

Caracterización del aceite de semilla de la especie *Prosopis juliflora* ecuatoriana

Tatiana, Zamora-Zamora^{1*}; Adonis, Bello-Alarcón²;
Mayra, Villavicencio-Velásquez³

Resumen

En diferentes partes del mundo, las semillas de algarrobo (*Prosopis*) se utilizan para la producción de gomas, forraje y alimento proteico debido a su composición química aproximada; ello relaciona o justifica posibles efectos farmacológicos (laxante, energizante, antiinflamatorio, antioxidante) asociados a la especie. El presente estudio persigue la caracterización de la composición química del aceite de la semilla de la *Prosopis juliflora* ecuatoriana que crece en la provincia de Guayas. La caracterización se realizó en base a la evaluación de las propiedades fisicoquímicas y los metabolitos mediante análisis cromatográfico por GC-MS en la fracción saponificable e insaponificable del aceite obtenido de la semilla. Las determinaciones de diferentes índices (refracción, saponificación, yodo, acidez) fueron posibles mediante técnicas clásicas en muestras de aceite. El análisis proporcionó la composición de ácidos grasos como linoleico (44.92%), oleico (22.79%), palmítico (12.94%), esteárico (6.78%), entre otros; mientras que en la fracción insaponificable, se detectó la presencia de esteroides tales como estigmasterol, g-sitosterol, campesterol, lanosterol. Los parámetros fisicoquímicos también permitieron determinar la calidad del aceite y la actividad antioxidante del extracto de semilla de algarrobo mediante la técnica DPPH⁺, que dio como resultado 0.414 mg de ácido gálico / g de muestra; constituyendo una línea de base para su potencial uso en la industria.

Palabras clave: *Prosopis juliflora*; algarrobo; esteroides; ácidos grasos; aceite de semilla

The characterization of the oil seed of the ecuadorian species of *prosopis juliflora*

Abstract

In different parts of the world, the seeds of carob tree (*Prosopis*) are used for the production of gums, fodder and protein food due to its approximate chemical composition; which is related to or justifies possible pharmacological effects (laxative, energizing, anti-inflammatory, antioxidant) associated with the species. The present study pursues the characterization of the chemical composition of the seed oil of the Ecuadorian *Prosopis juliflora* growing in the province of Guayas. The characterization was carried out by evaluating the physicochemical properties, and metabolites by chromatographic analysis by GC-MS, in the saponifiable and unsaponifiable fraction of the oil obtained from the seed. The determinations of different indices (refraction, saponification, iodine, acidity) were possible by classical volumetric techniques in oil samples. The analysis resulted in the composition of fatty acids 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, g-sitosterol, campesterol, lanosterol were detected. The physicochemical parameters also allowed to determine the quality of the oil and the antioxidant activity of the extract of carob tree seed by the DPPH⁺ technique, which resulted in 0.414 mg of gallic acid/g of the sample; constituting a baseline for its potential use in the industry.

Keywords: *Prosopis juliflora*, carob tree, sterols, fatty acids, seed oil

Recibido: 13 de junio de 2019
Aceptado: 07 de agosto de 2019

¹ Doctora en Ciencias Químicas y Aplicadas; Docente de la Universidad de Guayaquil; Guayaquil-Ecuador; tatiana.zamoraz@ug.edu.ec

² Doctor en Ciencias Farmacéuticas; Docente de la Universidad de Guayaquil; Guayaquil-Ecuador; adonis.belloa@ug.edu.ec

³ Química y Farmacéutica; Universidad de Guayaquil; Guayaquil-Ecuador; mayra.villavicenciov@ug.edu.ec

* Autor para correspondencia: tatiana.zamoraz@ug.edu.ec

I. INTRODUCCIÓN

El género *Prosopis* remite importancia económica y ecológica para diferentes comunidades; dicho género se encuentra ampliamente distribuido en el mundo, de manera tal que existe de alrededor de 44 especies de este género, las cuales se encuentran distribuidas en los distintos continentes, esto es América, Asia y África (Pasiiecznik et al., 2001; Prasad and Tewari, 2016). El algarrobo como comúnmente se conoce a este género (*Prosopis*) es un árbol que crece en suelos áridos y secos cuyos frutos son vainas que presentan una coloración en la gama de amarillo - pardo dependiendo de la especie, y correspondiendo al 56% del peso total del fruto, el endocarpio representa un 35% mientras que las semillas un 9% (Aedo, 2007; Prasad and Tewari, 2016). En Ecuador, de acuerdo con el Ministerio de Ambiente se conoce la presencia de dos especies de *Prosopis*, es decir la *Prosopis pallida* y la *Prosopis juliflora* (Aguirre, 2012), las cuales se encuentran ubicadas geográficamente en mayor proporción en el perfil costero del país en provincias como Los Ríos, El Oro, Santa Elena, Manabí y Guayas, debido a las condiciones climáticas características de esta zona; sin embargo también se hace referencia a otras provincias como Santo Domingo e incluso Galápagos y Loja.

