



UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL
FACULTAD CIENCIAS QUÍMICAS
MODALIDAD: (INVESTIGACIÓN)



TEMA:

**CARACTERIZACIÓN DEL ACEITE OBTENIDO DE LA SEMILLA DE LA
ESPECIE ECUATORIANA *Prosopis juliflora***

**TRABAJO DE TITULACIÓN PRESENTADO COMO REQUISITO PREVIO
PARA OPTAR AL GRADO DE QUÍMICA Y FARMACÉUTICA**

AUTORA:

MAYRA VALERIA VILLAVICENCIO VELÁSQUEZ

TUTORA:

PhD. TATIANA ZAMORA ZAMORA

GUAYAQUIL - ECUADOR

2018



FICHA DE REGISTRO DE TESIS/TRABAJO DE GRADUACIÓN

TÍTULO Y SUBTÍTULO:	"CARACTERIZACIÓN DEL ACEITE OBTENIDO DE LA SEMILLA DE LA ESPECIE ECUATORIANA <i>Prosopis juliflora</i>"		
AUTOR(ES) (apellidos/nombres):	VILLAVICENCIO VELÁSQUEZ MAYRA VALERIA		
REVISOR(ES)/TUTOR(ES) (apellidos/nombres):	Dra. CAROLINA SANTIAGO PhD. (REVISORA) Dra. TATIANA IVETTE ZAMORA ZAMORA PhD. (TUTORA)		
INSTITUCIÓN:	UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL		
UNIDAD/FACULTAD:	FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS		
MAESTRÍA/ESPECIALIDAD:	QUÍMICA Y FARMACIA		
GRADO OBTENIDO:	TERCER NIVEL – QUIMICA FARMACEUTICA		
FECHA DE PUBLICACIÓN:	13 DE MARZO 2018	No. DE PÁGINAS:	90
ÁREAS TEMÁTICAS:	INVESTIGACION FITOQUIMICA		
PALABRAS CLAVES/KEYWORDS:	<i>Prosopis juliflora</i> , aceite de semilla, ácidos grasos, fitoesteroles GC-MS.		
RESUMEN/ABSTRACT (150-250 palabras): En este trabajo de investigación se describen los resultados obtenidos en la caracterización química del aceite de la semilla de algarrobo (<i>Prosopis juliflora</i>), especie que crece en la provincia del Guayas. La caracterización del aceite se realizó por medio de un análisis cromatográfico acoplado a espectrometría de masas (GC-MS), para el estudio tanto de la fracción saponificable como insaponificable. De acuerdo con los resultados se identificó la presencia de ácidos grasos como linoleico (44,92%), oleico (22,79%), palmítico (12,94%), esteárico (6,78%), entre otros; mientras que para la fracción insaponificable se detectó la presencia de esteroides como el stigmasterol (8,30%), beta-sitosterol (18,22%), campesterol (6%), cicloartenol (4,99%), como los más abundantes. Así también, los resultados de parámetros fisicoquímicos permitieron establecer características de calidad del aceite obtenido de la semilla de la especie estudiada. Adicionalmente, se determinó la actividad antioxidante de la semilla del algarrobo mediante la técnica de DPPH+ donde se obtuvo como resultado 0,414 mg de ácido gálico/g de muestra. Estos datos constituyen una línea de base sobre la composición química de la especie.			
ADJUNTO PDF:	☒ SI	☐ NO	
CONTACTO CON AUTOR/ES:	Teléfono: 0969142289	E-mail: mayvale93@hotmail.com	
CONTACTO CON LA INSTITUCIÓN:	Nombre: SEDE CIENCIAS QUIMICAS		
	Teléfono: 042293680		
	E-mail: www.fcq.ug.edu.ec		



**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA DE QUÍMICA Y FARMACIA
UNIDAD DE TITULACIÓN**



CARTA DE AUTORÍA DEL TRABAJO DE

Guayaquil, Martes 13 de Marzo 2018

Yo, **Mayra Valeria Villavicencio Velásquez**, autor de éste trabajo declaró ante las autoridades de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Guayaquil, que la responsabilidad del contenido de este TRABAJO DE TITULACIÓN, me corresponde a mí exclusivamente; y el patrimonio intelectual de la misma a la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Guayaquil.

Declaro también es de mi autoría, que todo el material escrito, salvo el que está debidamente referenciado en el texto. Además, ratifico que este trabajo no ha sido parcial ni totalmente presentado para la obtención de un título, ni en una Universidad nacional, ni una extranjera.

Mayra Villavicencio Velásquez

Firma del autor C.I. 0950468314

**LICENCIA GRATUITA INTRANSFERIBLE Y NO EXCLUSIVA PARA EL
USO NO COMERCIAL DE LA OBRA CON FINES NO ACADÉMICOS**

Yo, MAYRA VALERIA VILLAVICENCIO VELÁSQUEZ con C.I. No. 0950468314, certifico que los contenidos desarrollados en este trabajo de titulación, cuyo título es **"CARACTERIZACIÓN DEL ACEITE OBTENIDO DE LA SEMILLA DE LA ESPECIE ECUATORIANA *Prosopis juliflora*"** son de mi absoluta propiedad y responsabilidad Y SEGÚN EL Art. 114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN*, autorizo el uso de una licencia gratuita intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la presente obra con fines no académicos, en favor de la Universidad de Guayaquil, para que haga uso del mismo, como fuera pertinente

Mayra Valeria Villavicencio Velásquez
C.I.: 0950468314

*CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN (Registro Oficial n. 899 - Dic./2016) Artículo 114.- De los titulares de derechos de obras creadas en las instituciones de educación superior y centros educativos.- En el caso de las obras creadas en centros educativos, universidades, escuelas politécnicas, institutos superiores técnicos, tecnológicos, pedagógicos, de artes y los conservatorios superiores, e institutos públicos de investigación como resultado de su actividad académica o de investigación tales como trabajos de titulación, proyectos de investigación o innovación, artículos académicos, u otros análogos, sin perjuicio de que pueda existir relación de dependencia, la titularidad de los derechos patrimoniales corresponderá a los autores. Sin embargo, el establecimiento tendrá una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra con fines académicos.

CERTIFICADO PORCENTAJE DE SIMILITUD

Habiendo sido nombrado **Dra. TATIANA ZAMORA ZAMORA, PhD.**, tutora del trabajo de titulación certifico que el presente trabajo de titulación ha sido elaborado por **MAYRA VALERIA VILLAVICENCIO VELÁSQUEZ** C.I.: 0950468314, con mi respectiva supervisión como requerimiento parcial para la obtención del título de Química y Farmacéutica.

Se informa que el trabajo de titulación: "**CARACTERIZACIÓN DEL ACEITE OBTENIDO DE LA SEMILLA DE LA ESPECIE ECUATORIANA *Prosopis juliflora***", ha sido orientado durante todo el periodo de ejecución en el programa antiplagio (Urkund) quedando el 2 % de coincidencia.

Urkund Analysis Result

Analysed Document:	TESIS ACEITE ALGARROBO_Urkund.docx (D35000847)
Submitted:	1/25/2018 12:27:00 AM
Submitted By:	tatiana.zamoraz@ug.edu.ec
Significance:	2 %



Dra. Tatiana Zamora Z., PhD.
C.I: 0912589215



**FACULTAD: CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA: QUÍMICA Y FARMACIA
UNIDAD DE TITULACIÓN**



Guayaquil, 29 de enero de 2018

Q.F. Carlos Jaime Silva Huicapi, M.Sc.
DIRECTOR (A) DE LA CARRERA/ESCUELA
FACULTAD CIENCIAS QUÍMICAS
UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL
Ciudad.-

De mis consideraciones:

Envío a Ud. el informe correspondiente a la tutoría realizada al Trabajo de Titulación **Caracterización del aceite obtenido de la semilla de la especie ecuatoriana Prosopis juliflora** de la estudiante: **Mayra Valeria Villavicencio Velásquez** indicando que ha cumplido con todos los parámetros establecidos en la normativa vigente:

- El trabajo es el resultado de una investigación.
- El estudiante demuestra conocimiento profesional integral.
- El trabajo presenta una propuesta en el área de conocimiento.
- El nivel de argumentación es coherente con el campo de conocimiento.

Adicionalmente, se adjunta el certificado de porcentaje de similitud y la valoración del trabajo de titulación con la respectiva calificación.

Dando por concluida esta tutoría de trabajo de titulación, **CERTIFICO**, para los fines pertinentes, que la estudiante está apta para continuar con el proceso de revisión final.

Atentamente,

Dra. Tatiana Zamora Z., Ph.D
TUTOR DE TRABAJO DE TITULACIÓN
C.I. 0912589215



FACULTAD: CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA: QUÍMICA Y FARMACIA



UNIDAD DE TITULACIÓN

APROBACIÓN DEL TUTOR

Guayaquil, marzo del 2018

En calidad de tutor del trabajo de titulación, certifico: que he asesorado, guiado y revisado el trabajo de titulación en la modalidad de investigación, cuyo título es "CARACTERIZACIÓN DEL ACEITE OBTENIDO DE LA SEMILLA DE LA ESPECIE ECUATORIANA *Prosopis juliflora*", presentado por **MAYRA VALERIA VILLAVICENCIO VELÁSQUEZ** con cédula de ciudadanía N° 0950468314, previo a la obtención del título de Químico Farmacéutico.

Este trabajo ha sido aprobado en su totalidad y adjunta el informe de antiplagio del programa URKUND. Lo certifico.

Dra. Tatiana Zamora Zamora Ph.D.
TUTOR DE TRABAJO DE TITULACIÓN
C.I. 0912589215



**FACULTAD: CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA: QUÍMICA Y FARMACIA
UNIDAD DE TITULACIÓN**



Guayaquil, 09 de Marzo de 2018

Dr. CARLOS SILVA HUILCAPI
DIRECTOR DE LA CARRERA
FACULTAD CIENCIAS QUÍMICAS
UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL
Ciudad.-

De mis consideraciones:

Envío a Ud. el Informe correspondiente a la **REVISIÓN FINAL** del Trabajo de Titulación "CARACTERIZACIÓN DEL ACEITE OBTENIDO DE LA SEMILLA DE LA ESPECIE ECUATORIANA *Prosopis juliflora*" del estudiante MAYRA VALERIA VILLAVICENCIO VELÁSQUEZ. Las gestiones realizadas me permiten indicar que el trabajo fue revisado considerando todos los parámetros establecidos en las normativas vigentes, en el cumplimiento de los siguientes aspectos:

Cumplimiento de requisitos de forma:

- El título tiene un máximo de 13 palabras.
- La memoria escrita se ajusta a la estructura establecida.
- El documento se ajusta a las normas de escritura científica seleccionadas por la Facultad.
- La investigación es pertinente con la línea y sublíneas de investigación de la carrera.
- Los soportes teóricos son de máximo 5 años.
- La propuesta presentada es pertinente.

Cumplimiento con el Reglamento de Régimen Académico:

- El trabajo es el resultado de una investigación.
- El estudiante demuestra conocimiento profesional integral.
- El trabajo presenta una propuesta en el área de conocimiento.
- El nivel de argumentación es coherente con el campo de conocimiento.

Adicionalmente, se indica que fue revisado, el certificado de porcentaje de similitud, la valoración del tutor, así como de las páginas preliminares solicitadas, lo cual indica el que el trabajo de investigación cumple con los requisitos exigidos.

Una vez concluida esta revisión, considero que el estudiante MAYRA VALERIA VILLAVICENCIO VELÁSQUEZ está apto para continuar el proceso de titulación. Particular que comunicamos a usted para los fines pertinentes.

Atentamente,

Lda. Carolina del Rosario Santiago Dugarte Ph.D.

C.I. 1757829237



FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA DE QUÍMICA Y FARMACIA
UNIDAD DE TITULACIÓN



Guayaquil, Marzo 2018

CERTIFICADO DEL TUTOR REVISOR

Habiendo sido nombrada Carolina Santiago Ph.D., tutora del trabajo de titulación **"CARACTERIZACIÓN DEL ACEITE OBTENIDO DE LA SEMILLA DE LA ESPECIE ECUATORIANA *Prosopis juliflora*"**, certificó que el presente trabajo de titulación, elaborado por Mayra Valeria Villavicencio Velásquez C.I. No. 0950468314 con mi respectiva supervisión como requerimiento parcial para la obtención del título de Química y Farmacéutica en la Carrera de Química y Farmacia de Facultad de Ciencias Químicas, ha sido **REVISADO Y APROBADO** en todas sus partes, encontrándose apto para su sustentación.

Dra. Carolina Santiago D., Ph.D.

C.I: 1757829234



**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA DE QUÍMICA Y FARMACIA
UNIDAD DE TITULACIÓN**



CERTIFICADO DEL TRIBUNAL

Acta de Registro de la sustentación Oral

El tribunal de sustentación del trabajo de titulación de la Srta. Mayra Valeria Villavicencio Velásquez con cédula de ciudadanía N°0950468314 después de ser examinada en su presentación, memoria científica y defensa oral, da por aprobado el trabajo de titulación.

Carolina Santiago D., Ph.D.
Presidente - Miembro del Tribunal

Adonis Bello Alarcón Ph.D.
Docente - Miembro del Tribunal

Fernanda Kolenyak D., Ph.D.
Docente - Miembro del Tribunal

Ab. Francisco Palomeque Romero.
Secretario General

Agradecimientos

Aprovecho la ocasión para brindarle mi agradecimiento sincero a todas aquellas personas que han sido un apoyo durante esta etapa de mi vida:

En primer lugar agradezco a Dios, por ser mi fortaleza día a día y brindarme sabiduría en toda esta etapa de mi vida. Así como también quiero hacer llegar mi sincero agradecimiento a mi Tutora, la Dra. Tatiana Zamora, por la guía, apoyo, tiempo y atención que me ha prestado siempre. Agradezco también al Dr. Adonis Bello por el aporte de sus conocimientos y experiencias en el desarrollo de mi trabajo.

A mis amigos Karen Alcívar, Sandy Durazno, Mayra Moncerrate, Madelyne Zuñiga, Sara Peláez, Allison Zambrano, Iliana Ponce, Liliana Cedeño, Joaozinho Méndez, Wladimir Herrera, Danilo Navarrete, Mafer Pontón, Gaby Romero y Jennifer Macías por sus consejos, cariño y apoyo incondicional.

Agradezco profundamente a mis padres Jhonny y Nieves por su amor, apoyo incondicional y su motivación a seguir adelante cada día, a mis abuelitos Gonzaga, María, Rosa y Atilio por su cariño inigualable, a mis hermanos Evelyn y Jhonny por sus ánimos y compañía durante esta etapa de mi vida, así como también a mi ahijado, tíos, tías, primos y primas que forman parte fundamental de mi familia; y como no agradecerle a mi pequeño angelito Andrés por ser aquella persona que siempre me saca una sonrisa en mis momentos más tristes, que con su ternura y amor llena mi corazón de alegría. En efecto, muchas gracias a todas aquellas personas que forman parte de este acontecimiento en mi vida de una u otra forma.

Mayra Valeria Villavicencio Velásquez

ÍNDICE

I.1 INTRODUCCIÓN.....	1
I.2 PROBLEMA	2
I.3 OBJETIVOS	3
I.3.1 Objetivo general	3
I.3.2 Objetivos específicos.....	3
I.4 JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA.....	3
I.5 HIPÓTESIS.....	2
I.6 OPERACIONALIZACIÓN.....	5
CAPÍTULO I	6
MARCO TEÓRICO	6
I.1 GÉNERO <i>Prosopis</i>	6
I.1.1 Fruto del algarrobo	8
I.2 PRODUCTOS NATURALES	11
I.2.1 Metabolitos primarios	12
I.2.1.1 Lípidos.....	12
I.2.2 Metabolitos secundarios.....	19
I.2.2.1 Esteroles	19
I.3 CROMATOGRAFÍA	21
I.3.1 Cromatografía de gases	22
I.3.2 Columnas	22
I.3.3 Detectores	23
I.3.4 Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas	25
CAPÍTULO II	27

MATERIALES Y MÉTODOS	27
II.1 TIPO DE INVESTIGACIÓN	27
II.2 EQUIPOS, MATERIALES Y REACTIVOS	27
II.2.1 Equipos.....	27
II.2.2 Aparatos	27
II.2.3 Materiales	28
II.2.4 Reactivos.....	28
II.3 MUESTRAS.....	29
II.3.1 Medición de las semillas.....	30
II.3.2 Determinación del contenido de humedad	30
II.3.3 Preparación de las muestras	31
II.3.4 Tamizaje Fitoquímico.....	31
II.3.5 Determinación de la capacidad antioxidante “in vitro” por el método de DPPH (α , α -DiPhenyl- β -PicrylHydrazyl).....	32
II.3.6 Obtención del aceite	33
II.3.7 Análisis de las propiedades fisicoquímicas del aceite	34
III.3.7.1 Índice de refracción	34
II.3.7.2 Índice de saponificación	34
II.3.7.3 Índice de yodo	35
II.3.7.4 Índice de acidez.....	36
II.3.8 Determinación cromatográfica.....	36
II.3.8.1 Fracción saponificable	37
II.3.8.2 Fracción insaponificable	38
CAPÍTULO III	39

III.1 MEDICIONES DE LAS SEMILLAS	39
III.2 DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE HUMEDAD.....	39
III.3 TAMIZAJE FITOQUÍMICO	40
III.4 DETERMINACIÓN DE CAPACIDAD ANTIOXIDANTE	41
III.5 RENDIMIENTO DE ACEITE.....	43
III.6 PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS	44
III.6.1 Índice de refracción	44
III.6.2 Índice de saponificación	44
III.6.3 Índice de yodo	45
III.6.4 Índice de acidez.....	46
III.7 DETERMINACIÓN CROMATOGRÁFICA.....	47
III.7.1 Fracción saponificable	47
III.7.2 Fracción insaponificable	49
CONCLUSIONES	51
RECOMENDACIONES.....	52
BIBLIOGRAFÍA	53
ANEXOS.....	60

