

EXTRACCIÓN SUPERCRTICA DE ACEITE DE SEMILLAS DE PAPAYA (*Carica papaya*): COMPOSICIÓN Y PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS

SUPERCRTICAL EXTRACTION OF PAPAYA (*Carica papaya*) SEED OIL: COMPOSITION AND PHYSICO-CHEMICAL PROPERTIES

Daniela J. DORADO, MSc^{1*}, Andrés M. HURTADO, PhD², Hugo A. MARTÍNEZ-CORREA³.PhD.

Recibido: Junio 23 de 2016 Aprobado: Noviembre 02 de 2017

RESUMEN

Antecedentes: La papaya (*Carica papaya*) contiene entre el 15% y 20% de semillas, las cuales son consideradas residuos agroindustriales que generalmente no tienen ningún valor y manejo adecuado. **Objetivos:** se realizó la extracción de aceite de semillas de papaya con dióxido de carbono supercrítico bajo diferentes condiciones de presión y temperatura con el fin de evaluar su efecto sobre el rendimiento, composición en ácidos grasos, esteroides y tocoferoles. Además, se determinaron propiedades fisicoquímicas como parámetros de calidad del aceite. **Métodos:** Se utilizó un diseño central compuesto utilizando la metodología de superficie de respuesta. Se emplearon presiones entre 20 y 35 MPa y temperaturas entre 40 y 60°C con un flujo de CO₂ constante de 30 g/min y un tiempo de extracción de 150 min. La composición en ácidos grasos se analizó por cromatografía de gases con detector de ionización en llama. Los esteroides y tocoferoles se analizaron por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas. Las propiedades fisicoquímicas se realizaron de acuerdo a las Normas Técnicas Colombianas y de la AOAC. **Resultados:** La presión, temperatura y sus interacciones tuvieron un efecto estadísticamente significativo ($p < 0,05$) sobre el rendimiento. Un rendimiento óptimo del 26,3% en aceite se obtuvo a 38,1 MPa y 36 °C. En el aceite se encontró un alto contenido de ácido oleico y en menor proporción los ácidos grasos: palmítico, linoleico, esteárico, palmitoleico, láurico, linolénico y mirístico. Además, se identificaron componentes minoritarios tales como: campesterol, estigmasterol, β -sitosterol, cicloartenol, sitostenona, escualeno y α -tocoferol. **Conclusiones:** La extracción supercrítica permitió la obtención de un alto rendimiento en aceite de semillas de papaya, y una extracción selectiva en ácidos grasos y escualeno, lo cual puede ser de interés para diferentes industrias.

Palabras clave: Aceite de semillas de papaya, CO₂ supercrítico, ácidos grasos insaturados, vitamina E, Escualeno.

ABSTRACT

Background: The papaya (*Carica papaya*) contains between 15% and 20% of seeds, which are considered agroindustrial residues that generally have no value and proper management. **Objectives:** The extraction of oil from papaya seed using supercritical carbon dioxide under different conditions of pressure and temperature was studied in order to evaluate its effect on the yield, fatty acid composition and content of sterols and tocopherols. Also, physicochemical properties were determined as oil quality parameters. **Methods:** A central composite design using response surface methodology was employed considering

¹ Investigadora del grupo Tecnologías Emergentes en Agroindustria-TEA, Universidad de Nariño, Pasto, Colombia.

² Docente Asociado, Dir. grupo Tecnologías Emergentes en Agroindustria-TEA, Universidad de Nariño, Pasto, Colombia

³ Docente Asociado, Universidad Nacional de Colombia, Palmira, Colombia

* Autor de correspondencia: dadojazzz@hotmail.com

pressures between 20–35 MPa and temperatures between 40 and 60 °C, with a flow of CO₂ of 30 g/min¹ and an extraction time of 150 min. The composition of fatty acids was determined by gas chromatography with flame ionization detector. The sterols and tocopherols were analyzed by gas chromatography coupled with mass spectrometry. The physicochemical properties were performed according to the Colombian Technical Standards and AOAC. **Results:** Pressure, temperature and their interactions had a statistically significant effect ($p < 0.05$) on the oil yield. The optimum oil yield was 26.3%, obtained at 38.1 MPa and 36°C. The fatty acids identified were: oleic, palmític, linoleic, esteárico, palmitoleico, laurico, linolenic and miristic. Furthermore, the following minority components were identified: campesterol, stigmasterol, β -sitosterol, cycloartenol, sitostenone, squalene and α -tocopherol. **Conclusions:** The supercritical extraction allowed the obtaining of a high yield in oil of papaya seeds, and a selective extraction in fatty acids and squalene, which may be of interest for different industries.

Keywords: Papaya seed oil, supercritical CO₂, unsaturated fatty acids, vitamin E, squalene.

INTRODUCCIÓN

La papaya (*Carica papaya*) es un fruto que pertenece a la familia *Caricaceae* de género *Carica* y es originario de zonas tropicales y subtropicales de América y África (1). Colombia es uno de los diez países con mayor producción de papaya en el mundo, con una producción de 124.444 t/año (2). Esta fruta es ampliamente utilizada para consumo en fresco, la elaboración de ensaladas de frutas y jugos. Sin embargo, de su procesamiento se genera una cantidad considerable de residuos tales como: cáscara, semillas y fibras; las semillas constituyen entre el 15% y 20% de la fruta (3). Estos residuos son un foco de contaminación ambiental si no se les da un manejo adecuado. En la actualidad, los estudios científicos se vienen enfocando en la búsqueda de alternativas de aprovechamiento de residuos agroindustriales con el fin de hacer un uso eficiente de los recursos y mitigar el impacto ambiental que estos pueden generar (3–6).

De acuerdo a Bhattacharjee *et al.* (2003) (4), las semillas de papaya son comestibles y se han empleado como adulterantes de la pimienta negra debido a su apariencia y sabor picante (5). Además, poseen compuestos bioactivos con propiedades quimiopreventivas del cáncer (5, 6) como el bencil isotiocianato, al cual se le atribuyen también propiedades de relajación vascular (6). Por otra parte las semillas también poseen propiedades anticonceptivas en perros (7), son efectivas en el tratamiento contra parásitos intestinales en humanos y animales (8) y para el control de plagas que atacan el maíz (9). Además, algunos estudios han reportado que las semillas de papaya son una fuente importante de aceite vegetal (30%) (10), con propiedades nutricionales similares al aceite de oliva (11).

