	\$ 900

En este proyecto se realizó el cuidado de cultivo por parte de las participantes y sin honorarios.

Además, cabe destacar que el servicio terciarizado de extracción con equipo Soxhlet y análisis de la muestra se realizó gracias a la colaboración del Ing. Bonini – Universidad Nacional de Salta.

El material a utilizar es un gasto directo de la investigación, y su importe resulta de multiplicar los precios por unidad de producto por la cantidad necesaria para el cumplimiento de las tareas previstas de la investigación. Se muestra en *Tabla 34* los gastos directos de esta investigación.

Tabla 34. Material gastable

Material	Unidad de medida	Costo unitario	Cantidad	Costo total
Para la investigación				
Hojas de papel a4	Resma	\$ 150,00	1	\$ 150
Tinta para impresora	Cartucho	\$ 800,00	1	\$ 800
Pendrives	un.	\$ 250,00	1	\$ 250
Bolígrafos	un.	\$ 20,00	3	\$ 60
Fotocopias	un.	\$ 0,50	200	\$ 100
Contenedores herméticos de vidrio ámbar	un.	\$ 350,00	3	\$ 1.050
Servilletas descartables	Paquete x 3	\$ 30,00	3	\$ 90
Bandejas descartables de aluminio	un.	\$ 15,00	5	\$ 75
Esponja	un.	\$ 30,00	1	\$ 30
Detergente	900 ml	\$ 150,00	1	\$ 150
Paños de felpa		\$ 58,00	1	\$ 58
Guantes de látex	Paquete x 100	\$ 150,00	1	\$ 150
Para el cultivo				
Tierra	Bolsa	\$ 90,00	7	\$ 630
Abono	Bolsa	\$ 40,00	1	\$ 40
Plantines	Unidad	\$ 18,00	100	\$ 1.800
Macetas	Unidad	\$ 60,00	10	\$ 600
Tijeras de jardinería	Unidad	\$ 300,00	1	\$ 300
Bloques para cantero	Unidad	\$ 22,00	18	\$ 396
Ladrillos para cantero	Unidad	\$ 7,00	25	\$ 175
Pala de jardinería	Unidad	\$ 150,00	1	\$ 150
Cemento	Bolsa 30 kg	\$ 250,00	1	\$ 250
Bandejas para secado al aire libre	Unidad de acero inoxidable	\$ 240,00	3	\$ 720
TOTAL				\$ 8.024

Además, se tienen en cuenta otros gastos tales como el equipamiento. La *Tabla 35* refleja el procedimiento para el cálculo de los gastos por concepto de equipamiento requeridos por el proyecto. Se obtiene multiplicando el precio del equipo en cuestión por la cantidad necesaria para cumplimentar con los objetivos propuestos en el proyecto.

Tabla 35. Equipamiento

Equipo	Unidad de medida	Precio unitario	Cantidad	Precio total
Termómetro de mercurio	Unidad	\$ 380	2	\$ 760
TOTAL				\$ 760

Es necesario aclarar que el siguiente equipamiento:

- Heladera
- Procesadora
- Balanza de precisión
- Estufa de cultivo para laboratorio
- Tamices de acero inoxidable
- Mesada de acero inoxidable
- Sillas
- Escritorio

Fue puesto a disposición del proyecto por parte de la Universidad Católica de Salta sin costo alguno. Además, se efectuó la compra de una notebook y una impresora (\$19.000 en total) para facilidad del proceso de investigación, costos que no se tendrán en cuenta en el análisis a fines de poder determinar más específicamente el costo por gramo de harina producido. Realizada esta salvedad, se continúa con el análisis de otros gastos.

Frecuentemente la ejecución de las investigaciones tiene implicado costos de transporte y visitas de lapsos de tiempo largo durante el día, con el consiguiente costo correspondiente a la alimentación. Se contabilizan en **Tabla 36** los costos teniendo en cuenta 2 integrantes, participantes de esta investigación.

Tabla 36. Transporte y alimentación para dos personas

Concepto	Meses	Veces/mes	Costo Unitario	Costo total
Transporte	16	4	\$ 60	\$ 3.840
Alimentación	16	1	\$ 100	\$ 1.600
TOTAL				\$ 5.440

Una vez conocido todos los gastos anteriores, resulta conveniente establecer un subtotal de gastos directos calculados. La **Tabla 37** muestra la totalidad del presupuesto de los gastos directos

Tabla 37. Total de gastos directos

Concepto	Subtotal
Mano de obra	\$ 900
Material gastable	\$ 8.024
Equipamiento	\$ 760
Transporte y alimentación	\$ 5.440
	\$ 15.124

8.2. Gastos indirectos

Se computan aquellos costos complementarios de las tareas de apoyo y servicios. En este caso, los gastos indirectos están detallados en la siguiente tabla.

Tabla 38. Gastos indirectos

Concepto	Meses	Costo/mes	Costo total
Comunicaciones	16	\$ 100	\$ 1.600
Wifi	16	\$ 700	\$ 11.200
Agua de riego	9	\$ 300	\$ 2.700
Total			\$ 15.500

Una vez ya descriptos los gastos directos e indirectos, se puede proceder a mostrar un total del presupuesto calculado, lo que se muestra en **Tabla 39**.

Tabla 39. Presupuesto del proyecto

Concepto	Importe
Gastos directos	\$ 15.124
Gastos indirectos	\$ 15.500
TOTAL	\$ 30.624

8.3. Desglose

Una vez calculado el presupuesto del proyecto, se efectúan dos desgloses, de acuerdo con las etapas fundamentales que comprende y de acuerdo al tiempo en que se desarrolla el mismo. En esta investigación el proyecto tiene una duración total de 18 meses, entre junio de 2017 y Noviembre de 2018, ambos inclusive. Resulta conveniente aclarar en dichos desgloses que, al fijar los gastos planificados de recursos materiales y equipamiento, éstos son incluidos en la primera fase, por resultar conveniente que estén garantizados al inicio de la investigación (**Tabla 40**).

Tabla 40. Desglose del presupuesto por etapas

Concepto	Etapa 1	Etapa 2	Etapa 3
	Jun 2017 – Dic 2017	Ene 2018 - May 2018	Abr 2018 - Nov 2018
Mano de obra	\$ 900	-	-
Material gastable	\$ 2.963	\$ 5.061	-
Equipamiento	\$ 760	-	-
Transporte y alimentación	\$ 1.813	\$ 1.814	\$ 1.813
Gastos indirectos	\$ 5.166	\$ 5.167	\$ 5.167
Subtotal por etapa	\$ 11.602	\$ 12.042	\$ 6.980
TOTAL DEL PRESUPUESTO	\$		30.624

8.4. Conclusiones

En los apartados anteriores se describe el costo total de la inversión para la investigación, que nos da un valor de \$30.624³⁰ pesos argentinos.

A propósito de los costos de la obtención de luteína en sí, como se describió en capítulo 6, en este proyecto se obtuvieron en total 312 gramos de harina de *Tagetes spp.* Por lo tanto, a los fines de esta investigación el costo por gramo de harina de virreina fue de \$98.

No se analiza el costo por extracción dado a que el servicio terciarizado utilizado en la tesis sólo realiza extracciones y análisis con fines de investigación pero no a niveles industriales.

³⁰ Valor referido al mes de Octubre del año 2018.

9. CONCLUSIONES Y FUTURAS LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN

Sobre la base del estudio realizado, se proponen las siguientes líneas de investigación.

En lo referente a los procesos previos a la extracción, es de especial interés y fácil alcance una separación de los pétalos de las flores previo a la molienda.

En cuanto a extracciones se refiere, sería un buen proyecto realizar una extracción con máquina de fluidos supercríticos, analizando la muestra y comparando con los resultados obtenidos en este proyecto. Al analizar las alternativas, se puede comparar en términos de rendimiento, costos y calidad de la muestra.

Además, se puede, por un lado mejorar los parámetros de extracción mediante maceración en caliente realizando una separación previa de las semillas que flotan al principio del macerado. Por otro lado, se puede mejorar los parámetros de extracción con fluidos supercríticos mediante la utilización de cosolventes o ultrasonido.

En virtud de lo expuesto, el análisis cromatográfico de oleorresina podría complementarse con un análisis químico HPLC para una descripción más detallada de los componentes contenidos.

Cabe considerar también, que se puede extender a la rama farmacéutica, dando a conocer los métodos para la elaboración de un suplemento dietario aceptable medicinalmente para el consumo humano y a la rama química para denotar los requisitos necesarios para el uso como colorante alimenticio también de consumo humano.

Llegados a este punto, se podría extender la rama industrial mediante la formulación de un proyecto de inversión que incluya un análisis técnico y organizacional para llevar a cabo una empresa con la finalidad de producción de cualquiera de los usos expuestos en este proyecto.

