



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**FACULTAD DE QUÍMICA**

---

**DETERMINACION DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE  
EXTRACTOS DE SEMILLA DE PAPAYA MEXICANA (CARICA  
PAPAYA).**

---

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
QUÍMICA DE ALIMENTOS**

**PRESENTA**

**LUCIA CRUZ SANTIAGO**



**CDMX**

**AÑO 2023**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## **JURADO ASIGNADO**

**PRESIDENTE: Lino Joel Reyes Trejo.**

**VOCAL: Martha Menes Arzate.**

**SECRETARIO: Benito Reyes Trejo.**

**1er. SUPLENTE: Bertha Julieta Sandoval Guillen.**

**2° SUPLENTE: Ma. Rosa González Tepale.**

### **SITIO DONDE SE REALIZÓ EL TEMA.**

LABORATORIO 208, DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÁNICA, DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO, EDIFICIO B, FACULTAD DE QUÍMICA, UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO.

LABORATORIO DE PRODUCTOS NATURALES, ÁREA DE QUÍMICA, DEPARTAMENTO DE PREPARATORIA AGRÍCOLA, UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CHAPINGO.

---

**ASESOR DEL TEMA: Dr. LINO JOEL REYES TREJO**

---

**SUPERVISOR TÉCNICO: Dr. BENITO REYES TREJO**

---

**SUSTENTANTE: LUCIA CRUZ SANTIAGO**

## CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN	7
2. OBJETIVOS E HIPÓTESIS	8
3. ANTECEDENTES	9
✓ 3.1 Residuos sólidos alimentarios	9
✓ 3.1.1 Producción de residuos en la cadena alimentaria	10
✓ 3.1.2 Valorización de residuos alimentarios	11
✓ 3.1.3 Valorización de residuos de papaya	12
✓ 3.2 Antioxidantes	13
✓ 3.3 Técnicas de extracción de antioxidantes	16
✓ 3.3.1 Extracción por soxhlet	16
✓ 3.3.2 Extracción con disolvente o maceración (EM)	16
✓ 3.3.3 Extracción con disolvente asistida por ultrasonido (EAU)	17
✓ 3.3.4 Extracción por fluido subcrítico y supercrítico	17
✓ 3.3.5 Extracción acuosa asistida por enzimas	18
✓ 3.3.6 Extracción con disolvente asistida por microondas (EAM)	19
✓ 3.3.7 Extracción por extrusión	19
✓ 3.3.8 Extracción con disolvente asistida por alta presión hidrostática	20
✓ 3.4 Métodos para la determinación de antioxidantes	20
✓ 3.4.1 Determinación de compuestos fenólicos totales	20
✓ 3.4.2 Método DPPH	21
✓ 3.4.3 Método FRAP	21
✓ 3.4.4 Método ABTS	22
✓ 3.5 Estabilidad oxidativa de compuestos lipídicos	22
✓ 3.5.1 Índice de acidez	23
✓ 3.5.2 Índice de yodo	23
✓ 3.5.3 Índice de peróxidos	24
4. METODOLOGÍA	25
5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	40
6. RESULTADOS Y ANÁLISIS	41
7. CONCLUSIONES	63
8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	64

## ÍNDICE DE FIGURAS

No. figura	Nombre	Página
Figura 1.	Residuos alimentarios orgánicos.	10
Figura 2.	Cantidad de desperdicio de alimentos por país.	10
Figura 3.	Semillas residuales de <i>Carica papaya</i> .	12
Figura 4.	Algunos ejemplos de las principales clases de compuestos con actividad antioxidante.	14
Figura 5.	Principales compuestos antioxidantes presentes en la semilla de papaya.	15
Figura 6.	Extracción asistida por microondas (EAM).	19
Figura 7.	Diagrama de bloques para la obtención de antioxidantes a partir de semillas de papaya mexicana <i>Carica papaya</i> .	25
Figura 8.	Papaya mexicana madura ( <i>Carica papaya</i> var. <i>maradol</i> ).	27
Figura 9.	Lavado de semillas.	27
Figura 10.	Secado de semillas al aire libre.	27
Figura 11.	Secado de semillas en estufa.	27
Figura 12.	Mediciones de una semilla.	28
Figura 13.	Medición de 30 semillas.	28
Figura 14.	Masa de una semilla.	28
Figura 15.	Determinación de humedad.	28
Figura 16.	Determinación de índice de flotación.	29
Figura 17.	Molienda de semillas.	29
Figura 18.	Tamizado de semillas molidas.	30
Figura 19.	Extracción de grasa por método soxhlet.	30
Figura 20.	Evaporación.	31
Figura 21.	Materia desgrasada.	31
Figura 22.	Extracción por maceración.	31
Figura 23.	Recuperación de sobrenadante.	32
Figura 24.	Extracción con disolvente asistida por ultrasonido.	32
Figura 25.	Lector de micro placas con dispensadores automáticos.	34
Figura 26.	Cuantificación de fenoles totales.	34
Figura 27.	Microplacas método FRAP.	35
Figura 28.	Determinación de estabilidad oxidativa.	37
Figura 29.	Dimensiones de una semilla de <i>Carica papaya</i> .	41
Figura 30.	Espectro de resonancia magnética nuclear de protones ( $^1\text{H}$ NMR) de una muestra de grasa de <i>Carica papaya</i> .	44
Figura 31-A	Espectro de resonancia magnética nuclear de protones ( $^1\text{H}$ NMR) de una muestra de extracto acetónico obtenido a partir de semillas de <i>Carica papaya</i> var. <i>maradol</i> .	57
Figura 31-B	Espectro de resonancia magnética nuclear de protones ( $^1\text{H}$ NMR) de una muestra de extracto acetónico obtenido a partir de semillas de <i>Carica papaya</i> var. <i>maradol</i> (expansión).	57

## ÍNDICE DE GRÁFICAS

<b>No. Gráfica</b>	<b>Nombre</b>	<b>Página</b>
Gráfica 1.	Comparación del porcentaje rendimiento obtenido con diferentes disolventes.	46
Gráfica 2.	Comparación del porcentaje rendimiento obtenido con diferentes métodos de extracción.	48
Gráfica 3.	Comparación de fenoles totales obtenidos con diferentes disolventes expresados en mg EAG/g de extracto.	50
Gráfica 4.	Comparación de fenoles totales obtenidos con diferentes técnicas de extracción expresado en mg EAG/g de extracto.	52
Gráfica 5.	Comparación de la actividad antioxidante con diferentes disolventes expresada en $\mu\text{mol ET/g}$ extracto.	54
Gráfica 6.	Comparación de la actividad antioxidante con diferentes técnicas de extracción expresada en $\mu\text{mol ET/g}$ extracto.	55
Gráfica 7.	% de acidez de tres diferentes muestras a través del tiempo ( $55^{\circ}\text{C}$ 28 días).	59
Gráfica 8.	Índice de yodo de tres diferentes muestras a través del tiempo ( $55^{\circ}\text{C}$ 28 días).	61
Gráfica 9.	Índice de peróxidos de tres diferentes muestras a través del tiempo ( $55^{\circ}\text{C}$ 28 días).	62

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>No. Tabla</b>	<b>Nombre</b>	<b>Página</b>
Tabla 1.	Resultados generales de la determinación de dimensiones de semillas de papaya.	41
Tabla 2.	Resultados generales de la determinación de Impurezas en las semillas de <i>Carica papaya</i> .	42
Tabla 3.	Sanidad por presencia de insectos.	42
Tabla 4.	Determinación del porcentaje de humedad en semillas de <i>Carica papaya</i> .	42
Tabla 5.	Determinación del índice de flotación en semillas de <i>Carica papaya</i> .	43
Tabla 6.	Extracción de grasa por método de soxhlet en semillas de <i>Carica papaya</i> .	43
Tabla 7.	Comparación del porcentaje de rendimiento promedio de la extracción de polifenoles en semillas de <i>Carica papaya</i> con diferentes disolventes.	45
Tabla 8.	Comparación del porcentaje de rendimiento promedio entre los tres métodos de extracción en semillas de <i>Carica papaya</i> utilizando acetona.	47
Tabla 9.	Resultados de la cuantificación de fenoles totales empleando extracción con soxhlet y maceración con diferentes disolventes.	49
Tabla 10.	Resultados de la cuantificación de fenoles totales obtenidos por diferentes técnicas de extracción empleando acetona.	51
Tabla 11.	Resultados de la actividad antioxidante con diferentes disolventes expresado en ( $\mu\text{mol ET/g}$ de extracto).	53
Tabla 12.	Resultados de la actividad antioxidante por el método FRAP obtenidos por diferentes técnicas de extracción expresada en $\mu\text{mol ET/g}$ extracto.	54
Tabla 13.	Resultados de la determinación de porcentaje de acidez expresado en g ácido oleico/100g muestra.	58
Tabla 14.	Resultados de la determinación de índice de yodo expresado en g $\text{I}_2$ /100 g muestra.	60
Tabla 15.	Resultados de la determinación de índice de Peróxidos expresado en meq peróxidos/kg muestra.	62

## 1. INTRODUCCIÓN

El desperdicio de alimentos y la generación de residuos orgánicos representan casi el 50% de los residuos que se generan en el país. (SEMARNAT, 2018).

En los últimos años, el papel de los efectos beneficiosos de muchos fitonutrientes de residuos vegetales como frutas y verduras han atraído la atención para obtener antioxidantes naturales, lo anterior con el propósito de tener alternativas más seguras y efectivas que puedan sustituir a los antioxidantes sintéticos (Agada *et al*, 2021).

La papaya, también conocida como papaw, es una planta herbácea de un solo tallo perteneciente a la familia *Caricaceae*. La producción mundial de papaya en 2017 fue de 13,02 millones de toneladas métricas, creciendo a una tasa promedio anual de 2,46% entre 2011 y 2017, siendo India, Brasil y México los países productores predominantes de papaya. Se han identificado más de cincuenta tipos de variedades de papaya. Las semillas de la papaya, que representan aproximadamente el 20% del peso fresco total, contienen un alto contenido de lípidos y proteínas (Zuhair *et al*, 2013). Además, el aceite de semilla de papaya contiene un alto nivel de ácidos grasos insaturados y fitoquímicos lipofílicos.

Los diferentes extractos de la semilla de papaya son conocidos por sus numerosas propiedades: antioxidante, antibacteriana, anticancerosa, anti-fertilidad, antiinflamatoria, antiulcerosa, antidiabética, hepatoprotectora y muchas más. Lo anterior debido a la presencia de compuestos fenólicos, flavonoides y alcaloides como fitoquímicos clave. (Ashutosh *et al*, 2020). Es por ello que existen estudios que pretenden aprovechar estos antioxidantes naturales para sustituirlos por los antioxidantes sintéticos que se utilizan para la conservación de alimentos. (Ashutosh *et al*, 2020).

Por lo anterior, el presente estudio tiene como objetivo principal, extraer, cuantificar y evaluar el poder antioxidante de los polifenoles presentes en la semilla de la papaya mexicana (*Carica papaya var. maradol*), con el propósito de emplearlos como conservadores de aceites comestibles.

## 2. OBJETIVOS E HIPÓTESIS

### 2.1 Objetivo general:

Extraer, cuantificar y evaluar el poder antioxidante de polifenoles presentes en la semilla de papaya mexicana (*Carica papaya var. maradol*) con la finalidad de implementar su uso como un aditivo alimenticio natural.

### 2.2 Objetivos particulares:

- Identificar el disolvente con el cual es posible obtener mayor rendimiento de extracción de los polifenoles mediante tres disolventes de diferente polaridad tales como acetona, metanol y etanol.
- Identificar la técnica de extracción más efectiva para la extracción de polifenoles mediante tres técnicas diferentes: soxhlet, maceración, ultrasonido.
- Determinar los extractos, a partir de semillas de *Carica papaya* con la mayor concentración de compuestos fenólicos por el método de Folin-Ciocalteu, así como el mayor poder antioxidante mediante el método FRAP.
- Evaluar la eficiencia del extracto de mayor poder antioxidante en la estabilidad oxidativa de una muestra de aceite comestible comercial respecto a la eficiencia de un antioxidante sintético BHT, mediante el monitoreo y medición de los cambios en los parámetros de calidad del aceite en cuestión.

### 2.3 Hipótesis:

Los antioxidantes obtenidos a partir de la semilla residual de papaya mexicana (*Carica papaya var. maradol*) serán implementados en una muestra de aceite comercial con la cual se logrará el retraso en el deterioro del aceite y por consiguiente aumentar la vida de anaquel, esperando un mejor desempeño de estos en comparación con los antioxidantes sintéticos.

### 3. ANTECEDENTES

#### 3.1 RESIDUOS SÓLIDOS ALIMENTARIOS

Ante el desafío de producir suficiente alimento para la creciente población humana y la imperiosa necesidad de conservar el medio ambiente y la biodiversidad, la producción agrícola debe inclinarse cada vez más, hacia sistemas de alimentación que no compitan directa o indirectamente con la alimentación humana. (Ahmad *et al*, 2011; FAO, 2019).

El sector Agrícola y la alimentación humana cotidiana generan una serie de residuos de potencial alto valor nutritivo (Kummu *et al*, 2012). Entre las variadas alternativas para el aprovechamiento de estos desechos, se encuentran su utilización como alimento animal o composta y generalmente representa una de las mejores opciones desde los puntos de vista económico y de eficiencia biológica. Estas no son las únicas alternativas de aprovechamiento, ya que estos residuos pueden ser aprovechados en la industria alimentaria al obtener, purificar y cuantificar extractos presentes que cuentan con propiedades específicas para fungir como aditivos alimentarios, entre otros usos (Thi *et al*, 2015). El aprovechamiento alternativo de estos residuos es importante ya que evita la contaminación del medio ambiente que se ocasiona al desechar los mismos en los cuerpos de agua y en el suelo (Ahmad *et al*, 2011; FAO, 2019).

Se define como residuo alimentario todo descarte procedente de lo destinado al consumo humano, generado tanto en producción, procesado, venta y consumo; ya sea comestible o no, y gestionado mediante valorización o vertedero (Singh *et al*, 2020a, 2020b, 2020c). Los residuos alimentarios se generan en cada fase de la cadena de producción y de suministro, así como en la fase de consumo (Gustavsson *et al*, 2011; Kummu *et al*, 2012).

Las industrias alimentarias se caracterizan porque gran parte de sus residuos son orgánicos no peligrosos, como restos de cereales, frutas, hojas, restos o partes de carne y pescado (Gastélum-Martínez *et al*, 2019) Ver Figura 1.



Figura 1. Residuos orgánicos alimentarios.

### 3.1.1 Producción de residuos en la cadena alimentaria

Los desechos de alimentos se producen en masa y se utilizan de manera inadecuada en todo el mundo. Aproximadamente una cuarta parte de los alimentos producidos (1.300 millones de toneladas) se desperdicia cada año en todo el mundo (Gustavsson *et al*, 2011; Kummu *et al*, 2012). Por ejemplo, China, India, Estados Unidos y Australia generan aproximadamente 195, 72, 61 y 2,3 millones de toneladas de este desperdicio de alimentos al año, respectivamente (Thi *et al*, 2015), ver Figura 2. El desperdicio de alimentos está aumentando rápidamente con una producción mundial proyectada de más de 2200 millones de toneladas para el año 2025 debido al aumento de la población y la expansión de la agricultura para satisfacer la demanda (O'Connor *et al*, 2021). Ver Figura 2.

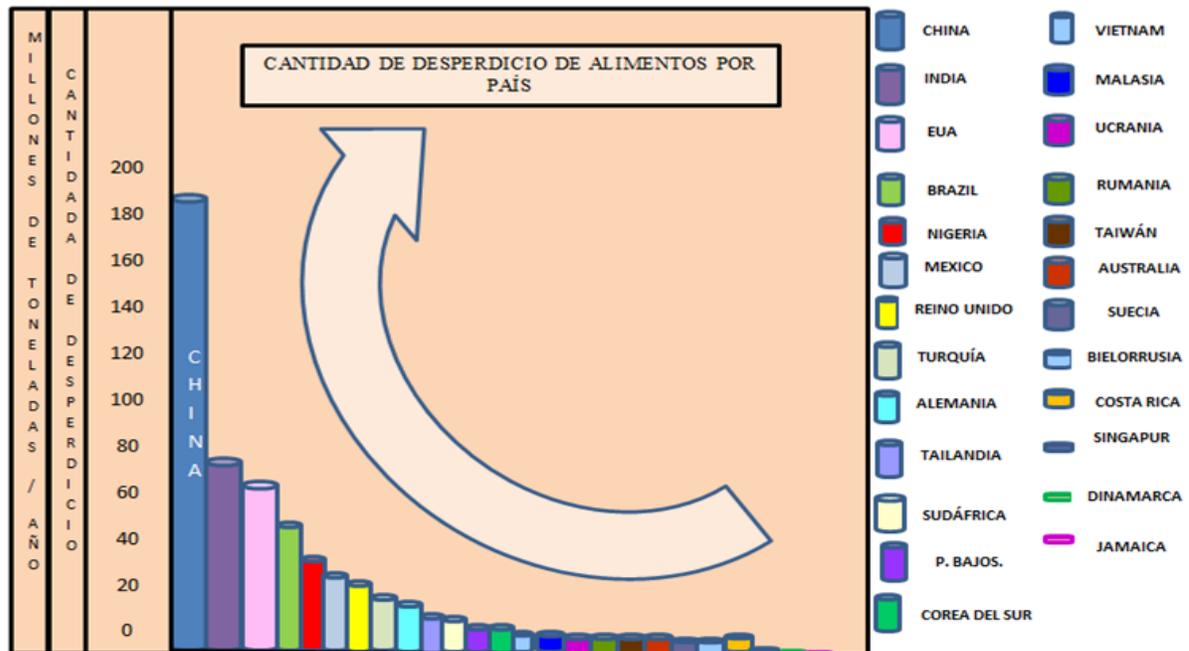


Figura 2. Cantidad de desperdicio de alimentos por país (O'Connor *et al*, 2021).

### **3.1.2 Valorización de residuos alimentarios**

Los desechos de alimentos comúnmente se eliminan en vertederos o se incineran, lo que genera muchos problemas ambientales, sociales y económicos (O'Connor *et al*, 2021). Grandes cantidades de desperdicio de alimentos se producen en la cadena de suministro de alimentos de la agricultura: producción, poscosecha, distribución (transporte), procesamiento y consumo. Los desechos de alimentos se pueden valorizar en una variedad de productos, incluidos biofertilizantes, bioplásticos, biocombustibles, productos químicos y nutracéuticos, entre otros (Thi *et al*, 2015).

### **3.1.3 Valorización de residuos de alimentos**

La producción de bebidas en la industria alimentaria genera grandes volúmenes de residuos, principalmente en forma de orujo (una mezcla de pulpa, piel, semillas y tallos), que muy a menudo contiene cantidades mucho más altas de compuestos bioactivos que el propio jugo de fruta. De hecho, se informa que las cáscaras de uvas, manzanas, cítricos y semillas de aguacate y mango tienen más de un 15 % de contenido de compuestos polifenólicos más que la pulpa (Asghar *et al*, 2016), mientras que el orujo de frutas obtenido a partir de manzana y bayas se ha propuesto como aditivo en la formulación de productos de panadería y lácteos para potenciar su contenido en antioxidantes naturales y fibras dietéticas (Maisarah *et al*, 2013). Además, algunos subproductos de frutas tropicales poseen actividades antioxidantes que retardan la peroxidación lipídica, (Tan *et al*, 2020). Durante el procesamiento industrial de alimentos de vegetales populares como la papa, el tomate y la zanahoria, se generan enormes cantidades de desechos. Por ejemplo, la fracción enriquecida con pectina obtenida de residuos de zanahoria muestra una alta capacidad antioxidante asociada con la presencia de  $\alpha$ - y  $\beta$ -carotenos, luteína y tocoferoles. La pectina es también uno de los principales productos obtenidos a partir de residuos de manzanas y cítricos y es muy apreciada por sus propiedades funcionales como espesante, gelificante y/o como estabilizador de alimentos (Asghar *et al*, 2016). Los polifenoles y carotenoides extraídos de los desechos de frutas y verduras se han utilizado como conservadores naturales de alimentos, ya que prolongan la vida útil del producto final y aumentan su capacidad antioxidante (Nayak *et al*, 2007). Se ha encontrado que un extracto acuoso de semillas de brócoli (*Brassica oleracea var. italica*) son útiles en la reducción exitosa de la contaminación fúngica de los cereales (Tan *et al*, 2020).

### 3.1.4 Valorización de residuos de papaya.

La papaya (*Carica papaya*) pertenece a la familia *Caricaceae*, nativa de México y el norte de Sudamérica, ahora está naturalizada en muchas partes del mundo, incluidas las regiones tropicales y subtropicales. La papaya es conocida por varios nombres en muchas partes del mundo y en diferentes idiomas más comúnmente conocida como papaw o papaya, es una planta arbórea semiherbácea que posee un tallo cilíndrico y hueco que pueden incluso alcanzar hasta diez metros de altura.

La producción mundial de papaya en 2017 fue de 13,02 millones de toneladas métricas, creciendo a una tasa promedio anual de 2,46% entre 2011 y 2017, siendo India y Brasil los países productores predominantes de este fruto. Ganando popularidad en todo el mundo, la papaya ocupó el tercer lugar de la producción total de frutas tropicales en 2017 (Ahmad *et al*, 2011; FAO, 2019). México es uno de los mayores exportadores de papaya, en 2019 se colocó como el tercer productor mundial de papaya, con una participación de 7.6 % y una tasa media anual de crecimiento de 5.2 % y para 2020 creció 3.2 % al totalizar un millón 118 mil toneladas y registra una creciente demanda en los mercados internacionales, resaltó la Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (FAO, 2020).

Con una cantidad tan grande de papaya producida y una tasa de eliminación estimada del 30% al 50%, se produce una gran cantidad de desechos agrícolas (Zhenlin *et al*, 2018).

