

## Efecto de la Presión y la Temperatura de Extracción con CO<sub>2</sub> Supercrítico Sobre el Rendimiento y Composición de Aceite de Semillas de Guayaba (*Psidium guajava*)

Leidy J. Cerón<sup>(1)</sup>, Andrés M. Hurtado<sup>(1)\*</sup> y Alfredo A. Ayala<sup>(2)</sup>

(1) Facultad de Ingeniería Agroindustrial, Grupo de Investigación Tecnologías Emergentes en Agroindustria – TEA. Universidad de Nariño, Pasto-Colombia. (e-mail: leidy-c18@hotmail.com; \*ahurtadob@hotmail.com)

(2) Facultad de Ingeniería, Escuela de Ingeniería de Alimentos, Grupo de Investigación en Ingeniería de Procesos Agroalimentarios y Biotecnológicos – GIPAB, Universidad del Valle, Cali-Colombia. (e-mail: alfredo.ayala@correounivalle.edu.co)

Recibido Mar. 22, 2016; Aceptado May. 17, 2016; Versión final Jul. 15, 2016, Publicado Dic. 2016

### Resumen

Se evaluó la extracción de aceite de semillas de guayaba con CO<sub>2</sub> supercrítico utilizando un diseño central compuesto, con el fin de determinar el efecto de la presión (20-35 MPa) y la temperatura (313-333 K), sobre el rendimiento del aceite y su composición. Se trabajó con un flujo de CO<sub>2</sub> constante de 30 g/min y un tiempo de extracción de 150 minutos. Los aceites obtenidos fueron analizados por cromatografía de gases de acuerdo a su perfil de ácidos grasos. Los resultados obtenidos permitieron establecer que la presión ejerció un efecto significativo sobre el rendimiento y se alcanzó un valor óptimo de 13,9 % p/p al operar a 35,7 MPa y 325 K. Los ácidos grasos identificados fueron los ácidos linoleico, palmítico, oleico y esteárico. La presión ejerció un efecto estadísticamente significativo sobre el contenido de ácido palmítico, el cual disminuyó con el aumento de la presión.

*Palabras clave:* guayaba; aceite de semillas; extracción con fluidos supercríticos; diseño central compuesto; composición de ácidos grasos

## Effect of Pressure and Temperature of Extraction with Supercritical CO<sub>2</sub> on the Yield and Composition of Guava Seed Oil (*Psidium guajava*)

### Abstract

The effect of the pressure (20-35 MPa) and temperature (313-333 K) of extraction with supercritical CO<sub>2</sub> on the yield and composition of guava seed oil using a central composite design was evaluated. The flow of CO<sub>2</sub> and the extraction time were fixed at 30 g/min and 150 minutes, respectively. The oils obtained were analyzed by gas chromatography according to their fatty acid profile. The pressure had a significant effect on the yield. The optimum conditions were 35,7 MPa and 325 K obtaining 13,9 % w/w on the oil yield. The fatty acids identified were linoleic, palmitic, oleic and stearic acids. The pressure showed a statistically significant effect on the content of palmitic acid, decreasing it when the pressure increased.

*Keywords:* guava; seed oil; supercritical fluid extraction; central composite design; fatty acid composition

## INTRODUCCIÓN

Los productos alimentarios procesados han tomado importancia en la sociedad de consumo actual, esto es debido a la necesidad de productos que faciliten la cotidianidad de las personas y la satisfacción de sus requerimientos alimentarios (Contreras-Calderón *et al.*, 2011). En este sentido, las características organolépticas, nutricionales y funcionales de las frutas, han despertado un creciente interés en el sector industrial del procesamiento (Alothman *et al.*, 2009); destacándose la fabricación de jugos frescos y concentrados, purés, pulpas congeladas, bebidas fermentadas, jaleas, dulces, helados, entre otros (Bezerra Sousa *et al.*, 2011). Sin embargo el procesamiento de las frutas genera miles de toneladas de residuos, los cuales causan problemas de contaminación ambiental cuando no son tratados adecuadamente; estos residuos pueden llegar a representar del 30 al 40 % del total de las frutas y están constituidos generalmente por cáscaras, semillas y bagazo (Viganó *et al.*, 2015).

La guayaba (*Psidium guajava*) es una fruta tropical perteneciente a la familia Myrtaceae (Joseph y Priya, 2011), es rica en vitamina C, fibra dietética, minerales y presenta altos niveles de antioxidantes polifenólicos, contiene flavonoides, triterpenoides, y otros compuestos secundarios biológicamente activos (Sanda y Bukar-Kolo, 2011; Zapata *et al.*, 2013). Además de su alto contenido nutricional, la guayaba es muy apetecida para el procesamiento por sus características organolépticas y sus propiedades medicinales (Nivia *et al.*, 2007; Pérez *et al.*, 2008; Steinhaus *et al.*, 2008). Entre los residuos que se generan en el procesamiento de esta fruta se encuentran las semillas, las cuales han demostrado ser una fuente alternativa de proteína y aceite (Bernardino-Nicanor *et al.*, 2006). El aceite obtenido de las semillas de guayaba presenta altos niveles de ácidos grasos poliinsaturados, por lo cual puede tener una amplia gama de aplicaciones en la industria alimentaria, cosmética y farmacéutica (Castro-Vargas *et al.*, 2011).

A pesar de que se han realizado diversos estudios con respecto al beneficio de utilizar residuos de frutas para la obtención de compuestos bioactivos potencialmente valiosos, con el fin de agregar valor, estos comúnmente son utilizados como alimento para animales o fertilizantes del suelo en la agricultura o simplemente hacen parte de los residuos sólidos los cuales generan grandes impactos ambientales (Herrero *et al.*, 2006; Contreras-Calderón *et al.*, 2011; Viganó *et al.*, 2015). Sin embargo, es necesario resaltar que el aprovechamiento de residuos agroindustriales es un área con gran potencial económico, debido a la posibilidad de obtener nuevos productos industriales con un alto valor agregado que permitan incrementar el desarrollo regional.