Trabajos preliminares en las especies *P. alba*, *P. juliflora*, *P. glandulosa* y *P. africans* (Pasiiecznik et al., 2001; Cattaneo et al, 2014; Sathiya and Muthuchelian, 2008; Prabha, Dahms and Malliga, 2014) detallan en su composición la presencia de aminoácidos como el ácido glutámico (21,31g), arginina (14,63g), ácido aspártico (8,30g), leucina (7,51g), prolina (7,49g), entre otros; además de compuestos fenólicos, esteroides, y ácidos grasos como el linoleico (39%), oleico (29%), palmítico (13%) y esteárico (10%). La importancia de la presencia e identificación de estos últimos (compuestos fenólicos, esteroides y ácidos grasos) en las semillas del algarrobo radica en la contribución benéfica para la salud debido a los posibles efectos farmacológicos que se asocian a este tipo de metabolitos que se encuentran ampliamente dispuestos dentro del reino vegetal presentando ciertas propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, antimicrobianas. De acuerdo a la literatura revisada se hace mención

a diversos estudios realizados en este género para la evaluación de su actividad antiinflamatoria (Pérez et al, 2014), antioxidante (Dhivya et al, 2018; Napar et al, 2012), entre otros (Warrag, 1995; Ibañez and Ferrero, 2003; Briones, Muñoz and Maureira, 2011; Rincón, Muñoz, Ramírez, Galán, and Alfaro, 2014; Bhatia, Gupta and Soni, 2014; Cattaneo et al, 2016; Henciya, 2017). Sin embargo, no se describen o son escasos los estudios específicos sobre la investigación de la composición química del aceite obtenido a partir de las especies *juliflora*, e incluso *pallida*, de origen ecuatoriano.

En este trabajo se aborda 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 puede otorgar el contenido de moléculas orgánicas relevantes. De ahí la necesidad de caracterizar la composición química del aceite obtenido de la semilla de algarrobo ecuatoriano que crece en la provincia del Guayas (*Prosopis juliflora*) mediante ensayos fisicoquímicos, incluyendo el uso de técnicas avanzadas como la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

Colección de la muestra

Las muestras de vainas de la especie *Prosopis juliflora* fueron colectadas de árboles de algarrobo en las proximidades del Estero Salado en la ciudad de Guayaquil en la Provincia del Guayas en el periodo comprendido a la estación seca de la zona (septiembre a noviembre).

El estudio se desarrolló a partir de la evaluación de las semillas de las vainas del algarrobo para obtención del aceite en el que se realizó el análisis fisicoquímico y cromatográfico (fracción saponificable e insaponificable) de acuerdo a la metodología que se detalla. En todos los casos los ensayos se realizaron al menos por triplicado. Los ensayos fitoquímicos se llevaron a cabo en las semillas secas de la vaina. En la figura 1 se muestra el fruto de la especie estudiada.