La papaya se consume principalmente como fruta fresca y madura, aunque el fruto de menor tamaño y los subproductos de éste, se desperdician o no se aprovechan (Ahmad *et al*, 2011). Los polifenoles y flavonoides totales detectados en la cáscara y semillas de la papaya indica que los subproductos de este fruto son una buena fuente de compuestos antioxidantes naturales. Todos lo anterior avala la posible utilidad del fruto de la papaya y sus residuos en la industria alimentaria (Gastélum-Martínez *et al*, 2019). Ver Figura 3.



Figura 3. Semillas residuales de *Carica papaya*.

La papaya también es una fuente rica de la enzima digestiva papaína, que tiene aplicaciones en cosmética, industria cervecera, en ablandamiento de carnes y productos farmacéuticos (Sudhakar *et al*, 2014). El fruto crudo de la papaya tiene propiedades laxantes y junto con el fruto, las hojas también son útiles en la pirexia, diabetes, sífilis y en la cicatrización de heridas (Sudhakar *et al*, 2014). El extracto de hoja y fruto de papaya exhibe actividad antimicrobiana y antioxidante debido a la presencia de fenoles, vitaminas y enzimas (Addai *et al*, 2013; Maisarah *et al*, 2013; Zuhair *et al*, 2013).

Se ha informado que el extracto de fruta y hoja de papaya cura la fiebre del dengue y ayuda a aumentar el recuento de plaquetas en sangre (Ahmad *et al*, 2011; Dharmarathna *et al*, 2013). Las propiedades reparadoras reportadas de varias partes de *Carica papaya* incluyen efecto antihipertensivo, antibacteriano, diurético, antifertilidad, antifúngico y antitumoral (Vij & Pasha, 2015; Singh *et al*, 2020a, 2020b, 2020c). Las plantas de papaya también han mostrado un efecto beneficioso sobre la cicatrización de heridas, la inmunomodulación; condiciones hipolipidémicas e hipoglucémicas (Nayak *et al*, 2007; Juarez-Rojop *et al*, 2012; Pandey *et al*, 2016; Santana *et al*, 2019). Además algunos informes recientes han revelado el uso de *Carica papaya* en diferentes disciplinas, por ejemplo, inhibidor de corrosión (Tan *et al*, 2020), degradación de múltiples colorantes (Jain *et al*, 2020; Bhuiyan *et al*, 2020), mezclas de biodiésel/diésel (Devarajan *et al*, 2020; Minakshi *et al*, 2020) y fabricación de nanopartículas (Jain *et al*, 2020; Bhuiyan *et al*, 2020; Singh *et al*, 2020a, 2020b, 2020c).

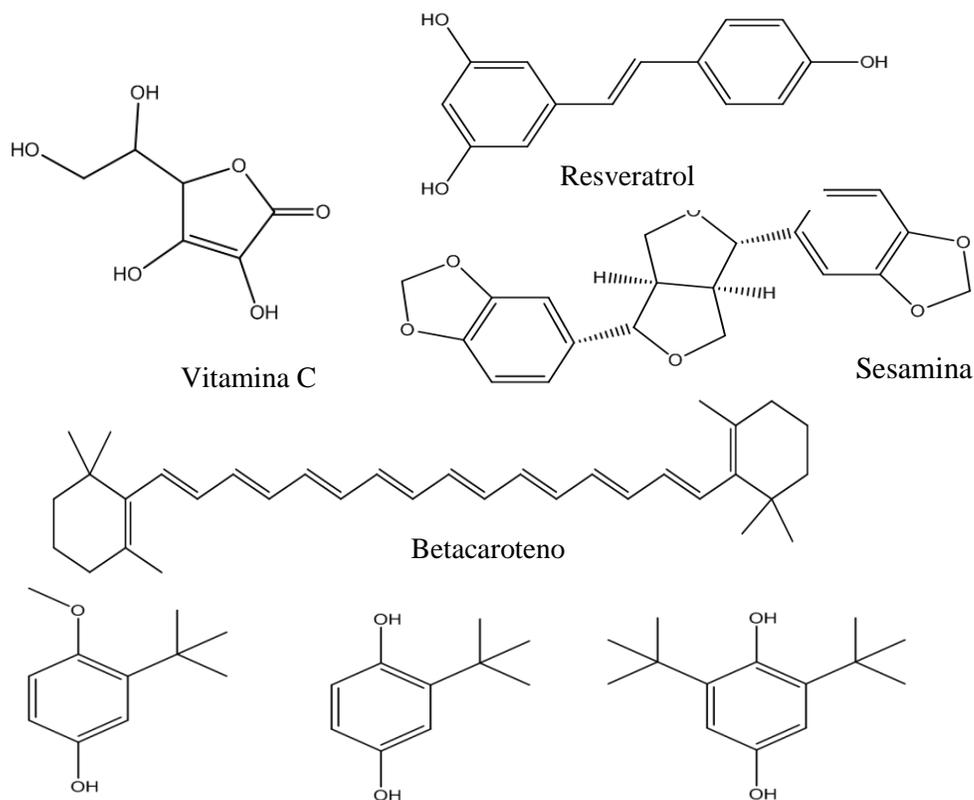
### **3.2 ANTIOXIDANTES**

Un antioxidante es un compuesto capaz de interactuar con otras moléculas con el fin de inhibir o retrasar el inicio de la oxidación al limitar la iniciación o la propagación de la cadena de reacciones de oxidación de moléculas vitales (Zuhair *et al*, 2013). Los antioxidantes abarcan diferentes clases de compuestos que pueden interferir con los ciclos oxidativos para inhibir o retardar el daño oxidativo de las biomoléculas (Orían & Escriche, 2015).

Los antioxidantes pueden utilizar varios mecanismos:

- Capturando especies iniciadores de la peroxidación.
- Quelando iones metálicos para que no puedan generar especies reactivas o descomponer peróxidos.
- Neutralizando el superóxido y evitando la formación de peróxidos.
- Rompiendo la cadena de reacción de auto-oxidación.
- Reduciendo las concentraciones localizadas de  $O_2$ .

Las principales clases de compuestos con actividad antioxidante son: la vitamina C, carotenoides (por ejemplo el betacaroteno) y polifenoles (por ejemplo lignanos como es el caso de la sesamina y estilbenos como el resveratrol), aunque los más utilizados a nivel comercial son los tocoferoles, como butilhidroxianisol (BHA), la terbutilhidroquinona (TBHQ) y el butilhidroxitolueno (BHT) aunque se han realizado investigaciones para encontrar nuevas fuentes de antioxidantes sobre todo de origen natural que sean seguras y económicamente viables (Zuhair *et al*, 2013). Ver Figura 4.



e. Butilhidroxianisol (BHA)

f. Terbutilhidroxiquinona (TBHQ)

g. Butilhidroxitolueno (BHT)

Figura 4. Algunos ejemplos de las principales clases de compuestos con actividad antioxidante.

El análisis GC-MS del extracto de semilla de *Carica papaya* mostró la presencia de ácidos grasos, amidas, nitrilos, esteroles, aldehídos grasos y ácidos orgánicos tales como: ácido cafeico, ácido vanílico, betacaroteno, ácido cumárico, kaempferol, ácido hidroxibenzoico, quercetina-3-O-glucopiranosido, ácido oleico, entre otros. Ver Figura 5. (Ashutosh *et al*, 2020).

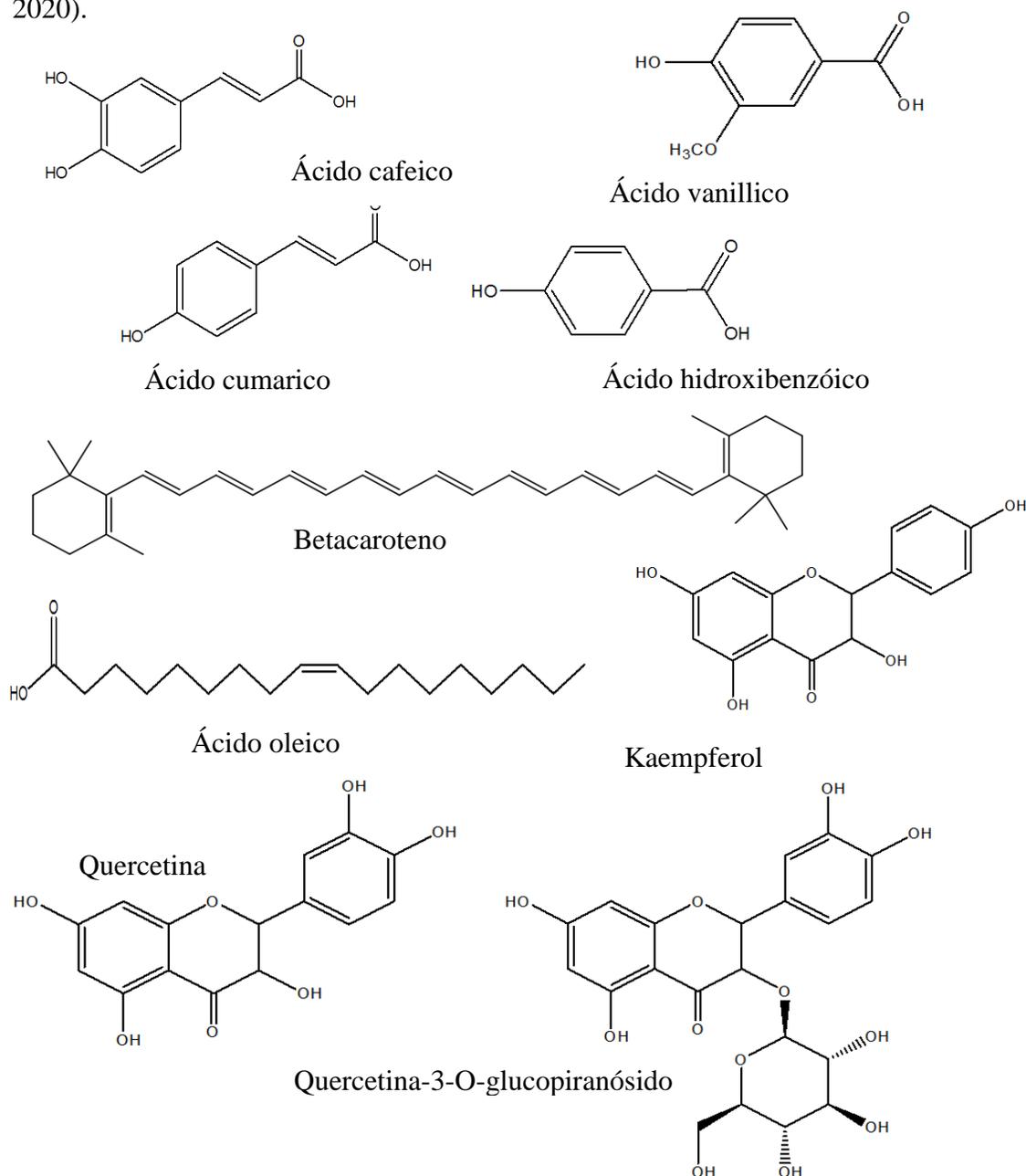


Figura 5. Principales compuestos antioxidantes presentes en la semilla de papaya.

### **3.3 TÉCNICAS DE EXTRACCIÓN DE ANTIOXIDANTES**

En las últimas décadas se han desarrollado muchos métodos para el aislamiento de antioxidantes; éstos involucran la extracción de los diferentes compuestos de la matriz alimentaria incluyendo el uso de disolventes orgánicos. El rendimiento de extracción de compuestos antioxidantes del material vegetal está influenciado principalmente por las condiciones bajo las cuales se lleva a cabo el proceso de extracción (Orian & Escriche, 2015).

#### **3.3.1 Extracción por soxhlet**

La extracción por soxhlet es una técnica convencional semicontinua utilizada para extraer aceite de semillas oleaginosas y frutos oleaginosos. Es un método de criterio para medir los niveles de lípidos en los alimentos y el principal método de referencia para evaluar las nuevas alternativas de extracción de aceite. El contenido de aceite de diferentes variedades comunes de semilla de papaya, extraído mediante extracción por soxhlet está en el rango de 25,3% a 0,7%, que era comparable a semillas de alto contenido oleaginoso. La extracción por soxhlet se ha utilizado para comparar la recuperación de aceite de semilla de papaya obtenido de técnicas alternativas como extracción con solvente asistida por ultrasonido (UAE), extracción con solvente, extracción con alta presión hidrostática (HHP), extracción con fluido subcrítico y extracción con fluido supercrítico (Han *et al*, 2018).

#### **3.3.2 Extracción con solvente o maceración (EM)**

La extracción por disolvente, también conocida como extracción por maceración, es una técnica simple para el aislamiento del aceite vegetal. El aceite se extrae mediante la difusión de un disolvente a través de la pared celular de la planta hacia las células que contienen aceite. La elección de los disolventes de extracción juega un aspecto importante en el rendimiento de aceite. Generalmente, son preferibles los disolventes con propiedades tales como bajo calor latente de vaporización, fácilmente recuperables y alta solubilidad en los lípidos unidos dentro de la matriz de la planta. La extracción de aceite de semilla de papaya usando diferentes polaridades de solventes (acetona, etanol y metanol) (Han *et al*, 2018).

### **3.3.3 Extracción con disolvente asistida por ultrasonido (EAU)**

En la industria de procesamiento de alimentos y más aun específicamente en la extracción de aceite vegetal se ha tenido una atención considerable hacia la utilización de dispositivos de ultrasonido ya que se trata de un método de extracción moderno que minimiza el tiempo de extracción. El ultrasonido son ondas acústicas con frecuencias superiores a 20 kHz, que está por encima del umbral del rango auditivo humano. En comparación con las técnicas clásicas (por ejemplo, soxhlet o extracción con solvente), EAU permite un tiempo de extracción más corto porque crea cavitación y superficie de contacto entre la matriz de la planta y el solvente de extracción, que puede romper la pared celular de la planta y la estructura de la emulsión del aceite, liberando así los compuestos intracelulares en los disolventes extractores. (Xuan *et al*, 2020; Donga & Chanda, 2020).

### **3.3.4 Extracción por fluido subcrítico y supercrítico**

Las tecnologías de fluidos subcríticos y supercríticos son ecológicas porque los solutos disueltos en los fluidos se pueden separar completamente mediante un sistema de despresurización. Los fluidos comunes (disolventes) que se utilizan en ambos sistemas son el dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), butano, pentano y agua. Cuando un fluido se fuerza a temperaturas y presiones por encima del punto crítico, se convierte en un fluido supercrítico. Es un estado en el que el gas y el líquido son indistinguibles entre sí y se vuelven compresibles. La extracción de fluidos subcríticos opera de la misma manera que la extracción de fluidos supercríticos, excepto que opera por debajo del punto crítico de los fluidos.

Se han extraído más de 300 especies de plantas utilizando un sistema de fluidos supercríticos durante las últimas décadas. La extracción de fluidos ha sido el área central de investigación desde el año 2000 (De Melo *et al*, 2014; Samaram *et al*, 2015) donde intentaron extraer aceite de semilla de papaya utilizando tecnología de fluidos supercríticos, pero encontraron que el rendimiento era bajo junto con una cantidad excesiva de impurezas detectadas en el aceite. Grandes cantidades de impurezas (por ejemplo, ácidos grasos libres, ceras y fosfolípidos) pueden afectar la calidad y el sabor del aceite comestible. A diferencia de la extracción con fluidos supercríticos, las impurezas del aceite vegetal obtenido mediante la extracción con fluidos subcríticos suelen ser menores (Tan *et al*, 2020).

### 3.3.5 Extracción acuosa asistida por enzimas

Una aplicación importante de las enzimas en el procesamiento de alimentos es mejorar el rendimiento de los productos a partir de las materias primas y hacerlos más susceptibles al tratamiento. La adición de enzimas a las semillas oleaginosas promueve la degradación de los componentes de la pared celular y la hidrólisis de los cuerpos lipídicos y los polisacáridos estructurales, mejorando así la recuperación de aceite. Esto se basa en la hipótesis de que el aceite de los materiales vegetales suele estar dentro de las células, unido a otras macromoléculas de modo que, tras la hidrólisis parcial, se puede mejorar la extracción de aceite (Yusoff *et al.*, 2014).

La extracción enzimática acuosa de aceite de semilla de papaya utiliza diferentes enzimas comerciales (proteasa, pectinasa, celulasa y alfa-amilasa) fue informado por (Puangsri *et al.*, 2005). Mezclaron el polvo de semillas con agua destilada en una proporción de 1:10 (p / v) y se hirvieron durante 5 min. Posteriormente, se añadió 2% de enzima y la mezcla se incubó a 45°C con agitación constante durante un día. Se añadió agua destilada hirviendo al día siguiente para terminar las actividades enzimáticas. A continuación, se recuperó el aceite mediante centrifugación. El mayor rendimiento de aceite se obtuvo cuando se utilizó proteasa, seguida posteriormente por pectinasa, alfa-amilasa y celulasa. Su estudio demuestra la especificidad de la enzima en la composición celular de la semilla de papaya.

La extracción enzimática acuosa es una técnica de extracción de aceite respetuosa con el medio ambiente. Sin embargo, la aplicación de esta técnica en la extracción de aceite todavía es limitada debido al largo tiempo de procesamiento y al alto costo de las enzimas. Además, se puede formar emulsificación en el aceite, lo que requiere el proceso de desemulsificación posterior a la extracción para mejorar el rendimiento de aceite (Yusoff *et al.*, 2014).

### 3.3.6 Extracción con disolvente asistida por microondas (EAM)

La extracción asistida por microondas es un proceso químico, dirigido a la separación (aislamiento) de sustancias químicas de la matriz. Los tipos más comunes son líquido-líquido y líquido-sólido y se realiza a través de la radiación electromagnética que interactúa con los dipolos de materias que son polares o que son polarizables como es el caso de los disolventes. Esto es posible ya que se provoca un calentamiento cerca de la superficie de los materiales y el calor es transferido por conducción obteniendo recuperaciones comparables o superiores a la extracción por soxhlet y una reducción sustancial de la cantidad de disolvente requerido (Dahmoune *et al*, 2015). Ver Figura 6.

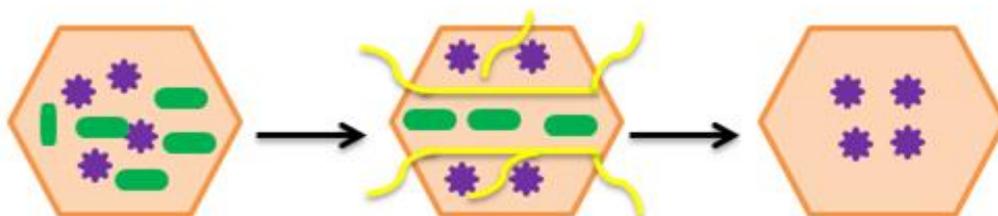


Figura 6. Extracción asistida por microondas (EAM).

### 3.3.7 Extracción por extrusión

La expulsión por extrusión es una técnica desarrollada por Nelson (Nelson *et al*, 1987) utilizado para recuperar mecánicamente aceite de soja. Esta es una extracción de dos pasos, donde inicialmente se realiza el proceso de extrusión, seguido del proceso de expulsión mecánica. Antes de la extracción mecánica, se produce calor a partir de la fricción entre las semillas oleaginosas dentro de la extrusora autógena seca. Esta tecnología de procesamiento ecológico no utiliza disolventes orgánicos y es de sostenibilidad económica. El análisis tecnoeconómico indica que la inversión de capital total y los costos operativos de esta tecnología son menores en comparación con otras extracciones mecánicas (Cheng & Rosentrater, 2019).

### **3.3.8 Extracción con solvente asistida por alta presión hidrostática (HHP).**

La presión hidrostática alta es una técnica baja o no térmica para procesar productos alimenticios. El rango de presión utilizado en HHP es de 100 a 1000 MPa, utilizado en el sistema de fluido supercrítico. El HHP crea grandes presiones diferenciales entre el exterior y el interior de las células vegetales, lo que provoca la desnaturalización de las proteínas y la destrucción de las membranas celulares (Dorado *et al*, 2017). Esta condición permite que el solvente penetre rápidamente a través de las membranas rotas hacia el interior de las células y, por lo tanto, se extraigan más componentes lipídicos de las células. El polvo de semilla de papaya se mezcló con hexano, se selló herméticamente en una bolsa de polietileno y se presurizó a 500 MPa durante 15 min. El rendimiento de aceite obtenido de la extracción con solventes asistida por HHP (40.5%) fue mayor que la extracción por soxhlet (32.1%) (Xuan *et al*, 2020).

## **3.4 MÉTODOS PARA LA DETERMINACIÓN DE ANTIOXIDANTES.**

Los oxidantes son compuestos con tendencia a donar oxígeno a otras sustancias. Muchas especies reactivas de oxígeno son radicales libres. Un radical libre es cualquier especie química que tiene uno o más electrones no apareados (Asghar *et al*, 2016).

### **3.4.1 Determinación de compuestos fenólicos totales**

El método espectrofotométrico desarrollado por Folin y Ciocalteu (Folin 1927), para la determinación de fenoles totales, se fundamenta en su carácter reductor y es el más empleado. Se utiliza como reactivo una mezcla de ácidos fosfowolfrámico y fosfomolibdúrico en medio básico, que se reducen al oxidar los compuestos fenólicos, originando óxidos azules de wolframio ( $W_8O_{23}$ ) y molibdeno ( $Mo_8O_{23}$ ). La absorbancia del color azul desarrollado se mide a 765 nm. Los resultados se expresan en mg de ácido gálico por 100 g de pulpa de frutos (Alioune *et al*, 2019).

