



UNIVERSIDAD DE SONORA

**DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS Y
TECNOLÓGICAS**

POSGRADO EN BIOCENCIAS

EVALUACIÓN DE LAS SEMILLAS DE *Jatropha cordata* Y *Jatropha cardiophylla*, COMO FUENTES DE PROTEÍNA, COMPUESTOS FENÓLICOS Y ACEITE PARA LA OBTENCIÓN DE BIODIÉSEL

TESIS

Para obtener el grado de:

MAESTRO EN BIOCENCIAS

Presenta:

PERLA PATRICIA ALDAY LARA

Hermosillo, Sonora

Diciembre de 2011

Universidad de Sonora

Repositorio Institucional UNISON



"El saber de mis hijos
hará mi grandeza"



Excepto si se señala otra cosa, la licencia del ítem se describe como openAccess



UNIVERSIDAD DE SONORA

**DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS Y
TECNOLÓGICAS**

POSGRADO EN BIOCENCIAS

**EVALUACIÓN DE LAS SEMILLAS DE *Jatropha cordata*
Y *Jatropha cardiophylla*, COMO FUENTES DE
PROTEÍNA, COMPUESTOS FENÓLICOS Y ACEITE
PARA LA OBTENCIÓN DE BIODIÉSEL**

TESIS

Para obtener el grado de:

MAESTRO EN BIOCENCIAS

Presenta:

PERLA PATRICIA ALDAY LARA

Hermosillo, Sonora

Diciembre de 2011

**EVALUACIÓN DE LAS SEMILLAS DE *JATROPHA CORDATA* Y *JATROPHA
CARDIOPHYLLA*, COMO FUENTES DE PROTEÍNA, COMPUESTOS
FENÓLICOS Y ACEITE PARA LA OBTENCIÓN DE BIODIÉSEL.**

TESIS

Que para obtener el grado de:

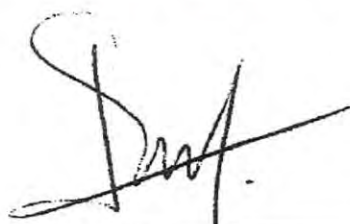
MAESTRO EN BIOCENCIAS

Presenta:

PERLA PATRICIA ALDAY LARA

APROBACIÓN

Los miembros del Comité designado para revisar la tesis intitulada: "Evaluación de las semillas de *Jatropha cordata* y *Jatropha cardiophylla*, como fuentes de proteína, compuestos fenólicos y aceite para la obtención de biodiesel", presentada por la Q.B. Perla Patricia Alday Lara, la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el grado de Maestra en Biociencias.



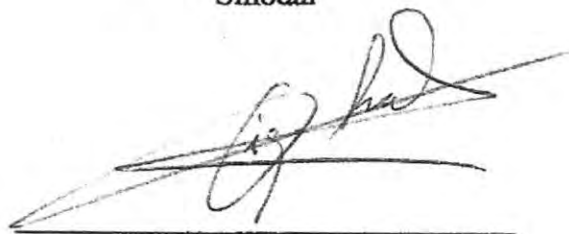
Dr. Luis Ángel Medina Juárez
Asesor



Dra. Nohemí Gámez Meza
Sinodal



Dr. Alejandro E. Castellanos Villegas
Sinodal



Dr. Diego Luna
Sinodal

DEDICATORIA

Con

Profundo

Amor,

Papá (Tw)

Mamá (Pachón)

Saris

Tavo

Karina

Ely

Eliezer

Joanna

Euaggelia

Rakshit

A ti, te seguía esperando

AGRADECIMIENTOS

A la **Universidad de Sonora** y al Posgrado en Biociencias del **Departamento de Investigaciones Científicas y Tecnológicas** y al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT)** por la oportunidad y facilidades brindadas durante este tiempo para el desarrollo y culminación de esta tesis de maestría.

Al **Dr. Luis Ángel Medina Juárez**, por haber sido un excelente asesor, profesor, mentor, motivador. Por su paciencia, apoyo, dedicación. Por ser un amigo. Gracias.