BIBLIOGRAFÍA

- (SENASA), S. N. (2012-2017). *Boletín avícola*. Argentina: Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca.
- Abreu Gonzalez, R., & Solé Gonzalez, L. (2014). *Suplementos nutricionales con ácidos grasos omega 3 para la prevención de DMRE. Analisis cuantitativo y cualitativo*. Islas Canarias: Sociedad Canaria de Oftalmología.
- Ácido hialurónico.org. (14 de Septiembre de 2017). Obtenido de <https://www.acidohialuronico.org/zeaxantina/>
- Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología médica. (s.f.). *B.O. 29/06/05 - Suplementos dietarios*. Disposición 3634/2005.
- Agrícola, D. d.-S. (2007). National Nutrient Database for Standard Reference. *Laboratorio de datos de nutrientes de USDA*. Nutrient Data Laboratory.
- Alam, A., & Couch, J. (1968). Fatty acid composition of xanthophylls esters of *Tagetes erecta* petals. *Lipids* 3, 189.
- ANMAT, A. (2017). Suplementos Dietarios. Disposición 1637/2001.
- Anonymous. (1976). Raw materials. *The Wealth of India*, 109-112.
- Anthony, J., & Shankaranarayana, M. (2001). Lutein. *The World of Food Ingredients*. 64-70.
- Arunumar, R., Prashanth, K. H., & Baskaran, V. (2013). Promising interaction between nanoencapsulated lutein with low molecular weight chitosan: characterization and bioavailability of lutein in vitro and in vivo . *Food chemistry*.
- Autino, J. C., Romanelli, G., & Ruiz, D. M. (2013). *Introducción a la química orgánica*. La plata: Editorial de la Universidad de La Plata.
- Badui, D. S. (1993). *Química de los alimentos*. México: Addison Wesley Longman.
- Balachandran, S., Kentish, S. E., Mawson, R., & Ashokkumar, M. (2006). Ultrasonic enhancement of the supercritical extraction from ginger. *Ultrason. Sonochem.* 13, 471-479.
- Bart, H., & Pilz, S. (2011). *Industrial scale natural products extraction*. Germany, Wheinheim: Wiley - VCH.
- Biblioteca Nacional de Medicina de los EE.UU.* . (15 de Junio de 2018). Obtenido de U.S. National Library of Medicine: <https://www.nlm.nih.gov/>

- Boonnoun, P., Opaskonkun, T., Prasitchoke, P., Goto, M., & Shotipruk, A. (2012). Purification of free lutein from marigold flowers by liquid chromatography. *Engineering Journal* 16(5).
- Bowen, P. E., Hussain, E., Stavewics - Sapuntzakis, M., Damayanti, B., & Burns, J. (1997). *Evaluation of the bioavailability of lutein and lutein diesters in humans*. Faseb J.
- Breithaupt, D., & Schlatter, J. (2005). Lutein and Zeaxanthin in new dietary supplements. En *Analysis and quantification Euro Food Res Technol* (págs. 220, 648-652).
- Brunner, G. (1994). *Gas extraction: an introduction to fundamentals of supercritical fluids and the application to separation processes*. New York: Darmstadt.
- Bunce, G. (1994). Nutrition and eye disease of the elderly. *Journal of Nutrition and Biochemistry*, 5, 66-77.
- Calvo. (2005). Marigold Lutein: A valuable ingredient of fruit and vegetables. *Critical Reviews in food science nutrition*, 671-696.
- Cantril, R. (2004). Lutein from *Tagetes erecta*. *Chemical and Technical Assessment (CTA)*, 63rdJEFCA.
- CDC. *National Health and Nutrition Examination Survey*. (20 de Abril de 2001-2002). Obtenido de Centros para el Control de las Enfermedades. Datos de la Encuesta Nacional sobre salud y nutrición: <http://www.cdc.gov/nchs/about/major/nhanes/nhanes01-02.htm>
- Chi, M. B., Flores, P. P., & Rivera, M. R. (2002). Cempasúchil fuente importante de carotenoides. *Ciencia y desarrollo* 165, 20-25.
- Chintakovid, W.; Visoottiviseth, P.; Khokiattiwong, S.; Lauengsuchonkul, S.; (2008). Potential of the hybrid marigolds for arsenic phytoremediation and income generation of remediators in Ron Phibun District, Thailand. *Chemosphere* 70, 1532-1537.
- Chopra, M., & Thurnham, D. (1993). Antioxidant activity of Lutein. *Chemical and Biological Aspects*, 125-129.
- Chu, Park, & Kim. (2007). Chemical Disruption of Yeast Cells for the Isolation of Carotenoid Pigments. *Separation and Purification Technology*, 148-152.

- Clínica oftalmológica de Alta Tecnología*. (16 de Octubre de 2017). Obtenido de Mácula ocular: ¿qué es y qué función desempeña?: <https://www.rahhal.com/blog/macula-ocular-que-es-y-que-funcion-desempena/>
- Codigo Alimentario Argentino. (s.f.). Ley 18.284/69. Res. Con. 12 y 222/03 - Art 1381.
- Craft, N. E., & Soares, J. H. (1992). Relative solubility, stability and absorptivity of lutein and b-carotene in organic solvents. . *J Agric Food Chem* 40, 431-434.
- Cruz, & Serrato. (2006). *Manual gráfico para la descripción varietal de Cempasúchil*. México: Servicio Nacional de inspección y certificación de semillas - Universidad Autónoma Chapingo.
- Cuca, M., Pino, J. A., Mendoza, C., & Brambila, S. (1963). Studies with a natural source of xanthophylls for the pigmentation of egg yolks and skin of poultry. . *Poultry Sci.* 42, 249-300.
- Delta, B., & Rodriguez - Amaya. (2001). *A guide to carotenoid analysis in foods*. Campinas, Brasil: Faculdade de Engenharia de Alimentos - Universidade estadual de Campinas.
- Dherani, M. M. (2008). Blood levels of vitamin C, carotenoids and retinol are inversely associated with cataract in a North Indian population. *Invest Ophthalmol. Vis. Sci.*
- Diario la Nación*. (17 de Agosto de 2002). Obtenido de Cien mil pesos para la virreina en salta: www.lanacion.com.ar/222420-cien-mil-pesos-para-la-virreina-en-salta
- Dreher, F., & Maibach, H. (2001). Protective effects of topical antioxidants in humans. *Curr Probl Dermatol*, 157-164.
- Edilson, B. (2014). *Guía Práctica para el productor de pollos parrilleros. "Proyecto apoyo a la integración económica del sector rural paraguayo"*. San Lorenzo - Paraguay: Ministerio de cultura y ganadería.
- Emerit, I. (1992). Free radicals and aging of the skin. 328.
- Extractor Soxhlet*. (23 de Octubre de 2018). Obtenido de Wikipedia: https://es.wikipedia.org/wiki/Extractor_Soxhlet
- F.A.O. (s.f.). *Lutein from Tagetes erecta*. Obtenido de Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura: http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/jecfa_additives/docs/monograph3/additive-255.pdf

- FAO. (Octubre de 2014). *Statistical yearbook of the food and agricultural organization for the united nations*. División Estadística.: Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación. Obtenido de La Alimentación y La Agricultura en América Latina y el Caribe.: <http://www.fao.org/3/a-i3592s.pdf>
- Fernández, S. R. (Junio de 2014). Pigmentación en pollo de engorde. Bogotá, Colombia: Seminario internacional de Manejo y sistemas operativos en pollo de engorde.
- Fletcher, D., & Halloran, H. (1981). An evaluation of a commercially available marigold concentrate and paprika oleoresin on egg yolk pimentation poultry. *Science*, 1846-1853.
- Fletcher, Papa, & Tirado. (1986). *The effect of saponification on the broiler coloring capability of marigold extracts*. Poultry Sci.
- Ganguly, J., Mehl, J. W., & Deuel, H. J. (1953). Studies on carotenoid metabolism. The effect of dietary carotenoids on the carotenoid distribution in the tissues of chickens. *J nutrition* 50, 59-72.
- Gau, W., Plosche, H., & Wunsche , C. (1983). Mass spectrometric identification of xanthophyll fatty acid esters from Marigold flowers obtained by high performance liquid chromatography and counter current distribution. *J. Chromatogr*, 262:277-284.
- Gilaberte, Y., Coscojuela, C., Santamaria, C. M., & Gonzalez, S. (2000). Fotoprotección. *Department of Dermatology, Massachusetts*, 277.
- Gonzales, K. (14 de Septiembre de 2017). Alimentación de la gallina ponedora.
- Gonzalez, S., Chen, J., Wu, A., Pathak, M., Ruiz Diaz, F., Mihm, C., & Goukassian, D. (s.f.).
- Granado, F., Olmedilla, B., Gil-Martinez, E., & Blanco , I. (s.f.). Lutein ester in serum after lutein supplementation in human subjects.
- Grand View Research Inc. (2016). *Análisis del mercado de carotenoides por fuente (natural, sintético), por producto (betacaroteno, luteína, licopeno, astaxantina, zeaxantina, cantaxantina), por aplicación (alimentos, suplementos, piensos, productos farmacéuticos, cosméticos) y pronóstico*. Grand View Research Inc.
- Gregory, G., Chen, T., & Philip, T. (1986). *Quantitative analysis of lutein esters in marigold flowers (Tagetes erecta) by high performance liquid chromatography*. J. Food Sci.

