



Comparación de métodos de extracción de oleoresina de pprika (*Capsicum annuum L.*) convencionales con una tecnología amigable al medio ambiente

Francisco Javier Giraldo Rojas¹ / Maritza Andrea Gil Garzon² / Luz María Alzate Tamayo³ / Ana María Restrepo Duque⁴ / Leonidas Millan Cardona⁵ / Andrés Francisco Ordoñez Castillo⁶ / Carlos Esteban Restrepo Restrepo⁷

Línea de investigación: Productos naturales. Grupo de investigación en Alimentos. GRIAL

Comparison of conventional extracting methods of paprika oleoresin (*Capsicum Annuum L.*) with an environmentally friendly technology

Comparação de Métodos de extração de leo-resina de pprika (*Capsicum annuum L.*) convencionais com uma tecnologia amigavel com o médio ambiente

¹ Químico Farmacéutico. Magíster en Ciencias Químicas. Docente del Programa de Ingeniería de Alimentos, Corporación Universitaria Lasallista. ²Ingeniera de Alimentos. Magster en Ciencias-Química. Docente del Programa de Ingeniería de Alimentos, Corporación Universitaria Lasallista. ³Ingeniera de Alimentos, Especialista en Aseguramiento de la Calidad Microbiolgica. Docente del Programa de Ingeniería de Alimentos, Corporación Universitaria Lasallista. ⁴Ingeniera Química, Magíster en Ciencia y Tecnología de Alimentos, Docente del Programa de Ingeniería de Alimentos, Corporación Universitaria Lasallista. ⁵Ingeniero Industrial, Especialista en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Docente del Programa de Ingeniería de Alimentos, Corporación Universitaria Lasallista. ⁶Ingeniero Químico. Jefe de Investigación y Desarrollo Colflavor S.A. ⁷Ingeniero de Alimentos. Gerente Colflavor S.A.

Correspondencia: Maritza Andrea Gil Garzón. e-mail: magil@lasallista.edu.co

Fecha de recibo: 22/08/2009; fecha de aprobación:26/10/2009

RESUMEN

Introducción. La oleoresina de paprika (*Capsicum annuum L.*) representa un producto con un gran valor agregado en los mercados internacionales para la industria alimentaria y farmacéutica.

Objetivo. Comparar el rendimiento de la oleoresina de paprika extraída por medio de fluidos supercríticos utilizando dióxido de carbono y por Soxhlet con tres solventes orgánicos (acetato de etilo, hexano y éter de petróleo).

Materiales y métodos. El equipo de fluidos supercríticos operó a 280 y 350 bar y 70C. La muestra también fue caracterizada desde el punto de vista microbiológico y fisicoquímico (color según el método ASTA).

Resultados. Los rendimientos de la extracción por fluidos supercríticos presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre las presiones evaluadas. La extracción con acetato de etilo mostró el mejor rendimiento y mayor valor en grados de color ASTA.

Conclusión. La extracción a 350 bar y 70C presenta un rendimiento y una calidad comparables con las del método convencional Soxhlet, pero con ventajas ambientales por no dejar residuos de solventes orgánicos tóxicos en el producto final.

Palabras clave: Fluidos supercríticos, carotenoides, paprika, *Capsicum annuum L.*, Soxhlet, ASTA.

ABSTRACT

Introduction. Paprika oleoresin (*Capsicum annuum L.*) is a product with a great added value in international markets for food and pharmaceutical industries.

Objective. This research work aims to compare the performance of the paprika oleoresin extracted by the use of supercritical fluids, with carbon dioxide, and by the use of Soxhlet with three organic solvents (ethyl acetate, hexane and petroleum ether).

Materials and methods. The supercritical fluids equipment operated at 280 and 350 bar and 70C. The sample was also characterized from the micro biological and physical chemical points of view (color according to the ASTA method).

Results. The performances of supercritical fluids extracting method had significant differences ($p < 0.05$) between the pressures evaluated. The extraction with ethyl acetate had the best performance and the highest value in degrees of ASTA color.