Los aceites y compuestos bioactivos a partir de residuos pueden ser obtenidos mediante diversas técnicas de extracción clásicas como la extracción Soxhlet con solventes orgánicos y el prensado; pero en general estos métodos convencionales de extracción presentan inconvenientes relacionados con tiempos de extracción largos, baja selectividad y la descomposición térmica de compuestos lábiles. Además la extracción Soxhlet tiene el inconveniente de dejar trazas del solvente utilizado, lo cual hace que la calidad del producto disminuya (Lafont *et al.*, 2011; Cerón *et al.*, 2012; Azmir *et al.*, 2013; Hurtado *et al.*, 2014).

Debido a estos inconvenientes, se han desarrollado nuevas y promisorias técnicas de extracción, entre las que se encuentra la extracción con fluidos supercríticos, la cual es considerada como una técnica verde, que permite una extracción selectiva variando condiciones de presión y temperatura, bajo consumo energético, posibilidad de extracción de compuestos termolábiles, fácil eliminación del fluido utilizado en la extracción y empleo mínimo o nulo de solventes orgánicos, siendo el principal solvente utilizado para la extracción el dióxido de carbono en estado supercrítico (Velasco *et al.*, 2007; Wijngaard *et al.*, 2012; Hurtado *et al.*, 2016). De esta manera el objetivo de la presente investigación fue determinar el efecto de la temperatura y la presión de extracción con CO<sub>2</sub> supercrítico, sobre el rendimiento y composición de aceite de semillas de guayaba.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### *Materia prima*

Las semillas de guayaba utilizadas en la investigación fueron suministradas por la empresa Andina de Conservas (Pasto-Colombia), dedicada a la elaboración de dulces y pulpas de frutas. Las semillas recolectadas fueron lavadas de manera manual con abundante agua con el fin de eliminar restos de cáscara y pulpa adheridas a las mismas.

### *Secado y molienda de las semillas de guayaba*

Las semillas de guayaba lavadas fueron secadas empleando un secador de bandejas FIQ-LTDA- CST-800, a una temperatura promedio de 313 K durante 8 horas, con lo cual se alcanzó una humedad de 9,8 %. Las semillas fueron molidas en un molino de cuchillas modelo A11 (IKA, Alemania), con lo cual se obtuvo un

tamaño de partícula de 645 µm el cual se determinó empleando un equipo de tamizado modelo PS-35 serie 1182 y la serie de tamices (10-80, A.S.T.M.E.-11); las semillas molidas fueron empacadas al vacío y refrigeradas a 277 K para el posterior proceso de extracción.

#### *Análisis químico proximal de las semillas de guayaba*

Las semillas de guayaba molidas fueron sometidas a un análisis proximal para determinar su composición química. Éste análisis fue realizado de acuerdo a lo establecido por la Asociación Oficial Internacional de Químicos Analíticos (AOAC), para lo cual se calcularon los siguientes parámetros: humedad, cenizas, grasa, fibra cruda, proteína cruda y extracto etéreo.

#### *Reactivos y Solventes*

Se utilizó dióxido de carbono con una pureza del 99,8 % (Cryogas, Colombia); Helio (99,99 %) (Linde, Colombia). Se utilizaron estándares internos para el análisis de ésteres metílicos de ácidos grasos (FAME`s) (Restek, Bellefonte, USA). Todos los disolventes utilizados fueron de grado HPLC (Honeywell, USA).

#### *Proceso de extracción con CO<sub>2</sub> supercrítico (CO<sub>2</sub> SC)*

La extracción de aceite de semillas de guayaba con CO<sub>2</sub> SC, se realizó en un equipo Waters-Thar SFE-500 (USA), utilizando como solvente CO<sub>2</sub>. El equipo consta de una celda de extracción y un separador de 500 mL, un sistema de regulación y control de presión, temperatura y flujo de entrada de CO<sub>2</sub>, que opera través del software Process Suite (Versión 5,9). 200 g de semillas de guayaba molida fueron cargados en la celda de extracción y se trabajó con un flujo de CO<sub>2</sub> constante de 30 g/min durante 150 minutos. Este tiempo de extracción fue definido con un análisis previo de la cinética de extracción del rendimiento del aceite con relación al tiempo. El aceite de guayaba fue recolectado al final de la extracción en viales tipo ámbar y almacenado en refrigeración a 277 K para su posterior análisis. El rendimiento se determinó con base en la cantidad de aceite obtenido por unidad másica del material empleado al inicio de la extracción (semilla de guayaba molida) en términos porcentuales, tal como se indica en la siguiente ecuación.

$$\text{Rendimiento aceite } (\% \frac{p}{p}) = \frac{\text{peso de aceite de guayaba obtenido (g)}}{\text{peso de semilla de guayaba (g)}} * 100 \quad (1)$$

#### *Extracción de aceite por el método Soxhlet*

La extracción Soxhlet se llevó a cabo con el fin de comparar el rendimiento de aceite obtenido por este método con el obtenido en la extracción con CO<sub>2</sub> SC. Para la extracción se utilizaron 15 g de semillas de guayaba y 100 mL de hexano a 342 K; el tiempo de extracción fue de 8 horas. El disolvente se evaporó del aceite extraído utilizando un evaporador al vacío giratorio (Buchi RE 121, Suiza). Las trazas del disolvente fueron eliminadas en una mufla a 375 K durante 2 horas. Finalmente el aceite fue almacenado en una nevera a 277 K para su posterior análisis.