Para la extracción de aceite de semillas de papaya se ha empleado la extracción soxhlet (9), con solventes asistida por ultrasonido (11) y prensado (5). Barroso *et al.* (2016) (6), realizó la extracción supercrítica de aceite de semillas de papaya con el fin de lograr la recuperación de un compuesto bioactivo de interés. Sin embargo, la literatura sigue siendo escasa en cuanto a la extracción de aceite de semillas de papaya empleando fluidos supercríticos. Ésta tecnología alternativa, se caracteriza por ser amigable con el medio ambiente, selectiva (12), que posibilita la extracción de compuestos termolábiles, fácil eliminación del fluido utilizado y empleo mínimo o nulo de solventes derivados del petróleo (13, 14). Por esta razón, existen diferentes estudios en cuanto la extracción supercrítica de aceites vegetales a partir de semillas frutas como: maracuyá (14) durazno (15), granada (16), uva (17) entre otras fuentes.

Por lo tanto, el objetivo del presente estudio fue la extracción de aceite de semillas de papaya con dióxido de carbono supercrítico (CO₂-SC), evaluando el efecto de la presión y la temperatura de extracción sobre el rendimiento y la composición. También se realizó la determinación de propiedades fisicoquímicas del aceite como parámetros de calidad, todo ello con el fin de obtener un aceite libre de solventes y determinar sus posibles aplicaciones en la industria cosmética, alimentaria o farmacéutica, promoviendo de esta manera el aprovechamiento integral de la papaya.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

Las semillas frescas de papaya fueron suministradas por la frutería Más Fruta (Pasto, Colombia).

Las semillas fueron lavadas y secas a 50°C durante 8 horas, con lo cual se alcanzó una humedad de 7,2% b.s. Posteriormente las semillas fueron molidas con un molino de martillos (Metalurgica TRAPP, Brasil). Un equipo de tamizado modelo PS-35 serie 1182 y la serie de tamices (10-80, A.S.T.M.E.) se utilizaron para realizar el análisis granulométrico y determinar el diámetro medio de las partículas (0,590 mm).

Extracción supercrítica

La extracción de aceite de papaya utilizando CO₂-SC, se realizó en un equipo de extracción SFE-500 (Waters, USA) de 500 mL de capacidad, el cual se muestra en la Figura 1. La presión, temperatura y flujo de CO₂, se controlaron a través de un sistema de regulación que opera mediante el software Process Suite (Versión 5.9). Se utilizó dióxido de carbono con una pureza del 99,8% (Cryogas, Colombia).

Se aplicó un diseño factorial de experimentos utilizando la metodología de superficie de respuesta del tipo central compuesto rotacional, para determinar la influencia de las condiciones de presión y temperatura supercríticas sobre el rendimiento y la composición. Se realizaron 4 puntos factoriales, 4 puntos estrella y 4 réplicas en el punto central para un total de 12 experimentos.

Los experimentos se llevaron a cabo por duplicado y de materia aleatoria.

La extracción de aceite de semillas de papaya se llevó a cabo utilizando presiones entre 20 y 35 MPa y temperaturas entre 40 y 60°C. Se utilizó un flujo de CO₂ constante de 30 g/min, obteniendo una relación de 22,5 g CO₂/g semilla, lo cual se encuentra dentro del rango reportado en la literatura (13, 19). El tiempo de extracción se fijó en 150 min, teniendo en cuenta curvas de extracción de 8 h realizadas previamente, en las cuales se observó que bajo dicho tiempo de extracción se obtenía una cantidad aceptable de aceite sin tener un gasto excesivo de CO₂.

En cada experimento se utilizó una muestra de 200 g de semilla de papaya molida. Los extractos se almacenaron en viales ámbar a 4°C hasta su posterior análisis. Se determinó el rendimiento basado en la cantidad de aceite de semillas de papaya obtenido por unidad másica del material utilizado (semilla molida) en términos porcentuales.

El análisis estadístico de los resultados se realizó con la ayuda del programa Statgraphics Centurion XV® (StatPoint Technologies, Inc., Warrenton, VA, USA), con el fin de determinar la significancia estadística de los factores sobre el rendimiento y la composición ($p < 0,05$).

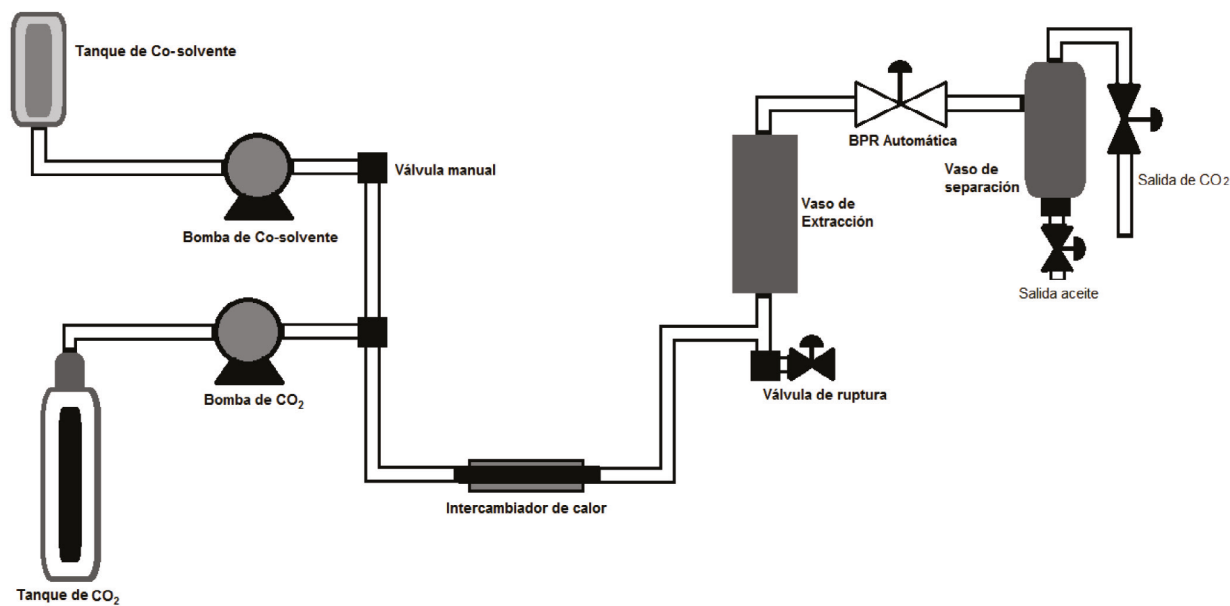


Figura 1. Diagrama de proceso extracción de aceite de papaya con CO₂-SC.