Conclusion. In conclusion, the extraction at 350 bar and 70C has a performance and a quality that can be compared to those of the Soxhlet conventional method, but also has environmental advantages because it does not leave organic solvent remains in the final product.

Key words: Supercritical fluids, carotenoids, paprika, *Capsicum annuum L.*, Soxhlet, ASTA.

RESUMO

Introduao. O leo-resina de pimentao (*Capsicum annuum L.*) representa um produto com um grande valor agregado nos mercados internacionais para a indústria alimentaria e farmaceutica.

Objetivo. Nesta investigação se compara o rendimento do óleo-resina de pimentão extraído por meio de fluidos supercríticos utilizando dióxido de carbono e por Soxhlet com três solventes orgnicos (acetato de etilo, hexano e ter de petróleo).

Materiais y métodos. A equipe de fluidos supercríticos operou a 280 e 350 bar e 70C. A mostra também foi caracterizada desde o ponto de vista microbiológico e físico-químico (cor segundo o método ASTA).

Resultados. Os rendimentos da extração por fluidos supercríticos apresentaram diferenças significativas ($p < 0.05$) entre as pressões avaliadas. A extração com acetato de etilo mostrou o melhor rendimento e maior valor em graus de cor ASTA.

Conclusão. Em conclusão, a extração a 350 bar e 70C apresenta um rendimento e qualidade comparável com o método convencional Soxhlet, mas com vantagens ambientais por não deixar resíduos de solventes orgnicos tóxicos no produto final.

Palavras importante: Fluidos supercríticos, carotenóides, pprika, *Capsicum annuum* L., Soxhlet, ASTA.

INTRODUCCIÓN

La oleorresina de pprika se considera como un extracto líquido graso de *viscosidad media obtenido a partir de los frutos de pimentón (Capsicum annuum L.)*. Su alto contenido en carotenoides es la razón de los colores rojo (capsantina y capsorubina) y amarillo (violoxantina, β -caroteno, β -cryptoxantina)¹. La pprika y su oleorresina son considerados productos de gran valor en mercados internacionales para las industrias alimentaria y farmacéutica, en las cuales su uso principal es como colorante natural por su alto contenido de capsantina y capsorubina². En Colombia se cultiva y crece de forma silvestre, siendo una planta de crecimiento favorable en climas cálidos, es decir, regiones como la Costa Atlántica y el Valle del Cauca, ofreciendo así una posibilidad de sustitución de cultivos ilcitos³.

La oleorresina de pprika es obtenida por métodos convencionales de extracción con solventes orgánicos, siendo el hexano el más empleado actualmente en la industria alimenticia⁴. En la actualidad se utiliza como tecnología emergente la extracción con dióxido de carbono en condiciones supercríticas,^{5,6} aunque, en nuestro país, su uso se encuentra en ascenso, según se reporta en otras investigaciones.⁷

La tecnología de extracción por fluidos supercríticos surge como una alternativa para sustituir métodos convencionales, como la extracción sólido-líquido Soxhlet. Por el carácter lipofílico de los carotenoides presentes en la pprika, estos se solubilizan fácilmente en el CO₂ supercrítico, permitiendo su extracción a bajas temperaturas y evitando la pérdida de compuestos termolábiles causada por degradación térmica. Otra de las ventajas es que el CO₂, después de la etapa de despresurización y aislamientos de la oleorresina, puede ser recogido y reciclado,

lo que reduce la contaminación ambiental y representa reducción de costos operativos dentro del proceso. De igual forma, al eliminar los solventes orgánicos dentro del proceso de extracción, existe la ventaja de que la oleorresina se encuentra bajo condiciones apropiadas para el consumo humano directo, ya que en el caso de la extracción con hexano -uno de los solventes más utilizados- no se permiten cantidades residuales de este solvente por encima de 25 mg/kg⁸.

Dentro de los parámetros para determinar la calidad y el valor comercial de la oleorresina se encuentra la medición del color en grados ASTA (*American Spice Trade Association*)⁹, que expresa el contenido total de carotenoides, un factor importante en el aspecto comercial junto con el rendimiento en la producción agroindustrial.

