



Imagen tomada de: Canva educativo

# Enriquecimiento de aceite de oliva con carotenoides del pimiento rojo (*Capsicum annuum* L.) por maceración enzimática

## Enrichment of olive oil with carotenoids from red pepper (*Capsicum annuum* L.) by enzymatic maceration

Erik Alberto Báez-Hernández, Samuel García-Díaz, Frixia Galán-Méndez, Laura Acosta-Domínguez\*

### RESUMEN

Los carotenoides pueden incorporarse en los aceites vegetales comestibles mediante maceración, esto permite mejorar la estabilidad de los carotenoides y el enriquecimiento del aceite, aunque la eficiencia de extracción es baja. El objetivo del presente trabajo fue mejorar el proceso de enriquecimiento del aceite de oliva con carotenoides del pimiento rojo (*Capsicum annuum* L.) mediante la maceración, empleando una hidrólisis enzimática previa al tratamiento. El aceite de oliva se enriqueció con carotenoides extraídos por maceración enzimática (AOME) o maceración directa (AOMD). La estabilidad de ambos aceites a 8 °C, 25 °C y 45 °C fue evaluada semanalmente durante 6 semanas midiendo la degradación de carotenoides y la aparición de peróxidos, modelando su cinética de reacción a cada temperatura. AOME reportó mayor cantidad de carotenoides desde el inicio (11.5 %) y a lo largo del estudio. Ambos aceites presentaron la menor tasa de degradación de carotenoides y formación de peróxidos a 8 °C de almacenamiento (4 %), e incremento en la formación de peróxidos a 25 °C y 45 °C, durante las 6 semanas, con una mayor tasa para AOMD. El índice de peróxidos aumentó considerablemente al calentar a 150 °C y 200 °C las muestras de los dos tratamientos mantenidas a 8 °C y 25 °C. Se presentó un valor menor de peróxidos en ambas muestras almacenadas a 45 °C y sometidas a calentamiento, fenómeno asociado con la formación de productos de degradación de peróxidos. La hidrólisis enzimática como pretratamiento mejoró los índices de extracción de carotenoides durante la maceración en aceite de oliva, así como su estabilidad en el almacenamiento. El proceso evaluado representa una alternativa de enriquecimiento del aceite con carotenoides como compuestos bioactivos, cuando el aceite no esté destinado a ser usado en altas temperaturas.

**PALABRAS CLAVE:** maceración enzimática, carotenoides, aceite comestible.

### ABSTRACT

Carotenoids can be incorporated into edible vegetable oils through maceration. This improves the stability of carotenoids and the enrichment of oil, although the extraction efficiency is low. The objective of this work was to improve the process of enriching olive oil with carotenoids from red pepper (*Capsicum annuum* L.) through maceration, using enzymatic hydrolysis prior to treatment. The olive was enriched with carotenoids extracted by enzymatic maceration (AOME) or direct maceration (AOMD). The stability of both oils at 8 °C, 25 °C and 45 °C was evaluated weekly for 6 weeks by measuring the degradation of carotenoids and the appearance of peroxides, modeling their reaction kinetics at each temperature. AOME reported a higher amount of carotenoids from the beginning (11.5 %) and throughout the study. Both oils presented the lowest rate of carotenoid degradation and peroxide formation at 8 °C storage (4 %), and increase in the formation of peroxides at 25 °C and 45 °C, during the 6 weeks, with a higher rate for AOMD. The peroxide index increased considerably when the samples from the two treatments kept at 8 °C and 25 °C were heated to 150 °C and 200 °C. A lower value of peroxides was present in both samples stored at 45 °C and subjected to heating, a phenomenon associated with the formation of peroxide degradation products. Enzymatic hydrolysis as a pretreatment improved the carotenoid extraction rates during maceration in olive oil, as well as its storage stability. The evaluated process represents an alternative for enriching oil with carotenoids as bioactive compounds, when the oil is not intended to be used at high temperatures.

**KEYWORDS:** enzymatic maceration, carotenoids, edible oil.

\*Correspondencia: lacosta@uv.mx/Fecha de recepción: 28 de noviembre de 2023/Fecha de aceptación: 25 de junio de 2024/Fecha de publicación: 10 de julio de 2024.

Universidad Veracruzana, Facultad de Ciencias Químicas, Circuito Gonzalo Aguirre Beltrán s/n, zona Universitaria, Xalapa, Veracruz, México, C. P. 91000.

## INTRODUCCIÓN

Los aceites vegetales comestibles pueden ser enriquecidos con carotenoides, luego de ser extraídos por maceración con solventes orgánicos. Sin embargo, este tipo de disolventes son volátiles, inflamables y tóxicos. Por ello, se han estudiado alternativas que aprovechan las características lipófilas de los carotenoides para esparcirlos en disolventes verdes, como los aceites vegetales, donde se utiliza la maceración directa como metodología de extracción (Caporaso y col., 2013; Cavazza y col., 2015; Liu y col., 2021; Portillo-López y col., 2021).

Los carotenoides son compuestos que pueden degradarse fácilmente, por diversos factores, como temperatura y pH, por lo que, una alternativa para mejorar su estabilidad es incorporarlos a aceites vegetales comestibles, los cuales retrasan su degradación (Cerecedo-Cruz y col., 2018; Otálora-Orrego y col., 2021). La extracción y estabilidad de los carotenoides, en el enriquecimiento de aceites por maceración directa, se ven influenciadas por el tipo y longitud de la cadena, siendo los de cadena larga y alta saturación los que facilitan su liberación (Liu y col., 2021). El aceite de oliva se considera un buen disolvente lipofílico, ya que presenta alto contenido en ácidos grasos monoinsaturados de cadena larga (Xia y col., 2020). Ha mostrado buenos resultados en algunas investigaciones, como disolvente para la extracción de carotenoides (Kehili y col., 2019; Teramukai y col., 2020). Además, puede mejorar eficazmente la biodisponibilidad del  $\beta$ -caroteno, ya que se digiere más rápida y completamente en la fase del intestino delgado; como resultado, más  $\beta$ -caroteno se libera (Xia y col., 2020).