Análisis de ácidos grasos por cromatografía de gases (GC-FID)

Los ácidos grasos se derivatizaron a sus correspondientes ésteres metílicos de acuerdo a la metodología propuesta por Christie (1998) (20), con algunas modificaciones. Los ésteres metílicos de los ácidos grasos se separaron con n-hexano grado HPLC (Fisher, USA) y se inyectaron en un cromatógrafo de gases Shimadzu GC 17A versión 3 (Shimadzu Scientific Corporation, Kioto, Japón) equipado con un detector de ionización de llama (FID) (250°C), provisto de una columna capilar DB-WAX (J & W de Agilent Scientific. 30 m * 0,25 mm ID * 0,25 µm) con fase estacionaria de polietilenglicol. El equipo consta de un inyector de split/splitless a temperatura de 250°C, relación split 1:10. La temperatura del horno se programó a 40°C durante 5 min hasta 250°C con una rampa de calentamiento de 5°C/min. El gas portador empleado fue helio (99,99%, Linde) con un caudal de 1 mL/min. El volumen inyectado de la muestra fue de 1,0 µL. Para la identificación se utilizó una mezcla patrón de 37 ésteres metílicos de ácidos grasos (FAME'S Restek, USA), considerando los tiempos de retención analizados bajo las mismas condiciones operacionales. La cuantificación se realizó mediante el cálculo de porcentaje relativo de área y también empleando un estándar interno de metil undecanoato (Alltech, USA) para el cálculo de la concentración en mg/mL.

Análisis de compuestos minoritarios

La composición, de escualeno, esteroides y tocoferoles se realizó utilizando la metodología propuesta por Matthaus y Ozcan (2011) (21) y Dhara *et al.* (2010) (22), con algunas modificaciones. Los espectros de masas fueron obtenidos en un Cromatógrafo de Gases/Espectrómetro de Masas Shimadzu QP2010S (Shimadzu Scientific Corporation, EE. UU) equipado con detector selectivo de masas QP2010S, modo de operación full scan (40-500 umas). Temperatura de la interfase 310°C y del inyector a 300°C. Para la separación de las muestras se utilizó una columna capilar SHRXI-5MS (Shimadzu 30 m * 0,25 mm * 0,25 µm) con fase estacionaria de 5% fenil - 95% polidimetilsiloxano. La temperatura del horno fue programada a 150°C durante 2 min y se incrementó hasta 300°C (10°C/min) durante 25 min. La identificación tentativa de los compuestos del aceite en estudio se realizó por comparación de los espectros

de masas empleando la base de datos NIST. La cuantificación se llevó a cabo empleando el método del estándar interno utilizando como estándar una solución patrón de colesterol (Sigma, USA).

Propiedades fisicoquímicas del aceite de semillas de papaya

La densidad, índice de refracción, índice de acidez e índice de yodo del aceite de semillas de papaya, se realizaron de acuerdo a la metodologías planteadas en la NTC 336 (23), NTC 289 (24), NTC 218 (25) y NTC 283 (26), respectivamente. Los índices de saponificación y de peróxidos se determinaron de acuerdo a los métodos oficiales de análisis de la AOAC 920.160 (27) y AOAC 965.33 (28), respectivamente.

RESULTADOS

Extracción supercrítica

Los resultados de rendimiento en aceite de semillas de papaya obtenido con CO₂-SC, bajo diferentes condiciones de presión y temperatura de extracción se muestran en la Tabla 1, así como los niveles de las variables en unidades reales y codificadas entre paréntesis.

Tabla 1. Rendimiento en aceite de semillas de papaya

Exp.	Temperatura (°C)	Presión (MPa)	Rendimiento	
			% (p/p) + Desviación Estándar	
1	40 (-1,0)	20,0 (-1,0)	3,4518	+ 0,2611
2	60 (+1,0)	20,0 (-1,0)	2,8687	+ 0,1654
3	40 (-1,0)	35,0 (+1,0)	18,601	+ 0,1129
4	60 (+1,0)	35,0 (+1,0)	13,0116	+ 0,5626
5	50 (0)	16,9 (-1,41)	1,9078	+ 0,1127
6	51 (0)	38,1 (+1,41)	21,9588	+ 0,4453
7	36 (-1,41)	27,5 (0)	12,5575	+ 0,2736
8	64 (+1,41)	27,5 (0)	9,2587	+ 0,6533
9	50 (0)	27,5 (0)	8,9243	+ 0,4297
10	50 (0)	27,5 (0)	8,6816	
11	50 (0)	27,5 (0)	7,9164	
12	50 (0)	27,5 (0)	8,4852	

La significancia estadística de los factores (temperatura y presión) y sus interacciones sobre el rendimiento, se determinó mediante un análisis de varianza (ANOVA) que se muestra en la Tabla 2. La presión (A), la temperatura (B), el término cuadrático de la presión (AA) y de la temperatura

(BB) y la interacción presión-temperatura (AB), tuvieron un efecto estadísticamente significativo ($p < 0,05$) sobre el rendimiento en la extracción del aceite de semillas de papaya.

Tabla 2. ANOVA para el rendimiento en aceite de semillas de papaya

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:Presión	719,536	1	719,536	7525,80	0,0001
B:Temperatura	29,3631	1	29,3631	307,12	0,0032
AA	13,863	1	13,863	145,00	0,0068
AB	12,531	1	12,531	131,07	0,0075
BB	4,7234	1	4,7234	49,40	0,0196
bloques	0,00669414	1	0,00669414	0,07	0,8161
Falta de ajuste	19,4235	11	1,76577	18,47	0,0525
Error puro	0,191218	2	0,0956092		
Total (corr.)	795,323	19			

El gráfico de superficie de respuesta (Figura 2), muestra el rendimiento en función de la presión y temperatura de extracción.

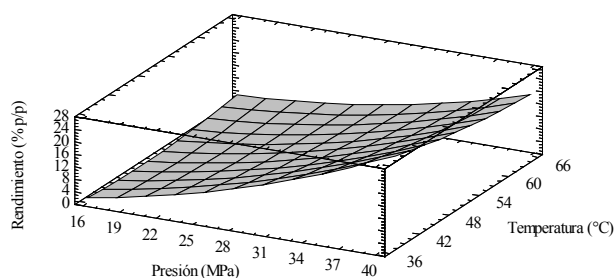


Figura 2. Superficie de respuesta para el efecto de la temperatura y presión sobre el porcentaje de rendimiento en aceite de semillas de papaya.

Perfil de ácidos grasos

En la Tabla 3 se muestra el perfil de ácidos grasos del aceite de semillas de papaya obtenido con $\text{CO}_2\text{-SC}$, bajo las diferentes condiciones de presión (P) y temperatura (T) evaluadas. Se identificaron como ácidos grasos mayoritarios el ácido oleico (C18:1) con una concentración promedio de 57,45 mg/mL (59,89%) y el ácido palmítico (C16:0) con 28,68 mg/mL (27,67%). En menor proporción se encontró el ácido linoleico (C18:2, 7,58%), esteárico (C18:0, 3,30%), palmitoleico (C16:1, 1,03%), láurico (C12:0, 0,62%), linolénico (C18:3 0,54%) y mirístico (C14:0, 0,52%).