### 3.4.2 Método DPPH (2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo)

Este método, desarrollado por Brand-Willams (Brand, *et al*, 1995). Se basa en la reducción de la absorbancia medida a 515 nm del radical DPPH•, por antioxidantes. Con modificaciones el método descrito por KIM (Kim *et al*, 2002), se basa en la medida de la absorbancia del radical DPPH• 100 Mm (3,9 ml) disuelto en metanol al 80%, a la longitud de onda de 517 nm. Se añade 0,1 ml de la muestra o patrón, la mezcla se homogeniza cuidadosamente, y se mantiene en la oscuridad durante 30 minutos. Las medidas de absorbancia a 517 nm se realizan antes de añadir la muestra ( $A_0$ ) y pasados los 30 y 60 minutos ( $A_f$ ). La concentración de DPPH• en el medio de reacción se calcula a partir de una curva de calibrado obtenida por regresión lineal. Los resultados se expresan en TEAC, o sea, actividad equivalente a Trolox ( $\mu\text{M/g}$  de muestra peso fresco). El antioxidante sintético de referencia Trolox, a una concentración de 0,08-1,28 mM en disolución de metanol al 80%, se ensaya en las mismas condiciones, expresándose los resultados en TEAC (actividad antioxidante equivalente a Trolox) y VCEAC (actividad antioxidante equivalente a vitamina C) (Nandini *et al*, 2020).

### 3.4.3 Método FRAP (Poder Antioxidante Reductor Férrico).

Fue aplicado el método sugerido por Benzie (Benzie & Strain, 1996). El reactivo FRAP se preparó con: amortiguador de acetato de 0.3 M, pH 3.6; solución 10 mM de Tris (2-pyridyl)-s-triazina (TPTZ) en HCl 40 mM; y  $\text{FeCl}_3$  20 mM, en proporción 10:1:1. Las disoluciones se mantuvieron cubiertas de la luz durante el desarrollo del ensayo. En viales de color ámbar de 3 ml, se vaciaron 30  $\mu\text{l}$  de disolución de muestra o calibración, 900  $\mu\text{l}$  de reactivo FRAP y 90  $\mu\text{l}$  de agua destilada. Los viales se incubaron en baño María a 37 °C durante 30 min. Muestras por triplicado de 200  $\mu\text{l}$  de cada frasco se vaciaron en microplacas de 96 pozos. Las absorbancias se determinaron a 593 nm en un lector multimodal de microplacas Synergy® HT (Biotek Instruments Inc., Vermont, EUA). La potencia reductora se expresa a partir de una curva estándar preparada con 0 a 5 M de  $\text{FeSO}_4$  y 7  $\text{H}_2\text{O}$ . La ecuación para la curva de calibración fue  $y = 0.0015x + 0.1347$ ,  $r^2 = 0.9961$ . Los resultados se expresaron como  $\text{EFe}^{2+}$   $\mu\text{mol}$  100 g ó 100 ml de muestra (Donga & Chanda, 2020).

#### **3.4.4 Método ABTS (2, 2'-Azinobis-3-etil- benzo-tiazolina-6-ácido sulfónico).**

Según la metodología desarrollada y descrita por Kuskoski (Kuskoski *et al*, 2004) el radical ABTS<sup>•+</sup> se obtiene tras la reacción de ABTS (7 mM) con persulfato potásico (2,45 mM, concentración final) incubados a temperatura ambiente ( $\pm 25^{\circ}\text{C}$ ) y en la oscuridad durante 16 h. Una vez formado el radical ABTS<sup>•+</sup> se diluye con etanol hasta obtener un valor de absorbancia comprendido entre 0,70 ( $\pm 0,1$ ) a 754 nm (longitud de onda de máxima absorción). Las muestras filtradas (antocianos) se diluyen con etanol hasta que se produce una inhibición del 20 al 80%, en comparación con la absorbancia del blanco, tras añadir 20  $\mu\text{l}$  de la muestra. A 980  $\mu\text{l}$  de dilución del radical ABTS<sup>•+</sup> así generado se le determina la  $A_{754}$  a  $30^{\circ}\text{C}$ , se añade 20  $\mu\text{l}$  de la muestra (dilución de antocianos) y se mide de nuevo la  $A_{754}$  pasado 1 minuto. La absorbancia se mide de forma continua transcurridos 7 minutos. El antioxidante sintético de referencia, Trolox, se ensaya a una concentración de 0-15  $\mu\text{M}$  (concentración final) en etanol, en las mismas condiciones, lo que se hace también con ácido ascórbico (0-20 mg/100 ml). Los resultados se expresan en TEAC (actividad antioxidante equivalente a Trolox) y en VCEAC (actividad antioxidante equivalente a vitamina C), en este último caso por tratarse de alimentos (Donga & Chanda, 2020).

### **3.5 ESTABILIDAD OXIDATIVA DE COMPUESTOS LIPÍDICOS**

Los lípidos pueden presentarse en forma sólida (grasas) o en forma líquida (aceites). Los aceites están compuestos por triacilgliceroles (TAGs) que determinan sus características fisicoquímicas (Orían & Escriche, 2015). Estas características específicas pueden sufrir modificaciones a causa del deterioro, el cual puede presentarse durante el procesamiento o almacenamiento del aceite, producto de la oxidación lipídica, la cual propicia la generación de subproductos indeseables como olores, sabores y colores anormales presentes en el aceite así como la formación de compuestos posiblemente tóxicos y la disminución de la utilidad del producto; luego entonces la estabilidad oxidativa del aceite es el tiempo requerido para iniciar el deterioro oxidativo (Flores *et al*, 2021).

Las alteraciones o cambios químicos que sufren los lípidos pueden ser seguidas por una amplia variedad de métodos, que van desde los básicos asociados con valoraciones químicas simples, hasta los más complejos asociados con equipos de laboratorio sofisticados. Estas determinaciones implican la cuantificación química y/o física de los

lípidos para determinar una condición inicial sobre los componentes mayoritarios y minoritarios. Además de las tecnologías que permiten el monitoreo durante procesos más complejos como el deterioro térmico (Orian & Escriche, 2015).

Entre las valoraciones simples más utilizadas para el monitoreo del deterioro oxidativo de un aceite, se encuentran la determinación del índice de acidez, índice de yodo e índice de peróxidos. (Asghar *et al*, 2016).

### **3.5.1 Índice de Acidez**

El índice de acidez de un aceite es un concepto relacionado con el proceso de oxidación lipídica, que representa una medida del grado de descomposición del aceite por acción de las lipasas u otras causas. Este proceso es acelerado por la luz y el calor (Flores *et al*, 2021).

El índice de acidez de un aceite o grasa se define como el número de miligramos de hidróxido de potasio (KOH) necesarios para neutralizar la acidez libre por gramo de muestra. Este valor del grado de acidez se expresa con referencia al porcentaje de ácido oleico. En algunos casos, puede referirse a ácido palmítico, ácido láurico u otros (Orian & Escriche, 2015).

La concentración de ácidos grasos libres aumenta con la edad de la semilla o bien con el periodo de almacenamiento del aceite. En concordancia con la norma mexicana NMX-F-109-SCFI-2014, se tiene indicado que los aceites de oliva extra vírgenes no deberán presentar acidez libre mayor a 0.8 g por 100 g de aceite expresada como ácido oleico.

### **3.5.2 Índice de yodo**

El índice de yodo es uno de los métodos más antiguos y tradicionales para determinar la insaturación (dobles enlaces) de un aceite. El índice de yodo se puede determinar disolviendo una muestra de aceite en un disolvente no polar como el ciclohexano, el cual reacciona con el ácido acético glacial en una reacción del tipo redox (Asghar *et al*, 2016). Esta reacción se lleva a cabo en condiciones de oscuridad para evitar reacciones laterales de radicales inducidos por la luz que podría afectar el resultado y se expresa de manera convencional por el peso de yodo absorbido por cien partes en peso de grasa (Orian & Escriche, 2015).

Para determinar este índice, el lípido debe reaccionar con solución de monoclورو de yodo, en una mezcla de ácido acético y tetracloruro de carbono, En el que se libera el exceso de yodo y posteriormente este se titula con tiosulfato de sodio (Flores *et al*, 2021).

Los aceites comestibles, en general, tienen una gran cantidad de ácidos grasos insaturados, por lo que sus niveles de yodo serán mayores a mayor insaturación. Existe una relación directa entre el grado de insaturación y la oxidación lipídica esto es, a mayor índice de yodo mayor nivel de insaturación (Orian & Escriche, 2015). El índice de yodo se ha utilizado como método de referencia para el desarrollo de nuevos métodos para el estudio de la degradación térmica de los aceites comestibles, donde el índice de yodo se verá disminuido conforme se vaya deteriorando el aceite (Asghar *et al*, 2016).

En concordancia con la NMX-F-109-SCFI-2014, se deberá analizar que el aceite de oliva extra virgen tenga un valor de índice de yodo en el rango de 75-94 g I<sub>2</sub>/100g de aceite.

### **3.5.3 Índice de peróxidos**

El índice de peróxidos es un método ampliamente utilizado en la determinación de la oxidación de lípidos, aunque se limita únicamente a las etapas iniciales del proceso de auto-oxidación y calentamiento donde se generan productos primarios como peróxidos e hidroperóxidos y productos secundarios como aldehídos, cetonas, alcoholes y polímeros que poseen acción citotóxica (Zuhair *et al*, 2013). La presencia de estos componentes puede evaluarse por medio de métodos que se basan en la capacidad de liberar yodo a partir de yoduro como el índice de peróxidos, el cual se expresa como miliequivalentes de peróxido por kg de aceite (Flores *et al*, 2021).

El resultado implica una relación directa entre menor índice de peróxidos mayor será la calidad del aceite en cuestión (Flores *et al*, 2021). De acuerdo con la norma mexicana NMX-F-109-SCFI-2014 se indica que un aceite de oliva extra virgen debe presentar un valor igual o menor a 20 miliequivalentes de oxígeno activo por kilogramo de aceite.

#### 4. METODOLOGIA:

Obtención de antioxidantes a partir de semillas de papaya mexicana *Carica papaya* (Figura 7).

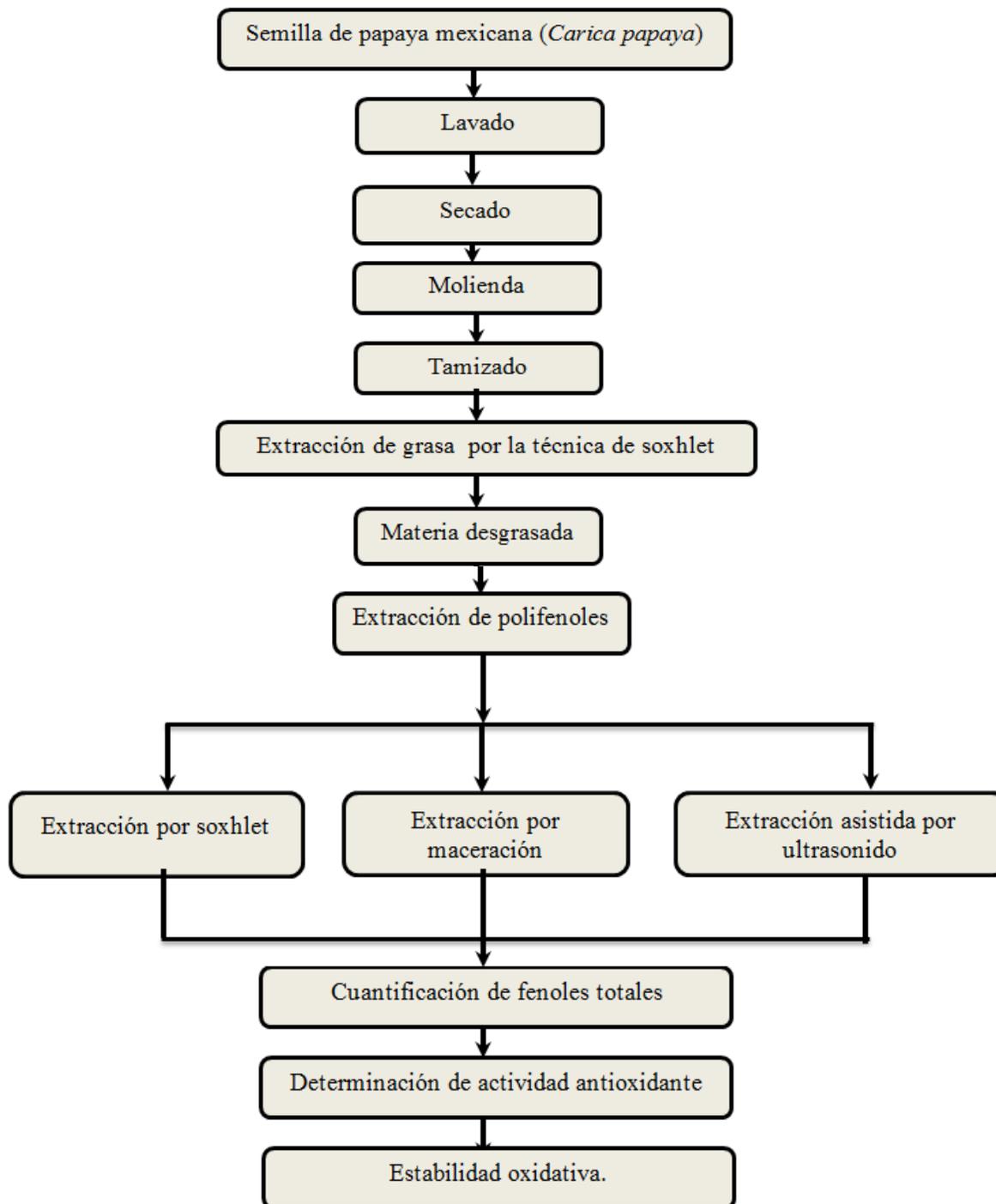


Figura 7. Diagrama de bloques para la obtención de antioxidantes a partir de semillas de papaya mexicana *Carica papaya*.

#### **4.1 Equipos**

La determinación y cuantificación de antioxidantes presentes en la semilla de papaya mexicana requirió la utilización de diversos equipos que incluyen desde equipos de uso general como es el caso de la balanza analítica marca Sientech modelo SAT 20, la licuadora marca Oster® modelo 6640-13, la parrilla eléctrica y el vernier marca Pretul, así como también el uso de equipos más específicos y sofisticados como lo son la termobalanza marca Ohaus modelo MB35, el lector de microplacas con dispensadores automáticos marca Bio Tek modelo Synergy 2, el sonicador ultrasonic cleaner marca sper scientific modelo 100 004 y frecuencia 42KHz 60 W, el rota vapor marca Buchi modelo R124 , la incubadora marca ECOSHEL modelo 9165 y espectrofotómetro de RMN con átomo de Hidrogeno. Estos equipos permiten realizar la correcta obtención de los extractos naturales presentes en las semillas de *Carica papaya* así como su cuantificación.

#### **4.2 Reactivos**

En el caso de los reactivos empleados se tiene el uso de disolventes como el hexano que permite la extracción de la materia grasa; el uso de agua destilada, acetona, etanol, metanol con los cuales se logra la obtención de los extractos naturales a partir de las semillas. Posteriormente fue necesario emplear de manera adicional reactivos de uso comercial como lo son: el reactivo de Folin-Ciocalteu, Acido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxilico (TROLOX), TPTZ (2,4,6 Tripiridil-s triazina); necesarios para la cuantificación de fenoles totales (Folin-Ciocalteu) y la determinación de la actividad antioxidante (FRAP).

Por otro lado también se llevó a cabo el análisis de estabilidad oxidativa de un aceite de oliva comercial empleando para dicha prueba el uso de ácidos, bases e indicadores visuales y de pH, incluyendo también el uso del reactivo de Wijs; todos estos con la finalidad de monitorear los cambios en la estabilidad oxidativa del aceite.

#### **4.3 Materia vegetal:**

Se partió de 2 kg de semilla de papaya mexicana madura (*Carica papaya var. maradol*) procedente del Estado de Chiapas, obtenida de la central de abastos ubicada en Ecatepec de Morelos, Estado de México.

#### 4.3.1 Limpieza y secado.

Se obtuvo la semilla residual de *Carica papaya var. maradol* la cual fue extraída del fruto fresco y lavada al chorro de agua del grifo (Donga & Chanda, 2020). Posteriormente las semillas se lavaron con agua destilada y se dejaron secar 3 días a temperatura ambiente, después fueron secadas 48 horas en una estufa a 42°C (Insanu *et al*, 2022). Ver Figuras 8, 9 y 10.



Figura 8. Papaya mexicana madura (*Carica papaya var. maradol*).



Figura 9. Lavado de semillas.



Figura 10. Secado de semillas al aire libre.

#### 4.3.2 Determinación de las características físicas de las semillas.

Se tomaron 30 semillas enteras al azar, posteriormente con un vernier de la marca Petrul con resolución de 0.05 cm, se procedió a medir el grosor, largo, ancho y masa. Posteriormente se obtuvieron los promedios y desviaciones estándar correspondientes a dichas medidas. Ver Figuras 11, 12, 13 y 14.



Figura 11. Secado de semillas en estufa.



Figura 12. Medición de una semilla.



Figura 13. Mediciones de 30 semillas.



Figura 14. Masa de una semilla.

#### 4.3.3 Determinación de la calidad de las semillas.

Se basó en las normas de la AOAC, “Official Methods of Analysis”, USA, 1980.

-Pruebas sensoriales: Presencia de hongos o infestación, Presencia de polvillo blanco y Olor.

-Impurezas: En 1kg de semilla homogeneizada se determinó la presencia de impurezas (piedras, paja, tallos, hierbas, hojas, maleza, vidrios, excreta de roedor, pelo de roedor).

-Sanidad: En 1kg de semilla homogeneizada se identificó la presencia de insectos (fase de huevecillo, larva, pupa, infestación, gorgojos vivos y muertos).

-Determinación de humedad: Se determinó la humedad presente en 1 g de muestra limpia y seca (semilla en polvo fino) en una termobalanza de la marca OHAUS, modelo MB35, se realizaron las determinaciones por triplicado a 95°C. Ver Figura 15.



Figura 15. Determinación de humedad.

-Determinación de densidad de la semilla por índice de flotación: Se escogieron 100 semillas al azar (por duplicado), se estimó el volumen ocupado por las semillas y se añadió 4 veces dicho volumen en agua destilada a temperatura ambiente (25 °C aprox.), se dejaron pasar exactamente 15 min, se cuentan el número de semillas flotando, para ambos casos se tuvo un índice de flotación (IF) de 100, por lo que se realizó una tercera prueba, dando el mismo resultado se obtuvo como  $IF = 100$ , por lo que las semillas son consideradas como muy suaves y de no tener un almacenamiento adecuado estas podrían adquirir humedad del medioambiente fácilmente. Ver Figura 16.

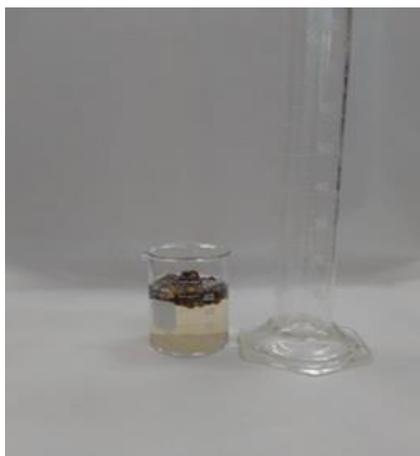


Figura 16. Determinación de índice de flotación.

#### 4.3.4 Molienda.

Se toman 2 kg de semilla de *Carica papaya* limpia y seca y se sometió a molienda en licuadora (Oster®, modelo 6640-13) hasta obtener un polvo fino (Agada *et al*, 2021). Ver Figura 17.



Figura 17. Molienda de semillas.

#### 4.3.5 Tamizado y homogeneizado.

El polvo fino se tamizó 3 veces empleando malla # 20 hasta obtener un tamaño de partícula de 800 micras o bien 0.8 mm. (Han *et al*, 2018). Ver Figura 18.



Figura 18. Tamizado de semillas molidas.

#### 4.3.6 Extracción de grasa o desgrasado por método de soxhlet

Se pesó una muestra de 30g de semilla de papaya seca, limpia, molida y tamizada y se introdujo en un cartucho, el cual se colocó en el extractor soxhlet con 300 ml de hexano (para desgrasar la muestra) por un tiempo de 6 h. (Han *et al*, 2018). El extracto hexánico se evaporó a presión reducida en un evaporador rotatorio marca Buchi Modelo R124 (Han *et al*, 2018). Ver Figura 19.



Figura 19. Extracción de grasa por método soxhlet.

#### 4.3.7 Extracción secuencial de polifenoles por el método de soxhlet:

Se realizó la extracción secuencial empleando 3 diferentes disolventes de distinta polaridad (acetona, etanol y metanol) para lo cual, una vez desgrasada la muestra, se pesaron 30g de esta y se introdujeron en un cartucho que se colocó en el extractor soxhlet con 300 ml de disolvente por un tiempo de 6 h. (Asghar *et al*, 2016). Lo anterior se realizó por triplicado, sometiendo el extracto de hexano a evaporación a presión reducida, empleando un evaporador rotatorio marca Buchi modelo R124 (Han *et al*, 2018). Ver Figura 20.



Figura 20. Evaporación

#### 4.3.8 Extracción secuencial de polifenoles por el método de maceración:

Se realizó una extracción secuencial empleando 3 diferentes disolventes de distinta polaridad (acetona, etanol y metanol) para lo cual una vez desgrasada la muestra se pesaron 30g de esta y se colocaron en un matraz de bola y se adicionó el disolvente en proporción 1:10 y se dejó reposar durante 24 horas, realizando el cambio de disolvente cada 24 horas, 3 veces consecutivas (Xuan *et al*, 2020). Lo anterior se realizó por triplicado, sometiendo el extracto de hexano a evaporación a presión reducida, empleando un evaporador rotatorio marca Buchi Modelo R124 (Han *et al*, 2018). Ver Figuras 21, 22 y 23.



Figura 21. Materia desgrasada.



Figura 22. Extracción por maceración.