Los aceites se consideran disolventes verdes, ya que no contienen contaminantes y previenen la degradación oxidativa de los carotenoides durante la extracción. Sin embargo, la alta viscosidad de los aceites disminuye su efectividad, debido a que induce baja difusividad y, en consecuencia, provoca una baja extracción, en comparación con el uso de sol-

ventes orgánicos como acetato de etilo y etanol, entre otros. El aceite se puede calentar para reducir su viscosidad y mejorar su difusividad, pero si se utiliza una temperatura muy alta, durante mucho tiempo, puede haber degradación de los carotenoides (Chutia y Mahanta, 2020). En este sentido, es necesario modificar la metodología de maceración directa o aplicar pretratamientos que mejoren las tasas de extracción de carotenoides durante la maceración, por ejemplo, ultrasonido, microondas y fluido supercrítico (Sales-Silva y Martínez, 2014; da-Silva y col., 2018; Suo y col., 2023).

El uso de enzimas hidrolíticas como pretratamiento, en el proceso de extracción con aceites comestibles, facilita la ruptura de la estructura de la pared vegetal del fruto (Nath y col., 2016; Mendoza y col., 2020). Existen diversos trabajos sobre la extracción de aceites u oleorresinas asistidas con enzimas como celulasa, pectinasa, amilasa, lacasas o lipasas, entre otras (Baby y Ranganathan, 2016; Cortés-Ferré y col., 2021). También se utilizan preparados enzimáticos, con más de un tipo de enzima, para degradar diferentes compuestos específicos de la pared de la planta y extraer la oleorresina mucho más fácilmente (Stoica y col., 2016; Walczak y col., 2018).

Se han realizado pocos trabajos relacionados con el uso de pretratamientos enzimáticos para la extracción de carotenoides, uno de ellos es el de Jalali-Jivan y col. (2021), quienes los extrajeron de zanahoria, utilizando pectinasa comercial y elaboraron nanoemulsiones de aceite y agua. Sin embargo, respecto al enriquecimiento de aceites comestibles mediante maceración enzimática no existen investigaciones.

Este trabajo tuvo como objetivo enriquecer un aceite de oliva con carotenoides procedentes de pimiento rojo (*Capsicum annum* L.) mediante maceración enzimática para determinar si es posible aumentar la tasa de extracción de carotenoides y mejorar su estabilidad en almacenamiento y durante la fritura.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Materiales

Se utilizaron pimientos rojos en un estado de madurez óptimo, con un color totalmente rojo y textura firme, obtenidos frescos del mercado de verduras de Xalapa, Veracruz, México. Se usó aceite de oliva extra virgen marca Carbonell, adquirido en la tienda de autoservicio Walmart (Xalapa, Veracruz, México). Se utilizó la mezcla comercial de enzimas celulasas SAE0020 con densidad de 1 g/mL a 1.3 g/mL (Sigma Aldrich, México).

### Obtención de la pulpa del pimiento

Los pimientos se lavaron con solución jabonosa, se les quitó el pedúnculo y las semillas, para ser blanqueados a 80 °C durante 1 min. Posteriormente, se molieron en una licuadora (Oster Oesterizer, 400 W, Estados Unidos) durante 30 s; se determinó su humedad y se mantuvieron a una temperatura de - 70 °C, para su posterior uso.

### Maceración directa

La pulpa de pimiento rojo se mezcló con aceite de oliva en una proporción 1:3 (p/v) y se mantuvo en agitación constante (150 rpm) durante 24 h, protegido de la luz a 25 °C en una incubadora (Novatech EI45-AID, México). Finalmente se centrifugó (HERMLE 2300k, Wehingen, Alemania) a 3 900 rpm a 4 °C durante 20 min para obtener el aceite enriquecido (AOMD; aceite de oliva por maceración directa).

### Hidrolizado

La mezcla comercial de enzimas (1 % con respecto al peso seco del pimiento) se añadió a la pulpa del pimiento rojo y se incubó a 45 °C. Los azúcares reductores fueron cuantificados cada 10 min por el método de DNS (ácido 3,5-dinitrosalicílico), para determinar la etapa de mayor capacidad de hidrólisis de las enzimas (Baby y Ranganathan, 2016). Para ello, se usó un espectrofotómetro UV-vis (Thermo scientific Genesys 20, USA) y se siguió la metodología de Núñez y col. (2012).

### Maceración enzimática

El hidrolizado se mezcló con aceite de oliva

en una proporción 1:3 (p/v) y se mantuvo en agitación constante (150 rpm) durante 24 h, protegido de la luz a 25 °C en una incubadora (Novatech EI45-AID, México). Finalmente, se centrifugó (HERMLE 2300k, Wehingen, Alemania) a 3 900 rpm a 4 °C durante 20 min para obtener el aceite enriquecido (AOME; aceite de oliva por maceración enzimática).

### Almacenamiento de los aceites enriquecidos

Los aceites (AOMD y AOME) se almacenaron a 8 °C (refrigerador Thermo Scientific, México), 25 °C (incubadora Novatech EI45-AID, México) y 45 °C (incubadora Yamato IC103CW, Japón) durante 6 sem. Las temperaturas fueron seleccionadas para prolongar la vida de anaquel (temperatura de refrigeración), emular su manejo comercial (temperatura ambiente) y para acelerar el proceso de oxidación (45 °C).