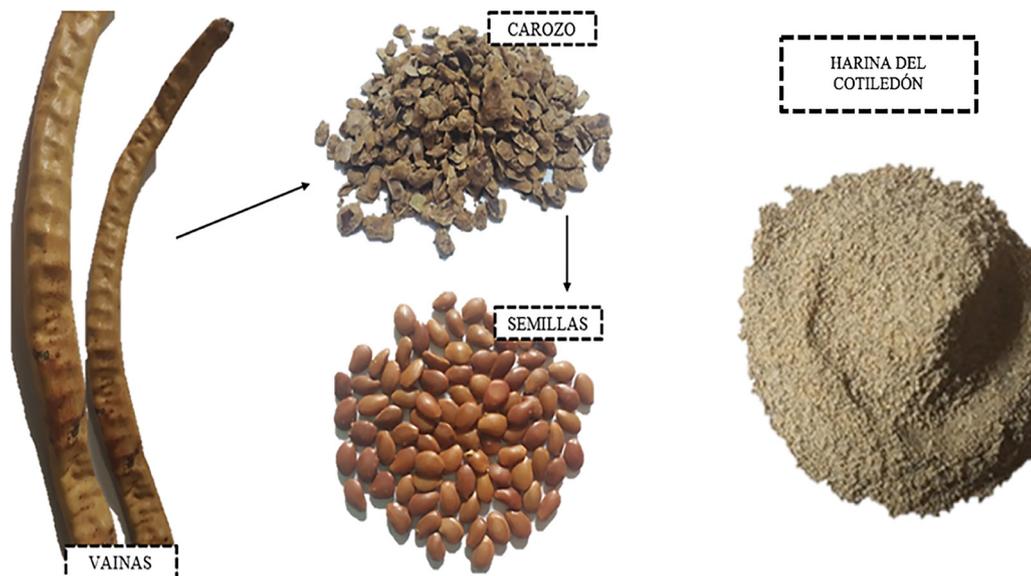


Figura 1. Muestras del fruto de la especie de *Prosopis juliflora*

Análisis de semillas

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 en balanza analítica (OHAUS modelo AX224/E) para obtener un valor promedio.

Determinación de humedad (harina del cotiledón)

Las semillas fueron secadas a una temperatura de 40°C en una estufa de calentamiento (BIOBASE modelo BOV-V125F) para luego ser trituradas por un molino (IKA) hasta obtener la harina del cotiledón. Posteriormente se realizó la determinación de humedad por el método gravimétrico, hasta obtención de peso constante.

Tamizaje fitoquímico (Harina del cotiledón)

El tamizaje fitoquímico se llevó a cabo en extractos obtenidos de la maceración individual de las semillas (25g de muestra/75 mL de solvente) utilizando solventes de diferentes polaridades como éter, etanol y agua destilada. Los ensayos del screening fitoquímico se basó en la metodología propuesta por Miranda y Cuellar, 2001.

Obtención del aceite (Extracción Soxhlet)

La extracción de aceite de la semilla se llevó a cabo mediante reflujo en un equipo de Soxhlet, utilizando 80g de muestra previamente secada (a 40°C) y triturada en molino. Un volumen de 150 mL de hexano fue adicionado como solvente extractor. El calentamiento se realizó con un plato calefactor a 60°C durante 5 horas. El rendimiento del extracto obtenido se calculó con respecto al material vegetal empleado, considerando el peso seco de muestra y la cantidad de aceite obtenido.

Parámetros fisicoquímicos del aceite

Los análisis fisicoquímicos realizados para la caracterización del aceite y evaluación de la calidad del mismo fueron índice de refracción (NTE INEN 42), índice de saponificación (NTE INEN 40), índice de yodo (NTE INEN 37) e índice de acidez (NTE INEN 38), de acuerdo a la protocolos de la normas establecidas por el servicio ecuatoriano de normalización.

Actividad antioxidante de la semilla

Adicionalmente, se realizó la determinación de la capacidad antioxidante en la semilla de algarrobo. 10 mg de muestra se diluyeron con 10 mL de etanol en matraz volumétrico para su posterior lectura a 517 nm en un espectrofotómetro UV. Para efectos de cuantificación, se preparó una curva de calibrado

con una solución stock de ácido gálico equivalente a 50 µg/mL y de la cual se realizaron 5 diluciones para la curva, esto es 5, 10, 15, 20, 25 µg/mL, además del blanco con una concentración equivalente a 0 µg/mL. Los cálculos se realizaron para expresar los resultados en mg de ácido gálico/g de muestra.

Análisis cromatográfico del aceite

El análisis de la fracción saponificable se llevó a cabo, mediante trans-esterificación del aceite para facilitar la identificación de los ácidos grasos metilados. El aceite (150 µL) se disolvió en 2 mL de hexano antes de la reacción con una disolución de hidróxido de sodio (2 M) en metanol a 70°C (baño de agua). Una porción de la fase hexánica resultante se utilizó para su inyección en el sistema de GC-MS.

En el análisis de la fracción insaponificable, 1g de aceite se trató con 10 mL de solución alcohólica de hidróxido de potasio (0,5 N) y con calentamiento en baño de agua a 70°C. La mezcla de la reacción fue lavada 3 veces con volúmenes de éter en primer lugar, y con etanol de manera sucesiva, antes de su inyección en el sistema GC-MS.

Condiciones instrumentales. El análisis de la composición química de los extractos insaponificable y saponificable, se realizó mediante cromatografía de gases (GC Agilent modelo 7890A) acoplada a espectrometría de masas (MS Agilent modelo 5975C).