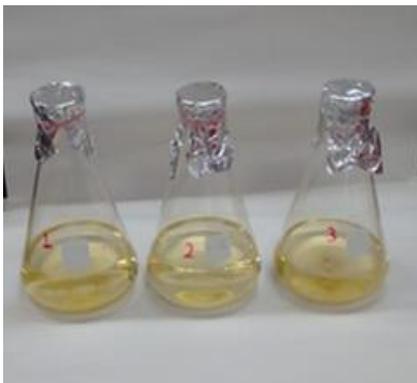


Figura 23. Recuperación de sobrenadante.

#### 4.3.9 Extracción asistida por ultrasonido (EAU)

Se colocó en un matraz Erlenmeyer de 125 ml 10 g de muestra seca, desgrasada y se adicionó acetona en proporción 1:5 y se sometió al equipo de ultrasonido Ultrasonic cleaner marca Sper scientific modelo 100 004, empleando: frecuencia 42KHz, 60W, 27°C. Se realizaron determinaciones a 5 tiempos diferentes para evaluar el tiempo óptimo de extracción, tales tiempos fueron: 0 min., 30 min., 45 min., 60 min. y 75 min. Concluido el tiempo de extracción se filtraron los extractos a vacío y posteriormente se sometió el extracto a evaporación a presión reducida, empleando un evaporador rotatorio marca Buchi Modelo R124 y se evaluó el rendimiento obtenido. (Donga & Chanda, 2020). Lo anterior se realizó por triplicado. Ver Figura 24.



Figura 24. Extracción con disolvente asistida por ultrasonido.

#### **4.3.10 Cuantificación de fenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu.**

La determinación colorimétrica para la cuantificación de compuestos fenólicos totales se efectuó para cada extracto mediante el método de Folin-Ciocalteu (Alioune *et al*, 2019) con ligeras modificaciones, empleando un lector de microplacas con dispensadores automáticos marca Bio Tek modelo Synerg 2. Ver Figura 25.

Se prepararon las muestras pesando 0.1 g de cada extracto y disolviendo con 5 ml de metanol al 80%, posteriormente se aforó 25 ml empleando metanol acuoso al 80%. Esto debido a que el extracto, por su viscosidad, no puede ser evaluado directamente sin previo acondicionamiento.

Posteriormente se trazó la curva patrón que corresponde al ácido gálico, empleando para esto 12.5 mg de ácido gálico disueltos en 1 ml de etanol y aforados a 25 ml con agua destilada; a partir de esta solución se realizó la curva tomando alícuotas de 20  $\mu$ l, 40  $\mu$ l, 60  $\mu$ l, 80  $\mu$ l, 100  $\mu$ l, 120  $\mu$ l, 140  $\mu$ l y 160  $\mu$ l y llevándolas a un vol. final de 1000  $\mu$ l con agua destilada en tubos de Eppendorf y se homogenizó con un agitador vórtex por 1 minuto.

Posteriormente, una vez que se tuvieron las diluciones de ácido gálico y habiendo acondicionado la muestra de polifenoles, se llevó a cabo el llenado de la microplaca mediante el uso de micropipetas automáticas, adicionando en diferentes pozos de la microplaca 25  $\mu$ l de la solución de ácido gálico o bien del extracto acondicionado, 125  $\mu$ l de agua destilada, 20  $\mu$ l de reactivo de Folin-Ciocalteu al 10%, 30  $\mu$ l de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  al 20%. Por otro lado también se llenó un pozo identificado como “el blanco” que contiene 150  $\mu$ l de agua destilada, 20  $\mu$ l de reactivo de Folin-Ciocalteu al 10%, 30  $\mu$ l de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  al 20%. La microplaca con las mezclas correspondientes permaneció en reposo durante 30 minutos hasta observar un tono azul para luego llevarla al equipo lector de microplacas programando la lectura a 760 nm, equipo donde se obtienen los resultados correspondientes. La prueba se realizó por cuadruplicado. Ver Figuras 25 y 26.

\*El Contenido de fenoles totales fue calculado mediante un modelo de regresión lineal y los valores se reportaron como miligramos de equivalentes de ácido gálico por gramo de extracto (mg de EAG/g de extracto).



Figura 25. Lector de micro placas con dispensadores automáticos.



Figura 26. Cuantificación de fenoles totales.

#### 4.3.11 Determinación de la actividad antioxidante por el método de FRAP.

La determinación colorimétrica para determinar la capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos, se efectuó para cada extracto mediante el método de FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) (Donga & Chanda, 2020), con ligeras modificaciones, empleando un lector de micro placas con dispensadores automáticos masca Bio Tek modelo Synerg 2.

El reactivo de FRAP no se utiliza directamente, es preciso realizar una disolución, la cual se preparó en un frasco ámbar mezclando: 10 ml de Buffer de Acetatos (concentración 300 mM, Ph=3.6), 1 ml de disolución de TPTZ al 10 mM (se pesan 31.233 mg de 2,4,6Tripiridil-s Triazina, PM= 312.33g/mol y se afora a 10 ml. con HCl 40 Mm.) y 1 ml de Solución de  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (concentración 20 mM). Esta disolución FRAP se agita manualmente y se deja reposar unos minutos.

Mientras tanto, se realiza la preparación de la muestra (extracto poli fenólico) pesando 0.1 g y disolviendo con 5 ml. de metanol al 80% y posteriormente aforándolo a 25 ml. igualmente con metanol al 80%. Esto debido a que por su viscosidad no puede ser evaluado directamente sin previo acondicionamiento.

Posteriormente se obtuvo la curva patrón que corresponde al TROLOX (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid, PM= 250.9 g/Mol), empleando para esto 12.5 mg de Trolox aforado a 50 ml. con Metanol al 80%; a partir de esta solución se realizó la curva tomando alícuotas de 50  $\mu$ l, 100  $\mu$ l, 150  $\mu$ l, 200  $\mu$ l, 300  $\mu$ l, 400  $\mu$ l, 500  $\mu$ l y 600  $\mu$ l y llevándolas a un vol. final de 1000  $\mu$ l con Metanol al 80% en tubos de Eppendorf y agitar con agitador vórtex por 1 minuto.

Posteriormente una vez que se tuvieron las diluciones de para obtener la curva de Trolox y habiendo acondicionado la muestra de polifenoles, se llevó a cabo el llenado de la microplaca mediante el uso de micropipetas automáticas, adicionando en diferentes pozos de la microplaca 20  $\mu$ l de la disolución de Trolox o bien del extracto acondicionado, 180  $\mu$ l de la disolución FRAP preparada, 60  $\mu$ l de agua destilada. Por otro lado también se llenó un pozo identificado como “el blanco” que contiene únicamente 260  $\mu$ l de disolución FRAP preparada. La microplaca con las mezclas correspondientes permaneció en reposo durante 10 minutos hasta observar un tono azul para luego llevarla al equipo lector de microplacas programando la lectura a 595 nm, equipo donde se obtuvieron los resultados correspondientes. La prueba se realizó por cuadruplicado. Ver Figura 27.

\*La actividad antioxidante fue calculada mediante un modelo de regresión lineal y los valores se reportaron como micromol de Equivalentes de TROLOX por gramo de extracto ( $\mu$ mol de ET/g de extracto).

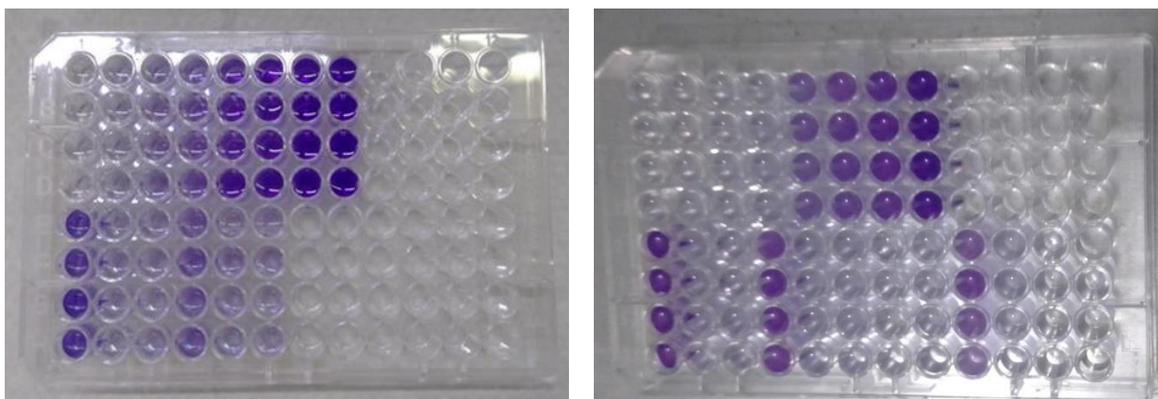


Figura 27. Microplacas método FRAP.

#### 4.3.12 Estabilidad oxidativa.

Después de comparar los resultados obtenidos en la determinación de fenoles totales y de haber determinado la actividad antioxidante de los extractos de la semilla de *Carica papaya*, se seleccionó el extracto de mayor actividad antioxidante (FRAP) para probar su efectividad en una muestra de aceite de oliva comercial, a una concentración menor que la que se indica en la norma mexicana NMX-F-223-SCFI-2011 que establece como máximo 200 ppm de antioxidante sintético BHT y posteriormente comparar la estabilidad oxidativa de una muestra con antioxidante natural (extracto de semilla de papaya), una muestra de aceite con BHT (antioxidante sintético) contra una muestra control (aceite sin antioxidante).

Para probar dicha efectividad se tomó una muestra de aceite de oliva extra virgen de la marca Olí con lote: 01522. Esta muestra se dividió a su vez en tres lotes de 100 g cada uno. El primer lote se conforma de 5 frascos que solo contenían el aceite y se emplearon como control. El segundo lote se compone de 5 frascos que contenían aceite y BHT que es un antioxidante sintético. El tercer lote se componía de 5 frascos de aceite con el antioxidante natural extraído de las semillas de *Carica papaya*. Los 5 frascos de cada lote se marcaron con números del 0-4 ya que se estarían monitoreando un frasco cada 7 días durante 4 semanas.

En los últimos 2 casos se añadieron 15.8 mg de BHT o del extracto natural, disueltos en 5 ml de metanol, para obtener una concentración de 150 ppm. Una vez terminados los 3 lotes, se incubaron a 55°C por 4 horas (Flores *et al*, 2021) en una incubadora marca ECOSHEL, modelo 9165. Concluido el tiempo, los lotes se agitaron constantemente al vacío por 90 minutos hasta lograr la mayor cantidad de evaporación posible de disolvente y se reposaron durante 24 horas.

Posteriormente cada lote fue distribuido en 5 viales con 20g de aceite comercial extra virgen, y se sometieron a 55°C por 4 semanas (28 días) realizando un monitoreo cada 7 días por medio de los métodos de prueba descritos en las normas mexicanas y con algunas modificaciones según (Flores *et al*, 2021): índice de acidez (NMX-F-101-SCFI-2012), índice de yodo (NMX-F-152-SCFI-2011) e índice de peróxidos (NMX-F-154-SCFI-2010). Las pruebas se realizaron por triplicado para cada lote de aceite. Ver Figura 28.



Figura 28. Determinación de estabilidad oxidativa.

#### 4.3.12.1 Índice de acidez

En un matraz Erlenmeyer de 125 ml se pesó 1.0 g de muestra de aceite y posteriormente se adicionaron 25 ml de etanol al 95% y 2 gotas de indicador visual Fenolftaleína. La mezcla se calentó a 50 °C y luego se tituló con una solución normalizada de KOH 0.0098 N y agitación vigorosa hasta observar el cambio de tonalidad a rosa pálido estable por 30 segundos. La evaluación se realizó por triplicado y empleando un blanco como referencia. Se registró en cada caso el volumen gastado de KOH (solución normalizada 0.0098N) para determinar el índice de acidez de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$\text{Porcentaje de Acidez} = \frac{(V1 - V2)(N) \left(0.282 \frac{g}{mEq}\right) (100)}{g \text{ de aceite}} = \left[ \frac{g \text{ de ácido oleico}}{100 g \text{ aceite}} \right]$$

Donde V1 y V2 representa al volumen gastado de KOH (solución normalizada) empleada para la muestra y el blanco, respectivamente, N corresponde a la normalidad de la solución normalizada de KOH y 0.282 es el miliequivalente químico del ácido oleico. Los valores resultantes se expresan como porcentaje de ácidos grasos libres (tomando al ácido oleico como referencia) por cada cien gramos de aceite o muestra.

#### 4.3.12.2 Índice de yodo

En un matraz Erlenmeyer de 125 ml se pesaron 0.1 g de aceite de olivo extra virgen y se le agregaron 5 ml. de diclorometano para disolver el aceite y para posteriormente agregarle 5 ml. de reactivo de wijs, luego entonces se cubrió y se dejó reaccionar por 30 minutos en oscuridad y con agitación. Posteriormente, se retiró de la oscuridad y se adicionaron 4ml de solución de yoduro de potasio al 15% y 50 ml de agua destilada (previamente hervida y a temperatura ambiente). Esta mezcla se tituló con solución normalizada de tiosulfato de sodio ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) 0.0968 N y con agitación constante hasta observar una tonalidad amarillo pálido; en ese momento se agregó como indicador visual 1 ml de solución de almidón al 1% lo cual provocó la aparición de una tonalidad azul, luego entonces se continuó la titulación hasta observar el cambio de tonalidad donde el color azul desapareció. La evaluación se realizó por triplicado y empleando un blanco como referencia. Se registró el volumen gastado de la solución de tiosulfato de sodio. El valor del índice de yodo se estima mediante la siguiente ecuación.

$$\text{Índice de yodo} = \frac{(V1 - V2)(N)(126.9 \frac{g}{mol})}{g \text{ de muestra}} \times 100 = \left[ \frac{g \text{ de I}_2}{100 g \text{ de aceite}} \right]$$

Donde V1 y V2 representa al volumen gastado de tiosulfato de sodio (solución normalizada) empleada para la muestra y el blanco respectivamente, N corresponde a la normalidad de la solución normalizada de tiosulfato de sodio y 126.9 representa el peso molecular del yodo. Los valores obtenidos se expresan como gramos de yodo absorbido por cada cien gramos de aceite o muestra.

#### 4.3.12.3 Índice de peróxidos.

Se pesaron 2 g de aceite en un matraz Erlenmeyer de 125 ml y se disolvieron en 25 ml de una mezcla de ácido acético y diclorometano (3:2) con agitación magnética y se adicionaron 0.5 ml de solución saturada de yoduro de potasio. Posteriormente la mezcla se cubrió y se dejó reposar por un minuto en total oscuridad; concluido el tiempo se agregaron 30 ml. de agua destilada (previamente hervida y a temperatura ambiente) y se tituló con la solución normalizada de tiosulfato de sodio ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) 0.0968 N hasta obtener una tonalidad amarillo pálido. Una vez realizado esto se adiciono como indicador visual 1 ml de almidón al 1% con lo cual se obtuvo una tonalidad azul, luego entonces se continua con la titulación hasta observar la desaparición total de la coloración azul. La evaluación se realizó por triplicado y empleando un blanco como referencia. Se registró el volumen gastado de la solución de tiosulfato de sodio. El valor del índice de peróxidos se estima mediante la siguiente ecuación.

$$\text{Índice de peroxidos} = \frac{(V1 - V2)(N)(1000)}{g \text{ de muestra}} = \left[ \frac{mEq \text{ de peróxidos}}{Kg \text{ de aceite}} \right]$$

Donde V1 y V2 representa al volumen gastado de tiosulfato de sodio (solución normalizada) empleada para la muestra y el blanco respectivamente, N corresponde a la normalidad de la solución normalizada de tiosulfato de sodio. Los valores obtenidos se expresan como miliequivalentes de peróxidos por kilogramo de muestra o aceite.

## 5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Todas las mediciones se realizaron por triplicado, se calculó la media, la desviación estándar y realiza un análisis de varianza (ANOVA) con un valor de significancia de 0.05 y una posterior comparación de medidas por medio de la prueba de Tukey para todos los casos. (Excel 2013).

## 6. RESULTADOS Y ANÁLISIS

### 6.1 Determinación de las características físicas de las semillas (Ver Figura 29).

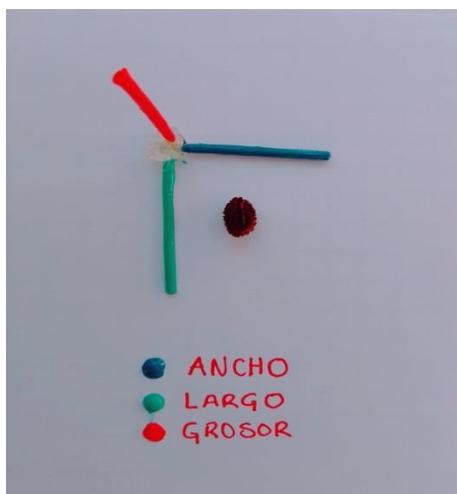


Figura 29. Dimensiones de una semilla de *Carica papaya*.

Las semillas de papaya, una vez limpias y secas, presentaron una forma redonda de coloración marrón oscuro (Figura 29). Las dimensiones y masa promedio obtenidas a partir de una muestra de 30 semillas se presentan en la Tabla 1.

Tabla 1. Resultados generales de la determinación de dimensiones de semillas de papaya.

Resultados generales de las medidas de semilla de papaya				
Dimensión:	Largo (mm)	Ancho (mm)	Grosor (mm)	Masa (g)
Valor:	$6.21 \pm 0.13$	$4.25 \pm 0.18$	$3.87 \pm 0.15$	$0.0207 \pm 0.0005$

*N=30; Promedio  $\pm$  desviación estándar. Análisis estadístico por técnica de medición. Diferencia significativa ( $p < 0.05$ ).*

### 6.2 Determinación de la calidad de las semillas

#### 6.2.1 Pruebas sensoriales.

Presencia de hongos o infestación: ausente

Presencia de polvillo blanco: ausente

Olor: característico.

### 6.2.2 Impurezas y sanidad.

En la Tabla 2. se presentan los resultados de las impurezas encontradas en las semillas de papaya, su estado sanitario se muestra en la Tabla 3.

Tabla 2. Resultados generales de la determinación de impurezas en semillas de *Carica papaya*.

Piedras:	ausente	Hierbas:	ausente	Vidrios:	ausente
Paja:	ausente	Hojas:	ausente	Excreta de roedor:	ausente
Tallos:	ausente	Maleza:	ausente	Pelos de roedor:	ausente

El análisis en la calidad de las semillas refleja que se encontraban integras al momento de realizar el estudio al no encontrar insectos ni materia física ajena a la semilla que pudiera estar presente.

Tabla 3. Sanidad por presencia de insectos.

Fase de huevecillo	ausente	Pupa	ausente	Gorgojos vivos	ausente
Larva	ausente	Infestación	ausente	Gorgojos muertos	ausente

### 6.2.3 Determinación de humedad.

La estimación del porcentaje de humedad relativa revela un promedio de  $6.40 \pm 0.28$  (Ver Tabla 4.), valor cercano al porcentaje de humedad reportado, el cual fue de 7% (Xuan *et al*, 2020).

Tabla 4. Determinación del porcentaje de humedad en semillas de *Carica papaya*

Semillas seca de <i>Carica papaya</i>			
peso de la muestra seca (g)	1.012 <sup>b</sup>	% humedad	6.72 <sup>a</sup>
peso de la muestra seca (g)	1.014 <sup>a</sup>	% humedad	6.33 <sup>b</sup>
peso de la muestra seca (g)	1.010 <sup>c</sup>	% humedad	6.16 <sup>c</sup>
promedio:	1.012 $\pm$ 0.002	promedio:	6.40 $\pm$ 0.28

*N*=3; Promedio  $\pm$  desviación estándar. Análisis estadístico por técnica. Superíndices <sup>(a-c)</sup> significan diferencia significativa ( $p < 0.05$ ), indicando <sup>a</sup> (mayor contenido) a <sup>c</sup> (menor contenido).

#### 6.2.4 Determinación de densidad de la semilla por índice de flotación.

Los resultados mostrados en la Tabla 5 indican que la densidad de las semillas es adecuada al encontrar un índice de flotación de 100% de las semillas, esto basado en la norma AOAC, “Official Methods of Analysis”, USA, 1980; NOM-147-SSA1-1996 donde se menciona que un grano o semilla sano flotará al momento de realizar la prueba.

Tabla 5. Determinación del índice de flotación en semillas de *Carica papaya*

Semillas seca de <i>Carica papaya</i>			
No. de replica	volumen de las semillas	volumen de agua	Semillas que flotan (%)
1	10 ml	40 ml	100 <sup>a</sup>
2	10 ml	40ml.	100 <sup>a</sup>
3	10 ml	40ml.	100 <sup>a</sup>
promedio:			100 ± 0.000

N=3; Promedio ± desviación estándar. Análisis estadístico por técnica. Superíndice <sup>(a)</sup> repetido significa que no hay diferencia significativa ( $p < 0.05$ ), indicando <sup>a</sup> (mayor índice); no presenta variabilidad.

#### 6.3 Extracción de grasa o desgrasado por el método de soxhlet

Los resultados obtenidos reflejan que se obtuvo un porcentaje de grasa del 23.24 % (ver Tabla 6.) un valor similar según lo descrito en la literatura, las semillas contienen un alto porcentaje de lípidos, entre 25-30% en peso seco (Han *et al*, 2018).

Tabla 6. Extracción de grasa por método de soxhlet en semillas de *Carica papaya*.