### Carotenoides totales

La degradación de carotenoides se evaluó mediante la metodología reportada por Hornero-Méndez y Mínguez-Mosquera (2001). Se tomaron alícuotas de 100 µL de AOMD y AOME, y se diluyeron en 5 mL de acetona. El contenido de carotenoides se cuantificó mediante espectrofotometrías UV-vis (Thermo scientific Genesys 20, USA) a 472 nm y 508 nm, utilizando acetona como blanco. Los carotenoides totales se expresaron siguiendo la ley de Lambert Beer con las siguientes ecuaciones.

$$CR = \frac{2144.0xA_{508} - 403.3xA_{472}}{270.9} \quad (1)$$

$$CY = \frac{1724.3xA_{472} - 2450.1xA_{508}}{270.9} \quad (2)$$

$$CT = CR + CY \quad (3)$$

Donde:

A = Absorbancia a la longitud de onda indicada

CT = carotenoides totales

CR = carotenoides de la fracción roja

CY = carotenoides de la fracción amarilla

### Análisis de peróxidos

El valor de peróxidos se evaluó siguiendo la metodología oficial de la American Oils Chemists Society (AOCS cd 8-53) reportada por Cerecedo-Cruz y col. (2018). Se tomó una muestra (0.5 g) en un matraz Erlenmeyer de 50 mL y se mezclaron con 3 mL de ácido acético-cloroformo (3:2). Se agregaron 0.05 mL de solución saturada de yoduro de potasio y se agitó durante 1 min antes de adicionar 3 mL de agua. Se tituló con tiosulfato de sodio 0.001 M, agitando lentamente hasta disminuir el color amarillo. Se agregaron 0.05 mL de solución de almidón al 1 %, continuando la titulación hasta desaparecer el color azul. El resultado se expresó en miliequivalentes de peróxido de oxígeno activo por kilogramo de aceite.

### Modelo cinético y ecuación de Arrhenius

En este estudio, el contenido de carotenoides e índice de peróxidos se evaluaron con la cinética de primer orden en forma lineal (Ec. 4), como lo reporta Cerecedo-Cruz y col. (2018).

$$\ln C = \ln CO \pm kt \quad (4)$$

Donde:

$C$  = el contenido de carotenoides o peróxido total presente en la oleorresina en el momento  $t$

$t$  = el tiempo de almacenamiento

$k$  = la constante cinética para la degradación de carotenoides o la formación de peróxido

$CO$  = el contenido de carotenoides o índice de peróxido en el momento inicial

Se utilizó la ecuación de Arrhenius para determinar la energía de activación de la cinética de la reacción (Ec. 5).

$$\ln(k) = -\frac{Ea}{R} \left(\frac{1}{T}\right) + \ln(A) \quad (5)$$

Donde

$k$  = la constante cinética

$Ea$  = la energía de activación

$A$  = el factor de frecuencia

$T$  = la temperatura

$R$  = la constante de los gases

### Estabilidad de carotenoides y peróxidos a 150 °C y 200 °C

Los aceites (AOME y AOMD) se calentaron a 150 °C y 200 °C durante 5 min, se enfriaron, y posteriormente se realizó la medición de carotenoides totales y se determinó el índice de peróxidos con las metodologías descritas anteriormente.

### Análisis estadístico

Se realizó un Análisis de Varianza (ANOVA, por sus siglas en inglés: Analysis of Variance) de 3 vías para ver diferencias significativas entre los valores de carotenoides según el método utilizado para la extracción, la temperatura y el tiempo de almacenamiento. El análisis se realizó mediante el paquete de análisis estadístico SigmaStat (programa estadístico para análisis de datos científicos) versión 3.5.

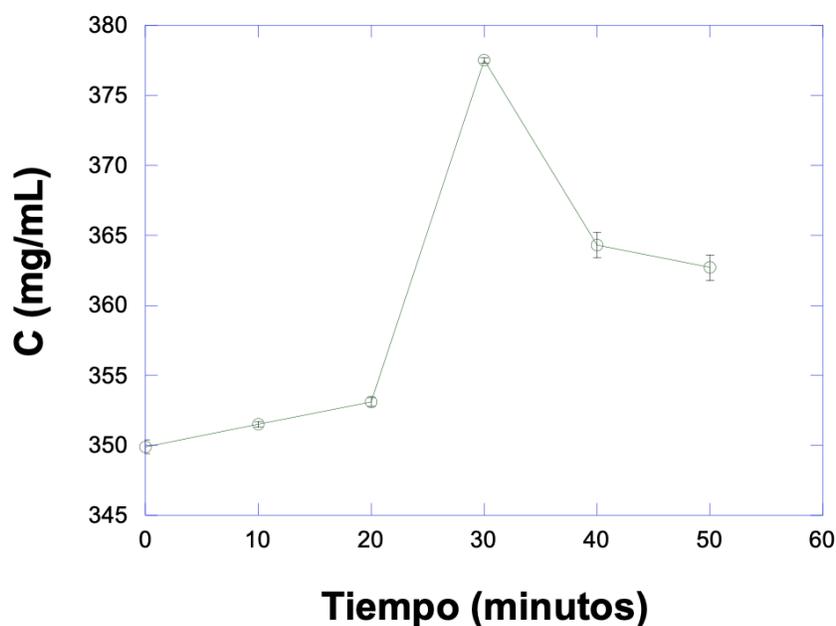
## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Hidrólisis del pimiento rojo

Las enzimas mostraron el mayor nivel de hidrólisis a los 30 min (377.5 mg/mL) (Figura 1), generando la mayor cantidad de azúcares reductores. El máximo nivel de hidrólisis obtenido en este estudio fue menor al reportado por Baby y Ranganathan (2016), quienes elaborando salsa estilo tabasco, consideraron 90 min como tiempo de incubación para la hidrólisis al pimiento rojo. Esta diferencia se debe a que el grado de hidrólisis depende de las enzimas usadas y condiciones de incubación del pimiento (Molina-Peñate y col., 2022).