Las condiciones analíticas del sistema GC-MS utilizadas para el análisis de la *fracción saponificable* consistieron la separación cromatográfica de los compuestos en una columna capilar DB-5ms (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm) con temperatura programada del horno a 150°C (4 min), 2°C/min hasta 250°C (4 min), y la temperatura de la línea de transferencia fue de 280°C. Se utilizó helio como gas de arrastre con un flujo constante de 1 mL/min, el inyector en modo split (50:1) a 250°C con un volumen de inyección de 1 µL.

Las condiciones analíticas del GC-MS utilizadas para el análisis de la *fracción insaponificable* consistieron en el uso de la misma columna capilar DB-5MS. La temperatura del horno fue

con programación de temperatura a 70°C (2 min), 5°C/min hasta 300°C (6 min), y la temperatura de la línea de transferencia fue de 300°C. EL gas de arrastre fue helio con un flujo constante de 1,2 mL/min, el inyector en modo splitless a 250°C con un volumen de inyección de 2 µL.

Para la detección de los compuestos en ambas fracciones, el espectrómetro de masas operó con fuente de ionización por impacto electrónico a 70 eV y 230°C, y un analizador de simple cuadrupolo a 150°C en modo full-scan en un rango de masas entre 50 - 550 m/z. Los espectros de los compuestos detectados fueron identificados mediante comparación con la base de datos de espectros de la librería NIST.

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis de semillas

Las vainas de **Prosopis juliflora** presentaron entre 12 a 15 semillas por vaina madura. Las dimensiones de las semillas registraron valores promedio de 0,66 cm de largo (CV 0,80%), 0,39 cm de ancho (CV 1,25%) y 0,05 g de peso (CV de 1,00%) en base a 50 unidades analizadas. Mientras que, el porcentaje de contenido de humedad determinado fue de 5,69% (CV 0,01%). Esta información se corresponde con antecedentes de la misma especie de otras latitudes (Pasiecznik *et al.*, 2001).

Tamizaje fitoquímico

Los resultados de los ensayos fitoquímicos realizados en muestras de semilla previamente secada y macerada en solventes de diferentes polaridades, destacan la presencia principalmente de alcaloides en los extractos acuosos con resultados positivos en las reacciones de Dragendorff, Mayer y Wagner, respectivamente. En los extractos etéreos se obtuvo respuesta positiva para la identificación de esteroides (reacción de Lieberman-Burchard), así como, ácidos grasos (reacción de Sudan). En la tabla 1 se reportan todos los resultados alcanzados en la marcha fitoquímica ensayada.

Tabla 1. 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	+	+	N/A
Shinoda	Flavonoides	N/A	-	-

N/A: No aplica al extracto. **Reacciones positivas:** (+) ó (+) Opalescencia (++) Turbidez (+++) Precipitado. **Reacción negativa:** (-)

De acuerdo con la literatura revisada, se confirmó el reporte de estos grupos de compuestos por parte de otros autores que han trabajado con el género *Prosopis juliflora* (Pasiecznik et al, 2001; Rincón et al, 2014; Bhatia, Gupta, Soni, 2014), sin embargo presentan un reporte parcial de compuestos específicos para cada grupo. En este trabajo, la identificación de esteroides y ácidos grasos pudo ser confirmada mediante análisis cromatográficos.

Extracción del aceite

El rendimiento obtenido del aceite de la semilla de la *Prosopis juliflora* fue de 2,60% con un coeficiente de variación de 3,87%, en base al número de réplicas ensayadas; en este caso con n=8. Si bien la literatura no reporta antecedentes sobre esta especie, su rendimiento es relativamente bajo

frente a la producción de otras semillas tradicionales utilizadas con fines comestibles, como es el caso de la soja con un 40% de rendimiento.

Así también, una descripción del tipo de aceite obtenido permite reportar un aspecto viscoso y denso sugiriendo la probable presencia de lípidos de alto peso molecular (Bailey, 2010), y una apariencia turbia, esta última factible de corregirse con un proceso de purificación para el desgomado del producto.

Parámetros fisicoquímicos del aceite

De acuerdo con los ensayos fisicoquímicos del aceite se determinaron los índices que establecen la calidad del producto, siendo los resultados obtenidos los que se indican en la tabla 2.

Tabla 2. Parámetros fisicoquímicos determinados en el aceite de semilla de *Prosopis juliflora*, con su respectivo coeficiente de variación (n=3)

Parámetro	Resultado	CV (%)
Índice de refracción	1,472	0,10
Índice de saponificación (mg)	524,45	0,32
Índice de yodo	35,36	1,65
Índice de acidez (ác. Oleico)	5,03	1,66

Si bien el índice de refracción es característico de cada aceite, pudiendo denotar pureza y densidad del mismo; una comparación con los demás índices permiten diferenciar al producto frente al de otras especies. Los valores encontrados para el índice de

saponificación inferen en la presencia de un alto contenido de ésteres de ácidos grasos; mientras que el índice de yodo evidencia el nivel de contenido de ácidos grasos insaturados, considerándose como un valor medio el encontrado en las muestras

estudiadas. En el caso del aceite obtenido de semillas con fines comestibles como es el caso de girasol, se puede destacar valores superiores para el índice de yodo, del orden de 118 – 141 (FAO, 1999).