Extracción de aceite por soxhlet de muestra seca de semillas de <i>Carica papaya</i>							
No. De replica	Muestra (g)	Cartucho / muestra (g)	Hexano (ml)	Matraz de bola. (g)	Matraz con aceite (g)	Peso del aceite (g)	Rendimiento (%)
1	30.01	34.31	300 ml	287.93	247.19	7.18	23.93 <sup>c</sup>
2	30.05	33.03	300 ml	320.18	224.66	6.89	22.97 <sup>b</sup>
3	30.03	34.58	300 ml	235.46	242.31	6.85	22.83 <sup>a</sup>
Promedio:							23.24 ± 0.49%

N=3; Promedio ± desviación estándar. Análisis estadístico por técnica de extracción. Superíndices <sup>(a-c)</sup> significan diferencia significativa ( $p < 0.05$ ), indicando <sup>a</sup> (mayor rendimiento) a <sup>c</sup> (menor rendimiento).

### 6.3.1 Espectroscopia de resonancia magnética nuclear de protones ( $^1\text{H}$ NMR).

La espectroscopia es el estudio de la interacción entre la radiación electromagnética y la materia, con absorción o emisión de energía radiante a ciertas longitudes de onda, en relación con los niveles de energía implicados en una transición cuántica. En el caso específico de la espectroscopia de resonancia magnética nuclear de protones ( $^1\text{H}$ NMR) se detectan las señales de los átomos de hidrogeno presentes y esto hace posible la identificación de los compuestos presentes en una muestra. Ver Figura 30.

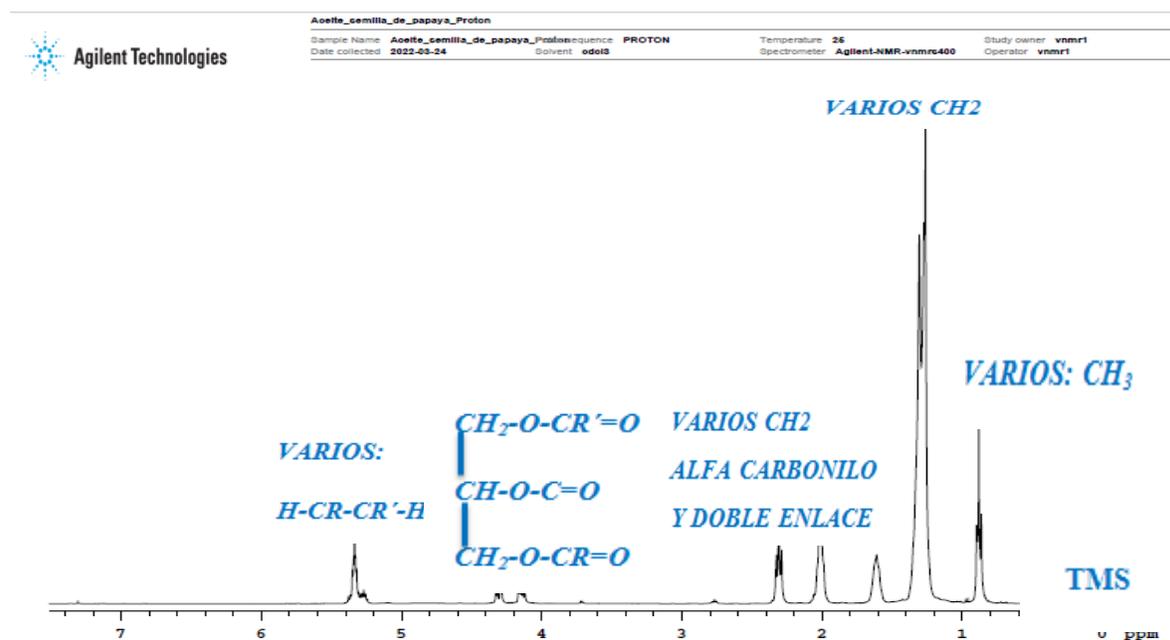


Figura 30. Espectro de resonancia magnética nuclear de protones ( $^1\text{H}$ NMR) de una muestra de grasa de *Carica papaya*.

En la Figura 30 se puede observar la presencia de compuestos con dobles enlaces, presuntamente ácidos grasos, que podría ser en su mayoría (con una concentración promedio de 57,45 mg/ml) el ácido oleico (C18:1) (Dorado *et al*, 2017).

La presencia del ácido oleico concuerda con lo reportado en la literatura donde se expresa: La estructura del compuesto aislado (grasa de semillas de *Carica papaya*) muestra la presencia de ácidos grasos, predominantemente ácido oleico, luego de examinarlo mediante espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR), resonancia magnética nuclear de protones ( $^1\text{H}$ NMR) y resonancia magnética nuclear de carbono-13 ( $^{13}\text{C}$ NMR). (Ashutosh *et al*, 2020).

## 6.4 Extracción de polifenoles

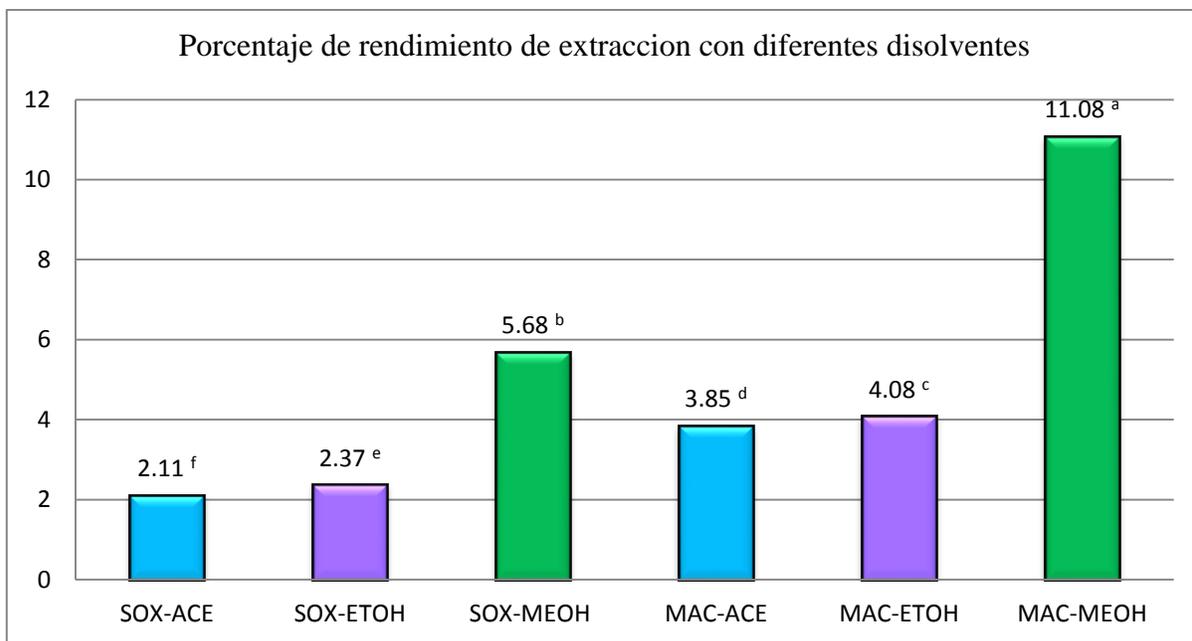
La extracción reportada en la literatura se realizó utilizando dos métodos tradicionales, a saber: extracción por decocción (ED) y extracción por maceración (EM) y dos métodos modernos a saber: extracción asistida por microondas (EAM) y extracción asistida por ultrasonido (EAU). Sin embargo y como puede observarse en la Tabla 7 y Gráfica 1, en el presente estudio solo fue realizada por 3 diferentes técnicas que consta de 2 técnicas tradicionales o también llamadas convencionales como lo son extracción por soxhlet (ES) y extracción por maceración (EM) y un método ecológico no convencional o moderno llamado extracción asistida por ultrasonido (EAU) (Donga & Chanda, 2020; Alioune *et al*, 2019).

Tabla 7. Comparación del porcentaje de rendimiento promedio de la extracción de polifenoles en semillas de papaya (*Carica papaya*, var. *maradol*) con diferentes disolventes.

Métodos:	soxhlet	maceración
disolvente	Porcentaje de rendimiento promedio:	
acetona	2.11± 0.003% <sup>f</sup>	3.85±0.004% <sup>d</sup>
etanol	2.37± 0.005% <sup>e</sup>	4.08±0.003% <sup>c</sup>
metanol	5.68± 0.002% <sup>b</sup>	11.08±0.004% <sup>a</sup>

*N=3; Promedio ± desviación estándar. Análisis estadístico por cada técnica de extracción y por cada disolvente. Superíndices<sup>(a-f)</sup> significan diferencia significativa (p<0.05), indicando<sup>a</sup> (mayor rendimiento) a<sup>f</sup>(menor rendimiento).*

Las técnicas tradicionales y modernas afectaron a las semillas de manera diferente. Según lo reportado en la literatura el orden de efectividad en el rendimiento obtenido es: *Carica papaya* sin madurar - EAM > EAU > EM > ED; *Carica papaya* maduro - EAM > EAU > ED > EM (Donga & Chanda, 2020); sin embargo, en el presente estudio y de acuerdo a los resultados que se observan en el Gráfica 1. “Comparación del porcentaje de rendimiento obtenido con diferentes disolventes” se observa que la técnica tradicional más efectiva es la técnica de extracción por maceración y el disolvente más efectivo es el metanol ya que aportaron el mayor rendimiento al momento de la extracción (Asghar *et al*, 2016).



Gráfica 1. Comparación del porcentaje de rendimiento obtenido con diferentes disolventes.

Análisis estadístico realizado por columna. Los superíndices <sup>a,b,c,d,e,f</sup> corresponden a los índices promedio, donde <sup>f</sup> es el menor índice y <sup>a</sup> el mayor índice promedio. Si el superíndice se repite significa que no existe diferencia significativa.

Cuando se comparó el rendimiento extractivo teórico de semillas de *Carica papaya* respecto al valor experimental obtenido, se observó que el valor reportado en la literatura se encuentra en el rango de 15.7% a 31.5% respecto al valor experimental máximo obtenido que es del 11.08%. Esta diferencia se debe a factores diversos, entre ellos que el análisis literario es realizado por separado, es decir semillas de *Carica papaya* inmadura y por separado semillas de *Carica papaya* madura mientras tanto el presente trabajo toma en cuenta ambas semillas como parte de la misma muestra (Donga & Chanda, 2020).

#### 6.4.1 Extracción de polifenoles asistida por diferentes métodos

Como puede notarse el método de extracción que tiene mayor porcentaje de rendimiento para la obtención de polifenoles (utilizando un mismo disolvente para poder realizar correctamente la comparación de los métodos) es el método de extracción por maceración (aunque esto debe confirmarse mediante un ensayo de cuantificación de fenoles totales).

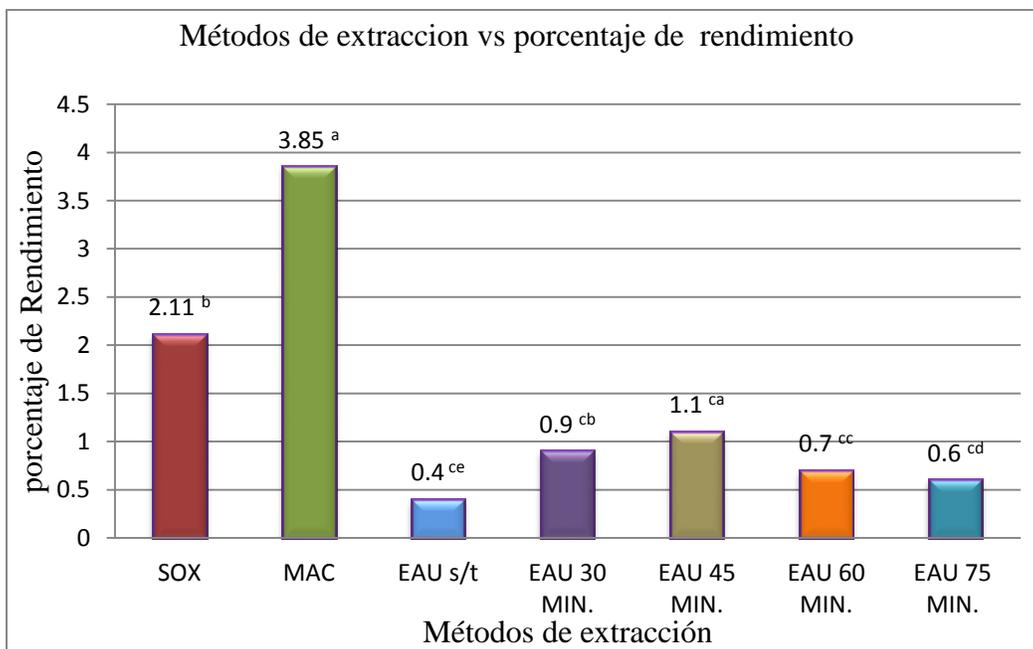
Ver Tabla 8 y Gráfica 2. El valor del rendimiento obtenido es cercano al reportado en la literatura según (Asghar *et al*, 2016).

Tabla 8. Comparación del porcentaje de rendimiento promedio de muestra obtenida para la cuantificación de polifenoles entre los tres métodos de extracción en semillas de *Carica papaya* utilizando acetona.

Métodos	Acetona
soxhlet	2.11+0.003% <sup>b</sup>
maceración	3.85+0.004% <sup>a</sup>
EAU sin tratamiento	0.4+0.002% <sup>cc</sup>
EAU 30 min	0.9+0.005% <sup>cb</sup>
EAU 45 min	1.1+0.003% <sup>ca</sup>
EAU 60 min	0.7+0.001% <sup>cc</sup>
EAU 75 min	0.6+0.005% <sup>cd</sup>

*N=3; Promedio ± desviación estándar. Análisis estadístico por cada técnica de extracción y por disolvente. Superíndices<sup>(a-c)</sup> significan diferencia significativa (p<0.05), indicando<sup>a</sup> (mayor rendimiento) a<sup>c</sup> (menor rendimiento).*

Por otro lado, respecto al método ecológico o moderno EAU puede observarse que el mayor rendimiento teórico reportado en la literatura fue el obtenido a los 3 minutos en un rango de entre 17-27% de rendimiento según se tratara de semillas de *Carica papaya* inmadura o madura. Sin embargo, aquí se analizó una sola muestra homogénea que contiene ambos tipos de semillas y el resultado obtenido es variado y difiere un poco del esperado, observando un valor de 1.1% para un tiempo óptimo de 45 min. (Donga & Chanda, 2020).



Gráfica 2. Comparación del porcentaje de rendimiento obtenido con diferentes métodos de extracción.

Análisis estadístico realizado por columna. Los superíndices <sup>a,b,c</sup> corresponden a los índices promedio, donde <sup>c</sup> es el menor índice y <sup>a</sup> el mayor índice promedio. Si el superíndice se repite significa que no existe diferencia significativa.

### 6.5 Cuantificación de fenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu

Se ha observado que los compuestos polifenólicos se encuentran en la cascara, pulpa y semilla de papaya (*Carica papaya*), los cuales presentan actividad antioxidante (Xuan *et al*, 2020).

La cuantificación de compuestos fenólicos totales se determinó en cada extracto empleando el método colorimétrico de Folin-Ciocalteu (Alioune *et al*, 2019). Los resultados se presentan en la Tabla 9.

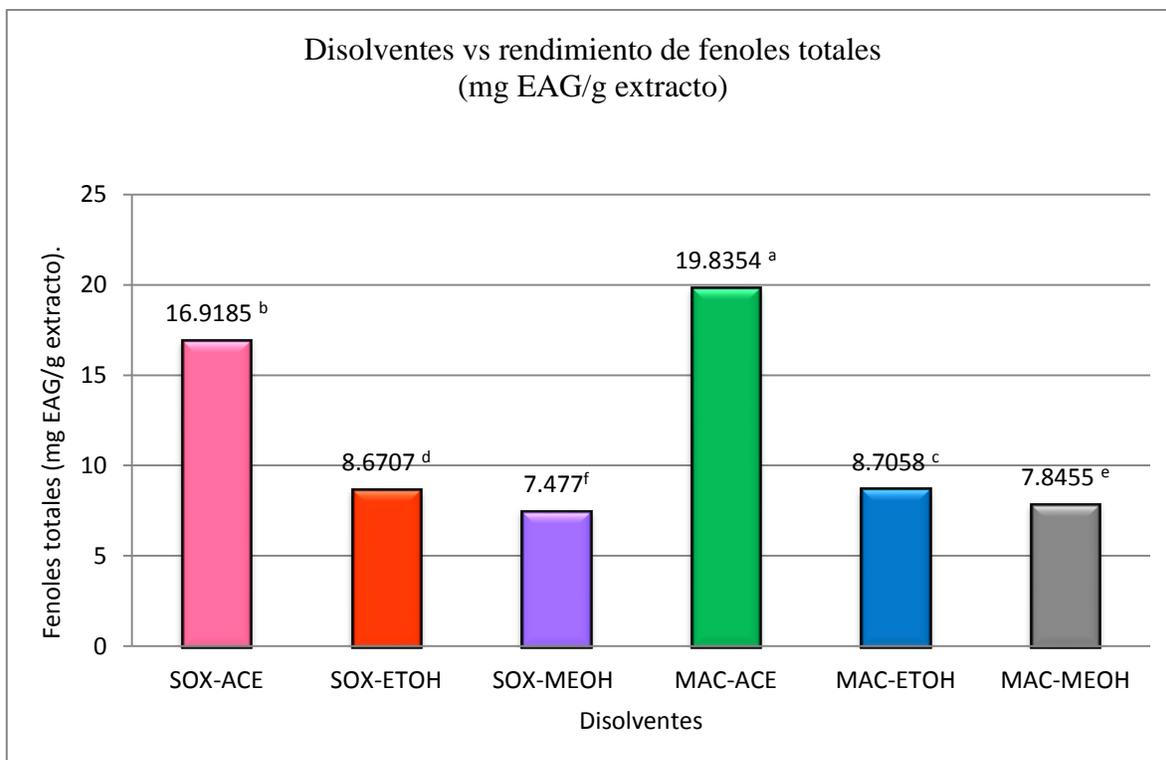
Tabla 9. Resultados de la cuantificación de fenoles totales empleando extracción con soxhlet y maceración con diferentes disolventes.

Técnica de extracción	Fenoles totales (mg EAG/g de extracto)
soxhlet/ acetona	16.9185 ± 0.0578 <sup>b</sup>
soxhlet/ etanol	8.6707 ± 0.0534 <sup>d</sup>
soxhlet /metanol	7.4770 ± 0.0734 <sup>f</sup>
maceración /acetona	19.8354 ± 0.0682 <sup>a</sup>
maceración /etanol	8.7058 ± 0.0341 <sup>c</sup> (43.79±1.20)*
maceración/ metanol	7.8455 ± 0.0732 <sup>e</sup> (41.72±0.54)*

*N=3; Promedio ± desviación estándar. análisis estadístico por cada técnica de extracción y por disolvente. Superíndices <sup>(a-f)</sup> significan diferencia significativa ( $p < 0.05$ ), indicando <sup>a</sup> (mayor cuantificación) a <sup>f</sup> (menor cuantificación). \* Valores de referencia obtenidos de (Asghar et al 2019).*

Como puede observarse en la Tabla 9 y Gráfica 3, el método de extracción que presentó el valor más alto en la obtención de polifenoles fue el de extracción por maceración empleando acetona como disolvente (19.8354 ± 0.0682 mg EAG/g de extracto). De acuerdo con lo esperado (Alioune *et al*, 2019), el método de maceración empleando metanol debería contener mayor cantidad de polifenoles, sin embargo, el ensayo de Folin-Ciocalteu confirma que el mejor rendimiento se obtiene con acetona. Este rendimiento es similar con lo reportado en la literatura (Alioune *et al*, 2019). En la Tabla 9 y Gráfica 3 también se puede observar que el segundo valor más alto en la cuantificación de fenoles totales corresponde a la extracción por soxhlet empleando acetona como disolvente, lo cual indica que este disolvente es el más efectivo para extraer los compuestos polifenólicos de las semillas de papaya mexicana (*Carica papaya var. maradol*).

Es importante hacer notar que la semilla de papaya mexicana (*Carica papaya var. maradol*) presenta valores de fenoles totales mucho menores a los encontrados en la semilla de papaya cultivada en Pakistán, la cual presenta un valor de 43.79±1.20 mg EAG/g para el extracto etanólico y un valor de 41.72±0.54 mg EAG/g para el extracto metanólico (ver Tabla 9).



Gráfica 3. Comparación de rendimiento de fenoles totales obtenidos con diferentes disolventes expresado en mg EAG/g de extracto.

Análisis estadístico realizado por columna. Los superíndices <sup>a,b,c,d,f</sup> corresponden a los índices promedio, donde <sup>f</sup> es el menor índice y <sup>a</sup> el mayor índice promedio. Si el superíndice se repite significa que no existe diferencia significativa.