Este trabajo tiene como objetivo comparar el rendimiento y los grados ASTA de la oleorresina de pprika extraída mediante Soxhlet con diferentes solventes, con la extraída por fluidos supercríticos, como alternativa de obtención de un producto libre de residuos orgánicos contaminantes del medio ambiente y perjudiciales para la salud.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales y solventes

Se utilizó una muestra de pprika comercial importada por TECNAS[®]. Los solventes utilizados para la extracción por el método convencional Soxhlet fueron hexano, acetato de etilo y éter de petróleo (grado reactivo, Merck) Para la extracción con fluidos supercríticos se utilizó dióxido de carbono con un 99,5% (AGAFANO) de pureza.

Material vegetal

La pprika (*Capsicum annuum L*) fue tamizada para alcanzar un tamaño de partícula de 500 μ . La muestra fue caracterizada a nivel fisicoquímico determinando su humedad, cantidad de proteína y cenizas totales¹⁰ y, a través de análisis microbiológicos, se realizó la cuantificación de mesófilos aerobios, coliformes, salmonella, mohos y levadura. Todos los análisis microbiológicos se llevaron a cabo bajo la norma AOAC¹¹.

Extracción Soxhlet

Para la extracción Soxhlet con solventes orgánicos se utilizó acetato de etilo, hexano y éter de petróleo. Se us una muestra de pprika molida con un tamaño de partícula de 500 μ , durante un tiempo de extracción de 2,5 horas. La relación muestra-solvente fue de 20 g/ 200 mL y las muestras fueron protegidas de la luz durante todo el proceso de extracción. Los extractos fueron después rotaevaporados, con el fin de retirar los solventes orgánicos. El solvente residual

fue retirado por calentamiento a 40 C durante 10 horas. Las muestras fueron colocadas después en un desecador hasta alcanzar un peso constante para determinar el rendimiento del extracto.

Para los cálculos de rendimiento se relacion  el peso de extracto obtenido con el peso de muestra de p prika inicial.

$$\% \text{Rendimiento} = \frac{\text{muestra extraída}}{\text{muestra inicial}} \times 100 \quad (1)$$

Extracción con Fluidos Supercríticos (FSC)

Se utilizó un equipo a escala piloto de fluidos supercríticos marca Guangzhou Masson New Separation Technology Co., Ltd., con una capacidad de 24 L, tiempo de extracción 90 min, flujo de CO₂ de 65 L/h, presión del extractor de 280 y 350 bar, temperatura de extracción de 70 C y una masa de 5 kg (foto 1).



Foto 1. Equipo de Fluidos Supercríticos marca Guangzhou Masson New Separation Technology Co., Ltd., utilizado en la experimentación.

Análisis de color

Los parámetros de color se determinaron según el método ASTA (*American Spice Trade Association*)⁹. Los grados de color ASTA se determinaron por medio de mediciones espectrofotométricas llevadas a cabo en un espectrofotómetro *Thermspectronic UV-Vis Helios- *, a una longitud de onda de 460 nm, pesando 0.1 g

de oleorresina solubilizado en 100 mL con acetona. De esta solución se tomó una alícuota de 10 mL y se llevó a un volumen de 100 mL con acetona. El grado de color fue obtenido a través de la siguiente ecuación:

$$\text{Color ASTA} = \frac{A_{460\text{nm}} \times 164 \times \text{If}}{\text{Peso de la muestra en gramos}} \quad (2)$$

Donde:

$A_{460\text{nm}}$: absorbancia del extracto de acetona a 460nm.

If: factor de corrección Instrumental (0.600/As).

As: absorbancia de la solución estándar de color.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para el estudio de los datos se empleó el programa STATGRAPHICS XV. La comparación de los datos obtenidos de rendimiento y grados de color ASTA en cada uno de los métodos empleados se llevó a cabo por medio de un análisis de varianza (ANOVA) de un factor, con prueba de rangos múltiples de Duncan. Se tomó un nivel de confianza del 95% y un nivel de potencia para detectar diferencias significativas del 85% en el análisis de varianza.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización de la muestra

La muestra se caracterizó con el fin de reproducir las condiciones de ensayo, encontrándose en la muestra molida una humedad de 6,29%, 14,27% de contenido de proteína y un 9,49% de cenizas totales.