Por otra parte, el índice de acidez proporciona el contenido de ácidos libres y/o de compuestos fenólicos, siendo más importante la presencia de estos últimos que pudieran otorgar propiedades antioxidantes al producto. Sin embargo, en el presente trabajo no se reporta el análisis cromatográfico de compuestos fenólicos. En todo caso, se incluyó la determinación de la capacidad antioxidante de la semilla, obteniéndose un valor de 0,414 miligramos expresados como ácido gálico por cada gramo de muestra. Este dato representa un porcentaje de inhibición con respecto al DPPH+ del 5,35%; ello presume un bajo contenido de polifenoles en las semillas de la especie estudiada; esto frente a otras especies como el olivo con un alto contenido de polifenoles en diferentes órganos de la

planta (Hayes, 2011). Así, este equivalente de ácido gálico en la semilla de *P. juliflora* se correspondería con los resultados de los ensayos fitoquímicos en donde no se observan resultados positivos para la identificación cualitativa de compuestos fenólicos.

Análisis cromatográfico

Fracción saponificable. En el extracto se detectó una serie de ácidos grasos saturados e insaturados, de los cuales se reporta la presencia de ácido linoleico (44,92%), oleico (22,79%), palmítico (12,94%) y esteárico (6,78%) como los de mayor contenido. En la tabla 3 se indican todos los ácidos grasos identificados como ésteres metilados, siendo importante destacar que no hay antecedentes que reporten un análisis integral de la composición de ácidos grasos en aceite de la especie *Prosopis juliflora*. En los resultados obtenidos se aprecia un mayor contenido de compuestos insaturados en el orden del 71% con respecto a la composición total del aceite.

Tabla 3. Compuestos identificados en la fracción saponificable del aceite de la semilla *Prosopis juliflora* mediante GC-MS (nombre del compuesto, peso molecular, tiempo de retención, porcentaje de abundancia)

Compuestos	Peso molecular (g/mol)	Tiempo de retención (min)	% Abundancia
Ácido cis,cis-9,12-Octa decadienoico (linoleico)	284,45	26,288	44,92
Ácido cis-9-octadecenoico (oleico)	282,47	26,561	22,79
ácido hexadecanoico (palmítico)	256,40	19,258	12,94
Ácido octadecanoico (esteárico)	284,48	27,630	6,78
Ácido eicosanoico (araquídico)	312,53	35,838	2,86
Ácido docosanoico (behénico)	340,58	43,675	2,51
Ácido hexanodioico bis 2-etilhexil (adípico)	146,14	38,040	2,26
Ácido 11-octadecenoico	282,46	26,681	1,39
Ácido tetracosanoico (lignocérico)	368,63	51,017	1,26
Ácido cis-13-eicosadienoico	308,51	34,622	0,46
Ácido tricosanoico	354,62	47,400	0,46
Ácido heneicosanoico	326,56	39,802	0,24
Ácido 9-hexadecenoico	254,41	18,094	0,18
Ácido pentacosanoico	382,67	54,522	0,18
Ácido heptadecanoico	270,45	23,330	0,17
Ácido cis-11,14-Eicosadienoico	308,51	34,335	0,16
Ácido pentadecanoico	242,40	15,153	0,12
Ácido 12-octadecenoico	282,46	27,064	0,11
Ácido tetradecanoico (mirístico)	228,37	11,503	0,07
Ácido cis-10-heptadecenoico	268,44	22,227	0,05
Ácido nonadecanoico	214,35	31,732	0,05
Ácido hexadecadienoico	252,39	17,676	0,04

Fracción insaponificable. El análisis identificó la presencia de esteroides, estando en mayor proporción el beta-sitosterol (18,22%), seguido de estigmasterol (8,30%), campesterol (6,00%) y cicloartenol (4,99%) de acuerdo al porcentaje de área con respecto a todos los compuestos detectados. Otros compuestos identificados en esta fracción se muestran en la tabla 4.

La bibliografía consultada, reporta en términos generales la presencia de fitosteroles en semillas de algarrobo (Pasiecznik et al., 2001; Cattaneo et al, 2016) y de otras especies de *Prosopis* (Prokopiuk, 2004); lo cual se corresponde con lo detectado en este trabajo en aceite de semilla de *Prosopis juliflora*.

