



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

PRODUCCIÓN DE BIOMOLÉCULAS CON APLICACIONES COSMÉTICAS A PARTIR DE RESIDUOS DE FRUTAS

Ángela María Idárraga Vélez

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ingeniería y Arquitectura, Departamento de Ingeniería Química

Manizales, Colombia

2015

PRODUCCIÓN DE BIOMOLÉCULAS CON APLICACIONES COSMÉTICAS A PARTIR DE RESIDUOS DE FRUTAS

High value biomolecules production from fruit waste application case to
cosmetic industry

Ángela María Idárraga Vélez

Trabajo de investigación presentado como requisito parcial para optar al título de:
Magister en Ingeniería Química

Director:

Ph.D., Carlos Ariel Cardona Alzate

Línea de Investigación:

Procesos Químicos, Catalíticos y Biotecnológicos

Grupo de Investigación:

Grupo de Investigación en Procesos Químicos, Catalíticos y Biotecnológicos

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ingeniería y Arquitectura, Departamento de Ingeniería Química

Manizales, Colombia

2015

A mi hijo y padres.

A quienes han creído en mí: mis padres y amigos.

A mí por no desfallecer

Agradecimientos

Quisiera agradecer a Josué Idárraga Vélez por su compañía, nueve meses viviendo en mí y 7 meses donde ha sido fortaleza, alegría y complicidad, porque este logro es de ambos. También a mis padres que nunca me dejaron decaer y me dieron su apoyo incondicional. Agradezco a mi tutor Carlos Ariel Cardona Alzate quien con su exigencia hizo que saliera adelante este proyecto, enriqueciendo mi capacidad académica y fortaleza al mismo tiempo. Agradezco a todas esas personas que de una u otra forma contribuyeron a que se lograra culminar con éxito esta tesis de maestría, mis amigos, los hermanos que escogí, cada uno de ellos con sus cualidades, con su apoyo y su amor me ayudaron en esta etapa. Gracias a Laura Daza, Valentina Hernández, Sebastian Serna Valentina Aristizabal, Jonathan Moncada, Juan Camilo Carvajal, Javier Dávila, Miguel Rojas, Ángela González y Noel Gómez.

Gracias a la Universidad Nacional de Colombia por facilitar los equipos e instalaciones necesarias para realizar el proyecto de maestría, a la Dirección de Investigaciones por la financiación como tesista.

A Colciencias que fomenta la investigación y la academia apoyando por medio de proyectos de Jóvenes Investigadores del cual hago parte.

Resumen

En esta tesis se realizó la obtención de extractos con capacidad antioxidante a partir de *Carica papaya*, *Cucurbita máxima* y *Renealmia alpinia*. Este trabajo está dirigido a la evaluación de la extracción de antioxidantes a partir de frutos Colombianos y sus residuos. Para llevar a cabo la evaluación se realizó la caracterización fisicoquímica de los residuos. Adicionalmente, se evaluaron las condiciones apropiadas de operación para realizar la extracción de los compuestos con actividad antioxidante mediante la tecnología de fluidos supercríticos utilizando el CO₂ como solvente y el requerimiento de co-solvente; lo anterior basado en la termodinámica del sistema siendo realizado el cálculo de la solubilidad de los compuestos de interés. Con el fin de realizar un análisis económico y ambiental se realizaron las simulaciones de los procesos haciendo uso del software comercial Aspen plus 8.0 y el algoritmo de reducción de residuos WAR (Waste Reduction Algorithm). En el trabajo se presenta el diseño del proceso de extracción de compuestos con capacidad antioxidante que puedan ser usados en productos cosméticos a partir de los residuos de frutos Colombianos.

Palabras clave: Antioxidantes, Residuos de frutas, Biotecnología, Biorrefinerías, Fluidos Supercríticos, Fitocosmética, Cosmecéutica.

Abstract

In this thesis, the obtainment of extracts with antioxidant capacity from *Carica papaya*, *Cucurbita maxima* and *Renealmia Alpinia* was performed. This study is aimed at evaluating the extraction of antioxidants from Colombian fruits and residues. To carry out the evaluation, the physicochemical characterization of the waste is performed. Additionally, proper operating conditions were evaluated for extracting the compounds with antioxidant activity by supercritical fluid technology using CO₂ as solvent and the requirement of co-solvent; the above based on the thermodynamics of the system being performed the calculation of the solubility of the compounds of interest. In order to conduct an economic and environmental analysis, simulations of

processes using Aspen Plus 8.0 software and commercial waste reduction algorithm WAR (Waste Reduction Algorithm) were performed. In this work the design of the extraction process of compounds with antioxidant properties that can be used in cosmetic products from residues of Colombian fruits is presented.

Keywords: Antioxidants, fruit waste, biotechnology, bio-refineries, supercritical fluids, Phytocosmetics, cosmeceuticals.

CONTENIDO

	Pág.
Resumen	VII
Lista de figuras	XI
Lista de tablas	XIII
Introducción	1
• Hipótesis.....	1
• Objetivos	1
Capítulo 1: Generalidades, acción y producción de compuestos antioxidantes	3
1.1. Antioxidantes.....	3
1.1.1. Antioxidantes de origen natural.....	4
<i>Compuestos polifenólicos</i>	4
<i>Carotenoides</i>	5
<i>Otros fitoquímicos</i>	6
1.1.2. Acción de los antioxidantes.....	6
1.2. Tecnología de extracción de compuestos antioxidantes usados en cosméticos	7
1.2.1. Tecnologías convencionales	7
1.2.2. Tecnologías no convencionales.....	8
1.3. Compuestos antioxidantes en el campo de la cosmética.....	9
1.4. Biorrefinería de baja escala.....	11
Capítulo 2: Metodología	15
2.1. Cálculo de solubilidad de compuestos antioxidantes	15
2.2. Experimentos, materiales y métodos	17
2.2.1. Materias primas.....	18
2.2.2. Caracterización	19
<i>Determinación de componentes solubles en etanol</i>	19
<i>Determinación de lignina insoluble en ácido</i>	20
<i>Determinación del contenido de holocelulosa</i>	20
<i>Determinación de celulosa y hemicelulosa</i>	21
<i>Determinación del contenido de ceniza</i>	21
<i>Determinación de compuestos fenólicos</i>	21

<i>Determinación de capacidad antioxidante</i>	22
2.2.3. Extracción con fluidos supercríticos	22
2.3.1. Modelos cinéticos.....	24
<i>Hidrólisis ácida</i>	24
<i>Hidrólisis enzimática de la celulosa</i>	25
<i>Etanol</i> 26	
<i>Ácido láctico</i>	27
<i>PHB</i> 27	
<i>Xilitol</i> 28	
2.3.2. Balance de masa y energía	29
2.3.3. Evaluación económica	29
2.3.4. Evaluación ambiental.....	29
Capítulo 3: Productos de alto valor agregado a partir de ahuyama (<i>Cucurbita máxima</i>), obtenidos en una biorrefinería de baja escala.	32
3.1. Introducción.....	32
3.2. Resultados	33
3.3. Conclusiones y recomendaciones.....	44
Capítulo 4: Biorrefinería de baja escala para la producción de compuestos con alto valor agregado del naikú (<i>Renealmia alpinia</i>).....	47
4.1. Introducción.....	47
4.2. Resultados	49
4.3. Conclusiones.....	58
Capítulo 5: Producción de compuestos de alto valor agregado en una biorrefinería a partir de papaya (<i>Carica papaya</i>)	61
5.1. Introducción.....	61
5.2. Resultados	63
5.3. Conclusiones.....	72
Conclusiones y recomendaciones	73
Bibliografía	77

Lista de figuras

	Pág.
Figura 1. Ácido fenólico.....	4
Figura 2. Flavanol	5
Figura 3. Tanino.....	5
Figura 4. Betacaroteno.....	6
Figura 5. Ahuyama.....	18
Figura 6. Papaya.....	18
Figura 7. Naikú.....	19
Figura 8. Diagrama de flujo y equipo de fluidos supercríticos.....	23
Figura 9. Esquema general de biorrefinerías	24
Figura 10. Solubilidad del betacaroteno.....	36
Figura 11. Extracto de Cáscara	36
Figura 12. Extracto de la pulpa	36
Figura 13. Extracto de Semilla	36
Figura 14. Lechos empacados antes y después de la extracción.....	37
Figura 15. Biorrefinería a partir de la ahuyama.....	40
Figura 16. Evaluación económica (1ton/día ahuyama).....	41
Figura 17. Evaluación económica (5Ton/día ahuyama).....	41
Figura 18. Evaluación económica (20ton/día ahuyama).....	42
Figura 19. Impacto potencial generado en la etapa de EFS	43
Figura 20. Impacto potencial generado en la biorrefinería (20ton/día).....	44
Figura 21. <i>Renealmia alpinia</i>	47
Figura 22. Perfil de solubilidad del ácido gálico	50
Figura 23. Biorrefinería a partir del naikú.....	53
Figura 24. Evaluación biorrefinería de naikú (1ton/día)	56

Figura 25. Evaluación biorrefinería de naikú (20ton/día)	57
Figura 26. Evaluación ambiental de la biorrefinería sin cogeneración.....	57
Figura 27. Evaluación ambiental de biorrefinería con cogeneración	58
Figura 28. Fotografía del fruto de papayo.....	62
Figura 29. Perfil de solubilidad.....	64
Figura 30. Biorrefinería a partir de papaya	67
Figura 31. Evaluación biorrefinería de papaya 1Ton/día	69
Figura 32 Evaluación biorrefinería de papaya 5Ton/día	69
Figura 33. Evaluación biorrefinería de papaya 20Ton/día	70
Figura 34. Impactos generados en la etapa de EFS (Papaya)	71
Figura 35. Impacto Generado en biorrefinería de papaya (20ton/día)	71

Lista de tablas

	Pág.
Tabla 2.1. Parámetros de la ecuación de Chrastil.	16
Tabla 2.2. Parámetros cinéticos para la hidrólisis ácida	25
Tabla 3.1. Clasificación taxonómica de la Ahuyama	32
Tabla 3.2. Caracterización fisicoquímica de la cáscara de ahuyama.....	34
Tabla 3.3. Caracterización fisicoquímica de la semilla de ahuyama	34
Tabla 3.4. Caracterización fisicoquímica de la pulpa de ahuyama	34
Tabla 3.5. Comparación de los resultados obtenidos con una referencia bibliográfica.....	35
Tabla 3.6. Resultados obtenidos con fluidos supercríticos	37
Tabla 4.1. Clasificación taxonómica de la <i>Renalmia alpinia</i> [36].....	48
Tabla 4.2. Caracterización fisicoquímica del naikú	49
Tabla 4.3. Rendimientos obtenidos, capacidad antioxidante y compuestos fenólicos de los extractos.....	51
Tabla 5.1. Clasificación taxonómica de la papaya	61
Tabla 5.2. Caracterización fisicoquímica de la papaya	63
Tabla 5.3. Compuestos fenólicos, DPPH y rendimiento de las extracciones con FSC.....	64

Introducción

El uso de cosméticos se ha conocido como parte fundamental de las culturas. Desde la antigüedad, aproximadamente en el siglo I, egipcios, griegos y romanos, usaron maquillaje para mejorar tanto la piel como la apariencia física en sí. Tizas, henna y kohl fueron usados para lograr en la piel una apariencia específica deseada. A medida que la cosmética evolucionaba, esta formó parte del reconocimiento social, llegando a tomar medidas poco saludables en la edad media, con el uso del plomo y el arsénico dentro de lo que en ese entonces denominaban cosmético. Posteriormente, los cosméticos fueron adoptando un uso relacionado con esconder enfermedades y proporcionar una apariencia más saludable. Luego se expandió su uso en todas las clases sociales, evolucionando hasta el día de hoy, teniendo como ideal proveer la belleza de una piel suave, que a diferencia de las épocas antiguas, además de lograr una buena apariencia, se consigue obtener beneficios en la salud de la piel. [1], [2]

Se le denomina cosmético a aquellas sustancias, que tienen como fin la mejora de la calidad de la piel y la disminución de las imperfecciones de la misma. No obstante, el mercado de cosméticos con beneficios farmacéuticos ha estado en crecimiento durante la última década, ofreciendo las industrias a los consumidores productos denominados *cosmecéticos*. Los cosmecéticos son productos funcionales cuyo fin es ofrecer las bondades de los cosméticos combinada con la administración de ingredientes naturales que proveen beneficios medicinales.[3] Se han querido incorporar como componentes activos vitaminas y antioxidantes en los productos del cuidado de la piel. [2]

Son productos funcionales aquellos que de forma natural o que luego de haberse sometido a un proceso, adquieren características que tienen un beneficio para la salud, no solo en el aspecto nutricional, sino también, en la prevención del desarrollo de enfermedades, así como los procesos de envejecimiento causados por los radicales libres.[4] Esta acción de prevención es realizada por antioxidantes, los que se encuentran naturalmente en diferentes especies vegetales. Algunos de estos compuestos se denominan compuestos fenólicos, que son todas las sustancias que tienen varias funciones fenol. Los compuestos fenólicos son producidos por las plantas como mecanismo de defensa y son los autores de la actividad antioxidante, color, sabor y olor de frutas y vegetales. Los carotenoides son pigmentos de coloración oscilante entre el amarillo (betacaroteno) y rojo (licopeno). Estos son solubles mayormente en solventes apolares. En las plantas los carotenoides se encuentran en las hojas, flores, tallos y frutos; en las raíces se

encuentra en menor proporción.[5] Los carotenoides se pueden descomponer por efecto de la luz, temperatura o aire, a causa de la alta cantidad de enlaces dobles que estos poseen, es por esto que al realizar la extracción de los carotenoides es de preferencia acondicionar el proceso para que no haya luz en la extracción, que la temperatura sea menor o igual a la temperatura ambiente y que haya ausencia de oxígeno.[5] Las antocianinas son pigmentos naturales responsables de la coloración desde el rojo hasta el azul en una gran variedad de plantas y tienen la función de atraer polinizadores, la defensa microbiana y viral de las plantas, entre otras.[6] En la estabilidad y estructura de estas moléculas, el pH cumple un papel fundamental, ya que la acidez tiene un efecto de protección sobre la molécula. Sobre estas moléculas también tienen efecto la temperatura y el oxígeno, ya que en presencia de altas temperaturas y/o de oxígeno se da un efecto de destrucción de las antocianinas.[6]

Los antioxidantes y vitaminas han ganado un lugar importante en la industria cosmética, debido a que estos poseen la capacidad de combatir los radicales libres generados en el organismo por efectos de la contaminación, los rayos ultravioleta y el cambio climático. El shampoo, cremas hidratantes, geles de baño, maquillaje, entre otros, son los productos a los que se han venido agregando productos naturales con capacidad antioxidante, dando un cuidado preventivo y correctivo al rostro, cabello y cuerpo. Conociendo que estos antioxidantes y vitaminas provienen de matrices naturales, la palabra fitocosmético debe ser incluida, pues esta hace referencia a cosméticos cuya materia prima es de carácter natural y en especial de plantas. [7]

Colombia es un país rico en diversidad en el campo frutal, el cual no ha sido explorado de una forma íntima, haciendo que exista un conocimiento pobre sobre el tema de propiedades funcionales que podrían poseer dichas frutas. En el mercado de alimentos, los productos enriquecidos tienen un crecimiento a pasos agigantados alrededor del mundo, lo que hace que Colombia tenga un potencial por explotar, gracias a tener una riqueza en frutales, y a que muchos de estos frutales son exóticos. Los sectores agropecuarios y agroindustriales intervienen directamente en la recolección y producción de frutales colombianos, teniendo como futuro producciones sostenibles a nivel industrial. Conociendo las generalidades de las frutas y los perfiles de exportaciones e importaciones de estas, se puede esperar una respuesta positiva a un desarrollo de productos con valor agregado para Colombia, puesto que existe una gran capacidad de exportaciones de materia prima con potencial de ser un producto de alto consumo. [8]

El fomento de cultivos con potencial de propiedades antioxidantes bajo esquemas de producción limpia hace parte también de las políticas de éxito para generar un producto antioxidante competente en un mercado nacional e internacional, ya que al tener un cultivo limpio de productos agroquímicos genera un valor agregado a los productos, pues se lograría obtener un producto de una forma amigable con el ambiente.

Existen estudios que han demostrado la capacidad antioxidante de algunas biomoléculas específicamente sobre la piel, ayudando a la prevención de enfermedades cutáneas como el envejecimiento prematuro, manchas, calvicie, e incluso hasta cáncer de piel. En el concepto de productos para la piel desarrollados a partir de materias primas de carácter natural, se pretende aplicar el concepto de cosmeceútico en sinergia del fitocosmético, y es así, que en este ambito Colombia posee un potencial por explorar gracias a la diversidad vegetal para obtener diferentes productos antioxidantes con beneficios sobre la piel como lo es el betacaroteno, el ácido ascórbico, el α -tocoferol, antocianinas y licopeno. Lo anterior se apoya en el creciente mercado de productos cosméticos en donde uno de sus ingredientes activos tenga capacidad antioxidante, la cual ha crecido en los últimos años, llegando a cifras de de 106,8 millones de dólares en 2011 y se estima que en 2018 serán unos 197.8 millones de dólares. El área de medicina natural y cosmeceúticos, es un mercado importante, un ejemplo se encuentra en las Naciones Unidas teniendo un valor de 140 millones de dólares, con tasas de crecimiento de 5-10% anual. Son los países con mayor nivel de desarrollo y las poblaciones con alto nivel educativo y altos ingresos donde se encuentran los mayores mercados de estos productos. [4], [9]–[12]

Existen un sinnúmero de empresas del sector cosmético y farmacéutico interesadas en tener productos en donde uno de sus componentes activos sean antioxidantes, por el gran interés que ha ido naciendo a cerca de los antioxidantes y los beneficios que estos ofrecen. Un ejemplo, es el laboratorio alemán Steifel, el que posee un producto a base de antioxidantes en donde el antioxidante es conocido por el nombre de “coffeberry”, pues se obtiene de la pulpa del fruto de café de la especie *Coffea arabica*. A pesar de ser Alemania un país donde no se cultiva café puesto que este es originario de países de climas tropicales, se usan antioxidantes de café que han sido recolectados antes de madurar, y esto se logra gracias a esfuerzos orientados a la investigación y del desarrollo de asociaciones estratégicas y adquisiciones en todo el mundo. Se entiende entonces, que los laboratorios Steifel llegan al lugar de origen de los antioxidantes y con una asociación que beneficie tanto a los productores y recolectores de café y a ellos mismos como laboratorio.[13] NATURA, empresa de origen brasilero que lidera el mercado de los cosméticos, usa la riqueza de la biodiversidad brasileña teniendo en cuentas las propiedades y usos de las plantas provenientes de esta biodiversidad. Natura busca concientizar la riqueza ambiental que posee Brasil y así producir ingredientes de carácter natural de una manera sustentable, logrando darle un valor a la sabiduría de las poblaciones originales de esta zona, haciendo un desarrollo de productos de valor agregado al mismo tiempo que incentivan el mantenimiento de las selvas, puesto que se asocia con comunidades nativas lo que se traduce en una apoyo social que fortalece la economía y la sostenibilidad ambiental de dichas comunidades. En el 2011 Natura presentó un ingreso neto consolidado de US\$ 3259,1 millones. [14]

Los países con mayor intervención en el mercado de productos antioxidantes son: China, India, Estados Unidos, Canadá, Malasia, Australia, Tailandia, Perú, España, Corea del sur, Taiwán, Filipinas, Brasil, Sudáfrica, Italia, Singapur, Turquía, Reino Unido y Federación Rusa. Las empresas con mayor número de productos antioxidante naturales que estén disponibles en el mercado son: **Source Naturals**: Compañía norteamericana que provee productos naturales en diferentes presentaciones farmacéuticas y con composiciones a bases de uno o varios compuestos antioxidantes; **AIM**: empresa Estadounidense que vende productos con propiedades nutricionales tendientes a mejorar la salud. **Zhejiang Orient Tea Development Co.Ltd**, empresa oriental que se dedica a la producción y comercialización de productos antioxidantes de alta calidad. Estos productos antioxidante producidos son recomendados para el uso en la medicina, la industria química y de alimentos; **BASF y DSM-Roche**: Empresas que manejan el mercado de productos con carotenoides principalmente.[4]

- **Hipótesis**

El uso de fluidos supercríticos permite obtener compuestos antioxidantes de frutos tropicales de Colombia, que pueden ser usados como ingredientes activos de productos de la industria farmacéutica y cosmética.

- **Objetivos**

Objetivo General

Realizar la evaluación técnica, económica y ambiental del aprovechamiento integral de los residuos de frutos Colombianos para la obtención y producción de compuestos con características antioxidantes.

Objetivos Específicos

- Realizar la caracterización fisicoquímica de los residuos de frutas (Ahuyama, Naiku y Papaya).
- Realizar la evaluación técnica, económica y ambiental de la producción de antioxidantes a partir de estos residuos.
- Realizar la extracción de compuestos antioxidantes usando fluidos supercríticos
- Realizar la caracterización de los compuestos con capacidad antioxidante obtenidos en la etapa experimental.

Capítulo 1: Generalidades, acción y producción de compuestos antioxidantes

1.1. Antioxidantes

Se les llama antioxidantes a aquellas moléculas que tienen la capacidad de retardar o prevenir la oxidación de otras moléculas. Estas sustancias pueden ser sintetizadas químicamente o provenir de matrices naturales, siendo la segunda opción la fuente más apetecida en la actualidad, esto gracias a que los consumidores se están interesando más en los productos provenientes de fuentes naturales, de procesos con bajo impacto ambiental y así mismo que el consumo de los mismos provea un beneficio sobre la salud.[15], [16]

Se pueden categorizar los antioxidantes en enzimáticos y no enzimáticos. Hacen parte de la primera categoría las enzimas presentes en las células que tienen a cargo la protección del estrés oxidativo producido en ellas, convirtiendo las diferentes especies reactivas en otras moléculas no perjudiciales para los componentes de los organismos. Las enzimas más importantes con esta capacidad antioxidante son la superóxido dismutasa, catalasa y peroxidasa.

Al segundo grupo de antioxidantes pertenecen los compuestos que pueden ser obtenidos a partir de síntesis dentro del organismo como lo son el glutatión y la melatonina. A este mismo grupo, pertenecen también los compuestos con capacidad antioxidante que se obtienen por medio de la ingesta de alimentos o productos elaborados para brindar este beneficio, llamados también antioxidantes exógenos, entre los que están el ácido ascórbico, carotenoides, polifenoles, algunos órgano-sulfurados y glucosinolatos

Los compuestos con capacidad antioxidante de origen natural son producidos por las plantas como metabolitos secundarios, entre estos existen alguno de carácter fitoquímico como los compuestos fenólicos y los carotenoides.

1.1.1. Antioxidantes de origen natural

Compuestos polifenólicos

Son moléculas que en su estructura contienen al menos un grupo fenol unido a otro grupo funcional, siendo este el grupo más grande de los fitoquímicos. Son pigmentos naturales responsables de la coloración de una gran variedad de especies del reino vegetal, son metabolitos secundarios que atraen los polinizadores para la reproducción de semillas y frutos, también poseen propiedades antimicrobianas y antitumorales que protegen a las plantas.[17] Existe una gran variedad de compuestos fenólicos, entre los que se han identificado al menos 8000 estructuras fenólicas.[18] Estos compuestos fenólicos están divididos en flavonoides, ácidos fenólicos, estilbenos y lignanos, y estos a su vez, están también subdivididos en otros grupos más pequeños.[17] Los compuestos fenólicos intervienen en la estructura, en las propiedades sensoriales, en la resistencia a agentes externos, haciéndolos esenciales en la fisiología y en el metabolismo celular. La actividad antioxidante de los compuestos fenólicos, dependen en gran medida de la estructura química que posean. [19]

Los ácidos fenólicos (

Figura 1) son derivados de los ácidos hidroxibenzoico e hidroxicinámicos, estos han despertado el interés de ser estudiados por que presentan características que han beneficiado la salud humana, entre los ácidos fenólicos mayormente conocidos están el ácido gálico, cafeico y cumárico. [20]

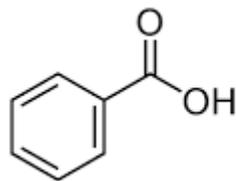


Figura 1. Ácido fenólico

Los compuestos fenólicos que existen en mayor abundancia en las plantas son los flavonoides (Figura 2), encontrados en la superficie de frutas y vegetales haciendo las veces de antioxidante de los tejidos de las capas más interiores. Los flavonoides pueden beneficiar la salud pues se ha evidenciado que disminuyen enfermedades cardiovasculares mediante la adhesión de los monocitos en el proceso inflamatorio de la aterosclerosis.[21]

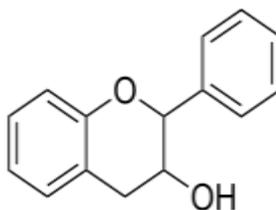


Figura 2. Flavanol

Los taninos (Figura 3) son un grupo diverso de compuestos, ya que los hay de estructura simple y compleja, pero tienen en común la capacidad de unirse y precipitar proteínas. Estos tienen numerosos usos desde curtiembre hasta en la medicina. Entre los taninos existen compuestos con propiedades anti-inflamatorias y antisépticas. También han sido usados en el tratamiento de diferentes enfermedades como la diarrea y tumores en el estómago o duodeno. Los taninos pueden estar presentes en las hojas, corteza y los frutos de las plantas, protegiéndolas de infecciones[21]

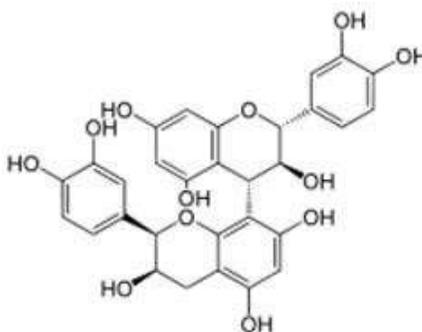


Figura 3. Tanino

Carotenoides

Los carotenoides son compuestos de cadenas de isoprenos de 40 carbonos aproximadamente, pueden poseer una estructura cíclica al inicio, final o en ambos extremos de la cadena como también grupos funcionales que contengan al oxígeno. Estos conceden en la naturaleza la pigmentación de plantas, animales y microorganismos en las gamas de color entre amarillo y rojo, y tienen la capacidad de proteger de la luz a las plantas y a los tejidos humanos. [22] Estos son solubilizados con mayor facilidad en solventes apolares. Los carotenoides se dividen en carotenoides y en xantofilas, donde el primero en su estructura contiene carbono e hidrógeno y el segundo además contiene oxígeno.[5] El betacaroteno (Figura 4) y el licopeno pueden actuar como antioxidantes y fotoprotectores en la piel. Los anteriores son los carotenoides más abundantes en la naturaleza y los más importantes en la dieta humana, pues se ha evidenciado su capacidad como antioxidante liposoluble.