El análisis microbiológico por medio del recuento de coliformes totales, salmonella y esporas clostridium sulfito reductor (ECSR), mostró resultados negativos, cumpliendo con los parámetros exigidos por las normas para materias primas que son utilizadas como fuente de productos para la industria alimentaria^{12,13}.

Extracción de la oleorresina de paprika

Los resultados obtenidos de la extracci3n de la oleorresina de paprika llevada a cabo mediante Soxhlet con los solventes orgánicos muestran diferencias estadísticas entre los rendimientos y grados de color ASTA obtenidos, siendo el éter de petr3leo y el hexano los solventes con rendimientos más bajos y sin diferencias estadísticas ($p > 0.05$) entre ellos, mientras que para el acetato de etilo se obtuvo el mayor rendimiento, 16,08% (tabla 1). Los grados de color ASTA no fueron diferentes significativamente entre el éter de petr3leo y el acetato de etilo, pero difieren de los resultados obtenidos para el hexano.

**Tabla I. Comparaciones múltiples de Duncan
“Extractos Obtenidos con diferentes Solventes orgánicos (Soxhlet)”.**

Solvente	Rendimiento (%)	ASTA
�ter de petróleo	11,93 ± 0,4737 ^a	460 ^b
Hexano	12,20 ± 0,4728 ^a	420 ^a
Acetato de etilo	16,08 ± 0,4711 ^b	540 ^b

^{a,b}, Promedio con letras diferentes entre filas. Son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$), según la prueba de comparaciones múltiples de Duncan.

Es de anotar que la extracción se incrementa con el aumento de la polaridad del solvente¹⁴. Los resultados superiores para un solvente diferente al hexano, que es tenido en cuenta como referencia en la obtención de la oleoresina de p prika⁴, se deben a que la molécula de hexano está formada únicamente por átomos de carbono e hidrógeno de forma lineal, con un momento dipolar de cero, otorgando un comportamiento apolar. Por su parte el acetato de etilo, al presentar un átomo de oxigeno en su estructura, presenta un momento dipolar de 1,74 D¹⁵, marcando un grado de polaridad a este solvente, lo cual se traduce en una mayor extracción de otras sustancias como pigmentos y compuestos con polaridad media constituyentes de la p prika, especialmente las xantofilas presentes como ésteres de ácidos grasos, y carotenos libres como la capsantina, capsorrubina, criptoxantina y violaxantina, que al poseer grupos hidroxilos (figura 1) en sus estructuras, son más solubles en solventes de polaridad media¹⁶.

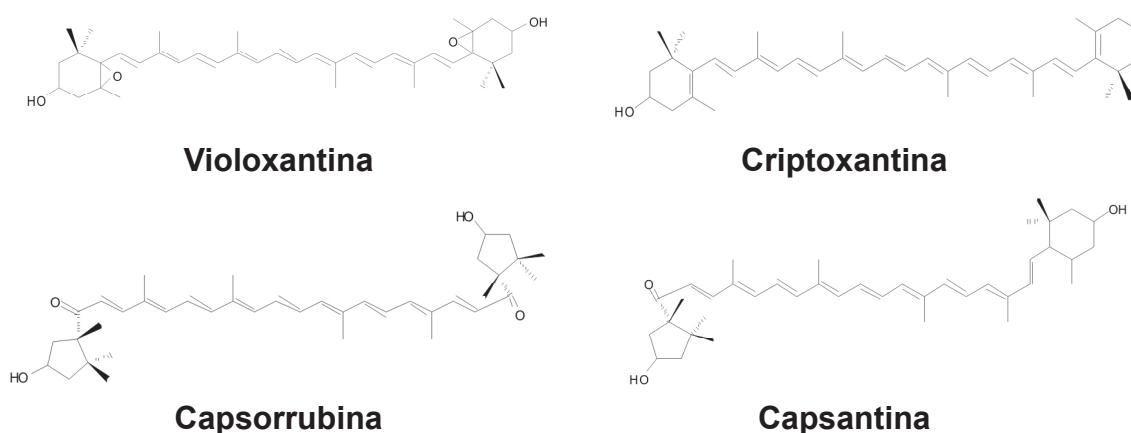


Figura 1. Caroteinodes presentes en la p prika con grupos hidroxilos en su estructura¹.