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla I. Operacionalización	5
Tabla II. Ácidos grasos encontrados en el aceite de la semilla del género <i>Prosopis</i>	10
Tabla III. Aminoácidos esenciales presentes en <i>Prosopis pallida</i> y <i>chilensis</i>	11
Tabla IV. Contenido de lípidos en cereales	14
Tabla V. Porcentajes de ácidos grasos presentes en aceites de diferentes semillas según distintos autores.	15
Tabla VI. Control de calidad de los aceites	18
Tabla VII. Fitoesteroles y fitoestanoles más comunes.....	20
Tabla VIII. Tabla de reactivos.....	28
Tabla IX. Ensayos fitoquímicos en diferentes extractos de semilla de <i>Prosopis juliflora</i>	32
Tabla X. Características físicas (largo, ancho y peso) de las semillas de <i>Prosopis juliflora</i>	39
Tabla XI. Porcentaje de humedad de las semillas de <i>Prosopis juliflora</i> ...	40
Tabla XII. Resultados del tamizaje fitoquímico en semillas de <i>Prosopis juliflora</i>	41
Tabla XIII. Resultados de la determinación de la capacidad antioxidante del extracto alcohólico de la semilla de <i>Prosopis juliflora</i>	42
Tabla XIV. Rendimiento del aceite de la semilla de <i>Prosopis juliflora</i>	43
Tabla XV. Resultados de índice de refracción en aceite de semillas de <i>Prosopis juliflora</i>	44
Tabla XVI. Resultados de índice de saponificación en aceite de semillas de <i>Prosopis juliflora</i>	45
Tabla XVII. Resultados de índice de yodo en aceite de semillas de <i>Prosopis juliflora</i>	46

Tabla XVIII. Resultados de índice de acidez en aceite de semillas de <i>Prosopis juliflora</i>	47
Tabla XIX. Ácidos grasos presentes en el aceite de <i>Prosopis juliflora</i>	48
Tabla XX. Esteroles presentes en el aceite de <i>Prosopis juliflora</i>	50

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Distribución geográfica del género <i>Prosopis</i> en el Ecuador.....	7
Figura 2. Fruto del <i>Prosopis</i> y su composición	8
Figura 3. Fruto maduro (Aspecto interno)	9

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Curva de calibrado de ácido gálico en función de la concentración de DPPH ⁺ y la respectiva interpolación de la concentración de la muestra	42
--	----

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo I. Medición de las semillas de <i>Prosopis juliflora</i>	60
Anexo II. Muestras de las semillas de <i>Prosopis juliflora</i>	61
Anexo III. Determinación de humedad de la harina de la semilla de <i>Prosopis juliflora</i>	61
Anexo IV. Resultados del Tamizaje fitoquímico en los diferentes extractos de la semilla de <i>Prosopis juliflora</i>	62
Anexo V. Obtención del aceite de la semilla de <i>Prosopis juliflora</i>	65
Anexo VI. Cromatogramas de fracción saponificable.....	66
Anexo VII. Espectros de los picos más característicos de la fracción saponificable	67
Anexo VIII. Cromatogramas de la fracción insaponificable	70
Anexo IX. Espectros de los picos más característicos de la fracción insaponificable	71

“CARACTERIZACIÓN DEL ACEITE OBTENIDO DE LA SEMILLA DE LA ESPECIE ECUATORIANA *Prosopis juliflora*”

Autora: Mayra Valeria Villavicencio Velásquez

Tutora: Dra. Tatiana Zamora Zamora, PhD.

Resumen

En este trabajo de investigación se describen los resultados obtenidos en la caracterización química del aceite de la semilla de algarrobo (*Prosopis juliflora*), especie que crece en la provincia del Guayas. La caracterización del aceite se realizó por medio de un análisis cromatográfico acoplado a espectrometría de masas (GC-MS), para el estudio tanto de la fracción saponificable como insaponificable. De acuerdo con los resultados se identificó la presencia de ácidos grasos como linoleico (44,92%), oleico (22,79%), palmítico (12,94%), esteárico (6,78%), entre otros; mientras que para la fracción insaponificable se detectó la presencia de esteroides como el stigmasterol (8,30%), beta-sitosterol (18,22%), campesterol (6%), cicloartenol (4,99%), como los más abundantes. Así también, los resultados de parámetros fisicoquímicos permitieron establecer características de calidad del aceite obtenido de la semilla de la especie estudiada. Adicionalmente, se determinó la actividad antioxidante de la semilla del algarrobo mediante la técnica de DPPH⁺ donde se obtuvo como resultado 0,41 mg de ácido gálico/g de muestra. Estos datos constituyen una línea de base sobre la composición química de la especie.

Palabras Claves: *Prosopis juliflora*, aceite de semilla, ácidos grasos, fitoesteroides GC-MS.

"CHARACTERIZATION OF THE OBTAINED OIL FROM THE SEED OF THE ECUADORIAN SPECIES *Prosopis juliflora*

Author: Mayra Valeria Villavicencio Velásquez

Advisor: Dra. Tatiana Zamora Zamora, PhD.

Abstract

This research work describes the results obtained in the chemical characterization of the oil of the carob seed (*Prosopis juliflora*), a species that grows in the province of Guayas. The characterization of the oil was carried out by means of a chromatographic analysis coupled to mass spectrometry (GC-MS), for the study of both the saponifiable and unsaponifiable fraction. According to the results, the presence of fatty acids was identified as linoleic (44.92%), oleic (22.79%), palmitic (12.94%), stearic (6.78%), among others. While for the unsaponifiable fraction the presence of sterols such as stigmasterol (8,30%), beta-sitosterol (18,22%), campesterol (6%), cicloartenol (4,99%), were detected, as the most abundant. Also, the results of physicochemical parameters enabled us to establish characteristics of quality of the oil obtained from the seed of the species studied. Additionally, the antioxidant activity of the carob tree seed was determined by means of the DPPH⁺ technique where a sample 0.41 mg of gallic acid / g was obtained as a result. These data constitute a baseline on the chemical composition of the species.

Keywords: *Prosopis juliflora*, seed oil, fatty acids, phytosterols, GC-MS.

I.1 INTRODUCCIÓN

El algarrobo (*Prosopis*) es un árbol cuyos frutos son vainas amarillentas delgadas que corresponden al 56% del peso total del fruto, el endocarpio representa un 35% mientras que las semillas un 9%. Las semillas de este género se encuentran encerradas por un endocarpio duro o carozo, el cual difícilmente puede ser abierto de forma manual. Según referencias bibliográficas consultadas, se detalla en su composición la presencia de aminoácidos (ácido glutámico 21,31 g, arginina 14,63 g, ácido aspártico 8,30 g, leucina 7,51 g, prolina 7,49 g; entre otros.) y ácidos grasos como el linoleico y oleico (Aedo, 2007; Pasiecznik et al., 2001; Prokopiuk, 2004)

El género *Prosopis* se encuentra ampliamente distribuido en el mundo, de manera tal que existe de alrededor de 44 especies del presente género que remiten importancia económica y ecológica para diferentes comunidades (Bermello & García, 2015; Pasiecznik et al., 2001; Prokopiuk, 2004). Particularmente en Europa es conocido como algarrobo Europeo; en Ecuador, las especies del género *Prosopis* (*P. pallida* y *P. juliflora*), son características de la región costera del país, encontrándose distribuido geográficamente en las provincias de Esmeraldas, El Oro, Galápagos, Guayas, Loja y Manabí.

En la actualidad se comercializan en el mercado variedades de productos elaborados del algarrobo a partir del procesamiento de la pulpa obteniéndose formulado tipo café, jarabes para repostería y bebidas alcohólicas, entre otros. Mientras que el carozo o endocarpio se utiliza como aditivo para la elaboración de alimentos dietéticos y como biocombustible por su contenido en azúcares.

Por otra parte las semillas son empleadas para la producción de gomas, forraje y alimento proteico (Aedo, 2007; Pasiecznik et al., 2001), así como se le atribuyen a las mismas, efectos laxante debido a su contenido de galactomanano y mucílago (Batista et al., 2002).

De acuerdo con la literatura reportada sobre el estudio del aceite de la semilla del algarrobo se destaca la presencia de compuestos fenólicos, esteroides y, ácidos grasos como el linoleico (39%), oleico (29%) palmítico (13%) y esteárico (10%) en las especies *P. alba*, *P. glandulosa* y *P. africans* (Pasiecznik et al., 2001). Precisamente debido a su composición química, se relaciona o justifica los posibles efectos farmacológicos que se asocian a la especie. Por tal motivo nace como iniciativa el desarrollo de este trabajo de investigación el cual tiene como finalidad la caracterización de la composición química del aceite de la semilla del algarrobo ecuatoriano (*Prosopis juliflora*) mediante el uso, principalmente, de técnicas avanzadas como la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas obtenido a partir de la especie que crece en la provincia del Guayas (*Prosopis juliflora*).

I.2 PROBLEMA

De acuerdo con los antecedentes recogidos a modo de introducción, se establece el planteamiento del problema de investigación:

¿Cuál es el rendimiento y la composición química del aceite de la semilla del algarrobo (*Prosopis juliflora*) cultivado en la provincia del Guayas?

I.3 HIPÓTESIS

El aceite de la semilla del algarrobo ecuatoriano *Prosopis juliflora* presenta en su composición química metabolitos secundarios de gran interés como compuestos fenólicos, esteroides y ácidos grasos.

I.4 OBJETIVOS

I.4.1 Objetivo general

- Caracterizar la composición química del aceite obtenido de la semilla de algarrobo ecuatoriano (*Prosopis juliflora*).

I.4.2 Objetivos específicos

1. Establecer el rendimiento del aceite de la semilla de algarrobo (*Prosopis juliflora*).
2. Determinar las propiedades fisicoquímicas del aceite obtenido a partir de la semilla del algarrobo (*Prosopis juliflora*).
3. Identificar los metabolitos presentes en el aceite de la semilla de algarrobo (*Prosopis juliflora*) mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas.

I.5 JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA

La literatura científica hace referencia a estudios fitoquímicos de diferentes variedades de especies del género *Prosopis*, lo cual incluye a la *juliflora* y *pallida*, propiamente en especies de origen peruano. Las referencias bibliográficas también detallan resultados sobre la presencia de compuestos fenólicos, esteroides y ácidos grasos en semillas o gomas de algarrobo de las especies *P. alba*, *P. glandulosa*, *P. africans*, entre otras (Pasiiecznik et al., 2001). Sin embargo, no se describen estudios actuales sobre la investigación de la composición química del aceite obtenido a partir de las especies *juliflora*, e incluso *pallida*, de origen ecuatoriano.

La importancia de la presencia e identificación de compuestos fenólicos, esteroides y ácidos grasos en las semillas del algarrobo radica en la contribución benéfica para la salud humana al ser incorporados a la dieta.

Estos compuestos químicos se encuentran ampliamente distribuidos dentro del reino vegetal presentando propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, antimicrobianas, entre otras; por tal motivo es de gran interés el estudio e identificación de estos compuestos en el algarrobo ecuatoriano *Prosopis juliflora*, que permita a futuro el aprovechamiento de este recurso natural por el valor agregado que le otorga.

I.6 OPERACIONALIZACIÓN

Tabla I. Operacionalización

TIPO	VARIABLES	CONCEPTUALIZACIÓN	INDICADORES
DEPENDIENTE	Composición química	Composición química del aceite obtenido de la semilla del algarrobo es decir la identificación de compuestos de interés como compuestos fenólicos, ácidos grasos y esteroides.	• CG – MS (% área de pico) • Tamizaje fitoquímico (reacciones positivas) • Índice de Refracción, saponificación, acidez y yodo.
	Rendimiento	Porcentaje de aceite obtenido la semilla de <i>Prosopis juliflora</i> de la provincia del guayas a partir de la extracción por Soxhlet en las condiciones analíticas experimentales establecidas.	• Porcentaje de aceite obtenido en un número x de extracciones.
INDEPENDIENTE	Semillas del algarrobo (<i>Prosopis juliflora</i>)	Semillas contenidas en la vaina procedente de la especie del género <i>Prosopis</i> que crece en el perfil costero del Ecuador, específicamente de la provincia del Guayas.	• Características físicas de la especie (Tamaño, forma, peso)

Elaborado por: Autora, 2018

CAPÍTULO I

MARCO TEÓRICO

I.1 GÉNERO *Prosopis*

Este género, conocido por su nombre común como algarrobo, posee una variedad de especies, las cuales se encuentran distribuidas en los distintos continentes como en América (40), Asia (3) y África (1), entre las más conocidas se mencionan las siguientes: *Prosopis alba*, *nigra*, *flexuosa*, *chilensis*, *dominguensis*, *limensis*, *grandulosa*, *africana*, *pallida*, *juliflora*, entre otras. Todas las especies de *Prosopis* son leguminosas arbóreas o arbustivas, que poseen gran resistencia a la sequía y a la salinidad, además de tener la capacidad de fijar nitrógeno en el suelo (Aedo, 2007; Prokopiuk, 2004).

Según la literatura revisada, diversos estudios se han realizado en este género para la evaluación de su actividad antiinflamatoria, antioxidante, potencial biofarmacéutico o como bioactivos fitoquímicos, entre otros (Bhatia, Gupta, & Soni, 2014; Briones, Muñoz, & Maureira, 2011; Busch et al., 2017; Busch, Kolender, Santagapita, & Buera, 2015; F. Cattaneo et al., 2016; Florencia Cattaneo et al., 2014; Dhivya et al., 2017; Kolapo et al., 2009; López et al., 2013; Nwokocha & Williams, 2016; Patil et al., 2016; Picariello et al., 2017; Quispe et al., 2014).

En Ecuador, de acuerdo con el reporte del Ministerio de Ambiente se conoce la presencia de 2 especies de *Prosopis*, es decir la *Prosopis pallida* y la *Prosopis juliflora* como indica (Pasiecznik et al., 2001), las cuales se encuentran distribuidas geográficamente en mayor proporción en el perfil costero del país.

Debido a que son árboles cuyo desarrollo es típico en suelos áridos y secos, este género se lo puede encontrar en las provincias de la región Costa de Ecuador como: Los Ríos, El Oro, Santa Elena, Manabí y Guayas, ya que estas características de terreno son propias de estas zonas. La literatura consultada también referencia a Loja, Santo Domingo e incluso Galápagos (Pasiecznik et al., 2001).

En la **Figura 1** se destaca la mencionada ubicación geográfica del género *Prosopis* en Ecuador.

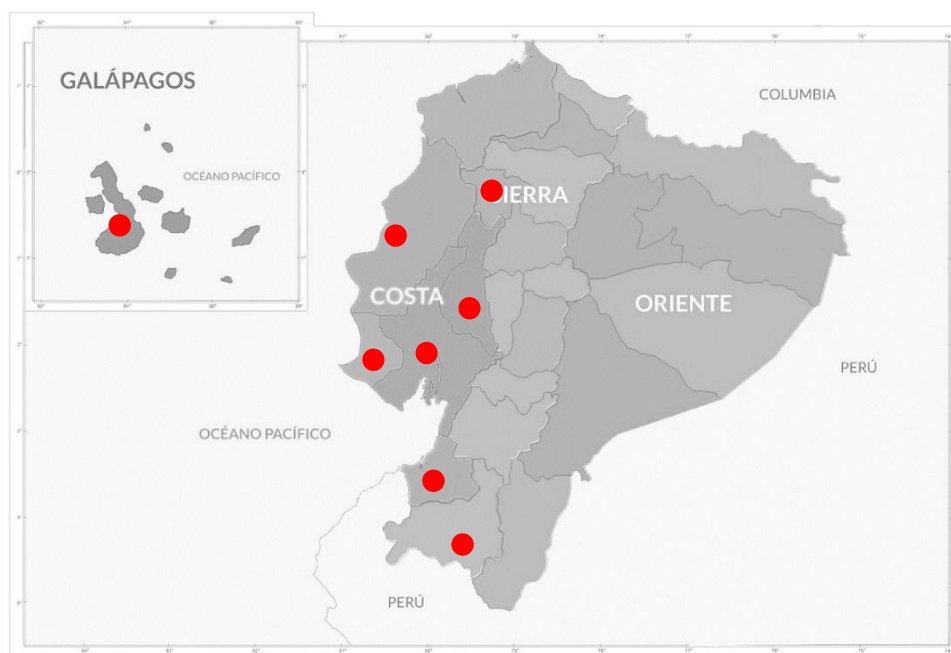


Figura 1. Distribución geográfica del género *Prosopis* en el Ecuador

Elaborado por: Autora, 2018

I.1.1 Fruto del algarrobo

Los frutos del algarrobo son vainas que presentan una coloración entre la gama de amarillo – pardo dependiendo de la especie. Poseen forma delgada y larga cuya pulpa o carnosidad es rica en carbohidratos, atribuyéndole un carácter dulce a la misma. Dentro del fruto (vaina) o también llamado algarroba se encuentra un tipo de carozo o bolsa que tiene la función de proteger a las semillas contenidas en él, igualmente rico en el contenido de azúcares (Aedo, 2007).

En las **Figuras 2 y 3** se muestran vainas o frutos de algarrobo, así como su composición física interna (carozo y semillas).