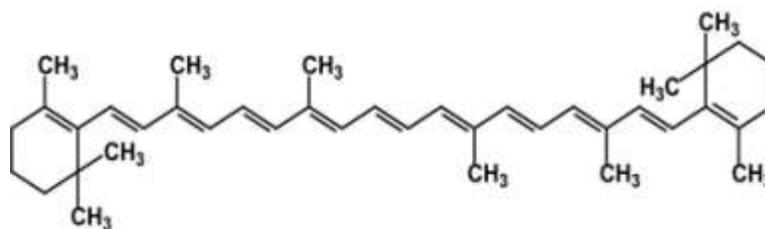


Figura 4. Betacaroteno

Otros fitoquímicos

Se ha encontrado actividad antioxidante en otros tipos de moléculas que no se encuentran dentro de un determinado grupo como algunos órgano-sulfurados, proteínas o compuestos lipídicos entre los cuales se tienen como ejemplo al ácido fítico, ácido úrico y el ácido linoleico.[22] Oligoelementos como el cobre, manganeso, selenio y zinc brindan propiedades antioxidantes como cofactor de las enzimas y también independientemente.[23]

1.1.2. Acción de los antioxidantes

El metabolismo de los organismos aerobios tiene como fin la producción de energía para las funciones vitales del mismo, de este mismo proceso resultan un tipo de compuestos que pueden interactuar con proteínas, lípidos y/o ácidos nucleicos de forma nociva para el organismo, puesto que esta interacción puede originar la degradación de los mismo y consecutivamente ocasionar una degeneración paulatina hasta provocar una enfermedad del organismo. Estas especies reactivas pueden o no ser radicales libres, entre estas especies la que es producida en mayor cuantía es superóxido ($O_2 \cdot^-$), donde cabe resaltar que del 1 al 3% del oxígeno que entra a las mitocondrias se convierte finalmente en este radical.[24]

Existen diferentes métodos para combatir los efectos oxidativo de las especies reactivas por parte de los fitoquímicos con capacidad antioxidante, entre ellos se encuentra la interacción directa para reparar los daños causados por las especies; prevención de la formación enzimática, prevención de la formación de las especies dependiente de metales y finalmente el desecho de especies reactivas por la activación de actividad de enzimas antioxidantes.

A pesar que los compuestos antioxidantes se encuentren en frutas y vegetales para su consumo, proveer al cuerpo de antioxidantes mediante un ingesta convencional se hace poco efectivo pues su resultado de prevenir o retardar la acción dentro del organismo se pierde debido a la degradación que estos compuestos sufren dentro de la vía metabólica por acción de las secreciones gástricas

1.2. Tecnología de extracción de compuestos antioxidantes usados en cosméticos

Con el objetivo de obtener los compuestos antioxidantes purificados para que posteriormente sean aprovechados por los consumidores, existen gran variedad de tecnologías para la extracción y purificación de los compuestos antioxidantes provenientes de matrices sólidas de origen natural. Las tecnologías usadas van desde las más convencionales como simples operaciones unitarias que constan de procesos físicos, luego existen procesos que involucran fenómenos de transferencia de masa básica como la extracción con solventes y finalmente procesos no convencionales en donde se ven involucradas técnicas con ondas de ultrasonido y fluidos supercríticos. Debido a que algunos de los compuestos con capacidad antioxidante tienen la característica de ser inestables químicamente ante la exposición a altas temperaturas y a fuentes lumínicas, se han estudiado las metodologías de extracción de estas moléculas logrando encontrar procesos en donde se vean cada vez menos afectadas. A continuación se describirán algunos de los procesos que han sido usados para obtener dichas moléculas.

1.2.1. Tecnologías convencionales

Existen aceites ricos en compuestos con propiedades antioxidantes, estos se han obtenido mediante el prensado en frío. Las materias primas de las que se han conseguido dichos aceites han sido regularmente semillas (lino, girasol, almendra, sésamo), estos materiales se someten a una presión ejercida mecánicamente a una temperatura de 45°C aproximadamente, este proceso es de bajo costo y poca complejidad aunque tiene como desventaja sus bajos rendimientos de producción. En la búsqueda de obtener un mayor rendimiento de la extracción de los aceites anteriormente mencionados, se han propuesto otras tecnologías donde se hace uso de un solvente como el agua o solventes orgánicos. El proceso hidrotérmico para la extracción de compuestos fenólicos tiene como objetivo la extracción de los derivados fenólicos que se encuentran en residuos de materiales vegetales. Mediante el uso de agua a altas temperaturas a una presión en donde el agua permanezca líquida, se solubilizan los derivados fenólicos mayoritarios en el material vegetal. Este se pone en contacto con agua caliente dentro de un reactor cerrado en donde la relación sólido/líquido oscila entre 1/5 y 1/15, manteniéndose agitado el sistema a la temperatura de 180°-240° C. Este proceso se lleva a cabo durante 4 y 30 minutos; luego se deja enfriar hasta 40°C, se filtra y recupera la fracción líquida.[25] La extracción de compuestos fenólicos con actividad antioxidante utilizando solventes orgánicos consiste en macerar el material vegetal en presencia de disolventes orgánicos como metanol, etanol, agua o la mezcla de estas en un rango de temperatura entre 25-100 °C, para luego ser purificado mediante una extracción líquido-líquido, cromatografía de adsorción o intercambio iónico y

finalmente secar el producto obtenido. Mediante la técnica de extracción con solventes se pueden separar componentes que se hallan en la matriz sólida de un material vegetal aprovechando las diferencias de solubilidad de los compuestos presentes en el material eligiendo el solvente más adecuado. Esta separación se basa en la transferencia selectiva del compuesto desde el material vegetal hacia el disolvente orgánico.[26]

1.2.2. Tecnologías no convencionales

Procesos menos convencionales han sido estudiados con el fin de vigilar que las moléculas conserven sus propiedades antioxidantes, proponiéndose procesos en donde las temperaturas de extracción oscilen desde los 25-60°C, dado que se ha encontrado que a temperaturas mayores los compuestos pierden dicha bondad. La extracción con fluidos supercríticos es uno de estos procesos. En este se aprovecha la capacidad de solvente de diferentes fluidos en presiones y temperaturas mayores a los valores críticos de los mismos. Estos fluidos a dichas condiciones consiguen propiedades de líquido y gas, lo que incrementa el poder como solvente y una mayor capacidad de penetración en el material a extraer. El dióxido de carbono es el gas más comúnmente usado como fluido supercrítico.[27]

Técnicas novedosas como el uso de microondas y ultrasonido para acelerar el proceso de extracción de compuestos de interés con fluidos supercríticos, han sido propuestas para la intensificación del proceso y lograr un rendimiento mayor. Esta técnica se basa en la capacidad que tienen las ondas para que en las matrices se promueva la cavitación y con esto llegar a reducir el tiempo de extracción.[28] La extracción con fluidos supercríticos puede ser asistida con ondas de ultrasonido de alta intensidad, la cual se aplica para acelerar y mejorar la eficiencia del proceso de transferencia de masa en fluidos supercríticos, sin afectar las características y calidad del producto resultante. El uso de ondas ultrasónicas de alta intensidad en fluidos supercríticos representa una manera efectiva de acelerar los procesos de extracción o separación debido a los efectos de la presión de radiación o las corrientes acústicas presentes en la propagación de las ondas. La patente con nombre "Procedimiento de separación o extracción con fluidos supercríticos asistidos por ultrasonido de alta intensidad" describe un proceso de extracción a presiones mayores de 70 bares y con temperaturas hasta de 80°C, en donde se pretende aplicar este mecanismo de extracción para la obtención de compuestos antioxidantes de matrices naturales en donde el uso de disolventes es menor al 50%, logrando una extracción de compuestos en menor tiempo y con un mayor rendimiento.[29]

1.3. Compuestos antioxidantes en el campo de la cosmética

En el campo de la dermatología, los antioxidantes están siendo usados como una alternativa innovadora en los de ingredientes de los productos tópicos[1]. Es por esta razón que la industria cosmética además de crear productos que mejoren la apariencia de la piel desde un punto de vista superficial, están creando productos que también tengan la característica de cuidar y mejorar la apariencia de la piel desde el interior de esta, conociéndose entonces como cosmeceúticos a los productos para la piel que proveen beneficios para la mejora y la prevención de enfermedades de ella.

La piel como barrera cutánea está sometida al deterioro a causa del estrés oxidativo causado por el ambiente; los antioxidantes endógenos son consumidos en gran cantidad hasta llegar al desbalanceo en especies reactivas y finalmente al origen de múltiples enfermedades. Para contrarrestar el desbalanceo anteriormente nombrado, se pueden proveer a la piel antioxidantes de forma tópica o vía oral. La pertinencia de la administración de antioxidantes se ha demostrado por medio de diferentes trabajos llevados a cabo por autores, que han demostrado la capacidad antioxidante de algunas biomoléculas específicamente en la piel, ayudando a la prevención de enfermedades cutáneas como el envejecimiento prematuro, manchas, calvicie e incluso hasta cáncer de piel. La combinación de diferentes compuestos antioxidantes podría tener un mejor resultado en la piel que cada uno por separado. La vitamina E, C y carotenoides manifestaron una actividad antioxidante con beneficios sobre la piel, encontrando una protección a los rayos UV; la administración oral de licopeno, betacaroteno, α -tocoferol redujo la rugosidad y delgadez en la piel, además el betacaroteno mejoró la calidad y proporcionó la prevención de eritema.[30], [31] El resveratrol, la quercetina, los terpenos fenólicos y flavonoides han sido estudiados por su actividad antioxidante directamente sobre la piel, los flavonoides tienen una función eliminadora de especies reactivas de oxígenos como O_2^- , $^{\circ}OH$, H_2O_2 y 1O_2 , además inhiben la producción de H_2O_2 en la dermis y epidermis. Los terpenos fenólicos reducen la peroxidación de lípidos impidiendo los daños en la superficie de la piel, el ácido carnósico por ejemplo, tiene un potencial como fotoprotector. La quercetina mantiene la actividad de los antioxidantes endógenos y los carotenos mostraron una gran poder antioxidante y anticancerígeno con habilidad de capturar el 1O_2 , reduciendo también la peroxidación de lípidos.[32]–[35]

Productos consumidos tanto tópicamente como por vía oral, que contengan agentes antioxidantes naturales se han usado como terapia para combatir y prevenir enfermedades de la piel.[10]

El objetivo de este trabajo es extraer los componentes antioxidantes de tres frutos cosechados en Colombia, *Cucurbita máxima*, *Carica papaya* y *Renealmia alpinia*. Dichas moléculas bioactivas serán extraídas de la semilla, cáscara y pulpa de las frutas anteriormente nombradas.

La *Renalmia alpina* posee antocianinas y flavonoides, las que han sido utilizadas en la elaboración de productos cosméticos. [10] La actividad antioxidante de las antocianinas neutraliza enzimas que destruyen el tejido conjuntivo, repara las proteínas dañadas y es usada con frecuencia en cremas para mejorar la elasticidad de la piel.[36] Las antocianinas se han conocido por su acción antioxidante, por lo que pueden ser útiles en formulaciones cosméticas para la prevención y el tratamiento de trastornos de la piel relacionado los radicales libres y el proceso oxidativo. Para su uso tópico como cosmético se han hecho trabajos donde se encapsulan para este fin.[37] Las antocianinas también son una alternativa natural para reemplazar el rojo N° 40, un colorante sintético usado en los productos cosméticos.[38]

La ahuyama (*Cucurbita maxima*) es un vegetal con gran importancia por su contenido de carotenoides (α -tocoferol y betacaroteno), compuestos fenólicos, aminoácidos, vitaminas A y C.[39] Se ha demostrado que dichos compuestos poseen beneficios para la piel. Contiene ácidos grasos, tocoferoles y fitoesteroles convenientes en el retraso del envejecimiento. Se ha reportado una actividad antioxidante importante en semilla y pulpa de esta, por lo cual esta es una fruta prometedora como componente activo de productos cosméticos.[40]–[42]

Se ha demostrado que los polifenoles poseen propiedades antiinflamatorias y anticancerígenas en la piel, tumores cutáneos se han reducido con tratamientos que contienen dichas moléculas con capacidad antioxidante.[43] El ácido ascórbico, vitamina A y licopeno son las moléculas con beneficios para la salud que la *Carica papaya* posee en su composición, donde el licopeno ha demostrado tener la capacidad de retardar la aparición de los signos de envejecimiento, ha logrado disminuir manchas y resequedad, así también, reduce enfermedades producidas en la piel, como alergias o inflamaciones.[30], [44]

Se ha demostrado que el alto consumo de carotenos tiene un efecto protector contra enfermedades crónicas tales como el cáncer, dermatitis y enfermedades cardiovasculares. [30]s

En la actualidad, un gran número de autores han evidenciado que el uso de antioxidantes en productos tópicos tienen efectos beneficiosos para la piel. Polifenoles, antocianinas y carotenos han sido usados en la formulación de productos cutáneos, asegurando una mejoría en la apariencia de la piel, otorgándole suavidad y salud a la misma. Las antocianinas y proantocianidinas han sido usadas para el tratamiento de heridas, logrando una curación con mayor velocidad, también, se han usado con el fin de mejorar los resultados en los tratamientos de rejuvenecimiento, y propiedades antiinflamatorias, antibacteriales y de fotoprotección son también cualidades atractivas en el campo de la cosmética.[30], [33]

1.4. Biorrefinería de baja escala.

Las diferentes fuentes de biomasa tienen una variedad de potenciales para ser usados industrialmente, se consideran entre los productos a los alimentos en fresco y procesados, en primera medida para no ser una amenaza en la seguridad alimentaria. Biomateriales, químicos obtenidos de forma biotecnológica a partir de fuentes naturales, biocombustibles y bioenergía, son productos que pueden ser obtenidos después de realizar diferentes pretratamientos, bioconversiones y un diseño de procesos para cada materia prima. Es este último el concepto el de biorrefinería, una misma materia prima es el precursor de una variedad de diferentes productos para una misma planta de producción. Siendo entonces, una biorrefinería de baja escala, se plantean plantas de volúmenes pequeños y de equipos multipropósito, siendo su capacidad en litros, hasta plantas piloto para la obtención de productos con alto valor agregado. En el diseño de una biorrefinería se deben conocer las composiciones de la materia prima y considerar los posibles productos a obtener. Gracias a que la mayoría de productos son obtenidos mediante una bioconversión, ya sea mediada con una enzima o resultante de una fermentación con microorganismos, se debe tener en cuenta el pretratamiento pertinente antes de cada proceso y finalmente luego de obtener los productos de interés debe existir un plan de tratamiento para los residuos generados. Según la NREL, una biorrefinería es un centro que integra los procesos y equipos de conversión de biomasa para producir combustibles, energía y productos químicos de valor agregado a partir de biomasa, y el concepto de biorrefinería es análogo a la refinería de petróleo de hoy en día.

La biomasa está conformada principalmente de lignina, hemicelulosa y celulosa, a partir de los cuales es posible obtener un sinnúmero de productos, siendo las plataformas de azúcares y la de síntesis de gases las que hacen que exista una gran variedad de productos, en la industria cosmética específicamente productos como ácidos grasos, solventes no contaminantes, ésteres, acetatos, ácidos, glicerina y compuestos de alto valor agregado como los antioxidantes.

La línea de abastecimiento, la cadena de valor y la logística de transporte tiene un valor importante en el diseño de biorrefinerías. Los productos de alto valor agregado que se obtienen a partir de fuentes que se consideran residuos hace que el precio de materia prima sea menor en estos casos. Es en este enfoque que hay un potencial por abordar para las biorrefinerías de baja escala y de equipos multipropósito; así podrá disponerse lo más cerca posible de una planta piloto en el círculo de la fuente de las materias primas, el costo de transporte será un gasto menos y por tanto obtener un producto de alto valor agregado en el punto de recolección de la materia prima.

Capítulo 2: Metodología

El desarrollo de este trabajo de investigación está cimentado en el conjunto de bases teóricas de los fenómenos fisicoquímicos de los procesos. Se inicia por el análisis de los procesos más pertinentes, luego de forma teórica son calculados valores que serán los parámetros de ajuste para las condiciones usadas en las etapas posteriores de experimentación. El proceso productivo resultante fue simulado en un software comercial (Aspen Plus), en el cual se alimentan tanto datos obtenidos experimental como teóricamente.

Los desarrollos experimentales están enfocados por una parte a la caracterización de las materias primas para encontrar valores que sean de utilidad dentro de la evaluación económica y ambiental de los procesos. Por otro lado, a partir de las condiciones obtenidas teóricamente, se realizan en el equipo de fluidos supercríticos, para así obtener de forma experimental la productividad y rendimiento de dicho proceso, cuyo valor también será usado dentro de la simulación del proceso productivo.

2.1. Cálculo de solubilidad de compuestos antioxidantes

El uso de fluidos supercríticos está siendo aplicado en procesos de extracción, separación y reacción, por lo que se ha generado la necesidad de conocer los datos de equilibrio de solubilidad de compuestos en condiciones supercríticas. A continuación se presenta el modelo de cálculo de la solubilidad de sólidos y líquidos en gases densos desarrollado por Josef Chrastil, que consiste en determinar dicho valor a diferentes temperaturas y presiones encontrando un perfil de solubilidad en el equilibrio[45]. La ecuación general que describirá la solubilidad dependerá de datos experimentales para los solutos de interés, donde dicha ecuación tiene la forma:

Donde:

$$c = \rho^k \exp\left(\frac{a}{T + b}\right) \quad (1)$$

c : solubilidad del soluto kg/m^3

ρ : densidad del solvente kg/m^3

T : Temperatura en K

a : función de la entalpía de solvatación y vaporización

b : es una función del número promedio de asociación que depende del peso molecular del soluto y disolvente

Debido a que los compuestos de interés son en su mayoría polifenoles y flavonoides, los valores usados de a , b y k son los reportados en la **Tabla 2.1**[46]

Tabla 2.1. Parámetros de la ecuación de Chrastil.

Parámetro	Polifenoles	Flavonoides
a	-4621,05	-5089,02
b	1,46	1,74
k	1,93	1,84

Debido a la inexistencia o el poco conocimiento de parámetros experimentales usados con el método anteriormente nombrado, se usan métodos en donde se puedan realizar predicciones de acuerdo a la naturaleza de los compuestos que se deben estudiar; para esto, autores como Škerget et al, Moncada et al y Huang et al., han trabajado con la ecuación de estado de Peng-Robinson (PR) para calcular la solubilidad. Dichos trabajos difieren en las reglas de mezclado utilizadas y en los términos de corrección usados para la ecuación de estado.[47]–[49] Škerget et al., trabajó con PR en combinación con las reglas de mezclado de Van der Waals (VDW) en condiciones de 75 a 150 bar para mezclas binarias[47], Moncada et al, realizó un método en donde se calculan la solubilidades con PR con la modificación de Stryjek-Vera (PRSV) donde en su comparación concluyó que las reglas de mezclado de Wong-Sandler (WS) tienen mayor aplicabilidad en estas mezclas multicomponente.[48] Debido a la presencia de varios componentes en las matrices sólidas naturales con las que se desarrolla la investigación de este trabajo, es este uno de los puntos de partida para el desarrollo experimental y de simulación. La solubilidad de las antocianinas, carotenos y ácidos fenólicos fueron evaluadas a distintas presiones siguiendo el modelo matemático que se describe con las siguientes ecuaciones

$$y_2 = \frac{P_2^{sub} \varphi_2^{sub}}{P \varphi_2} \exp \left[\frac{V_2^s}{RT} (P - P_2^{sub}) \right] \quad (1)$$

Ecuación de estado de PRSV

$$P = \frac{RT}{v - b} - \frac{a}{v^2 + 2bv - b^2} \quad (2)$$

$$a = 0.477235 \frac{R^2 T_c^2}{P_c} \alpha_{PR,i} \quad (3)$$

$$b = 0,077796 \frac{RT_c}{P_c} \quad (4)$$

$$\alpha_{PR,i} = [1 + k_i(1 - \sqrt{T_r})]^2 \quad (5)$$

Modificación de Stryjek-Vera

$$k_i = k_0 + k_1(1 - \sqrt{T_r})(0,7 - T_r)$$

$$k_0 = 0,378893 + 1,4897153w - 0,173848w^2 + 0,019654w^3 \quad (6)$$

Reglas de mezclado de Wong-Sandler

$$a_m = RTQ_{WS}b_m \quad (7)$$

$$b_m = \frac{Q_{WS}}{1 - D_{WS}} \quad (8)$$

$$D_{WS} = \frac{A_{\infty}^E}{cRT} + \sum_i \frac{y_i a_i}{RTb_i} \quad (9)$$

$$Q_{WS} = \sum_i \sum_j y_i y_j \left(b - \frac{a}{RT} \right) \quad (10)$$

$$c = \frac{1}{\sqrt{2}} \ln(\sqrt{2} - 1) \quad (11)$$

$$\left(b - \frac{a}{RT} \right) = \frac{b_i + b_j}{2} - \frac{\sqrt{a_i a_j}}{RT} (1 - k_{ij}) \quad (12)$$

Para estimar los valores de actividad que son necesarios para evaluar la energía libre de Gibbs se usa el modelo de contribución de grupos de UNIFAC DORTMUND, pues con este se pueden predecir valores para sustancias que no son conocidas a profundidad y no existen valores experimentales. La predicción de parámetros termodinámicos se hace con el método de Marrero y Gani.[50] La aplicación de estos modelos se hace con el fin de determinar las condiciones en las que los compuestos de interés presentan una mejor solubilidad en un fluido supercrítico.

2.2. Experimentos, materiales y métodos

El objetivo de la etapa experimental es conocer la composición de las materias primas, obtener la caracterización porcentual para las semillas, cáscara y pulpa de cada una de ellas. Esta tiene pertinencia en el desarrollo de la evaluación económica para los procesos propuestos en este trabajo. Se proyecta los resultados en la extracción con fluidos supercríticos de los compuestos de interés, para obtener los rendimientos de extracción, que son de gran importancia en la etapa de simulación. Se prosigue a caracterizar los extractos obtenidos de la extracción con fluidos supercríticos, con el fin de conocer la capacidad antioxidante de estos.

2.2.1. Materias primas

Para la selección de la ahuyama (*Cucurbita máxima*) y la papaya (*Carica papaya*) utilizada en esta tesis, se procedió a hacer una clasificación con respecto al estado de maduración, color y tamaño de las frutas en un puesto de mercado de la ciudad de Manizales. Los residuos de las materias primas fueron recogidos y facilitados por establecimientos ubicados cerca a la Universidad Nacional de Colombia Sede Manizales. Luego de ser recolectado el material, se examinó que la calidad de este fuera la deseada. El material seleccionado se homogeneizó, en las semillas se tuvo cuidado con que no hubiera material en descomposición y en la cáscara que todos los cortes tuvieran la mínima cantidad de pulpa posible y que todas tuvieran el mismo grosor y color. Las materias primas obtenidas en la ciudad de Manizales se muestran en las Figura 5. Ahuyamay Figura 6. Papaya



Figura 5. Ahuyama



Figura 6. Papaya

El Naikú con el que se trabajó fue obtenido por medio de un puesto de mercado en la ciudad de Leticia, Amazonas y facilitado por medio de una estudiante de Doctorado de la Universidad Nacional de Colombia, sede Amazonía. El naikú obtenido en la ciudad de Leticia se muestra en la Figura 7



Figura 7. Naikú

2.2.2. Caracterización

Los reactivos y equipos necesarios para realizar las caracterizaciones de las semillas, cáscaras y pulpas de cada una de las frutas son provistos por los laboratorios de Ingeniería Química e Instituto de Biotecnología y Agroindustria de la Universidad Nacional de Colombia Sede Manizales.

Reactivos: Etanol grado normal y absoluto, Ácido sulfúrico al 72% (p/p), Agua destilada, Ácido acético, Clorito de sodio, grado técnico (80%), Hidróxido de Sodio, Carbonato de Sodio, Reactivo de Folin-Ciucaltea y 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

Materiales: Extractor Soxhlet de 500 ml, Balanza analítica, Crisol, Dedales, Desecador, Horno de vacío, Autoclave, Placa calefactora, agitador magnético, Mufla, Beakers de 250 ml, Beakers de 25 ml, Papel filtro, Baño térmico, Crisol Gooch y Crisol de platino o de sílica, pipetas graduadas y volúmetricas de 2-10 ml, micropipetas de 100-1000 μ L.