- Guenther, E., Carlson, Olson, D., Kohler, G., & Livingston, A. (1973). Pigmentation of egg yolk by xanthophylls from corn marigold. *Alfalfa and Synthetic Sources*, 1787-1793.
- Hamburger, M., Adler, S., Baumann, D., Forg, A., & Weinreich, B. (2003). Fitoterapia. *Preparative purification of the major anti-inflammatory triterpenoid esters from marigold*, 228-238.
- Hochstetler, B., Scott, I., & Kunselman, A. (2010). *Adherence to recommendations of the age-related eye disease study in patients with age-related*.
- Humphries, J., & Khachik, F. (2003). Distribution of lutein, zeaxanthin, and related geometrical isomers in fruit vegetables, wheat, and pasta products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1322-1327.
- J., V. (1998). Focus on xanthophylls from *Tagetes erecta* L the giant. *Indian Spices*, 8-13.
- Jacobs, J. J., Arroo, R. R., De koning, E. A., Klunder, A. J., Croes, A. F., & Wullems, G. (1995). Isolation and characterization of mutants of thiophene synthesis in *Tagetes Erecta*. *Plant Physiol* 107, 807-814.
- Kadeem, E. J. (2011). Identification and quantitative estimation of lutein in iraqi spinacia oleracea family chenopodiaceae by using chromatographic methods. *Baghdad Science Journal* 8 (1), 96-102.
- Karrer, P., & Jucker, E. (1951). Carotenoids. *Science* (113), 451.
- Khachik, F. (1995). *Estados Unidos Patente n° 53, 82, 714*.
- Khachik, F., & Beltsville, M. (s.f.). *Europa Patente n° EP 0 672 655 A1*.
- Khachik, F., & Chang, A. (2009). Total synthesis of lutein and its stereoisomers. *Journal of Organic Chemistry*, 3875-3885.
- Khachik, F., Lusby, W. R., & Beecher, G. R. (1989). Separation, identification and quantification of the major Carotenoids in extracts of apricots, peaches, cantaloupe, and pink grapefruit by liquid chromatography. *Agric. Food Chem.*, 37, 1465-1473, 1989.
- Khachik, F., Steck, A., & Pfander, H. (1999). Isolation and structural elucidation of lutein from marigold flowers, kale, and human plasma. *Agric Food Chem.*, 455-481.

- Khachik, Lusby, & Beecher. (1989). Separation, identification and quantification of the major carotenoids in extracts of apricots, peaches, cantaloupe and pink grapefruit by liquid chromatography. *Agric. Food Chem.*, 37, 1465-1473, 1989.
- Kimura, M., Rodriguez- Amaya, D. B., & Godoy, H. T. (1990). Assessment of the saponification step in the quantitative determination of carotenoids and provitamins A. *Food Chem* 35, 187-195.
- King, T., Kachik, F., Bortkiewicz, H., Fukushima, L., Morioka, S., & Bertram, J. (1997). Metabolites of dietary Carotenoids as potential cancer preventive agents. *Pure and Applied Chemistry*.
- Kiviat, N., McDuffie, K., Hankin, J., Goodman, M., Hernandez, B., Wilkens, L., . . . Nakamura, J. (s.f.). The association of plasma micronutrients with the risk of cervical dysplasia in Hawaii. *Cancer Epidemiol.*
- Krichnavaruk, S., Shotipruk, A., Goto, M., & Pavasant, P. (2008). Supercritical carbon dioxide extraction of astaxanthin from *Haematococcus pluvialis* with vegetable oils as co-solvent. *Bioresour. Technol.* 99, 5556-5560.
- Krinsky, N. L., & Johnson, E. J. (2005). Carotenoid actions and their relation to health and disease. *Mol. Aspects Med.* 26(6), 459-516.
- Kritchevsky, S. B. (1999). *B- Carotene, carotenoids and the prevention of coronary heart disease*. *J. Nutr.*
- Kruger, C., Murpy, M., Defreitas, Z., Pfannkuch, F., & Heimabach, J. (2002). An innovative approach to the determination of safety for a dietary ingredient derived from a new source: case study using a crystalline lutein product. *Food and Chemical Toxicology*.
- Lal, K., Minhas, P. S., Chaturvedi, R. K., & Yadav, R. K. (2008). Extraction of cadmium and tolerance of three annual cut flowers on cd-contaminated soils. *Bioresour Technol.* 99, 1006-1011.
- Landrum, J. T., Bone, R. A., Sprague, K., & Moore, L. (1997). *A one year study of supplementation with lutein on the macular pigment*. *Faseb J.*
- Landrum, J., Bone, R., Moore, L., & Gomez, C. (1999). Analysis of Zeaxanthin distribution within individual human retinas.

- Lee, E., Faulhaber, D., Hanson, K., Ding, W., Peter, S., Kodali, S., & Granstein, R. (2004). Dietary lutein reduces ultraviolet radiation-induced inflammation and immunosuppression. *J. Invest. Dermatol* 122 (2), 510-517.
- Lee, J., Jiang, S., Levine, N., & Watson, R. (s.f.).
- Lefsrud, M. G., Kopsell, D. A., Kopsell, D. E., & Celentano, J. C. (2005). Air temperature effects biomass and carotenoid pigment accumulation in kale and spinach grown in a controlled environment. *Hort Science* 40(7), 2026-2030.
- Li, H.-b., Feng, C., Tian-You, Z., Fu-Quan, Y., & Guo-Qing, X. (2001). Preparative isolation and purification of lutein from the microalga *Chlorella vulgaris* by high speed counter-current chromatography. *Journal of Chromatography A*. 905, 151-155.
- Lide, D. (2003). *Handbook of Chemistry and Physics*. CRC Press 84th Edition.
- Lyle, B., Mares-Perlman, J., & Klein, K. (s.f.). Serum carotenoids and tocopherols and incidence of age-related nuclear cataract.
- Marmion, M. (1985). *Handbook of US- Colorants for Food, Drugs and Cosmetics*.
- Martinez, G. (2002). *Identificación de compuestos activos en dos especies de Tagetes (Compositae)*. Universidad autonoma de Nuevo Leon: Facultad de ciencias biologicas.
- Mayne, S. (1996). Betacarotene, Carotenoids and disease prevention in humans.
- McCann, D., Barrett, A., Cooper, A., Crumpler, D., Dalen, L., Grimshaw, K., . . . Stevenson, J. (2007). Food additives and hyperactive behaviour in 3-year-old and 8/9-year-old children in the community: a randomised, double-blinded, placebo-controlled trial. *The lancet*.
- Meléndez, F. J., Martínez, A. J., Vicario, I., & Heredia. (2007). *Pigmentos carotenoides: consideraciones estructurales y fisicoquímicas*. Archivos Latinoamericanos de Nutricion, Vol. 57 N° 2.
- Moreno - Acosta, M. C. (2011). *Evaluación y escalamiento del proceso de extracción de aceite de aguacate utilizando tratamiento enzimático*. Bogotá, Colombia: Universidad Nacional de Colombia.
- Morganti, P., Bruno, C., Guarneri, F., & Cardillo, A. (2002). Role of topical and nutritional supplement to modify the oxidative stress. *Int. J. Cosmet. Sci.* (6), 331-339.

- Morón, C., Zacarías, I., & De Pablo, S. (1997). Producción y manejo de datos de composición química de alimentos en nutrición. En i. d. Caribe. Santiago de Chile: Organización de las naciones unidas para la agricultura y la alimentación.
- Morrison, T. R., & Boyd, N. R. (1990). *Química orgánica*. New York: Pearson Addison Wesley.
- Moscateli, V., & Redko, F. (s.f.). Buenos Aires: Cátedra de farmacognosia de la facultad de farmacia y bioquímica de la Universidad de Buenos Aires.
- Multon, J. L. (2000). *Aditivos y auxiliares de fabricación en las industrias agroalimentarias*. Zaragoza, España: 2da Ed. Acribia.
- National Eye Institute. (s.f.). *Age Related Eye Disease Study*. Bethesda, Maryland, Estados Unidos: National Institutes of Health.
- Navarrete - Bolanos, J. L., Hugo, J., Enrique, B., Ramiro, R., & Octavio, P. (2004). Improving xanthophyll extraction from marigold flower using cellulolytic Enzymes. *J. Agric. Food. Chem.* 52, 3394-3398.
- Olabiyi, O. (2007). Marigold (*Tagetes erecta* L.) as interplant with cowpea for the control of nematode pests. 1075-1078 VOL 8.
- Olmedilla, B., Granado, F., Blanco, & Blanco, I. (1997). Supplementation whit Lutein and a-tocopherol, in separate or combined oral doses, in control men Cancer Letters. 114, 179-181.
- Palumpitag, W., Prasitchoke, P., Goto, M., & Shotipruk, A. (2011). Supercritical carbon dioxide extraction of marigold lutein fatty acid esters: effects of cosolvents and saponification conditions. *Separ. Sci. Technol.* 46, 605-610.
- Pérez - Vendrell, A. M., Hernández, J. M., Llauradó, L., Schierle, J., & Braufau, J. (2001). Influence of source and ratio of xanthophyll pigments on broiler chicken pigmentation and performance. *Poultry Science* 0, 320-326.
- Peter, A. S., Hymavathi, T. V., & Yasoda, D. P. (2012). A study on the different methods of preparation of lutein from supercritical fluid processed lutein esters. *Nutrition & Food sciences*, 3-7.
- Phillip, T., & Berry, J. (1975). A process for the purification of lutein fatty acid. 163–164.