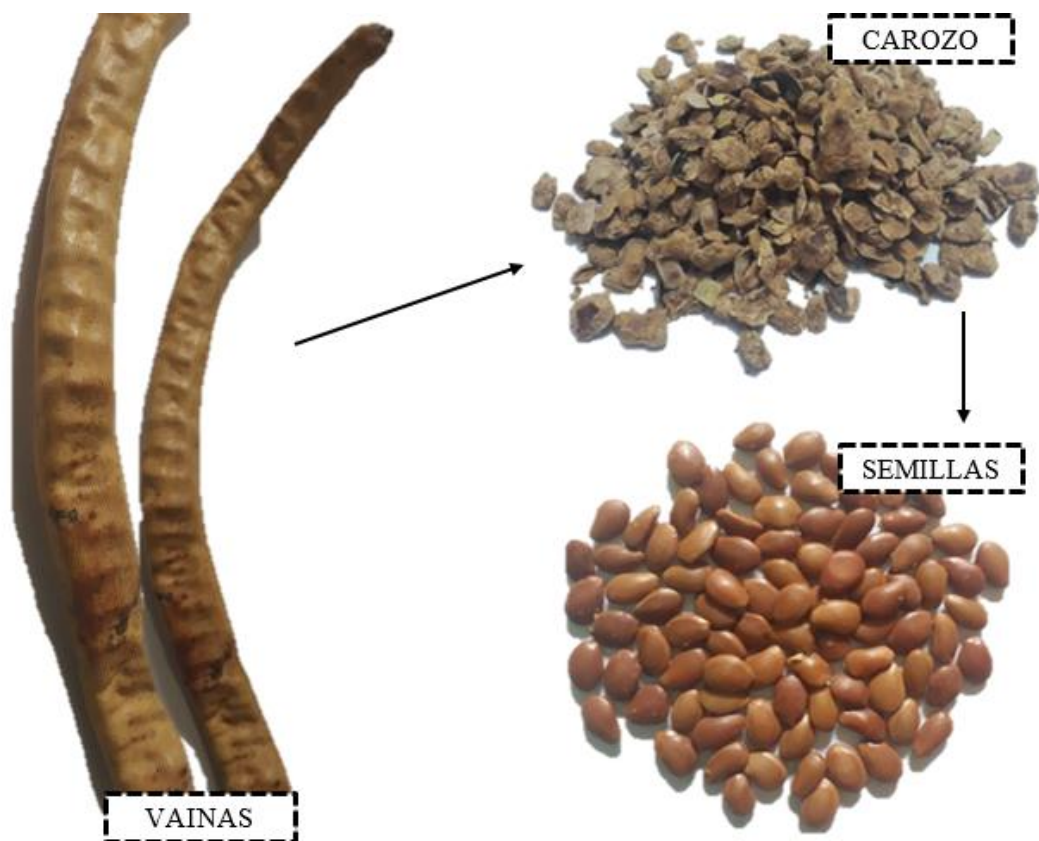


Figura 2. Fruto del *Prosopis* y su composición

Elaborado por: Autora, 2018

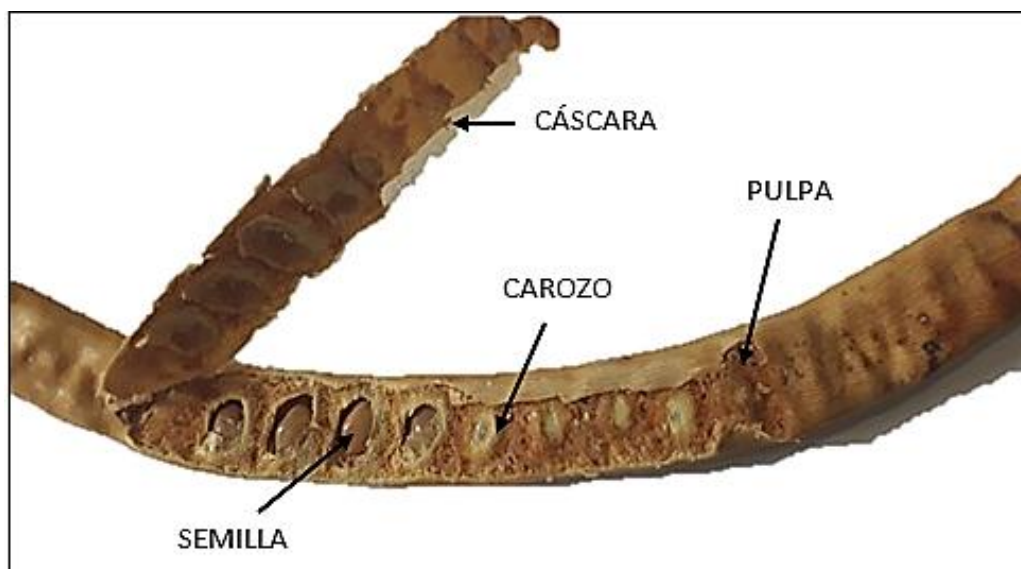


Figura 3. Fruto maduro (Aspecto interno)

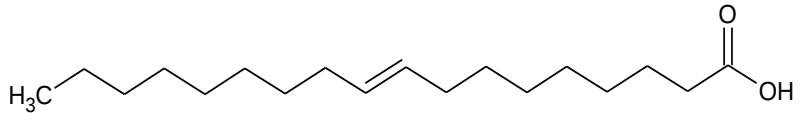
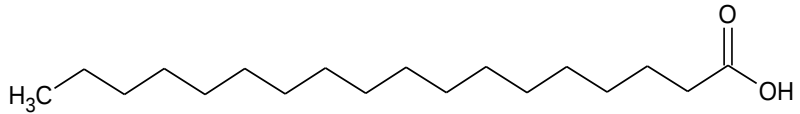
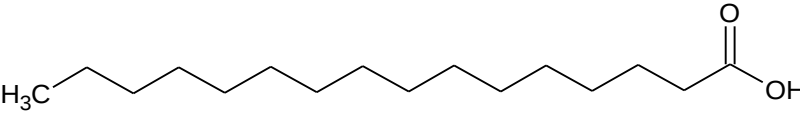
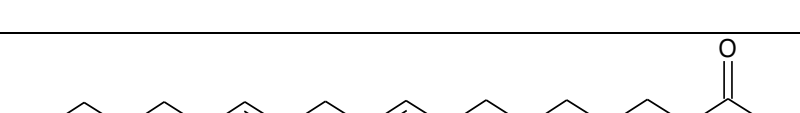
Elaborado por: Autora, 2018

Las semillas son de forma ovoide de color pardo y muy duras, generalmente de 15 a 30 unidades por fruto, con dimensiones entre 6 a 7 mm de largo, 4 a 5 mm de ancho, 2 mm de espesor, y con un peso promedio de 40 a 45 mg. Estos datos corresponden a valores promedio registrados en las especies *Prosopis chilensis*, *pallida* y *juliflora* (Aedo, 2007; Pasiecznik et al., 2001; Prokopiuk, 2004).

Considerando que a partir de la semilla se obtiene la harina del cotiledón; según estudios realizados en la especie *P. pallida* reportan un alto porcentaje de proteína y aminoácidos esenciales, que al ser comparados con otras especies como la *juliflora* presentan resultados similares. A su vez el contenido de grasa reportado por Jiménez et al. (1977) para la especie *P. pallida* es del 7 %, mientras que los ácidos grasos encontrados en el aceite extraído de la misma fueron linoleico (39 %), oleico (29 %), palmítico (13 %) y esteárico (10 %). Dichos valores fueron reportados Ortega et al. (1995) y Becker et al. (1980) para el mesquite (como también se conoce al algarrobo) y para la especie *P. juliflora* reportado por Marangoni y Alli (1988) (Pasiecznik et al., 2001; Prokopiuk, 2004). Al

respecto, en la **Tabla II** se detalla la estructura química de los ácidos grasos encontrados en el aceite obtenido de la semilla del *Prosopis* según lo reportado por la literatura consultada.

Tabla II. Ácidos grasos encontrados en el aceite de la semilla del género *Prosopis*

	Ácido oleico
	Ácido esteárico
	Ácido palmítico
	Ácido linoleico

Fuente: (Yurkanis, 2008)

A modo de ejemplo, en la **Tabla III** se destacan los aminoácidos esenciales reportados en la semilla del *Prosopis pallida* y *chilensis* con sus respectivos pesos por cada 100 gramos de proteína:

Tabla III. Aminoácidos esenciales presentes en *Prosopis pallida* y *chilensis*.

Aminoácidos (g/ 100 g proteína)	
Ácido aspártico	8,30
Treonina	2,42
Serina	4,87
Ácido glutámico	21,31
Prolina	7,49
Glicina	4,59
Alanina	4,34
Cisteína	1,31
Metionina	0,88
Valina	7,80
Isoleucina	3,09
Leucina	7,51
Tirosina	1,84
Fenilalanina	4,29
Lisina	4,09
Histidina	3,10
Arginina	14,63
Triptófano	1,37

Fuente: (Aedo, 2007; Pasiecznik et al., 2001; Prokopiuk, 2004)

I.2 PRODUCTOS NATURALES

Dentro del reino vegetal, existe una diversidad de géneros, especies y variedades de plantas, las mismas que a su vez generan a través de procesos metabólicos, dos tipos de metabolitos: primarios y secundarios.

Los metabolitos primarios se encuentran ampliamente distribuidos en los vegetales, ya que cumplen funciones fundamentales y esenciales en la fisiología de la planta, además, a partir de ellos se sintetiza a los secundarios (Ávalos & Pérez-Urria, 2009).

Los metabolitos secundarios a diferencia de los anteriores tienen una distribución muy limitada dentro del reino vegetal, sin embargo, a pesar de no ser indispensables para la vida de la planta, le confieren propiedades farmacológicas a la misma (Ávalos & Pérez-Urria, 2009).

I.2.1 Metabolitos primarios

Entre los metabolitos primarios tenemos carbohidratos, proteínas, aminoácidos y lípidos, los cuales son indispensables para el desarrollo de la planta y por ello se encuentran en todos los productos de origen vegetal (Ávalos & Pérez-Urria, 2009). Debido a la importancia de los lípidos dentro del presente trabajo de investigación se hace referencia de ellos a continuación.

I.2.1.1 Lípidos

Como es conocido, los lípidos son biomoléculas heterogéneas poco o nada solubles en agua, altamente solubles en solventes orgánicos no polares, que en su mayoría contienen o se derivan de los ácidos grasos. Se trata de moléculas de naturaleza hidrocarbonada lo cual les proporciona su propiedad apolar (Yurkanis, 2008).

Los lípidos cumplen diversas funciones dentro del reino vegetal y animal, entre las más importantes se puede destacar, como fuente de energía, regulador metabólico o como componente estructural de las membranas celulares, entre otros (Lieberman, et al., 2013).

En tal sentido, muchos procesos bioquímicos en el cuerpo humano requieren de ácidos grasos esenciales que no son sintetizados por el mismo, convirtiéndose las especies vegetales en las principales fuentes de aprovisionamiento de estos compuestos (BIONOVA, n.d.).

A nivel industrial, los lípidos son empleados como materia prima para la elaboración de distintos productos como cosméticos, fármacos, lubricantes, etc (Sánchez, n.d.).

Dentro de la clasificación de los lípidos se exponen dos grandes grupos: compuestos saponificables es decir aquellos que contienen ácidos grasos; e insaponificables aquellos que no contienen ácidos grasos, aunque algunos sean derivados de los mismos compuestos (Abo, 2010). En la **Figura 5** se observa la clasificación general de los lípidos.

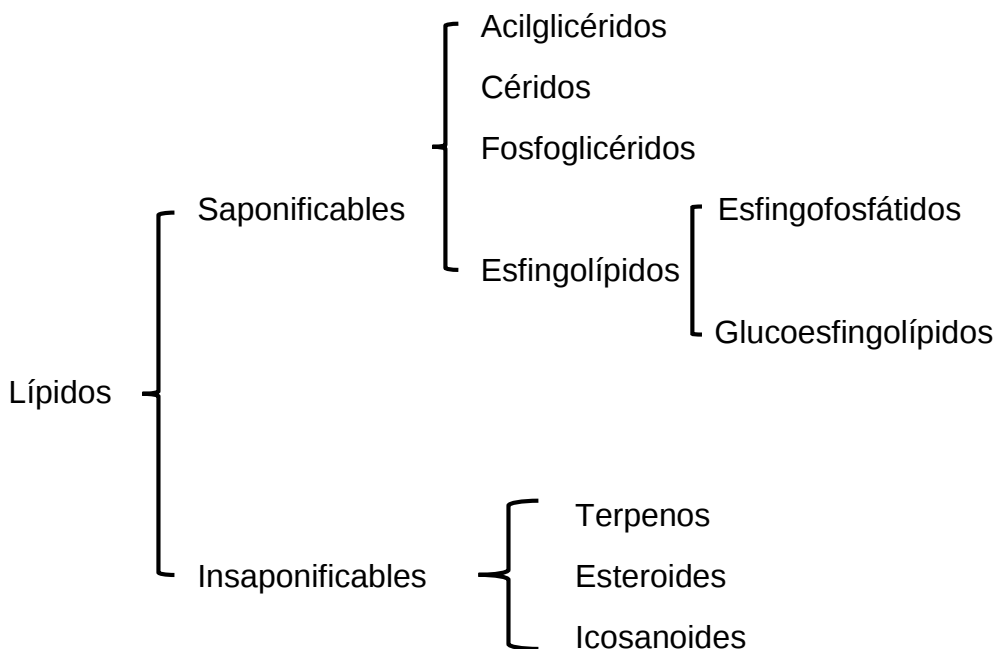


Figura 5. Clasificación de los Lípidos

Elaborado por: Autora, 2018

En los tejidos vegetales, los lípidos se encuentran formando parte de la estructura de la membrana celular como glicolípidos y fosfolípidos, mientras que los triacilglicéridos constituyen una fuente de reserva energética (Robinson, 1991). A modo de ejemplo, en la **Tabla IV** se muestra el contenido de lípidos en algunos cereales y subproductos.

Tabla IV. Contenido de lípidos en cereales

CEREAL	CONTENIDO LIPÍDICO (%)
Avena	7
Harina de avena	6,2
Trigo	1,9
Maíz	4,6
Arroz	2,3
Cebada	2,1
Germen de trigo	10,0
Harina integral de maíz	3,9
Almidón de trigo	1,1
Harina de maíz	2,6

Fuente: (Robinson, 1991)

1.2.1.1.1 Ácidos grasos

Los ácidos grasos son moléculas orgánicas compuestas por una cadena de carbonos e hidrógenos con un grupo metilo (CH_3) en un extremo y un grupo carboxilo (COOH) en el otro. Se conocen dos tipos de ácidos grasos, los saturados (son aquellos que no presentan dobles enlaces entre sus átomos de carbonos) e insaturados (cuando contienen dobles enlaces entre los carbonos) (Lieberman, et al., 2013). En la **Figura 6** se muestra la estructura química de un ácido graso saturado e insaturado y a modo de ejemplo en la **Tabla V** se da a conocer el porcentaje de ácidos grasos presentes en aceite de diferentes semillas.

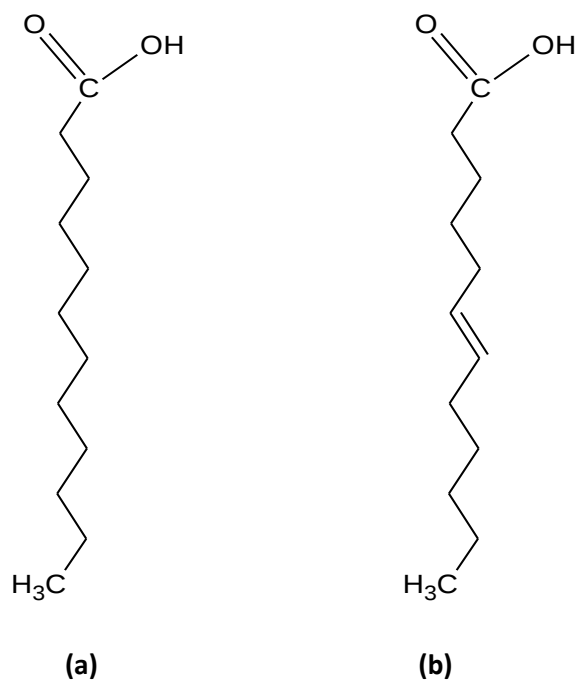


Figura 6. Estructura química de ácidos grasos saturados (a), e insaturados (b)

Fuente:(Abo, 2010)

Tabla V. Porcentajes de ácidos grasos presentes en aceites de diferentes semillas según distintos autores.

Aceite	Palmítico	Esteárico	Oleico	Linoleico	Linolénico
Colza	4,5	1,4	61,2	23,0	9,9
Girasol	5,4	2,8	26,8	64,9	0,1
Lino	4,4	2,6	20,0	16,3	56,7
Girasol	----	----	15,31	65,23	0,21
Soja	----	----	21,53	51,65	8,83
Soja	9,6	5,3	26,0	50,5	5,5
Soja	----	----	25,0	51,0	----
Semilla de algodón	19,9	2,4	17,1	58,4	0

Fuente: (Prieto, Mahecha, Angulo, & Vargas, 2016)

Los ácidos grasos, como ya se conoce, presentan propiedades físicas específicas como densidad, isomería, bipolaridad y punto de fusión; y químicas como esterificación, saponificación, las cuales van a depender de su grupo carboxílico. Debido a la importancia de estas dos últimas propiedades mencionadas se describen cada una de ellas:

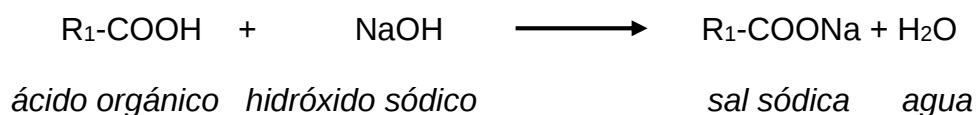
Esterificación

La reacción de esterificación es aquella que se da entre el grupo carboxilo de los ácidos grasos con los alcoholes dando como resultado ésteres y agua (Sánchez, n.d.), tal como se presenta a continuación:



Saponificación

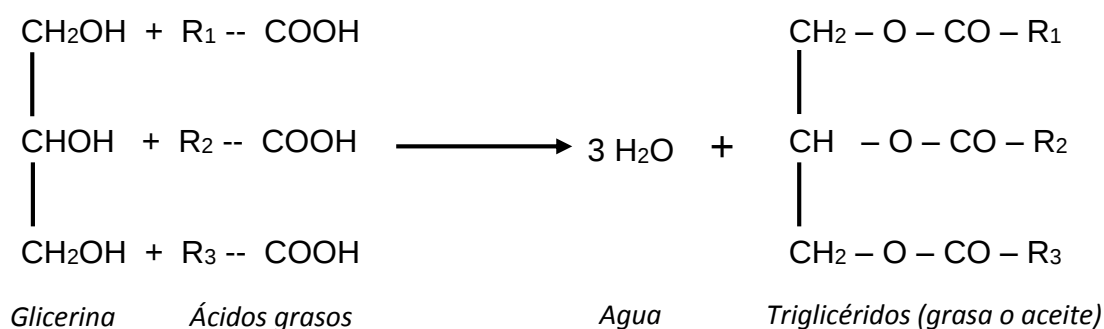
Consiste en la reacción de los ácidos grasos con bases fuertes como hidróxido sódico (NaOH) o de potasio (KOH), dando lugar a la formación sales de ácidos grasos (jabones) (Sánchez, n.d.). Dicho proceso de saponificación se muestra de la siguiente manera:



1.2.1.1.2 Aceites y Grasas

Las grasas y aceites son compuestos formados por ésteres de glicerol y tres ácidos grasos de origen animal o vegetal comúnmente llamados triglicéridos. Los ácidos grasos que conforman un triglicérido pueden ser

iguales o diferentes según la grasa o aceite, por tanto la naturaleza de estos compuestos y la cantidad de ellos le confieren características diferentes a las moléculas a temperatura ambiente. El estado líquido de los aceites, o sólido de las grasas es debido a que, las grasas presentan en su composición un mayor contenido de ácidos grasos saturados, y los aceites un alto porcentaje de ácidos grasos insaturados (Yurkanis, 2008). La reacción para la formación de triglicéridos es la siguiente:



I.2.1.1.2.1 Calidad en los aceites y grasas

Debido a la importancia del contenido de lípidos en productos alimenticios, se han desarrollado una serie de normativas que permiten la determinación, regulación y control del valor nutricional de los productos, es el caso de la FAO (Food and Agricultural Organization, por sus siglas en inglés) a través de la aplicación del Codex Alimentarius, o de la misma AOAC (Association of Official Analytical Chemists, por sus siglas en inglés), entre otros, para garantizar la disponibilidad de alimentos inocuos y seguros para el consumo. En Ecuador, una de las instituciones estatales encargadas de establecer los criterios de calidad de productos de origen vegetal es el Instituto Ecuatoriano de Normalización (INEN).