Determinación de componentes solubles en etanol

Este método se hace posible la cuantificación de los componentes de la materia prima que sean extractivos orgánicos (TAPPI 204 os-76.). Los dedales y crisoles se ponen en un horno de vacío a una temperatura máxima de 45°C durante 24 horas o hasta llegar a un peso constante y estos se dejan enfriar en un desecador. Se pesan de 2-4 g (P_m) de la muestra seca y molida, se ponen dentro del dedal de extracción, y este es introducido en el equipo de extracción Soxhlet con 250 ml de etanol para lo que se debe de asegurar que exista una recirculación de vapor de forma que el solvente pase 6 veces por la materia prima como mínimo. Este proceso se realiza durante 24 horas. Luego el material sólido resultante se lleva a un crisol,

lavándolo con volúmenes pequeños de solvente fresco. Se lleva a secar en un horno de vacío a una temperatura de 105 °C. Se pesa la muestra final resultante en el crisol[51]

$$\% \text{ Extractivos} = \frac{P_e - P_{rs}}{P_m} \quad (13)$$

P_e : Peso seco del extracto, P_{rs} : Peso seco del residuo del solvente, es necesario anteriormente hacer una medida del peso seco que deja como residuo el solvente, P_m : Peso de la muestra seca inicial

Determinación de lignina insoluble en ácido

Es una medida cuantitativa de la lignina y no para estudiar la estructura de la lignina existente en las muestras a caracterizar. También se le llama lignina de ácido sulfúrico a la lignina que se determina con el método TAPPI T222 os-74. Se toma una muestra de 200 mg del material libre de extractivos, se añaden 2 ml de H_2SO_4 al 72% (p/p) y se mezcla durante una hora a una temperatura de 30 °C. Pasada la hora se añaden 56 ml de agua destilada para lograr que la concentración del ácido disminuya hasta 4 % (p/p). La solución es finalmente autoclavada a 121 °C y 15 psi por una hora. El producto obtenido del autoclave se filtra y lava con agua destilada, luego se lleva a secar a una temperatura de 105 °C. El peso seco obtenido corresponde a la cantidad de lignina insoluble en ácido.[51]

$$\text{Lignina ácido insoluble (\%)} = \frac{\text{Peso lignina}}{\text{Peso muestra}} * 100\% \quad (13)$$

Determinación del contenido de holocelulosa.

La holocelulosa es un carbohidrato insoluble en agua que hace parte de la composición de las plantas, para este método es necesario que la muestra esté libre de extractivos y de humedad según la norma **ASTM D1104**. En un beaker de 250 ml se pesan 2.5 g de la muestra libre de extractivos y a esta se añaden 80 ml de agua destilada previamente calentada, 0.5 ml de ácido acético y 1 g de clorito de sodio. Se debe elevar la temperatura de la mezcla hasta llegar a los 70 °C durante una hora. Transcurridos los 60 minutos se agregan de nuevo 0.5 ml de ácido acético y 1 g de clorito de sodio. Este procedimiento de agregar 0.5 ml de ácido acético y 1 g de clorito de sodio se repite cada hora hasta sumar seis veces incluida la primera vez que se hizo el procedimiento. Luego de realizadas las 6 adiciones se deja reposar por 24 horas. Finalmente se filtra la holocelulosa y se lava con acetona, se seca y el resultado de peso final es el contenido de holocelulosa.[52]

$$\% \text{ Holocelulosa} = \frac{\text{Pesoholocelulosa}}{\text{Peso de la muestra}} * 100\% \quad (14)$$

Determinación de celulosa y hemicelulosa.

La holocelulosa es tratada con hidróxido de sodio y ácido acético, en donde el resultante del proceso es la celulosa y la fracción pérdida es la hemicelulosa. De acuerdo a la norma **ASTM 1695-77** se toman 2 g de holocelulosa, se deben añadir 10 ml de NaOH al 17.5% y se mantiene la temperatura constante a 20 °C. Luego de 2 minutos agregar 5 ml de la solución de NaOH y repetir cada 5 minutos hasta completar 25 ml de NaOH añadido incluyendo los mililitros iniciales. La solución se debe mezclar durante 30 minutos a una temperatura de 20 °C. Después de completar 45 minutos de todo el proceso se agregan 33 ml de agua destilada a 20 °C y se deja reposar la muestra sólida durante 60 minutos. Finalmente se filtra en crisoles Gooch lavando con agua destilada. A la torta resultante (celulosa) se deben agregar 15 ml de ácido acético al 10 % y se deja reposar durante 3 minutos. Luego de los 3 minutos se hacen lavados para que se disminuya la concentración de ácido en la celulosa. El crisol se seca con la celulosa y se mide la diferencia entre el peso de crisol con sólidos y crisol vacío.[52]

Determinación del contenido de ceniza

Es el residuo resultante de la muestra de interés después de someter a ignición durante 3 horas o más a una temperatura de 575°C para lograr alcanzar la total incineración de la totalidad del carbono dentro del material. En esta medida se hace una aproximación al valor cuantitativo de las sales minerales según el método **TAPPI 211-om-85**. Se pesan 500 mg de material seco y molido de tamaño de partícula de malla 40. Para que la muestra esté seca se debe introducir la materia prima a secar a una temperatura de 105 °C hasta obtener un peso constante. En un crisol previamente incinerado y seco de peso constante se pone la muestra y se lleva a la mufla a $575 \pm 25^\circ\text{C}$ durante 3 horas o más si es necesario para la incineración total del carbono. Al estar completa la ignición se lleva a enfriar el crisol en el desecador y se deja enfriar hasta temperatura ambiente. Pesar el crisol con la ceniza. Hacer cálculo del porcentaje de ceniza en la muestra seca.

Determinación de compuestos fenólicos

Las muestras resultantes de la extracción de antioxidantes por diferentes vías (solventes convencionales o por extracción con fluidos supercríticos) se mantienen a una temperatura de 0-4°C antes de ser medidas por el método de Follin–Ciocalteu, las muestras deben de permanecer en un lugar donde no entre la luz directamente. El método debe desarrollarse en ausencia de luz, puesto que los reactivos usados se afectan al contacto con esta.

Tomar una alícuota de la solución (muestra) aforada de 100 μL en un tubo de ensayo, mezclar con 1600 μL de agua destilada en el tubo de ensayo y agitar con el vórtex durante 30 segundos. Luego a la mezcla obtenida agregar 100 μL de Folin 1N al tubo de ensayo y agitar nuevamente con el vórtex durante 30 segundos, se deja equilibrar durante 5 minutos. Por último se agregan al tubo de ensayo 200 μL de la solución de Na_2CO_3 al 20% y se agitar con el vórtex durante 1 min. Dejar reaccionar el tubo de ensayo en un lugar oscuro durante 2 horas y se mide absorbancia de la solución a 765 nm.[53], [54]

Determinación de capacidad antioxidante

Inicialmente se prepara un DPPH en etanol a una concentración de 60 μM , este debe cumplir la condición de tener una absorbancia de 0,7 aproximadamente. Se mezclan 2850 μL de DPPH con 150 μL de blanco, el cual dentro del espectrofotómetro será el marco de referencia. Se prepararan diferentes factores de dilución en agua destilada para cada muestra. Con cada dilución obtenida se repite el procedimiento de mezclar 150 μL con 2850 μL de DPPH. Finalmente se calcula el valor de IC50 en unidades de gramos de trolox por gramos de muestra[55]

2.2.3. Extracción con fluidos supercríticos

Cada una de las materias primas se seca a una temperatura de 50°C en un horno de convección hasta llegar a peso constante, el material seco se somete a una disminución de tamaño de partícula en un molino con el objetivo de tener una mayor área de contacto para favorecer la transferencia de masa. Con el material ya molido y seco, se ubican en forma de lechos empacados con la medida precisa para que entre dentro de la cámara de extracción del equipo con fluidos supercríticos que se encuentra instalado en el Instituto de Biotecnología y Agroindustria de la Universidad Nacional de Colombia (Figura 8).

Las condiciones son ajustadas de acuerdo a parámetros encontrados con el cálculo de solubilidad de los compuestos de interés en el dióxido de carbono obtenidos de acuerdo a lo descrito en la sección 2.1, estos están acotados a los requerimientos necesarios para no afectar las características antioxidantes, específicamente la termosensibilidad de estos, que se ven afectados a temperaturas mayores de 60°C, y asimismo, que dichas condiciones sean acordes a las necesidades de la industria cosmética, como el uso de solventes no tóxicos, ni acidificados.

El dedal que contiene la muestra es introducido en el tanque de extracción (colector), en este se agrega etanol al 60% (v/v) ajustando que el porcentaje de etanol sea menor al 10% con respecto al dióxido de carbono que es usado. El dióxido de carbono se encuentra almacenado a una presión de 70bar, este pasa a través de una tubería hacia un intercambiador de calor que lo enfría hasta una temperatura de -14 a-16°C.

Luego un sistema de compresión permite que en el tanque de extracción se llegue a presiones altas, en este caso por encima de la presión supercrítica del dióxido de carbono (74 bar), este último se difunde en el material extrayendo los productos de interés, para luego por descompresión en un tanque de separación (colector) retirar el CO₂ y este ser recirculado a la operación.

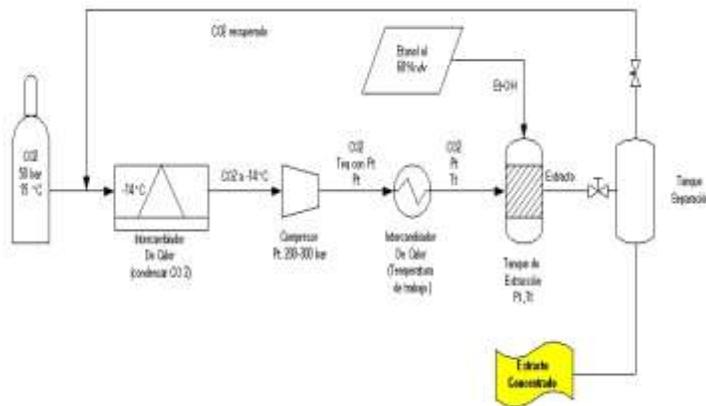


Figura 8. Diagrama de flujo y equipo de fluidos supercríticos

2.3. Simulación

Por cada una de las materias primas se evalúa la planta de producción propuesta; en dichas plantas se usa el concepto de biorrefinería, haciendo un uso integral de cada una de ellas, aprovechando el potencial de cada uno de los componentes de las que están formadas las materias primas. La herramienta Aspen plus es útil para las evaluaciones, ya que trabaja por secuenciación modular, logrando una aproximación a la realidad en equipos, gasto energético y generación de residuos. En estas simulaciones se alimentan tanto los resultados obtenidos en la etapa experimental como en el modelado de cinéticas, los rendimientos obtenidos orientan las simulaciones, obteniendo la aproximación de producto final producido

Las biorrefinerías se diseñan de acuerdo al contenido lignocelulósico que estas tienen, ya que dependiendo de la composición de la materia prima se hará pertinente tener diferentes productos. Se hace un uso integral con respecto a la fracción de celulosa y hemicelulosa de las materias primas, haciendo uso del concepto de jerarquización y de las plataformas de productos a partir de las diferentes fuentes de carbono obtenidas. El esquema general planteado de las biorrefinerías de esta tesis sigue el orden mostrado en la Figura 9

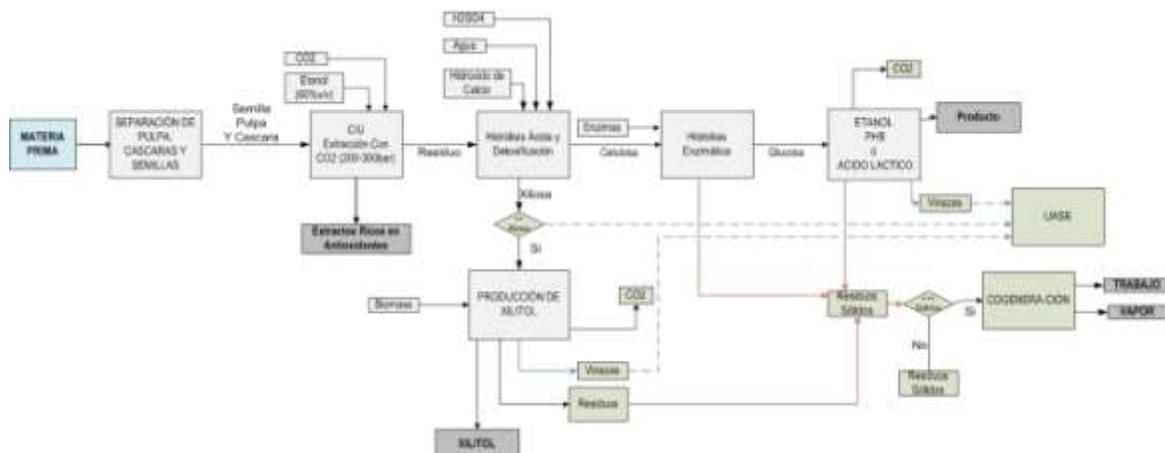


Figura 9. Esquema general de biorrefinerías

Posteriormente se hace un análisis económico utilizando Aspen Process Economic Analyzer (Aspen Technology, Inc., USA) y un análisis ambiental usando el algoritmo de reducción de residuos WAR (Waste reduction Algorithm) formulado por la Agencia de Protección Ambiental (por sus siglas en inglés EPA), como métodos de evaluación para la rentabilidad que el proceso tiene desde un aspecto monetario y el aspecto de generación o mitigación de contaminantes para determinar el impacto ambiental.

2.3.1. Modelos cinéticos

En la ingeniería y diseño de procesos es necesario conocer las rutas de reacción de los diferentes productos de interés, lo que es conocido como modelos cinéticos. Esto con el fin de tener un punto de inicio para obtener condiciones y parámetros cercanos a la realidad del proceso de producción. Se pretende encontrar un estimado de condiciones de operación, balances de materia y de energía, con el fin de evaluar económica y ambientalmente diferentes procesos propuestos.

Hidrólisis ácida

Los azúcares de cinco y seis carbonos son los precursores para diferentes tipos de productos obtenidos por fermentación. Estas fuentes de carbono pueden ser obtenidas a partir de compuestos lignocelulósicos, haciéndose estos últimos un material de potencial para la producción de biocombustibles, químicos y hasta alimento para animales. Las materias primas de carácter natural, ricas en compuestos lignocelulósicos pueden ser hidrolizadas en sus componentes celulósicos y hemicelulósicos exponiendo los azúcares requeridos para la obtención de los productos de interés. Se utilizan ácidos diluidos para hidrolizar la hemicelulosa en fuentes de carbono solubles en agua, la torta de sólidos resultante son celulosa y lignina.

Este pretratamiento requiere de métodos posteriores para evitar que exista inhibición por formación de subproductos indeseados. [56], [57]

El modelo cinético para la hidrólisis ácida se rige con las ecuaciones presentadas a continuación

$$\frac{dX_f}{dt} = -k_f X_f \tag{15}$$

$$\frac{dX_s}{dt} = -k_s X_s \tag{16}$$

$$\frac{dX_y}{dt} = k_f X_f + k_s X_s - k_2 X_y \tag{17}$$

$$\frac{dY}{dt} = k_2 X_y \tag{18}$$

Resultando el total de equivalentes en xilosa como

$$X_R = X_f + X_s = X_{f0} e^{-k_f t} + X_{s0} e^{-k_s t} \tag{19}$$

Tabla 2.2. Parámetros cinéticos para la hidrólisis ácida

Parámetros cinéticos		
k_f	A_0	1.9×10^{21}
	$E \left(\frac{KJ}{mol} \right)$	169
	n	0.4
k_s	A_0	4.2×10^{23}
	$E \left(\frac{KJ}{mol} \right)$	201,7
	n	2
k_2	A_0	3.8×10^{10}
	$E \left(\frac{KJ}{mol} \right)$	99.5
	n	1.45

Hidrólisis enzimática de la celulosa

Se divide en azúcares simples la celulosa usando enzimas que catalizan la reacción de hidrólisis. La glucosa se obtiene con el fin de producir diversos productos de interés entre los que se encuentran etanol, PHB, ácido láctico, entre otros. Las velocidades de reacción y el modelo cinético que describe dicho proceso desde la celulosa hacia la glucosa, consisten en una reacción en serie y paralelo donde existe un producto intermedio que es la celubiosa y la conversión final de esta a glucosa .[58]

Velocidad de reacción de celulosa

$$\frac{dC_S}{dt} = -r_1 - r_2 \quad (20)$$

Velocidad de reacción de celubiosa

$$\frac{dG_2}{dt} = 1.056r_1 - r_3 \quad (21)$$

Velocidad de reacción de glucosa

$$\frac{dG}{dt} = 1.111r_2 + 1.053r_3 \quad (22)$$

Celulosa a celubiosa

$$r_1 = \frac{k_{1r}C_{E1B}R_S C_S}{1 + \frac{C_{G2}}{K_{11G2}} + \frac{C_G}{K_{11G}} + \frac{C_{Xy}}{K_{11Xy}}} \quad (23)$$

Celulosa a glucosa

$$r_2 = \frac{k_{2r}(C_{E1B} + C_{E2B})R_S C_S}{1 + \frac{C_{G2}}{K_{21G2}} + \frac{C_G}{K_{21G}} + \frac{C_{Xy}}{K_{21Xy}}} \quad (24)$$

Celubiosa a glucosa

$$r_3 = \frac{k_{3r}C_{E2F}C_{G2}}{K_{3M} \left(1 + \frac{C_G}{K_{31G}} + \frac{C_{Xy}}{K_{31Xy}} \right) + C_{G2}} \quad (25)$$

Etanol

El etanol, tiene la característica de ser tanto un producto de alta demanda gracias a su función actual como biocombustible, así como también, su importancia como reactivo a la hora de producción de otros tipos de químicos como acetatos y ésteres. La producción de etanol se logra gracias a la acción de microorganismos, obedeciendo su comportamiento de fermentación a las diferentes modificaciones realizadas a la cinética de Monod que todos los desarrollos microbianos obedecen. Las velocidades de producción, consumo y crecimiento microbiano se presentan a continuación.[59]

Producción de Biomasa

$$\frac{dX}{dt} = \mu_{max} \left(\frac{S}{k_{sx} + S} \right) (1 - k_{px}P)x \quad (26)$$

Producción de Etanol

$$\frac{dP}{dt} = q_{max} \left(\frac{S}{k_{sp} - S} \right) (1 - k_{pp}P)x \quad (27)$$

Consumo de Sustrato

$$\frac{dS}{dt} = -\left(\frac{1}{Y_{xs}} \frac{dx}{dt}\right) - \left(\frac{1}{Y_{ps}} \frac{dP}{dt}\right) \quad (28)$$

Para el desarrollo de los perfiles de comportamiento los parámetros cinéticos usados en el modelo son: $\mu_{max} = 0.225(h^{-1})$, $k_{sx} = 8.42 \left(\frac{g}{dm^3}\right)$, $k_{px} = 0.023 \left(\frac{g}{dm^3}\right)$, $q_{max} = 0.810 \left(\frac{g}{g_{cell}}\right) * h$, $k_{sp} = 33.92 gdm^3$, $k_{pp} = -0.089 gdm^3$, $y_{xs} = 0.101 gg$, $y_{ps} = 0.8698 gg$

Ácido láctico

La producción de ácido láctico se ha incrementado en la actualidad con el crecimiento de la producción microbiana de productos con alto valor agregado, esto gracias a que este es una materia prima para la producción de ácido poliláctico, el cual es biopolímero de interés creciente. Además, el ácido láctico es producido en gran volumen para la industria de alimentos, cosmética y farmacéutica. El modelo de producción de ácido láctico a partir de glucosa obtenida de materias primas de carácter lignocelulósico es usado en este trabajo, el microorganismo que interviene en dicha fermentación es *Enterococcus faecalis* RKY1[60], [61]

Crecimiento específico

$$\mu = \frac{\mu_{max} S K_{ix}}{(K_{sx} + S)(K_{ix} + S)} e^{-P/K_{px}} \quad (28)$$

Crecimiento microbiano

$$\frac{dX}{dt} = (\mu - K_d)X \quad (29)$$

Consumo de sustrato

$$\frac{dS}{dt} = q_{smax} \left(\frac{S K_{is}}{(K_{ss} + S)(K_{is} + S)} e^{-\frac{P}{K_{ps}} X} \right) \quad (30)$$

Formación de ácido láctico

$$\frac{dP}{dt} = \alpha \frac{dX}{dt} + q_{pmax} \left(\frac{S K_{ip}}{(K_{sp} + S)(K_{ip} + S)} e^{-\frac{P}{K_{pp}} X} \right) \quad (31)$$

Entre los parámetros cinéticos que la producción de ácido láctico emplea están:

$$\mu_{max}: 1.6(h^{-1}), K_{ix}: 167.46 \left(\frac{g}{l}\right), K_{sx}: 0.89 \left(\frac{g}{l}\right), K_{px}: 17.07 \left(\frac{g}{l}\right), K_{is}: 303.17 \left(\frac{g}{l}\right), K_{ss}:$$

PHB

El biopolímero es un producto de creciente interés debido a sus características biocompatibles y biodegradables, haciendo de este un polímero competente comparado con otros polímeros de origen convencional. En este proceso se acondiciona la glucosa obtenida y se lleva a una temperatura de 121°C

para luego llevarse a autoclave. En la fermentación, junto con la *Ralstonia eutropha* a una temperatura de 37°C se lleva a cabo la producción de PHB y dióxido de carbono. Para la obtención de los rendimientos que se usaran en la simulación, se tiene en cuenta la cinética del trabajo de Shahhosseini.[62], en donde el modelo matemático obtenido sigue las siguientes ecuaciones

Crecimiento de biomasa

$$r_x = \mu_m \left(\frac{S_r}{S_r + K_{sr}} \right) \left(1 - \frac{S_r}{S_m} \right)^n C_x \quad (32)$$

Consumo de sustrato

$$r_{SC} = -k_4 r_x - k_5 C_x \quad (33)$$

Consumo de nitrógeno

$$r_c = -k_3 r_x \quad (34)$$

Producción de PHB

$$r_p = k_1 r_x + k_2 C_x \quad (35)$$

$$S_r = \frac{C_{sn}}{C_{sc}} \quad (36)$$

C_{sn} [Nitrogen source] C_{sc} [Carbon source]

Donde: $\mu_m = 0.78 h^{-1}$, $K_{sr} = 0.29$, $S_m = 0.3$, $n = 0.24$, $k_1 = 0.2604$, $k_2 = 0.0301$, $k_3 = 0.6511$, $k_4 = 4.503$ y $k_5 = 0.0001$

Xilitol

El xilitol es un producto de uso alimenticio y cosmético, el cual es obtenido por fermentación en un medio con xilosa y luego de obtenido es cristalizado en presencia de etanol. El xilitol se produce con la xilosa obtenida después de la hidrólisis ácida. Esta corriente es acondicionada de acuerdo al trabajo realizado por Tochampa et al. Esta fermentación es aerobia y tiene como productos xilitol y CO₂. La fermentación con *Candida mogii* se lleva a cabo a una temperatura de 40°C. Luego del procedimiento, al separar los productos de la biomasa, esta última tiene disposición como residuo sólido. El xilitol se cristaliza en presencia de etanol a una temperatura de 5°C y finalmente se centrifuga para obtener xilitol de alta pureza. Luego el etanol se recupera y se alimenta de nuevo a la producción de xilitol. [63]

2.3.2. Balance de masa y energía

Los flujos de alimentación de materia prima dentro de la biorrefinería son elegidos de acuerdo a la producción actual de dicha materia prima, la disponibilidad de crecimiento agrícola por disposición de terrenos cultivables y la finalidad que el producto tenga. Junto con lo anterior deberán ser adaptadas las condiciones de proceso de acuerdo con cada producto a obtener y los modelos cinéticos de cada uno. Gracias a que Aspen Tech v8.0 es una herramienta para el diseño de procesos de forma modular y secuencial, es posible hacer un análisis energético de cada uno de los equipos usados dentro de la manufactura, así entonces, se podrán manipular la serie de condiciones a usar de acuerdo a un tejido de conocimientos teóricos generados previamente.

2.3.3. Evaluación económica

Los gastos de producción relacionados con la demanda de materia prima, el uso de fluidos de servicio y requerimiento energético son evaluados económicamente luego de obtener los balances de materia y energía de cada uno de los equipos usados dentro del proceso de producción. De acuerdo al volumen requerido de cada equipo, se estima la dimensión y el material de construcción de dichos equipos evaluando así el capital necesario de inversión y de depreciación de los mismos. Finalmente de acuerdo a la magnitud de la planta, existirán los gastos referentes a administración y costos de operación generados por operarios y supervisores. Aspen Process Economic Analyzer es la herramienta donde serán retroalimentados los balances de energía y de masa provenientes de los equipos de cada proceso de la biorrefinería, así se logrará obtener una estimación detallada de los costos acarreados dentro del proceso.[64]–[66]

2.3.4. Evaluación ambiental

Se realiza el análisis de impacto ambiental con la metodología del algoritmo WAR de la Agencia de Protección del Medio Ambiente (EPA por sus siglas en ingles), este método se basa en el análisis del potencial de impacto ambiental (PEI) para los procesos químicos, que consiste en medir si las sustancias involucradas dentro de los procesos tienen un efecto negativo tanto en la salud humana, animal y del medio ambiente, generando un índice del impacto esperado por los residuos generados en dicho proceso. El estimado de impacto se realiza a partir de los datos generados en el diseño de los procesos y obtenidos a partir de los balances de masa y de energía. en la biorrefinería considerando 20 ton/día de alimentación para los escenarios con y sin cogeneración. El potencial de impacto ambiental (PEI-Potential Environmental Impact) generado se encuentra distribuido en 8 categorías: Potencial de intoxicación humana por ingestión (HTPI), Potencial de intoxicación humana por exposición (HTPE), Potencial de Toxicidad Terrestre (TTE),

Potencial de Toxicidad Acuática (ATP), Potencial de Calentamiento Global (GWP), Potencial de Disminución de Ozono (ODP), Potencial de Formación de Esmog (PCOP) y Potencial de Acidificación (AP).[66], [67]

SECCIÓN DE RESULTADOS

Capítulo 3: Productos de alto valor agregado a partir de ahuyama (*Cucurbita máxima*), obtenidos en una biorrefinería de baja escala.