A la **Dra. Noemí Gámez Mesa**, por su tiempo, orientación, conocimientos, amistad. Gracias.

Al **Dr. Alejandro Castellanos** y **Dr. Diego Luna**, por sus acertadas correcciones y conocimientos que pudieron enriquecer el presente estudio.

A todas las personas que de alguna manera contribuyeron en el desarrollo del presente, **Dr. Makkar, Dr. Becker, Rakshit, Herrmann, Beatrix, Enrique Gil...** Gracias.

A **mis amigos** que durante este tiempo estuvieron presentes en mis días. Gracias por su apoyo, ayuda, ánimo, comprensión, cariño, compañía... Gracias.

A **mi familia**, simplemente por ser mi hogar y mi energía. Gracias.

RESUMEN

El género *Jatropha* de la familia de las Euphorbaceae, incluye al menos 175 especies distribuidas en América, África e India, de las cuales aproximadamente 45 se encuentran en México. EN el Noroeste del país, se encuentran como especies endémicas la *Jatropha cordata* (*JC*) y la *Jatropha cadiophylla* (*JCp*), las cuales están adaptadas a las condiciones de las zonas áridas y semiáridas (precipitaciones pluviales menores a 500 mm y temperaturas entre 8°C y 45°C). Por tal razón, el objetivo de este estudio fue evaluar las semillas de *JC* y *JCp*, como fuente de proteína, compuestos fenólicos y aceites para la obtención de biodiésel. Los resultados mostraron que las pastas de las semillas de *JC* y *JCp* son ricas en proteína cruda (28.3 y 28.9%) y lípido (51.7 y 53.7%) respectivamente. Los ácidos grasos presente en los aceites de *JC* y *JCp* fueron ácido linoléico (49.88 y 50.72%), oléico (36.60 y 34.36%), palmítico (7.66 y 8.03%) y esteárico (4.16 and 5.41%). En las pastas se presentaron niveles altos de inhibidor de tripsina (26 y 33 mg tripsina inhibida/g) y fitatos (6.29 y 7.55% como equivalente de ácido fítico), y niveles bajos tanto para saponinas (0.89% y 0.82 % como equivalente de diosgenina) y fenoles totales (2.18 y 1.25 g/100 g equivalente de ácido tánico). La concentración de ésteres de forbol en *JC* y *JCp* en el grano fue de 1.37 y 0.79 mg/g, respectivamente. En base a los resultados se puede concluir que las semillas de *JC* y *JCp* y sus pastas, podrán ser utilizadas como alimento para ganado, después de un proceso de detoxificación. Además, las pastas resultaron ser una fuente importante de compuestos fenólicos con actividad antioxidante adecuada en biodiesel de soya. Por otro lado, los aceites de estas dos semillas podrían ser utilizados para la producción de biodiésel.

ABSTRACT

The genus *Jatropha* of the Euphorbaceae family, includes at least 175 species distributed in America, Africa and India, which 45 are found in Mexico. In the Northwestern of this country, are located as endemic species the *Jatropha cordata* (*JC*) and *Jatropha cardiophylla* (*JCp*), which are adapted to arid and semi-arid conditions (less 500 mm of precipitation and temperatures from 8° to 45°C). For this reason, the aim of this study was to evaluate the *JC* and *JCp* seeds as sources of protein, phenolics and oil for biodiesel production. The results showed that the kernels meal of *JC* and *JCp* seeds are rich in crude protein (28.3 and 28.9%) and lipid (51.7 and 53.7%), respectively. The fatty acids in *JC* and *JCp* seed oils were linoleic (49.88 and 50.72%), oleic (36.60 and 34.36%), palmitic (7.66 y 8.03%) and stearic acid (4.16 and 5.41%). High levels of trypsin inhibitor activity (26 and 33 trypsin inhibited/g) and phytates (6.29 and 7.55% as phytic acid equivalent), and low levels of both saponins (0.89 and 0.82% as diosgenin equivalent) and total phenols (2.18 and 1.25 g/100 g as tannic acid equivalent) were present in the meals. The concentration of phorbol esters in *JC* and *JCp* kernels were 1.37 and 0.79 mg/g, respectively. Based on these results, it can be concluded that the seeds and meals from *JC* and *JCp*, may be used as livestock feed after detoxification process. Besides, the meals also proved to be an important source of phenolic compounds, with adequate antioxidant activity in soy biodiesel. Respect to the oils from these seeds, these could be used to biodiesel production.