#### *Análisis del perfil de ácidos grasos del aceite GC-FID*

La identificación y cuantificación de los ácidos grasos presentes en el aceite de semillas de guayaba fue realizado en un cromatógrafo de gases Shimadzu GC 17A versión 3, equipado con detector de ionización de llama (FID) a 553 K y un inyector split/splitless a temperatura de 523 K, relación Split 1:10. Se empleó una columna capilar DB-WAX (J&W Scientific, 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm) con una fase estacionaria de 5 % fenil-polimetilsiloxano. Se utilizó como gas portador helio a un flujo de 1 mL/min. El análisis se llevó a cabo con el siguiente programa de temperatura en el horno: 313 K durante 5 minutos y calentamiento de 313 a 523 K a una tasa de 5 K/min. El volumen inyectado de la muestra fue de 1,0 µL. Para la determinación de los ácidos grasos del aceite de semillas de guayaba, se siguió la metodología propuesta por Castro-Vargas *et al.* (2011); de esta manera se realizó una transesterificación del aceite a sus correspondientes ésteres metílicos (FAME`s), para lo cual se utilizaron 200 µL de aceite al que se le adicionaron 5 mL de solución derivatizante de ácido clorhídrico/metanol al 5 %. Los datos cromatográficos fueron obtenidos y procesados con el software Shimadzu VP Clase 4.3. La identificación de los ácidos grasos se realizó empleando una mezcla estándar de ácidos grasos, analizados bajo las mismas condiciones operacionales. La cuantificación se realizó mediante el cálculo del porcentaje relativo del área cromatográfica.

#### *Diseño experimental*

Se llevó a cabo un Diseño Central Compuesto 2<sup>2</sup> (DCC) utilizando la metodología de superficie de respuesta, con el fin de determinar el efecto de las condiciones de presión (20 - 35 MPa) y temperatura (313

- 333 K), sobre el rendimiento y la composición del aceite de semillas de guayaba. Para ello se emplearon 4 puntos del diseño factorial 2<sup>2</sup>, 4 puntos estrellas y 4 puntos centrales, para un total de 12 experimentos (Ver Tabla 2). Los experimentos se llevaron a cabo por triplicado y de manera aleatoria. El análisis de los resultados se realizó utilizando el software Statgraphics Centurión XV.II (StatPoint Technologies, Inc., Warrenton, VA, USA). La significancia de los factores fue determinada mediante un análisis de varianza (ANOVA). Aquellos factores con valores de  $p < 0,05$  fueron considerados estadísticamente significativos.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### *Análisis químico proximal de las semillas de guayaba*

El análisis químico proximal (Tabla 1), indicó que las semillas de guayaba con las cuales se realizó el proceso de extracción de aceite, presentaron como componente principal la fibra (70,0 g/100 g), seguido de la grasa (15,1 g/100 g), proteína (10,7 g/100 g), carbohidratos (3,10 g/100 g) y cenizas (1,06 g/100g). Los resultados están expresados en base seca. Esta composición de la semilla de guayaba fue similar a la reportada por Bernardino-Nicanor *et al.* (2006), quienes caracterizaron la semilla de guayaba obtenida de una planta de procesamiento ubicada en Querétaro México (industria Boing).

Tabla 1: Análisis químico proximal de semillas de guayaba

Parámetro	Semillas de guayaba
Humedad	6,66
Materia seca	93,34
Ceniza	1,06
Grasa	15,10
Fibra cruda	70,00
Proteína	10,70
Extracto no nitrogenado	3,10

### *Extracción de aceite de semilla de guayaba con CO<sub>2</sub> supercrítico (CO<sub>2</sub> SC)*

Los resultados del rendimiento de la extracción con CO<sub>2</sub> SC, bajo diferentes condiciones de presión y temperatura, utilizando el diseño central compuesto (DCC) se observan en la Tabla 2 (valores codificados entre paréntesis). El mayor rendimiento de aceite a nivel experimental fue de 13,44 % p/p obtenido a una presión de 38,1 MPa y 323 K. Este rendimiento fue mayor al reportado por Castro-Vargas *et al.* (2011), quienes obtuvieron un rendimiento del 1,40 % p/p al trabajar a 30 MPa y 313 K, en la extracción de aceite de semillas de guayaba obtenidas de diferentes industrias del municipio de Barbosa (Santander-Colombia). Sin embargo los autores reportan un significativo aumento de este porcentaje cuando emplearon etanol como co-solvente en la extracción, con lo cual obtuvieron un 17,30 % p/p, rendimiento superior al reportado en esta investigación. Esta diferencia en el rendimiento puede deberse a las condiciones agroecológicas de donde proceden las frutas, lo cual está directamente relacionado con la composición química de las semillas (Bernardino-Nicanor *et al.*, 2006) y a las diferencias en las condiciones de extracción del CO<sub>2</sub>, además de utilizar etanol como co-solvente en la extracción.

Tabla 2: Resultados del diseño central compuesto para rendimiento de aceite de semillas de guayaba obtenido con CO<sub>2</sub> SC y extracción Soxhlet

Condiciones de extracción		Rendimiento promedio (% p/p)	Desviación Estándar
Presión (MPa)	Temperatura (K)		
20 (-1,0)	313 (-1,0)	3,6	0,12
20 (-1,0)	333 (+1,0)	2,3	0,11
35 (+1,0)	313 (-1,0)	10,14	0,32
35 (+1,0)	333 (+1,0)	12,76	0,18
16,8 (-1,41)	323 (0)	1,95	0,03
38,1 (+1,41)	323 (0)	13,44	0,21
27,5 (0)	309 (-1,41)	7,91	0,14
27,5 (0)	337 (+1,41)	6,1	0,28
27,5 (0)	323 (0)	11,66	0,26
Soxhlet		14,29	0,71

En la Tabla 2, también se puede observar el rendimiento de aceite de semilla de guayaba obtenido por el método Soxhlet empleando hexano como solvente. El rendimiento obtenido por este método fue de 14,29 % p/p, por lo cual no se presentaron diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0,05$ ), en comparación con el rendimiento de aceite obtenido con el CO<sub>2</sub> SC a 38,1 MPa y 323 K; estos resultados indican que la extracción con CO<sub>2</sub> SC, es eficiente para la obtención de aceite de semilla de guayaba, ya que esta técnica ofrece rendimientos similares a la extracción con solventes que es una de la técnicas más utilizadas para este proceso y además se obtienen extractos libres de disolventes peligrosos como el hexano o el diclorometano.