3.1. Introducción

La ahuyama es originaria del trópico ecuatoriano, obedece a diferentes nombres dependiendo de la región o país donde se encuentre, algunos de estos nombres son Zapallo (Perú), Calabaza (Venezuela), Pipian(Término indígena), melón del monte (Bolivia) y Ahuyama en la región central del país. La *Cucurbita máxima* es una planta de gran masa foliar, que se adapta fácilmente a los ambientes difíciles, y al ser cultivada en condiciones óptimas puede llegar a tener una productividad de 40 toneladas por hectárea. Tiene un uso variado en las cocinas tradicionales, siendo utilizada en preparaciones con arroz, purés o tortas, también tiene uso agroindustrial comercializada como ingrediente en yogures, compotas y mermeladas.[68] En la Tabla 3.1 se detalla la clasificación de la *Cucurbita máxima* en el reino vegetal

Tabla 3.1. Clasificación taxonómica de la Ahuyama

División	Magnoliophyta
Subdivisión	Magnoliophytina
Clase	Magnoliopsida
Orden	Violales
Familia	Cucurbitaceae
Genero	Cucurbita
Especie	Máxima

Es conocida por su alto contenido nutricional y se le atribuyen sus características antioxidantes a su gran contenido de betacaroteno. El cultivo de la ahuyama se da en climas cálidos a una altura que oscile entre cero y 1800 msnm, la temperatura requerida está entre 18 y 25°C en suelos con precipitaciones de 1000 a 2000 milímetros anuales.

La aplicación de valor agregado a los residuos de ahuyama es importante, ya que puede convertir un material vegetal barato y abundante en productos de alto valor, contribuyendo a beneficiar tanto a los consumidores como a la agroindustria de este fruto. El interés en este fruto es su alto contenido de betacaroteno y otros compuestos con actividad antioxidante como el ácido hialurónico y vitamina B12. [69]

Los ácido oleico, linoleico y palmítico son los ácidos grasos de mayor abundancia entre los muchos encontrados en las semillas de ahuyama; otras biomoléculas con importancia en la salud humana que se encuentran en la composición de estas son ácidos fenólicos como el ácido cafeico, ferúlico, cumárico y otros. Por estos componentes, es que se consideran las semillas de ahuyama un recurso valioso para la cosmética y otras industrias como la farmacéutica y la alimenticia.[70]

Por otro lado, la cáscara de ahuyama es usada en tratamientos de belleza como exfoliante y rejuvenecedor, ayuda a mantener la piel saludable y más joven. Combate los radicales libres, elimina las células muertas, mejora la textura y aumenta la humedad de la piel, estimula la producción de elastina y colágeno, desvanece las líneas finas y arrugas, reduce otros signos de envejecimiento, y aclara la hiperpigmentación, ya que es un emoliente. Sus compuestos ricos y altamente útiles son la razón del uso de esta para fines cosméticos. Se sabe que contiene altos niveles de vitaminas (como A y C), zinc, potasio, betacaroteno, etc. La presencia de estas vitaminas promueve la producción de colágeno y elastina, el zinc y el potasio ayudan en la piel. [71]

A continuación se presentan los resultados obtenidos de la caracterización de la cascara, semillas y pulpa de ahuyama. El betacaroteno se utiliza como molécula representativa del grupo de carotenos para la evaluación de la solubilidad en dióxido de carbono en condiciones supercríticas, dicho cálculo se realizó con el fin de estimar las condiciones de extracción en el equipo de fluidos supercríticos. Luego a los extractos obtenidos se midió el contenido de compuestos fenólicos y el poder antioxidante. Se hizo un diseño de biorrefinerías a partir de los residuos resultantes de la extracción de los compuestos de interés en donde se evaluó económica y ambientalmente para un proceso de producción en donde se hacía una alimentación de ahuyama de 1, 5 y 20 toneladas al día.

3.2. Resultados

La ahuyama fue separada en semilla, cáscara y pulpa manualmente. Luego de ser dividida cada una de las partes se seca a una temperatura de 50°C con el fin de que por efectos de la temperatura los componentes no pierdan su capacidad antioxidante. La caracterización se realizó con el material seco, y se evaluó con cada uno de los métodos mencionados en la sección 2.2.1, los que se hicieron por triplicado. Los resultados obtenidos para el contenido de lignina, celulosa, hemicelulosa, ceniza, extractivos y humedad, se muestran en las **Tabla 3.2,Tabla 3.3 yTabla 3.4.**

Tabla 3.2. Caracterización fisicoquímica de la cáscara de ahuyama

Cáscara de ahuyama	
Componente	%
Humedad	76,98±4,513
Base seca	
Extractivos	34,346±0,521
Lignina	8,087±0,869
Celulosa	48,078±0,765
Hemicelulosa	9,392±1,05
Ceniza<<	0,097±0,0036
Compuestos fenólicos(mgEAG/10g)	50,360±5,6
IC50 (mgTE/gfruta)	0,845±0,037

Tabla 3.3. Caracterización fisicoquímica de la semilla de ahuyama

semilla de ahuyama	
Componente	%
Humedad	5,703±0,261
Base seca	
Extractivos	42,831±0,282
Lignina	4,277±0,003
Celulosa	28,590±0,073
Hemicelulosa	24,208±0,07
Ceniza	0,0938±0,012
Compuestos fenólicos(mgEAG/10g)	52,994±0,000
IC50(mgTE/gfruta)	2,834±0.0804

Tabla 3.4. Caracterización fisicoquímica de la pulpa de ahuyama

pulpa de ahuyama	
Componente	%
Humedad	87,315±0,918
Base seca	
Extractivos	57,755±0,865
Lignina	4,327±0,291
Celulosa	19,789±0,539
Hemicelulosa	7,970±0,54
Ceniza	0,151±0,005
Compuestos fenólicos(mgEAG/10g)	57,532±1,543
IC50(mgTE/gfruta)	1.822±0,119

Los resultados de contenido fenólico obtenidos son $57,532 \pm 1,543$ (mgEAG/10g), con respecto a los encontrados por Dini et al., que encontraron $47,26 \pm 1,2$ mgEAG/10g de pulpa. [39]

La comparación de resultados obtenidos en este trabajo es comparada con algunos datos de la literatura en la **Tabla 3.5**. En este trabajo se obtuvieron cifras similares a las que obtuvieron Kim et al.[71]. Las diferencias están principalmente en la cantidad de extractivos encontrados por Kim et al en la cáscara y pulpa, obteniendo ellos un mayor porcentaje. La humedad y la ceniza en ambos trabajos presentan valores similares. Los extractivos de la semilla difieren en un diez por ciento más en el trabajo realizado por Kim et al, pero mantienen la tendencia en ambos trabajos de ser la mayor composición de la semilla.

Tabla 3.5. Comparación de los resultados obtenidos con una referencia bibliográfica

	Semilla		Cáscara		Pulpa	
	Este Trabajo	Kim et al.[71]	Este Trabajo	Kim et al.[71]	Este Trabajo	Kim et al.[71]
Humedad	5,703	2,751	76,98	75,679	87,315	84,043
Extractivos	42,831	52,434	0,078	0,009	0,086	0,004
Ceniza	0,0938	0,0442	0,097	0,112	0,151	0,105

Se realizó el cálculo de solubilidad para el betacaroteno, pues esta es la molécula más representativa encontrada en la composición de la cáscara y pulpa de ahuyama de acuerdo a diferentes autores. Este cálculo se hizo con el objetivo de encontrar unos puntos de partida para realizar la extracción con fluidos supercríticos de los compuestos de interés. Se obtuvo una superficie de resultados, los cuales sugieren que las posibles condiciones para obtener mayor cantidad del producto están en un rango de 200-280 bares (**Figura 10**). La temperatura se acotó en el rango de 30-50°C para proteger a los compuestos de perder su capacidad antioxidante por efectos de temperatura, puesto que por su termolabilidad a partir de los 55°C estos comienzan a perder su capacidad de neutralizar radicales libres.

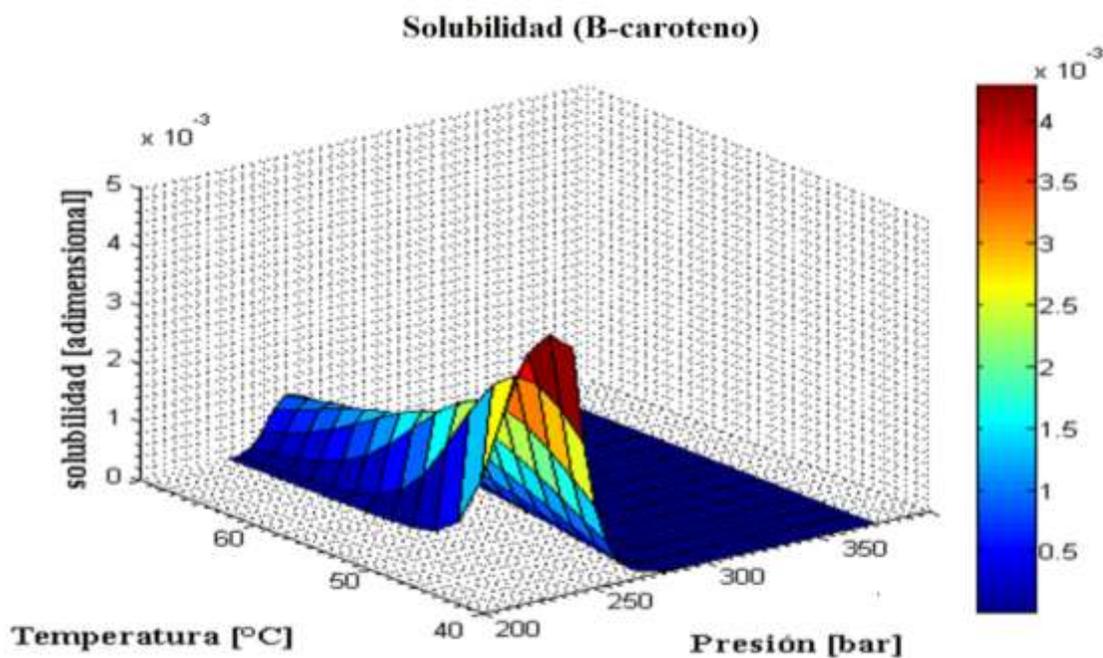


Figura 10. Solubilidad del betacaroteno

Se llevó a cabo la extracción de compuestos de interés de las semillas, cáscara y pulpa de ahuyama a una temperatura de 50°C a diferentes presiones (200, 250 y 300 bar). Cada extracción constó de tres ciclos de 20 minutos trabajando en continuo. Se pesaron 15 gramos de cada muestra seca para las extracciones.

Las muestras se dividen en las resultantes del colector y las del tanque de extracción, cada una de ellas fue caracterizada por los métodos Folin-Ciocalteu y DPPH para conocer el contenido fenólico y el porcentaje de inhibición, respectivamente.



Figura 11. Extracto de Cáscara

Figura 12. Extracto de la pulpa

Figura 13. Extracto de Semilla

En las Figura 11, Figura 12 y Figura 13 se nota con facilidad cada uno de los extractos obtenidos, los cuales muestran una concentración alta de compuestos extraídos. Los extractos lucen espesos y con colores vivos,

lo que como anteriormente fue nombrado, son los compuestos fenólicos y carotenos quienes proveen a la familia de los vegetales la pigmentación. Al realizar la extracción usando como materia prima la cáscara y la pulpa de la ahuyama, se encontró que en el lugar donde se lleva a cabo la extracción el material sufre de un aumento en el área superficial, logrando obtenerse al final del proceso un material que aumentó su volumen. En la **Figura 14** se muestra más claramente el fenómeno, a la izquierda se encuentra el dedal sin tratamiento y el de la derecha el que resulta luego de la extracción. Se plantea que esto puede deberse a los efectos que el dióxido de carbono acompañado de etanol tienen en la estructura lignocelulósica. El CO₂ beneficia la ruptura de la lignina, formando gas carbónico con la reacción entre el dióxido de carbono y el agua, lo que promueve la hidrólisis [72]



Figura 14. Lechos empacados antes y después de la extracción

Las extracciones realizadas para la ahuyama (cáscara, semillas y pulpa) tuvieron una pérdida de etanol entre el 2-10%. Es de nombrar que para las extracciones de pulpa y cáscara no se recuperó el etanol introducido en la cámara de extracción, y que este fue recuperado casi en su totalidad en el colector, el resto que no es posible recuperar son pérdidas por el manejo del equipo. A continuación en la Tabla 3.6 se muestran los resultados de capacidad antioxidante, compuestos fenólicos y rendimiento de extracción de compuestos fenólicos de los extractos obtenidos.

Tabla 3.6. Resultados obtenidos con fluidos supercríticos

Caracterización de los extractos obtenidos					
	Presión (bar)		Capacidad antioxidante (mgTE/gfruta)	Compuestos fenólicos (mgEAG/10g)	Rendimiento
Pulpa	200	Extractor	ND	ND	35,34%

		Colector	30,714% inh	20,331±1,094	
	250	Extractor	1,507	ND	77,1%
		Colector	0,014	44,378±3,165	
	300	Extractor	30,76% inh	ND	97,3
		Colector	ND	55,978±1,777	
Semilla	200	Extractor	1,063	41,489±0,337	90,77%
		Colector	24% inh	11,358±0,124	
	250	Extractor	0,966	22,999±0,543	47,66%
		Colector	21% inh	11,998±1,069	
	300	Extractor	2,141	29,405±0,334	66,56%
		Colector	21% inh	13,420±0,328	
Cáscara	250	Extractor	ND	ND	29,81%
		Colector	38,9% inh	15,016±1,685	
	300	Extractor	ND	ND	90,91%
		Colector	0,525	45,780±0,529	

Los extractos obtenidos son ricos en compuestos con capacidad antioxidante. Según Shi et al., los extractos obtenidos de la pulpa tiene contenido de licopeno y betacaroteno.[69] Esta composición denota el potencial que tienen la ahuyama como fuente de este tipo de antioxidantes que son utilizados en productos cosméticos como protectores solares, pues estos previenen que se forme el H_2O_2 generado por la exposición a rayos UV-B, los productos que contienen estos compuestos tienen características de fotoprotección de la piel.[7], [34] De las semillas se obtienen extractos de ácidos grasos, según Mitra et al., el ácido oleico, linoleico y palmítico son los que existen en mayor composición.[41] El uso de los diferentes ácidos grasos anteriormente nombrados están enfocados a la hidratación, prevención o reducción de la hiperpigmentación y a propiedades antiinflamatorias de la piel[7], [73], [74]

A continuación se detalla la biorrefinería que se diseñó para el uso integral de la *Cucurbita máxima*, donde se planteó la producción de pulpa de ahuyama para uso alimenticio, etanol, PHB y extractos con capacidad antioxidante. Además de los productos anteriormente dichos, se podría obtener una combinación de ácidos grasos, en donde el mayor componente de estos ácidos sería el ácido linoleico, que de acuerdo a la literatura

es el ácido graso de mayor presencia en semillas y pulpa de la ahuyama. [71]La caracterización de la ahuyama que se obtuvo en este trabajo, se introdujo en el software haciendo que el diseño de la biorrefinería esté acoplado a la realidad. La materia prima se separa en cáscara, semillas y pulpa. Una parte de la pulpa obtenida se dirige a una etapa de troceado y empaclado para ser usada con fines alimenticios (55%), teniendo en cuenta así la seguridad alimentaria, puesto que la materia prima hace parte de los productos consumidos por la canasta familiar.

Las semillas, cáscaras y pulpa resultantes fueron sometidas cada uno de ellas a un proceso de extracción con fluidos supercríticos, con el fin de obtener productos de alto valor agregado. Considerando las diferentes condiciones de operación, los mejores rendimientos obtenidos fueron alimentados en la simulación. La temperatura de extracción en todos los casos fue de 50°C, para las semillas la extracción se realizó a una presión de 200 bar y se obtuvo un rendimiento del 90,77%, las cáscaras a una presión de 300 bar y un rendimiento del 90,1% y finalmente la pulpa a una presión de 300 bar y se obtuvo un rendimiento del 97,3%. Los residuos de las extracciones son sometidos a hidrólisis ácida, detoxificación del residuo y finalmente una hidrólisis enzimática para obtener los hidratos de carbono que los microorganismos asimilan. De acuerdo a lo planteado por Birol et al., se usó *Saccharomyces cerevisiae* como microorganismo para la producción de etanol, la condiciones de operación es de 30°C con una concentración inicial de glucosa ajustada al 10%. [59] La *Ralstonia eutropha* a las condiciones reportadas por Shahhosseini a una temperatura de 30°C y una concentración de 15 g/L de glucosa [62]. En la Figura 15 se muestra la biorrefinería propuesta para la obtención de Etanol, PHB y Antioxidantes a partir de *Cucurbita máxima*.

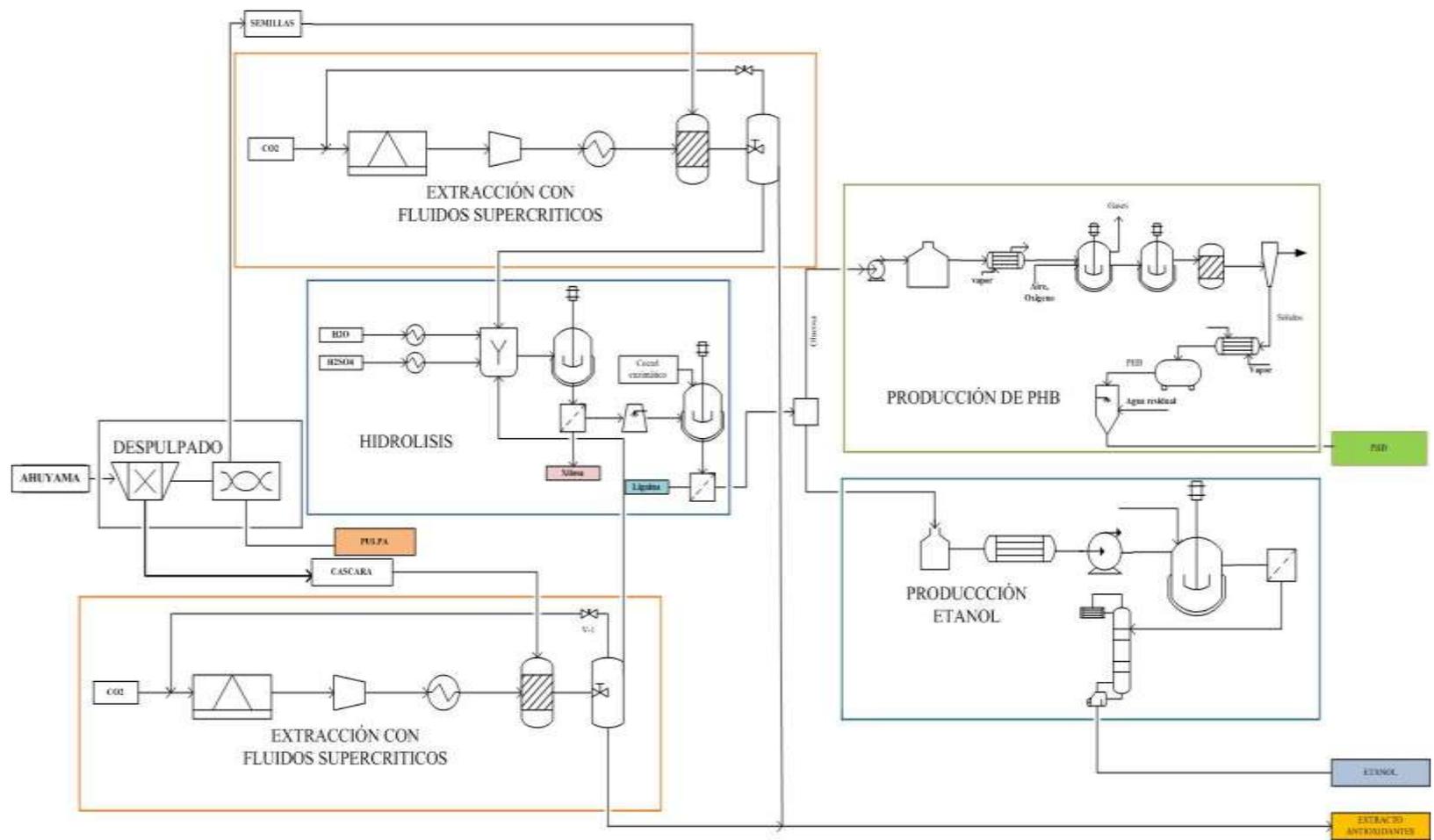
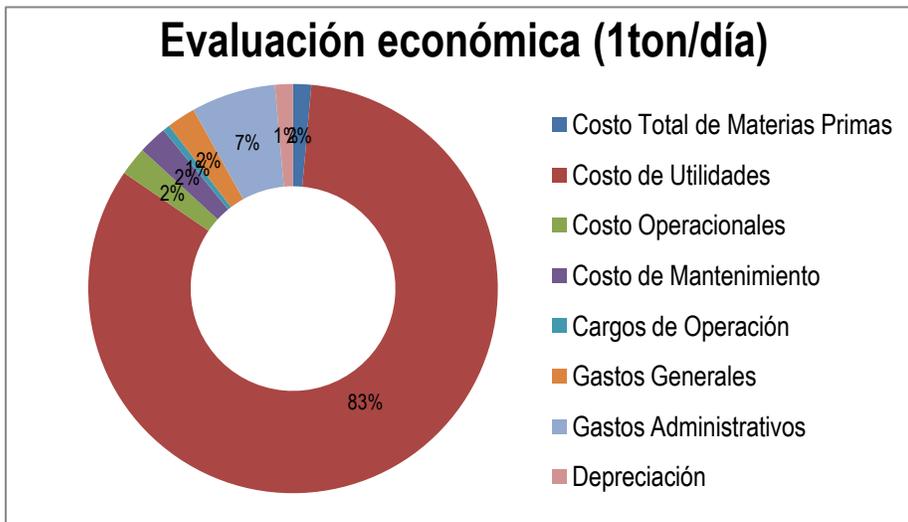


Figura 15. Biorrefinería a partir de la ahuyama

Los resultados de costos obtenidos para la producción de PHB, Etanol y Extractos con capacidad antioxidantes se exponen a continuación. Se hizo una evaluación del comportamiento de los costos variando el volumen de materia prima alimentado. Se hace una comparación de los precios por kilogramo de producto que el mercado tiene, en este caso es de 0,91 USD/Kg, 3,14 USD/Kg y 87,44 USD/Kg de Etanol, PHB y Antioxidantes, respectivamente. La evaluación económica para las biorrefinerías aumentando el volumen de alimentación (1-20 ton/día) se categorizó por los diferentes tipos de costos asociados dentro de una planta de producción en las Figura 16, Figura 17 y Figura 18.



COSTO USD/Kg

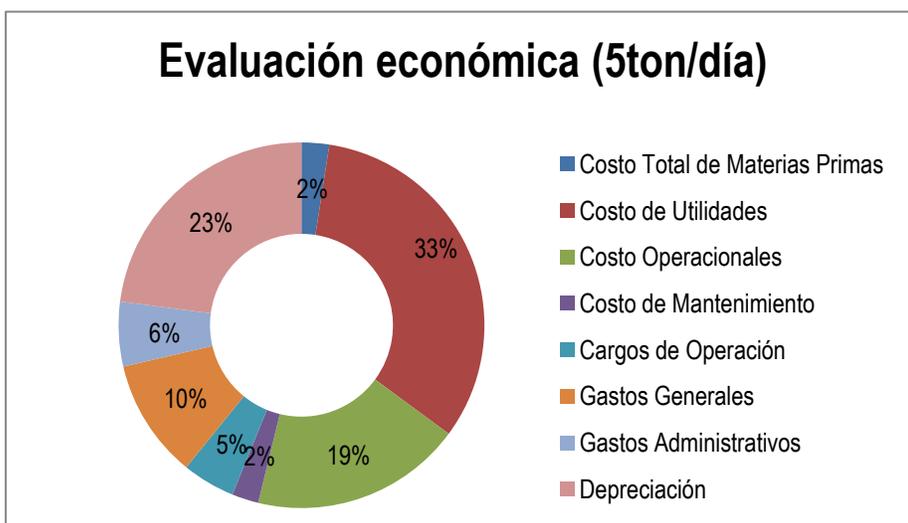
Etanol: 3,47

PHB: 10,08

Antioxidantes:

23,86

Figura 16. Evaluación económica (1ton/día ahuyama)



COSTO USD/Kg

Etanol: 3,29

PHB: 9,54

Antioxidantes:

22,57

Figura 17. Evaluación económica (5Ton/día ahuyama)

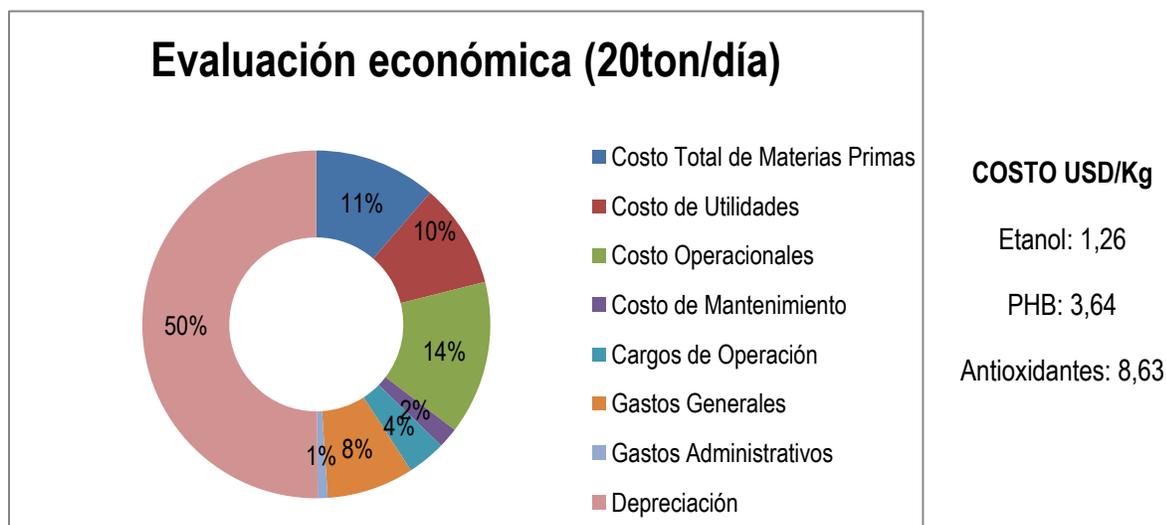


Figura 18. Evaluación económica (20ton/día ahuyama)

Se observa que para la biorrefinería de menor escala (1ton/día), se obtuvo un alto costo en las utilidades, este valor se ve reflejado en el precio de los productos elaborados en la biorrefinería. El caudal de los fluidos de servicio no se ve compensado con el volumen del flujo de materia prima, por lo que los fluidos de servicio terminan siendo más de los necesarios con respecto a la materia prima. Los productos terminan teniendo un costo de 3,47 USD/L, 10,08 USD/Kg y 23,86 USD/Kg para el etanol, PHB y Antioxidantes, respectivamente. Estos valores triplican y cuadruplican el costo habitual del mercado de etanol y PHB.