ÍNDICE GENERAL

	PÁGINA
FORMA DE APROBACIÓN	
DEDICATORIA	
AGRADECIMIENTOS	
RESUMEN	
ABSTRACT	
ÍNDICE DE FIGURAS	
ÍNDICE DE TABLAS	
INTRODUCCIÓN	4
I. ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS	6
1.1. Diversidad del Género <i>Jatropha</i>	6
1.1.1. Taxonomía	6
1.1.2. Composición proximal de las pastas de oleaginosas	12
1.1.3. Factores antinutrientes	12
1.1.3.1. Inhibidor de tripsina	12
1.1.3.2. Ácido fítico	13
1.1.3.3. Saponinas	14
1.1.3.4. Ésteres de forbol	15
1.1.4. Antioxidantes	15
1.1.4.1. Compuestos fenólicos	17
1.1.4.2. Flavonoides	18
1.2. Aceites	20
1.2.1. Protección natural del aceite	21
1.2.2. Caracterización fisicoquímica del aceite	22
1.3. Obtención de Biocombustibles	24

1.3.1. Combustibles alternativos	24
1.3.2. Biodiésel	25
1.3.2.1. Biodiésel: La materia prima	27
1.3.2.2. Métodos para la producción de biodiésel	29
1.3.3. Reacción de transesterificación	30
1.3.3.1. Cinética de reacción	31
1.3.3.2. Variables de la reacción	33
1.3.3.3. Refinación del glicerol crudo	36
1.3.3.4. Purificación del biodiésel crudo	36
1.3.3.5. Almacenamiento del biodiésel	37
1.3.3.6. Número de cetano	38
1.3.4. Estabilidad oxidativa del biodiésel	39
1.3.5. Mercado del biodiésel	40
1.3.5.1. Biocombustibles en México	42
II. HIPOTESIS	44
III. OBJETIVOS	45
3.1. Objetivo General	45
3.2. Objetivos Específicos	45
IV. MATERIALES Y MÉTODOS	46
4.1. Materia Prima	46
4.1.1. Características Físicas de las semillas de <i>Jatropha cordata</i> y <i>Jatropha cardiophylla</i>	46
4.2. Obtención de Pasta y Aceite de las Semillas de <i>Jatropha cordata</i> y <i>Jatropha cardiophylla</i>	46
4.3. Análisis Proximal y determinación del perfil de aminoácidos de las Pastas residuales de las Semillas de <i>Jatropha cordata</i> y <i>Jatropha</i> <i>cardiophylla</i>	47
4.4. Determinación de Antinutrientes en las Pastas de <i>Jatropha cordata</i> y <i>Jatropha cardiophylla</i>	47