En el caso de aceites y grasas, los protocolos de calidad consideran tres tipos de parámetros basados en análisis sensoriales, análisis físicos y análisis químicos (Soto, 2011), tal como se destaca en la **Tabla VI**:

Tabla VI. Control de calidad de los aceites

ANÁLISIS SENSORIAL	ANÁLISIS FÍSICOS	ANÁLISIS QUÍMICOS
1. Olor 2. Sabor 3. Color 4. Apariencia	1. Densidad 2. Viscosidad 3. Índice de refracción 4. Punto de fusión	1. Índice de acidez 2. Índice de saponificación 3. Índice de éster 4. Índice de yodo 5. Índice de peróxidos 6. Insaponificables

Fuente: (Soto, 2011)

- **Análisis Sensorial:** Se determina a través de los sentidos del gusto, olfato, vista y tacto.
- **Análisis Físicos:** Se fundamentan en el uso de un instrumento, aparato o equipo como el picnómetro, viscosímetro, refractómetro, fusiómetro, entre otros.
- **Análisis Químicos:** Se fundamentan en el desarrollo de reacciones químicas, que pueden recurrir a la aplicación de técnicas volumétricas para su cuantificación.

En la actualidad, varios análisis basados en la aplicación de métodos clásicos para la caracterización de aceites y grasas han sido sustituidos debido al desarrollo de técnicas instrumentales que proporcionan datos precisos y/o más selectivos como por ejemplo la determinación de perfiles de ácidos grasos mediante cromatografía de gases.

I.2.2 Metabolitos secundarios

Estos compuestos se producen a partir de procesos metabólicos de los denominados “metabolitos primarios”, en donde dichos procesos bioquímicos responden también a las diferentes condiciones ecológicas en las que se desarrollan las plantas, como la climatología del área o las características del terreno. De ahí que, ciertos metabolitos secundarios se manifiestan en mayor o menor cantidad, caracterizando a los géneros y/o especies vegetales. En esta categoría se encuentran los alcaloides, taninos, fenoles, flavonoides, terpenoides, esteroides, cumarinas, saponinas, etc (Ávalos & Pérez-Urria, 2009). A continuación se hace referencia a los esteroides debido a los propósitos de investigación.

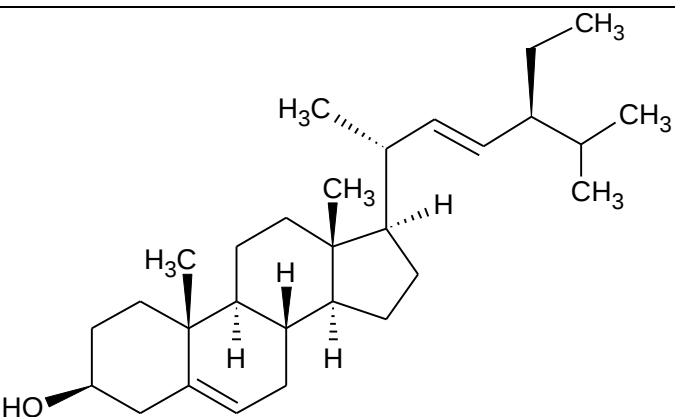
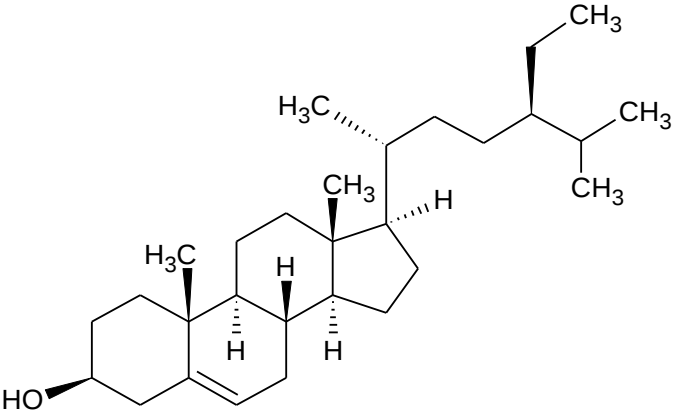
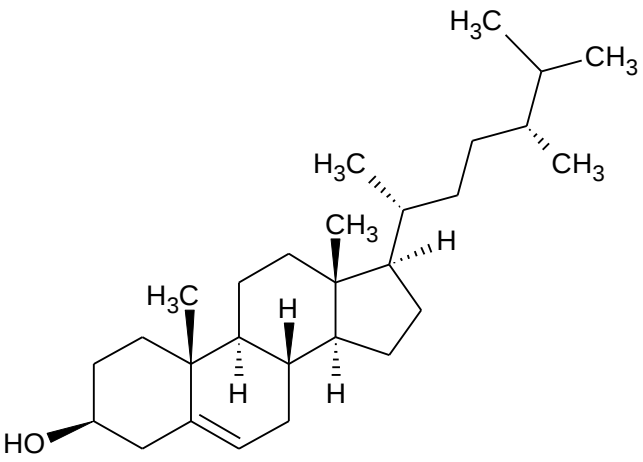
I.2.2.1 Esteroides

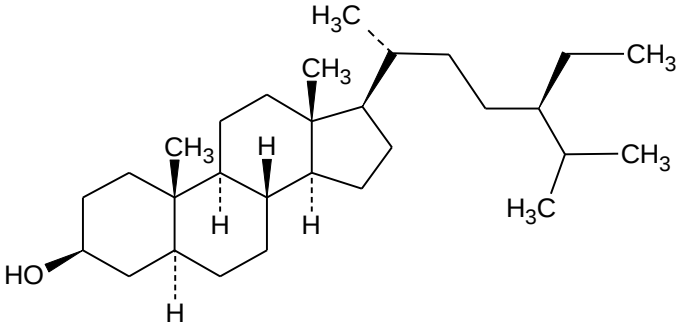
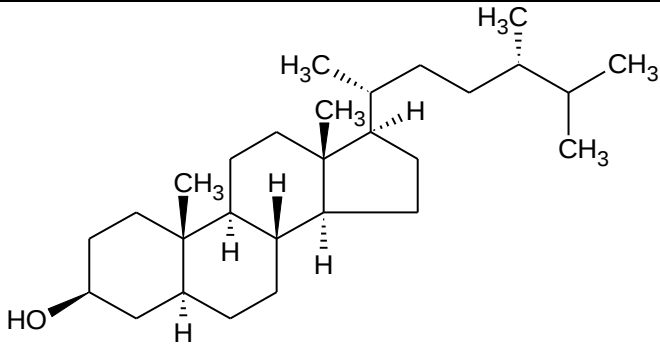
Los esteroides vegetales, también llamados fitoesteroides o fitoestanoles, son compuestos, similares al colesterol (derivados del ciclopentano perhidrofenantreno) que se encuentran presente de manera natural en plantas, generalmente en aceites vegetales, legumbres, cereales y frutos secos en bajas proporciones (Méndez, 2013; Muñoz, Alvarado-Ortíz, & Encina, 2011; Palou et al., 2005).

Estos compuestos tienen efecto hipocolesterolémico, reduciendo significativa y selectivamente al colesterol “malo” o HDL (High density lipoprotein), ya que inhiben su absorción en el intestino; además actúan como precursor para la síntesis de hormonas, ácidos biliares y vitamina D. Sin embargo, el cuerpo humano no puede sintetizar estos beneficiosos fitoesteroides, por lo cual se recomienda la ingesta de los mismos a partir del consumo de alimentos vegetales (Méndez, 2013; Muñoz et al., 2011; Palou et al., 2005).

Los fitoesteros se encuentran en mayor proporción que los fitoestanoles (Palou et al., 2005) ; a modo de ejemplo, en la siguiente **Tabla VII** se muestran dichos compuestos respectivamente.

Tabla VII. Fitoesteros y fitoestanoles más comunes.

Fitoesteros	
	Stigmasterol
	β - Sitosterol
	Campesterol

Fitoestanoles	
	β - Sitosterol
	Campesterol

Fuente: (Méndez, 2013; Muñoz et al., 2011; Palou et al., 2005)

Elaborado por: Autora, 2018

I.3 CROMATOGRAFÍA

Hoy en día la cromatografía, forma parte principal en el análisis de distintos compuestos, en diversas matrices y en diferentes áreas de aplicación, entre las que podemos mencionar la industria farmacéutica, agroquímica, alimentos, petróleo, calidad de aguas, etc. Debido a que es una técnica altamente eficaz permite la separación, identificación y cuantificación de distintos compuestos según las condiciones analíticas establecidas (Saari et al., 2007; Saari et al., 2008; Fernandez-varela et al., 2009; Saari et al., 2010; Wang, et al., 2010; Zubair et al., 2015).

De acuerdo con la International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC, por sus siglas en inglés) la cromatografía es un método físico de separación en el cual los componentes a ser separados son distribuidos

entre dos fases, una de las cuales es estacionaria mientras la otra se mueve en una dirección definida. Los componentes son separados por sus diferentes tasas de migración (Guntuzweiny, 2000). La clasificación más frecuente o general en cromatografía depende del tipo de fase móvil, en este sentido la cromatografía de gases emplea como fase móvil un gas, es decir el denominado gas portador (Linde, n.d).

I.3.1 Cromatografía de gases

La cromatografía de gases es una técnica analítica que permite separar mezclas de compuestos fácilmente volatilizables y térmicamente estables en sus componentes individuales. La separación se lleva a cabo por una combinación de factores que incluyen el punto de ebullición, polaridad y diferencias de afinidad entre los componentes de la muestra y la columna utilizada (Wilson y Klee, 1997).

Dentro de la instrumentación cabe destacar sus componentes funcionales e indispensables tales como: el inyector, columnas cromatográficas, y detectores, además de la mencionada fase móvil.

I.3.2 Columnas

La fase estacionaria, uno de los factores responsable de la separación cromatográfica, reposa sobre un tubo de sílice que constituye la columna cromatográfica (Heftmann, 2004).

Para el análisis del perfil lipídico en los aceites se emplean generalmente dos tipos de columnas: empacadas o capilares, siempre que su fase estacionaria sea polar (polietilenglicol y cianopropilsilicona). A pesar de que las columnas empacadas han sido ampliamente utilizadas, se ven reemplazadas por el uso de las capilares. Estas son

columnas más largas y estrechas, fabricadas de sílice fundida (SiO_2) y recubiertas por una poliamida capaz de resistir altas temperaturas, además además de proporcionarle una adecuada flexibilidad. En este tipo de columnas, por lo general, la fase estacionaria es una película líquida y delgada inmovilizada en un soporte inerte. Las propiedades que debe cumplir la fase estacionaria son: baja volatilidad, estabilidad térmica (elevado punto de ebullición, al menos 100°C por encima de la temperatura de trabajo) e inercia. Estas características ofrecen mayor resolución, mayor rapidez de análisis y mayor sensibilidad que las columnas empacadas (Heftmann, 2004).

El tiempo que tarda un compuesto en pasar a través de una columna específica es llamado tiempo de retención, siendo característico de un compuesto específico bajo parámetros experimentales previamente optimizados y establecidos. A medida que los componentes separados fluyen a través de la columna, estos pueden ser detectados. En definitiva la señal que proporciona el detector es proporcional a la cantidad del compuesto presente en la muestra objeto del análisis (Skoog, Holler, & Crouch, 2008).

I.3.3 Detectores

Los detectores son dispositivos que indican y miden los solutos en la corriente del gas portador, convirtiendo una señal no medible directamente en una señal relativa a una propiedad física. Esta señal es elaborada por una comparación entre el gas portador puro y el mismo gas llevando cada uno de los componentes de la muestra previamente separados en la columna, esto es traducido en una señal eléctrica que es amplificada y registrada al momento de salir de la columna (Jennings, 1987).

Un buen detector es altamente sensible (sensibilidad), tiene una respuesta lineal (linealidad) sobre un amplio rango de concentración y es relativamente insensible a variaciones de flujo y temperatura (rango dinámico lineal) (Olguín & Rodríguez, 2004).

Los detectores de cromatografía en general, pueden ser clasificados por (Dabrío, 1971):

- Grado de selectividad: universales que responden a la mayoría de los solutos; específicos-selectivos con respuesta a un grupo particular de sustancias.
- Recuperación de la muestra: en referencia a si la muestra es destruida o no.
- Modo de respuesta: dependientes de flujo de masa (cantidad de soluto independientemente de la cantidad de gas portador); dependientes de concentración (cantidad de soluto por unidad de volumen de gas portador).
- Proceso de detección: ionización; óptico-espectroscópico; electroquímico.

Los detectores más ampliamente utilizados en cromatografía de gases son el detector de conductividad térmica (TCD¹) y el detector de ionización de flama (FID²), ambos conocidos como detectores universales porque permiten la detección de la mayoría de compuestos orgánicos (Dabrío, 1971). En algunos casos es preciso el uso de detectores selectivos que confieren resultados inequívocos y altamente sensibles, como por ejemplo, espectrómetros de masas acoplados a sistemas de separación cromatográfica.

¹ TCD: Thermal conductivity detector.

² FID: Flame ionization detector.

I.3.4 Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas

Durante los últimos veinte años la espectrometría de masas (MS³) y la cromatografía de gases (GC⁴) han demostrado repetidamente, en gran número de laboratorios en todo el mundo, su versatilidad como métodos analíticos para la determinación estructural y separación de compuestos orgánicos. Ambas técnicas han alcanzado un alto grado de desarrollo en sus diversas facetas prácticas, habiéndose convertido respectivamente e independientemente en dos métodos analíticos en los que se conjuntan una gran rapidez, sensibilidad y poder resolutivo (Baquero, 2006).

Aunque en la práctica hasta 1957, la cromatografía de gases y la espectrometría de masas avanzaron por caminos diferentes pero paralelos en el campo del análisis orgánico, gracias al gran potencial demostrado por los primeros intentos de combinación y a su rápido desarrollo, en la actualidad la combinación directa de ambas se reconoce como uno de los sistemas más eficaces a disposición del químico analista para el estudio e identificación de mezclas complejas de productos orgánicos (Cañada, 2011).

Tal como se ha mencionado, la cromatografía de gases es una técnica separativa que permite la separación de mezclas muy complejas. Pero una vez separados, detectados, e incluso cuantificados todos los componentes individuales de una muestra problema, el único dato que disponemos para la identificación de cada uno de ellos es el tiempo de retención de los correspondientes picos cromatográficos generados. Este dato no es suficiente para una identificación inequívoca, sobre todo cuando analizamos muestras con un número elevado de componentes (De la Cruz, 2011; Giménez, 2012; Huetos, 2009; Mendieta, 2009; Olguín & Rodríguez, 2004). En ese sentido, los sistemas de espectrometría de masas

³ MS: Mass spectrometry.

⁴ GC: Gas chromatography.

proporcionan una información adicional a partir de la generación del respectivo espectro de masas de cada molécula separada y detectada por MS.

El acoplamiento de los sistemas GC-MS es factible a través de las denominadas interfases que facilitan el ingreso de los compuestos separados mediante cromatografía hacia el espectrómetro de masas. Al respecto, la capacidad de cada interfase en MS es fundamental para asegurar el ingreso de la muestra y proporcionar información útil para la determinación y confirmación de los analitos a partir de la información estructural que pueden proporcionar los espectros de masas de dichos compuestos (Zamora, 2004).

Diversas técnicas de ionización son utilizadas en GC-MS, en la que destaca la ionización por impacto electrónico como la técnica más frecuentemente utilizada, siendo la que permite la ionización y fragmentación de la molécula en estudio, proporcionando además, iones moleculares e iones de fragmentación característicos para cada compuesto (Zamora, 2004).

CAPÍTULO II

MATERIALES Y MÉTODOS

II.1 TIPO DE INVESTIGACIÓN

El tipo de investigación que se utilizó para el desarrollo de este proyecto se basa en una investigación experimental y descriptiva sobre la composición química del aceite de la semilla del algarrobo (*Prosopis juliflora*).

II.2 EQUIPOS, MATERIALES Y REACTIVOS

II.2.1 Equipos

- Balanza analítica marca OHAUS AX224/E
- Refractómetro marca Thermo Scientific 334610
- Espectrofotómetro marca Shimadzu
- Cromatógrafo de gases marca Agilent modelo 7890A 6C, con detector de espectrometría de masas (fuente de ionización por impacto electrónico y analizador de simple cuádruplo) marca Agilent, modelo 5975C MSD

II.2.2 Aparatos

- Molino marca KIMAX
- Estufa marca BIOBASE modelo BOV-V125F
- Rotaevaporador marca KIMAX
- Plato de calentamiento marca IKA

II.2.3 Materiales

- Matraces aforados (25 ml, 50 ml, 100 ml, 250 ml)
- Pipetas volumétricas (2 ml, 5 ml, 10 ml)
- Espátula
- Tubos de ensayo
- Probetas graduadas (100 ml)
- Matraces *Erlenmeyer* (25 ml, 50 ml)
- Sistema soxhlet
- Embudos para filtración
- Pipetas Pasteur
- Viales
- Dedales de celulosa
- Termómetro

II.2.4 Reactivos

En la **Tabla VIII**, se enlistan los reactivos que fueron usados para cada uno de los ensayos respectivos:

Tabla VIII. Tabla de reactivos

ANÁLISIS	REACTIVOS
ÍNDICE DE SAPONIFICACIÓN	1. Solución alcohólica de hidróxido de potasio (0.5 N) 2. Ácido Clorhídrico (0.5 N) 3. Fenolftaleína al 1 %
ÍNDICE DE YODO	1. Cloroformo 2. Solución de Wijs (Merck)* 3. Solución de yoduro de potasio al 15 % 4. Agua destilada 5. Tiosulfato de sodio (0.1 N) 6. Almidón al 1 %
ÍNDICE DE ACIDEZ	1. Alcohol 2. Éter

	3. Fenolftaleína al 1 % 4. Hidróxido de sodio (0.1 N)
ÍNDICE DE REFRACCIÓN	1. Alcohol 2. Éter
EXTRACCIÓN	1. Hexano
DETECCIÓN UV-VIS FENOLES	1. Ácido Gálico (Sigma)* 2. DPPH (Sigma)* 3. Etanol
PERFIL LIPÍDICO	Fracción saponificable 1. Hexano 2. Metanol 3. Hidróxido de sodio
	Fracción insaponificable 1. Solución alcohólica de hidróxido de potasio (0.5 N) 2. Éter de petróleo

**Se colocó como referencia la marca de ciertos reactivos característicos en los distintos ensayos, con el objetivo de que sirva como base para estudios que necesiten replicar los distintos análisis.*

II.3 MUESTRAS

Este estudio se realizó en las semillas de algarrobo ecuatoriano, especie *Prosopis juliflora*, recolectadas en la provincia del Guayas en los meses de octubre y noviembre de 2017, en la zona próxima al Estero Salado en la Universidad de Guayaquil.