Tabla 3. Ácidos grasos presentes en aceite de semillas de papaya.

P (MPa)	T (°C)	C12:0	C14:0	C16:0	C16:1	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3	Ácidos grasos insaturados/saturados
		Concentración mg/mL de aceite								
20	40	0,3	0,3	15,5	0,6	1,5	16,2	4,6	0,3	1,2
20	60	0,4	0,9	15,3	0,9	1,7	40,2	4,8	0,6	2,6
35	40	0,2	0,1	9,9	0,3	1,9	32,7	2,4	0,2	3,0
35	60	0,4	-	25,3	0,5	1,6	65,5	3,6	0,1	2,0
16,9	50	0,4	0,5	13,5	0,6	1,3	33,0	4,3	0,4	2,2
38,1	50	0,3	0,1	17,1	0,5	2,9	41,0	4,1	0,3	2,2
27,5	36	0,9	0,2	34,2	1,4	2,1	84,7	9,5	0,6	2,4
27,5	64	0,6	0,3	25,6	0,8	-	38,6	7,7	0,4	1,8
27,5	50	1,1	0,7	48,0	2,1	-	165,3	13,1	1,0	3,6

La significancia estadística de los factores evaluados sobre el perfil en ácidos grasos se muestra en la Tabla 4. Se observa que, el término cuadrático de la presión (AA) y de la temperatura (BB) fueron estadísticamente significativos ($p < 0,05$) sobre el

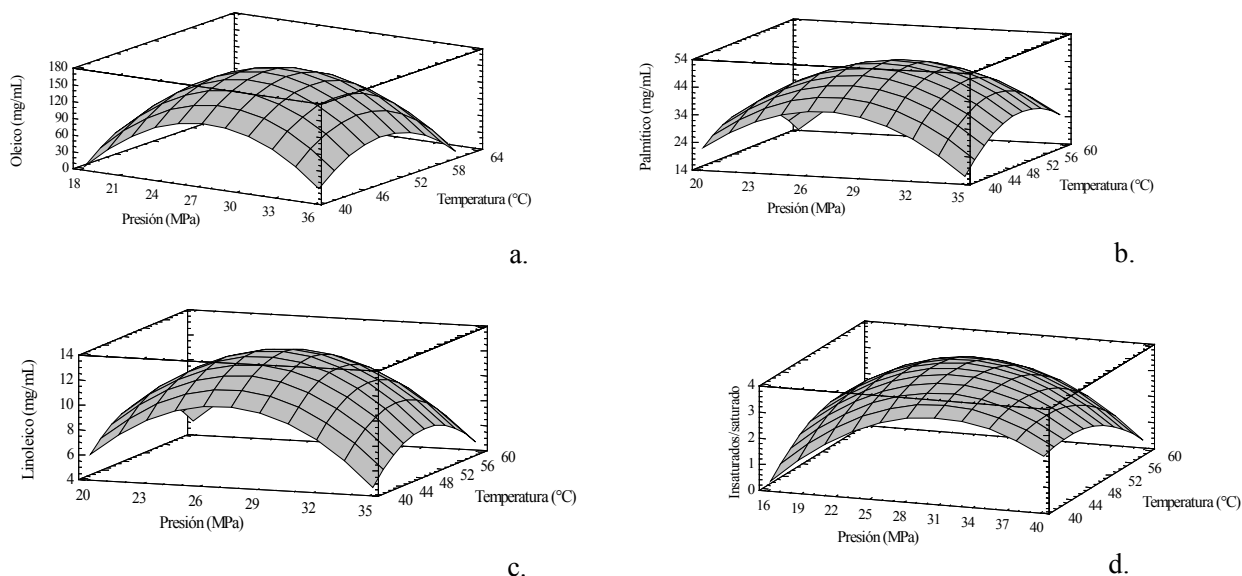
contenido de ácido láurico, palmítico, palmitoleico, oleico, linoleico, linolénico en el aceite. La presión (P), la temperatura (T) y la interacción presión-temperatura (AB) no tuvieron un efecto significativo sobre el contenido de ácido esteárico.

Tabla 4. Significancia estadística de los factores sobre el perfil en ácidos grasos del aceite de semillas de papaya.

Fuente	C12:0	C14:0	C16:0	C16:1	C18:1	C18:2	C18:3	Ácidos grasos Insaturados/saturados
	p-valor							
A:Presión	0,2186	0,0052	0,2921	0,1008	0,1925	0,2056	0,0603	0,2776
B:Temperatura	0,5294	0,0277	0,6938	0,4756	0,7885	0,6430	0,8914	0,7361
AA	0,0048	0,0090	0,0038	0,0034	0,0046	0,0040	0,0088	0,0109
AB	0,2265	0,0153	0,0806	0,8378	0,6986	0,5630	0,1221	0,0574
BB	0,0172	0,0071	0,0107	0,0072	0,0069	0,0124	0,0146	0,0054
Bloques	0,1313	0,9483	0,3498	0,4007	0,1350	0,9451	0,6206	0,3498
Falta de ajuste	0,1530	0,1277	0,1967	0,223	0,1992	0,2345	0,3918	0,1967

La Figura 3, muestra las superficies de respuesta para los ácidos grasos presentes en mayor concentración y la relación de ácidos grasos insaturados/saturados. De esta manera, se observa que los términos cuadráticos de la presión (BB) y la temperatura

(AA) ejercen un efecto negativo sobre el contenido de los ácidos grasos: oleico (Figura 4a), palmítico (Figura 3b), linoleico (Figura 3c) y sobre la relación insaturados/saturados (Figura 3d).

**Figura 3.** Superficie de respuesta para el efecto de la temperatura y presión sobre el contenido de: (a) ácido oleico, (b) ácido palmítico, (c) ácido linoleico y (d) relación de ácidos grasos insaturados/saturados.

Compuestos minoritarios del aceite de semillas de papaya

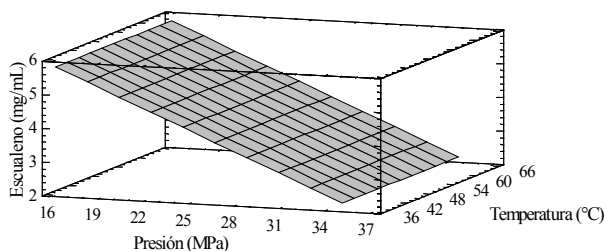
La Tabla 5 muestra la composición del aceite de semillas de papaya en escualeno, esteroides y tocoferoles bajo las diferentes condiciones de presión (P) y temperatura (T). El escualeno con 3,57 mg/mL se encontró en mayor concentración promedio que

los demás compuestos. El β -sitosterol con una concentración promedio de 3,39 mg/mL fue el esteroide mayoritario, seguido de la sitostenona (3,22 mg/mL) y cicloartenol (0,60 mg/mL) y en menor concentración el campesterol (0,44 mg/mL) y estigmasterol (0,23 mg/mL).