- Phratheesh, V. B., Benny, N., & Sujatha, C. (2009). Isolation, stabilization and characterization of xanthophyll from marigold flower *Tagetes Erecta L.* *Modern Applied Science* 3(2), 19-28.
- Quackenbush, F. W., & Miller, S. L. (1972). Composition and analysis of the carotenoids in marigold petals. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 617-621.
- R., C.-M., Piñero, A., Adán, A., & Castro, J. (2011). *Prevalence of age-related macular degeneration in Spain.*
- Rao, J. R., & Reddy, G. S. (2004). Extraction of lutein from marigold meal. *Patent No Us 2004/0267033a1.*
- Raven, & Peter, H. (24 de Agosto de 2017). *www.biodiversitylibrary.org*. Obtenido de <http://www.biodiversitylibrary.org/page/358908>
- Reardon, J. W., & Troxler, S. (2013). Luteína y zeaxantina: ¿En qué alimentos conseguirlos? *Food and Drug Protection Division - North Carolina Department of Agriculture and consumer Services.*
- Riera, E., Golás, Y., Blanco, J. A., Gallego, M., & Blasco, A. (2004). Mass transfer enhancement in supercritical fluids extraction by means of power ultrasound. *Ultrason. Sonochem.* 11, 241-244.
- Riso, P., & Porrini, M. (1997). Determination of carotenoids in vegetable foods and plasma. *Int J Vitam Nutr Res* 67, 47-54.
- Rodríguez - Amaya, D. B. (1989). Critical review of provitamin A determination in plant foods. *J. Micronutr. Anal.* 5, 191-225.
- Rodriguez - Amaya, D. B. (1990). Provitamin A determination - problems and possible solutions. *Food. Nutr. Bull.* 12 (3), 246-250.
- Rodriguez-Amaya, D. B. (1999). Changes in carotenoids during processing and storage of food. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 38-47.
- Sanchez - Saldaña, L., Lanchipa, P., Pancorbo, J., Regis, A., & Sánchez, E. (2002). Fotoprotectores tópicos. *Revista peruana de dermatología*, 5.
- Sanchez, A., & Flores - Cotera, L. (1999). Carotenoides: estructura, función, biosíntesis, regulación y aplicaciones. *Rev. Latinoamericana de Microbiología*, 175-191.
- Sanz Perez, B. (1999). *Aditivos alimentarios*. España: Everest.

- Sarkar , C. R., Bagmita, B., Lima, D., & Bhabesh, G. (2012). An efficient condition of saponification of lutein ester from marigold flower. *Annals of biological research* 3(3), 1461-1466.
- Sarkar, C. R., Das, L., Bhagawati, B., & Goswami, B. C. (2012). *Asian J. Plant Sci. Res* 2, 546.
- Schiedt, K., & Liaaen-Jensen, S. (1995). Carotenoids isolation and analysis. *Birkhauser Verlag, Basel vol 1A*, 81-108.
- Serrato-Cruz, M. A. (Agosto 2004). *Cempoalxóchilt: diversidad biologica y usos*. Ciencia y desarrollo en internet.
- Shao , A., Alves, & Rodrigues, A. (2004). The Science behind Lutein. *Toxicology Letters*, 57-83.
- Skerget, T., Bezjak, M., Makovsek , K., & Knez, Z. T. (2010). Extraction of Lutein Diesters from Tagetes Erecta Using Supercritical CO₂ and Liquid Propane. *Acta Chim. Slov*, 60-65.
- Soule, J. A., Janick, J., & Simon, J. (1993). *Tagetes minuta: A potential new herb from South America*. Wiley, New York: New Crops.
- Sovová, O., Sajfrtová, & Bartlová. (2004). Near-Critical Extraction of Pigments and Oleoresin from Stinging Nettle Leaves. *The Journal of Supercritical Fluids*, 213-224.
- Sowbhagya, H., Sampathu, S., & Krishnamurthy, N. (2006). Natural Colorant from Marigold-Chemistry and Technology. *Food Reviews International*.
- Stahl, W., Heinrich, U., Wiseman, S., Eichler, O., Sies, H., & Tronnier, H. (2001). Dietary tomato paste protects against ultraviolet light-induced erythema in humans. *J. Nutr.* 131(5), 1449-1451.
- Stevens, P. F. (06 de 06 de 2013). *Angiosperm Phylogeny Website*. Obtenido de <http://www.mobot.org/>
- Sun, M., & Temelli, F. (2006). Supercritical carbon dioxide extraction of carotenoids from carrot using canola oil as a continuous co-solvent. *J. Supercrit. Fluids* , 397-408.
- Surendranath, R., Ganga, M., Jawaharlal, M., & Anitha, K. (2016). Extraction and Quantification of Marigold Lutein Using different solvent systems. *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.*, 37(2), 187-191.

- Swaminathan, S., & Kunhiraman, P. M. (2009). Isolation and purification of marigold carotenoids from marigold flowers. *Patent No US76,22,599 B2*.
- T., A., Delcourt, C., Silva, R., & Holz, F. (2013). *Micronutrients in age-related macular degeneration. Ophthalmologica*.
- Tita, G. J. (2012). *Diseño y construcción de una planta piloto multipropósito de CO2 supercrítico*. Salta, Argentina: Proyecto de grado - Universidad Católica de Salta.
- Torres, S. (20 de Abril de 2011). *Industria Avícola*. Obtenido de <https://www.industriaavicola.net/manejo-produccion-y-equipos/marigold-o-compasuchil-la-flor-maravilla-escasea-en-el-mundo/>
- Turner, B. L., & Nesom, G. L. (1993). Biogeography, diversity and endangered of threatened status of mexican Asteraceae. New York: Oxford University Press.
- Valadon, L. R., & Mummery, R. S. (1967). *Carotenoids of certain compositae flowers. Phytochemistry*.
- Vargas, Delgado, Paredes, & Lopez. (2003). *Natural Colorants for Food and Nutraceutical uses*. Florida, USA: CRC Press.
- Vasala, T. M., & Rekha, R. (2013). An efficient method for extracting lutein from indian medicinal plant commelina benghalensis. A comparative study on solvents efficiency. *Indian Journal of Science and technology* 6(2), 3999-4005.
- Vásquez, O., Alva, A., & Marreros, J. (2001). *Extracción y caracterización de aceite*. EE.UU.: Elsevier.
- Vechpanich, J., & Shotipruk, A. (2011). Recovery of free lutein from Tagetes erecta: determination of suitable saponification and crystallization conditions. *Separation science and technology* 46(2), 265-271.
- Vergheese, J. (1998). Focus on xanthophylls from Tagetes erecta, the giant natural color complex. *Indian spices*, 13-16.
- Verschuur, F., Garcia, & Castrillón. (2007). La problemática regulación comunitaria de los complementos alimenticios. *Información comercial Española; Revista de economía*.
- Watkins, R., Hadden, L., Levy, L., Regalado, E., Rivadeneira, D., Van Breemen, R., & Schwartz, S. (1999). Carotenoid composition of marigold (Tagetes erecta) flower extract used as nutritional supplement. *J. Agric. Food Chem.* 47, 4189-4194.
- Wealt of India. (1976). 109-112.

- Wiszewski, K. N., & Blasco, G. (2009). Propiedades nutraceuticas del licopeno. *Instituto tecnológico de Veracruz - México*, 254-265.
- Wong, H. I., Koo, Y. S., & Chan, N. C. (2011). Prevention of age-related macular degeneration. *Int Ophthalmol (1)*, 73-82.
- Xu, X., Shao, B., Zhou, D., Ye, S., & Wang, Y. (2007). Process for the isolation and purification of xanthophylls crystals from plant oleoresin. *Us Patent 7,271,298*.
- Yanxiang, G., Bence, N., Xuan, L., Béla, S., & Qi, W. (2009). Supercritical CO₂ extraction of lutein esters from marigold (*Tagetes Erecta L.*) enhanced by ultrasound. *The journal of supercritical fluids* 49, 345-350.
- Yanxiang, G., Xuan, L., Honggao, X., Jian, Z., Qi, W., Guagmin, L., & Qinfeng, H. (2010). Optimization of supercritical carbon dioxide extraction of lutein esters from marigold (*Tagetes erecta L.*) with vegetable oils as continuous co-solvents. *Separation and Purification Technology* 71, 214-219.
- Young, A., & Lowe, G. M. (2001). Antioxidant and prooxidant properties of carotenoids. *Arc. Biochem Bioph.*
- Zapata, H. H. (13 de Agosto de 2014). *Conoce las plantas*. Obtenido de <http://maringatova.blogspot.com/2008/09/tagetes-patula-y-erecta.html>
- Zechmeister, L., & Polgar, A. (s.f.). *Cis-trans isomerization and cis-peak effect in the B-Carotene set and in some other stereo-isomeric sets*. *J. Am. Chem Soc.*
- Zitterl-Eglseer, K., Sosa, S., Jurenitsch, J., Schubert-Zsilavec, M., Della Loggia, R., & Tubaro, A. (1991). Anti-oedematous of the main triterpentiol esters of marigold. *Ethnopharmacol*, 57, 139-144.
- Zotov, E., Bokov, Y., Kovaeko, E., & Sultakey, R. (1990). *Melpol a New Product*. USSR patent n°549,523.

ANEXOS

ANEXO 1: Noticia de la provincia de Salta

Cien mil pesos para la virreina en Salta (Diario la Nación, 2002)

Quieren promover el cultivo de la planta – 17 de agosto de 2002 – SALTA

Con recursos del Fondo Provincial de Inversiones se otorgarán hasta \$ 100.000 a pequeños productores para incentivar el cultivo de la virreina (*tagetes erecta*), una planta anual con un ciclo de entre tres y cuatro meses que se emplea como colorante de alimentos balanceados y que, con la devaluación, puede producirse nuevamente en el país.

La empresa Natural Products amplió una planta de secado de virreina instalada en El Carril (ubicada a 30 kilómetros al sur de esta capital, en el Valle de Lerma, una zona predominantemente tabacalera) destinada a la extracción de oleorresina. De esta manera apuesta a abastecer el mercado nacional que años anteriores tenía una demanda de 1800 toneladas, pero con harina importada.

Vuelta a la producción local

La empresa, luego de procesar dos años la virreina local, optó por comprar la harina de Perú y México porque resultaba más conveniente aunque, con la devaluación, nuevamente se podrá vender al mercado la producción nacional.

La extracción de oleorresina que realiza la procesadora permite superar la instancia anterior en la que se producía sólo la harina a partir de la flor deshidratada, dijo el vicepresidente de la empresa, Cristian Hadad. Ahora, con la oleorresina se logra un extracto que puede ser de la flor de virreina o del fruto del pimiento.