Para el correspondiente estudio del aceite obtenido a partir de la semilla del algarrobo se procedió conforme a la siguiente secuencia de ensayos, prevista en el diseño experimental de este trabajo de titulación; y procurando el análisis integral de la semilla:

1. Medición de las semillas
2. Determinación de Humedad (harina del cotiledón)
3. Preparación de las Muestras (secado y tritución)
4. Tamizaje Fitoquímico
5. Determinación antioxidante: Determinación de polifenoles (UV-VIS)
6. Obtención del aceite (Extracción soxhlet)
7. Ensayos Fisicoquímicos del aceite
8. Análisis cromatográfico del aceite

II.3.1 Medición de las semillas

Las semillas fueron separadas del carozo y luego se procedió a medir el largo y ancho de 50 unidades, así como también se determinó el peso de cada una de ellas para obtener un valor promedio (**Anexo I**).

II.3.2 Determinación del contenido de humedad

El método que se utilizó para esta determinación fue el gravimétrico el cual consistió en pesar 1 g de la muestra triturada en una cápsula de porcelana seca y previamente tarada, posteriormente se colocó en la estufa a 50 °C durante 5 h, luego de que haya transcurrido el tiempo establecido, la cápsula se transfirió a un desecador para el debido enfriamiento y posterior pesado. Se volvió a colocar la cápsula nuevamente en la estufa por otra hora adicional, se colocó en el desecador y se volvió a pesar, este procedimiento se realizó hasta obtener peso constante (**Anexo II**). Se calculó el contenido de humedad con la siguiente fórmula:

$$\% H = \frac{(P1 - P0) - (P2 - P0)}{P1 - P0} \times 100$$

Dónde:

% H: Porcentaje de Humedad por desecación (%)

P₀: Peso de la Cápsula vacía (g)

P₁: Peso de la Cápsula + Muestra (g)

P₂: Peso de la Cápsula + Muestra (luego de la desecación)

II.3.3 Preparación de las muestras

Para la obtención del aceite (**Anexo III**) se precisó la preparación de las muestras una vez recolectadas, como se detalla a continuación:

- ✓ Limpiar las vainas del algarrobo recolectadas.
- ✓ Secar las vainas en la estufa de calentamiento a una temperatura de 40 °C.
- ✓ Triturar las vainas secas de manera controlada para facilitar la separación de las semillas y carozo de la vaina.
- ✓ Secar las semillas hasta peso constante a temperatura de 40 °C
- ✓ Triturar las semillas secas.

II.3.4 Tamizaje Fitoquímico

Para tener un conocimiento preliminar cualitativo de los metabolitos presentes en la semilla del algarrobo, se procedió a realizar un tamizaje fitoquímico en extractos obtenidos de la maceración individual con diferentes solventes. Los ensayos del screening fitoquímico aplicado en este caso se basó en la metodología propuesta por Miranda y Cuellar (Vidaurre et al., 2006).

Preparación de extractos: Se pesó 25 g de la muestra (seca y triturada) se le agregó 75 ml de éter y se dejó macerar por 48 horas a temperatura

ambiente, luego de transcurrido el tiempo establecido se procedió a filtrar obteniendo el extracto etéreo, posteriormente a la muestra ya filtrada se le coloca 75 ml de etanol y se la deja macerar nuevamente en las mismas condiciones (48 horas y a temperatura ambiente), se volvió a filtrar obteniendo el extracto etanólico y por ultimo a la muestra que ya se filtró se le coloca 75 ml de agua y se la dejó macerar por 24 horas a temperatura ambiente, se filtró y se obtuvo el extracto acuoso, luego de que se obtuvo los tres extractos se procedió a realizar cada una de las pruebas correspondientes a cada extracto como se muestra a continuación en la **Tabla IX** y los resultados obtenidos en cada ensayo se evidencian en el **Anexo IV**.

Tabla IX. Ensayos fitoquímicos en diferentes extractos de semilla de *Prosopis juliflora*.

Extracto Etéreo	Extracto Etanólico	Extracto Acuoso
1. Dragendorff 2. Mayer 3. Wagner 4. Liebermann-Burchard 5. Baljet	1. Dragendorff 2. Mayer 3. Wagner 4. Liebermann-Burchard 5. Fehling 6. Shinoda 7. Cloruro Férrico 8. Espuma	1. Dragendorff 2. Mayer 3. Wagner 4. Fehling 5. Shinoda 6. Cloruro Férrico 7. Espuma 8. Borntrager

II.3.5 Determinación de la capacidad antioxidante “in vitro” por el método de DPPH (α , α -DiPhenyl- β -PicrylHydrazyl).

Curva de calibrado

Procedimiento: Se pesó 2,5 mg de ácido gálico y se lo llevó a un volumen de 50 mL con etanol en un matraz volumétrico, luego se realizaron 5 diluciones a diferentes concentraciones y se las llevó a un volumen de 10 mL con etanol, después se pesó 3 mg de DPPH⁺ y se lo llevó a un volumen de 50 mL con etanol en un matraz volumétrico. Se realizaron las

respectivas lecturas a 517 nm en el espectrofotómetro UV, siendo el etanol el blanco, y posteriormente se realizó la curva de calibración del ácido gálico.

Muestra

Procedimiento: Se evaporó, mediante rotaevaporador, el extracto alcohólico de la muestra obtenido a partir de la maceración de la misma con etanol (25 g en 75 ml), luego se pesó 10 mg de muestra y se la diluyó con etanol a un volumen de 10 mL en matraz volumétrico y se realizó la lectura a 517 nm en espectrofotómetro UV (Cruzado, Pastor, Castro, & Cedrón, 2013).

Soluciones patrón

Se preparó una solución *stock* de ácido gálico equivalente a 50 mg/L y de la cual se realizaron 5 diluciones para la curva, esto es 5, 10, 15, 20, 25 mg/L, además del blanco con una concentración equivalente a 0 mg/L.

II.3.6 Obtención del aceite

- **Extracción Soxhlet:** Se pesaron 80 g de las semillas y se colocaron en un dedal de celulosa. En un balón volumétrico se adicionó 150 mL de hexano, se montó el equipo de Soxhlet, conectando el sifón al balón y al condensador. Se aplicó calentamiento sobre los 60 °C para favorecer el reflujo, manteniéndose el sistema por 5 horas (**Anexo V**).

Se calculó el rendimiento del extracto obtenido con respecto al material vegetal empleado, considerando el peso seco de muestra y aplicando la siguiente formula:

$$\% \text{ Rendimiento} = \frac{\text{Cantidad de extracto obtenido}}{\text{Cantidad de material vegetal empleado}} \times 100$$

II.3.7 Análisis de las propiedades fisicoquímicas del aceite

III.3.7.1 Índice de refracción – NTE INEN 42

Según la Norma INEN 0042 el índice de refracción es la relación entre la velocidad de la luz a una longitud de onda definida en el vacío y la velocidad de la luz en el medio (INEN, 2013).

Procedimiento: En primer lugar se limpió la lente (prisma) con etanol, luego se colocaron 2 gotas sobre el prisma y se realizaron las respectivas mediciones a 28 °C. Se realizaron 3 mediciones en el refractómetro.

II.3.7.2 Índice de saponificación (índice de Koettstorfer) – NTE INEN 40

Según la Norma INEN 0040 el índice de saponificación es la cantidad de hidróxido potásico, en miligramos, necesario para saponificar 1 g de grasa (INEN, 2013).

Procedimiento: Se pesó 1 g de aceite en un tubo de ensayo, luego se adicionaron 10 mL de KOH 0.5 N y se llevó a ebullición por 30 minutos. Posteriormente se dejó enfriar el sistema, se agregó 1 mL del indicador fenolftaleína y se tituló con HCl 0.5 N. Este procedimiento se realizó por triplicado. Finalmente, se calculó el índice de saponificación con la siguiente fórmula:

$$i = \frac{56.1 (V_1 - V_2)N}{m}$$

Dónde:

i: índice de saponificación

V₁: Volumen consumido por el blanco

V₂: Volumen consumido por la muestra

N: Normalidad del HCl

m: masa de la muestra

II.3.7.3 Índice de yodo (método de Wijs) – NTE INEN ISO 37

Según la Norma INEN 0037 el índice de yodo es una medida del grado medio de insaturación de ciertas sustancias orgánicas, expresado como centigramos de yodo absorbidos, bajo condiciones determinadas, por cada gramo de sustancia.

Procedimiento: Se pesó 0.25 g de aceite en una fiola, se le agregaron 10 mL de cloroformo para disolver la grasa, posteriormente se le agrego 10 ml de la solución de Wijs y se dejó reposar por 30 minutos (sin luz), agitando ocasionalmente, luego se añadió 5 ml de KI al 15% y se agito vigorosamente, se agregaron 100 mL de agua destilada, se agregó 1 mL del indicador de almidón al 1%, y se procedió a titular con tiosulfato de sodio 0.1 N hasta perdida del color azul. Este procedimiento se realizó por triplicado. A efectos del cálculo respectivo se utilizó la siguiente fórmula:

$$i = \frac{12.69 (V - V_1)N}{m}$$

Dónde:

i: índice de yodo

V: Volumen consumido por el blanco

V₁: Volumen consumido por la muestra

N: Normalidad del HCl

m: masa de la muestra

II.3.7.4 Índice de acidez – NTE INEN 38

Según la Norma INEN 0038 el índice de acidez es el número de miligramos de hidróxido de potasio requeridos para neutralizar los ácidos grasos libres contenidos en 1 g de grasa o aceite.

Procedimiento: Se pesó 1 g de aceite en un matraz Erlenmeyer, se agregó 20 mL de una mezcla neutralizada de alcohol – éter (1:1), posteriormente se adicionó 1 mL de fenolftaleína y se procedió a titular con una solución 0,1 N de hidróxido de sodio hasta coloración rosada. Este procedimiento se efectuó por triplicado; y para el cálculo respectivo se utilizó la siguiente fórmula:

$$i = \frac{56.1 \times V \times N}{m}$$

Dónde:

i: índice de acidez

V: Volumen consumido por la muestra

N: Normalidad del NaOH

m: masa de la muestra

II.3.8 Determinación cromatográfica

Para el análisis de la composición química de los extractos insaponificable y saponificable, se realizó la respectiva determinación cromatográfica mediante un cromatógrafo de gases acoplado a espectrometría de masas con fuente de ionización por impacto electrónico (70 eV), y analizador de simple cuadrupolo, en modo de trabajo full-scan. Para el análisis de la fracción saponificable se llevó a cabo, de manera preliminar, la metilación del aceite; ello para facilitar la identificación de los ácidos grasos metilados.

II.3.8.1 Fracción saponificable

Preparación de la muestra para análisis de ácidos grasos

A una alícuota de 150 μ L del aceite, se agregó 2 mL de hexano y se procedió a agitar vigorosamente. Luego se adicionó 1 mL de una solución de metanol – hidróxido de sodio (2 M) y se agitó nuevamente mediante vortex. Se agregó 1 mL de hexano y se llevó a calentamiento en baño maría por 6 min, observándose la separación de dos fases. La fase hexánica fue traspasada a un vial para su posterior inyección y análisis en el sistema GC-MS.

Condiciones cromatográficas

- Gas de arrastre: He
- Flujo: 1 mL/min
- Volumen de inyección: 1 μ L
- Inyección en Modo: Split (50:1)
- Temperatura del inyector: 250 °C
- Columna DB-5ms (30 m x 0,25 mm x 0,25 μ m)
- Temperatura del horno: 150 °C (4 min), 2 °C/min hasta 250 °C (4 min)
- Temperatura de la línea de transferencia: 280 °C
- Detector: Espectrofotómetro de Masas
- Fuente de ionización por impacto electrónico: 70 eV, 230 °C
- Analizador de simple cuadrupolo: 150 °C
- Adquisición de masas en full-scan: 50 – 550 m/z
- Fotomultiplicador: 1682 V

II.3.8.2 Fracción insaponificable

Preparación de la muestra

Se pesó 1 g de la muestra en un tubo de ensayo y se agregó 10 mL de solución alcohólica de KOH (0,5 N) y se colocó en un baño maría por 30 min, se dejó enfriar. El extracto se llevó a un embudo de decantación para realizar 3 lavados con éter, y posteriormente suficiente número de lavados con etanol a la fracción etérea hasta comprobación de decoloración del extracto al adicionar una gota de fenolftaleína.

Condiciones cromatográficas

- Gas de arrastre: He
- Flujo: 1,2 mL/min
- Volumen de inyección: 2 µL
- Inyección en Modo: Splitless
- Temperatura del inyector: 250 °C
- Columna DB-5ms (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm)
- Temperatura del horno: 70 °C (2 min), 5 °C/min hasta 300 °C (6 min)
- Temperatura de la línea de transferencia: 300 °C
- Detector: Espectrofotómetro de Masas
- Fuente de ionización por impacto electrónico: 70 eV, 230 °C
- Analizador de simple cuadrupolo: 150 °C
- Adquisición de masas en full-scan: 50 – 550 m/z
- Fotomultiplicador: 2012 V

CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

III.1 MEDICIONES DE LAS SEMILLAS

De acuerdo a las características físicas medidas, los valores obtenidos de longitud, anchura y peso de las semillas de algarrobo se describen en el Anexo I. En la **Tabla X** se da a conocer el valor promedio de la medición de las 50 unidades analizadas; siendo 0,66 cm de largo, 0,39 cm de ancho y 0,05 g de Peso. Estos datos se asemejan a los reportados por Pasiecznik et al., (2001), Prokopiuk (2004) y Aedo (2007) en las especies *pallida*, *juliflora* y *chilensis*.

Tabla X. Características físicas (largo, ancho y peso) de las semillas de *Prosopis juliflora*

	Largo (cm)	Ancho (cm)	Peso (g)
Promedio	0,66	0,39	0,05
CV	0,8 %	1,25 %	1 %

Elaborado por: Autora, 2018

III.2 DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE HUMEDAD

El porcentaje de contenido de humedad determinado por el método gravimétrico fue de 5,69 % con un coeficiente de variación de 0,01, tal como se indica en la **Tabla XI**. Estos datos son superiores a los reportado por Aedo (2007) en semillas de la especie *P. chilensis* con un valor promedio del 3,1%. Podemos considerar que los valores obtenidos están asociados con las condiciones ambientales de la zona y la época de recolección en la que fueron tomadas las muestras.

Tabla XI. Porcentaje de humedad de las semillas de *Prosopis juliflora*

#	Peso de la Muestra (g)	% Humedad
1	1,0014	5,74
2	1,0013	5,62
3	1,0009	5,71
	Promedio	5,69
	CV %	0,01

Elaborado por: Autora, 2018

III.3 TAMIZAJE FITOQUÍMICO

Los resultados obtenidos en el tamizaje fitoquímico en los diferentes extractos se describen en la **Tabla XII**, destacándose la presencia de metabolitos como alcaloides en el extracto acuoso con resultados positivos en las tres reacciones características ensayadas para estos compuestos.

En el extracto etéreo se evidenciaron resultados positivos para la identificación de esteroides, debido a la coloración verde oscura obtenida en la reacción típica Lieberman-Buchard.

Así también, la reacción positiva de Sudan confirmó la presencia de ácidos grasos, característicamente en los extractos etéreo y alcohólico.

De acuerdo con los resultados alcanzados, se confirmó cualitativamente, el contenido de estos compuestos en correspondencia con lo registrado en las referencias bibliográficas revisadas (Aedo, 2007; Pasiecznik et al., 2001; Prokopiuk, 2004), sin especificar en este punto las moléculas específicas dentro del grupo de compuestos reportados.

Tabla XII. Resultados del tamizaje fitoquímico en semillas de *Prosopis juliflora*

ENSAYOS	METABOLITOS	EXTRACTOS		
		ETÉREO	ALCOHÓLICO	ACUOSO
Dragendorff	Alcaloides	+	-	++
Mayer		-	-	++
Wagner		-	-	++
Baljet	Lactonas	-	-	N/A
Borntrager	Paraquinonas y antraquinonas	-	-	N/A
Lieberman-burchard	Esteroles y triterpenos	+	-	N/A
Fehlling	Azúcares	N/A	-	-
Espuma	Saponinas	N/A	-	-
Cloruro férrico	Fenoles y taninos	N/A	-	-
Sudan	Ácidos grasos	+	+	+
Shinoda	Flavonoides	N/A	-	-

N/A: No aplica al extracto

Reacciones positivas:(+) ó (+) Opalescencia (++) Turbidez (+++) Precipitado

Reacción negativa: (-)

Elaborado por: Autora, 2018

III.4 DETERMINACIÓN DE CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

Para la determinación de la capacidad antioxidante (in vitro), preliminarmente, se realizó una curva de calibrado de la solución patrón de ácido gálico en función de la concentración del radical (DPPH) como se indica en el **Gráfico 1**. En este caso, se obtuvo una linealidad del orden de 0,9995 por su coeficiente de correlación (R), y la respectiva ecuación de la recta, a partir de la cual se obtuvo como concentración en la muestra real, un valor de 4,14 % de ácido gálico/100 g de muestra ó 0,414 mg de ácido gálico/g de muestra. Este resultado representa un porcentaje de inhibición con respecto al DPPH⁺ del 5,35 % descrito en la **Tabla XIII**. Cabe destacar que esta información no pudo ser contrastada con valores obtenidos por otros investigadores en especies del género *Prosopis*.