El porcentaje de costos se ve más distribuido en la biorrefinería donde la producción fue realizada con un volumen de alimentación de 5 toneladas al día de ahuyama. Los costos de las utilidades siguen siendo los más representativos, pero a este se le suma el costo de depreciación de los equipos. Un mayor uso debido a un volumen mayor, tiene significado en el uso de materias primas corrosivas y de incrustación, lo que sugiere una mayor depreciación de los equipos. 3,29 USD/kg, 9,54 USD/Kg y 22,57 USD/Kg son los valores obtenidos como precio del producto en esta biorrefinería para etanol, PHB y antioxidantes, respectivamente. Estos costos son menores en comparación a los que se obtuvieron en la biorrefinería alimentada por 1ton/día de ahuyama, pero aun así siguen siendo el triple de costo del mercado para el etanol y PHB.

Por último, los costos encontrados para la biorrefinería con volumen de alimentación de 20 ton/día tienden a un margen de ganancia neutro. Los costos se aproximan a los ofrecidos en el mercado y pueden ser subsidiados por la producción de antioxidantes.

Posteriormente, se evaluó ambientalmente con el algoritmo de reducción de residuos (WAR) la etapa de extracción con fluidos supercríticos(EFS) mostrada en la Figura 19. Gracias al uso de un material natural, donde se hace la extracción con dióxido de carbono, hay un valor de HTPI y TTP que muestra que el

proceso mitiga estos ítems, que hacen referencia al potencial de intoxicación humana por ingestión y un potencial de toxicidad terrestre, respectivamente. La materia prima es usada de forma que se hace una disposición diferente de los sólidos a la convencional. El potencial de intoxicación humana por exposición (HTPE) y el potencial de acidificación (AP) muestran cifras bajas, lo que se explica por los usos de los diferentes combustibles. El uso de los diferentes combustibles y el uso de etanol en la extracción se ve reflejado en el potencial de toxicidad acuática, siendo aquel con el mayor valor en la evaluación de impactos de la etapa de fluidos supercríticos. Finalmente el potencial de impacto total de la extracción con fluidos supercríticos sugiere que este proceso tiene un potencial de mitigación.

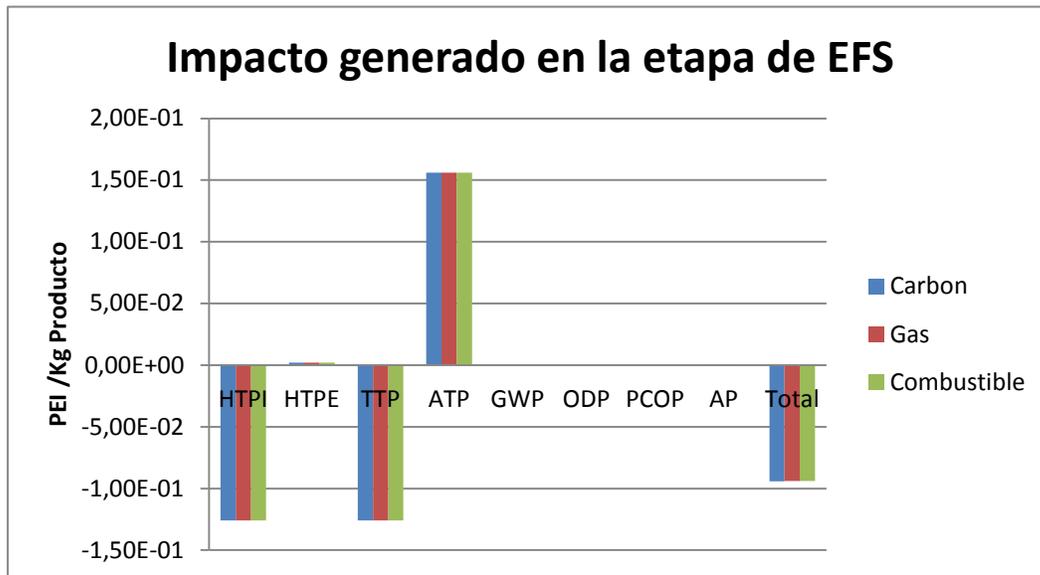


Figura 19. Impacto potencial generado en la etapa de EFS

El potencial de impacto ambiental generado se evaluó para la biorrefinería diseñada para el uso integral de la ahuyama. En la Figura 20 se detallan cada uno de los impactos generados o mitigados dentro de la biorrefinería. Cada uno de los impactos fue evaluado con tres diferentes fuentes energéticas que fueron carbón, gas y combustible.

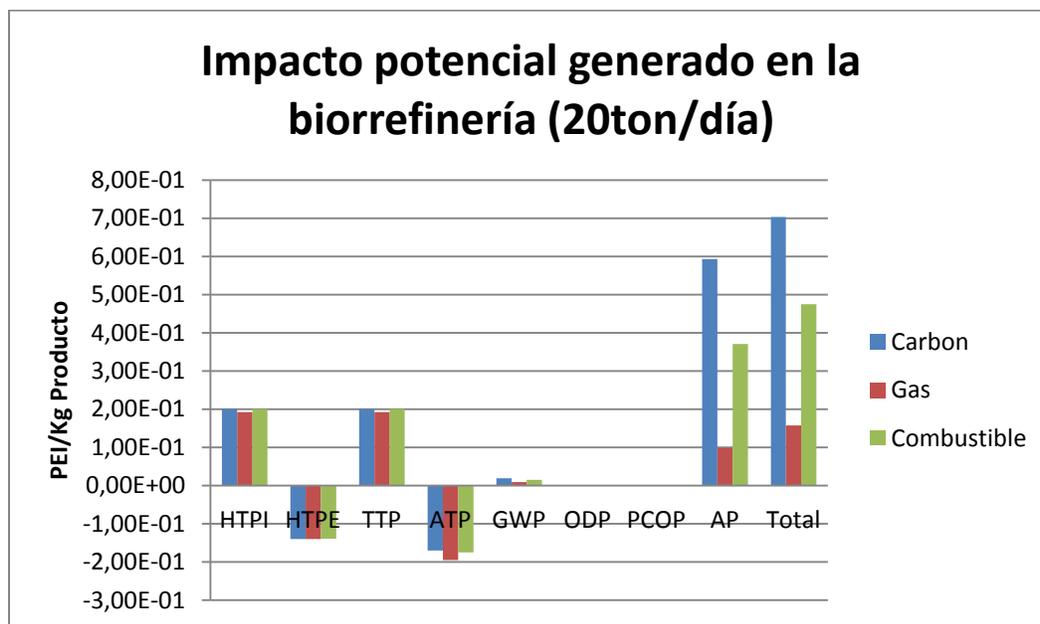


Figura 20. Impacto potencial generado en la biorrefinería (20ton/día)

Por parte de la biorrefinería, hay impactos ambientales mitigados. Los potenciales de intoxicación humana por exposición (HTPE) y el potencial de toxicidad acuática (ATP) se ven beneficiados en la biorrefinería diseñada, esto debido a que las aguas residuales de los procesos se tratan en una planta UASB, removiendo el 70% del contenido orgánico de las afluentes. El potencial de toxicidad terrestre aumenta, gracias a que sigue existiendo una cantidad de sólidos que tienen una disposición final en los suelos. El potencial de calentamiento global aumenta por la cantidad de gases generados tanto en fermentaciones como por el uso de las diferentes fuentes de energía. Es de notar que el uso de gas como fuente de energía es más amigable ambientalmente de acuerdo a los resultados obtenidos en el análisis de potencial de impacto ambiental realizado.

3.3. Conclusiones

La obtención de productos con alto valor agregado se hace factible y con un gran potencial de ser aprovechado, por ser la ahuyama una materia prima que se obtiene en grandes volúmenes. Se obtiene un producto de alto costo a partir de una materia prima económica. Existen diferentes compuestos de interés en la ahuyama, ya que además de la extracción de compuestos con capacidad antioxidantes, se extraen ácidos grasos que de acuerdo a la literatura también son beneficiosos para la salud. La capacidad antioxidante en la pulpa y semillas fue mayor que la obtenida en la cáscara. Es necesario a futuro realizar una medida de clorofila contenida en la cáscara.

La producción de PHB y etanol obtenido en la biorrefinería de ahuyama no es competente en el mercado actual, puesto que el costo de producción es más costoso comparado con el precio ofrecido en el mercado para los consumidores. Aun así, el costo de producción está cercano al precio del mercado, acercándose cada vez al aumentar el volumen de ahuyama alimentada a la biorrefinería como se pudo observar en las biorrefinerías de 1, 5 y 20 ton/día de alimentación. Gracias a que la ahuyama es una materia prima producida en grandes volúmenes, se podría esperar un resultado con más rentabilidad con una alimentación de ahuyama a la biorrefinería de 20 toneladas por día.

Capítulo 4: Biorrefinería de baja escala para la producción de compuestos con alto valor agregado del naikú (*Renealmia alpinia*)

4.1. Introducción

La *Renealmia alpinia* es una planta que recibe los nombres de naikú, achira de monte, matandrea, mishquipanga en Perú, estase distribuye por las regiones tropicales de América y África. [36], [75] Esta planta de flores naranja rojizo o rosada rojizo, tiene frutos rojos con olor fuerte y agradable, que al madurar se tornan negros. El naikú ha sido utilizado para diferentes propósitos sea con fines comestibles, obtención de tinta, como medicina contra nauseas y vómitos y en la neutralización del veneno de algunas serpientes. Se conoce que algunos compuestos con actividad antioxidante inhiben la actividad de las fosfolipasas A2(PLA2s) uno de los componentes más importantes de los venenos de serpientes.[75] Es entonces el naikú un fruto con propiedades antiofidicas, antiedematizantes. Antihemorrágico, entre otras.[75]



Figura 21. *Renealmia alpinia*

El Naikú vive silvestre en los bosques tropicales lluviosos. La cosecha del fruto de naikú se realiza entre los meses de septiembre y noviembre, la fruta en racimo madura de forma progresiva, al menos dos veces en el año y de forma selectiva de forma que a medida que vayan madurando los frutos estos son recogidos. Esta especie florece una sola vez y muere, pero al mismo tiempo crecen uno o varios vástagos nuevos del rizoma, lo que hace que la planta no desaparezca, la propagación a partir de semilla no tiene éxito por lo que se usa el trasplante en cafetales u otras áreas de cultivo como mecanismo para cosechar con facilidad.[75]

El uso de este fruto se concentra en las actividades que realizan los grupos nativos de la amazonia y es muy poco explorada por fuera de las comunidades indígenas. El desconocimiento de los beneficios que el Naikú puede ofrecer, hace que sea visto convencionalmente como una maleza, llegando a verse afectada la siembra y recolección de dicho fruto. Por esta razón es que actualmente esta especie está en peligro de extinción. La falta de promoción de las bondades de este fruto y el significado económico que podría tener hace que no haya una cultura de siembra y cosechado importante de el Naikú.[36]

La *Renealmia alpinia* se presenta en 3 variedades, que se distinguen unas de otras por características como la textura de la hoja, inflorescencia, fruto entre otros. La variedad 1 es de inflorescencia compacta, consta de un fruto con flor de buen desarrollo y bien ubicada en el fruto, la flor de color amarillo se posiciona sobre la baya, sus hojas presentan una textura lisa en ambos lados y por lo general la parte expuesta a la luz un color verde oscuro característico. La variedad 2 tiene las hojas que en su parte trasera tiene una textura aterciopelada y verde oscura, su inflorescencia es compacta, no hay desarrollo de flor en la baya. La variedad 3 presenta una inflorescencia laxa con bayas esféricas que no desarrollan flor sobre ellas, además el color de estas es negro. Cabe destacar que las variedades descritas anteriormente son las detalladas por Hualpa en su trabajo. [36]

El Naikú crece en climas tropicales y subtropicales de suelos secos a semihumedos de pH neutro a ligeramente ácido, y en suelos ricos en materia orgánica.[36] Se propaga por rizomas o semillas, el tiempo de cosecha es aproximadamente 3 años después de haber sembrado la semilla, después el fruto que se desarrolla pasa de la maduración a la muerte, regresando a la tierra las semillas para propagarse de nuevo.[36]. A continuación en la Tabla 4.1 se presenta la clasificación taxonómica del Naikú

Tabla 4.1. Clasificación taxonómica de la *Renealmia alpinia*[36]

Reino	<i>Plantae</i>
Orden	<i>Zingiberales</i>
Familia	<i>Zingiberaceae</i>
Subfamilia	<i>Alpinioideae</i>
Tribu	<i>Alpinieae</i>
Genero	<i>Renealmia</i>
Especie	<i>Renealmia alpinia</i>

Este fruto es rico en compuestos fenólicos, su cascara presenta un color rojo-azulado el cual es proporcionado por las antocianinas que se encuentran en esta. Además de los usos nombrados en la

Sección 1.3, se conoce que tiene propiedades antimicóticas y antifúngicas, además de la prevención de formación de edema.[76] Las aves y polinizadores son altamente atraídos por este fruto, gracias a su color llamativo y a su olor característico, este olor es proporcionado por un tipo de labdano que se encuentra presente en otras especies de *Zingiberaceae* como el cardamomo y el jengibre los cuales son utilizados en la industria cosmética como fragancias.

4.2. Resultados

Caracterización

La materia prima obtenida se separó en cascara y semillas posterior a esto se sometió a secado a una temperatura de 50°C en un horno de convección. Obtenidas la cascara y semillas secas, estas fueron molidas por separado y luego almacenadas, para garantizar su conservación estas fueron empacadas al vacío. Ambas materias primas obtenidas del naikú se les realiza la caracterización mediante los métodos detallados en la **sección 2.2.1**, cada uno de estos fue realizado por triplicado. La caracterización obtenida muestra pequeños valores de desviación estándar para cada una de las composiciones, teniendo en este trabajo una materia prima de características homogéneas y se muestra en la Tabla 4.2

Tabla 4.2. Caracterización fisicoquímica del naikú

Componente	Cáscara	Semilla
Humedad (%)	84,08±4,325	49,73±1,276
	Base Seca	
Extractivos (%)	29,711±0,338	21,039±0,611
Lignina (%)	21,457±0,580	13,860±1,261
Celulosa (%)	18,838±1,701	16,730±0,607
Hemicelulosa (%)	29,854±	48,346±
Ceniza (%)	0,140±0,003	0,025±0,001
Compuestos		
Fenólicos(mgEAG/10g)	464,760±2,433	295,788±1,47
Capacidad antioxidante (mgTE/g)	21,143±0,602	13,908±0,413

Los trabajos reportados en la literatura acerca de Naikú son muy pocos, a pesar de tener un gran potencial por sus bondades, el material bibliográfico disponible de esta fruta es escaso. El estudio encontrado se dirige al conocimiento agronómico y carece de información de composición fisicoquímica. La tesis de Doctorado de Hualpa, es el documento con más datos encontrado, en la caracterización reportada tiene para la cascara 86,98% de humedad, valor similar al encontrado en este trabajo.[36]

La familia de las *Zingiberaceae* son caracterizadas por tener uso medicinal gracias a sus propiedades antioxidantes y antimicrobianas, Chen et al., reportó un contenido fenólico de 17,30 mg/g para la variedad *Curcuma* y 36,5 mg/g para la *Vanoverberghia sasakiana*, ambas especies poseen un actividad antioxidante medida con DPPH del 81,3 y 89,5 % respectivamente.[77] El presente trabajo encontró en la especie *Renealmia alpinia* un contenido fenólico de 484,8 mg/g y un porcentaje de inhibición del $94,49 \pm 0,21$, resultado que posiciona al Naikú como una fuente potente productor de compuestos fenólicos con una elevada capacidad antioxidante. En la *Curcuma rhizome*, Danciu et al., encontró un total de compuestos fenólicos de 182 ± 0.6 mg GAE/g que se encuentra en el mismo orden de magnitud respecto a los compuestos fenólicos encontrados en este trabajo para las semillas de *Renealmia alpinia* que es de $283,778 \pm 5,906$ mg GAE/g. Siendo entonces comparables debido a que pertenecen a la misma familia vegetal. [78]

Extracción con fluidos supercríticos

Para tener un aproximado de las condiciones a trabajar en el equipo de fluidos supercríticos, se hace el cálculo de solubilidad de las moléculas de interés que se encuentran en el Naikú. Para el cálculo de solubilidad se usa como molécula representativa de los compuestos fenólicos el ácido gálico.[36] A continuación (**Figura 22**) se encuentra la superficie resultante de dicho cálculo.

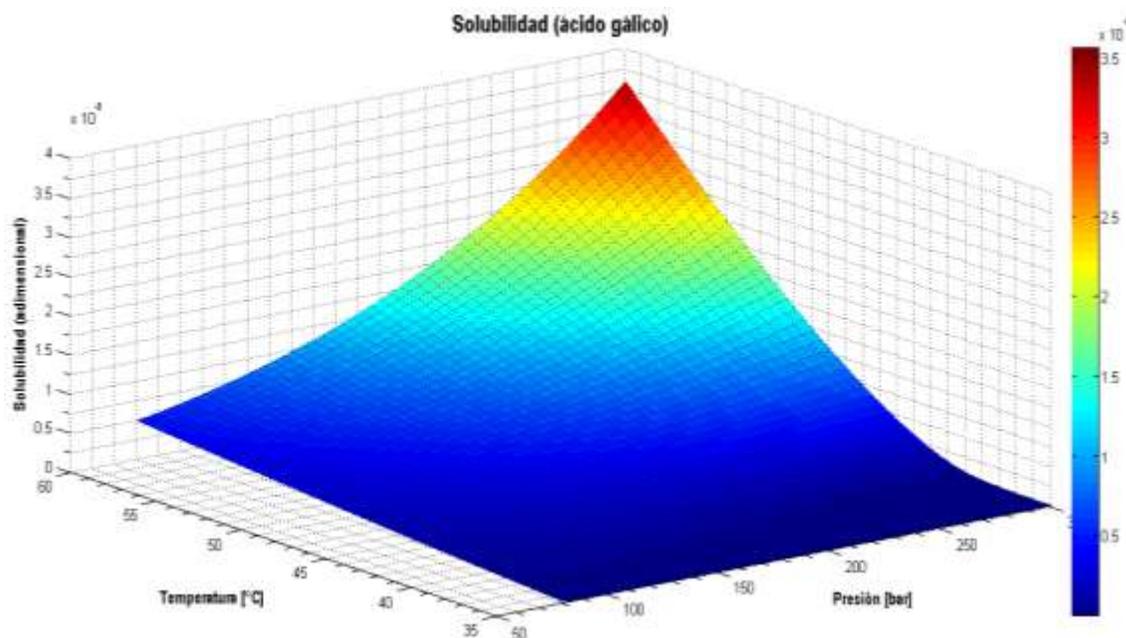


Figura 22. Perfil de solubilidad del ácido gálico

Como resultado del cálculo de solubilidad del ácido gálico en dióxido de carbono se obtuvo, que a medida que la temperatura y la presión aumenta el ácido gálico se hace más soluble, por esto se terminó a realizar las

extracciones a una temperatura de 50°C, que es la máxima usada en este trabajo con el fin de preservar la capacidad antioxidante de los extractos obtenidos. Los rangos de presión trabajados fueron considerados rango de 200-300 bar de forma continua, recirculando el dióxido de carbono durante 1 hora, haciendo cada 20 minutos una purga, así haciendo menores las caídas de presión y logrando una una entrada de dióxido de carbono fresco. Los extractos obtenidos fueron caracterizados empleando los métodos de DPPH y Folin-Ciocalteu para conocer su capacidad neutralizadora de radicales libres y el contenido fenólico total respectivamente. Las respuestas obtenidas se encuentran consignadas en la Tabla 4.3

Tabla 4.3. Rendimientos obtenidos, capacidad antioxidante y compuestos fenólicos de los extractos.

	Presión (bar)		Capacidad antioxidante mgTE/g	Compuestos fenólicos mgEAG/g	Rendimiento
Semilla	200	Extractor	12,995±0,342	169,997±2,817	90,264
		Colector	1,961±0,032	69,123±1,155	
	250	Extractor	13,406±0,227	259,469±0,827	85,858
		Colector	ND	ND	
	300	Extractor	12,679±0,277	96,227±1,101	87,77%
		Colector	1,283±0,212	137,122±1,547	
Cáscara	200	Extractor	19,406±0,412	419,734±1,786	90,312
		Colector	1,898±0,102	27,546±3,209	
	250	Extractor	18,406±0,301	434,179±0,827	93,42
		Colector	1,995±0,087	34,564±2,129	
	300	Extractor	20,032±0,624	449,794±1,101	96,78%
		Colector	2,074±0,106	28,546±3,213	

El extracto obtenido a partir de la cascara de naikú posee una alta capacidad de inhibición de radicales libres. Cualitativamente se pudo notar como difieren en color y olor dichos extractos, el obtenido en el extractor es de color rojo-azulado oscuro con un olor menos prominente que el obtenido en el colector. El resultante del colector, tiene un color crema y un olor más fuerte. Se puede deducir que en el colector existe una mayor cantidad de compuestos volátiles responsables de los aromas. Los colorantes obtenidos del extracto son prometedores en el campo de la cosmética, pues tiene un potencial como alternativa natural a

los pigmentos de color rojo y azul usado en diferentes tipos de maquillaje, además de ser beneficioso por las cualidades que las antocianinas poseen, esto en los productos de uso tópico. Los compuestos con capacidad antioxidante pueden ser microencapsulados y añadidos también, en formulaciones que sean consumidas por vía oral, proveyendo a la piel de las bondades que las antocianinas tienen desde el interior del organismo, previniendo enfermedades cutáneas como dermatitis hasta cáncer de piel.[79], [80]

La evaluación de los resultados obtenidos para la variación de presión en las extracciones realizadas, arrojó que para las semillas la mejor presión de trabajo es 200 bar, mientras que en la cascara se obtuvo una mayor extracción de compuestos fenólicos a 300 bar. Estas condiciones son las usadas para la biorrefinería (Figura 23) que se detalla a continuación.

Simulación

La cáscara y las semillas son separadas para luego ser sometidas cada una a un proceso con fluidos supercríticos a 50 °C con etanol (60% v/v), con el fin de obtener productos de valor agregado con capacidad antioxidante.

El material sólido que se obtiene como residuo es empleado en la producción de xilitol y etanol considerando el alto contenido de hemicelulosa y celulosa remanente, para esto se realiza una hidrólisis ácida y enzimática con el fin de obtener pentosas y hexosas, como fuente de carbono asimilable por los microorganismos *Candida mogii* y la *Saccharomyces cerevisiae* involucrados en la producción de xilitol y etanol respectivamente. El contenido de lignina hace que sea atractiva la producción de electricidad y de vapor en una planta de cogeneración. Haciendo el uso del contenido lignocelulósico del naikú de forma integral, se hace un aprovechamiento total de la materia prima, obteniendo productos de alto consumo y de alto valor agregado. Los compuestos fenólicos obtenidos de la cascara de naikú pueden ser microencapsulados como mecanismo de preservación, a través de esto se puede disponer de una gama de usos más amplia, que involucran ser usados en productos cosméticos, nutracéuticos y farmacológicos.