“La oleorresina es un extracto que conserva el aroma, el sabor y el color del producto que se trabaja; en este caso, lo que interesa es el color”, explicó. La oleorresina, cuyo principio activo es la xantófilas, se utiliza en la industria avícola para darle color a la piel del pollo parrillero o a la yema de los huevos de granja y también en la industria de alimentos para humanos, como ciertas fábricas de pastas que utilizan colorantes naturales.

El rendimiento es de 10.000 kilos de flores de virreina por hectárea, lo que permite producir una tonelada de harina. La planta industrial es para producir 500 toneladas anuales de harina, siendo la única en su tipo en el país, de modo que tiene un mercado garantizado.

Este año, el proyecto prevé llegar a cultivar 100 hectáreas de las que 50 serían de pequeños productores con el crédito de \$ 2000 por hectárea otorgado por el gobierno provincial.

El ministro de la Producción, José Luis Gambetta, señaló que en una primera etapa se trabajará en conjunto con la empresa apoyando a doce productores para llegar a los 20 en el Valle de Lerma, con 50 hectáreas de cultivo para abastecer al establecimiento.

Natural Products comenzó su actividad en 1998, adquiriendo la planta con un crédito de la línea de Dinamización Productiva Regional y con una inversión desde entonces superior a los 2.000.000 de dólares que, por la cuestión cambiaria, le aparejó ciertas dificultades. No obstante, ahora encara la nueva etapa con un compromiso de comprar toda la cosecha de los pequeños productores, sobre todo de El Carril y Chicoana.

Los agricultores tendrán el financiamiento, el apoyo técnico y la venta asegurada, dijo el ministro Gambetta. En época de cosecha se logra una ocupación de tres obreros por hectárea, y la planta puede absorber entre 30 y 40 personas. La virreina es parecida a la de jardín.

ANEXO 2: Noticia de la provincia de Jujuy

La plantación de virreina, un cultivo complementario del tabaco que funciona en el NOA. Por Agrositio. 11/04/2012 | 15:04

El cultivo de la virreina (*tagetes erecta*) en el área tabacalera de Jujuy es para muchos productores tabacaleros un sinónimo de muy buenos rendimientos (no económicos) por cuestiones vinculadas a su comercialización.

El agrónomo Raúl Rollé, asesor técnico de la Agencia de Extensión Rural (AER) del INTA Perico, en Jujuy, explicó que se trata de una planta anual con un ciclo de entre tres y cuatro meses que se emplea como colorante de alimentos balanceados.

El cultivo se hizo en la década de los años 70 y 80, principalmente en el departamento jujeño de El Carmen. Rollé declaró que, por su época, “esta actividad encaja perfectamente con el ciclo del tabaco porque se hacen los almácigos³¹ en el mes de febrero, se trasplanta en marzo y se inicia la cosecha a mediados de abril hasta junio – julio”, es decir, que el productor tiene el tiempo suficiente de preparar el terreno para la próxima temporada de tabaco, con el beneficio de la incorporación de una buena cantidad de materia orgánica, además de que esta especie es un excelente repelente natural de nematodos, parásitos que ocasionan importantes pérdidas en el rendimiento en la cosecha de tabaco.

Asimismo, la harina que se obtiene de la deshidratación de las flores de la virreina se utiliza mucho en la industria avícola porque en la mezcla con otros elementos que se utilizan en la elaboración del alimento para las gallinas ponedoras, aumenta la coloración de la yema del huevo, y a través de un proceso de laboratorio se obtiene la xantófila, sustancia colorante natural utilizada en otros productos.

Debido que al inicio de cada temporada de tabaco, al productor se le plantean situaciones de incertidumbre respecto a la demanda, precio etc, que ponen a éste ante la disyuntiva de plantar lo mismo o de reducir superficie, desde la AER del INTA Perico en Santo Domingo, han tratado de buscar opciones productivas, que según se lo vea, pueden ser alternativas o complementarias del tabaco, en donde se priorizó siempre, la demanda de mano de obra.

³¹ Semilleros.

Por esta razón se fijaron el propósito de publicar una serie de artículos referido a cultivos que se hicieron en el área tabacalera de Jujuy y que, por distintas circunstancias, se dejaron de hacer, algunos de ellos, importantes, como la lenteja que se llegó a exportar a Europa a través de la Cooperativa de Tabacaleros de Jujuy en volúmenes importantes.

ANEXO 3: Estudio AREDS

Es un estudio muy importante de intervención con micronutrientes en pacientes con DMRE. Este se llama AREDS por sus siglas en inglés “*Age Related Eye Disease Study*”; que significa “Estudio de Enfermedad Ocular Relacionada con la Edad”. (National Eye Institute).

Este estudio resulta de vital importancia para la formulación de este proyecto, ya que es el puntapié inicial de la determinación de la eficacia de la luteína como agente bioactivo³². De esta forma, evidencia científicamente los resultados beneficiosos de este compuesto para la salud humana, y específicamente a la DMRE.

En la década del 90, el estudio AREDS sugiere ingerir suplementos nutricionales con una formulación específica de altas dosis de antioxidantes (vitamina C, E y betacaroteno), zinc y cobre para retardar o prevenir la progresión de la DMRE. El estudio fue realizado en más de 3500 personas, durante un periodo medio de 6,3 años.

Los resultados del estudio AREDS fueron publicados en el año 2001, mostraban beneficios de la suplementación para personas con la enfermedad avanzada, pero no para aquellas en estados iniciales (hay que tener en cuenta que estas categorías de la enfermedad progresan lentamente). El grupo con mejores resultados fue el que tomó la mezcla de compuestos antioxidantes y zinc, obteniéndose una reducción del 25% en el riesgo de progresión de esta enfermedad durante cinco años de seguimiento en el estudio, y también un menor riesgo de disminuir la agudeza visual.

Sin embargo, posteriormente, en base al avance en el conocimiento científico sobre zinc y betacaroteno, componentes de la formulación utilizada en el estudio AREDS y sobre la luteína y zeaxantina, carotenoides no disponibles comercialmente cuando se realizó este estudio, sus investigadores plantearon uno nuevo llamado AREDS 2.

En el mes de mayo del año 2013, se completa el primer estudio AREDS con AREDS 2. En éste, los investigadores encontraron que el agregado de los ácidos grasos omega 3 a los suplementos no incrementa el éxito de la fórmula, tal y como se creía hasta el momento.

³² Sustancias químicas que cumplen funciones en el cuerpo que pueden promover la buena salud. Se estudian para la prevención de enfermedades. Por ejemplo: licopeno, tanino

No obstante, la observación destacada en AREDS 2, es la seguridad de la ingesta de los antioxidantes luteína y zeaxantina, en comparación con el betacaroteno. Ya que se sospecha que éste aumentaría el riesgo de cáncer de pulmón en los fumadores o ex fumadores.

ANEXO 4: Grados de eficacia de la luteína según la Biblioteca Nacional de Medicina de los Estados Unidos.

La base Base Exhaustiva de Datos de Medicamentos Naturales es una base de datos elaborada por la prestigiosa Biblioteca Nacional de Medicina de los Estados Unidos.

Se alista los componentes en base a evidencia estricta, analizando la aplicación de remedios terapéuticos naturales que con los años se transmitieron por tradiciones, creencias o religiones. De este modo, la base de datos proporciona información contrastada científicamente y de manera actualizada gracias a los investigadores que evalúan miles de artículos con el mismo rigor que los productos farmacéuticos. A continuación, se detallan los grados de eficacia:

- Eficaz: Componente que superó la revisión científica o de otra autoridad gubernamental reconocida
- Probablemente eficaz: Informaciones de fuentes fidedignas determinan que el producto es efectivo para una indicación determinada basadas en dos o más ensayos clínicos aleatorios y, controlados que incluyen a cientos y miles de pacientes. Dichos ensayos han dado resultados positivos de criterios clínicos de evaluación relevantes e informados en publicaciones reconocidas y con referato³³
- Posiblemente eficaz: Informaciones de fuentes fidedignas sugieren que el producto podría funcionar para la indicación determinada sobre la base de uno o más ensayos clínicos dando resultados positivos de criterios clínicos de evaluación relevantes
- Posiblemente ineficaz: Informaciones de fuentes fidedignas sugieren que el producto podría no tener efectos para la indicación determinada sobre la base de un ensayo clínico dando resultados negativos de criterios clínicos de evaluación relevantes y publicados en publicaciones reconocidas y con referato

Ineficaz: La mayoría de las informaciones de fuentes fidedignas coinciden en que el producto no es efectivo para la indicación determinada o estudios de gran calidad

³³ Proceso por el cual se evalúan los trabajos enviados a una publicación científica.

resultaron negativos; no hay estudios confiables en humanos que ofrezcan datos convincentes contradictorios.

Esto nos da evidencia de que el cuerpo absorbe la luteína de manera correcta, bajo el método adecuado y existe un aprovechamiento de esta por parte del individuo.

Dada la enorme cantidad de información a disposición, es necesario clasificar el uso de luteína bajo ciertos parámetros que desplacen las creencias y se basen en investigación científica. Para ello La Base Exhaustiva de Datos de Medicamentos Naturales clasifica la luteína según sus grados de eficacia en los tratamientos, como se muestra en *Tabla 41*.