### Contenido de carotenoides en el almacenamiento

El método enzimático mejoró la extracción de carotenoides, ya que en AOME se presentaron porcentajes mayores de estos compuestos que oscilaron entre un 9 % y 11.5 % con respecto a AOMD al inicio y durante todo el tiempo de almacenamiento, los cuales repre-



■ **Figura 1. Producción de azúcares reductores durante la hidrólisis.**

Figure 1. Production of reducing sugars during the hydrolysis.

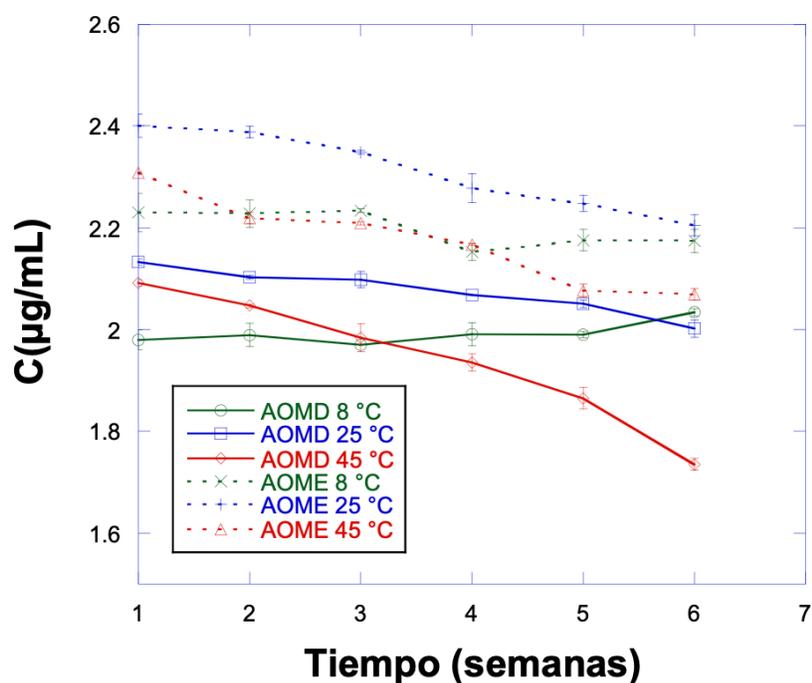
sentaron diferencias significativas entre el método de extracción utilizado ( $P < 0.05$ ). Este valor es inferior a los de-Farias y col. (2020), quienes mostraron un aumento del 16.83 % en el contenido de carotenoides en una salsa tabasco tratada con hidrólisis enzimática. Las diferencias se deben a que ellos no realizaron una maceración en aceite, ya que su objetivo solo fue mejorar la disponibilidad de carotenoides en la propia salsa.

Con respecto al tiempo de almacenamiento, el contenido de carotenoides se redujo en las tres temperaturas estudiadas (a excepción de 8 °C en AOMD), sin embargo, las muestras mostraron una clara disminución en el contenido de carotenoides a 25 °C y 45 °C, mientras que la degradación fue menos evidente a 8 °C en AOME (Figura 2). Por lo tanto, la temperatura de almacenamiento también influyó en la estabilidad de los aceites, ya que se presentaron diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) en la reducción del contenido de carotenoides en las tres temperaturas. Los resultados de carotenoides totales de las muestras de AOMD y AOME almacenadas a 45 °C mostraron una degrada-

ción mayor que a 25 °C durante las 6 sem de almacenamiento, perdiendo aproximadamente el 19 % y 9 %, respectivamente, con relación a su concentración inicial. El AOME almacenado a 8 °C mostró una alta estabilidad porque se produjo una menor disminución en la concentración de carotenoides en comparación con las otras temperaturas, lo que es esperable en un ambiente sin luz para el aceite de oliva, ya que se ha demostrado que es bastante estable en estas condiciones de almacenamiento. Resultados similares tuvieron Liu y col. (2021), quienes estudiaron la degradación de carotenoides en 4 tipos de aceites, encontrando que los carotenoides disminuyeron con el aumento de la temperatura de almacenamiento y la extensión del tiempo de almacenamiento, mientras que la tasa de retención de carotenoides se mantuvo constante en ambiente sin luz a 5 °C.

#### **Modelo cinético y ecuación de Arrhenius de la degradación de carotenoides**

A mayor temperatura corresponde una mayor constante cinética ( $k$ ) y, por lo tanto, más rápida es la degradación de los carotenoides (Tabla 1). Resultados similares se presentaron



■ Figura 2. Variación del contenido de carotenoides durante el almacenamiento.  
 Figure 2. Variation of carotenoids content during storage.

■ Tabla 1. Parámetros del modelo cinético de primer orden de la degradación de carotenoides durante el almacenamiento.  
 Table 1. Parameters of the first-order kinetic model of carotenoid degradation during storage.

Temperatura (°C)	AOMD			AOME		
	k (sem <sup>-1</sup> )	ln C0  (µg/mL)	R <sup>2</sup>	k (sem <sup>-1</sup> )	ln C0  (µg/mL)	R <sup>2</sup>
8	0.008 2	0.019 4	0.524 6	0.004 9	0.001 7	0.538 9
25	0.013 8	0.010 9	0.931 6	0.014 8	0.015 6	0.928 8
45	0.038 5	0.056 9	0.972 4	0.018 3	0.006 1	0.928 3

k: constante cinética; sem: semanas; C0: concentración inicial.

en el trabajo de Cerecedo-Cruz y col. (2018), quienes estudiaron el efecto de los carotenoides en la estabilidad oxidativa del aceite de aguacate.