Tabla 5. Concentración de escualeno, tocoferoles y esteroides en aceite de semillas de papaya (mg/mL).

P (MPa)	T (°C)	Escualeno	α -tocoferol	Campesterol	Estigmasterol	β -Sitosterol	Cicloartenol	Sitostenona
20	40	5,3	0,2	0,5	0,3	3,3	0,6	3,4
20	60	6,3	0,2	0,6	0,3	4,5	0,7	4,1
35	40	1,5	0,1	0,3	0,2	2,4	0,4	1,6
35	60	1,6	0,1	0,3	0,1	2,2	0,4	2,0
16,9	50	5,0	0,2	0,4	0,2	2,9	0,6	3,7
38,1	50	2,9	0,1	0,4	-	3,5	0,6	3,0
27,5	36	2,4	0,2	0,4	-	3,1	0,5	2,7
27,5	64	3,2	0,2	0,6	0,3	4,1	0,7	3,8
27,5	50	4,1	0,3	0,7	0,2	4,6	0,9	4,9

De acuerdo al análisis de varianza (ANOVA), los factores presión y temperatura y sus interacciones no tuvieron un efecto estadísticamente significativo ($p > 0,05$) sobre el contenido de α -tocoferol, campesterol, estigmasterol, β -sitosterol, cicloartenol y sitostenona en el aceite de semillas de papaya obtenido con CO_2 -SC. Solamente la presión tuvo un efecto significativo ($p < 0,05$) sobre la concentración de escualeno en el aceite, como se muestra en la Figura 4.

**Figura 4.** Superficie de respuesta para el efecto de la temperatura y presión sobre el contenido de escualeno en aceite de papaya.

Propiedades fisicoquímicas del aceite de semillas de papaya

Las propiedades fisicoquímicas del aceite de semillas de papaya obtenido con CO_2 -SC, se muestran en la Tabla 6.

Tabla 6. Propiedades fisicoquímicas de aceite de semillas de papaya

Parámetro	Papaya	Uva (29)
Densidad (g/mL)	0,9464	0,920-0,926
Índice de Refracción	1,473	1,467-1,477
Índice de Peróxido (meq H_2O_2 /kg)	0	< 10*
Índice de Saponificación (mg KOH/g)	177	188-194
Índice de Yodo (g/100g)	68,4	128-150
Índice de Acidez (mg KOH/g)	5,54	< 4*

* Establecido para aceites comestibles (30)

DISCUSIÓN

La extracción de aceite de semillas de papaya con CO_2 -SC, presentó un rendimiento máximo experimental de 21,96% a 38,1 MPa y 50°C (Tabla 1). Un rendimiento superior fue obtenido por otros autores utilizando CO_2 -SC a 27 MPa y 54°C, pero durante un tiempo de 3 h (31). Barroso *et al.* (2016) (6), obtuvieron un rendimiento de tan solo 2,56% a 20 MPa y 80°C. Este bajo rendimiento está relacionado principalmente con la baja presión empleada, tal y como se evidenció en este estudio (Tabla 1). Por otra parte, un rendimiento en aceite cercano al obtenido, lo reporta Samaram *et al.* (2013) (11), para aceite de semillas de papaya utilizando extracción asistida por ultrasonido (22,3%), mientras que por extrusión se han reportado rendimientos entre el 13,9 y 15,2% (5). Empleando extracción soxhlet se ha llegado a obtener 30,7% (10), 28,5% (5) y 27% (1) de rendimiento en aceite. En general, las diferencias en los rendimientos pueden estar relacionadas con el origen de la materia prima, variedad, el tipo de solvente y el método de extracción empleado (32).

En la Figura 2, se observa que la presión tiene un efecto significativo y positivo sobre el rendimiento en aceite de semillas de papaya obtenido con CO_2 -SC. El rendimiento aumentó en promedio un 13,4%, al incrementar la presión de 20 a 35 MPa. El incremento en la presión, aumenta densidad del CO_2 -SC, resultando en una mayor capacidad de solvatación del aceite (14). La temperatura tuvo un efecto negativo sobre el rendimiento, de esta manera al incrementar la temperatura de 40 a 60°C el rendimiento disminuyó en 2,7 unidades porcentuales. Un comportamiento similar fue reportado en la extracción supercrítica en aceite de semillas de *Moringa oleifera* (33).

Generalmente, el efecto de la temperatura sobre el poder de solvatación suele ser opuesto y resulta en

el cruce de isothermas, un fenómeno conocido como punto de entrecruzamiento o también llamado “*crossover point*”. Por debajo de este punto de presión, el efecto de la temperatura de extracción domina sobre la densidad del solvente, disminuyendo su solubilidad al aumentar la temperatura, mientras que, por encima del punto de entrecruzamiento, predomina el efecto del incremento de la temperatura, sobre la presión del vapor del soluto y en consecuencia aumenta el rendimiento global (33). Sin embargo, en este caso se evidenció que, al trabajar con una presión elevada, el rendimiento en aceite disminuyó al aumentar la temperatura de 40 a 60°C. Por lo tanto, se considera que la solubilidad está gobernada en este caso por la densidad del CO₂-SC. Por tal motivo, es posible que el rango de presión empleado para la extracción, se encuentre por debajo del punto de entrecruzamiento. Un comportamiento similar se evidenció en la extracción de aceite de café tostado (34).

Al realizar la combinación de los niveles de los factores que maximizan el rendimiento, se obtuvo un rendimiento óptimo del 26,3% a 38,1 MPa y 36°C (Figura 2.), el cual es un porcentaje cercano a los reportados para aceites de semillas de maracuyá (15) y de semillas de durazno (16) obtenidos con CO₂-SC. El alto rendimiento en aceite de las semillas de papaya, muestran su potencial como fuente viable de aceite vegetal libre de solventes orgánicos, al obtenerse mediante la extracción con CO₂-SC, la cual es una tecnología empleada por empresas líderes en la obtención de extractos vegetales, con aplicaciones en el área de alimentos, perfumería, nutracéuticos y cosmética (35).