Tabla 4. Compuestos identificados en la fracción insaponificable del aceite de la semilla *Prosopis juliflora* mediante GC-MS (nombre del compuesto, peso molecular, tiempo de retención, porcentaje de abundancia)

Compuestos	Peso molecular (g/mol)	Tiempo de retención (min)	% Abundancia
Beta-Sitosterol	414,71	48,81	18,22
Estigmasterol	412,69	47,91	8,30
Campesterol	400,68	47,52	6,00
Cicloartenol	426,72	49,74	4,99
Fitol	128,17	31,05	4,08
Gama-Sitosterol	414,72	30,09	3,24
Lanosterol	426,71	38,77	3,12
Colesterol	386,65	46,08	2,44
Trans-Geranylgeraniol	290,49	32,28	1,69
Beta-Amirin	426,73	48,14	1,46
Tirucalol	426,73	50,96	1,45
Erucamida	337,59	41,66	1,43
Metilen-Cicloartanol	440,76	50,51	1,25
Estigmast-4-en-3-ona	412,70	50,37	0,84
Escualeno	410,72	42,11	0,82
Beta-Tocoferol	416,68	45,03	0,46
Gama-Tocoferol	416,68	45,25	0,37

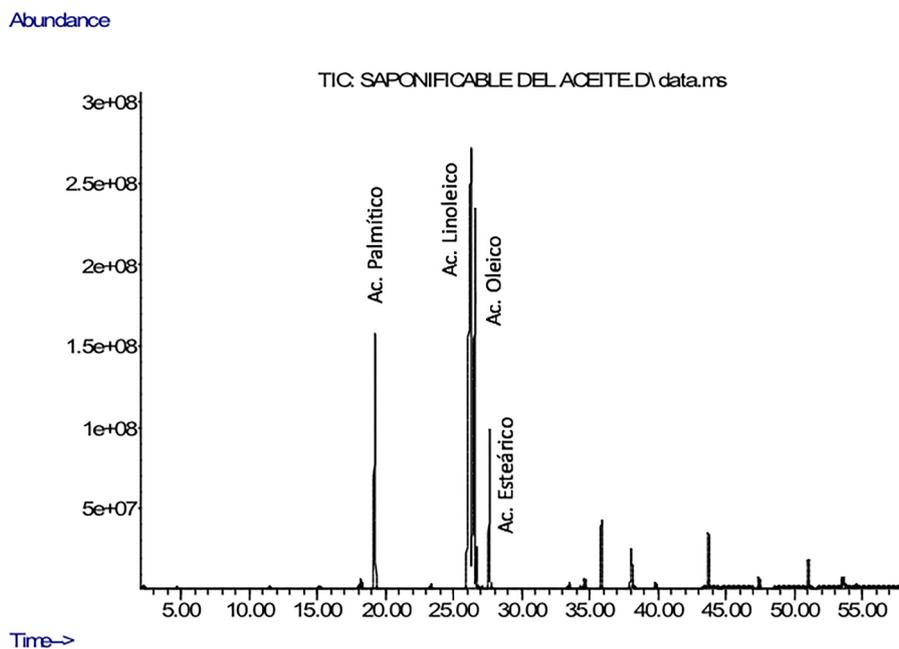
En la figura 2 se presentan los cromatogramas GC-MS de la fracción saponificable (A), y de la fracción insaponificable (B), en los que se pueden observar la identificación de los compuestos más abundantes.

IV. CONCLUSIONES

El estudio realizado evidencia propiedades características para la semilla de la *Prosopis juliflora* analizada con respecto a la misma especie de otros orígenes geográficos; mientras que el rendimiento de aceite de éstas semillas resulta ser relativamente bajo para su aprovechamiento con fines de alta producción. Sin embargo la composición química del aceite de acuerdo a los resultados obtenidos en el tamizaje fitoquímico, así como por los compuestos identificados mediante el análisis por

GC-MS, indican la presencia principalmente de ácidos grasos, destacándose un mayor contenido de compuestos insaturados como el ácido linoleico (45%) y oleico (23%). Así también se ha comprobado un importante contenido de esteroides, caracterizado por la presencia de beta-sitosterol (18,22%), estigmasterol (8,30%), y campesterol (6,00%) como los más abundantes en la fracción insaponificable del aceite; lo que resulta de interés para su aprovechamiento Finalmente, los resultados de los parámetros fisicoquímicos evaluados en el producto de extracción complementan la información sobre la calidad del aceite de la semilla de algarrobo (*Prosopis juliflora*), generando una línea de base importante ya que no se ha reportado con anterioridad esta información por parte de otros estudios en la mencionada especie.