Los valores de concentración de carotenoides tanto en AOME como en AOMD se comportaron de manera similar a 8 °C, ya que no disminuyeron en el tiempo analizado, por lo que la cinética de reacción de

primer orden de AOMD y AOME a 8 °C no presentó una buena correlación durante el ajuste ( $R^2 = 0.538 9$  para AOME y  $R^2 = 0.524 6$  para AOMD) debido a que los carotenoides registraron una mayor estabilidad a dicha temperatura. Los valores de constante cinética de AOME en este trabajo ( $0.004 9 \text{ sem}^{-1}$ ,  $0.014 8 \text{ sem}^{-1}$  y  $0.018 3 \text{ sem}^{-1}$  para 8 °C, 25 °C y 45 °C, respectivamente) fueron inferiores a los encontrados en el estudio de Cerecedo-Cruz y

col. (2018), donde obtuvieron  $0.024 \text{ 2 sem}^{-1}$ ,  $0.031 \text{ 4 sem}^{-1}$ ,  $0.038 \text{ 3 sem}^{-1}$  para temperaturas de  $6 \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $25 \text{ }^\circ\text{C}$  y  $45 \text{ }^\circ\text{C}$ , respectivamente. Esto se debe a que el aceite de oliva confirió una mayor estabilidad a los carotenoides y disminuyó la degradación de estos, por lo que el aceite de oliva proporciona una mejor protección a los carotenoides, provocando un efecto sinérgico beneficioso entre los carotenoides y el aceite de oliva. Por otro lado, en cuanto a los parámetros de la ecuación de Arrhenius, AOME tuvo una  $E_a$  mayor que AOMD (Tabla 2), por lo que es más sensible a los cambios de temperatura.

### Formación de peróxidos durante el almacenamiento

La concentración de peróxidos (Figura 3) a  $8 \text{ }^\circ\text{C}$  presentó un valor menor en ambas muestras (AOME y AOMD) con respecto a  $25 \text{ }^\circ\text{C}$  y  $45 \text{ }^\circ\text{C}$ , y esta concentración se mantuvo sin cambios significativos en el tiempo de almacenamiento. Las muestras almacenadas a  $45 \text{ }^\circ\text{C}$  mostraron un aumento mayor en el contenido de peróxidos totales, por lo que a más alta temperatura hubo una mayor formación de peróxidos en ambos aceites.

Los valores de los índices de peróxidos en el AOME mostraron concentraciones absolutas finales inferiores a las encontradas en AOMD, en las temperaturas de  $25 \text{ }^\circ\text{C}$  y  $45 \text{ }^\circ\text{C}$ , ya que el aumento de la concentración de carotenoides provocó un mejor efecto antioxidante en el aceite, provocando una mayor estabi-

lidad del aceite en el almacenamiento. Al respecto, Sánchez-Camargo y col. (2019) adicionaron extracto de carotenoides provenientes de cáscara de mango a un aceite de girasol, registrando que los carotenoides protegían el aceite contra la oxidación lipídica. Por otra parte, Treto-Alemán y col. (2021) suplementaron aceite de cártamo con chile piquín, encontrando que, este incrementó el valor antioxidante del aceite, ya que la muestra de chile piquín enriqueció al aceite comestible con antioxidantes naturales, retrasando la formación de peróxidos.

### Modelo cinético y ecuación de Arrhenius de la formación de peróxidos

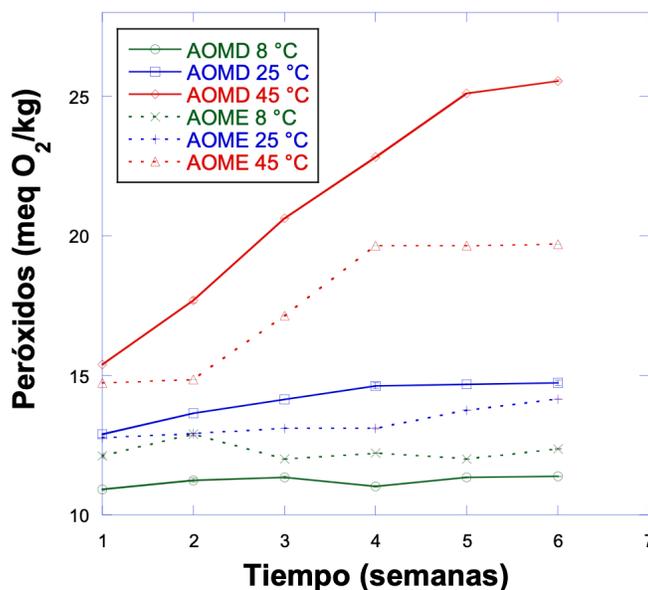
Respecto a los parámetros del modelo cinético de primer orden, que corresponden a la formación de peróxidos en AOME y AOMD, mostraron una mejor correlación a  $45 \text{ }^\circ\text{C}$  (Tabla 3), esto debido a que existe una mayor velocidad de formación de peróxidos a esta temperatura, lo que permite realizar un mejor ajuste de los datos con el modelo cinético. Los valores de la constante cinética ( $k$ ) fueron inferiores a los reportados por Cerecedo-Cruz y col., 2018, ya que ellos registraron  $0.393 \text{ 5 sem}^{-1}$ ,  $0.092 \text{ 6 sem}^{-1}$  y  $0.051 \text{ 3 sem}^{-1}$  en las temperaturas de  $45 \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $25 \text{ }^\circ\text{C}$  y  $6 \text{ }^\circ\text{C}$ , respectivamente, lo cual indica que la reacción de formación de peróxidos en el aceite de oliva es más lenta en el rango de las temperaturas estudiadas que en el aceite de aguacate, lo que puede deberse al efecto antioxidante de los carotenoides presentes y a la

■ **Tabla 2.** Parámetros de la ecuación de Arrhenius de la degradación de carotenoides durante el almacenamiento.