#### *Efecto de las condiciones de extracción del CO<sub>2</sub> SC sobre el rendimiento de aceite de semilla de guayaba*

El análisis de la significancia estadística de la presión y la temperatura de extracción con CO<sub>2</sub> SC sobre el rendimiento de aceite de semillas de guayaba, se determinó usando un análisis de varianza, tal como se indica en la Tabla 3. La presión (A), el término cuadrático de la presión (AA) y de la temperatura (BB) y la interacción presión-temperatura (AB), presentaron un efecto estadísticamente significativo ( $p < 0,05$ ) sobre el rendimiento en la extracción del aceite de semillas de guayaba.

Tabla 3: Análisis de varianza para el rendimiento de aceite de semillas de guayaba obtenido con CO<sub>2</sub> SC

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-p
A:Presión MPa	276,262	1	276,262	448,20	0,0000
B:Temperatura K	1,16526	1	1,16526	1,89	0,1943
AA	29,3656	1	29,3656	47,64	0,0000
AB	7,64405	1	7,64405	12,40	0,0042
BB	46,431	1	46,431	75,33	0,0000
Bloques	0,0539292	1	0,0539292	0,09	0,7724
Error total	7,39649	12	0,616374		
Total (corr.)	343,959	18			

En la Fig. 1, se observa que la presión tiene un efecto positivo sobre el rendimiento de aceite de semillas de guayaba obtenido con CO<sub>2</sub> SC. Al incrementar la presión de 20 a 35 MPa, el rendimiento aumenta significativamente, en los niveles de temperatura evaluados. Esto se presenta porque al aumentar la presión, el CO<sub>2</sub> SC experimenta un incremento en su densidad, lo que se ve reflejado en un mayor poder de solvatación ante la matriz de extracción (Castro *et al.*, 2010). Este efecto también ha sido reportado en la extracción de aceite de semillas de maracuyá (Cardoso de oliveira *et al.*, 2013), almendra de mango (Jahurul *et al.*, 2014) y aceite de café (Hurtado *et al.*, 2016). Teniendo en cuenta la interacción de la presión y la temperatura, se puede establecer que al trabajar a presiones bajas (20 MPa), al aumentar la temperatura de 313 K a 333 K, se observa una disminución en el rendimiento. Esto es debido a la relación inversa que existe entre la temperatura y la densidad, por lo cual a una mayor temperatura de extracción, se experimenta una disminución de la densidad del CO<sub>2</sub> SC y en consecuencia en el rendimiento. Sin embargo al operar a un nivel de presión más alto (35 MPa), el rendimiento aumenta, al incrementar los niveles de la temperatura, a pesar de la reducción en la densidad del CO<sub>2</sub> SC.

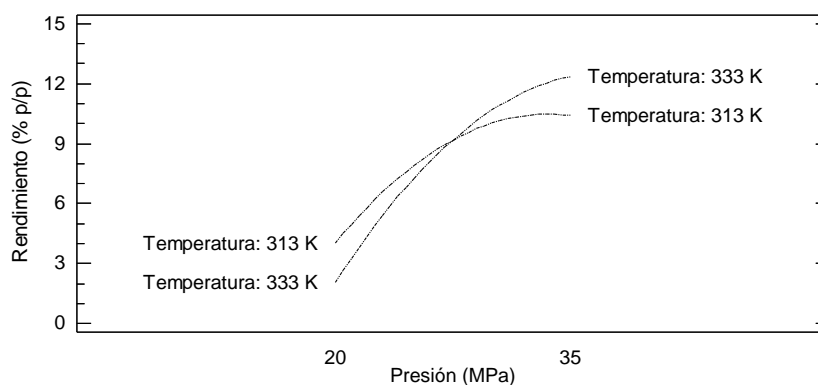


Fig.1: Efecto de la interacción de la presión y la temperatura de extracción con CO<sub>2</sub> SC en el rendimiento (% p/p) de aceite de semillas de guayaba

Este comportamiento se presenta, por el aumento en la presión de vapor de los solutos con el incremento de la temperatura; efecto que es más importante que la reducción de la densidad del CO<sub>2</sub> SC. Estos efectos opuestos producen un cruce en las isotermas de rendimiento que se conoce como fenómeno de retrogradación. Este comportamiento es similar al reportado por Castro *et al.* (2010) en aceite de semillas de guayaba y por Castro-Vargas *et al.* (2013), en extractos de epicarpio de tomate de árbol.

El análisis de superficie de respuesta, permitió obtener los niveles de los factores que optimizan el rendimiento. De esta manera se puede alcanzar un máximo de 13,9 % p/p operando a 35,7 MPa y una temperatura de 325 K (Fig. 2). La optimización proporcionó un modelo matemático de segundo orden (Ec. 2), para estimar el rendimiento de la extracción con CO<sub>2</sub> SC en función de los factores considerados significativos ( $p < 0,05$ ). Este modelo explica el 97,5 % de la variabilidad de los datos observados. Las condiciones óptimas de extracción estadísticas, se encuentran dentro del rango de los niveles evaluados experimentalmente.

$$R = -2485,46 - 1,73288 * P + 15,5892 * T - 0,0349609 * P^2 + 0,0130333 * P * T - 0,0247285 * T^2 \quad (2)$$