A



B

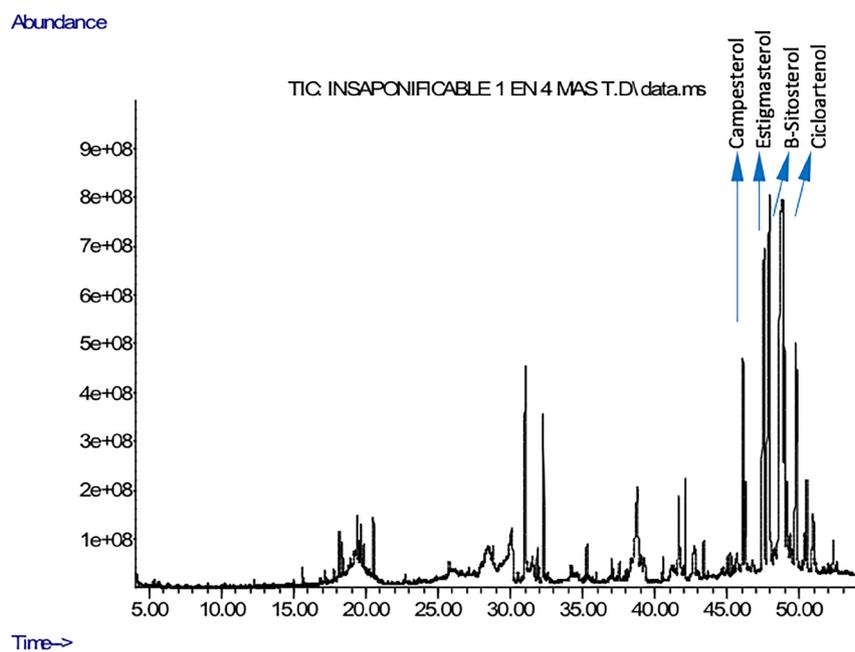


Figura 2. Cromatogramas de la fracción saponificable (A), y de la fracción insaponificable (B) obtenidos mediante GC-MS.

V. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguirre, Z. (2012). Especies forestales de los bosques secos del Ecuador. Guía dendrológica para su identificación y caracterización. Proyecto Manejo Forestal Sostenible ante el Cambio Climático. MAE/FAO-Finlandia. Quito, Ecuador, 140 p. Disponible en <http://www.ambiente.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2012/10/Bosques-Secos4.pdf>
- Bailey A (2010) Aceites y grasas industriales. Barcelona, España: Editorial Reverte
- Bhatia H, Gupta PK, Soni PL. (2014) Structure of the oligosaccharides isolated from *Prosopis juliflora* (Sw.) DC. seed polysaccharide. Carbohydr Polym. 2014;101(1):438–43. DOI: 10.1016/j.carbpol.2013.09.039
- Briones V, Muñoz C, Maureira H. (2011) Effect of high hydrostatic pressure on antioxidant capacity, mineral and starch bioaccessibility of a non-conventional food: *Prosopis chilensis* seed. Food Res Int. 2011;44(4):875–83. DOI: 10.1016/j.foodres.2011.01.013
- Cattaneo F., Sayago JE., Alberto MR., Zampini IC., Ordoñez RM., Chamorro V, Pazos A. and Islas MI. (2014) Anti-inflammatory and antioxidant activities, functional properties and mutagenicity studies of protein and protein hydrolysate obtained from *Prosopis alba* seed flour. Food Chem. 2014;161:391–9. DOI: 10.1016/J.FOODCHEM.2014.04.003
- Cattaneo F, Costamagna MS, Zampini IC, Sayago J, Alberto MR, Chamorro V, Pazos A, Valdés ST, Schmeda-Hirschmann G and Isla MI. (2016) Flour from *Prosopis alba* cotyledons: A natural source of nutrient and bioactive phytochemicals. Food Chem. 2016;208:89–96. DOI: 10.1016/J.FOODCHEM.2016.03.115
- Dhivya K., Vengateswari G., Arunthirumeni M., Karthi S., Senthil-Nathan S., Shivakumar MS. (2018) Bioprospecting of *Prosopis juliflora* (Sw.) DC seed pod extract effect on antioxidant and immune system of *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae). Physiol Mol Plant Pathol 2018;101:45–53. DOI: 10.1016/j.pmpp.2017.09.003
- FAO (199) Norma para aceites vegetales especificados. CODEX STAN 210-1999. Disponible en <http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/>
- Hayes, J. E., Allen, P., Brunton, N., O’Grady, M. N., & Kerry, J. P. (2011). Phenolic composition and in vitro antioxidant capacity of four commercial phytochemical products: Olive leaf extract (*Olea europaea L.*), lutein, sesamol and ellagic acid. Food Chemistry, 126(3), 948–955. DOI:10.1016/J.FOODCHEM.2010.11.092
- Henciya S, Seturaman P, James AR, Tsai Y-H, Nikam R, Wu Y-C, Dahms H-U and Chang F-R. (2017) Biopharmaceutical potentials of *Prosopis spp.* (Mimosaceae, Leguminosa). J Food Drug Anal 2017;25(1):187-196. DOI: 10.1016/J.JFDA.2016.11.001
- Ibañez MC, Ferrero C. (2003) Extraction and characterization of the hydrocolloid from *Prosopis flexuosa* DC seeds. Food Res Int. 2003;36(5):455–60. DOI: 10.1016/S0963-9969(02)00192-8
- INEN 42. Aceites y grasas de origen animal y vegetal. Determinación del índice de refracción. (IDT). 2013;2009.
- INEN 40. Aceites y grasas de origen animal y vegetal. Determinación del índice de saponificación (IDT). 2013;(Primera edicion):6–7.
- INEN 037. Aceites y grasas de origen animal y vegetal. Determinación del índice de yodo. (IDT). 2013;2009
- INEN 038. Aceites y grasas de origen animal y vegetal. Determinación del índice de acidez. (IDT). 1973.
- Miranda, M. and Cuéllar, A. (2001) Farmacognosia y productos naturales. Editorial Félix Varela, La Habana. ISBN 9590717942
- Napar AA, Bux H, Zia MA, Ahmad MZ, Iqbal A, Roomi S, Muhammad I. and Shah SH. (2012) Antimicrobial and antioxidant activities of