Table 2. Parameters of the Arrhenius equation for carotenoid degradation during storage.

Muestra	$k \text{ (sem}^{-1}\text{)}$	T (K)	$E_a \text{ (J/mol)}$	A ( $\text{sem}^{-1}$ )
AOMD	0.038 1	298.15	411.82	0.044 9
	0.038 5	318.15		
AOME	0.014 8	298.15	8 370.53	0.433 2
	0.018 3	318.15		

k: constante cinética; sem: semanas;  $E_a$ : energía de activación; A: factor de Arrhenius.



■ Figura 3. Concentración de peróxidos (meq O<sub>2</sub>/kg) durante el almacenamiento.  
 Figure 3. Peroxide concentration (meq O<sub>2</sub>/kg) during storage.

■ Tabla 3. Parámetros del modelo cinético de primer orden de la formación de peróxidos durante el almacenamiento.  
 Table 3. Parameters of the first-order kinetic model of peroxide formation during storage.

Temperatura (°C)	AOMD			AOME		
	k (sem <sup>-1</sup> )	ln C0  (µg/mL)	R <sup>2</sup>	k (sem <sup>-1</sup> )	ln C0  (µg/mL)	R <sup>2</sup>
8	0.010 9	0.005 7	0.843 9	0.002 6	0.021 1	0.833 3
25	0.026 3	0.001 8	0.861 3	0.019 6	0.027 9	0.865 2
45	0.105 3	0.065	0.954 5	0.069 4	0.072 3	0.871 5

k: constante cinética; sem: semanas; C0: concentración inicial.

composición química propia del aceite de oliva, que provoca un efecto sinérgico de protección a la oxidación del aceite.

En cuanto a los parámetros de la ecuación de Arrhenius para AOME y AOMD, los valores de energía de activación fueron 49 855.129 J/mol y 54 701.963 J/mol, respectivamente, mostrando valores de energía de activación mayores a lo reportado por Cerecedo-Cruz y col. (2018) (38 337 J/mol), quienes obtuvieron un aceite de aguacate enriquecido con carotenoides por maceración directa. Por lo tanto, los carotenoides en el aceite de oliva presentaron una mayor estabilidad en el almacenamiento que

en el aceite de aguacate, ya que se necesita mayor energía para que inicie la degradación. Sin embargo, AOME registró un valor menor de Ea que AOMD (Tabla 4), lo cual puede indicar que la formación de peróxidos en AOMD es más sensible a los cambios de temperatura.

#### Evaluación de carotenoides y peróxidos a 150 °C y 200 °C

El contenido de carotenoides se redujo con el aumento de la temperatura (Tabla 5). A 150 °C los carotenoides disminuyeron abruptamente y a 200 °C el contenido de carotenoides fue inmensurable. Las muestras al-

■ **Tabla 4.** Parámetros de la ecuación de Arrhenius de la formación de peróxidos durante el almacenamiento.

Table 4. Parameters of the Arrhenius equation of peroxide formation during storage.

Muestra	k (sem <sup>-1</sup> )	T (K)	Ea (J/mol)	A (sem <sup>-1</sup> )
AOMD	0.026 3	298.15	54 701.963	100 835 396
	0.105 3	318.15		
AOME	0.019 6	298.15	49 855.732 4	10 649 249.7
	0.069 4	318.15		

k: constante cinética; T: temperatura; sem: semanas; Ea: energía de activación; A: factor de Arrhenius.

■ **Tabla 5.** Contenido de carotenoides en AOMD y AOME antes y después del freído.

Table 5. Carotenoid content in AOMD and AOME before and after frying.

T. A. (°C)	AOMD			AOME		
	Inicial (µg/mL)	150 °C (µg/mL)	200 °C (µg/mL)	Inicial (µg/mL)	150 °C (µg/mL)	200 °C (µg/mL)
8	2.071 ± 0.051	1.384 ± 0.054	ND*	2.497 ± 0.075	1.552 ± 0.137	ND*
25	2.008 ± 0.006	0.893 ± 0.072	ND*	2.170 ± 0.006	1.443 ± 0.041	ND*
45	1.386 ± 0.003	0.148 ± 0.003	ND*	1.726 ± 0.034	0.291 ± 0.006	ND*

T. A.: Temperatura de almacenamiento; ND\*: no detectable.

macenadas a 45 °C que fueron sometidas a 150 °C presentaron una disminución mucho mayor, en comparación con las otras dos temperaturas de almacenamiento a 8 °C y 25 °C. Estos resultados sugieren que el aceite de oliva enriquecido con carotenoides no debe someterse a 150 °C o 200 °C, en las actividades culinarias como el freído, horneado o la cocción, que se realizan a temperaturas altas. Los aceites almacenados a temperaturas más bajas tuvieron una menor pérdida de carotenoides que los almacenados a 45 °C, después del tratamiento a temperaturas altas (150 °C y 200 °C), esto es debido a que inicialmente los aceites almacenados a 45 °C, ya presentaban un grado de oxidación mayor, es decir, una cantidad inicial de peróxidos más alta que los otros almacenados a 8 °C y 25 °C, y al

ser calentados a 150 °C y 200 °C, se provocó una mayor velocidad de oxidación, afectando directamente el contenido de carotenoides.