Dónde, "R" representa el rendimiento de extracción (% p/p); "P" la presión (MPa) y "T" la Temperatura (K)

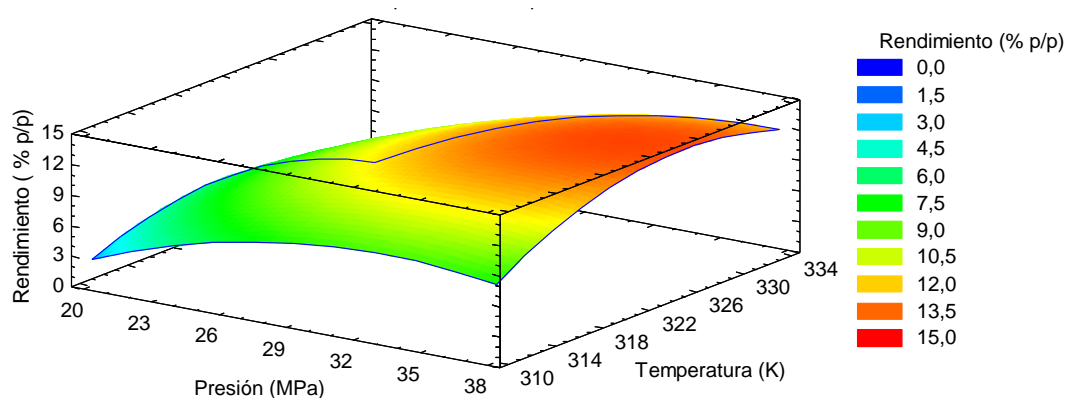


Fig. 2: Superficie de respuesta para el rendimiento en la extracción de aceite de semilla de guayaba con CO<sub>2</sub> SC.

#### Perfil de ácidos grasos del aceite de semillas de guayaba extraído con CO<sub>2</sub> SC

Los resultados del análisis de ácidos grasos de aceite de semillas de guayaba obtenido con CO<sub>2</sub> SC a diferentes presiones y temperaturas, se muestran en la Tabla 4. Se presentan los ácidos grasos identificados y el porcentaje relativo de área promedio con su correspondiente desviación estándar. El ácido graso mayoritario en todas las muestras fue el ácido linoleico (C<sub>18:2</sub>, 76,28-79,84 %), seguido por el ácido palmítico (C<sub>16</sub>, 9,85-11,77 %), el ácido oleico (C<sub>18:1</sub>, 7,04 - 8,47 %) y en menor proporción el ácido esteárico (C<sub>18</sub>, 2,56-3,69 %). Los ácidos grasos encontrados para el aceite de semillas de guayaba, coinciden con los reportados por Castro-Vargas *et al.* (2011) en aceite de semillas de guayaba del departamento de Santander-Colombia y también coinciden en que el ácido linoleico es el que se encuentra en mayor proporción (51,77 %). Sin embargo las proporciones encontradas por Castro-Vargas *et al.* (2011), para los demás ácidos grasos difieren a los de este estudio, encontrando un alto porcentaje en ácido esteárico (41,22 %), seguido de ácido palmítico (4,17 %) y ácido oleico (2,84 %). El perfil de ácidos grasos encontrado para aceite de semillas de guayaba en este estudio, es similar al perfil del aceite de semillas de maracuyá reportado por otros investigadores (Liu *et al.*, 2009; Cerón *et al.*, 2012; Cardoso de oliveira *et al.*, 2013).

De esta manera se puede establecer que el aceite de semillas de guayaba obtenido con CO<sub>2</sub> SC, está compuesto en promedio por una mayor proporción de ácidos grasos insaturados (86,16 % de ácidos linoleico y oleico). El ácido linoleico, es un ácido graso esencial poliinsaturado que pertenece a la serie omega 6, necesario en la nutrición humana y por lo tanto debe ser suministrado a través de la dieta (Chen *et al.*, 2006; Arslan, 2007). El ácido oleico es un ácido graso monoinsaturado de la serie omega 9 y se encuentra en mayor proporción en el aceite de oliva; es muy aplicable en la industria por su efecto hipocolesterolémico y tiene una mayor estabilidad a la oxidación que los ácidos grasos poliinsaturados (Arslan, 2007).

Tabla 4: Composición de ácidos grasos identificados en el aceite de semillas de guayaba obtenido con CO<sub>2</sub> SC (% Relativo de área)

Condiciones de extracción		Ácido palmítico (C <sub>16:0</sub> )	Ácido esteárico (C <sub>18:0</sub> )	Ácido oleico (C <sub>18:1</sub> )	Ácido linoleico (C <sub>18:2</sub> )
Presión (MPa)	Temperatura (K)				
20	313	10,44 ± 0,76	3,09 ± 0,30	7,63 ± 0,04	79,05 ± 0,78
20	333	11,77 ± 0,01	3,49 ± 0,06	8,47 ± 0,06	76,28 ± 0,11
35	313	10,86 ± 0,56	3,66 ± 0,81	8,29 ± 0,43	77,21 ± 0,69
35	333	10,18 ± 0,25	3,69 ± 0,16	7,86 ± 0,21	78,23 ± 0,18
16,8	323	11,10 ± 0,42	3,00 ± 0,42	7,90 ± 0,57	78,05 ± 0,64
38,1	323	9,85 ± 0,07	3,35 ± 0,21	7,58 ± 0,39	79,25 ± 0,64
27,5	309	10,57 ± 0,13	2,56 ± 0,24	7,04 ± 0,33	79,84 ± 0,45
27,5	337	10,64 ± 0,21	2,88 ± 0,35	7,36 ± 0,58	79,12 ± 1,14
27,5	323	10,28 ± 0,38	2,97 ± 0,79	7,20 ± 1,48	79,58 ± 2,30

Estos ácidos grasos son benéficos para la salud, ya que se ha demostrado que están relacionados con la prevención del cáncer, la reducción de enfermedades cardiovasculares y la hipertensión (Arslan, 2007; Sahena *et al.*, 2009; Jahurul *et al.*, 2014). Además son muy importantes en la industria debido a sus múltiples propiedades y aplicaciones (Rabasco y González, 2000; Schiepers *et al.*, 2009). Sin embargo es necesario considerar que un alto contenido de ácidos grasos insaturados puede afectar la estabilidad del aceite, ya que estos son mas susceptibles a la oxidación, por la ruptura de los dobles enlaces que estos poseen lo cual se puede ver reflejado en malos olores y perdida de la calidad del aceite (Dangarembizi *et al.*, 2015).