- Mimosaceae plants; *Acacia modesta* Wall (Phulai), *Prosopis cineraria* (Linn.) and *Prosopis juliflora* (Swartz). *J Med Plants Res.* 2012;6(15):2962–70. DOI: 10.5897/JMPR11.1349
- Pasiecznik, N.M., Felker, P., Harris, P.J.C., Harsh, L.N., Cruz, G., Tewari, J.C., Cadoret, K. and Maldonado, L.J. (2001) *The Prosopis juliflora - Prosopis pallida* Complex: A Monograph. HDRA, Coventry, UK. pp.172. ISBN: 0905343301
- Pérez MJ., Cuello AS, Zampini IC, Ordoñez RM, Alberto MR, Quispe C, Schmeda-Hirschmann G. and Islas MI. (2014) Polyphenolic compounds and anthocyanin content of *Prosopis nigra* and *Prosopis alba* pods flour and their antioxidant and anti-inflammatory capacities. *Food Res Int.* 2014;64:762–71. DOI: 10.1016/J.FOODRES.2014.08.013
- Prabha DS, Dahms H-U, Malliga P. Pharmacological potentials of phenolic compounds from *Prosopis spp.* -a review. (2014) *J Coast Life Med.* 2014;2(11):918–24. DOI: 10.12980/JCLM.2.2014J27
- Prasad MNV., Tewari JC. (2016) Chapter 3 - *Prosopis juliflora* (Sw) DC: Potential for Bioremediation and Bioeconomy. Elsevier Inc., 49-76 p. DOI: 10.1016/B978-0-12-802830-8.00003-4
- Prokopiuk, D.B. (2004). Sucedáneo del café a partir de algarroba (*Prosopis lba Griseb*). Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Valencia, España.
- Rincón F, Muñoz J, Ramírez P, Galán H, Alfaro MC. (2014) Physicochemical and rheological characterization of *Prosopis juliflora* seed gum aqueous dispersions. *Food Hydrocoll.* 2014;35:348–57. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2013.06.013
- Sathiya, M. and Muthuchelian, K. (2008) Investigation of Phytochemical Profile and Antibacterial Potential of Ethanolic Leaf Extract of *Prosopis juliflora* DC. *Ethnobotanical Leaflets* 2008;12:1240–5. Available at: <https://opensiuc.lib.siu.edu/ebl/vol2008/iss1/167>
- Warrag MOA. (1995) Autotoxic potential of foliage on seed germination and early growth of mesquite (*Prosopis juliflora*). *J Arid Environ.* 1995;31(4):415–21. DOI: 10.1016/S0140-1963(05)80124-7