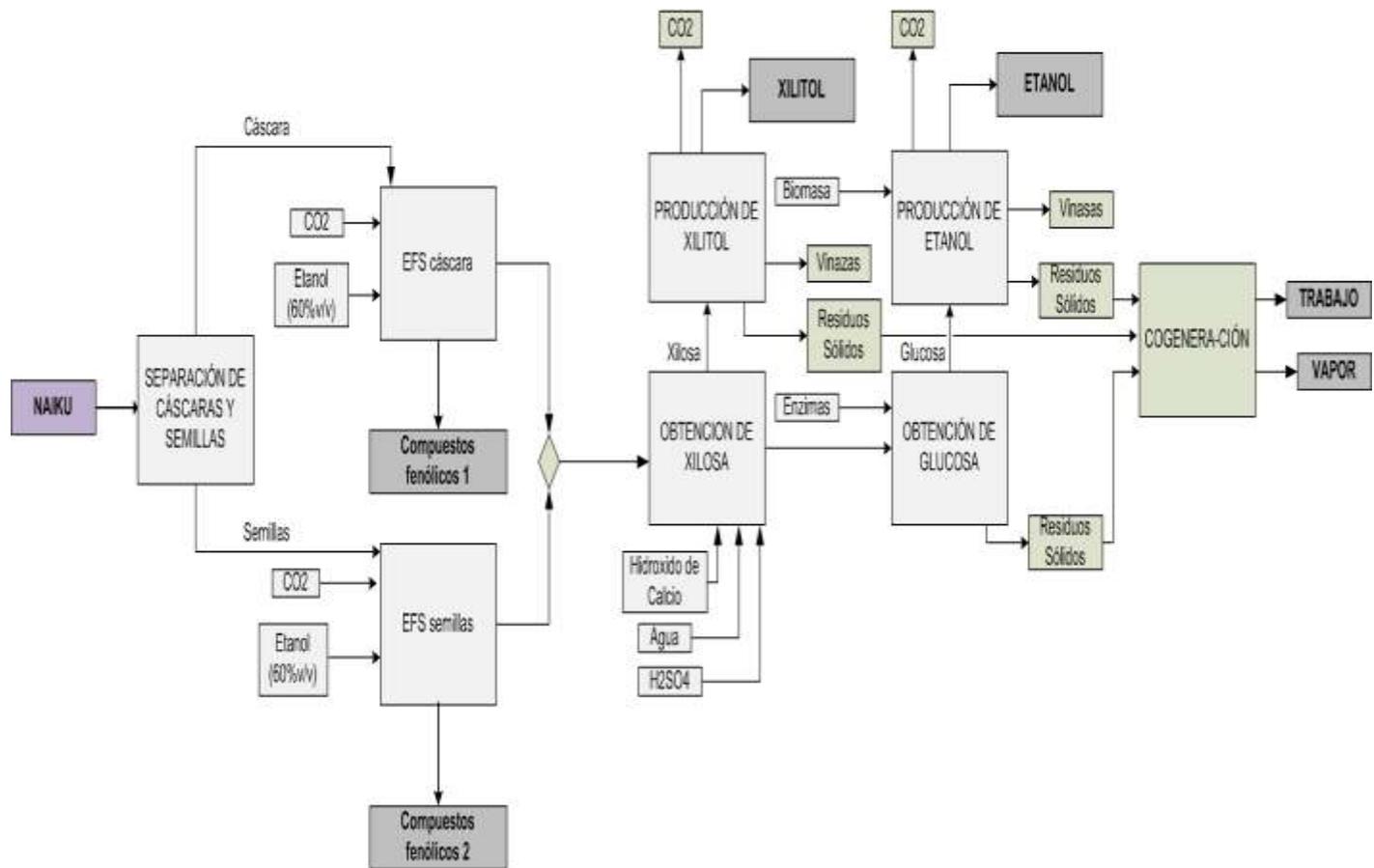


Figura 23. Biorrefinería a partir del naikú.

La producción de compuestos fenólicos genera un margen de ganancia alto, teniendo en cuenta la suma tan alta de polifenoles que son contenidos en la cáscara y la semilla de naikú. El alto contenido de celulosa y hemicelulosa hace que haya una producción de etanol, que no genera ninguna ganancia pero puede abastecer parte de la necesidad de etanol necesaria en la extracción con fluidos supercríticos. La xilosa obtenida se usó netamente para la producción de xilitol, el cual es producto de valor que genera una ganancia dentro de la biorrefinería. Los precios por Kg de producto están plasmados en las Figura 24 y Figura 25. Encontrar cifras positivas en esta biorrefinería, logra demostrar el potencial de este fruto amazónico, dando un panorama prometedor a esta región, una materia prima de fácil adaptabilidad de los suelos, sería tal vez un nuevo producto para sacar el provecho que no ha sido explotado y lograr que emerja una industria . Se hizo la evaluación de la biorrefinería escalando el volumen de alimentación de Naikú en 1 tonelada/día y 20 toneladas/día. Los precios del mercado son para etanol 0,91 USD/kg, xilitol 7,57 USD/kg y 87,44USD/kg para antioxidantes. Sin embargo, no deja de ser un caso hipotético, pues en la práctica deberá ser discutido desde el punto que no hay existencias de Naikú suficientes que puedan abastecer la biorrefinería, esta está enfocada a dar una visualización de cómo este fruto podría ser aprovechado, siendo una fuente alternativa para la producción de etanol y xilitol, los que en la actualidad son obtenidos a partir de caña, tanto jarabes, mieles y otros subproductos de ella.[81], [82]

El resultado encontrado en ambas biorrefinerías no fue favorable para la producción de etanol, teniendo un costo de 3 veces mayor al del mercado, el xilitol muestra que existe una ganancia, los antioxidantes obtenidos están muy por debajo del precio que el mercado ofrece, dando un resultado positivo para estos, además de contar con características antirradicalarias y de contenido fenólico tan altos, comparables con los contenidos en la mora (*Andes berry*) y el acai (*Euterpe oleracea*)[27], [83]

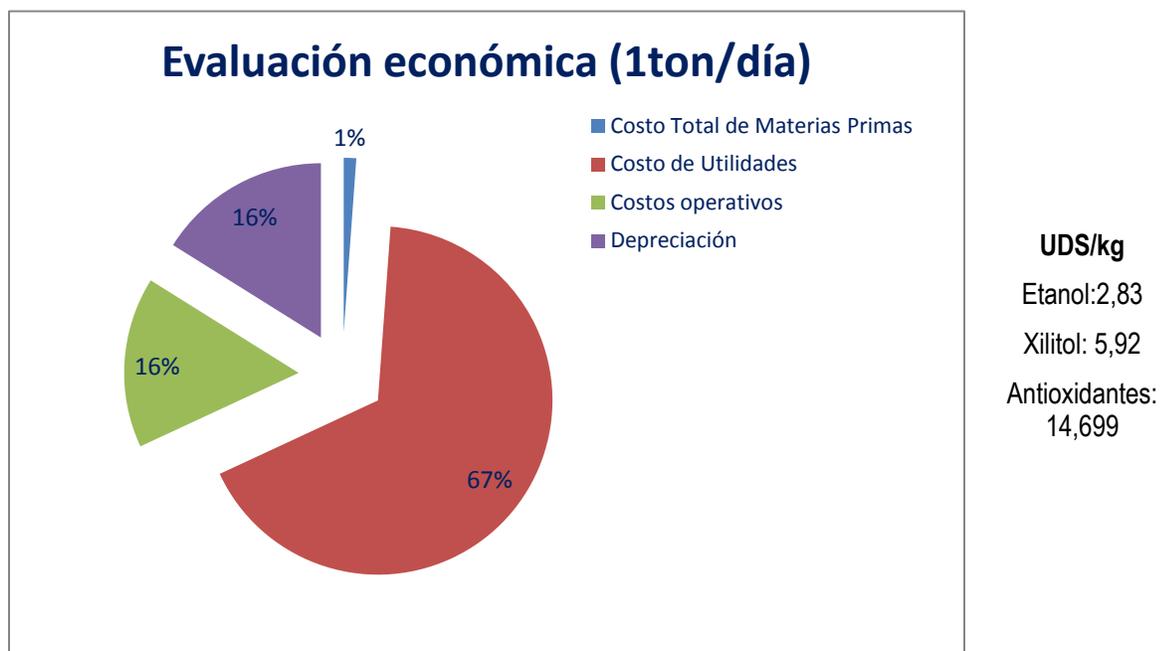


Figura 24. Evaluación biorrefinería de naikú (1ton/día)

Los resultados económicos de las biorrefinería a partir de naikú demostraron que la mayor participación en costos de producción se debe a las utilidades. Estos costos pueden ser disminuidos a través de la producción de trabajo y vapor empleando sistemas de cogeneración, estos representan un segundo escenario de evaluación considerando el primero de estos como el caso base anteriormente descrito. En el proceso de cogeneración la fracción empleada corresponde a la lignina teniendo en cuenta los volúmenes disponibles de este material.

El trabajo obtenido considerando la alimentación de 20 toneladas/día fue de 1466,03 MJ/hr, energía potencial que puede ser usada dentro de la biorrefinería. Así mismo, el vapor obtenido puede ser parte de los fluidos de servicio dentro de la biorrefinería.

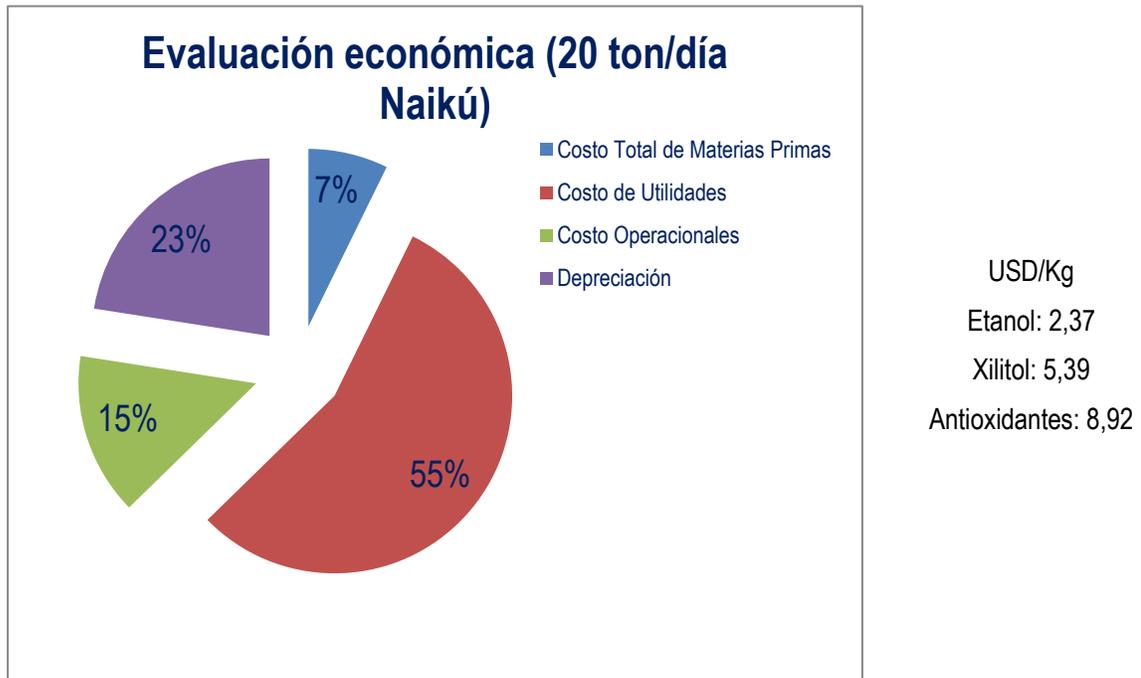


Figura 25. Evaluación biorrefinería de naikú (20ton/día)

En el caso aplicado al naikú, se evaluó ambientalmente el potencial de impacto ambiental generado. Los resultados obtenidos del análisis ambiental con el método WAR de la EPA se encuentran en las Figura 26 y Figura 27, estos cálculos se encuentran referenciados al emplear gas, combustible o carbón como fuente principal de energía.

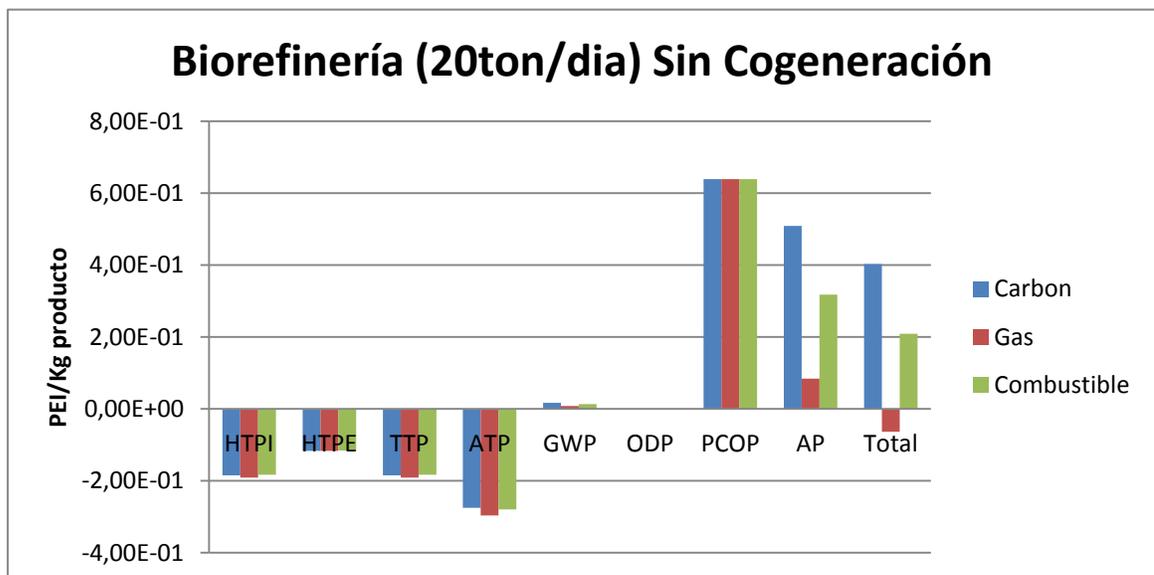


Figura 26. Evaluación ambiental de la biorrefinería sin cogeneración

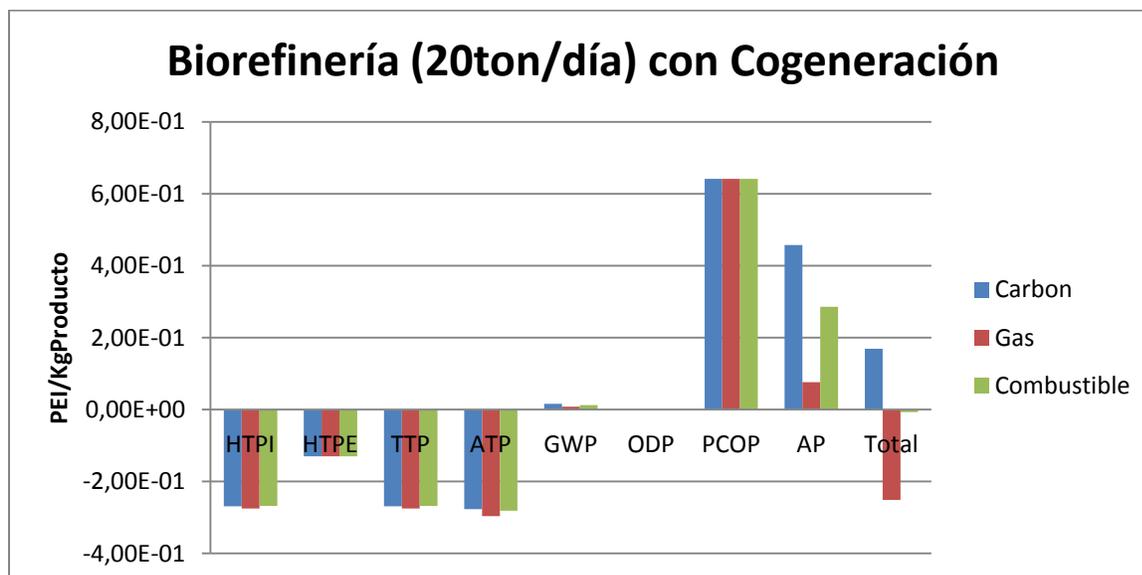


Figura 27. Evaluación ambiental de biorrefinería con cogeneración

Los PEI para ambos escenarios presentan una tendencia similar. Sin embargo, los valores de HTPI y TTP exhiben un comportamiento diferente en el escenario con cogeneración, esto se encuentra relacionado con una posible ingestión y vertimiento en suelos. En ambos escenarios existe un potencial de mitigación para los HTPI, HTPE, TTP y ATP, este comportamiento se debe al uso y disposición integral de la materia prima como también un tratamiento final de aguas residuales disminuyendo las potenciales contaminaciones derivadas de flujos con altas cargas orgánicas tanto efluentes como residuos sólidos. Los valores de GWP y PCOP son asociados al uso de las diferentes fuentes de energía para el funcionamiento de la planta (combustible, carbón o gas), los gases generados en las diferentes fermentaciones llevadas a cabo dentro de la producción de etanol y xilitol, y los gases resultantes en cogeneración.

4.3. Conclusiones

A través del uso de herramientas experimentales de caracterización fisicoquímica, extracción supercrítica y de simulación, pudo determinarse el potencial de uso que tiene el naikú para ser empleado bajo el esquema de biorrefinería, considerando los valores obtenidos de capacidad antioxidante y compuestos fenólicos los cuales tienen un futuro prometedor en el uso de los extractos de este fruto obtenidos por tecnología de extracción supercrítica en industrias o productos de interés nutraceutico y cosmético. Por otro lado el contenido de la materia prima representado como material lignocelulósico puede ser aprovechado en la obtención de otros productos como etanol y xilitol, sin embargo, es necesario evaluar esquemas que minimicen los costos de producción que permitan establecer márgenes de ganancia positivos.

Se extrajeron compuestos con una gran capacidad antioxidante tanto de semillas como de la cascara de naikú. El naikú tiene un potente contenido de compuestos fenólicos, la gran cantidad de estos, hace al naikú una materia prima de gran interés para industrias emergentes. El contenido lignocelulósico puede ser aprovechado de tal forma que se pueden obtener otros productos como etanol y xilitol, así como fue propuesta en la biorrefinería planteada, en la simulación se tiene una aproximación a la realidad, en donde se obtuvo que es viable dicha biorrefinería. Además, la producción de biomasa, los residuos sólidos de los procesos y el contenido de lignina se aprovechan para la producción de electricidad y vapor que puede ser utilizados dentro de la misma biorrefinería. La biorrefinería con cogeneración además de ser viable, es amigable con el ambiente al ser el gas la fuente de energía de esta planta.

Capitulo 5: Producción de compuestos de alto valor agregado en una biorrefinería a partir de papaya (*Carica papaya*)

5.1. Introducción

Colombia cuenta con una biodiversidad nutrida que hace que en este país exista una gran variedad de frutos plantados y comercializados ampliamente, entre los frutos plantados en Colombia está la *Carica papaya* (Papaya). Este fruto además de tener un contenido nutricional, posee características benéficas para la salud humana, puesto que en su composición posee vitaminas, carotenos y compuestos fenólicos, los cuales son moléculas de alto interés para la industria química, alimenticia, cosmética y farmacéutica contenidos dentro del fruto en su pulpa, semillas y cáscara.

La papaya tiene gran importancia a nivel económico, es una fruta que tiene origen en Centro America, que por sus aportes nutricionales y propiedades medicinales ha adquirido un gran valor en la economía global. El valor económico radica en el consumo que la comunidad le da a la papaya, la que es consumida como pulpa fresca o en jugos, mermeladas, pulpas en almíbar o cristalizadas. También se ha desarrollado un interés industrial en el latex que el fruto verde exuda, pues contiene una enzima (papaina) que favorece la digestión de las proteínas.[84] En el año 2012 hubo una producción de 163,939 toneladas de papaya en 10,679 hectáreas cosechadas [85]. A continuación se presenta en la Tabla 5.1 la clasificación taxonómica de la papaya

Tabla 5.1. Clasificación taxonómica de la papaya

División	Spermatophyta
Subdivisión	Magnoliophytina
Clase	Magnoliatae
Orden	Violales
Familia	Caricaceae
Genero	Carica
Especie	Papaya

El papayo es una planta herbácea que crece rápidamente y que tiene una vida media corta de aproximadamente 3 años, basándose en la productividad de los frutos que genera, son 3 años los de utilidad para esta planta, luego los frutos empiezan a deteriorar su calidad y tamaño. Físicamente, es un arbusto que puede alcanzar una altura hasta de 10 metros, es caracterizado por un tallo hueco, segmentado y erguido, y sus hojas son prominentes y lobulosas.

El fruto es una baya ovoide que mide entre 10 y 20 cm de cáscara fina con un color verde amarillento y naranja, la pulpa varía de color entre naranja a rojizo y en su interior contiene un gran número de semillas como se muestra en la **Figura 28**. [86], [87]



Figura 28. Fotografía del fruto de papayo

El papayo por ser una planta tropical puede cultivarse en Colombia a alturas de nivel del mar hasta 1700 msnm, siendo los 800 msnm la altura óptima para obtener los mejores frutos. Las temperaturas en las que este fruto se establece esta en el rango de 22°-30°C. Los suelos además de ser bien drenados y fértiles, deben tener alta humedad puesto que para su crecimiento y desarrollo esta necesita de grandes cantidades de agua, los mejores suelos son los franco arenosos, profundos con un porcentaje de materia orgánica de 5 y un pH neutro. La cosecha de los primeros frutos se da aproximadamente a los 160 días después de la primera floración del arbusto [86], [87].

En la pulpa de papaya tiene un contenido alto de ácido ascórbico, vitamina A y pigmentos conocidos como carotenos, siendo el licopeno y el caroteno hallado en mayor proporción. [44], [88] Sustancias con cualidades antiinflamatorias y que proporcionan la protección de irritación de tejidos se han reportado dentro de la composición de las semillas de este fruto, haciendo que exista un interés cosmético en la prevención de eritema. [89] La cáscara es una fuente de vitamina A y de papaína, quienes tienen gran potencial en la industria de exfoliantes cutáneos promoviendo la remoción de células muertas de la piel. [90]

Gracias a todos estos beneficios, se realizó un trabajo en donde se propone un uso integral de la *Carica papaya*, obteniendo productos con capacidad antioxidante. Es trabajo consta de una etapa experimental para

conocer la composición fisicoquímica de las semillas, cáscara y pulpa de la papaya. Luego se realiza la simulación del proceso dentro de la biorrefinería que consta de tres etapas principales, como primera etapa el fruto debe ser pretratado; la extracción y concentración de los compuestos antioxidantes es la segunda etapa y finalmente se realiza una serie de hidrólisis ácidas y enzimáticas para la obtención de diferentes productos a partir de las fuentes de carbono obtenidas. Se usa el paquete de herramientas de Aspen Tech v8.0 para la simulación del proceso, en donde se hace el modelo de extracción para las semillas, cáscara y pulpa, los que luego fueron comparados con la extracción supercrítica realizada experimentalmente.

5.2. Resultados

Los resultados obtenidos de la determinación de lignina, celulosa, hemicelulosa, ceniza y compuestos extractivos con etanol realizada para la cáscara, semillas y pulpa de papaya se encuentran consignados en la **Tabla 5.2**.

Tabla 5.2. Caracterización fisicoquímica de la papaya

Componente	Cáscara	Semilla	pulpa
Humedad (%)	78,98±2,316	65,37±3,002	93,14±1,981
Base Seca			
Extractivos (%)	44,449±0,46	31,387±0,369	72,616±0,86
Lignina (%)	16,680±0,005	28,033±0,017	5,194±0,018
Holocelulosa (%)	38,742±0,241	40,458±0,915	22,133±1,663
Celulosa (%)	34,474±0,801	22,191±0,071	13,584±1,094
Hemicelulosa (%)	4,268	18,270	8,549
Ceniza(%)	0,133±0,003	0,121±0,005	0,057±0,003
Compuestos fenólicos(mgEAG/10g)	152,644±6,053	128,353±6,20	122,977±6,65
IC50(mgTE/g)	2,103±0,019	1,345±0,022	1,602±0,008

El valor obtenido por los mismos autores para la semilla de papaya fue menor al obtenido en esta ocasión, ellos encontraron un valor de 0,6±0 05mg/ml de extracto y paralelamente en este se encontró una cifra mayor de 12,83 (mgEAG/ml). Las diferencias pueden estar referidas a la diferencia de suelos y nutrientes de Colombia y Malasia, tanto calidad y cantidad de semillas pueden variar de acuerdo a la región donde es cosechada [91] En la pulpa se encontró una diferencia del doble de contenido de compuestos fenólicos con respecto a lo evaluado por Addai et al., el valor obtenido para la pulpa de papaya aquí es de 12, 297±6,65 mgEAG/g, mientras que los autores reportaron un valor de 6,04±0,45 mgEAG/g. La madurez de la pulpa hace una diferencia en la composición de compuestos fenólicos, esta sería una posible razón de la gran diferencia de compuestos fenólicos entre los encontrados en este trabajo y los de Addai et al. [92]

Para determinar las condiciones de extracción, se calculó el comportamiento que tiene la solubilidad de los compuestos de interés a diferente temperatura y presión, que en este caso son el betacaroteno y el licopeno. Se hizo el cálculo a una temperatura hasta 50°C ya que los compuestos con capacidad antioxidante son termolábiles a una temperatura mayor de 60°C, y la presión se evaluó hasta 300 bar que por términos de seguridad es el límite de presión de trabajo del equipo y los datos obtenidos se graficaron obteniendo la superficie que se muestra en la **Figura 29**, en donde la molécula que representa los carotenoides es el betacaroteno.