Tabla XIII. Resultados de la determinación de la capacidad antioxidante del extracto alcohólico de la semilla de *Prosopis juliflora*

MUESTRA	CONCENTRACIÓN	% DE INHIBICIÓN	% DE ÁCIDO GÁLICO/100 G DE MUESTRA
ALGARROBO	1,00 mg/ml	5,35 %	4,14

Elaborado por: Autora, 2018

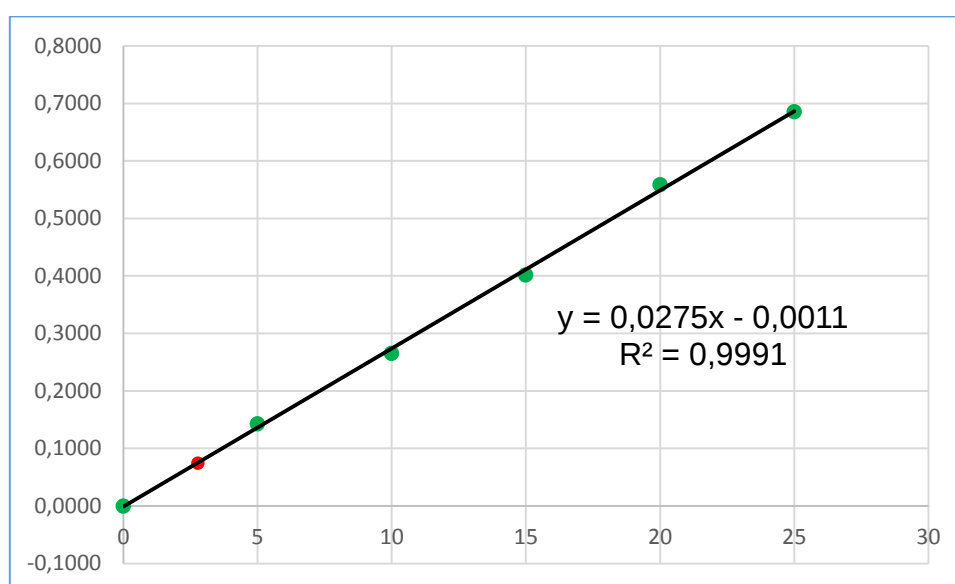


Gráfico 1. Curva de calibrado de ácido gálico en función de la concentración de DPPH⁺ y la respectiva interpolación de la concentración de la muestra

A partir de los datos obtenidos se evidencia un bajo contenido de polifenoles en las semillas del algarrobo; estos datos respaldan los resultados del análisis cualitativo realizado mediante el tamizaje fitoquímico, en donde se observó una reacción negativa para este tipo de compuestos.

III.5 RENDIMIENTO DE ACEITE

El rendimiento obtenido del aceite de la semilla de la *Prosopis juliflora* estudiado da como resultado un valor promedio de 2,60% con un coeficiente de variación de 3,87 %, en base al número de réplicas ensayadas (8); estos datos se detallan en la **Tabla XIV**. Cabe destacar que no se encontraron referencias bibliográficas que describan el rendimiento en alguna de las especies del género *Prosopis*. A modo de ejemplo, se puede mencionar valores obtenidos en otro tipo de semillas como es el caso de semilla de girasol con un rendimiento de 0,7 % y semillas de soja con 0,5 %.

Tabla XIV. Rendimiento del aceite de la semilla de *Prosopis juliflora*

#	Peso de la Muestra (g)	% Rendimiento
1	80	2,56
2	90	2,76
3	80	2,55
4	80	2,55
5	80	2,55
6	73	2,56
7	90	2,76
8	82	2,50
	Promedio	2,60
	CV %	3,87

Elaborado por: Autora, 2018

III.6 PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS

III.6.1 Índice de refracción

Los resultados para el índice de refracción del aceite de algarrobo, se muestran en la **Tabla XV**, habiendo obtenido un valor promedio de 1,472 con un CV de 0,1 %. Al no existir antecedentes registrados por parte de otros autores sobre valores del índice de refracción en aceite de algarrobo de ninguna especie de este género, se hace referencia a valores reportados para otro tipo de semillas, como por ejemplo: aceite de maní (1,460 -1,465); aceite de coco (1,448 – 1,450); aceite de palma (1,454 -1,456) (Soto, 2011). Los valores encontrados pueden constituir un patrón de referencia que denota la pureza del aceite de semilla de algarrobo.

Tabla XV. Resultados de índice de refracción en aceite de semillas de *Prosopis juliflora*

Lecturas	Índice de refracción
1	1,471
2	1,474
3	1,472
Promedio	1,472
CV %	0,1

Elaborado por: Autora, 2018

III.6.2 Índice de saponificación

En la **Tabla XVI**, se describen los resultados obtenidos en los ensayos de índice de saponificación para el aceite de algarrobo, obteniendo como resultado para un total de 3 réplicas un promedio de 524,45 mg con un CV de 0,32%; mientras que para otros aceites vegetales como el aceite de coco se reportan valores de 248-265 mg de hidróxido por cada gramo de aceite; o 244-255 mg para la estearina de almendra de palma.

Tabla XVI. Resultados de índice de saponificación en aceite de semillas de *Prosopis juliflora*

#	Peso de la muestra (g)	Índice de saponificación (mg KOH/g aceite)
1	1,01	522,56
2	1,00	525,04
3	1,03	525,76
	Promedio	524,45
	CV %	0,32

Elaborado por: Autora, 2018

III.6.3 Índice de yodo

Los resultados para el ensayo de índice de yodo para el aceite de algarrobo se describen en la **Tabla XVII**, habiéndose obtenido un promedio de 35,36 con un CV de 1,65%, mientras que para otros aceites vegetales como el girasol se reporta un índice de yodo de 118 a 141; y el aceite de coco de 6,3 a 10,6.

Considerando que este parámetro hace referencia al grado de insaturación del aceite debido a su contenido de compuestos insaturados, a modo de comparación se hace referencia con el aceite de coco, el cual presenta un índice de yodo bajo frente a otros aceites de origen vegetal, producto de una mayor cantidad de ácidos grasos saturados que insaturados. Sin embargo, por lo general los aceites vegetales tienen un índice de yodo que varía entre 30 – 60 (Valverde, 2016), estando el aceite de algarrobo dentro de este rango y denotando su bajo contenido de compuestos insaturados.

Tabla XVII. Resultados de índice de yodo en aceite de semillas de *Prosopis juliflora*

#	Peso de la muestra (g)	Índice de yodo
1	0,24	36,03
2	0,25	35,02
3	0,25	35,02
	Promedio	35,36
	CV %	1,65

Elaborado por: Autora, 2018

III.6.4 Índice de acidez

En la **Tabla XVIII**, se detallan los resultados obtenidos para el ensayo de acidez, donde se obtuvo un promedio de 5,03 con un CV de 1,66 %, mientras que para aceites comestibles como el aceite de oliva se reporta un índice de acidez de 1,5 ((Panreac Quimica, 1999); es decir los valores obtenidos para el aceite de algarrobo sobrepasan a los reportados para otros aceites. Adicional al análisis de índice de acidez, se realizó la determinación de pH por potenciometría, dando como resultado un pH equivalente a 5,48, este valor se asemeja al resultado de este parámetro comprobando la veracidad de los resultados. En este caso, cabe indicar que debido al bajo rendimiento de la semilla se debió realizar varias extracciones para obtener el volumen de aceite necesario que permita llevar a cabo la determinación del índice de acidez; razón por la cual el presente análisis se realizó con varios días de diferencia desde la obtención de las diferentes fracciones de aceite. Es preciso considerar este detalle puesto que los valores de acidez, que corresponden a la neutralización de los ácidos grasos libres presentes en el aceite, varían incrementándose conforme transcurre el tiempo de almacenamiento del producto extraído. Ello, es posible asociarlo con los valores de acidez registrados en este estudio, además cabe mencionar que el contenido de esteroides presentes en el aceite, como se muestra en el análisis cromatográfico podría influir en el valor de acidez obtenido.

Tabla XVIII. Resultados de índice de acidez en aceite de semillas de *Prosopis juliflora*

#	Peso de la muestra (g)	Índice de acidez
1	1,10	5,10
2	1,00	5,05
3	1,25	4,94
	Promedio	5,03
	CV %	1,66

Elaborado por: Autora, 2018

III.7 DETERMINACIÓN CROMATOGRÁFICA

La determinación de la composición química del aceite de *Prosopis juliflora*, fue posible mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas, y a través de la inyección de dos fracciones del aceite: un extracto insaponificable y un extracto saponificable. En el **Anexo VI, VII, VIII y IX** se muestran los cromatogramas correspondientes a la fracción saponificable e insaponificable, respectivamente; así como los espectros de los picos más característicos.

III.7.1 Fracción saponificable

El objeto del análisis de la fracción saponificable fue determinar la composición de ácidos grasos presente en el aceite de algarrobo.

La técnica aplicada permitió separar e identificar los diferentes ácidos grasos presentes en la muestra, tal como se indica en la **Tabla XIX**; evidenciando una mayor abundancia de los compuestos insaturados con un valor de 71 % con respecto al total del aceite. Este carácter del aceite se debe a la presencia del ácido linoleico con 44,92 %, seguido del ácido oleico con 22,79 %.

También se identificó la presencia de compuestos saturados en siguiente orden de abundancia: ácido palmítico con un 12,94 %, y el ácido estérico con un 6,78 %. Cabe indicar que estos datos se corresponden con resultados similares a los reportados por la bibliografía consultada (Pasiiecznik et al., 2001). Adicionalmente, se destaca en este trabajo de investigación la detección de otros ácidos grasos (saturados e insaturados) presentes en el aceite de algarrobo, lo cuales también se incluyen en la **Tabla XIX**, y de los cuales no hay mayor información en los antecedentes de este trabajo.

Tabla XIX. Ácidos grasos presentes en el aceite de *Prosopis juliflora*

Tiempo de retención (min.)	Compuestos	% Abundancia
26,288	Ácido cis,cis-9,12-Octadecadienoico (linoleico)	44,92
26,561	Ácido cis-9-octadecenoico (oleico)	22,79
19,258	ácido hexadecanoico (palmítico)	12,94
27,630	Ácido octadecanoico (esteárico)	6,78
35,838	Ácido Eicosanoico (araquídico)	2,86
43,675	Ácido docosanoico (behénico)	2,51
38,040	Ácido hexanodioico bis 2-etilhexil (adípico)	2,26
26,681	Ácido 11 -octadecenoico	1,39
51,017	Ácido tetracosanoico (lignocérico)	1,26
34,622	Ácido cis – 13– Eicosadienoico	0,46
47,400	Ácido tricosanoico	0,46
39,802	Ácido heneicosanoico	0,24
18,094	Ácido 9-hexadecenoico	0,18
54,522	Ácido pentacosanoico	0,18
23,330	Ácido heptadecanoico	0,17
34,335	Ácido cis – 11,14 – Eicosadienoico	0,16
15,153	Ácido pentadecanoico	0,12
27,064	Ácido 12 -octadecenoico	0,11
11,503	Ácido tetradecanoico (mirístico)	0,07
22,227	Ácido cis-10-heptadecenoico	0,05
31,732	Ácido nonadecanoico	0,05
17,676	Ácido hexadecadienoico	0,04

Elaborado por: Autora, 2018

En los espectros de masas incluidos en el apartado de anexos, se puede apreciar la correspondencia de dichos espectros de los compuestos detectados en las muestras analizadas con respecto a lo reportado por la biblioteca de m/z. Se puede observar además la presencia de iones fragmentos característicos que se generan a partir de este tipo de moléculas. Estos aspectos favorecen la identificación inequívoca de los diferentes ácidos grasos, siendo relevante para los picos de menor abundancia.

III.7.2 Fracción insaponificable

El estudio de la fracción insaponificable, permitió la identificación de esteroides en el aceite de algarrobo, siendo los de mayor abundancia el gamma-sitosterol con un 18,22% y el campesterol con un 6%, como se muestran en la **Tabla XX**. La bibliografía consultada reporta la presencia de fitosteroides en muestras de semilla de algarrobo (Pasiecznik et al., 2001) y en hojas (Valderrama, 1997) de otras especies de *Prosopis*.

La identificación de los compuestos reportados en la tabla anterior fue posible gracias al espectro de masas obtenido para los correspondientes picos detectados en la muestra. A modo de ejemplo en el **Anexo IX** se presentan los espectros de los compuestos más abundantes frente a los respectivos obtenidos de la biblioteca de espectros NIST. La similitud del patrón de fragmentación entre dichos espectros ha permitido la identificación de fitosteroides, generando de esta manera una línea de base sobre la composición de los esteroides presentes en el aceite de semilla de la especie *Prosopis juliflora*. Los compuestos identificados corresponden a un 60% del total de picos detectados durante el análisis de esta fracción; a pesar que algunos otros compuestos de menor abundancia también fueron

detectados, sin embargo no fue posible su identificación ya que no presentaban espectros de masas adecuadamente definidos.

Tabla XX. Esteroles presentes en el aceite de *Prosopis juliflora*

Tiempo de retención (min.)	Compuestos	% Abundancia
48,81	beta-Sitosterol	18,22
47,91	Stigmasterol	8,30
47,52	Campesterol	6,00
49,74	Cicloartenol	4,99
31,05	Fitol	4,08
30,09	gama-Sitosterol	3,24
38,77	Lanosterol	3,12
46,08	Colesterol	2,44
32,28	trans-Geranylgeraniol	1,69
48,14	beta-Amirin	1,46
50,96	Tirucallol	1,45
41,66	Erucamida	1,43
50,51	metilen-Cicloartanol	1,25
50,37	Estigmast-4-en-3-ona	0,84
42,11	Escualeno	0,82
45,03	beta-Tocoferol	0,46
45,25	gamma-Tocoferol	0,37

Elaborado por: Autora, 2018

CONCLUSIONES

De acuerdo con los resultados obtenidos se puede concluir que:

- En la extracción por Soxhlet se obtuvo un rendimiento promedio de 2,60 % para el aceite de las semillas de algarrobo de la especie estudiada.
- Se determinaron las propiedades fisicoquímicas del aceite fijo de las semillas del algarrobo que determina la calidad del mismo, donde los resultados obtenidos denotan cumplimientos con los criterios de calidad establecidos por el INEN, en la mayoría de los casos. Únicamente los valores de índice de acidez (5,1) superaron lo recomendado por el Instituto de Normalización. Los demás parámetros fueron: índice de refracción (35,36), índice de saponificación (524,45 mg), índice de refracción (1,472); así como la capacidad antioxidante “in vitro” de la semilla del algarrobo por el método de DPPH, equivale a 0,414 mg de ácido de gálico por cada gramo de muestra.
- Se caracterizó el aceite de la semilla del algarrobo tanto de la fracción saponificable como insaponificable, identificando en mayor proporción los ácidos grasos linoleico (44,92%), oleico (22,79%), palmítico (12,94%) y esteárico (6,78%) y la presencia de esteroides en mayor proporción como el beta-sitosterol (18,22%), stigmasterol (8,30) y campesterol (6,00) y cicloartenol (4,99), pudiendo destacar que *Prosopis juliflora* tiene mayor porcentaje de ácido linoleico en comparación con otras especies reportadas.
- El estudio realizado ha permitido establecer una línea de base sobre la composición química del aceite de semilla de algarrobo de la especie *Prosopis juliflora* ecuatoriana, con la debida correspondencia entre los datos cualitativos y cuantitativos, y confirmación por detección mediante espectrometría de masas.

RECOMENDACIONES

- Se recomienda el aislamiento de la fracción insaponificable para llevar a cabo estudios ampliados sobre la composición de esteroides presentes en la muestra, y su correlación entre el contenido de la semilla, y de la vaina de algarrobo.
- Se recomienda la optimización de condiciones de extracción del aceite de algarrobo, mediante la realización de múltiples ensayos que permitan la obtención del mismo en mayor cantidad.
- Se recomienda la extracción del aceite de algarrobo a mayor escala para ampliar los estudios de índice de acidez, establecer procesos de purificación del producto y evaluar su capacidad de aprovechamiento en la industria.
- Se recomienda el aislamiento del ácido linoleico para la realización de estudios que permitan conocer o verificar sus potenciales usos biofarmacéuticos.