Los resultados del contenido de peróxidos después de calentar las muestras a 150 °C y 200 °C se muestran en la Tabla 6, donde se observa que tanto AOMD como AOME tuvieron un aumento significativo con respecto a su contenido inicial de peróxidos, después de su almacenamiento a 8 °C y 25 °C (a excepción de AOME a 25 °C). Sin embargo, las muestras almacenadas a 45 °C y sometidas a 200 °C mostraron una disminución en su valor de concentración, lo cual se debe a la formación de otros productos de degradación que terminan el ciclo de oxidación de los aceites, disminuyendo la concentración

■ Tabla 6. Contenido de peróxidos de AOMD y AOME antes y después del freído.  
Table 6. Peroxide content of AOMD and AOME before and after frying.

T. A. (°C)	AOMD			AOME		
	Inicial (meq O <sub>2</sub> /kg)	150 °C (meq O <sub>2</sub> /kg)	200 °C (meq O <sub>2</sub> /kg)	Inicial (meq O <sub>2</sub> /kg)	150 °C (meq O <sub>2</sub> /kg)	200 °C (meq O <sub>2</sub> /kg)
8	12.663 ± 0.617	23.690 ± 0.154	24.5633 ± 0.771	12.827 ± 0.157	25.000 ± 0.154	28.602 ± 0.308
25	14.890 ± 0.061	24.508 ± 0.077	25.4367 ± 0.154	13.826 ± 0.100	24.454 ± 0.617	21.834 ± 0.087
45	31.113 ± 0.771	26.855 ± 0.000	12.008 ± 1.543	22.379 ± 0.771	24.235 ± 1.235	15.283 ± 0.000

T. A.: Temperatura de almacenamiento.

de peróxidos debido a su descomposición y formación de otros productos volátiles (Zhang y col., 2023).

## CONCLUSIONES

La utilización de una mezcla de enzimas celulasas con una densidad de 1 g/mL a 1.3 g/mL antes de la maceración del fruto en el aceite de oliva permitió aumentar el rendimiento de extracción de los carotenoides del pimiento rojo, por lo que puede funcionar como pretratamiento para el enriquecimiento de aceites vegetales con estos compuestos. El aceite enriquecido por maceración enzimática (AOME) presentó una menor velocidad de oxidación durante el almacenamiento, que el aceite enriquecido por maceración directa (AOMD), debido a la presencia de un mayor contenido de carotenoides que disminuye la veloci-

dad de formación de peróxidos. Por lo tanto, el enriquecimiento de aceites comestibles es una opción para la preservación de los mismos, y de los carotenoides durante su almacenamiento a temperaturas inferiores a 45 °C, siendo no adecuado su calentamiento a temperaturas altas, ya que se generan altas concentraciones de peróxidos y otros productos de degradación. Actualmente existe una demanda alta de productos alimenticios saludables en muchos países industriales, por lo que el AOMD o AOME puede ser uno de ellos y puede ser usado o consumido en la formulación de productos alimenticios que no requieran ser calentados a altas temperaturas.

## DECLARACIÓN DE INTERESES

Los autores declararon no tener conflicto de interés alguno.

## REFERENCIAS

- Baby, C. K. & Ranganathan, T. V. (2016). Effect of enzyme pretreatment on yield and quality of fresh green chilli (*Capsicum annuum* L) oleoresin and its major capsaicinoids. *Biocatalysis and agricultural biotechnology*, 7, 95-101. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2016.05.010>
- Caporaso, N., Paduano, A., Nicoletti, G., & Sacchi, R. (2013). Capsaicinoids, antioxidant activity, and volatile compounds in olive oil flavored with dried chili pepper (*Capsicum annuum*). *European journal of lipid science and technology*, 115(12), 1434-1442. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201300158>
- Cavazza, A., Corti, S., Mancinelli, C., Bignardi, C., & Corradini, C. (2015). Effect of the addition of chili pepper powder on vegetable oils oxidative stability. *Journal of the american oil chemists' society*, 92(11), 1593-1599. <https://doi.org/10.1007/s11746-015-27389>
- Cerecedo-Cruz, L., Azuara-Nieto, E., Hernández-Álvarez, A. J., González-González, C. R., & Melgar-Lalanne, G. (2018). Evaluation of the oxidative