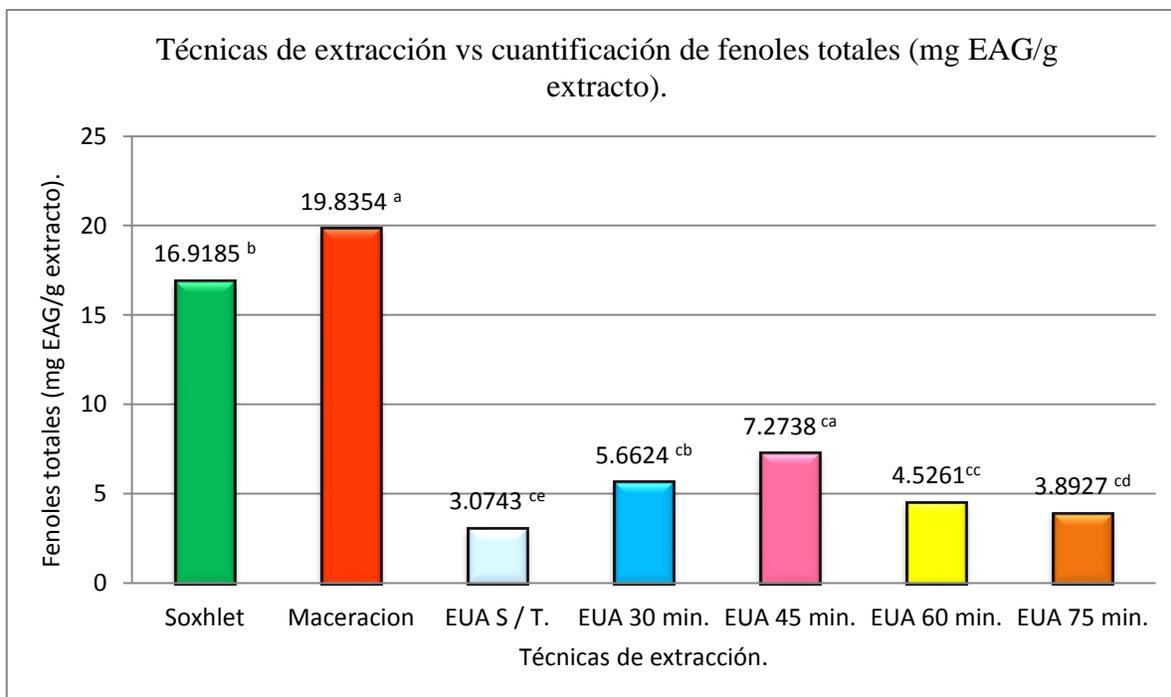
Respecto a la cuantificación de fenoles totales (TPC) en la semilla de papaya mexicana madura (*Carica papaya*) empleando diferentes técnicas de extracción y empleando acetona como único disolvente se puede observar (ver Tabla 10) que el método de maceración es el más efectivo, seguido del método de extracción con soxleht con valores de  $19.8354 \pm 0.0682$  y  $16.9185 \pm 0.0578$  mg EAG/g de extracto respectivamente (ver Gráfica 4).

Tabla 10. Resultados de la cuantificación de fenoles totales obtenidos por diferentes técnicas de extracción empleando acetona.

Técnica de extracción (acetona)	Fenoles totales (mg EAG/g de extracto)
soxhlet	16.9185 ± 0.0578 <sup>b</sup>
maceración	19.8354 ± 0.0682 <sup>a</sup>
EAU sin tratamiento	3.0743 ± 0.0438 <sup>cc</sup>
EAU 30 min	5.6624 ± 0.0373 <sup>cb</sup>
EAU 45 min	7.2738 ± 0.0246 <sup>ca</sup>
EAU 60 min	4.5261 ± 0.0194 <sup>cc</sup>
EAU 75 min	3.8927 ± 0.0262 <sup>cd</sup>

*N=3; Promedio ± desviación estándar. Análisis estadístico por cada técnica de extracción. Superíndices<sup>(a-c)</sup> significan diferencia significativa ( $p < 0.05$ ), indicando<sup>a</sup> (mayor cuantificación) a<sup>c</sup> (menor cuantificación).*

En la Tabla 10 y Gráfica 4 también se presentan los resultados obtenidos de la extracción por maceración asistida por ultrasonido (EAU), los cuales no presentan diferencia significativa entre ellos y la maceración no asistida. Con respecto a los valores obtenidos de cuantificación de fenoles totales, se puede observar que a los 45 minutos de extracción hay mayor cantidad de fenoles totales (7.2738 ± 0.0246 mg EAG/g de extracto) por lo que no es recomendable extraer la muestra a tiempos que superen los 45 minutos.



Gráfica 4. Comparación de fenoles totales obtenidos con diferentes técnicas de extracción expresada en mg EAG/g de extracto.

Análisis estadístico realizado por columna. Los superíndices <sup>a,b,c</sup>, corresponden a los índices promedio, donde <sup>c</sup> es el menor índice y <sup>a</sup> el mayor índice promedio. Si el superíndice se repite significa que no existe diferencia significativa.

## 6.6 Determinación de la capacidad antioxidante por el método de FRAP

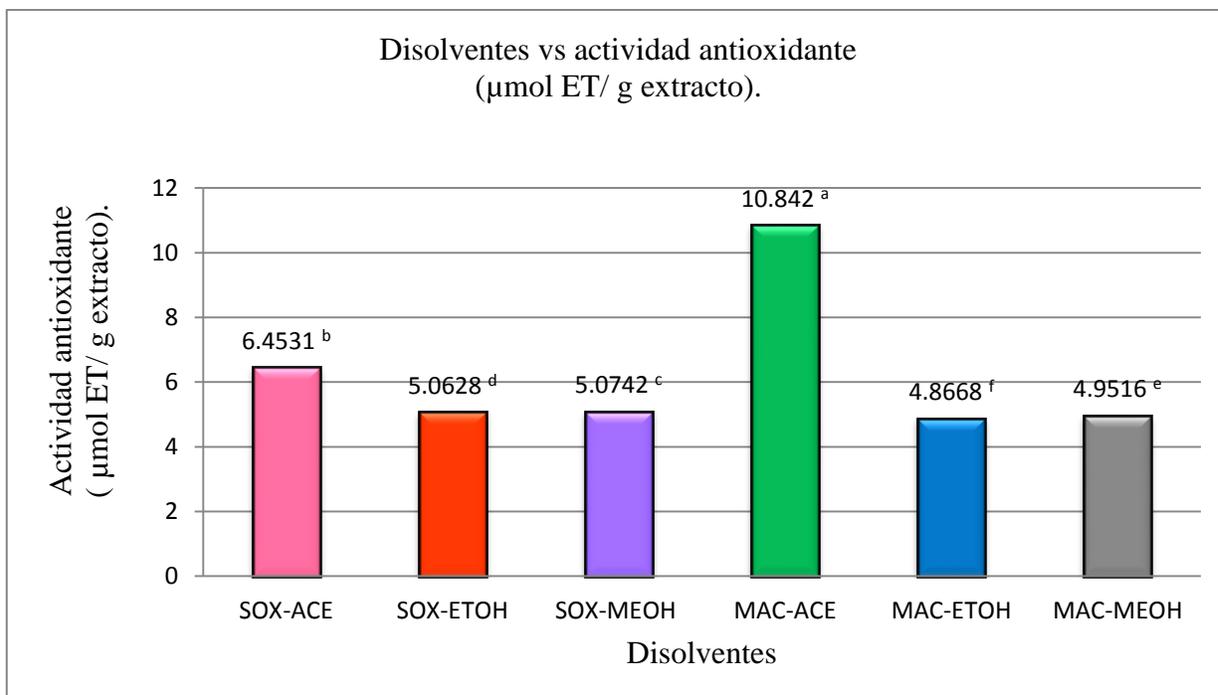
La evaluación colorimétrica para determinar la actividad antioxidante se efectuó para cada extracto mediante el método de FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) empleando el procedimiento original (Donga & Chanda, 2020) con algunas modificaciones. Los resultados se presentan en la Tabla 11 y Gráfica 5.

Tabla 11. Resultados de la actividad antioxidante con diferentes disolventes expresado en ( $\mu\text{mol ET/g}$  de extracto).

Técnica de extracción/ disolventes	Actividad antioxidante ( $\mu\text{mol ET/g}$ de extracto).
soxhlet acetona	$6.4531 \pm 0.1196^b$
soxhlet etanol	$5.0628 \pm 0.2026^d$
soxhlet metanol	$5.0742 \pm 0.0819^c$
maceración acetona	$10.8420 \pm 0.3229^a$
maceración etanol	$4.8668 \pm 0.0428^f$
maceración metanol	$4.9516 \pm 0.1090^e$

*N=3; Promedio  $\pm$  desviación estándar. Análisis estadístico por cada técnica de extracción y por disolvente. Superíndices <sup>(a-f)</sup> significan diferencia significativa ( $p < 0.05$ ), indicando <sup>a</sup> (mayor cuantificación) <sup>f</sup> (menor cuantificación).*

Como se puede observar en esta tabla, el método de extracción que presenta mayor actividad antioxidante es el método de maceración, empleando como disolvente acetona. De acuerdo con los resultados publicados (Donga & Chanda, 2020), se esperaba encontrar que el extracto metanólico tuviera mayor actividad antioxidante, sin embargo, el ensayo de FRAP estableció un valor de  $10.8420 \pm 0.3229 \mu\text{mol ET/g}$  para el extracto acetónico, este valor observado es muy cercano al reportado en la literatura ( $11.63 \mu\text{mol ET/g}$  de extracto) según (Donga & Chanda, 2020).



Gráfica 5. Comparación de la actividad antioxidante con diferentes disolventes expresada en  $\mu\text{mol ET/g extracto}$ .

Análisis estadístico realizado por columna. Los superíndices <sup>a,b,c,d,e,f</sup> corresponden a los índices promedio, donde <sup>f</sup> es el menor índice y <sup>a</sup> el mayor índice promedio. Si el superíndice se repite significa que no existe diferencia significativa.

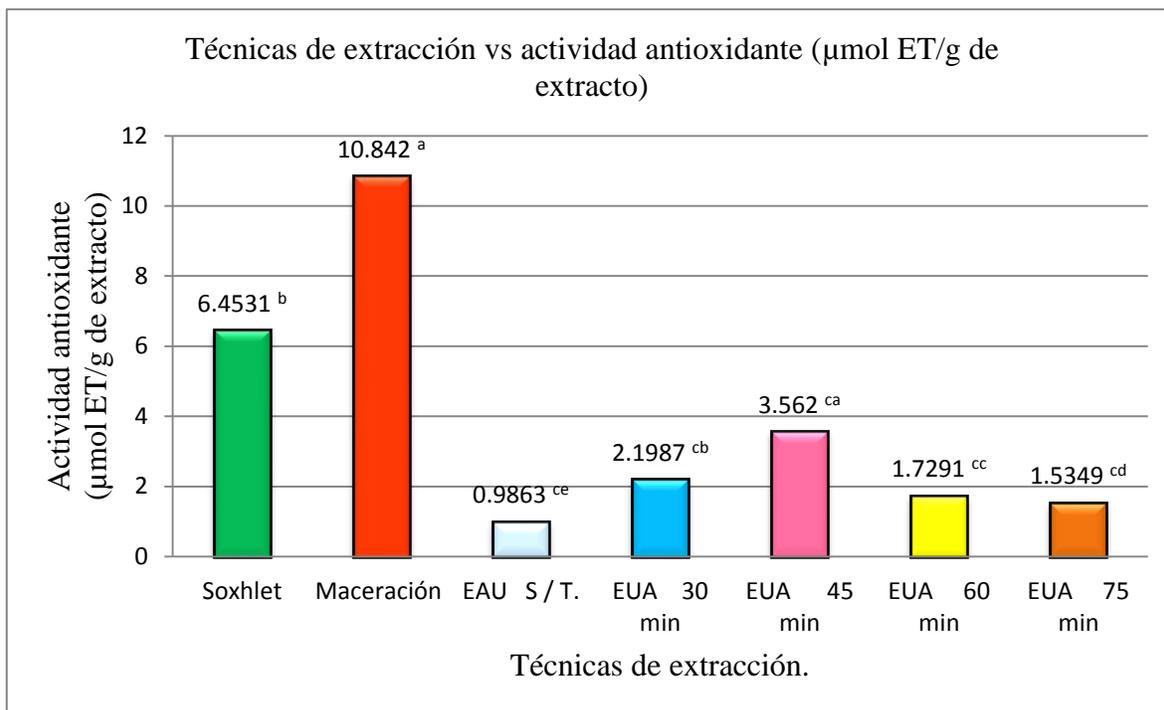
En general, las técnicas de extracción definitivamente afectaron el valor de la actividad antioxidante obtenido mediante el método de FRAP para la semilla de papaya madura (*Carica papaya var. maradol*) ver Tabla 12 y Gráfica 6

Tabla 12. Resultados de la actividad antioxidante por el método FRAP obtenidos por diferentes técnicas de extracción expresada en  $\mu\text{mol ET/g extracto}$ .

Técnica de extracción (acetona)	Actividad antioxidante ( $\mu\text{mol ET/g de extracto}$ )
soxhlet	$6.4531 \pm 0.1196$ <sup>b</sup>
maceración	$10.8420 \pm 0.3229$ <sup>a</sup>
EAU sin tratamiento	$0.9863 \pm 0.0238$ <sup>ce</sup>
EUA 30 min	$2.1987 \pm 0.0431$ <sup>cb</sup>
EUA 45 min	$3.5620 \pm 0.0942$ <sup>ca</sup>
EUA 60 min	$1.7291 \pm 0.0386$ <sup>cc</sup>
EUA 75 min	$1.5349 \pm 0.0135$ <sup>cd</sup>

$N=3$ ; Promedio  $\pm$  desviación estándar. Análisis estadístico por cada técnica de extracción. Superíndices <sup>(a-c)</sup> significan diferencia significativa ( $p < 0.05$ ), indicando <sup>a</sup> (mayor cuantificación) <sup>c</sup> (menor cuantificación).

Analizando los resultados obtenidos experimentalmente (3.562  $\mu\text{M/g}$ ) un tiempo óptimo de 45 min difiere del valor teórico reportado (3.58 M/g). Este resultado difiere puesto que el valor experimental obtenido es mucho menor sin embargo se encuentra justificado debido a las diferencias entre disolventes utilizados y el tiempo de exposición de la muestra respecto al valor teórico (Donga & Chanda, 2020).



Gráfica 6. Comparación de la actividad antioxidante con diferentes técnicas de extracción expresada en  $\mu\text{mol ET/g}$  extracto.

Análisis estadístico realizado por columna. Los superíndices <sup>a,b,c</sup> corresponden a los índices promedio, donde <sup>c</sup> es el menor índice y <sup>a</sup> el mayor índice promedio. Si el superíndice se repite significa que no existe diferencia significativa.

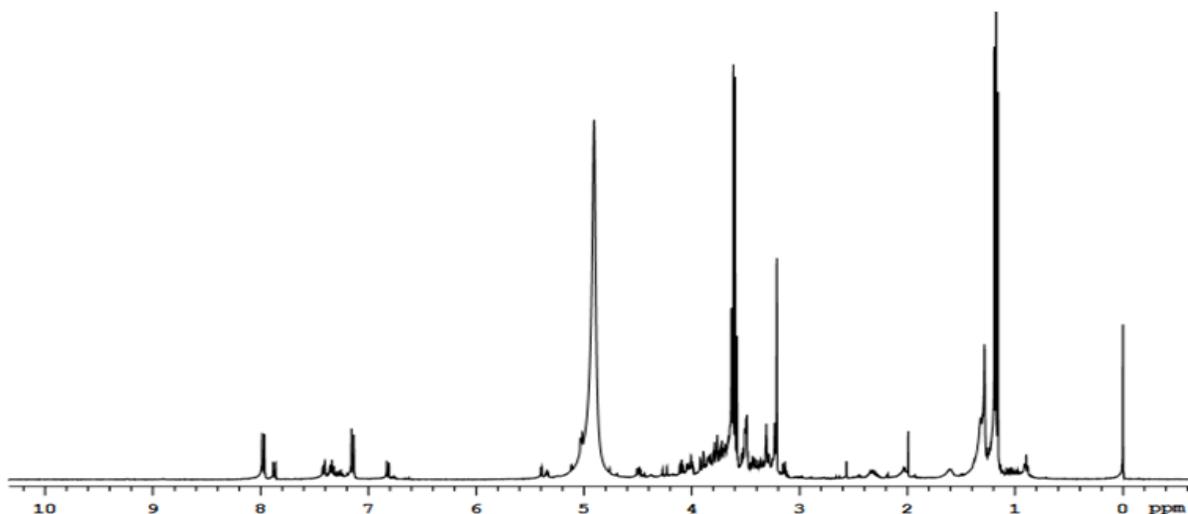
## 6.7 Espectroscopia de resonancia magnética nuclear de protones ( $^1\text{H}$ NMR).

Como ya se mencionó anteriormente, la teoría central de la espectroscopia es que la luz está formada por diferentes longitudes de onda y que cada longitud de onda corresponde a una frecuencia diferente, esto tiene gran importancia por el hecho de que cada elemento diferente en la tabla periódica tiene un espectro de luz único descrito por las frecuencias de luz que emite o absorbe apareciendo consistentemente en la misma parte del espectro electromagnético cuando esa luz es difractada. En el caso específico de la resonancia magnética nuclear (RMN), la teoría que la sustenta es que la frecuencia es análoga a la resonancia y su correspondiente frecuencia resonante. Las resonancias por la frecuencia se caracterizaron por primera vez en sistemas mecánicos como péndulos que tienen una frecuencia de movimiento.

En la presente se muestra un espectro de RMN y su expansión, realizado a una muestra de extracto natural obtenido a partir de semillas de *Carica papaya var. maradol*. Ver Figuras 31-A y 31-B.

En las Figuras 31-A y 31-B, se muestra un espectro de resonancia magnética nuclear de protones ( $^1\text{H}$ NMR) a 400 MHz. en donde es posible apreciar que a un intervalo de 7 a 9 ppm se detectan señales de hidrógenos aromáticos que evidencian la presencia de compuestos fenólicos, adicionalmente, entre 3 y 4.8 ppm se aprecian hidrógenos bases de oxígeno que podrían corresponder a azúcares presentes en el extracto.

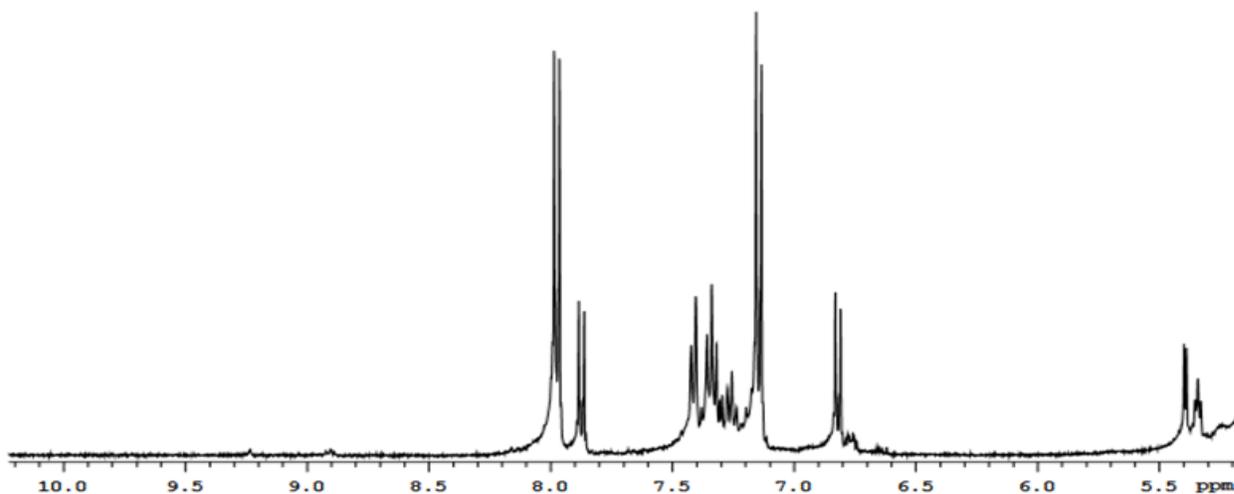
Estas señalizaciones detectadas en el espectro corresponden con lo reportado en la literatura consultada donde se tiene referencia de haber encontrado compuestos aromáticos del tipo fenólico, esto a través de técnicas de cromatografía, análisis de espectroscopia de resonancia magnética nuclear de protones ( $^1\text{H}$ NMR), resonancia magnética nuclear de carbono 13 ( $^{13}\text{C}$ NMR), espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (FTIR) y espectrometría de masas para establecer la estructura de estos compuestos fenólicos aislados donde los principales compuestos aislados fueron betacaroteno, ácido protocatechico, ácido neoclorogénico, ácido cafeico, quercetina, kaempferol, quercetina-3-O-glucopiranosido, el ácido cumarico. (Ashutosh *et al*, 2020).



Data file /home/vnmr1/vnmrsys/Data/Papaya\_ext\_etanolico\_de\_semillas\_20220503\_01-PROTON\_03.f2

Plot date 2022-05-03

Figura 31-A. Espectro de resonancia magnética nuclear de protones ( $^1\text{H}$ NMR) de una muestra de extracto acetónico obtenido a partir de semillas de *Carica papaya var. maradol*.



Data file /home/vnmr1/vnmrsys/Data/Papaya\_ext\_etanolico\_de\_semillas\_20220503\_01-PROTON\_03.f2

Plot date 2022-05-03

Figura 31-B. Espectro de resonancia magnética nuclear de protones ( $^1\text{H}$ NMR) de una muestra de extracto acetónico obtenido a partir de semillas de *Carica papaya var. maradol* (expansión).

## 6.8 Estabilidad oxidativa

Representa la última parte del experimento que consiste en evaluar el deterioro que sufre una muestra de aceite de oliva extra virgen (sin conservadores) tomando para esto una muestra control, otra muestra adicionada con el extracto de semillas de *Carica papaya* (que corresponde al obtenido por maceración con acetona siendo este el de mayor capacidad antioxidante) y también una muestra de aceite adicionado con BHT que es el antioxidante sintético utilizado como referencia; esto para ser evaluado a 55°C durante 28 días esto basado en la norma NMX-F-109-SCFI-2014 donde se evalúan 3 parámetros con los cuales es posible denotar el deterioro del aceite en cuestión.