BIBLIOGRAFÍA

- (Panreac Quimica, S. a. (1999). Métodos Analíticos en Alimentaria. *Panrec Quimica S.a.*, (Métodos Oficiales de Análisis), 1–82.
- Abo, S. (2010). ÁCIDOS GRASOS - Los lípidos. Retrieved December 30, 2017, from <https://sites.google.com/site/486loslipidos/ácidos-grasos>
- Aedo, R. (2007). *Factibilidad técnico-económica de generar productos alimenticios a partir del fruto de Algarrobo Chileno (Prosopis chilensis Mol. Stuntz) para la alimentación humana o animal Tesis*. Retrieved from <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2007/faa246f/doc/faa246f.pdf>
- Ávalos, A., y Pérez-Urria, E. (2009). Metabolismo secundario de plantas. *Reduca Biología Serie Fisiología Vegetal*, 2(3), 119–145. Retrieved from <http://revistareduca.es/index.php/biologia/article/viewFile/798/814>
- Baquero Quirós, M. (2006). Principios y Aplicaciones de la Cromatografía de Gases. 1ª edición, Editorial Universidad de Costa de Rica, Costa Rica.
- Batista, A. M., Mustafa, A. F., McKinnon, J. J., y Kermasha, S. (2002). In situ ruminal and intestinal nutrient digestibilities of mesquite (*Prosopis juliflora*) pods. *Animal Feed Science and Technology*, 100(1–2), 107–112. [https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(02\)00136-0](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(02)00136-0)
- Bermello, S., y García, D. (2015). Método de extracción para los compuestos esenciales del algarrobo (*Prosopis pallida*) y su posible aplicación a nivel industrial.
- Bhatia, H., Gupta, P. K., y Soni, P. L. (2014). Structure of the oligosaccharides isolated from *Prosopis juliflora* (Sw.) DC. seed polysaccharide. *Carbohydrate Polymers*, 101(1), 438–443. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.09.039>
- BIONOVA. (n.d.). *LÍPIDOS*. Retrieved from <http://www.bionova.org.es/biocast/documentos/tema06.pdf>

- Briones, V., Muñoz, C., y Maureira, H. (2011). Effect of high hydrostatic pressure on antioxidant capacity, mineral and starch bioaccessibility of a non conventional food: *Prosopis chilensis* seed. *Food Research International*, 44(4), 875–883. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.01.013>
- Busch, V. M., Delgado, J., Santagapita, P. R., Wagner, J., y Buera, M. P. (2017). Rheological characterization of vinal gum, a galactomannan extracted from *Prosopis ruscifolia* seeds. *Food Hydrocolloids*. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.08.010>
- Busch, V. M., Kolender, A. A., Santagapita, P. R., y Buera, M. P. (2015). Vinal gum, a galactomannan from *Prosopis ruscifolia* seeds: Physicochemical characterization. *Food Hydrocolloids*, 51, 495–502. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.04.035>
- Cañada, P. 2011. Técnicas - Cromatografía de gases-espectrometría de masas (GC-MS). Obtenido de: <http://www.scai.uma.es/servicios/aqcm/ems/ems.html>. Consultado el 6 de febrero del 2017.
- Cattaneo, F., Costamagna, M. S., Zampini, I. C., Sayago, J., Alberto, M. R., Chamorro, V., ... Isla, M. I. (2016). Flour from *Prosopis alba* cotyledons: A natural source of nutrient and bioactive phytochemicals. *Food Chemistry*, 208, 89–96. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.03.115>
- Cattaneo, F., Sayago, J. E., Alberto, M. R., Zampini, I. C., Ordoñez, R. M., Chamorro, V., ... Isla, M. I. (2014). Anti-inflammatory and antioxidant activities, functional properties and mutagenicity studies of protein and protein hydrolysate obtained from *Prosopis alba* seed flour. *Food Chemistry*, 161, 391–399. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.04.003>
- Cruzado, M., Pastor, A., Castro, N., y Cedrón, J. C. (2013). *Determinación de compuestos fenólicos y actividad antioxidante de extractos de alcachofa (Cynara scolymus L.)*. *Revista de la Sociedad Química del*

- Perú (Vol. 79). Lima: Sociedad Química del Perú.
- Dabrio, M.V. 1971. Cromatografía de gases. Vol. I. Ed. Alhambra, S.A. España. 182pp. 2.
- Dabrio, M.V. 1971. Cromatografía de gases. Vol. II. Ed. Alhambra, S.A. España. 223pp.
- De la Cruz, A. (2011). Universidad de San Carlos de Guatemala Facultad de Ingeniería Escuela de Ingeniería Química.
- Dhivya, K., Vengateswari, G., Arunthirumeni, M., Karthi, S., Senthil-Nathan, S., y Shivakumar, M. S. (2017). Bioprospecting of *Prosopis juliflora* (Sw.) DC seed pod extract effect on antioxidant and immune system of *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae). *Physiological and Molecular Plant Pathology*. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2017.09.003>
- Fernández-Varela, R., Andrade, J.M., Muniategui, S., Prada, D., Ramirez-Villalobos, F. (2009). The comparison of two heavy fuel oils in composition and weathering pattern, based on IR, GC-FID and GC-MS analyses: Application to the Prestige wreckage. *Journal of Chromatography A*, 843, 369-411.
- Giménez, A. (2012). Captura Y Caracterización, 1–104.
- Guntuzweiny, J.S. 2000. Handbook of chromatography, general data and principles. Press Ed, USA. p. 1-25
- Heftmann, E. (2004). Chromatography. 6ª edición, Elsevier, The Netherlands. Métodos en biotecnología, Cromatografía de Gases. Universidad Nacional Autónoma de México. Disponible en internet: http://www.ibt.unam.mx/computo/pdfs/met/cromatografia_de_gases.pdf. Consulta realizada el 6 Febrero 2017.
- Huetos, O. (2009). *Universidad Complutense de Madrid Universidad Complutense de Madrid*. <https://doi.org/ISBN: 978-84-693-1123-3>
- INEN. (2013a). ACEITES Y GRASAS DE ORIGEN ANIMAL Y VEGETAL. DETERMINACIÓN DEL INDICE DE REFRACCION. (IDT), 2009.

- INEN. (2013b). ACEITES Y GRASAS DE ORIGEN ANIMAL Y VEGETAL. DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE DE SAPONIFICACIÓN (IDT), (Primera edicion), 6–7.
- Jennings, W. 1987. Analytical Gas Chromatography. Academic Press, Inc. Canada, Japan, USA. 259pp.
- Kolapo, A. L., Okunade, M. B., Adejumobi, J. A., y Ogundiya, M. O. (2009). Phytochemical Composition and Antimicrobial Activity of *Prosopis africana* Against Some Selected Oral Pathogens. *Review Literature And Arts Of The Americas*, 5(1), 90–93.
- Linde. Cromatografía de gases. Editorial Abelló Linde, S.A., Barcelona, España.
- López, Y. L., Cervantes, C. I., Martínez, K. G., Lizardi, J., y Robles, L. E. (2013). Physicochemical characterization and functional properties of galactomannans from mesquite seeds (*Prosopis* spp.). *Food Hydrocolloids*, 30(2), 656–660. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2012.08.012>
- Méndez, J. (2013). Efectos de los esteroides y estanoles vegetales en el metabolismo enterohepático del colesterol y los triglicéridos.
- Mendieta, C. (2009). Escuela de ingeniería química.
- Muñoz, A. M., Alvarado-Ortíz, C., y Encina, C. (2011). Fitoesteroides y fitoestanoles : Propiedades saludables. *Horizonte Medico*, 11(2), 93–100.
- Nwokocha, L. M., y Williams, P. A. (2016). Solution characteristics and thermorheology of *Prosopis africana* seed polysaccharide. *Food Hydrocolloids*, 56, 201–206. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.11.034>
- Olguín, L. P., y Rodríguez, H. (2004). Metodos en biotecnología. *Instituto de Biotecnología*, 3–45.
- Palou, A., Picó, C., Bonet, M. L., Oliver, P., Serra, F., Rodríguez, A. M., y

- Ribot, J. (2005). *El libro Blanco de los Esteroles Vegetales*. Retrieved from http://www.nutricion.org/publicaciones/pdf/libro_blanco_esteroles_vegetales.pdf
- Pasiecznik, N. M., Felker, P., Harris, P. J. C., Harsh, L. N., Cruz, G., Tewari, J. C., ... Maldonado, L. J. (2001). The *Prosopis juliflora*–*Prosopis pallida* Complex: A Monograph. *HDRA*, (1–3). [https://doi.org/10.1016/S0378-1127\(02\)00559-5](https://doi.org/10.1016/S0378-1127(02)00559-5)
- Patil, J., Kuppast, I. J., Kumar, K. M. A., y Kishan, K. G. (2016). *Prosopis juliflora*. *Research Journal of Pharmacology and Pharmacodynamics*, 8(4), 175. <https://doi.org/10.5958/2321-5836.2016.00032.X>
- Picariello, G., Sciammaro, L., Siano, F., Volpe, M. G., Puppo, M. C., y Mamone, G. (2017). Comparative analysis of C-glycosidic flavonoids from *Prosopis* spp. and *Ceratonia siliqua* seed germ flour. *Food Research International*, 99, 730–738. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.06.058>
- Prieto, E., Mahecha, L., Angulo, J., y Vargas, J. E. (2016). Efecto de la Suplementación Lipídica sobre Ácidos Grasos en Leche de Vaca, Énfasis en Ácido Ruménico, 27(2), 421–437.
- Prokopiuk, D. B. (2004). *SUCEDÁNEO DEL CAFÉ A PARTIR DE ALGARROBA (Prosopis alba Griseb)*.
- Qispe, C., Petroll, K., Theoduloz, C., y Schmeda-Hirschmann, G. (2014). Antioxidant effect and characterization of South American *Prosopis* pods syrup. *Food Research International*, 56, 174–181. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.12.033>
- Saari, E., Peramaki, P., Jalonen, J. (2007). Effect of sample matrix on the determination of total petroleum hydrocarbons (TPH) in soil by gas chromatography–flame ionization detection. *Microchemical journal*, 87, 113-118.
- Saari, E., Peramaki, P., Jalonen, J. (2008). Measurement uncertainty in the

- determination of total petroleum hydrocarbons (TPH) in soil by GC-FID. *Chemometrics and intelligent laboratory systems*, 92, 3-12.
- Saari, E., Peramaki, P., Jalonen, J. (2010). Evaluating the impact of GC operating settings on GC-FID performance for total petroleum hydrocarbon (TPH) determination. *Microchemical journal*, 94, 73-78.
- Sánchez, J. L. (n.d.). LOS LÍPIDOS. *I) Biomoléculas*. Retrieved from <http://iespando.com/web/departamentos/biogeo/web/departamento/2BCH/PDFs/04Lipidos.pdf>
- Skoog, D., Holler, J., Nieman, T. (2001). *Principios de Análisis Instrumental*. 5ª edición. McGraw-Hill, España.
- Skoog, D. A., Holler, F. J., y Crouch, S. R. (2008). *Principios de análisis instrumental*.
- Soto, M. (2011). Control de Calidad de Aceites Vegetales. Retrieved January 24, 2018, from <https://es.slideshare.net/maryluz/control-de-calidad-de-aceites-vegetales-por-qf-maril-roxana-soto-vsquez>
- Valderrama, J. (1997). *Información tecnológica*. Centro de Información Tecnológica. Retrieved from <https://books.google.com.ec/books?id=Fv41zgjno-AC&pg=PA145&lpg=PA145&dq=esteroles+del+algarrobo&source=bl&ots=MSyYwydQ3B&sig=NQiqTpHtVHoeMynXWEJKQEwODL8&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwiSqIPtIINTYAhWEIOAKHbNwAUgQ6AEIJTA#v=onepage&q=esteroles del algarrobo&f=fal>
- Valverde, L. M. (2016). Aceites y grasas comestibles. Retrieved from <https://slidex.tips/download/aceites-y-grasas-comestibles>
- Vidaurre, M., Querevalú, L., De los Rios, E., y Ruiz, S. (2006). Características farmacognósticas de las hojas de *Capparis avicennifolia*. *Rev. Med. Vallejana*, 4(2), 121–131.
- Wang, S., Guo, G., Yan, Z., Lu, G., Wang, Q., Li, F. (2010). The development of a method for the qualitative and quantitative determination of petroleum hydrocarbon components using thin-layer

chromatography with flame ionization detection. Journal of Chromatography A, 1217, 368-374.

Wilson, H.W. & Klee, M.S. (1997). Analysis of sulfur and phosphorus compounds with a flame photometric detector on the Agilent 6890 Series Gas Chromatograph. Innovating the HP way Manual. p.1-4

Yurkanis Bruice, P. (2008). Química Orgánica. 5^{ta} edición, Pearson Education, México.

Zamora, T. (2004). Determinación de residuos de fungicidas en productos vegetales mediante técnicas cromatográficas avanzadas, 311. <https://doi.org/978-84-691-5642-1>

Zubair, A., Pappoe, M., James, L., Hawboldt, K. (2015). The comparison of two heavy fuel oils in composition and weathering pattern, based on IR, GC-FID and GC-MS analyses: Application to the Prestige wreckage. Journal of Chromatography A, 843, 369-411.

ANEXOS

Anexo I. Medición de las semillas de *Prosopis juliflora*

#	Largo (cm)	Ancho (cm)	Peso (g)
1	0,7	0,4	0,035
2	0,7	0,4	0,042
3	0,7	0,4	0,037
4	0,7	0,3	0,038
5	0,7	0,4	0,034
6	0,6	0,4	0,040
7	0,6	0,3	0,034
8	0,6	0,5	0,033
9	0,6	0,45	0,033
10	0,6	0,4	0,035
11	0,7	0,4	0,038
12	0,7	0,4	0,306
13	0,7	0,3	0,039
14	0,7	0,4	0,039
15	0,6	0,4	0,034
16	0,7	0,35	0,034
17	0,7	0,4	0,028
18	0,7	0,4	0,038
19	0,6	0,35	0,030
20	0,6	0,5	0,040
21	0,6	0,4	0,033
22	0,7	0,4	0,032
23	0,6	0,4	0,032
24	0,7	0,3	0,033
25	0,7	0,4	0,036
26	0,7	0,5	0,039

#	Largo (cm)	Ancho (cm)	Peso (g)
27	0,6	0,3	0,024
28	0,6	0,4	0,033
29	0,6	0,4	0,028
30	0,7	0,4	0,033
31	0,7	0,4	0,040
32	0,7	0,4	0,029
33	0,6	0,4	0,033
34	0,7	0,4	0,028
35	0,6	0,4	0,032
36	0,7	0,4	0,036
37	0,7	0,4	0,030
38	0,65	0,4	0,040
39	0,7	0,4	0,035
40	0,7	0,4	0,034
41	0,6	0,4	0,036
42	0,7	0,4	0,032
43	0,7	0,4	0,037
44	0,7	0,4	0,032
45	0,7	0,4	0,037
46	0,6	0,4	0,043
47	0,6	0,4	0,038
48	0,7	0,3	0,032
49	0,7	0,3	0,033
50	0,6	0,4	0,033
Promedio	0,66	0,391	0,040
DE	0,05	0,046	0,039

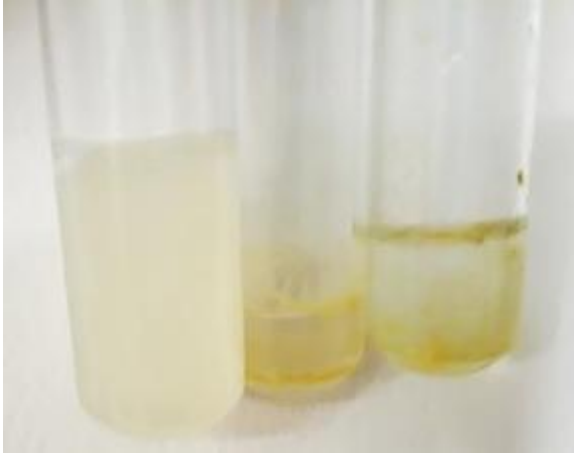
Anexo II. Muestras de las semillas de *Prosopis juliflora*



Anexo III. Determinación de humedad de la harina de la semilla de *Prosopis juliflora*



Anexo IV. Resultados del Tamizaje fitoquímico en los diferentes extractos de la semilla de *Prosopis juliflora*

IMÁGENES	ENSAYOS
	MAYER
	WAGNER
	DRAGENDORFF

	CLORURO FERRICO
	LIEBERMAN- BUCHARDAT
	SUDAN

	ESPUMA
	SHINODA
	BORNTRAGER

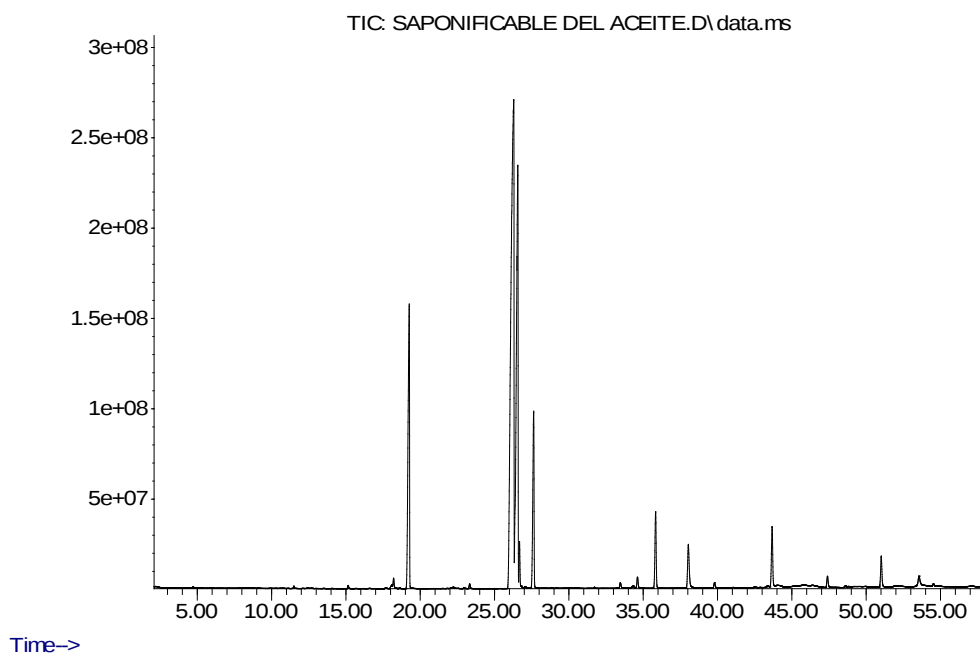
	BALJET
	FEHLLING

Anexo V. Obtención del aceite de la semilla de *Prosopis juliflora*

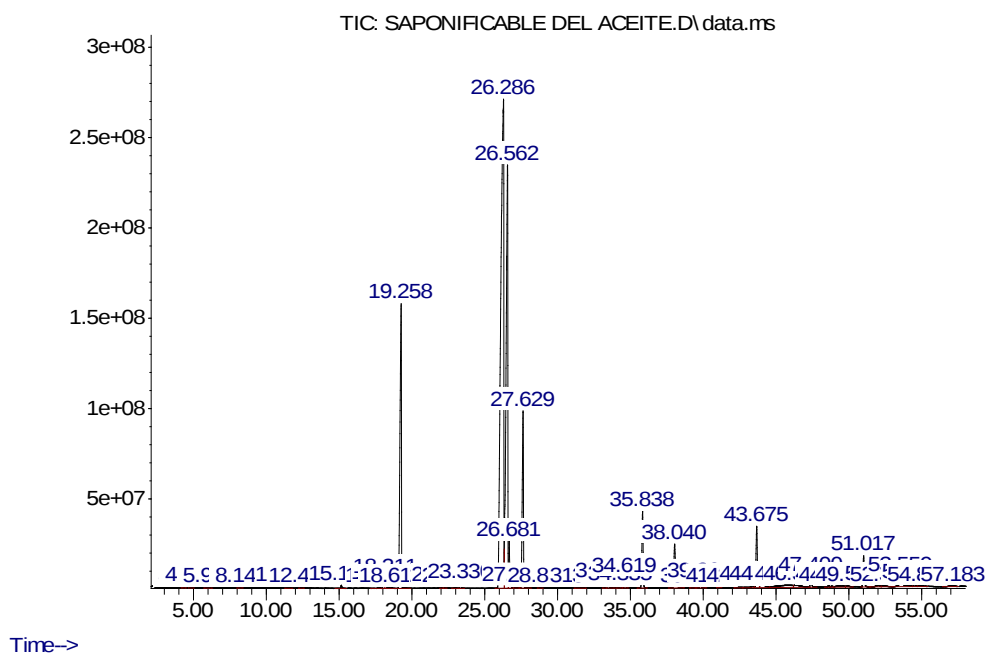


Anexo VI. Cromatogramas de fracción saponificable

Abundance



Abundance

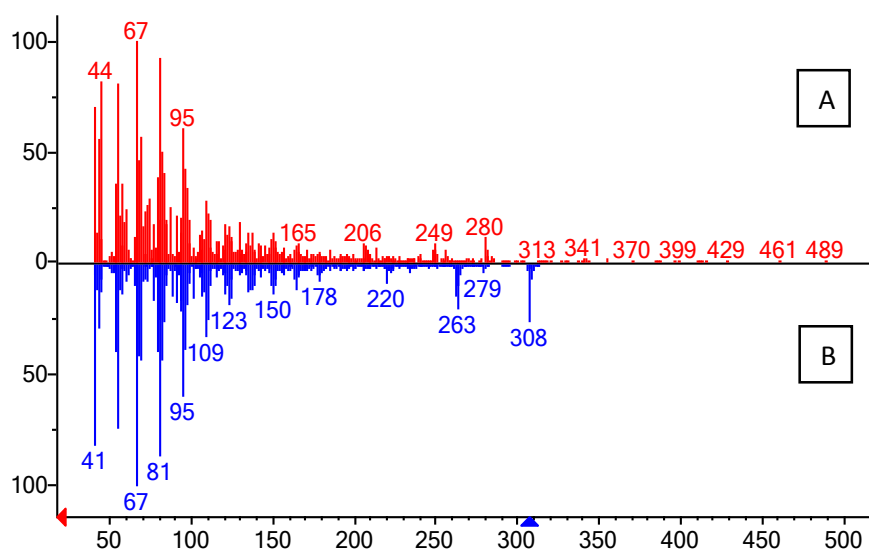


Anexo VII. Espectros de los picos más característicos de la fracción saponificable