En la extracción con fluidos supercríticos, trabajando con una presión de 350 bar y una temperatura de extracción de 70°C, no hubo diferencias significativas ($p > 0.05$) al comparar la extracción con una presión de 280 bar y 70°C. Se obtuvo un rendimiento promedio de 11,5% con una presión de 350 bar y una temperatura de extracción de 70°C, siendo este valor menor que el de las extracciones Soxhlet. El análisis espectrofotométrico en grados de color ASTA fue realizado a todas las muestras obtenidas por extracción de fluidos supercríticos, en los que el tratamiento de 280 bar, a una temperatura de extracción de 70°C, presentó el menor valor de unidades de color ASTA, siendo estadísticamente diferente a los obtenidos a 350 bar y 70°C, cuyos valores no están tan alejados de los obtenidos por Soxhlet (tabla 2).

Tabla 2. Comparaciones múltiples de Duncan “Rendimiento de extracción y grados de color ASTA para diferentes variables de extracción por fluidos supercríticos”.

Presión del extractor (bar)	Temperatura del extractor (°C)	Rendimiento (%)	Grados de color ASTA
280	70	10,5 ± 0,2708 ^b	167,0 ± 70,004 ^a
350	70	11,5 ± 0,2708 ^b	359,0 ± 72,904 ^b

^{a,b} Promedio con letras diferentes entre filas. Son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$) según la prueba de comparaciones múltiples de Duncan.

La extracción por encima de las condiciones supercríticas del CO₂ (31.1°C y 73,8 bar)¹⁷ aumenta la solubilidad de este solvente, permitiendo la extracción de compuestos con mediana polaridad tales como los carotenoides. De esta forma se explica el mayor rendimiento y calidad de la oleorresina de p prika extraída a 350 bar, en lugar de los resultados a 280 bar.

CONCLUSIONES

El solvente acetato de etilo muestra el mayor rendimiento y grados de color ASTA, siendo el más recomendado para el uso en la industria alimentaria por presentar una mayor polaridad comparado con el hexano, que es más empleado actualmente, y con los demás solventes evaluados.

Entre las diferentes variaciones de temperatura y presión de la extracción en fluidos supercríticos se presentan diferencias de rendimiento, que van entre 9,1 a 10,2 % y las unidades de color están entre 96.996 y 431.904 grados de color ASTA.

A pesar de presentar el método convencional de extracción de oleorresina de p prika por Soxhlet mayores rendimientos y unidades de color ASTA en comparación con la tecnología de fluidos supercríticos, es necesario resaltar que la extracción por FSC-CO₂ presenta menores impactos ambientales, dando

respuesta a las necesidades reglamentarias que exigen las legislaciones nacional e internacional para alimentos obtenidos por medio de una producción más limpia.