### 6.8.1 Porcentaje de acidez.

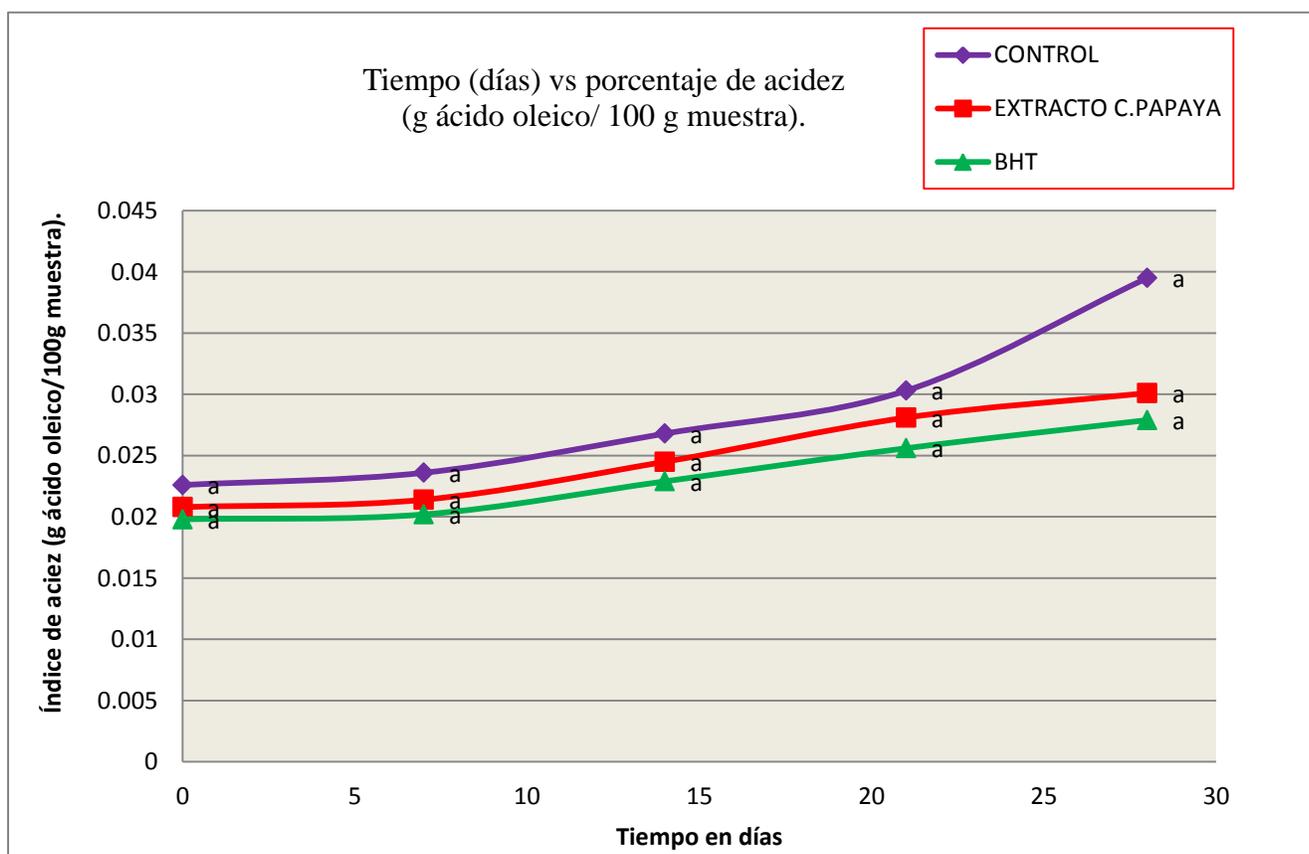
El índice de acidez se relaciona con el proceso de oxidación lipídica, el cual indica el grado de descomposición del aceite por acción de las lipasas, condiciones extremas de pH y calentamiento. La hidrólisis de los triacilgliceroles puede ser acelerada por la luz (Flores *et al*, 2021). Los resultados obtenidos del porcentaje de acidez observado a través del tiempo se presentan a la tabla 13 y en la Grafica 7.

Tabla 13. Resultados de la determinación de porcentaje de acidez expresado en g ácido oleico/100g muestra.

Determinación del porcentaje de acidez expresado en g ácido oleico/100g muestra.					
Muestra/Tiempo	0	7	14	21	28
Control	0.0226±0.0112 <sup>a</sup>	0.0236±0.0174 <sup>a</sup>	0.0268±0.0135 <sup>a</sup>	0.0303±0.0187 <sup>a</sup>	0.0395±0.0249 <sup>a</sup>
Extracto Semillas <i>Carica papaya</i> .	0.0208±0.0241 <sup>a</sup>	0.0214±0.0316 <sup>a</sup>	0.0245±0.0177 <sup>a</sup>	0.0281±0.0254 <sup>a</sup>	0.0301±0.0974 <sup>a</sup>
BHT	0.0198±0.0158 <sup>a</sup>	0.0202±0.0215 <sup>a</sup>	0.0229±0.0359 <sup>a</sup>	0.0256±0.0173 <sup>a</sup>	0.0279±0.0173 <sup>a</sup>

*n=3, resultado reporta promedio + desviación estándar, corresponde Análisis estadístico para índice de acidez por día. El superíndice<sup>a</sup> indica que no hubo diferencia significativa (p<0.05) entre los valores.*

En la Gráfica 7 se puede observar la tendencia del índice de acidez, la cual tiende a elevarse conforme transcurre el tiempo, esto en consecuencia de la lipólisis que sufre y que favorece la aceleración de la oxidación de la muestra de aceite. También es posible notar que la muestra control presenta el mayor porcentaje de acidez, seguido de la muestra de extracto de semillas de *Carica papaya* var. *maradol* que presenta comportamiento similar al BHT, lo cual demuestra un resultado de experimentación muy favorable.



Gráfica 7. Porcentaje de acidez de tres diferentes muestras a través del tiempo (55°C 28 días).

Análisis estadístico realizado por columna. Los superíndices <sup>a</sup> corresponden a los índices promedio, donde <sup>a</sup> es el mayor índice. Si el superíndice se repite significa que no existe diferencia significativa. Luego entonces el superíndice <sup>a</sup> indica que no hubo diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre los valores.

### 6.8.2 Índice de yodo.

El índice de yodo normalmente se utiliza para indicar el grado de degradación térmica de los aceites comestibles, el descenso en los valores de índice de yodo es una medida del aumento en la velocidad de oxidación que involucra a los dobles enlaces (Asghar *et al*, 2016).

Tabla 14. Resultados de la determinación de índice de yodo expresado en g I<sub>2</sub>/100 g muestra.

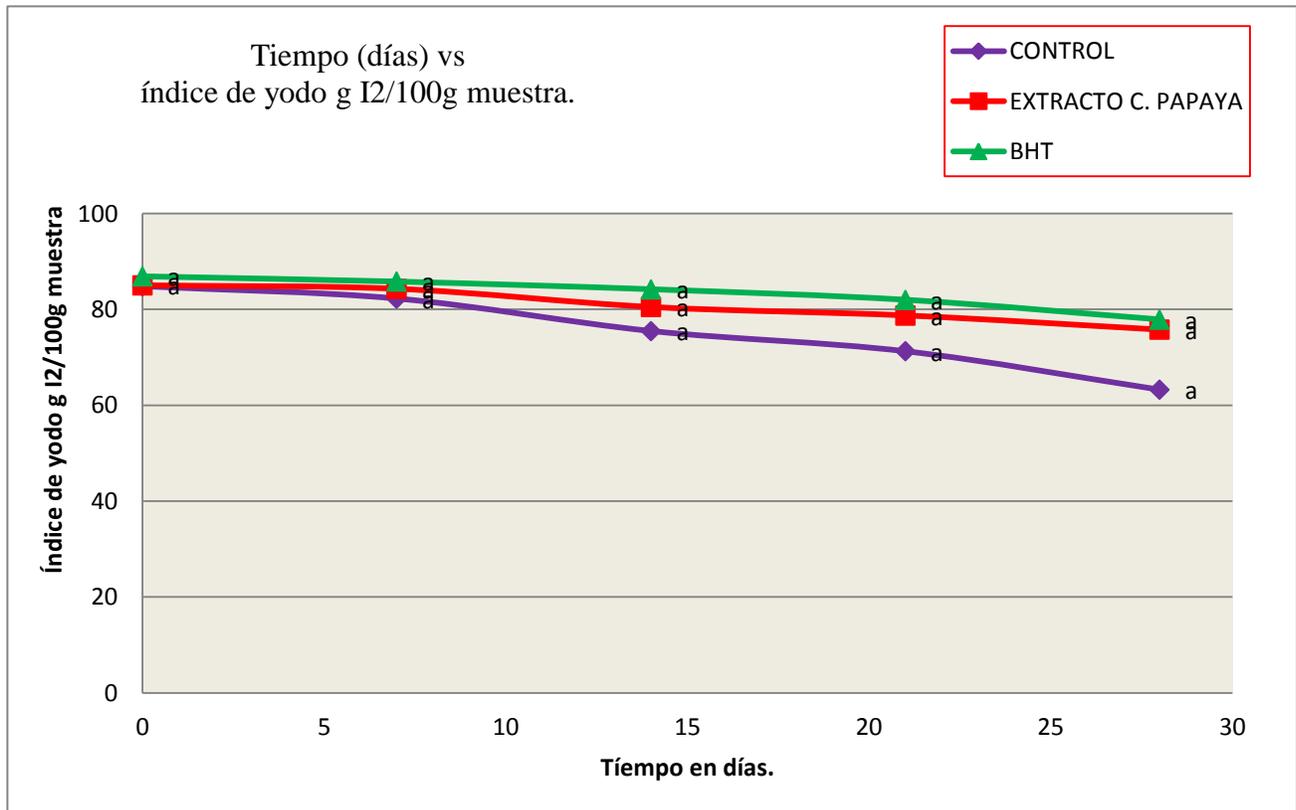
Determinación del índice de yodo expresado en g I <sub>2</sub> /100g muestra.					
Muestra/Tiempo	0	7	14	21	28
Control	84.820±0.041 <sup>a</sup>	82.253±0.014 <sup>a</sup>	75.481±0.037 <sup>a</sup>	71.263±0.022 <sup>a</sup>	63.245±0.025 <sup>a</sup>
Extracto Semillas <i>Carica papaya.</i>	85.011±0.040 <sup>a</sup>	84.285±0.019 <sup>a</sup>	80.492±0.048 <sup>a</sup>	78.733±0.050 <sup>a</sup>	75.771±0.016 <sup>a</sup>
BHT	86.884±0.015 <sup>a</sup>	85.794±0.021 <sup>a</sup>	84.191±0.016 <sup>a</sup>	81.994±0.015 <sup>a</sup>	77.892±0.027 <sup>a</sup>

*n=3, resultado reporta promedio + desviación estándar, corresponde al análisis estadístico para índice de acidez por día. El superíndice<sup>a</sup> indica que no hubo diferencia significativa (p<0.05) entre los valores.*

El comportamiento que presentaron las muestras de aceite de oliva adicionado con antioxidantes en la estabilidad de las insaturaciones de los ácidos grasos se presenta en la Tabla 14 y en la Gráfica 8.

Como se puede observar en la Tabla 14 en los tres casos (control, extracto natural y BHT) el índice de yodo muestra un comportamiento decreciente a través del tiempo, esto significa que el contenido de insaturaciones disminuyó.

También es posible notar en la Tabla 14 que la muestra control presenta un menor índice de yodo, es decir, menor contenido de insaturaciones hasta el día 28, mientras que los extractos de semilla de papaya presentan valores de índice de yodo intermedios entre la muestra control y la muestra con BHT.



Gráfica 8. Índice de yodo de tres diferentes muestras a través del tiempo (55°C 28 días).

Análisis estadístico realizado por columna. Los superíndices <sup>a</sup> corresponden a los índices promedio, donde <sup>a</sup> es el mayor índice. Si el superíndice se repite significa que no existe diferencia significativa. Luego entonces el superíndice <sup>a</sup> indica que no hubo diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre los valores.

### 6.8.3 Índice de peróxidos.

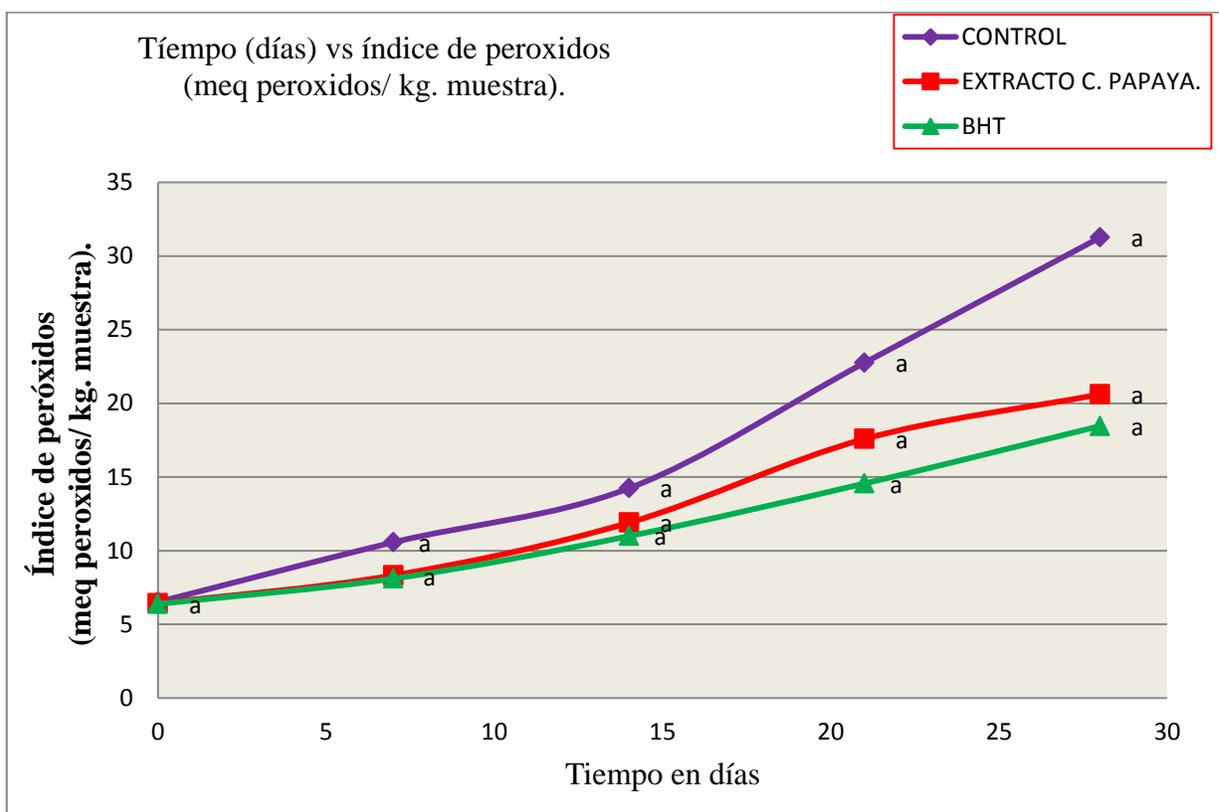
Los peróxidos e hidroperóxidos proceden de la reacción en cadena de radicales libres que suelen atacar los enlaces dobles de los lípidos y ciertamente se presentan como resultado de la primera etapa de la autooxidación, este tipo de productos tienden a la formación de compuestos que afectan directamente la calidad del aceite; es por ello que la determinación del índice de peróxidos es un indicativo del grado de deterioro que presenta un aceite.

En la Tabla 15 y en la Gráfica 9 es posible apreciar los resultados de la determinación de índice de Peróxidos donde se aprecia un comportamiento lógico en cuanto a la formación de peróxidos ya que es claro que la presencia de estos aumenta conforme el paso del tiempo, esto debido a que la muestra fue sometida a una temperatura de 55°C y este calentamiento favorece la formación de peróxidos.

Tabla 15. Resultados de la determinación de índice de peróxidos expresado en meq peróxidos/kg muestra.

Determinación del índice de peróxidos expresado en meq peróxidos/kg muestra.					
Muestra/Tiempo	0	7	14	21	28
Control	6.5122±0.0123 <sup>a</sup>	10.5697±0.0243 <sup>a</sup>	14.2347±0.0112 <sup>a</sup>	22.7514±0.0314 <sup>a</sup>	31.2587±0.0324 <sup>a</sup>
Extracto semilla <i>Carica papaya</i> .	6.4102±0.03214 <sup>a</sup>	8.3215±0.0154 <sup>a</sup>	11.8974±0.0321 <sup>a</sup>	17.5823±0.0334 <sup>a</sup>	20.6152±0.0162 <sup>a</sup>
BHT	6.3789±0.0254 <sup>a</sup>	8.1011±0.01432 <sup>a</sup>	10.9870±0.0158 <sup>a</sup>	14.5586±0.0166 <sup>a</sup>	18.4576±0.0159 <sup>a</sup>

*n=3, resultado reporta promedio + desviación estándar, corresponde al análisis estadístico para índice de acidez por día. El superíndice<sup>a</sup> indica que no hubo diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre los valores.*



Gráfica 9. Índice de peróxidos de tres diferentes muestras a través del tiempo (55°C 28 días).

*Análisis estadístico realizado por columna. Los superíndices<sup>a</sup> corresponden a los índices promedio, donde<sup>a</sup> es el mayor índice. Si el superíndice se repite significa que no existe diferencia significativa. Luego entonces el superíndice<sup>a</sup> indica que no hubo diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre los valores.*

## 7. CONCLUSIONES:

- Se obtuvieron extractos a partir de semilla de papaya mexicana (*Carica papaya var. maradol*) mediante extracción por maceración, soxleht, y extracción asistida por ultrasonido (EAU), empleando los disolventes: acetona, etanol, metanol.
- Se determinó en cada extracto el contenido de fenoles totales mediante el método de Folin-Ciocalteu y actividad antioxidante por el ensayo de FRAP.
- Los extractos de semillas de papaya mexicana presentan valores de compuestos fenólicos totales que van de  $3.0743 \pm 0.0438$  a  $19.8354 \pm 0.0682$  mg de EAG/g. Los valores mayores se observaron cuando se empleó acetona como disolvente y el método de maceración ( $19.8354 \pm 0.0682$  mg de EAG/g).
- Los valores de actividad antioxidante, expresados como  $\mu\text{mol ET/g}$  de extracto, determinados en el extracto de semilla de papaya mexicana se presentaron entre  $0.9863 \pm 0.0238$  y  $10.8420 \pm 0.3229$ . La mayor actividad antioxidante se observó cuando se empleó acetona como disolvente y el método de maceración ( $10.8420 \pm 0.3229 \mu\text{mol ET/g}$  de extracto).
- Se evaluó la efectividad de la estabilidad oxidativa del extracto de semilla con mayor contenido de fenoles totales y mayor actividad antioxidante, siendo el extracto de acetona el seleccionado para estabilizar el aceite de oliva. Se comparó la eficiencia del extracto anterior con la efectividad del antioxidante BHT para estabilizar este aceite.
- Se observó que el extracto de acetona retarda el aumento del índice de acidez, pero disminuye el índice de peróxidos del aceite de oliva y también el índice de yodo con respecto a la muestra control.
- Los resultados obtenidos indican que el extracto de semilla de papaya mexicana retrasa de manera efectiva el envejecimiento y deterioro de un aceite, lo cual indica que este extracto podría recomendarse como aditivo en la conservación de alimentos.

## 8 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AACC, *International. Approved Methods of Analysis*. 11<sup>th</sup> ED. St. Paul, MN. U.S.A.
2. Abbas, A.M. & Chin C.S. Efficacy of exogenous natural antioxidants in stability of polyunsaturated oils under frying temperature. *Journal of Food Measurement and Characterization*. 1-22.
3. Abd-Allah, I.; Rabie, M.; Sulieman, A.M.; Mostfa, D.M.; El-Badawi, A.A. (2018). Oxidative stability of edible oils via addition of pomegranate and orange peel extracts. *Foods and Raw Materials*, 6 (2), 413-420.
4. Addai, Z.R.; Abdullah, A.; Mutalib, S.A.; Musa, K.H.; Douqan, E.M.A. (2013). Antioxidant activity and physicochemical properties of mature papaya fruit (*Carica papaya* L. cv. Eksotika). *Adv. J. Food Sci. Technol*, 5, 859–865.
5. Agada, R.; Thagriki, D.E.; Khusro, A.; Alkahtani, J.; Shaqha, M.; Alwahibi, M.; Soliman, M. (2021). Antioxidant and anti-diabetic activities of bioactive fractions of *Carica papaya* seeds extract. *Journal of King Saud University – Science*, 33, 101342.
6. Alioune, A.; Khatab, O.; Ndiaye, B.; Cyrille, N.; Cisse, M.; Mar, D. (2019). Evaluation of Phenolic Content and Antioxidant Activity of Aqueous Extracts of Three *Carica papaya* Varieties Cultivated in Senegal. *Food and Nutrition Sciences*, 10, 276-289.
7. Ahmad, N.; Fazal, H.; Ayaz, M.; Abbasi, B.H.; Mohammad, I.; Fazal, L. (2011). Dengue fever treatment with *Carica papaya* leaves extracts. *Asian Pac. J. Trop. Biomed*, 1, 330–333.
8. AOAC, “*Official Methods of Analysis*”, USA, 1980.
9. Asghar, N.; Raza, S.; Hussain, Z.; Rasool, N.; Ali, Z.; Anjum, S.; Anjum, T.; Ashraf, M.; Ahmad, S.; Zia, M.; Jaafar, H. (2016). Compositional difference in antioxidant and antibacterial activity of all parts of the *Carica papaya* using different solvents. *Chemistry Central Journal*, 10, 2-11.
10. Asha, A.; Manjunatha, M.; Rekha, R.M.; Surendranath, B.; Heartwin, P.; Rao1, J.; Magdaline, E.; Chitranayak, S. (2015). Antioxidant activities of orange peel extract

- in ghee (butter oil) stored at different storage temperatures. *Journal of Food Sci Technol*, 52 (12), 8220–8227.
11. Ashutosh, S.; Archana, B.; Priyanka, S.; Rakesh, K.; Azamal, H. (2020). Phytochemistry, pharmacological activities, nanoparticle fabrication, commercial products and waste utilization of *Carica papaya* L. A comprehensive review. *Current Research in Biotechnology*, 2, 145–160.
  12. Avila, S.; Kugo, M.; Silveira, P.; Brian, F.; Maritim, E.; Beta, T. (2020). *Carica papaya* seed enhances phytochemicals and functional properties in cornmeal porridges. *Food Chemistry*, 323, 126808.
  13. Blasi, F. & Cossignani, L. (2020). An Overview of Natural Extracts with Antioxidant Activity for the Improvement of the Oxidative Stability and Shelf Life of Edible Oils. *Journal of Food Processes*, 8, 956.
  14. Benzie, I. F. & Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239, 70-76.
  15. Bhuiyan, M.S.H.; Miah, M.Y.; Paul, S.C.; Aka, T.D.; Saha, O.; Rahaman, M.M.; Sharif, M.J.I.; Habiba, O.; Ashaduzzaman, M. (2020). Green synthesis of iron oxide nanoparticle using *Carica papaya* leaf extract: application for photocatalytic degradation of remazol yellow RR dye and antibacterial activity. *Heliyon*, 6 (8), e04603.
  16. Brand-Williams, W.; Cuvelier, M.E.; Berset, C. (1995). Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm. Wiss. Technol*, 22, 25-30.
  17. Cao, X.; Li, X.; Shu, N.; Ping, C.; Xu, Y.J.; Yuanfa, L. (2022). The Characteristics and Analysis of Polar Compounds in Deep-Frying Oil: a Mini Review. *Food Analytical Methods*, 15, 2767–2776.
  18. Cárdenas, C.D.Y. (2017). Cuantificación y evaluación de los antioxidantes presentes en la semilla de melón mexicano residual (*Cucumis melo* var. *cantaloupe*). Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México. 10-11.
  19. Catherine, A.; Rice, E.; Miller, N; Paganga, G. (1997). Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in Plant Science reviews*, 2 (4), 152-159.