La significancia estadística de la presión y la temperatura sobre la variación en el porcentaje relativo de cada uno de los ácidos grasos identificados, se realizó empleando un análisis de varianza como se indica en la Tabla 5; de ésta manera se pudo observar que solo se presentó un efecto estadísticamente significativo ( $P < 0,05$ ), de la presión (A) y de la interacción presión-temperatura (AB) sobre el porcentaje relativo de ácido palmítico. La temperatura no presentó efecto estadísticamente significativo en esta variable de respuesta en los niveles evaluados (313 K – 333 K). El porcentaje relativo de los demás ácidos grasos analizados no sufrió variación por efecto de los factores evaluados ni de sus interacciones.

Tabla 5: Análisis de varianza (ANOVA) para el porcentaje relativo de los ácidos grasos identificados

Fuente	Ácido palmítico (C <sub>16:0</sub> )	Ácido esteárico (C <sub>18:0</sub> )	Ácido oleico (C <sub>18:1</sub> )	Ácido linoleico (C <sub>18:2</sub> )
Valor-p				
A:Presión MPa	0,0028	0,2713	0,8038	0,5325
B:Temperatura K	0,3585	0,4329	0,6058	0,3438
AA	0,2340	0,2159	0,1451	0,1075
AB	0,0035	0,6457	0,2937	0,0788
BB	0,1072	0,9636	0,5907	0,4141
Bloques	0,9737	0,3360	0,3959	0,3599

Teniendo en cuenta que la presión y la interacción presión-temperatura, presentaron un efecto estadísticamente significativo sobre el porcentaje relativo de ácido palmítico; en la Fig. 3 y en la Fig. 4, se muestra el análisis de estos efectos.

En la Fig. 3, se puede observar el efecto particular de cada uno de los factores en estudio sobre el porcentaje relativo de ácido palmítico. En este sentido se puede establecer que la presión en los niveles evaluados presentó un efecto significativo inversamente proporcional, sobre el contenido de ácido palmítico. Este comportamiento podría deberse por una mayor solubilidad de los ácidos grasos insaturados a mayores presiones, que los ácidos grasos saturados. Por su parte la temperatura, no presentó un efecto significativo, aunque se observa un máximo de ácido palmítico alrededor de los 333 K.

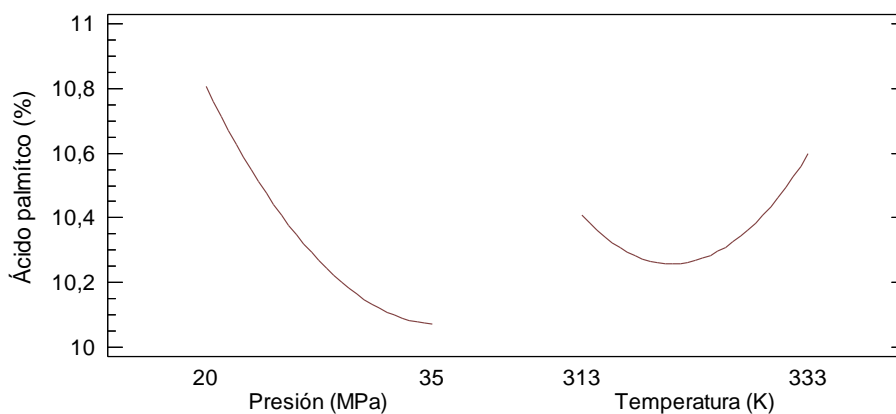


Fig. 3: Diagrama de efectos principales para el porcentaje relativo de ácido palmítico

La Fig. 4, muestra la interacción que existe entre la presión y la temperatura. El efecto de su interacción es significativo para el porcentaje relativo de ácido palmítico. Esto significa que al pasar de un nivel de presión inferior de 20 MPa a un nivel superior de 35 MPa, el porcentaje relativo de ácido palmítico disminuye significativamente, si se trabaja a una temperatura de 333 K. Este hecho no se presentó a 313 K, temperatura a la cual el porcentaje relativo de ácido palmítico no varió de manera significativa con el incremento de la presión.

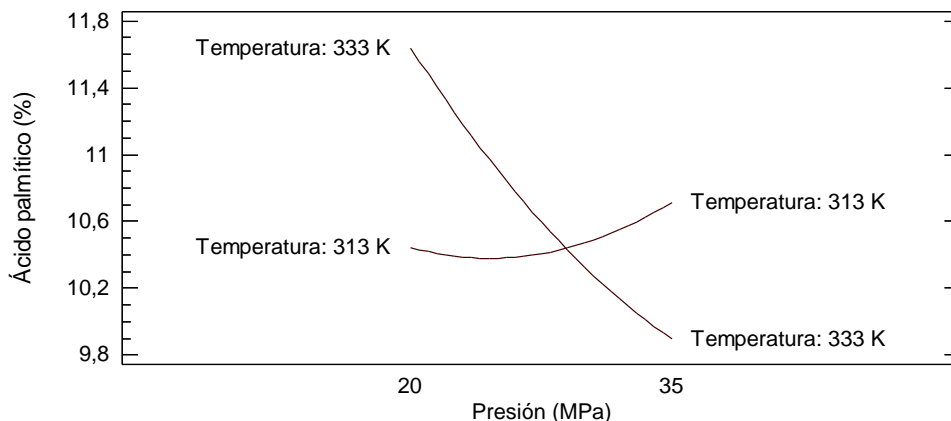


Fig. 4: Diagrama de interacción presión-temperatura para el porcentaje relativo de ácido palmítico