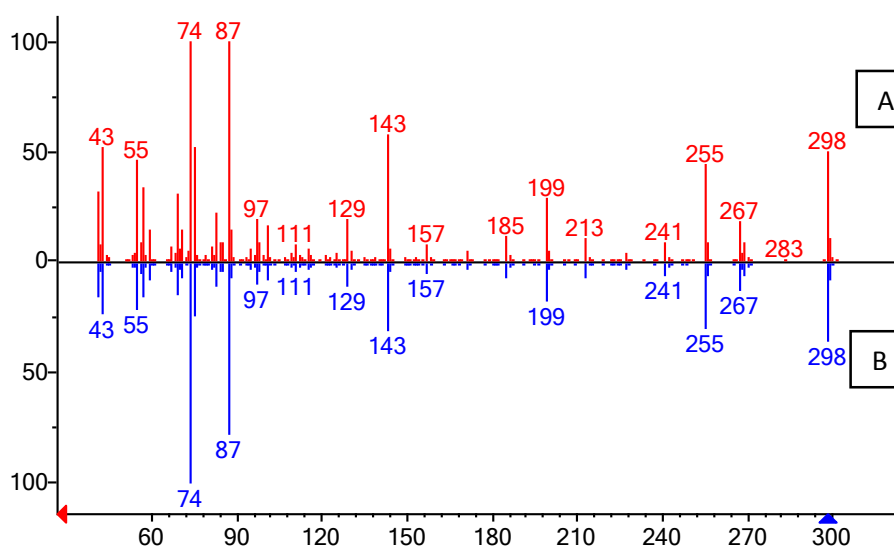
A: Picos pertenecientes a la muestra

B: Picos pertenecientes a la librería de espectros (NIST)

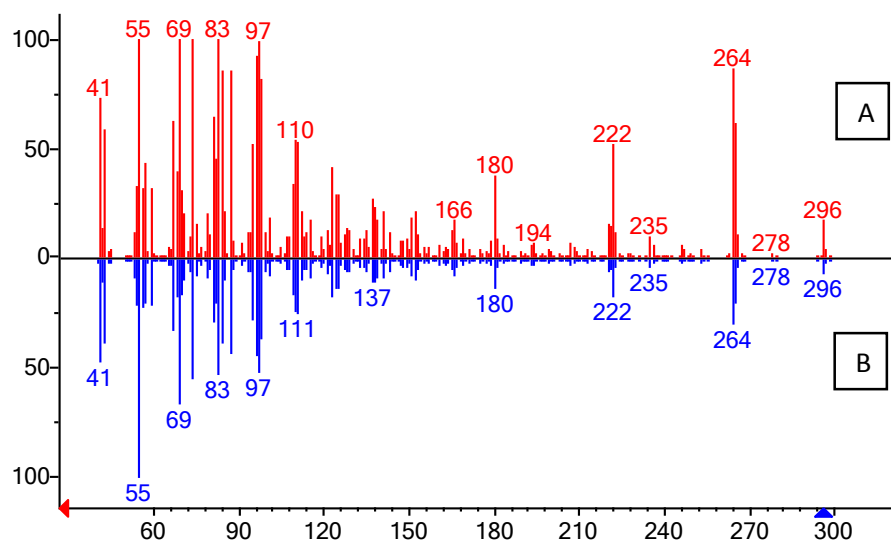
ANEXO VII.1 Espectro correspondiente al ácido linoleico



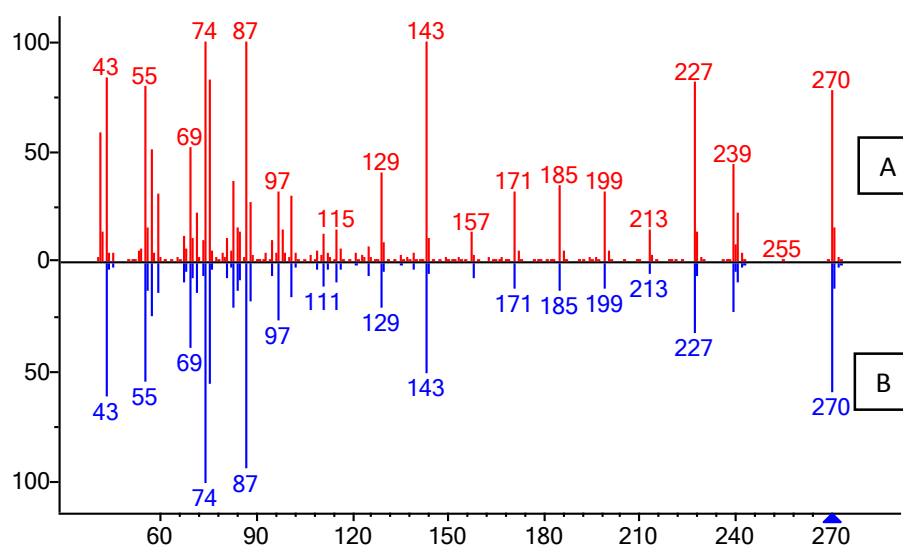
ANEXO VII.2 Espectro correspondiente al ácido esteárico



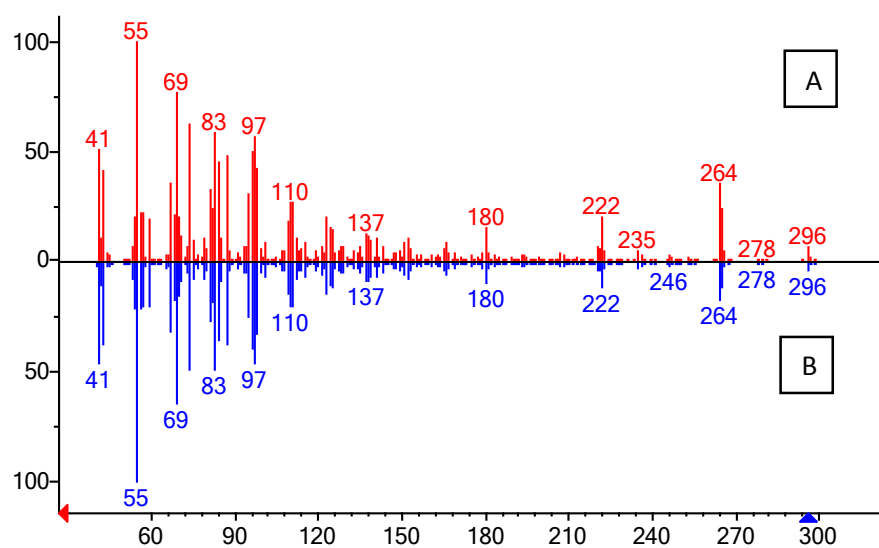
ANEXO VII.3 Espectro correspondiente al ácido oleico



ANEXO VII.4 Espectro correspondiente al ácido palmítico

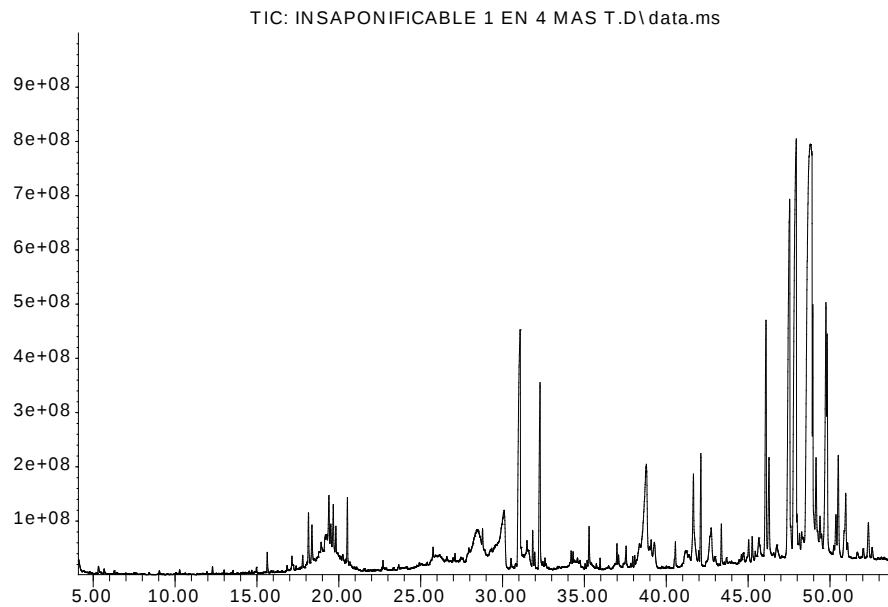


ANEXO VII.5 Espectro correspondiente al ácido 11 – octadecenoico

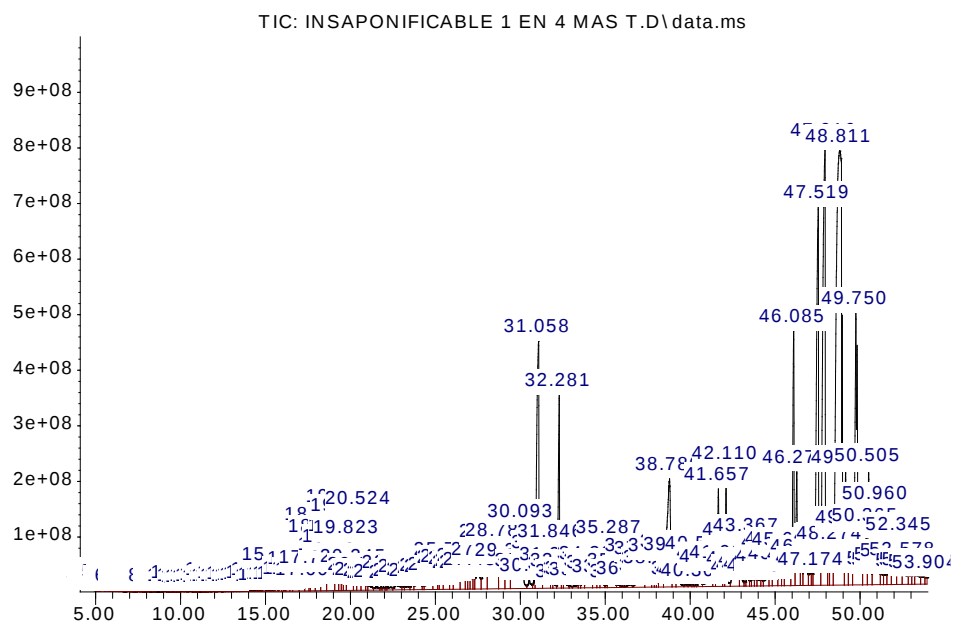


Anexo VIII. Cromatogramas de la fracción insaponificable

Abundance



Abundance

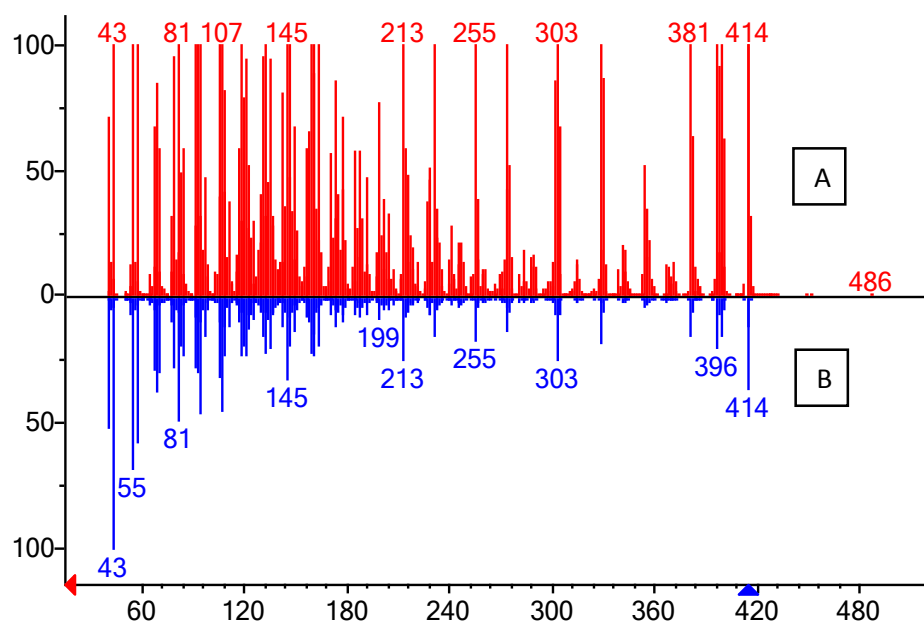


Anexo IX. Espectros de los picos más característicos de la fracción insaponificable

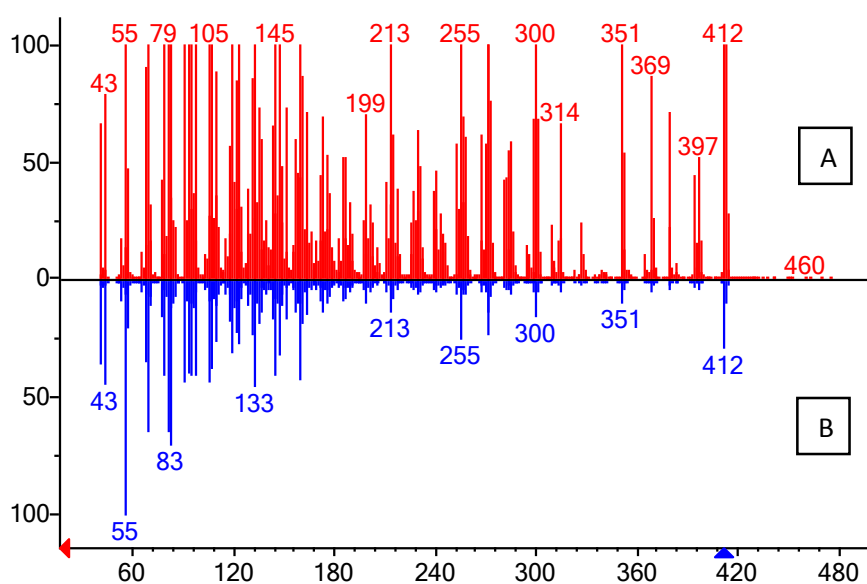
A: Picos pertenecientes a la muestra

B: Picos pertenecientes a la librería de espectros (NIST)

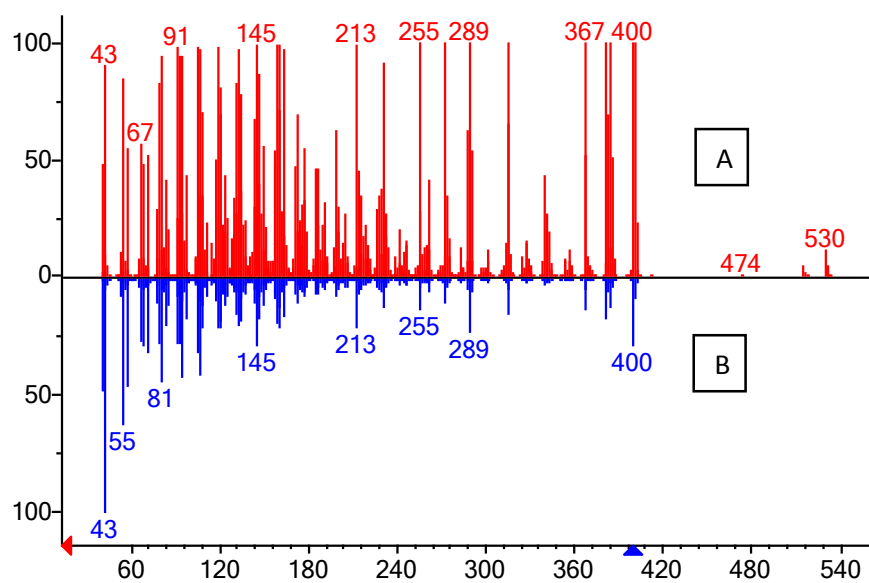
ANEXO IX.1 Espectro correspondiente al beta - sitosterol



ANEXO IX.2 Espectro correspondiente al stigmasterol.



ANEXO IX.3 Espectro correspondiente al campesterol.



ANEXO IX.4 Espectro correspondiente al cicloartenol