AGRADECIMIENTOS

Al Instituto Colombiano para el Desarrollo de la Ciencia y la tecnología COLCIENCIAS, por el apoyo brindado mediante el proyecto “Microencapsulación de oleoresina de pprika cultivada en Colombia, extraída mediante la tecnología de fluidos supercríticos” código 1275-08-18426, CT 151-2006.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. RESTREPO GALLEGO, Mauricio. Oleorresinas de capsicum en la industria alimentaria. En: Revista Lasallista de Investigación. Julio-diciembre, 2006, vol. 3, no. 2, p. 43- 47.
2. JAREN-GALÁN, M y MÍNGUEZ-MOSQUERA, María Isabel. Quantitative and qualitative changes associated with heat treatments in the carotenoid content of paprika oleoresins. En: Journal of Agricultural and Food Chemistry. 1999, vol. 47, no. 10, p. 4379-4383.
3. ARIAS GARCÍA, Juan Carlos y MELGAREJO, Luz Marina. Ají. Historia, diversidad y uso. Bogotá: Produmedios, Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas SINCHI-Minambiente-Colciencias, 2000. 29 p.
4. FERNÁNDEZ-TRUJILLO, J. Pablo. Extracción convencional de oleoresina de pimentón dulce y picante I. Generalidades, composición, proceso e innovaciones y aplicaciones. En: Grasas y Aceites. Julio- septiembre, 2007, vol. 58, no. 3, p. 252-263.
5. UQUICHE, Edgar; DEL VALLE, José María y ORTIZ, Jaime. Supercritical carbon dioxide extraction of red pepper (*Capsicum annuum* L.) oleoresin. En: Journal of food engineering. November, 2004, vol. 65, no. 1, p. 55-66.
6. NAGY, Bence y SIMANDI, Bela. Effects of particle size distribution, moisture content, and initial oil content on the supercritical fluid extraction of paprika. En: Journal of Supercritical Fluids. October, 2008, vol. 46, no. 3, p. 293–298.
7. YEPEZ, Byron, RIVERA, Alberto y LÓPEZ, Susana. Extracción de aceite esencial de limoncillo (*Cymbopogon Citratus*) con dioxido de carbono supercrıtico. En: Congreso Colombiano de Ingeniería Química (21: 15-17, agosto: Santa Fe de Bogotá). Memorias. Bogotá D.C: Universidad del Valle, Grupo Termodinamica Aplicada, 2001. p. 1-12

8. FDA.U.S.FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. CFR-Code of Federal regulations. Title 21. Food and drug administration. En: Food and drugs Listing of color additives exempt from certification. [en línea]. [USA]: FDA. U.S Department of Health & Human Service [citado en 31 junio de 2009]. Disponible en: <http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfCFR/CFRSearch.cfm?fr=73.345>
9. AMERICAN SPICE TRADE ASSOCIATION. Official analytical method. 3^a ed. Englewood Cliffs, ASTA, 1986. 68 p.
10. ARJONA, M; DÍAZ RICCI, J.C. y IRIARTE, A. Parámetros físico-químicos en oleoresina de pimentón en diferentes sistemas de secado. En: Revista del CIZAS. Diciembre, 2006, vol. 7, no^s 1-2, p. 80-91.
11. AOAC INTERNATIONAL. Official methods of analysis of AOAC International. 18^a ed. Gaithersburg:AOAC International, 2007.
12. ISO INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. Microbiology of food and animal feeding stuffs-horizontal method for the detection of salmonella spp. ISO. 6579:2002. Geneva Switzerland: International Standards for Business, Government and Society, 2002.
13. ----- Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for the enumeration of beta-glucuronidase-positive Escherichia coli -- Part 1: Colony-count technique at 44 degrees C using membranes and 5-bromo-4-chloro-3-indolyl beta-D-glucuronide. ISO 16649-1:2001. Geneva Switzerland: International Standards for Business, Government and Society, 2001.
14. PÉREZ-GÁLVEZ, Antonio y MÍNGUEZ-MOSQUERA, María Isabel. Degradation, under non-oxygen-mediated autooxidation, of carotenoid profile present in paprika oleoresins with lipid substrates of different fatty acid composition. En: Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2004, vol. 52, no. 3, p. 632-637.
15. BROWN, Theodore L, et al. Química: la ciencia central. 9^a ed. México: Pearson Prentice Hall, 2004. 1152 p
16. MOJCA, Škerget y ŽELJKO, Knez. Solubility of binary solid mixture β -carotene-capsaicin in dense CO₂. En: Journal of Agricultural and Food Chemistry. 1997, vol. 45, no. 6, p. 2066-2069.
17. CENGEL, Yunus A, et al. Termodinámica. 5^a. México: McGraw-Hill Interamericana, 2006. 988 p.