La optimización del rendimiento de extracción proporcionó un modelo matemático de segundo orden para la superficie de respuesta (Ecuación 1), donde R representa el rendimiento de extracción (% p/p), P es la presión de extracción (MPa) y T es la temperatura (°C). El modelo matemático explica el 97,53% de la variabilidad de los datos observados con un 95% de nivel de confianza. Además, los resultados no mostraron falta de ajuste (Tabla 2.), por lo tanto, el modelo describe de manera adecuada los datos experimentales.

$$R = 2,26566 + 0,0524503 P - 0,395335 T + 0,00021891 P^2 - 0,00166873 P T + 0,00718767 T^2 \quad (\text{Ecuación 1})$$

La concentración promedio de ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados fue

de 24,98 mg/mL (31,32%), 58,30 mg/mL (60,92%) y 6,44 mg/mL (8,11%), respectivamente. Otros estudios en torno a la extracción de aceite de semillas de papaya reportan una proporción de ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados de 29%, 68% y 3%, respectivamente en aceite extraído por prensado (5) y de 22%, 74% y 5%, respectivamente en aceite obtenido por soxhlet (1). Aunque se presentan algunas diferencias entre la composición promedio obtenida en el presente estudio y la reportada por otros autores, la extracción supercrítica puede llegar a facilitar una extracción selectiva mediante variaciones de presión y temperatura como se puede observar en la tabla 3, a diferencia de otros métodos de extracción.

Por otra parte, la relación de ácidos grasos insaturados/saturados del aceite de semillas de papaya obtenido con CO₂-SC se ve favorecida principalmente por el contenido de ácido oleico entre 16,15 mg/mL y 165,33 mg/mL (40,65 - 71,20%), como en el aceite de semillas de durazno (16) y es cercano al reportado en aceites comerciales como el de canola (64%) (36) y oliva (71,4%-76,8%) (37). Este ácido graso (tipo omega-9) se caracteriza por tener un efecto favorable en la prevención de enfermedades cardiovasculares (38) y es considerado como indicador de alta estabilidad en aceites para frituras (11) ya que es estable frente a la termo-oxidación por la presencia de una sola insaturación (1). Por otro lado, la industria cosmética presenta interés en los aceites con un alto contenido de ácidos grasos insaturados para su uso en cremas hidratantes (35).

En la Figura 3, se observa que los parámetros óptimos de presión y temperatura de extracción para la obtención de un aceite con un alto contenido en los ácidos grasos (oleico, palmítico y linoleico), así como para la relación de insaturados/saturados, se encuentran alrededor de los 27,2-28,5 MPa y una temperatura de 50°C, con lo cual se logra obtener 165 mg/mL de ácido oleico, 48 mg/mL de ácido palmítico, 13 mg/mL de ácido linoleico (ácido graso omega-6) y una relación máxima de ácidos grasos insaturados/saturados de 3,9.

En la Tabla 5, se muestran los resultados en cuanto al contenido de escualeno, esteroides y tocoferoles. Lee *et al.* (2011) (5), reportaron una mayor concentración en β-sitosterol, campesterol y estigmasterol para aceite de semillas de papaya obtenido por extrusión. Una alta concentración de β-sitosterol en un aceite es importante ya que tiene un enorme potencial farmacológico. Pequeñas

dosis de β -sitosterol pueden actuar como agente quimiopreventivo de cáncer de colon y de mama (39). Por otra parte, en particular el estigmasterol se emplea en forma directa para la elaboración de drogas con corticoides y el campesterol tiene usos cosméticos (40).

Con respecto al contenido de tocoferoles, solamente se identificó la presencia de α -tocoferol con una concentración promedio de 0,17 mg/mL (180 mg/kg), el cual es superior a lo reportado por otros autores (60 mg/kg) (41) en aceite de semillas de papaya obtenido mediante extracción soxhlet utilizando hexano como solvente. Estos valores son cercanos al contenido de α -tocoferol encontrado en aceites comerciales como el de olivas (50-370 mg/kg) (42) y de canola (263 mg/kg) (36). El α -tocoferol es ampliamente utilizado como antioxidante para aceites comestibles (43). Además, es el isómero con mayor actividad biológica y es considerado el principal componente de la vitamina E (44).

Por otra parte, al observar la Figura 4, la presión ejerce un efecto negativo estadísticamente significativo sobre el contenido de escualeno en el aceite de semillas de papaya. Por lo tanto, una baja presión de extracción favorece la obtención de un aceite rico en escualeno, como lo mencionan otros autores (45, 46). Este hecho se debe a que, en sistemas de múltiples componentes, la presencia de otros compuestos puede reducir la solubilidad de otro al incrementar la presión (45).

Las condiciones estimadas a partir del modelo de superficie de respuesta, para obtener un contenido máximo de 5,64 mg/mL (5.954 mg/kg) de escualeno en el aceite, se encuentran alrededor de 16,9 MPa y 36°C (Figura 4), obteniendo una concentración en escualeno cercana a la encontrada en aceite de oliva (2.000-7.000 mg/kg), el cual es considerado como la fuente más rica de escualeno (47). Este compuesto es un triterpeno poliinsaturado precursor bioquímico del colesterol y otros esteroides, el cual es utilizado ampliamente como excipiente en formulaciones farmacéuticas (48), por sus propiedades preventivas del cáncer (47) y la disminución de los efectos secundarios de la quimioterapia (49). Además, el escualeno, se utiliza en los productos para el cuidado de la piel debido a su efecto fotoprotector (49). En consecuencia, un alto contenido de escualeno en el aceite de papaya puede resultar de interés para su uso a nivel farmacológico y cosmético.

Con el fin de estimar la calidad del aceite de semillas de papaya obtenido con CO_2 -SC, se de-

terminaron algunas propiedades fisicoquímicas. De acuerdo a los resultados que se muestran en la Tabla 6, el aceite presentó un índice de refracción cercano al reportado por Bouanga-Kalo *et al.* (2011) (32) para aceite de papaya y similar al de semillas de uva (29). El **índice de peróxidos** fue de 0 meq H_2O_2 /kg, lo cual indica que no se generaron peróxidos e hidroperóxidos por la oxidación de lípidos durante la extracción y análisis de los aceites cumpliendo con lo estipulado por el Codex (< 10 meq H_2O_2 /kg) (30) y las normas para aceites procesados y almacenados (1 meq H_2O_2 /kg) (49). Un estudio previo (32) también reportó un bajo índice de peróxidos (0,05 -2,20 meq H_2O_2 /kg) para aceite de semillas de papaya. Por lo tanto, este aceite exhibe alta estabilidad frente a la oxidación. Por otra parte, el índice de yodo (68 g/100 g), mostró que este aceite posee un alto grado de insaturaciones, tal como lo estimaron otros investigadores con 64,1 g/100 g (5), 66 g/100 g (10) y 76,9 g/100 g (1). Se obtuvo un índice de saponificación de 177 mg KOH/g, lo cual puede indicar que este aceite posee en promedio triacilglicerol de bajo peso molecular, como se reporta en otros estudios (5). Este valor además es cercano al del aceite de semillas de uva, el cual es un aceite generalmente empleado en cosmética (29). El índice de acidez fue de 5,54 mg/g, al igual que lo encontrado para el aceite de semillas de papaya extraído por prensado (5), lo cual está por encima de lo sugerido por el Codex (30) para aceites comestibles (4 mg/g). Este hecho podría atribuirse a la hidrólisis enzimática por la lipasa de *C. papaya* durante el secado de las semillas y en el proceso de extracción (5).