Tabla 41. Grados de eficacia de luteína

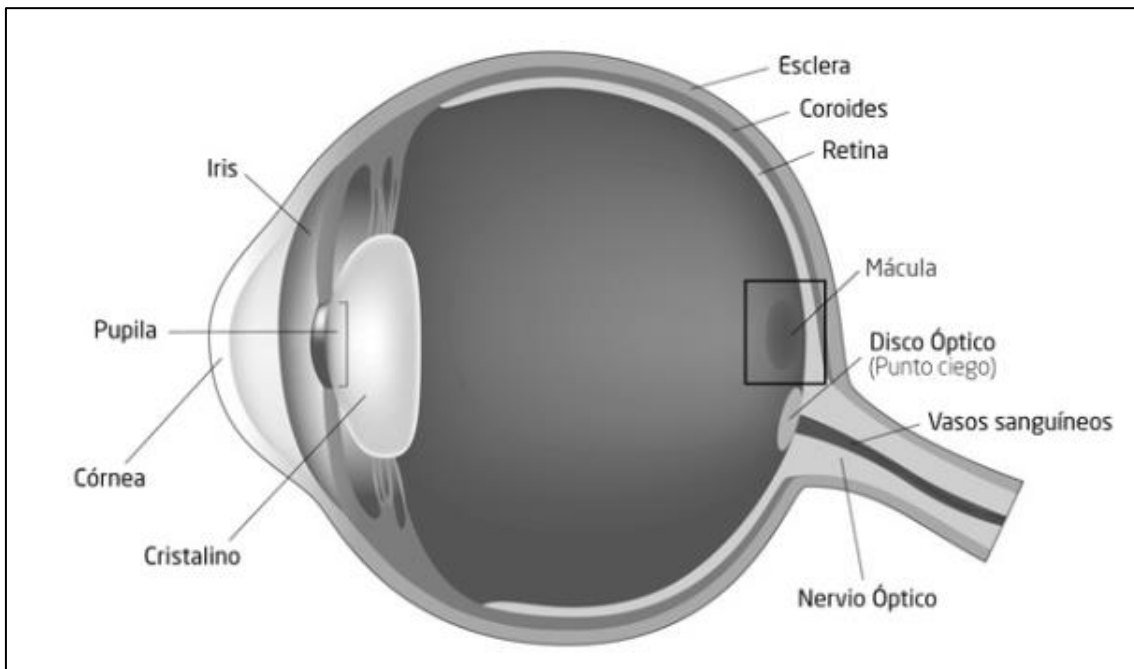
Grados de eficacia	Usos
Posiblemente eficaz para	<p>Degeneración macular relacionada con la edad: en la población que incluye cantidades grandes de luteína en la dieta. Ingerir luteína a modo de suplementos alimentarios durante hasta doce meses puede mejorar algunos síntomas de la enfermedad, pero no la enfermedad en sí.</p> <p>Cataratas: Disminuye el riesgo de desarrollo</p> <p>Visión en pacientes con cataratas: La ingesta tres veces por semana hasta un máximo de dos años puede mejorar la visión de ancianos con cataratas.</p>
Posiblemente ineficaz para	Obstrucción arterial
Insuficiente evidencia para hacer una determinación para	<ul style="list-style-type: none"> - Cáncer de mama, de cuello de útero, de colon, de recto, de pulmón, de próstata. - Función mental. Cierta investigación preliminar sugiere que la ingesta de 12 mg de luteína más 800 mg de ácido docosahexaenoico (DHA) durante cuatro semanas puede mejorar el habla y la memoria en los ancianos. - Diabetes: Cierta investigación sugiere que los bajos niveles de luteína en la sangre u otros carotenoides están vinculados con los problemas relacionados con niveles azúcar en la sangre. En teoría, la ingesta de luteína podría reducir el riesgo de desarrollar diabetes. Sin embargo, otra investigación sugiere que una mayor ingesta de luteína en la dieta no reduce el riesgo de desarrollar esta enfermedad. - Dolor muscular después del ejercicio físico - Tensión ocular - Hipertensión arterial durante el embarazo - Infecciones respiratorias - Retinitis pigmentosa: enfermedad ocular - Retinopatía del prematuro: enfermedad ocular

Fuente: (Biblioteca Nacional de Medicina de los EE.UU., 2018)

ANEXO 5: Degeneración macular relacionada con la edad

La degeneración macular relacionada con la edad (DMRE) es una enfermedad común entre las personas mayores de 55 años. Esta enfermedad causa el deterioro de la mácula, provocando visión borrosa o distorsionada. Con el progreso de la deficiencia, se puede llegar a desarrollar puntos ciegos en la visión, hasta llegar a una pérdida irreversible, conocida como ceguera legal.

La mácula se encuentra en el área central de la retina del ojo. Es la responsable de la visión central, la cual permite reconocer las caras de las personas, la lectura y en ella reside la máxima agudeza visual, otorgando una imagen clara y nítida.



Ubicación de la mácula en el ojo

Fuente: (Clínica oftalmológica de Alta Tecnología, 2017)

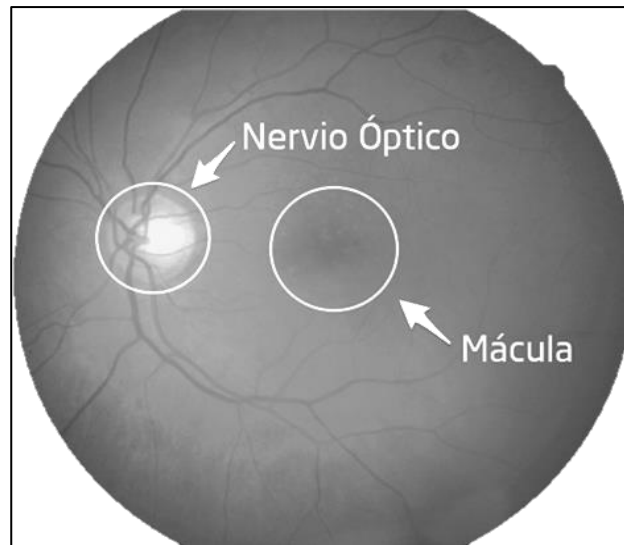


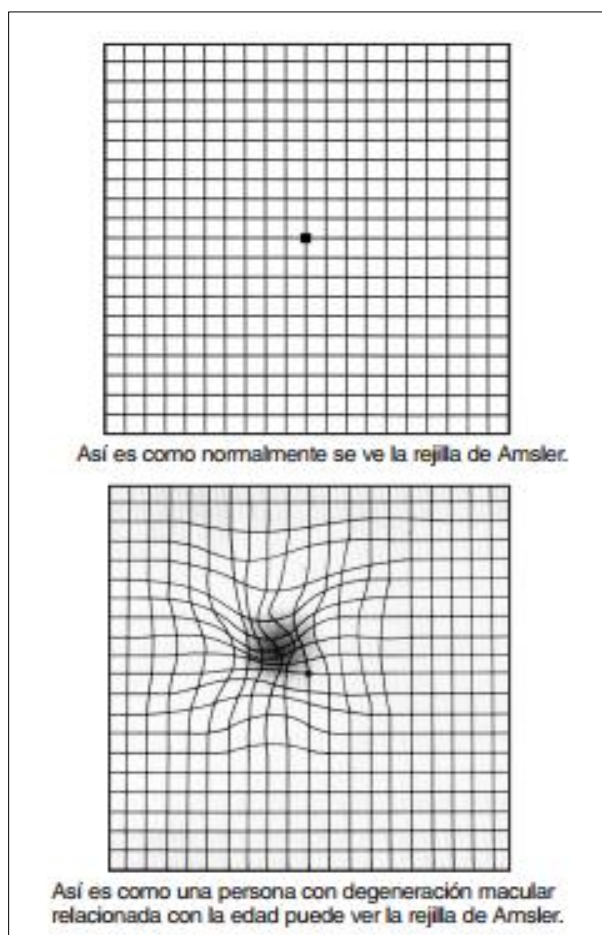
Foto real de la ubicación de la macula en el ojo
Fuente: (Clínica oftalmológica de Alta Tecnología, 2017)

La degeneración macular puede afectar a uno o a los dos ojos y progresar lento o rápido. En la siguiente figura ilustra cómo se distorsiona la imagen para una persona que padece la enfermedad.



Comparación de visión normal y con DMRE
Fuente: (Clínica oftalmológica de Alta Tecnología, 2017)

La detección de la DMRE se puede realizar mediante la “Rejilla de *Amsler*”, que es una prueba sencilla realizada por oftalmólogos. Como se observa en la figura, consta de líneas verticales y horizontales utilizada para el monitoreo del campo visual de las personas.



Comparación de la visión con y sin DMRE en la rejilla de Amsler
 Fuente: (Clínica oftalmológica de Alta Tecnología, 2017)

Hay unos 40-50 carotenoides disponibles en la alimentación para ser absorbidos, metabolizados o utilizados por el organismo humano, pero solo son 5-6 los mayoritarios en sangre y de ellos, sólo luteína y zeaxantina se encuentran en la mácula. A estos carotenoides se los conoce como “nutrientes protectores del ojo”, ya que resguardan los ojos frente a la nociva luz ultravioleta: filtran la luz azul, que no es obstaculizada por la córnea y las lentes y que con el tiempo pueden dañar las sensibles células oculares de la mácula.

Según el autor Landrum (1997) los altos niveles plasmáticos de luteína ingerida a partir de extracto de *Tagetes* aumenta la densidad óptica del pigmento macular humano, reduciendo el riesgo de degeneración relacionada con la edad en la mácula humana.