- stability of Chipotle chili (*Capsicum annum* L.) oleoresins in avocado oil. *Grasas y aceites*, 69(1), 240. <https://doi.org/10.3989/gya.0884171>
- Chutia, H. & Mahanta, C. L. (2020). Green ultrasound and microwave extraction of carotenoids from passion fruit peel using vegetable oils as a solvent: Optimization, comparison, kinetics, and thermodynamic studies. *Innovative food science and emerging technologies*, 67, 102547. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2020.102547>
- Cortés-Ferré, H. E., Guajardo-Flores, D., Romero-De-La-Vega, G., & Gutierrez-Uribe, J. A. (2021). Recovery of Capsaicinoids and Other Phytochemicals Involved With TRPV-1 Receptor to Re-valorize Chili Pepper Waste and Produce Nutraceuticals. *Frontiers in sustainable food systems*, 4, 303. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2020.588534>
- Da-Silva, P. H. R., da-Silva, C., & Cervejeira-Bolanho, B. (2018). Ultrasonic-assisted extraction of betalains from red beet (*Beta vulgaris* L.). *Journal of food process engineering*, 41(6)1-6. <https://doi.org/10.1111/jfpe.12833>
- De-Farias, V. L., da-Silva-Araújo, I. M., da-Rocha, R. F. J., dos-Santos-Garruti, D., & Pinto, G. A. S. (2020). Enzymatic Maceration of Tabasco Pepper: Effect on the Yield, Chemical and Sensory Aspects of the Sauce. *LWT*, 127, 109311. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109311>
- Hornero-Méndez, D. & Mínguez-Mosquera, M. I. (2001). Rapid Spectrophotometric Determination of Red and Yellow Isochromic Carotenoid Fractions in Paprika and Red Pepper Oleoresins. *Journal of agricultural and food chemistry*, 49(8), 3584-3588. <https://doi.org/10.1021/jf0104001>
- Jalali-Jivan, M. J., Fathi-Achachlouei, B., Ahmadi-Gavlighi, H., & Jafari, S. M. (2021). Improving the extraction efficiency and stability of  $\beta$ -carotene from carrot by enzyme-assisted green nanoemulsification. *Innovative food science & emerging technologies*, 74, 102836. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2021.102836>
- Kehili, M., Sayadi, S., Frikka, F., Zammel, A., & Allouche, N. (2019). Optimization of lycopene extraction from tomato peels industrial by-product using maceration in refined olive oil. *Food and bioprocesses processing*, 117, 321-328. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2019.08.004>
- Liu, Y., Zhang, C., Cui, B., Wang, M., Fu, H., & Wang, Y. (2021). Carotenoid-enriched oil preparation and stability analysis during storage: Influence of oils' chain length and fatty acid saturation. *LWT - Food science and technology*, 151, 112163. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112163>
- Mendoza, N. N. G., Rodríguez, S. A. V., & Lima, B. L. R. (2020). Improvement of the extraction of carotenoids and capsaicinoids of chili pepper native (*Capsicum baccatum*), assisted with cellulolytic enzymes. *Revista peruana de biología*, 27(1), 055-060. <https://doi.org/10.15381/rpb.v27i1.17588>
- Molina-Peñate, E., Sánchez A., & Artola, A. (2022). Enzymatic hydrolysis of the organic fraction of municipal solid waste: Optimization and valorization of the solid fraction for *Bacillus thuringiensis* biopesticide production through solid-state fermentation. *Waste management*, 137, 304-311. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2021.11.014>
- Nath, P., Kaur, C., Rudra, S. G., & Varghese, E. (2016). Enzyme-assisted extraction of carotenoid-rich extract from red capsicum (*Capsicum annum*). *Agricultural research*, 5, 193-204. <https://doi.org/10.1007/s40003-015-0201-7>
- Núñez, R. Á., Pérez, B. R., Motzezak, R. H. y Chirinos, M. (2012). Contenido de azúcares totales, reductores y no reductores en Agave cocui Trelease. *Multiciencias*, 12(2), 129-135.
- Otálora-Orrego, D. y Martín, D. A. (2021). Técnicas emergentes de extracción de  $\beta$ -caroteno para la valorización de subproductos agroindustriales de la zanahoria (*Daucus carota* L.): una revisión. *Informador técnico*, 85(1), 83-106. <https://doi.org/10.23850/2565035.2857>
- Portillo-López, R., Morales-Contreras, B. E., Lozano-Guzmán, E., Basilio-Heredia, J., Muy-Rangel, M. D., Ochoa-Martínez, L. A., & Morales-Castro, J. (2021). Vegetable oils as green solvents for carotenoid extraction from pumpkin (*Cucurbita argyrosperma* Huber) byproducts: Optimization of extraction parameters. *Journal of food science*, 86(7), 3122-3136. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15815>
- Sales-Silva, L. P. & Martínez, J. (2014). Mathematical modeling of mass transfer in supercritical fluid extraction of oleoresin from red pepper. *Journal of food engineering*, 133, 30-39. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2014.02.013>
- Sánchez-Camargo, A. P., Gutierrez, L. F., Milena, S., Martínez, H., Parada, F., & Narváez, C. E. (2019). Valorisation of mango peel: Proximate composition, supercritical fluid extraction of carotenoids, and application as an antioxidant additive for an edible

oil. *Journal of supercritical fluids*, 152, 104574. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2019.104574>

Stoica, R., Moscovici, M., Tomulescu, C., & Băbeanu, N. (2016). Extraction and analytical methods of capsaicinoids - a review. *Scientific bulletin series F. biotechnologies*, 20, 93-98.

Suo, A., Fan, G., Wu, C., Li, T., & Cong, K. (2023). Green extraction of carotenoids from apricot flesh by ultrasound assisted corn oil extraction: Optimization, identification, and application. *Food chemistry*, 420, 136096. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.136096>

Teramukai, K., Kakui, S., Beppu, F., Hosokawa, M., & Miyashita, K. (2020). Effective extraction of carotenoids from brown seaweeds and vegetable leaves with edible oils. *Innovative food science and emerging technologie*, 60, 2-7. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2020.102302>

Treto-Alemán, K. M., Torres-Castillo, J. A., Contreras-Toledo, A. R. y Moreno-Ramírez, Y. R. (2021). Enriquecimiento del aceite comestible por compuestos fenólicos y antioxidantes de chile piquín (*Capsicum annuum* var. *glabriusculum*). *CienciaUAT*, 15(2), 156-168. <https://doi.org/10.29059/cienciauat.v15i2.1459>

Walczak, J., Buszewski, B., Krakowska, A., & Rafinska, K. (2018). Enzyme-assisted optimized supercritical fluid extraction to improve *Medicago sativa* polyphenolics isolation. *Industrial crops and products*, 124, 931-940. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.08.004>

Xia, Z., Han, Y., Du, H., McClements, D. J., Tang, Z., & Xiao, H. (2020). Exploring the effects of carrier oil type on in vitro bioavailability of  $\beta$ -carotene: A cell culture study of carotenoid-enriched nanoemulsions, *LWT-Food science and technology*, 134, 110224. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110224>

Zhang, J., Zhang, M., Chen, K., Bhandari, B., & Deng, D. (2023). Impact of cooking methods on the quality, sensory and flavor compounds of Sichuan pepper oleoresin. *Food chemistry*, 427, 136639. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.136639>