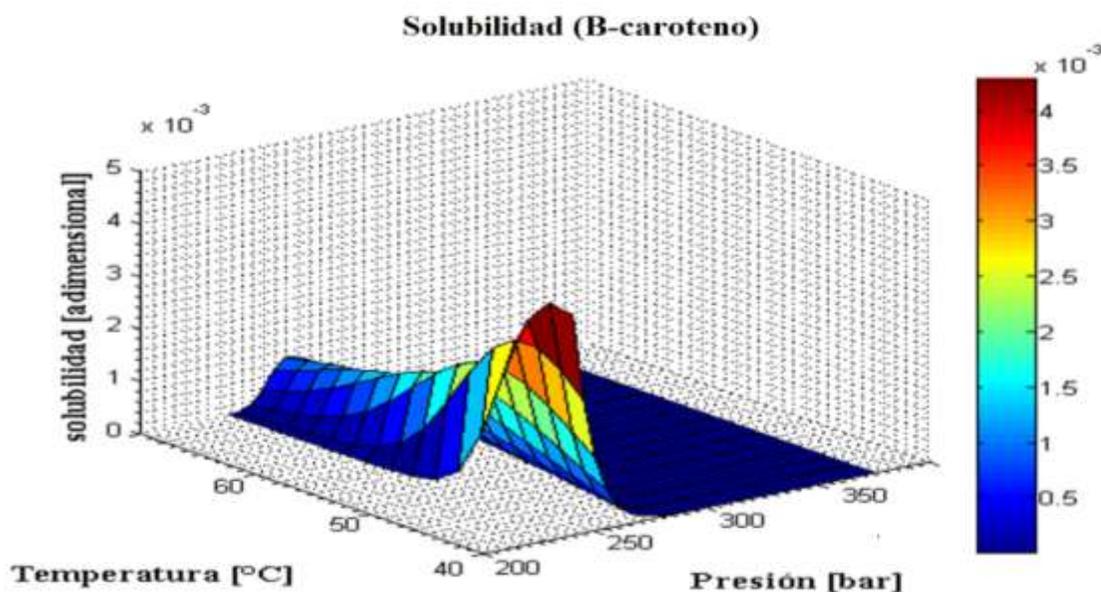


Figura 29. Perfil de solubilidad

Luego de realizado el cálculo de solubilidad de las moléculas bioactivas de interés, se procedió a llevar a cabo la etapa experimental, donde se realizó la extracción a una temperatura de 45°C y se varió la presión en un rango de 200-300 bar que fue el rango aproximado en donde se existe una mayor solubilidad de los compuestos, de acuerdo a lo anteriormente obtenido (**Figura 29**). La caracterización de los extractos obtenidos y el rendimiento obtenido en cada extracción se presenta en la **Tabla 5.3**. Los mejores resultados fueron luego útiles en la especificación de equipos en la biorrefinería planteada (**Figura 30**)

Tabla 5.3. Compuestos fenólicos, DPPH y rendimiento de las extracciones con FSC

	Presión (bar)		IC50 (mgTE/g)	Compuestos Fenólicos(mgEAG/10g)	Rendimiento
Pulpa	200	Extractor	0,862	91,574±0,85	84,76

		Colector	%inh 27,905	12,663±1,22	
	250	Extractor	1,507	104,914±4,54	86,37
		Colector	%inh 15,238	1,303±0,42	
	300	Extractor	1,168	101,894±1,71	93,89
		Colector	%inh 27,571	13,569±0,96	
	200	Extractor	ND	121,108±1,66	95,53
		Colector	%inh 23,77	1,519±0,59	
Semilla	250	Extractor	1,059	63,108±2,65	62,41
		Colector	%inh 32,35	15,619±1,43	
	300	Extractor	1,242	ND	12,61
		Colector	%inh 25,16	15,619±1,43	
Cáscara	200	Extractor	1,036	125,294±9,68	94,78%
		Colector	%inh 25,152	19,383±2,38	
	250	Extractor	0,826	88,414±2,97	65,34%
		Colector	%inh 32,533	11,329±0,41	
	300	Extractor	1,911	99,814±2,55	74,09%
		Colector	%inh 35,624	13,276±1,59	

El diseño de la biorrefinería inicia con la retroalimentación a partir de los resultados obtenidos de la composición fisicoquímica de la papaya. Se plantean los diferentes procesos de obtención de los diferentes productos, logrando las condiciones de temperatura, presión y flujos de cada corriente.

En la obtención de productos con valor agregado a partir de papaya (*Carica papaya*) se usa el concepto de biorrefinería. Se hace un uso integral de la materia prima, logrando obtener como productos ácido láctico, antioxidantes y etanol. El proceso consiste en alimentar la papaya a una etapa en donde se separa la pulpa, las semillas y las cáscaras. La pulpa se concentra con el fin de retirar humedad y se pasteuriza para obtener un néctar con fines alimenticios. Las cáscaras entran a un proceso con fluidos supercríticos, logrando extraer compuestos de alto valor agregado por su capacidad antioxidante, en donde es usado el dióxido de carbono como fluido supercrítico, el cual luego de realizar la extracción es recirculado al proceso. Los residuos

sólidos resultantes de esta etapa son alimentados junto con las semillas a un pretratamiento en donde se obtienen fuentes de carbono puesto que son materia lignocelulósicas, luego de obtenerse los hidratos de carbono se acondicionan para los distintos procesos. Se alimenta la glucosa obtenida a la producción de ácido láctico con la bacteria *Lactobacillus delbrueckii* y etanol con *Saccharomyces cerevisiae*[59], [60]

Cada uno de los procesos fue simulado en la herramienta Aspen plus, para luego realizar la evaluación económica de la elaboración de los productos, teniendo en cuenta los costos de utilidades, materias primas y equipos. Dicha evaluación tiene como objetivo encontrar la factibilidad económica de cada uno de los productos con respecto a los costos encontrados en la actualidad.

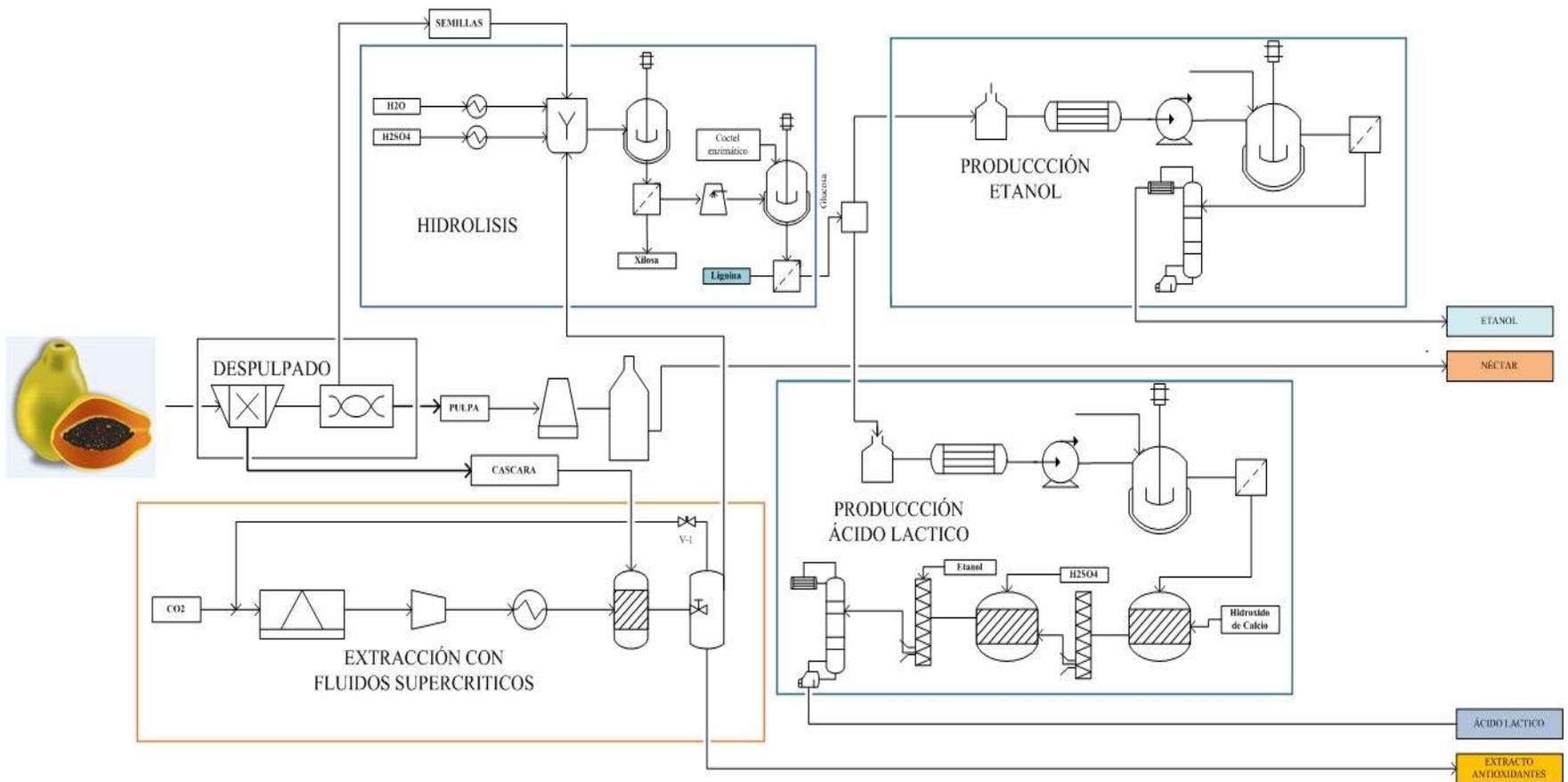
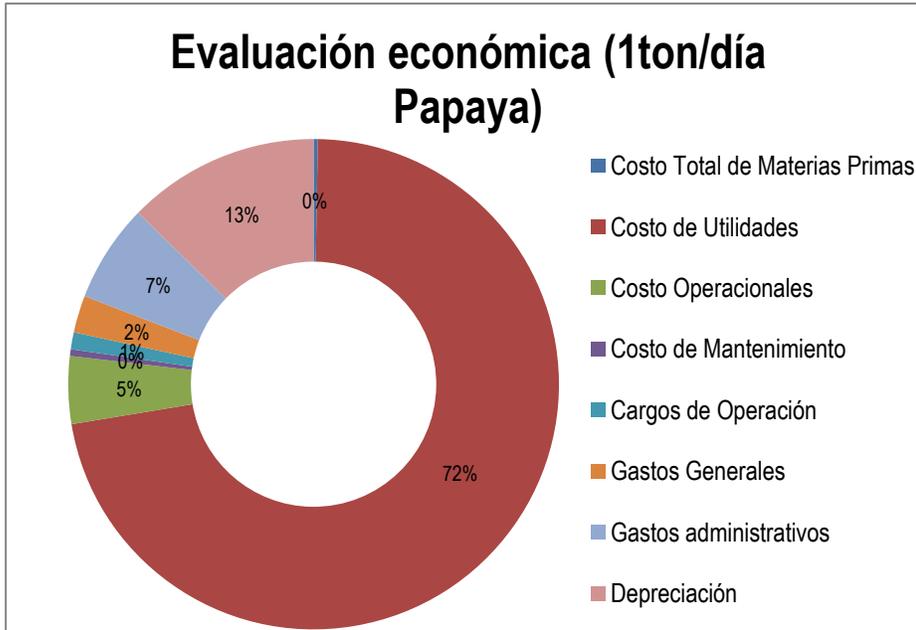


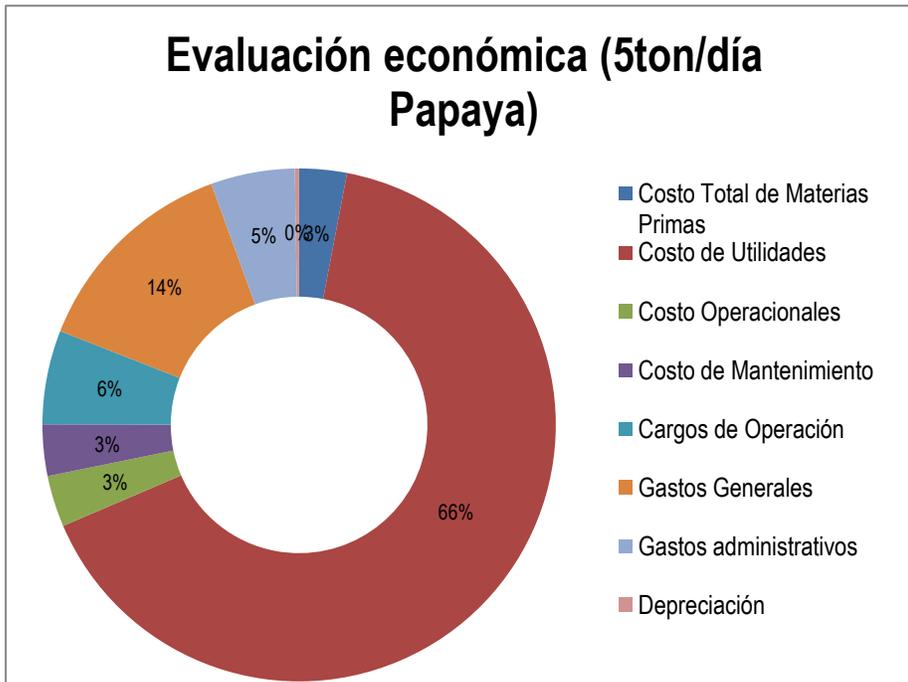
Figura 30. Biorrefinería a partir de papaya

La organización secuencial de la producción de antioxidantes, ácido láctico y etanol es mostrada en la **Figura 30**. El orden lógico y cronológico fue diseñado para que en cada etapa del proceso entraran los elementos necesarios para llevar la producción. Los resultados obtenidos para la alimentación de 1, 5 y 20 toneladas/día de papaya se muestran en las Figura 31, Figura 32 y Figura 33



USD/kg
 Etanol: 3,00
 Ácido láctico: 8,68
 Antioxidantes: 20,53

Figura 31. Evaluación biorrefinería de papaya 1Ton/día



USD/kg
 Etanol: 1,73
 Ácido láctico: 2,11
 Antioxidantes: 5,01

Figura 32 Evaluación biorrefinería de papaya 5Ton/día

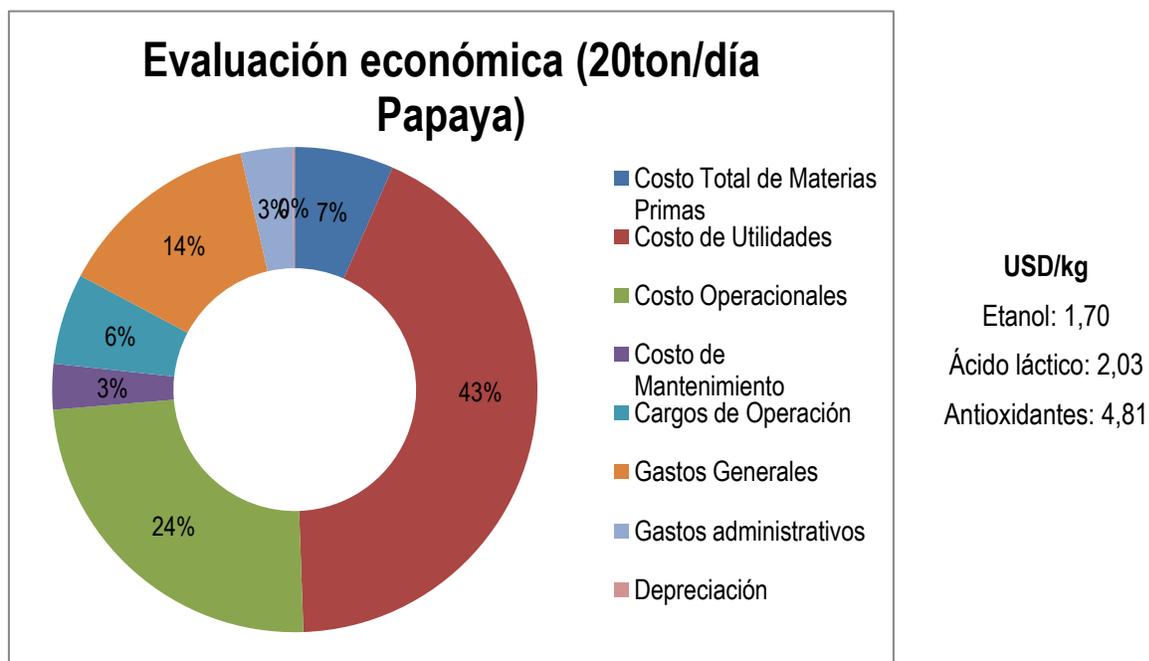


Figura 33. Evaluación biorrefinería de papaya 20Ton/día

Con el aumento de escala en el volumen de alimentación de la materia prima hubo una tendencia en la disminución de los costos de producción, aunque el etanol y el ácido láctico en el mercado tienen un costo de 0,91 y 1,7 USD/Kg, respectivamente. El costo del ácido láctico tiende a igualarse entre el costo de producción y el ofrecido en el mercado. El costo de las utilidades disminuye a medida que la biorrefinería es más grande, y debido a este aumento en el tamaño de la biorrefinería los costos de operación y los gastos generales se vuelven más representativos en la evaluación económica.

Posteriormente se realizó el análisis de impacto ambiental con el algoritmo de reducción de residuos (WAR) de la EPA. Los valores que se obtuvieron fueron categorizados en los ocho diferentes potenciales de impacto ambiental que se analiza con este método. En primera medida los resultados obtenidos para la etapa de extracción con fluidos supercríticos, sugiere que existe una mitigación por parte de este proceso, gracias al uso de dióxido de carbono en la extracción y a que se usan materias primas que son residuos que tendría como fin último la disposición en los suelos, que por ser orgánicos tenían significado en la creación de plagas y de las diferentes formas de contaminación por descomposición de las mismas.

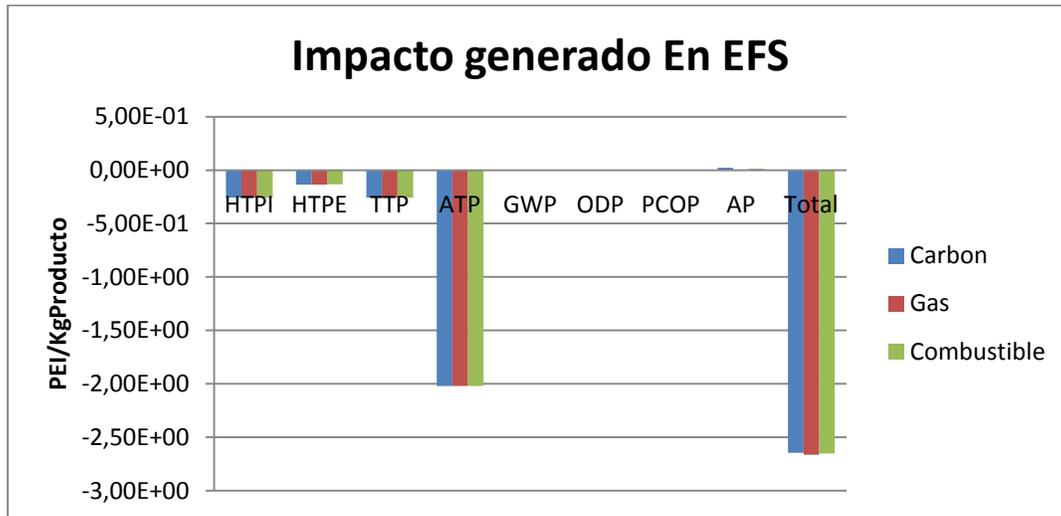


Figura 34. Impactos generados en la etapa de EFS (Papaya)

El uso integral de la papaya dentro de una biorrefinería, aunque hubo aumento en algunos de los potenciales de impacto ambiental como el de intoxicación humana por ingestión y el de toxicidad terrestre, sigue siendo un proceso total que conlleva a la mitigación siendo el más significativo con el uso de gas como fuente de energía. El potencial de acidez crece gracias al uso de ácido dentro de la hidrólisis realizada para obtener las fuentes de carbono necesarias para las fermentaciones donde se obtiene ácido láctico y etanol.

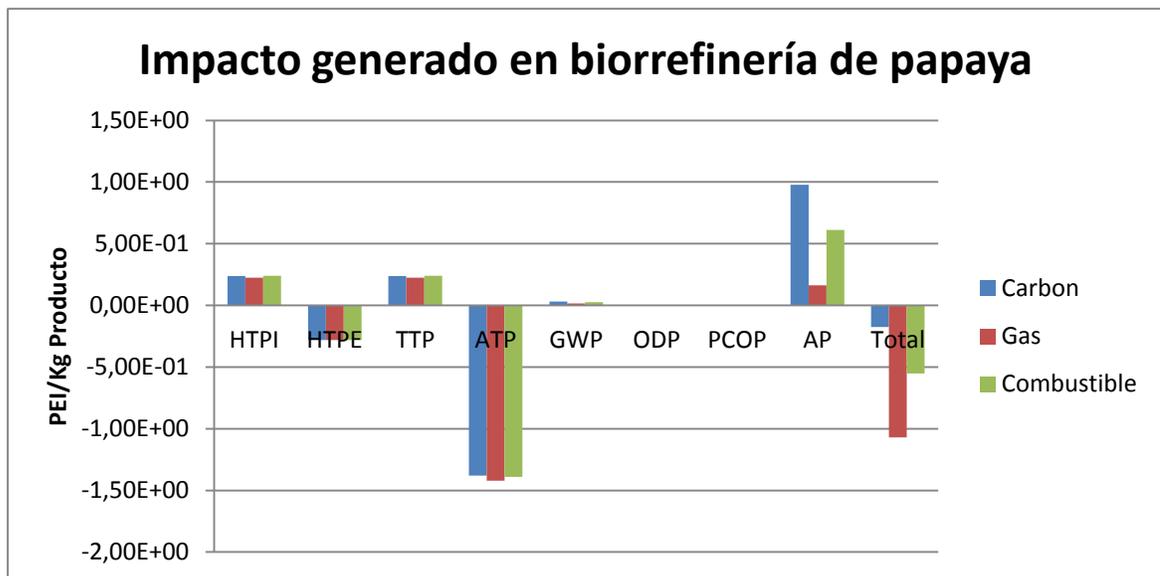


Figura 35. Impacto Generado en biorrefinería de papaya (20ton/día)

5.3. Conclusiones

Aplicando el concepto de biorrefinería para el provecho integral de la papaya se hace posible obtener productos de alto valor agregado. Siendo Colombia un país en donde la producción de papaya es continua durante el año completo existe un gran potencial para la obtención de este tipo de productos en el territorio nacional. La producción de ácido láctico tiene un margen de ganancia casi neutro. Los antioxidantes dan una ganancia alta a pesar que la mayoría de los gastos de utilidades se da en la extracción de los antioxidantes con fluidos supercríticos, lo que se contrarresta con la alta productividad que genera el proceso supercrítico. A medida que la escala de producción se aumentó, el costo de las utilidades fue disminuyendo mientras que los costos de operación se incrementaron. Sin embargo, el costo de producción de antioxidantes en la mayor escala evaluada llegó a ser una quinta parte del costo de la biorrefinería a menor escala. El ácido láctico no tiene rentabilidad para ninguno de los casos pero tiende a lograr un margen de ganancia nulo, que puede ser contrarrestado con el bajo costo hasta el que llegaron los antioxidantes.

Se obtuvieron extractos mediante la tecnología de extracción con fluidos supercríticos, el producto resultante son extractos ricos en compuestos con capacidad antioxidante. Dichos productos pueden ser usados como ingredientes activos de productos cosméticos. El betacaroteno y licopeno benefician la piel gracias a sus propiedades antirradicalarias, intervienen en la producción de melanina, son antimicóticos y poseen propiedades de astringencia, características empleadas en la formulación de algunos cosméticos.[1]

Conclusiones generales y recomendaciones

Conclusiones generales

La presente tesis de maestría exhibe los resultados obtenidos de la caracterización fisicoquímica de los residuos de ahuyama (*Curcubita máxima*), naikú (*Renealmia alpinia*) y papaya (*Carica papaya*), siendo considerados el contenido de compuestos antioxidantes y los constitutivos de los materiales lignocelulósicos. Se obtuvieron extractos mediante la tecnología de extracción con fluidos supercríticos, donde la actividad antioxidante y concentración de compuestos fenólicos determinados sugieren que estos tienen un elevado potencial para su uso en la industria cosmética, siendo parte de los ingredientes activos de productos como protectores solares, humectantes, despigmentadoras, reconstructivas, entre otros.[1], [7], [38], [93] Los mejores rendimientos obtenidos corresponden a la extracción de *Renealmia alpinia*(Naikú), esta fruta y sus residuos reportan en la literatura un contenido de antocianinas importante. [36]

Las determinaciones de material lignocelulósico desarrolladas permiten identificar al naikú como el residuo de mayor potencial como materia prima para la obtención de azúcares como plataformas de otros productos de valor agregado a través de esquemas de biorrefinería. Pero la ahuyama y la papaya por los volúmenes de producción actual sean más cercanos a la realidad, mientras que el naikú a pesar de tener resultados tan positivos, no hay una existencia en grandes masas para la realización de la biorrefinería, siendo este trabajo una visualización de todos los productos posibles de obtener a partir de naikú.

La caracterización de los extractos obtenidos fue efectiva al encontrar que la capacidad antioxidante se mantuvo después de la extracción. El mejor rendimiento de extracción de compuestos fenólicos para cada uno de los casos, tuvo un valor superior al 85%, lo que sugiere que este es un método de extracción atractivo para las industrias por su alta productividad. En los casos de las semillas de las materias primas se encontró, que a una presión de 200 bar se extrae una mayor cantidad de componentes.

Se aplicaron modelos termodinámicos para determinar la solubilidad de los compuestos antioxidantes de interés de la ahuyama, naikú y papaya en dióxido de carbono a condiciones supercríticas. Los resultados obtenidos a partir de dicho cálculo establecieron una base de las condiciones de presión a ser utilizadas en las etapas experimentales, las cuales, tras caracterizar los extractos obtenidos, permitieron obtener rendimientos elevados, los cuales corroboraron las condiciones predichas para obtener la mayor solubilidad. Por lo tanto, el cálculo de solubilidad es una herramienta útil para la predicción de condiciones con las que se logran altos rendimientos de extracción al momento de operar el equipo de fluidos supercríticos.

Las biorrefinerías diseñadas tuvieron un mejor resultado a medida que el volumen de alimentación de la materia prima era mayor. En el caso del Naikú además de existir una ganancia por los productos obtenidos, se retroalimentó la energía y el vapor obtenido en la etapa de cogeneración de la biorrefinería. El PHB y El Ácido Láctico, producidos en diferentes biorrefinería, aunque no tuvieron un margen de ganancia están cerca de la igualdad de precio del mercado.