El análisis de superficie de respuesta para el porcentaje relativo de ácido palmítico (Fig. 5), indica que las condiciones óptimas en las cuales se obtiene una mayor concentración de este ácido graso, bajo los niveles evaluados; son presiones bajas alrededor de 16,9 MPa y temperaturas alrededor de 337 K, en las cuales se obtiene un 12,7 % de ácido palmítico. El ácido palmítico es un ácido graso saturado que no es considerado esencial, es decir que puede ser sintetizado por el organismo humano, aunque juega un rol importante en la regulación hormonal y debido a sus propiedades es ampliamente utilizado en la industria cosmética (Dangarembizi *et al.*, 2015).

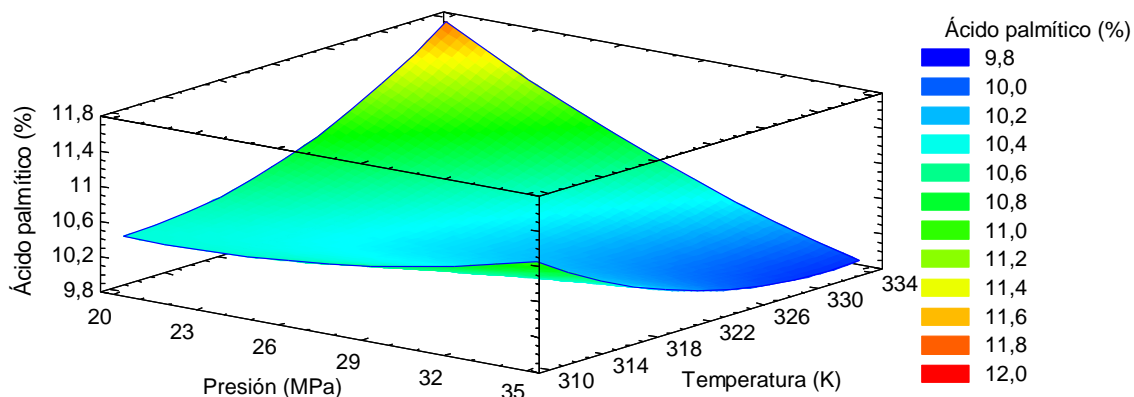


Fig. 5: Superficie de respuesta para el porcentaje relativo de ácido palmítico



## CONCLUSIONES

La semilla de guayaba se puede constituir en una fuente alternativa de obtención de aceite vegetal, dado los rendimientos obtenidos y el alto porcentaje de ácidos grasos insaturados, mitigando en parte el problema de la contaminación ambiental que la industria de procesamiento de frutas presenta al desechar este material y permitiendo obtener un producto de mayor valor agregado con potencial aplicación en la industria alimentaria y cosmética.

El estudio del proceso de extracción de aceite de semillas de guayaba con CO<sub>2</sub> SC, permitió obtener un modelo matemático de segundo orden que predice el rendimiento en función de los factores considerados significativos.

Los resultados obtenidos en este estudio, muestran que la extracción con CO<sub>2</sub> SC es muy eficiente para la obtención de extractos de semillas de guayaba, ya que el valor óptimo de rendimiento obtenido con CO<sub>2</sub> SC fue similar al obtenido con la extracción Soxhlet y libre de residuos de disolventes peligrosos como hexano o diclorometano.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a el Fondo de Ciencia, Tecnología e innovación del Sistema General de Regalías (SGR) – Colombia, a la Universidad de Nariño, a la Universidad del Valle y a la empresa Andina de Conservas.

## REFERENCIAS

- Alothman, M., R. Bhat y A. A. Karim, Antioxidant capacity and phenolic content of selected tropical fruits from Malaysia extracted with different solvents, *Food Chemistry*, 115, 785-788 (2009)
- Arslan, B, The determination of oil content and fatty acid composition of domestic and exotic safflower genotypes and their interaction, *Journal of Agronomy*, 6, 415–420 (2007).
- Azmir, J., I. Zaidul., M. Rahman., K. Shari., A. Mohamed., F. Sahena y A. Omar, Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review, *Journal of Food Engineering*, 117, 426-436 (2013)
- Bernardino-Nicanor, A., A. A. Scilingo., M. C. Añón y G. Dávila-Ortíz, Guava seed storage protein: Fractionation and characterization, *Food Science and Technology*, 39, 902-910 (2006)
- Bezerra Sousa, M. S., L. Morais Vieira., M. Marques da Silva y A. de Lima, Caracterização nutricional e Compostos Antioxidantes em resíduos de polpas de Frutas Tropicais, *Ciência e Agrotecnologia*, 35, 554-559 (2011)
- Cardoso de oliveira, R., M. Rossi., L. Gimenez., S. Jagadevan., W. Machado Giufrida y Davantel , S, Extraction of passion fruit seed oil using supercritical CO<sub>2</sub>: a study of mass transfer and rheological property by Bayesian inference, *Grasas y aceites*, 64(4), 400-406 (2013)
- Castro, H., L. Rodríguez., S. Ferreirac y F. Parada, Extraction of phenolic fraction from guava seeds (*Psidium guajava* L.) using supercritical carbon dioxide and co-solvents, *J. of Supercritical Fluids*, 51, 319-324 (2010).
- Castro-Vargas, H. I., L. I. Rodríguez-Varela y F. Parada-Alfonso, Guava (*Psidium guajava* L.) seed oil obtained with a homemade supercritical fluid extraction system using supercritical CO<sub>2</sub> and co-solvent, *Journal of Supercritical Fluids*, 56, 238-242 (2011)
- Castro-Vargas, H., P. Benelli., S. Ferreira y F. Parada-Alfonso, F, Supercritical fluid extracts from tamarillo (*Solanum betaceum* Sendtn) epicarp and its application as protectors against lipid oxidation of cooked beef meat, *Journal of Supercritical Fluids*(76 ), 17-23 (2013)
- Cerón, A., O. Osorio y A. Hurtado, Identificación de ácidos grasos contenidos en los aceites extraídos a partir de semillas de tres diferentes especies de frutas. *Acta Agronómica*, 61(2), 126-132 (2012)
- Chen, C. Y., K. Lapsley y J. Blumberg, A nutrition and health perspective on almonds, *Journal of Science and Food Agriculture*, 86, 2245–2250 (2006)
- Contreras-Calderón , J., L. Calderón Jaimes., E. Guerra Hernández y B. García Villanova, Antioxidant capacity, phenolic content and vitamin C in pulp, peel and seed from 24 exotic fruits from Colombia, *Food Research International*, 44, 2047-2053 (2011)