20. Chacha, J.; Ofoedu, C.E.; Xiao, K. (2022). Essential oil-based active polymer-based packaging system: A review of its effect on the antimicrobial, antioxidant, and sensory properties of beef and chicken meat. *Journal of Food Process Preserv*, 1-28.
21. Cheng, M.H. & Rosentrater, K.A. (2019). Techno-economic analysis of extruding-expelling of soybeans to produce oil and meal. *Agriculture*, 9, 1–19.
22. Chielle, D.P.; Bertuol, D.A.; Meili, L.; Tanabe, E.H.; Dotto, G.L. (2016). Spouted bed drying of papaya seeds for oil production. *LWT - Food Science and Technology*, 65, 852-860.
23. Dahmoune, F.; Nayak, B.; Moussi, K.; Remini, H.; Madani, K. (2015). Optimization of microwave-assisted extraction of polyphenols from *Myrtus communis* L. leaves. *Food Chemistry*, 166, 585-595.
24. De Melo, M.M.R.; Silvestre, A.J.D.; Silva, C.M. (2014). Supercritical fluid extraction of vegetable matrices: Applications, trends and future perspectives of a convincing green technology. *The Journal of Supercritical Fluids*, 92, 115–176.
25. Del Rio, L., Flores, E.; Grande, C. (2021). The Potential of Selected Agri-Food Loss and Waste to Contribute to a Circular Economy: Applications in the Food, Cosmetic and Pharmaceutical Industries. *Molecules*, 26, 515.
26. Devarajan, Y.; Beemkumar, N.; Ganesan, S.; Arunkumar, T. (2020). An experimental study on the influence of an oxygenated additive in diesel engine fuelled with neat papaya seed biodiesel/diesel blends. *Fuel*, 268, 117254.
27. Dharmarathna, S.L.C.A.; Wickramasinghe, S.; Waduge, R.N.; Rajapakse, R.P.V.J.; Kularatne, S.A.M. (2013). Does *Carica papaya* leaf-extract increase the platelet count? An experimental study in a murine model. *Asian Pac. J. Trop. Biomed*, 3, 720–724.
28. Donga, S. & Chanda, S. (2020). Evaluation of phytochemical profile and antioxidant activity of some medicinal plants seed extracts obtained by traditional and modern (green) extraction methods. *International Journal of Chemical Studies*, 8 (4), 3415-3429.
29. Dorado, D.J.; Hurtado, A.M.; Martínez-Correa, H.A. (2017). Extracción Supercritica de Aceite de Semillas de Papaya (*Carica papaya*): Composición y

- Propiedades fisicoquímicas. *VITAE, Revista de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Alimentarias*, 24 (2), 35-45.
30. FAO. (2012). FAO – Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Recuperado el 06 de julio de 2022.
  31. FAO. (2019). FAO – Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Recuperado el 14 de septiembre de 2022.
  32. FAO. (2020). FAO – Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Recuperado el 18 de octubre de 2022.
  33. FAOSTAT. (2017). FAOSTAT – Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura Dirección de Estadística. Recuperado el 06 de julio de 2022.
  34. Flores, D.A.F. (2022). Evaluación de la capacidad Antioxidante de extractos obtenidos de semilla residual de Chincuya (*Annona purpurea*). Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México. 44-46.
  35. Flores, M.; Avenida, V.; Forero-Doria, O.; Quitral, V.; Bravo, J.; Valdés, C.; Vilcanqui, J.; Ortiz-Viedma, J. (2021). Edible Oil Parameters during Deterioration Processes. *International Journal of Food Science*, 1-16.
  36. Folin, C.; Ciocalteau, V. (1927). Tyrosine and tryptophan determination in proteins. *J. Biol. Chem*, 73, 627-650.
  37. Gastélum-Martínez, E.; Ayora-Talavera, T.R.; González-Flores, T.; Sánchez-Contreras, A.; Ocampo-Thomason, P.; Pacheco-López, N.A. (2019). Use and exploitation of *Carica papaya* 'Maradol' and by-products for food industry application. *Acta Horti*, 1250, 209-218.
  38. Gonçalves, L.G.; Mazzutti, S.; Vitali, L.; Micke, G.A.; Salvador, S.R. (2019). Recovery of bioactive phenolic compounds from papaya seeds agroindustrial residue using subcritical water extraction. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 22,101367.
  39. Gustavsson, J.; Cederberg, C.; Sonesson, U.; Van Otterdijk, R.; Meybeck, A. (2011). Global food losses and food waste: extent, causes and prevention food and agriculture organization of the United Nations, *international congress save food*.

40. Han, Z.; Park, A.; Wen, W. (2018). Valorization of papaya fruit waste through low-cost fractionation and microbial conversion of both juice and seed lipids. *RSC Advances*, 8, 27963–27972.
41. Heller, W.P.; Kissinger, K.R.; Matsumoto, T.K.; Keith, L.M. (2015). Utilization of papaya waste and oil production by *Chlorella protothecoides*. *Algal Research*, 12, 156–160.
42. Hussain, S.A.; Hameed, A.; Ajmal, I.; Nosheen, S.; Rasul Suleria, H.A.; Song, Y. (2018). Effects of sesame seed extract as a natural antioxidant on the oxidative stability of sunflower oil. *Journal of Food Sci Technol*, 55 (10), 4099–4110.
43. Insanu, M.; Widayani, N.; Solihin, L.; Ruslan, K.; Pramastya, H.; Fidrianny, I. (2022). Antioxidant activities and phytochemicals of polar, semi-polar, and nonpolar extracts of used and unused parts of *Carica papaya* fruit. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 39, 102270.
44. Jain, A.; Ahmad, F.; Gola, D.; Malik, A.; Chauhan, N.; Dey, P.; Tyagi, P.K. (2020). Multi dye degradation and antibacterial potential of Papaya leaf derived silver nanoparticles. *Environ. Nanotechnol. Monitor. Manag*, 14, 100337.
45. Juárez-Rojop, I.E.; Díaz-Zagoya, J.C.; Ble-Castillo, J.L.; Miranda-Osorio, P.H.; Castell-Rodríguez, A.E.; Tovilla-Zárate, C.A.; Rodríguez-Hernández, A.; Aguilar-Mariscal, H.; Ramón-Frías, T.; Bermúdez-Ocaña, D.Y. (2012). Hypoglycemic effect of *Carica papaya* leaves in streptozotocin-induced diabetic rats. *BMC Compl. Altern. Med*, 12, 236.
46. Karmakar, B. & Halder, G. (2019). Progress and future of biodiesel synthesis: Advancements in oil extraction and conversion technologies. *Energy Conversion and Management*, 182, 307–339.
47. Karrar, E.; Sheth, S.; Burton, W.; Wei, W.; Hassanin, H.; Abdalla, M.; Xingguo, W.X. (2018). A potential new source: Nutritional and antioxidant properties of edible oils from cucurbit seeds and their impact on human health. *Journal of food Biochemistry*, 1-10.
48. Khairul, E.; Stanley, R.; Netzel, M.; Fanning, K. (2015). Phytochemicals of papaya and its traditional health and culinary uses – A review. *Journal of Food Composition and Analysis*, 41, 201–211.

49. Khor, B.K.; Jeng, N.; Chear, A.J.; Khaw, K.Y. (2021). Chemical Composition, Antioxidant and Cytoprotective Potentials of *Carica papaya* Leaf Extracts: A Comparison of Supercritical Fluid and Conventional Extraction Methods. *Molecules*, 26, 1489.
50. Kim, D.O.; Lee, K.M.; Lee, C.Y. (2002). Vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of phenolics phytochemicals. *J. Agric. Food. Chem.* 50, 3713-3717.
51. Kummu, M.; De Moel, H.; Porkka, M.; Siebert, S.; Varis, O.; Ward, P.J. (2012). Lost food, wasted resources: global food supply chain losses and their impacts on freshwater, cropland, and fertiliser use. *Sci. Total Environ*, 438, 477e489.
52. Kuskoski, E.M.; Asuero, A.G.; Troncoso, A.M.; Garcia, M.C.; Fett, R. (2004). Actividad antioxidante de pigmentos antocianicos. *Rev. Bras. Cienc. Tecnol. Alim*, 24 (4), 691-693.
53. Kwang, A.Y.; Winne, C.M.; Khoo, H.E.; Yim, H.S. (2012). Antioxidant Potential of Carica Papaya Peel and Seed. *Focusing on Modern Food Industry*, 1, 1-6.
54. López, P.M.; Lorenzo, J.M.; Gullón, B.; Bastianello, P.C.; Franco, D. (2021). Novel strategy for developing healthy meat products replacing saturated fat with oleogels. *Food Science*, 40, 40–45.
55. Machado, M.; Rodríguez, A.L.M.; Gómez, A.M.; Pintado, M. (2022). Vegetable oils oxidation: mechanisms, consequences and protective strategies. *Food Reviews International*, 1-19.
56. Maisarah, A.M.; Nurul, A.B.; Asmah, R.; Fauziah, O. (2013). Antioxidant analysis of different parts of Carica papaya. *Int. Food Res. J*, 20, 1043–1048.
57. Minakshi, G.; Khairujjaman, L.; Atanu, K.P.; Niran, D.; Mrutyunjay, M.; Imon, M.G.; Anil, H.; Utpal, B.; Dhanapati, D. (2020). *Carica papaya* stem: a source of versatile heterogeneous catalyst for biodiesel production and CeC bond formation. *Renew. Ener*, 147, 541–555.
58. Mishra, S.K.; Belur, P.D.; Iyyaswami, R. (2020). Use of antioxidants for enhancing oxidative stability of bulk edible oils: a review. *International Journal of Food Science and Technology*, 56, 1–12.

59. Nagpal, T.; Sahu, J.K.; Khare, S.K.; Bashir, K.; Jan, K. (2021). Trans fatty acids in food: A review on dietary intake, health impact, regulations and alternatives. *Journal of Food Science*, 86, 5159–5174.
60. Nandini, G.; Gopenath, T.S.; Nagalambika, P.; Karthikeyan, M.; Gnanasekaran, A.; Ranjith, M.S.; Palanisamy, P.; Basalingappa, K.M. (2020). Phytochemical analysis and antioxidant properties of leaf extracts of *carica papaya*. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 13, 11, 58-62.
61. Nayak, S.B.; Pinto, P.L.; Maharaj, D. (2007). Wound healing activity of *Carica papaya* L. in experimentally induced diabetic rats. *Indian J. Exp. Biol*, 45, 739–743.
62. Nelson, A.I.; Wijeratne, W.B.; Yeh, S.W.; Wei, T.M.; Wei, L.S. (1987). Dry extrusion as an aid to mechanical expelling of oil from soybeans. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 64, 1341–1347.
63. NMX-F-101-SCFI-2012. Alimentos–Aceites y grasas vegetales o animales Determinación de ácidos grasos libres–Método de prueba.
64. NMX-F-152-SCFI-2011. Alimentos–Aceites y grasas vegetales o animales Determinación del índice de yodo por el método ciclohexano–Método de prueba.
65. NMX-F-154-SCFI-2010. Alimentos–Aceites y grasas vegetales o animales Determinación del valor de peróxido–Método de prueba.
66. NMX-F-223-SCFI-2011. Alimentos–Aceites vegetal comestible – Especificaciones.
67. NOM-147-SSA-1-1996, Bienes y servicios. Cereales y sus productos. Harinas de cereales, de semillas comestibles, harinas, sémolas o semolinas. Alimentos a base de cereales, de semillas comestibles, harinas, sémolas o semolinas o sus mezclas. Productos de panificación. Disposiciones y especificaciones sanitarias y nutrimentales. México.
68. O'Connor, J.; Hoang, S.; Bradney, L.; Dutta, S.; Xiong, X.; Tsang, D.; Ramadass, K.; Vinu, A.; Kirkham, M.; Bolan, N. (2021). A review on the valorisation of food waste as a nutrient source and soil amendment. *Environmental Pollution*, 272, 115985.
69. Oroian, M. & Escriche, I. (2015). Antioxidants: Characterization, natural sources, extraction and analysis. *Food Research International*, 74, 10-36.

70. Pandey, S.; Cabot, P.J.; Shaw, P.N.; Hewavitharana, A.K. (2016). Anti-inflammatory and immunomodulatory properties of *Carica papaya*. *J. Immunotoxicol*, 13, 590–602.
71. Pedraza, S.; Nascimento, R.F., Giovanetti, M.H.; Muñoz, N.; Villamiel, M., Fernández, M.T.; Casas, L.; Mantell, C.; Martínez, E.J.; Ibáñez E. (2021). Valorization of unripe papaya for pectin recovery by conventional extraction and compressed fluids. *The Journal of Supercritical Fluids*, 171, 105133.
72. Puangsri, T.; Abdulkarim, S.M.; Ghazali, H.M. (2005). Properties of *Carica papaya* L. (papaya) seed oil following extractions using solvent and aqueous enzymatic methods. *Journal of Food Lipids*, 12, 62–76.
73. Rani, H.; Sharma, S.; Bala, M. (2021). Technologies for extraction of oil from oilseeds and other plant sources in retrospect and prospects: A review. *Journal of Food Process Engineering*, 1-19.
74. Re, R.; Pellegrini, N.; Proteggente, A.; Pan, N.A.; Yang, M.; Rice, E.C. (1999). Antioxidant Activity applying an improved ABTS radical cation decoloration assays. *Free Radic. Biol. Med*, 26 (9), 1231-1237.
75. Rodríguez, G.; Sibaja, J.; Espitia, P.; Otoni, C. (2020). Antioxidant active packaging based on papaya edible films incorporated with *Moringa oleifera* and ascorbic acid for food preservation. *Food Hydrocolloids*, 103, 105630.
76. Samaram, S.; Mirhosseini, H.; Tan, C.P.; Ghazali, H.M.; Bordbar, S.; Serjouie, A. (2015). Optimisation of ultrasound-assisted extraction of oil from papaya seed by response surface methodology: oil recovery, radical scavenging antioxidant activity, and oxidation stability. *Food Chemistry*, 172, 7–17.
77. Santana, L.F.; Inada, A.C.; Espirito, S.B.; Filiú, W.; Pott, A.; Alves, F.M.; Guimarães, R.; Freitas, K.C.; Hiane, P.A. (2019). Nutraceutical potential of *Carica papaya* in metabolic syndrome. *Nutrients*, 11, 1608.
78. Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales. (2018). Informe de la situación del medio ambiente en México. *Compendio de Estadísticas Ambientales*.
79. SENASICA (2022). Información técnica de papaya mexicana cultura de inocuidad agroalimentaria. SENASICA – (Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria), 1-10.

80. Senrayan, J. & Venkatachalam, S. (2018). Solvent-assisted extraction of oil from papaya (*Carica papaya L.*) seeds: evaluation of its physiochemical properties and fatty-acid composition. *Separation Science and Technology*, 53 (17), 2852–2859.
81. Sharma, P.; Gaur, V.K.; Sirohi, R.; Varjani, S.; Kim, S.H.; Wong, J.W.C. (2021). Sustainable processing of food waste for production of bio-based products for circular bioeconomy. *Bioresource Technology*, 325, 124684.
82. Shen, J.; Zhang, M.; Zhao, L.; Mujumdar, A.S.; Wang, H. (2021). Schemes for enhanced antioxidant stability in frying meat: a review of frying process using single oil and blended oils. *Food Science and Nutrition*, 1-17.
83. Silva, M.V.; Correia, R.M.; Alves, I.R.; Macedo, E.B.; Amparo, D.; Alves, I.; Gonçalves, N.; Wobeto, C.; Neuza, J.; Caetano, S. (2021). Synthetic and Natural Antioxidants Used in the Oxidative Stability of Edible Oils: An Overview. *Food Reviews International*, 1-25.
84. Singh, P.G.; Madhu, S. B.; Reesekhar, S.; Gopenath, T.S.; Basalingappa, K.M., Sushma, B.V. (2020). In vitro antioxidant, anti-inflammatory and anti-microbial activity of *Carica papaya* seeds. *Glob. J. Med. Res*, 20, 19–38.
85. Singh, S.P.; Mishra, A.; Shyanti, R.K.; Singh R.P.; Acharya, A. (2020). Silver Nanoparticles Synthesized Using *Carica papaya* Leaf Extract (AgNPs-PLE) Causes Cell Cycle Arrest and Apoptosis in Human Prostate (DU145) Cancer Cells. *Biol. Trace Elem. Res.*
86. Singh, S.P.; Kumar, S.; Mathan, S.V.; Tomar, M.S.; Singh, R.K; Verma, P.K.; Kumar, A.; Kumar, S.; Singh, R.P.; Acharya, A. (2020). Therapeutic application of *Carica papaya* leaf extract in the management of human diseases. *DARU J. Pharm. Sci.*
87. Socas, B.; Alvarez, G.; Valdés, A.; Ibáñez, E.; Cifuentes, A. (2021). Food by-products and food wastes: are they safe enough for their valorization? *Trends in Food Science & Technology*, 114, 133–147.
88. Sudhakar, N.; Theivanai, V.R.M. (2014). Potential medicinal properties of *Carica papaya* linn. – A mini review. *Int. J. Pharm. Pharm. Sci*, 6, 1–4.
89. Sugiharto, S. (2020). Papaya (*Carica papaya*) seed as a potent functional feedstuff for poultry – A review. *Veterinary World*, 13 (8), 1613-1619.

90. Sun, J.; Li, L.; You, X.; Li, C.; Zhang, E.; Li, Z.; Chen, G.; Peng, H. (2011). Phenolics and polysaccharides in major tropical fruits: chemical compositions, analytical methods and bioactivities. *Analytical Methods*, 3, 2212.
91. Talan, A.; Tiwari, B.; Yadav, B.; Tyagi, R.D.; Wong, J.W.C.; Drogui, P. (2021). Food waste valorization: Energy production using novel integrated systems. *Bioresource Technology*, 322,124538.
92. Tan, B.; Xiang, B.; Zhang, S.; Qiang, Y.; Xu, L.; Chen, S.; He, J. (2020). Papaya leaves extract as a novel eco-friendly corrosion inhibitor for Cu in H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> medium. *J. Colloid Interface Sci*, 582, 918–931.
93. Tan, C.X.; Chong, G.H.; Hamzah, H.; Ghazali, H.M. (2018). Comparison of subcritical CO<sub>2</sub> and ultrasound-assisted aqueous methods with the conventional solvent method in the extraction of avocado oil. *The Journal of Supercritical Fluids*, 135, 45–51.
94. Thi, N.B.D.; Kumar, G.; Lin, C.Y. (2015). An overview of food waste management in developing countries: current status and future perspective. *J. Environ. Manag*, 157, 220e229.
95. Viguera, A. L. (2021). Actividad Antioxidante de extractos de cáscara residual de Toronja mexicana (*Citrus paradisi*). Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México. 10-11.
96. Vij & Pasha (2015). A review on medicinal properties of *Carica papaya* Linn. *Asian Pac. J. Trop. Dis*, 5, 1–6.
97. Xuan, C.; Tyug, S.; Shin, S. (2020). An overview of papaya seed oil extraction methods. *International Journal of Food Science and Technology*, 55, 1506–1514.
98. Yanishlieva, N.V. & Marinova, E.M. (2021). Stabilisation of edible oils with natural antioxidants. *Eur. J. Lipid Sci. Technol*, 103, 752–767.
99. Yusoff, M.M.; Gordon, M.H.; Niranjan, K. (2014). Aqueous enzyme assisted oil extraction from oilseeds and emulsion de-emulsifying methods: a review. *Trends in Food Science & Technology*, 41, 60–82.
100. Zeb, A. (2021). A comprehensive review on different classes of polyphenolic compounds present in edible oils. *Food Research International*, 143, 110312.

101. Zhenlin, H.; Park, A.; Wei, W.S. (2018). Valorization of papaya fruit waste through low-cost fractionation and microbial conversion of both juice and seed lipids. *The Royal Society of Chemistry*, 8, 27963–27972.
102. Zuhair, R.A.; Aminah, A.; Sahilah, A.M.; Eqbal, D.; (2013). Antioxidant activity and physicochemical properties changes of papaya (*Carica papaya* L. cv. Hongkong) during different ripening stage. *Int. Food Res. J*, 20, 1653–1659.