CONCLUSIONES

Los resultados mostraron que un modelo de segundo orden, describe de manera adecuada la extracción supercrítica del aceite de semillas de papaya. La presión, la temperatura y sus interacciones, tuvieron un efecto estadísticamente significativo ($p < 0,05$) sobre el rendimiento en aceite. Un rendimiento del 26,3 % se puede lograr empleando condiciones óptimas de extracción (38,1 MPa y 36°C). Este estudio reveló además, que el aceite de semillas de papaya presenta un alto contenido en ácidos grasos insaturados, principalmente de ácido oleico. La composición en cuanto a ácidos grasos (oleico, palmitico, linoleico), la relación de ácidos grasos insaturados/saturados, así como el contenido de escualeno, se ven afectados por las condiciones de extracción. El aceite de semillas de

papaya presentó compuestos minoritarios tales como: escualeno y α -tocoferol, en concentraciones cercanas a las reportadas para aceites comerciales comestibles. Por lo tanto, el aceite de semillas de papaya presenta un gran potencial para ser usado como ingrediente natural en la industria alimentaria, farmacéutica y/o cosmética.

AGRADECIMIENTOS

Agradecimientos al Fondo de Ciencia, Tecnología e Innovación del Sistema General de Regalías de Colombia y a la Universidad de Nariño por el apoyo financiero para la ejecución del presente proyecto de investigación código BPIN 2013000100001.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran que no existe ningún conflicto de interés en relación a la originalidad del trabajo y el contenido del mismo.

LIMITACIONES DEL ESTUDIO

La variedad de papaya, condiciones de secado, humedad de las semillas, tamaño de partícula, así como el uso de un flujo de CO₂ y tiempo de extracción diferente al empleado en el presente estudio puede afectar el resultado del rendimiento en aceite de las semillas.

REFERENCIAS

- Manaf N, Nazrim J, Nusantoro B, Long K, Ghazali H. Physico-chemical Characteristics of Papaya (*Carica papaya* L.) Seed Oil of the Hong Kong/Seikai Variety. *J. Oleo Sci.* 2009. 9: 885-892.
- SIPA, Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, DANE. Boletín semanal precios mayoristas. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. Bogotá: República de Colombia. 2013.
- Hameed BH. Evaluation of papaya seeds as a novel non-conventional low-cost adsorbent for removal of methylene blue. *J Hazard Mater.* 2009. 162: 939-944.
- Bhattacharjee P, Singhal R, Gholap A. Supercritical carbon dioxide extraction for identification of adulteration of black pepper with papaya seeds. *J Sci Food Agric.* 2003. 83: 783-786.
- Lee WJ, Lee MH, Sua NW. Characteristics of papaya seed oils obtained by extrusion-expelling processes. *J Sci Food Agric.* 2011. 91: 2348-2354.
- Barroso PT, de Carvalho PP, de Rocha T, Pessoa F, Azevedo DA, Mendes MF. Evaluation of the composition of *Carica papaya* L. seed oil extracted with supercritical CO₂. *Biotechnology Reports.* 2016. 11: 110-116.
- Ortega A, Jimenez M, Acosta K, Guzman E, Gutierrez E, Luna W, Pérez M. Effects of papaya seeds extract on the sperm characteristics of dogs. *Anim Reprod Sci.* 2011. 129: 82-88.
- Wilson R K, Kwan T, Kwan C Y, Sorger G J. Effects of papaya seed extract and benzyl isothiocyanate on vascular contraction. *Life Sci.* 2002. 71: 497-507.
- Franco C, Jiménez A, Luna C, Figueroa RF. Efecto tóxico de semillas de cuatro variedades de carica papaya (*Caricaceae*) en *Spodoptera frugiperda* (*Lepidoptera: Noctuidae*). *Folia Etomol.* 2006. 45(2): 171-177.
- Puangri T, Abdulkarim SM, Ghazali HM. Properties of *Carica papaya* L. (papaya) seed oil following extractions using solvent and aqueous enzymatic methods. *J Food Lipids.* 2005. 12: 62-76.
- Samaram S, Mirhosseini H, Ping Tan C, Mohd H. Ultrasound-Assisted Extraction (UAE) and solvent extraction of papaya seed oil: yield, fatty acid composition and triacylglycerol profile. *Molecules.* 2013. 18: 12474-12487.
- Sahena F, Zaidul I, Jinap S, Karim A, Abbas K, Norulaini N, Omar A. Application of supercritical CO₂ in lipid extraction- A review. *J Food Process Eng.* 2009. 95: 240-253.
- de Melo A, Silvestre A, Silva C. Supercritical fluid extraction of vegetable matrices: Applications, trends and future perspectives of a convincing green technology. *J Supercrit Fluid.* 2014. 92: 115-176.
- Hurtado-Benavides A, Martín-Álvarez P, Vázquez L, Reglero G, Señoráns F, Ibañez E. Optimization of Countercurrent Supercritical Fluid Extraction of Minor Components from Olive Oil. *Current Analytical Chemistry.* 2014. 10: 78-85.
- Liu S, Yang F, Zhang C, Ji H, Hong P, Deng C. Optimization of process parameters for supercritical carbon dioxide extraction of Passiflora seed oil by response surface methodology. *J Supercrit Fluid.* 2009. 48: 9-14.
- Mezzomo N, Martínez J, Ferreira, S. Supercritical fluid extraction of peach (*Prunus persica*) almond oil: Kinetics, mathematical modeling and scale-up. *The J of Supercrit Fluid.* 2009. 51: 10-16.
- Liu G, Xu X, Gong Y, He L, Gao Y. Effects of supercritical CO₂ extraction parameters on chemical composition and free radical-scavenging activity of pomegranate (*Punica granatum* L.) seed oil. *Food Bioprod Process.* 2012. 90: 573-578.
- Duba KS, Fiori L. Supercritical CO₂ extraction of grape seed oil: Effect of process parameters on the extraction kinetics. *J Supercrit Fluid.* 2015. 98: 33-43.
- Ibañez E, Hurtado Benavides A., Señoráns F, Reglero G. Concentration of sterols and tocopherols from olive oil with supercritical carbon dioxide. *JAOCs* 2002. 79 (12): 1255-1260
- Christie WW. Gas chromatography-mass spectrometry methods for structural analysis of fatty acids. *Lipids.* 1998. 33: 343-353.
- Matthaus B, Ozcan M. Determination of fatty acid, tocopherol, sterol contents and 1,2- and 1,3- diacylglycerols in four different virgin olive oil. *J Food Process Technol.* 2011. 2(4): 1-4.
- Dhara R, Bhattacharyya D, Ghosh M. Analysis of sterol and other components present in unsaponifiable matters of mahua, sal and mango kernel oil. *J Oleo Sci.* 2010. 59 (4): 169-176.
- NTC 336. Grasas y Aceites Animales y Vegetales. Método de la determinación de la densidad (Masa por volumen convencional). Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación (ICONTEC). 2002.
- NTC 289. Grasas y aceites animales y vegetales. Determinación del índice de refracción. Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación (ICONTEC). 2002
- NTC 218. Grasas y aceites vegetales y animales. Determinación del índice de acidez y de la acidez. Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación (ICONTEC). 1999.
- NTC 283. Grasas y aceites vegetales y animales. Determinación del índice de yodo. Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación (ICONTEC). 1998.
- AOAC 920.160-1920. Saponification number (koettstorfer number) of oils and fats. Titrimetric method.
- AOAC 965.33-1969. Peroxide Value of Oils and Fats.
- NTC 265. Grasas y aceites comestibles vegetales y animales. Aceite de semillas o pepitas de uva. Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación (ICONTEC) 1-7. 1996.