- Dangarembizi, R., E. Chivandi., S. Dawood., K. Erlwanger., Mazuru, G., M. Michael y A. Samie, The fatty acid composition and physicochemical properties of the underutilised *Cassia abbreviata* seed oil, *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 28(3), 1005-100 (2015)
- Herrero, M., A. Cifuentes y E Ibañez, E. (2006), Sub- and supercritical fluid extraction of functional ingredients from different natural sources: Plants, food-by-products, algae and microalgae A review, *Food Chemistry*, 98, 136-148 (2006).
- Hurtado, A., D. Dorado y A. Sánchez, Study of the fatty acid profile and the aroma composition of oil obtained from roasted Colombian coffee beans by supercritical fluid extraction, *The Journal of Supercritical Fluids*, 113, 44–52 (2016)
- Hurtado, A., P. Martín-Álvarez., L. Vázquez., G. Reglero., F. Señoráns E. Ibañez, Optimization of Countercurrent Supercritical Fluid Extraction of Minor Components from Olive Oil, *Current Analytical Chemistry*, 10, 78-85 (2014)..
- Jahurul, M., I. Zaidul., N. Norulaini., F. Sahenaa., J. Jaffri y A. Omar, Supercritical carbon dioxide extraction and studies of mango seed kernel for cocoa butter analogy fats, *Journal of Food*, 12(1), 97-103 (2014)
- Joseph, B y R. Priya, Review on nutritional, medicinal and pharmacological properties of Guava (*Psidium guajava* Linn), *International Journal of Pharma Bio Science*, 2(1), 53–69 (2011).
- Lafont, J. J., M. S. Páez y E. Lans, Composición fisicoquímica de la semilla y del aceite de la semilla del Canime (*Copaifera officinalis* L), *Información Tecnológica*, 22(3), 19-26 (2011)
- Liu, S., F. Yang., C. Zhang., H. Ji., P. Hong y C. Deng, Optimization of process parameters for supercritical carbon dioxide extraction of Passiflora seed oil by response surface methodology, *The Journal of Supercritical Fluids*, 48, 9–14 (2009)
- Nivia, A., H. Castro., F. Parada., I. Rodriguez y P. Restrepo, Aprovechamiento integral de la guayaba (*Psidium guajava* L): obtención de extractos a partir de semillas utilizando como solvente CO<sub>2</sub> supercrítico, *Scientia et Technica*, 33, 79-82 (2007)
- Official methods of analysis of AOAC international. Gaithersburg: AOAC International (2005)
- Pérez Gutiérrez, R. M., S. Mitchell y R. Vargas Solis, *Psidium guajava*: a review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology, *Journal of Ethnopharmacology*, 117(1), 1–27 (2008)
- Rabasco, A y M. L. González, Lipids in pharmaceutical and cosmetic preparations, *Grasas y Aceites*, 51(1), 74-96. (2000).
- Sahena, F., I. Zaidul., S. Jinap., A. Karim., K. Abbas., N. Norulaini y A. Omar, Application of supercritical CO<sub>2</sub> in lipid extraction – A review, *Journal of Food Engineering*, 95, 240-253 (2009)
- Sanda, K. A., H. A Grema y Y. M. Bukar-Kolo, Pharmacological aspects of *Psidium guajava*: An update. *International Journal of Pharmacology*: 7(3), 316–324 (2011)
- Schiepers O.J., R. H. de Groot., J. Jolles y M.P. Van Boxtel, Plasma phospholipid fatty acid status and depressive symptoms: association only present in the clinical range, *Journal of Affective Disorders* 118 209-214 (2009)
- Steinhaus, M., D. Sinuco., C. Polster., C. Osorio y P. Schieberle, Characterization of the aroma-active compounds in pink guava (*Psidium guajava* L.) by application of the aroma extract dilution analysis, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(11), 4120–4127 (2008)
- Velasco, R. J., H. S. Villada y J. E. Carrera, Aplicaciones de los Fluidos Supercríticos en la Agroindustria, *Información Tecnológica*, 18(1), 53-66 (2007).
- Viganó, J., A. P. da Fonseca Machado y J. Martínez, Sub- and supercritical fluid technology applied to food waste processing, *The Journal of Supercritical Fluids*, 96, 272-286 (2015)
- Wijngaard, H., M. Hossain., D. K. Rai y N. Brunton, Techniques to extract bioactive compounds from food by-products of plant origin, *Food Research International*, 46, 505-513 (2012)
- Zapata, K., F.B. Cortes y B. A. Rojano, Polifenoles y Actividad Antioxidante del Fruto de Guayaba Agría (*Psidium araca*), *Información Tecnológica*, 24(5), 103-112 (2013)