Tipos de degeneración

Existen dos tipos de DMRE: seca y húmeda. En la DMRE seca, el 85-90% de las personas con DMRE, padecen este tipo. Las células de la macula empiezan a deteriorarse lentamente, causando drusas³⁴ (formación de depósitos amarillentos). A medida que aumenta el número y tamaño de drusas, la visión se hace borrosa, principalmente la central. A la misma vez, las células de la macula dejan de funcionar.

Las personas podrán ver los detalles cercanos con menor claridad, como en rostros o palabras de un libro, por ejemplo.

Generalmente, la DMRE seca antecede a la DMRE húmeda.

Este tipo de degeneración macular, consta de las siguientes etapas:

- Inicial: no hay pérdidas de la visión ni síntomas
- Intermedia: algunas personas pueden necesitar una luz adicional para leer. A la misma vez puede aparecer un punto borroso en el centro del campo visual³⁵
- Avanzada: en el centro del campo visual aparece un amplio punto borroso, que se hace cada vez más grande y oscuro, causando con el tiempo una pérdida completa de visión central.

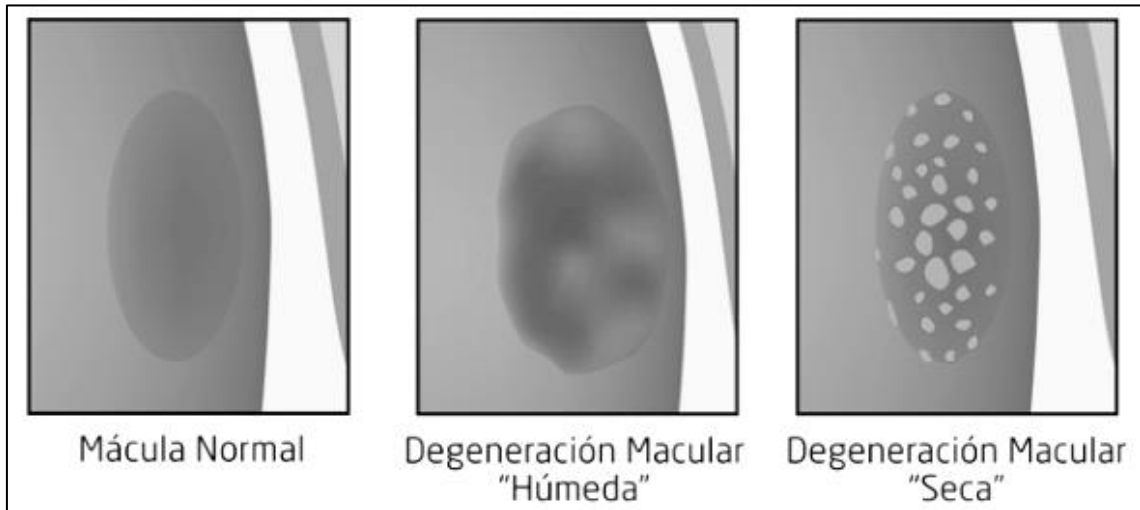
La DMRE húmeda representa el 10% de los casos de DMRE. Se considera una forma avanzada de la enfermedad. Cuando se agrava la DMRE seca, algunas personas experimentan crecimientos de vasos sanguíneos anormales detrás de la macula. Estos vasos son frágiles y dejan escapar fluido y sangre (de ahí la nominación “degeneración macular húmeda”). Esta acumulación de fluidos levanta la mácula, lo que provoca daños en ella y distorsiona la visión.

Con este tipo de degeneración, las líneas rectas pueden parecer onduladas y se puede perder la visión central rápidamente. La visión en línea recta puede distorsionarse o perderse totalmente muy rápido, a veces, en pocos días.

³⁴ En oftalmología se refiere a lesiones del ojo propias del envejecimiento.

³⁵ Amplitud de ángulo de la visión observable en un ojo sano.

En la figura se representa de manera esquemática los tipos de degeneración macular existentes y su intervención en la región macular.



Esquema representativo de la mácula en tres estados: normal, con DMRE húmeda y con DMRE Seca

Fuente: (Clínica oftalmológica de Alta Tecnología, 2017)

ANEXO 6: Evidencia científica de la eficacia de la luteína en suplementos dietarios

Se describe brevemente algunos estudios realizados con pacientes acerca de la eficacia de los suplementos dietarios de xantófilas

- Eficacia de un tratamiento con suplementos dietario para la enfermedad ocular llamada degeneración macular relacionada con la edad. Se analizan hombres y mujeres mayores a 60 años mediante historial médico, exámenes físicos tales como de campo visual, de ojos y de sangre acompañado por una fotometría de parpadeo. Los participantes asignados de manera aleatoria ingieren distintas cantidades preestablecidas de luteína durante 6 meses. Actualmente el estudio finalizó la fase 2, lo que significa que participaron menos de 100 personas y el objetivo principal fue determinar si el tratamiento funciona, estudiando muy de cerca los efectos secundarios. Año 2003.
- Análisis comparativo de ingesta de xantófilas con o sin omega 3. Se someten 40 pacientes mayores a 60 años, suplementados con luteína en forma diaria. El ensayo llegó a fase 1 donde se determina su seguridad y forma de administración del tratamiento. Año 2007.
- Estudio de la ralentización del curso de la enfermedad ocular denominada “retinitis pigmentosa”. Se alcanzó la fase 3, es decir que pueden estudiarse miles de personas que consumen la medicación o suplemento dietario, divididas en grupos organizados. Esto se realiza principalmente para analizar si el tratamiento puede llegar a ser mejor que uno preexistente. Año 2014.
- Determinación de los beneficios de un suplemento dietario en particular (“Visiobiane Anti-Age”) en la densidad de xantófilas en el ojo, sensibilidad al contraste y agudeza visual. Es el estudio que alcanzó la etapa más alta, llegando a fase 4 y obteniendo, de este modo, la aprobación FDA. Esto lo convierte en un tratamiento eficaz y se siguen estudiando sus efectos secundarios. Año 2007.
- Se estudia la transformación genética para lograr, entre otros beneficios, acumulación de carotenoides. Uno de los ejemplos se desarrolló en una

variedad de arroz obteniendo un endospermo³⁶ de color amarillo con provitamina A. El principal objetivo es beneficiar a las personas que consumen arroz como alimento principal y al mismo tiempo tienen alta incidencia de enfermedades relacionadas con la deficiencia de vitamina A. De esta forma, se alivia tal deficiencia en la dieta habitual.

- Según los autores Piñero, Adán y Castro, se lleva a cabo un estudio a doble ciego de este tipo para comparar 17 pacientes que tomaron 15 mg de luteína tres veces a la semana por dos años con pacientes que tomaron 100 mg de vitamina E o un placebo.

El grupo de personas que tomó luteína mejoró significativamente su agudeza visual y la sensibilidad al deslumbramiento, comparado con el grupo de personas que tomaron vitamina E y el grupo de control. Los resultados fueron positivos en la hipótesis acerca de que la ingesta de luteína aumenta de manera directa el contenido de pigmentación macular.

- En España, Abreu y Solé González, investigaron los suplementos nutricionales con ácidos grasos omega 3 para la prevención de la DMRE (degeneración macular relacionada con la edad). El objetivo de este estudio es analizar la composición cualitativa y cuantitativa de los productos encontrados actualmente en el mercado para la prevención de DMRE que contengan ácidos grasos omega 3 y comparar sus ingredientes con los datos obtenidos por el estudio AREDS 2. Como resultado se comparan 10 suplementos nutricionales, con las especificaciones que se muestran en la siguiente tabla.

³⁶ Tejido de las plantas que puede ser usado como fuente de nutrientes, por el embrión, en la germinación.

Producto	Omega 3	Luteína	Zeaxantina	Vitamina C	Vitamina E	Zinc	Cobre
Amejorver Adultos	170	10	2	0	12	10	1
AREDSan	500	5	1	80	12	5	0,5
Brudy Mácula	500	5	1,4	80	12	10	1
Ocuplus mega	450	6	1	60	10	8	1
Oftan Mácula Omega	150	3	0,19	120	40	15	0,5
Optimina	280	6	0	60	10	10	1
Preservision 3	300	5	1	90	15	7,5	0
Retilut	200	5	1,3	80	12	10	1
Visualplus	600	6	0,7	40	12	10	0
Vitalux plus	160	10	1	60	20	10	0,25
MEDIA	331	6,1	0,96	67	15,5	9,55	0,63
AREDS 2	1000	10	2	500	267	25	2

(Abreu Gonzalez & Solé Gonzalez, 2014)

ANEXO 7: Suplementos dietarios con luteína disponibles en Salta

Suplementos dietarios con luteína disponibles en Salta

Marca	Composición	Precio
Vita tech	Vitamina B1, Luteína – 30 cápsulas	\$564
Poen – diaris	Luteína, vitamina c, vitamina e, zinc, cobre – 30 cápsulas	\$291
Ocuvite – Bausch	Luteína, Vitamina A, C y E, Zinc, Selenio, Cobre – 50 capsulas	\$484,30

ANEXO 8: Suplementos dietarios con luteína disponibles en el mercado mundial.