30. Codex Alimentarius. (Enmendado 2003, 2005). Norma del Codex para aceites vegetales especificados. Codex-Stan 210.
31. Chujin D, Qiang D, Changsong Z, Liang Z, Shucheng L. Optimization of extraction process of papaya seed oil by supercritical carbon dioxide based on neural network. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2012. 2p.
32. Bouanga Kalo G, Matos L, Nzikou J, Ganongo-Po F, Malela K, Tchicaillat-Landou, M, Desobry S. (2011). Physico-chemical properties of seed oil from papaya (*Carica papaya*) and the kinetics of degradation of the oil during heating. Adv J Food Sci Technol. 2011. 3(1): 45-49.
33. Ruttarattanamongkol K, Siebenhandl-Ehn S, Schreiner M, Petrasch A M. Pilot-scale supercritical carbon dioxide extraction, physico-chemical properties and profile characterization of *Moringa oleifera* seed oil in comparison with conventional extraction methods. Ind Crop Prod. 2014. 58: 68-77.
34. Hurtado-Benavides AM, Dorado-AD, Sánchez-Camargo A. Study of the fatty acid profile and the aroma composition of oil obtained from roasted Colombian coffee beans by supercritical fluid extraction. J Supercrit Fluid. 2016. 113: 44-52.
35. del Valle JM. Extraction of natural compounds using supercritical CO₂: Going from the laboratory to the industrial application. J Supercrit Fluid. 2015. 96: 180-199.
36. Flakelar C, Luckett DJ, Howitt JA, Doran G, Prenzler P. Canola (*Brassica napus*) oil from Australian cultivars shows promising levels of tocopherols and carotenoids, along with good oxidative stability. J. Food Comp. Anal. 2015. 42: 179-186.
37. Baccouri B, Zarrouk W, Baccouri O, Guerfel M, Nouairi I, Krichene D, Zarrouk M. Composition, quality and oxidative stability of virgin olive oils from some selected wild olives (*Olea europaea* L. subsp. *Oleaster*). Grasas Aceites. 2008. 59(4): 346-351.
38. Castro M, Herrera C, Lutz G. Composición, caracterización y potencial aterogénico de aceites, grasas y otros derivados producidos o comercializados en Costa Rica. Acta Médica Costa Rica. 2005. 47: 36-42.
39. Oliveira EM, Freitas SL, Martins FS, Couto RO, Paula JR. Isolation and quantitative HPLC-PDA analysis of β -sitosterol in phytopharmaceutical intermediate products from *Vernonanthura*. Química Nova. 2012. 35(5): 1041-1045.
40. Pramparo M, Prizzon S, Martinello M. Estudio de la purificación de ácidos grasos, tocoferoles y esteroides a partir del destilado de desodorización. Grasas Aceites. 2005. 56(3), 228-234.
41. Iriarte SM, Pizarro PL, Valdiviezo C, Taboada V, Summán N. Determinación de antioxidantes en aceites de semillas de frutos nativos de la provincia de Jujuy. XIV Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología CYTAL. 2013. 1-5.
42. Boskou D. Olive oil: Properties and processing. En G. Talbot (Ed.), Specialty Oils and Fats in Food and Nutrition. Thessaloniki, Hellas: Woodhead Publishing Limited is an imprint of Elsevier. 2015. Vol. 290.
43. Arora S, Bagoria R, Kumar M. Effect of alpha-tocopherol (Vitamin E) on the thermal degradation behavior of edible oils. J Therm Anal Calorim. 2010. 102: 375-381.
44. Azzi A, Breyer I, Feher M, Ricciarelli R, Stocker A, Zimmer S, Zingg J. Vitamin E mediates cell signaling and regulation of gene expression [Review]. J Nutr. 2001. 131(2): 378-81.
45. Kraujalis P, Venskutonis PR. Supercritical carbon dioxide extraction of squalene and tocopherols from amaranth and assessment of extracts antioxidant activity. J Supercrit Fluid. 2013. 80: 78-85.
46. Hurtado A. Estudio del proceso de extracción de componentes minoritarios de aceites de oliva con CO₂ Supercrítico en contracorriente. [Tesis Doctoral]. [Madrid, España]: Universidad Autónoma de Madrid: 2002.
47. Smith TJ. Squalene: potential chemopreventive agent. Expert Opin Investig Drugs. 2000. 9 (8): 1841-1848.
48. Reddy LL, Couvreur P. Squalene: A natural triterpene for use in disease management and therapy. Adv Drug Deliver Rev. 2009. 61: 1412-1426.
49. Das B, Yeger H, Baruchel H, Freedman MH, Koren G, Baruchel S. In vitro cytoprotective activity of squalene on a bone marrow versus neuroblastoma model of cisplatin-induced toxicity: implications in cancer chemotherapy. Eur J Cancer. 2003. 39: 2556-2565.
50. Ministerio de salud y protección social de Colombia. Resolución 2154: Requisitos sanitarios que deben cumplir los aceites y grasas de origen vegetal o animal que se procesen, envasen, almacenen y transporten. 2012.