Obtener productos del residuo lignocelulósico proveniente de la extracción de los compuestos antioxidantes, proporciona una alternativa de disposición de los residuos sólidos, logrando obtener productos como xilitol, ácido láctico y PHB a partir de materias primas diferentes a la caña de azúcar, maíz o remolacha que son los usados en la actualidad para la producción de estos.[81], [94]

Recomendaciones

Con el fin de profundizar hacia una caracterización más detallada de las materias primas, es importante que sean evaluados métodos de identificación de mayor exactitud tanto cualitativa como cuantitativa de los extractos obtenidos. En ese sentido se sugiere determinar los perfiles de ácidos grasos, compuestos antioxidantes y aromas con el fin de encontrar mercados específicos a estos extractos.

Los resultados obtenidos a través de las pruebas de inhibición de radicales libres y de contenido fenólico realizadas, pueden ser considerados como una primer etapa de evaluación del potencial de uso de los extractos obtenidos, el siguiente paso a sugerir sería evaluar la posibilidad de realizar pruebas en tejidos artificiales, para determinar el potencial de estos en la elaboración de productos cosméticos.

Como perspectiva de la presente tesis de maestría se identificó que a partir de los residuos de la extracción supercrítica, se puede lograr la obtención de diferentes productos

aplicando procedimientos experimentales, lo que permitiría determinar rendimientos específicos de los procesos propuestos en la biorrefinería. Así, obtener resultados experimentales que se puedan comparar con los procesos simulados. También, además de conocer un rendimiento específico en cada proceso a nivel experimental para las materias primas, se conocerán los efluentes resultantes y así una mejor evaluación para la disposición final o tratamiento adecuado de dichas corrientes, terminando en un refinamiento del análisis tecno-económico del proceso de la biorrefinería.

Bibliografía

- [1] A. O. Barel, M. Paye, and H. I. Maibach, *Handbook of Cosmetic Science and Technology*. 2001.
- [2] P. Elsner and H. I. Maibach, *Cosmeceuticals and Active Cosmetics*. 2005.
- [3] A.-M. JUNCAN, "ANALYSIS OF SOME ANTIOXIDANTS USED IN COSMETICS BY CHROMATOGRAPHIC METHODS ANCA-MARIA JUNCAN Cluj-Napoca Table of Contents," UNIVERSITAS NAPOCENSIS, 2011.
- [4] A. M. Cotes, E. Cristancho, and X. M. García, "Antioxidantes, Oportunidades para la producción agropecuaria y agroindustria," *Minist. Agric. y Desarro. Rural. Corpoica*, pp. 1–2, 2006.
- [5] A. Martinez-Martinez, "Carotenoides.," *Fac. química Farm. Univ. Antioquia*, 2003.
- [6] G. A. Garzón, "Las antocianinas como colorantes naturales y compuestos bioactivos," *Dep. química. Univ. Nac. Colomb.*, vol. 2008.
- [7] P. K. Farris, *Cosmeceuticals and Cosmetic Practice*, WILEY. 2014.
- [8] Proexport, "Sector Cosméticos," 2011.
- [9] S. Daniels, "Supply-demand-imbalance-escalating-natural-antioxidant-market," 2013. [Online]. Available: <http://www.foodnavigator-usa.com/Markets/>.
- [10] L. Francis C, M. Bagchi, and S. Zafra-Stone, "The Benefits of antioxidant-Rich Fruits on skin Health," in *Nutritional Cosmetics: Beauty from Within*, 2009, pp. 217–232.
- [11] R. Kohen, "Dossier : Oxidation and antioxidizing agents Skin antioxidants : their role in aging and in oxidative New approaches for their evaluation stress -," *Biomed & Pharmacother*, 1999.
- [12] N. C. Institution, "National Cancer Institute at the National Institutes of Health," 2014. [Online]. Available: <http://www.cancer.gov/>.
- [13] "Stiefel Laboratories," 2012. [Online]. Available: <http://www.stiefel.com>.
- [14] Natura, "Natura," 2013. [Online]. Available: <http://www.natura.com.co/>.
- [15] J. González, J. M. Cruz, H. Domínguez, and J. C. Parajó, "Production of antioxidants from Eucalyptus globulus wood by solvent extraction of hemicellulose hydrolysates," *Food Chem.*, vol. 84, no. 2, pp. 243–251, Feb. 2004.

- [16] S. N. Jimenez-Garcia, R. G. Guevara-Gonzalez, R. Miranda-Lopez, A. A. Feregrino-Perez, I. Torres-Pacheco, and M. A. Vazquez-Cruz, "Functional properties and quality characteristics of bioactive compounds in berries: Biochemistry, biotechnology, and genomics," *Food Res. Int.*, vol. 54, no. 1, pp. 1195–1207, Nov. 2013.
- [17] M. Blasa, L. Gennari, D. Angelino, and P. Ninfali, "Fruit and Vegetable Antioxidant in Health," in *Fruit and Vegetables in Health Promotion*, First Edit., Elsevier Inc., 2010, pp. 37–58.
- [18] M. F. Caboni, A. M. Gómez-Caravaca, V. Verardo, A. Segura-Carretero, A. Fernández-Gutiérrez, and M. F. Cabon, "Phenolic Compounds and Saponins in Plants Grown Under Different Irrigation Regimes," in *Polyphenols in Plants: Isolation, Purification and Extract Preparation*, Elsevier, 2014, pp. 37–52.
- [19] M. De Lourdes and R. Giada, "Food Phenolic Compounds : Main Classes , Sources and Their Antioxidant Power," in *Oxidative Stress and Chronic Degenerative Diseases - A Role for Antioxidants*, .
- [20] F. Shahidi and C. Ho, *Phenolic compounds in foods and natural health products*. 2005.
- [21] W. Vermerris and R. Nicholson, *Phenolic Compounds Biochemistry*. Springer, 2006.
- [22] A. K. Verma and V. K. Gupta, *Comprehensive Bioactive Natural Products, Volume 4 : Antioxidants and Nutraceuticals*. 2010.
- [23] C. Criado Dabrowska and M. S. Moya Mir, "Vitaminas y antioxidantes." Grupo saned, 2009.
- [24] R. Hohen, "Skin antioxidants their role in aging and in oxidative stress- New approaches for their evaluation," *Biomed & Pharmacother*, 1999.
- [25] I. Ballesteros Perdices, M. Ballesteros Perdices, P. Manzanares Secades, M. J. Negro Alvarez, and J. M. Oliva Dominguez, "Procedimiento de extracción de compuestos fenólicos a partir de un material vegetal residual mediante un tratamiento hidrotérmico," WO2004009206 A12004.
- [26] B. Bartolome Sualdea, E. De La Fuente Garcia, I. Garrido La fuente, M. C. Gomez-Cordoves De La Vega, A. Jara Garcia-Navas, R. Lebron Aguilar, M. Monagas Juan, and J. C. Quintela Fernandez, "Extractos fenolicos de piel de almendra conteniendo procianidinas, propelargonidinas y prodelfinidinas, y su procedimiento de obtención.," WO 2008152173 A12008.
- [27] I. X. Cerón, J. C. Higueta, and C. a. Cardona, "Design and analysis of antioxidant compounds from Andes Berry fruits (*Rubus glaucus* Benth) using an enhanced-fluidity liquid extraction process with CO₂ and ethanol," *J. Supercrit. Fluids*, vol. 62, no. 2012, pp. 96–101, Feb. 2012.
- [28] L. J. Reátegui Pasquel, P. A. De fonseca Machado, G. F. Barbero, C. a. Rezende, and J. Martínez, "Extraction of antioxidant compounds from blackberry (*Rubus* sp .) bagasse using supercritical CO₂ assisted by ultrasound," *J. Supercrit. Fluids*, vol. 94, pp. 223–233, 2014.

- [29] J. J. Fort Benedito, A. Berna Prats, A. Blanco Blanco, M. Blasco Piquer, A. J. Juárez Gallego, J. García Reverter, Y. Golas Sanchez, F. Montoya Vitini, A. Mulet Pons, R. Pena Cervero, F. E. Riera Franco De Sarabia, and S. Subirats Huerta, "Procedimiento de separación o extracción con fluidos supercríticos asistidos por ultrasonidos de alta intensidad," WO2004012859 A12003.
- [30] A. Vahlquist and M. Duvic, *Retinoids and Carotenoids in Dermatology*. 2007.
- [31] W. Stahl, U. Heinrich, H. Jungmann, H. Sies, and H. Tronnier, "Carotenoids and carotenoids plus vitamin E protect against ultraviolet light-induced erythema in humans," *Am J Clin Nutr*, vol. 71, no. 3, pp. 795–798, Mar. 2000.
- [32] P. Ramírez, S. Santoyo, M. R. García-Risco, F. J. Señoráns, E. Ibáñez, and G. Reglero, "Use of specially designed columns for antioxidants and antimicrobials enrichment by preparative supercritical fluid chromatography.," *J. Chromatogr. A*, vol. 1143, no. 1–2, pp. 234–42, Mar. 2007.
- [33] J. Linder, "Cosmeceutical Treatment of the Aging Face," in *Aesthetic Medicine*, P. M. Prendergast and M. A. Shiffman, Eds. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2012.
- [34] E. Offord, J.-C. Gautier, O. Avanti, C. Scaletta, F. Runge, K. Kramer, and A. Applegate, "Photoprotective potential of lycopene, beta-carotene, vitamin E, vitamin C and carnolic acid in UVA-irradiated human skin fibroblasts," *Free Radic. Biol. & Medicine*, vol. 32, no. 12, pp. 1293–1303, 2002.
- [35] A. Pouillot, L. L. Polla, P. Tacchini, A. Neequaye, A. Polla, and B. Polla, "NATURAL ANTIOXIDANTS AND THEIR EFFECTS ON THE SKIN," in *Formulating, Packaging, and Marketing of Natural Cosmetic Products*, 2011, pp. 239–257.
- [36] J. L. Hualpa Amable, "Proceso tecnológico de la extracción antocianinas de la Mishquipanga (Renealmia alpina)," Universidad Nacional de Ingeniería, Facultad de Ingeniería Química y Textil, Especialidad de Ingeniería Química, 2010.
- [37] V. P. Tabarin, G. Mara, and S. Gonçalves, "OBTENÇÃO DE LIPOSSOMAS CONTENDO EXTRATO DE AÇAÍ (Euterpe oleracea Mart) PARA USO EM COSMÉTICOS," 2010.
- [38] G. A. Garzon, "Anthocyanins As Natural Colorants And Bioactive Compounds. A Review," *Acta Biol. Colomb.*, vol. 13, 2008.
- [39] I. Dini, G. C. Tenore, and A. Dini, "Effect of industrial and domestic processing on antioxidant properties of pumpkin pulp," *LWT - Food Sci. Technol.*, vol. 53, no. 1, pp. 382–385, Sep. 2013.
- [40] A. Nawirska-Olszańska, A. Kita, A. Biesiada, A. Sokół-Łętowska, and A. Z. Kucharska, "Characteristics of antioxidant activity and composition of pumpkin seed oils in 12 cultivars.," *Food Chem.*, vol. 139, no. 1–4, pp. 155–61, Aug. 2013.

- [41] P. Mitra, H. S. Ramaswamy, and K. S. Chang, "Pumpkin (*Cucurbita maxima*) seed oil extraction using supercritical carbon dioxide and physicochemical properties of the oil," *J. Food Eng.*, vol. 95, no. 1, pp. 208–213, Nov. 2009.
- [42] M. Wang, Y. Zheng, T. Khuong, and C. J. Lovatt, "Effect of harvest date on the nutritional quality and antioxidant capacity in 'Hass' avocado during storage.," *Food Chem.*, vol. 135, no. 2, pp. 694–8, Nov. 2012.
- [43] S. K. K. C. A. Elmets, "Green tea polyphenolic antioxidants and skin photoprotection (Review)," *Int. J. Oncol.*, vol. 18, 2001.
- [44] M. M. Wall, "Ascorbic acid, vitamin A, and mineral composition of banana (*Musa sp.*) and papaya (*Carica papaya*) cultivars grown in Hawaii," *J. Food Compos. Anal.*, vol. 19, no. 5, pp. 434–445, Aug. 2006.
- [45] J. Chrastil, "Solubility of Solids and Liquids in Supercritical Gases," *J. Physicual Chem.*, no. 5, pp. 3016–3021, 1984.
- [46] R. E. Sanjaya, Y. Y. Tedjo, A. Kurniawan, Y.-H. Ju, A. Ayucitra, and S. Ismadji, "Investigation on supercritical CO₂ extraction of phenolic-phytochemicals from an epiphytic plant tuber (*Myrmecodia pendans*)," *J. CO₂ Util.*, vol. 6, pp. 26–33, Jun. 2014.
- [47] M. Škerget, Z. Novak-pintarič, Ž. Knez, and Z. Kravanja, "Estimation of solid solubilities in supercritical carbon dioxide : Peng – Robinson adjustable binary parameters in the near critical region," vol. 203, pp. 111–132, 2002.
- [48] J. Moncada Botero, C. . Cardona Alzate, and Y. Pisarenco, "Solubility of some phenolic acids contained in citrus seeds in supercritical carbon dioxide: Comparison of mixing rules, influence of multicomponent mixtures and model validation," *Theor. Found. Chem. Eng.*, vol. 47, pp. 1–7, 2013.
- [49] S. J. Wu, J. Y. Tsai, S. P. Chang, D. L. Lin, S. S. Wang, S. N. Huang, and L. T. Ng, "Supercritical carbon dioxide extract exhibits enhanced antioxidant and anti-inflammatory activities of *Physalis peruviana*," *J. Ethnopharmacol.*, vol. 108, no. 3, pp. 407–13, Dec. 2006.
- [50] J. Marrero and R. Gani, "Group-contribution based estimation of pure component properties," *Fluid Phase Equilib.*, vol. 183–184, pp. 183–208, Jul. 2001.
- [51] "TAPPI ORG." [Online]. Available: <http://www.tappi.org/>.
- [52] J. Rowell, "Chapter 5. Paper and Composites from Agro-based Resources," in *Chemical Composition of Fibers*, 1997, pp. 83–134.
- [53] E. A. Ainsworth and K. M. Gillespie, "Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin-Ciocalteu reagent," *Nat. Protoc.*, vol. 2, no. 4, pp. 875–877, Apr. 2007.

- [54] O. Folin and V. Ciocalteu, "ON TYROSINE AND TRYPTOPHANE DETERMINATIONS IN PROTEINS," *J. Biol. Chem.*, pp. 627–650, 1927.
- [55] W. Brand-Williams, M. E. Cuvelier, and C. Berset, "Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity," *LWT - Food Sci. Technol.*, vol. 28, no. 1, pp. 25–30, Jan. 1995.
- [56] A. Esteghlalian, A. Hashimoto, J. J. Fenske, and M. H. Penner, "MODELING AND OPTIMIZATION OF THE DILUTE- SULFURIC-ACID PRETREATMENT OF CORN STOVER, POPLAR AND SWITCHGRASS," *Bioresour. Technol.*, vol. 59, pp. 129–136, 1997.
- [57] A. K. Chandel, R. K. Kapoor, A. Singh, and R. C. Kuhad, "Detoxification of sugarcane bagasse hydrolysate improves ethanol production by *Candida shehatae* NCIM 3501.," *Bioresour. Technol.*, vol. 98, no. 10, pp. 1947–50, Jul. 2007.
- [58] R. Morales-rodriguez, K. V. Gernaey, A. S. Meyer, and G. Sin, "A Mathematical Model for Simultaneous Saccharification and Co-fermentation (SSCF) of C6 and C5 Sugars," *Chinese J. Chem. Eng.*, vol. 19, no. 2, pp. 185–191, 2010.
- [59] G. Birol, P. Doruker, B. Kardar, Z. Onsan, and K. Ulgen, "Mathematical description of ethanol fermentation by immobilised *Saccharomyces cerevisiae*," vol. 33, no. 7, pp. 763–771, 1998.
- [60] S. I. Mussatto, M. Fernandes, I. M. Mancilha, and I. C. Roberto, "Effects of medium supplementation and pH control on lactic acid production from brewer's spent grain," *Biochem. Eng. J.*, vol. 40, no. 3, pp. 437–444, Jul. 2008.
- [61] A. D. Nandasana and S. Kumar, "Kinetic modeling of lactic acid production from molasses using *Enterococcus faecalis* RKY1," *Biochem. Eng. J.*, vol. 38, no. 3, pp. 277–284, Mar. 2008.
- [62] S. Shahhosseini, "Simulation and optimisation of PHB production in fed-batch culture of *Ralstonia eutropha*," *Process Biochem.*, vol. 39, no. 8, pp. 963–969, Apr. 2004.
- [63] W. Tochampa, S. Sirisansaneeyakul, W. Vanichsriratana, P. Srinophakun, H. H. C. Bakker, and Y. Chisti, "A model of xylitol production by the yeast *Candida mogii*," *Bioprocess Biosyst. Eng.*, vol. 28, no. 3, pp. 175–83, Dec. 2005.
- [64] S. I. Mussatto, J. Moncada, I. C. Roberto, and C. a. Cardona, "Techno-economic analysis for brewer's spent grains use on a biorefinery concept: the Brazilian case.," *Bioresour. Technol.*, vol. 148, pp. 302–10, Nov. 2013.
- [65] J. Moncada, J. a. Tamayo, and C. a. Cardona, "Techno-economic and environmental assessment of essential oil extraction from Citronella (*Cymbopogon winteriana*) and Lemongrass (*Cymbopogon citrus*): A Colombian case to evaluate different extraction technologies," *Ind. Crops Prod.*, vol. 54, pp. 175–184, Mar. 2014.

- [66] L. E. Rincón, J. Moncada, and C. a. Cardona, "Analysis of potential technological schemes for the development of oil palm industry in Colombia: A biorefinery point of view," *Ind. Crops Prod.*, vol. 52, pp. 457–465, Jan. 2014.
- [67] EPA, "Chemical Process Simulation for Waste Reduction: WAR Algorithm," 2014. [Online]. Available: www.epa.gov.
- [68] R. P. F. Guiné, S. Pinho, and M. J. Barroca, "Study of the convective drying of pumpkin (*Cucurbita maxima*)," *Food Bioprod. Process.*, vol. 89, no. 4, pp. 422–428, Oct. 2011.
- [69] X. Shi, H. Wu, J. Shi, S. J. Xue, D. Wang, W. Wang, A. Cheng, Z. Gong, X. Chen, and C. Wang, "Effect of modifier on the composition and antioxidant activity of carotenoid extracts from pumpkin (*Cucurbita maxima*) by supercritical CO₂," *LWT - Food Sci. Technol.*, vol. 51, no. 2, pp. 433–440, May 2013.
- [70] L. Rezig, M. Chouaibi, K. Msaada, and S. Hamdi, "Chemical composition and profile characterisation of pumpkin (*Cucurbita maxima*) seed oil," *Ind. Crops Prod.*, vol. 37, no. 1, pp. 82–87, May 2012.
- [71] M. Y. Kim, E. J. Kim, Y.-N. Kim, C. Choi, and B.-H. Lee, "Comparison of the chemical compositions and nutritive values of various pumpkin (*Cucurbitaceae*) species and parts," *Nutr. Res. Pract.*, vol. 6, pp. 21–27, 2012.
- [72] H. Lü, M. Ren, M. Zhang, and Y. Chen, "Pretreatment of Corn Stover Using Supercritical CO₂ with Water-Ethanol as Co-solvent," *Chinese J. Chem. Eng.*, vol. 21, no. 5, pp. 551–557, May 2013.
- [73] A. Nawirska-Olszańska, A. Biesiada, A. Sokół-Lętowska, and A. Z. Kucharska, "Characteristics of organic acids in the fruit of different pumpkin species.," *Food Chem.*, vol. 148, pp. 415–9, Apr. 2014.
- [74] J. Jiao, Z.-G. Li, Q.-Y. Gai, X.-J. Li, F.-Y. Wei, Y.-J. Fu, and W. Ma, "Microwave-assisted aqueous enzymatic extraction of oil from pumpkin seeds and evaluation of its physicochemical properties, fatty acid compositions and antioxidant activities.," *Food Chem.*, vol. 147, pp. 17–24, Mar. 2014.
- [75] J. C. Alarcon P., D. M. Martínez R., J. C. Quintana C., S. Jiménez R., A. Díaz C., and I. Jiménez, "PROPAGACIÓN in vitro DE *Renealmia alpinia* (ROTTB), PLANTA," *VITAE, Rev. LA Fac. Quim. Farm. Univ. Nac. ANTIOQUIA, Colomb.*, vol. 15, no. 574, pp. 61–69, 2008.
- [76] V. Núñez, R. Otero, J. Barona, M. Saldarriaga, R. G. Osorio, R. Fonnegra, S. L. Jiménez, A. Díaz, and J. C. Quintana, "Neutralization of the edema-forming, defibrinating and coagulant effects of *Bothrops asper* venom by extracts of plants used by healers in Colombia ," *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* , vol. 37 . scielo , pp. 969–977, 2004.
- [77] I.-N. Chen, C.-C. Chang, C.-C. Ng, C.-Y. Wang, Y.-T. Shyu, and T.-L. Chang, "Antioxidant and antimicrobial activity of Zingiberaceae plants in Taiwan.," *Plant Foods Hum. Nutr.*, vol. 63, no. 1, pp. 15–20, Mar. 2008.

- [78] C. Danciu, L. Vlaia, F. Fetea, M. Hancianu, D. E. Coricovac, S. A. Ciurlea, C. M. Șoica, I. Marincu, V. Vlaia, C. A. Dehelean, and C. Trandafirescu, "Evaluation of phenolic profile, antioxidant and anticancer potential of two main representants of Zingiberaceae family against B164A5 murine melanoma cells," *Biol. Res.*, vol. 48, no. 1, p. 1, Jan. 2015.
- [79] A. Ananga, V. Georgiev, J. Ochieng, B. Phills, and V. Tsoleva, "Production of Anthocyanins in Grape Cell Cultures: A Potential Source of Raw Material for Pharmaceutical, Food, and Cosmetic Industries," *Mediterr. Genet. Code - Grapevine Olive*, pp. 247–287, 2013.
- [80] C.-F. Chan, C.-Y. Lien, Y.-C. Lai, C.-L. Huang, and W. C. Liao, "Influence of purple sweet potato extracts on the UV absorption properties of a cosmetic cream.," *J. Cosmet. Sci.*, vol. 61, no. 5, pp. 333–341, 2010.
- [81] J. A. Quintero, M. I. Montoya, O. J. Sánchez, O. H. Giraldo, and C. A. Cardona, "Fuel ethanol production from sugarcane and corn: Comparative analysis for a Colombian case," *Energy*, vol. 33, no. 3, pp. 385–399, 2008.
- [82] J. Moncada, L. G. Matallana, and C. A. Cardona, "Selection of Process Pathways for Biorefinery Design Using Optimization Tools: A Colombian Case for Conversion of Sugarcane Bagasse to Ethanol, Poly-3-hydroxybutyrate (PHB), and Energy," 2013.
- [83] R. V. Tonon, C. Brabet, and M. D. Hubinger, "Anthocyanin stability and antioxidant activity of spray-dried açai (*Euterpe oleracea* Mart.) juice produced with different carrier agents," *Food Res. Int.*, vol. 43, no. 3, pp. 907–914, 2010.
- [84] G. Calderon and R. Cepeda, "El cultivo de la papaya.pdf."
- [85] FAO, "FAO statistics Division 2014," 2014. [Online]. Available: <http://faostat.fao.org/>.
- [86] E. Bustamante Martínez, "Crecimiento, desarrollo y potencial productivo de la papaya (*Carica papaya* L.) variedad hawaiana en el caribe colombiano," Universidad Nacional de Colombia, 1998.
- [87] L. V. Arango Wiesner, C. A. Roman Hoyos, C. R. Salamanca, E. F. Almansa Manrique, J. H. Bernal Riobo, G. A. León Martínez, V. E. Rey Valenzuela, M. Ariza Nieto, and P. Gómez Bilbao, "El Cultivo de la Papaya en los Llanos Orientales."
- [88] L. E. Gayosso-García Sancho, E. M. Yahia, and G. A. González-Aguilar, "Identification and quantification of phenols, carotenoids, and vitamin C from papaya (*Carica papaya* L., cv. Maradol) fruit determined by HPLC-DAD-MS/MS-ESI," *Food Res. Int.*, vol. 44, no. 5, pp. 1284–1291, Jun. 2011.
- [89] L. Amazu, C. Azikiwe, C. Njoku, F. Osuala, P. Nwosu, A. Ajugwo, and J. Enye, "Antiinflammatory activity of the methanolic extract of the seeds of *Carica papaya* in experimental animals," *Asian Pac. J. Trop. Med.*, vol. 3, no. 11, pp. 884–886, Nov. 2010.

- [90] P. Kittiphattanabawon, S. Benjakul, W. Visessanguan, and F. Shahidi, "Gelatin hydrolysate from blacktip shark skin prepared using papaya latex enzyme: Antioxidant activity and its potential in model systems," *Food Chem.*, vol. 135, no. 3, pp. 1118–26, Dec. 2012.
- [91] Y. K. Ang, W. C. M. Sia, H. E. Khoo, and H. S. Yim, "Antioxidant Potential of Carica Papaya Peel and Seed," *Focus. Mod. Food Ind.*, vol. 1, no. 1, pp. 11–16, 2012.
- [92] Z. R. Addai, A. Abdullah, S. A. Mutalib, and K. H. Musa, "Antioxidant Activity and Physicochemical Properties of Mature Papaya Fruit (*Carica papaya* L.ev.Eksotika)," *J. Food Sci. Technol.*, vol. 5, no. 7, pp. 859–865, 2013.
- [93] R. M. R. Manso, "Ingredientes en cosmética," pp. 51–62, 2006.
- [94] Q. Jin, H. Zhang, L. Yan, L. Qu, and H. Huang, "Kinetic characterization for hemicellulose hydrolysis of corn stover in a dilute acid cycle spray flow-through reactor at moderate conditions," *Biomass and Bioenergy*, vol. 35, no. 10, pp. 4158–4164, Oct. 2011.