Suplementos dietarios con luteína disponibles en el mercado mundial

Suplementos	Mg de Luteína por porción
Alcon ICAPS Lutein % Zeaxanthin Formula	4 mg
Alcon ICAPS MV Multivitamin Formula	6.67 mg de luteína + 3.33 de zeax.
Allergy Research Group Lutein	20 mg
Bausch & Lomb Ocuville Adult	2 mg
Bausch & Lomb Ocuville Adult 50+	6 mg
Bausch & Lomb Preser Vision Lutein	10 mg en 2 capsulas diarias
Botanic Choice Opti Gold	15 mg
Bronson Lutein	20 mg
Carlson Able Eyes	6 mg
Cooper Eye Health Formula	10 mg
Equate Vision Formula (Walmart)	2 mg
GNC Natural Brand Lutein	20 mg
Inno- vite	15 y 25 mg *
Inno-vision	10 mg *
MedOp MaciVision Whole Body formula	20 mg
Natrol Advanced Eye Support	25 mg
Natural factors lutein	18 y 20 mg
Natural factors visión Factors	7.5 mg
Nature Made	20 mg
Nature's Bounty lutein	6, 20 y 40 mg
Nature's Plus Advanced Therapeutics Lutein Rx-Eye	20 mg
Nature's Plus Ultra Lutein	20 mg
Nature's Sunshine Lutein	10 mg
Nature's Way – Premium formula	6 mg
NOW Clinical Strength Eye Support	10 mg
Nutricology Lutein	20 mg
Puritan's Pride	6, 20 y 40 mg
Puritan's Pride Eye Guard Plus with Lutein	20 mg
Purity Products Perfect Multi Super Greens	10 mg
Real Health Laboratories Vision Formula	6 mg
Science Based Health Macular Protect Complete	10 mg
Science Based Health Ocular Essentials	6 mg
Solaray – Ultra zeaxanthin	3 mg + 6 de zeaxantina
Solgar Lutein Carotenoid Complex	15 mg
Source Naturals Lutein	6 y 20 mg
Swiss Herbals Lutein	20 mg *
Twing Lab OcuGuard Plus with lutein	20 mg
Vision Shield – Piping rock	20 mg
Vitalux Plus Omega 3 with Lutein	10 mg *
Vitalux AREDS with Lutein	10 mg *

Vitamin Science Visi-Vite-I-Defense formulas	10 y 15 mg
Vitamin Shoppe Lutein	6 y 20 mg
Vitamin Shoppe Occu-Plus with Lutein	10 mg
<u>Vitamin world lutein</u>	6, 20 y 40 mg
Vitatech	40 mg
Viteyes AREDS Formulas	6 y 10 mg
Viteyes Essentials	15 mg
Webber Naturals lutein with Zeaxanthin	10 mg *
Webber naturals super visión Plus with Lutein	10 mg *

* Venta solo en Canadá

ANEXO 9: Descripción de tramos de alta y baja presión de la maquina de extracción con fluidos supercríticos (Universidad Católica de Salta).

Tramo de alta presión: 50 Mpa

Este tramo empieza a la salida de la bomba y termina en la válvula reguladora

- Bomba

Aumenta la presión del dióxido de carbono. En este caso, es de marca *Maximator*. La mayoría de los equipos trabajan entre 30 MPa y 50 MPa.

- Válvula de asiento blando

Consiste en un agujero generalmente redondo y un tapón cónico colocado al extremo del vástago. Regula el paso de un elemento, permitiendo el pasaje bidireccional o también puede funcionar a todo o nada.

Gracias a su ubicación a la salida de la bomba, aísla el sistema, pero a la vez funciona como restricción ya que no trabaja a presiones mayores a 30 MPa.

- Válvula de no retorno o unidireccional

Su función es cerrar por completo el paso del fluido en un sentido de circulación. Se utiliza para mantener la presión de la tubería permitiendo la descarga en un sentido.

Está ubicada a la entrada del extractor y gracias a su unidireccionalidad, protege de altas presiones a la bomba y toda cañería aguas abajo del extractor.

- Extractor

Se alimenta el extractor con dióxido de carbono, el cual fluye a través de un lecho fijo de partículas sólidas y disuelve los componentes que se pueden extraer. En este caso, el lecho fijo de partículas sólidas consiste en el material vegetal cortado en trozos pequeños, licuado o molido empacado en una cámara de acero inoxidable.

Está formado por dos partes:

- Extractor propiamente dicho que es un cilindro con tapa inferior soldada y tapa superior a rosca
- Cartucho o canasto donde se aloja el material. Posee 34 cm de alto y 10 de diámetro interno.

Cuenta con un volumen interno efectivo de 3.55 litros.

Como elemento auxiliar, el extractor tiene resistencias calefactoras de tipo abrazadera, para poder alcanzar las temperaturas de extracción.

En cuestión de diseño, el lecho fijo también puede tener sus variantes en cuanto a altura, diámetro y forma del contenedor.

En síntesis, el material sólido se agotará del solvente en la dirección del flujo. Sentido en el cual, también aumenta la concentración de los componentes del extracto.

La forma de la curva de concentración dependerá de:

- Condiciones de operación
 - Propiedades de la cinética de extracción del material sólido
 - Poder disolvente del solvente.
- Válvula Manifold con descarga a la atmósfera

Es una válvula reguladora de presión desde 20-50 Mpa hasta 6 Mpa. Como en esta etapa, el dióxido de carbono viene cargado del soluto, al reducir la presión se reduce el poder del solvente provocando la precipitación del soluto.

- Manómetro: De 0 a 100 MPa

Tramo de baja presión: 15 Mpa

Empieza a la salida de la válvula reguladora hasta la entrada de la bomba. Posee válvulas esféricas y de alivio.

- Separador

El dióxido de carbono al entrar al separador se expande y reduce su poder solvente debido a la caída de presión y al aumento simultáneo de la temperatura. Si este cambio no es lo suficientemente brusco, la fase de vapor del soluto no precipita y continúa su recorrido. La dirección del flujo del dióxido de carbono puede ser hacia arriba o abajo, dado a que, en proporciones elevadas de solventes, la influencia de la gravedad se torna insignificante.

Colocado a la salida del separador existe:

- Un medidor de flujo o medidor de caudal másico: Permite determinar la relación de solvente, haciendo más eficiente el ciclo.
 - Una válvula de alivio para mayor seguridad.
- Buffer

Recipiente que sirve de pulmón para alojar el CO₂ que se inyecta desde los cilindros. Se necesita enfriarlo para lograr que el CO₂ condense, aumentando la relación líquido/gas. De esta manera se puede alimentar correctamente la bomba.

Además, enfriar sirve para provocar una caída de presión que logre un movimiento del fluido aguas abajo.

ANEXO 10: Resultados de análisis de la muestra

LABORATORIO DE QUÍMICA ORGÁNICA

Salta, 24 de Agosto de 2018.

Análisis: 003-08-2018

Fecha de recepción de la muestra: 01-08-2018

Tipo de Muestra: Flores de Virreyna (*Tagetes erecta*)

Tipo de análisis solicitado: Determinación de color en muestra de flores de Virreyna, extracción de oleorresina. Contenido de oleorresina y rendimiento de extracción.

Solicitante: Daniela Vida

Presentación de la muestra: muestra en recipiente de plástico.

Denominación de la muestra: Sin denominación

Muestra 1:

- **Contenido de Xantófilas totales:** 7,53 g/kg
- **Contenido de oleorresina extraíble (Hexanos):** 6,97%
- **Contenido Xantófilas en oleorresina:** 103,75 g/Kg
- **Rendimiento de Xantófilas extraíbles:** 95,81%

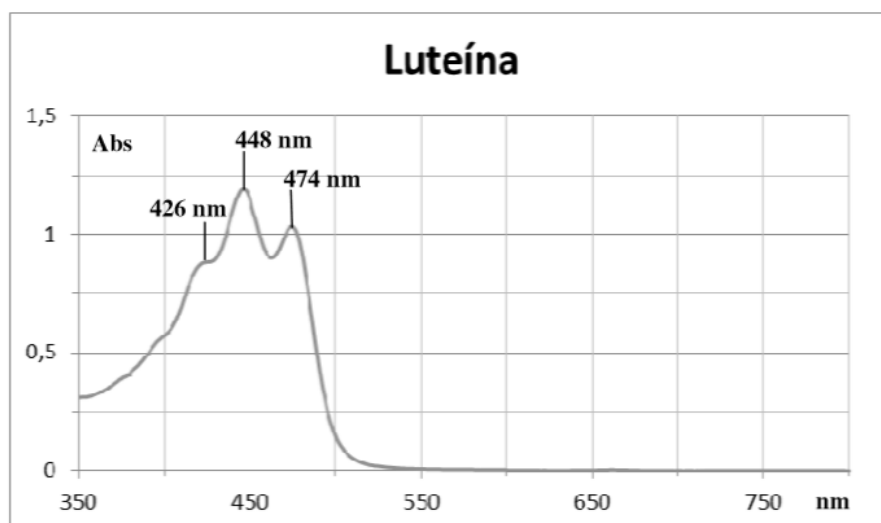
Observaciones: Previo a las determinaciones la muestra fue molida.

Las técnicas empleadas para la realización de los análisis son: **Color:** Método ASTA 20,1; **Humedad:** Método Asta 2.1 (Vacuum Oven Method); **Extracto etéreo:** Método A.O.A.C: 30.012; **Ceniza:** Método ASTA 3.0; **Fibra cruda:** Método ASTA 7.0; **Pungencia (U.Scoville):** Metodo ASTA 21.1 (HPLC Method); **Pungencia aparente:** degustación de la muestra. **Almidón:** tinción selectiva con solución de Lugol y observación con lupa binocular y microscopio. **Determinación de oleorresina extraíble:** extracción con hexano hasta agotamiento de color. **Adulteración de color:** UV-Vis y HPTLC.

Sin otro particular.

Ing. Norberto Alejandro Bonini
Prof. Titular Química Orgánica I
Fac. de Cs Exactas – UNSa

LABORATORIO DE QUÍMICA ORGÁNICA



Espectro UV-Vis de extracto acetónico de muestra de flores de virreina (*Tagetes erecta*)