4.4.1	Determinación del inhibidor de tripsina	47
4.4.2	Determinación del contenido de fitatos	47
4.4.3	Determinación del contenido de saponinas	48
4.4.4	Determinación de los ésteres de forbol	48
	4.4.4.1 Bioensayo de la toxicidad de esteres de forbol en caracoles	48
4.5.	Extracciones y Determinación Analítica de los Compuestos Fenólicos	49
	4.5.1. Extracción	49
	4.5.2. Fenoles totales	49
	4.5.3. Flavonoides totales	49
	4.5.4. Identificación y cuantificación de los compuestos fenólico por HPLC	50
	4.5.5. Evaluación de la Actividad Antioxidante de los Extractos Fenólicos de la Pasta de <i>Jatropha cordata</i> y <i>Jatropha cardiophylla</i> .	52
	4.5.5.1 Métodos Químicos	52
	4.5.5.2 Método Rancimat	52
4.6.	Determinación de la Calidad del Aceite de <i>Jatropha cordata</i> y <i>Jatropha cardiophylla</i>	54
	4.6.1. Caracterización de las propiedades fisicoquímicas del aceite extraído de las semillas de <i>Jatropha cordata</i> y <i>Jatropha cardiophylla</i>	54
	4.6.2. Perfil de los ácidos grasos	54
	4.6.3. Cuantificación de carotenoides	55
	4.6.4. Cuantificación de tocoferoles	55
4.7.	Reacción de Transesterificación de los Aceites de <i>Jatropha cordata</i> y <i>Jatropha cardiophylla</i>	56
	4.7.1. Lavado con agua destilada del biodiésel	56
	4.7.2. Análisis de los metilésteres del biodiésel	56
	4.7.3. Número de cetano	56

4.8. Análisis Estadístico	57
V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	57
5.1 Recolección e Identificación de las Semillas de <i>Jatropha cordata</i> y <i>Jatropha cardiophylla</i>	57
5.2. Características Físicas de las Semillas de <i>Jatropha cordata</i> y <i>Jatropha cardiophylla</i>	58
5.3. Composición Química de las Pastas de <i>Jatropha cordata</i> y <i>Jatropha cardiophylla</i>	59
5.3.1. Perfil de aminoácidos de las pastas de <i>Jatropha cordata</i> y <i>Jatropha cardiophylla</i>	59
5.4. Contenido de antinutrientes y tóxicos en pastas de <i>Jatropha cordata</i> y <i>Jatropha cardiophylla</i>	61
5.4.1. Contenido del inhibidor de tripsina	61
5.4.2. Contenido de fitatos	61
5.4.3. Contenido de saponinas	61
5.4.4. Contenido de esteres de forbol en pasta de <i>Jatropha cordata</i> y <i>Jatropha cardiophylla</i>	62
5.5. Contenido de Compuestos Fenólicos	63
5.5.1. Contenido de fenoles totales	63
5.5.2. Contenido de flavonoides totales	64
5.5.3. Identificación de los compuestos fenólicos por HPLC	65
5.5.4. Evaluación de la actividad antioxidante por métodos químicos	66
5.5.4.1. Capacidad antioxidante por método DPPH*	66
5.5.4.2. Capacidad Antioxidante Equivalente a Trolox (TEAC)	67
5.5.5. Evaluación de la actividad antioxidante por el método Rancimat	68
5.6. Propiedades Fisicoquímicas del Aceite de las Semillas de <i>Jatropha cordata</i> y <i>Jatropha cardiophylla</i>	70
5.6.1. Contenido de esteres de forbol en aceite de <i>Jatropha cordata</i> y <i>Jatropha cardiophylla</i>	72

5.6.2. Determinación del perfil de ácidos grasos de aceite de <i>Jatropha cordata</i> y <i>Jatropha cardiophylla</i>	72
5.7. Obtención de Biodiésel a Partir del Aceite de las Semillas de <i>Jatropha cordata</i> y <i>Jatropha cardiophylla</i>	73
VI. CONCLUSIONES	76
VII. RECOMENDACIONES	77
VIII. REFERENCIAS	78

FIGURA		PÁGINA
1	Espécimen de <i>Jatropha cordata</i> ; fruto (izquierda); semilla (derecha).	8
2	Espécimen de <i>Jatropha cardiophylla</i> ; fruto (izquierda); semilla (derecha).	10
3	Cáscara y pasta de <i>Jatropha cordata</i> (izquierda) y <i>Jatropha cardiophylla</i> (derecha).	11
4	Estructura química de algunos antioxidantes sintéticos.	16
5	Fenol	17
6	Estructura básica de los flavonoides y sistema de numeración.	20
7	Reacción de transesterificación de un triacilglicérido con metanol para la obtención de metiléster.	30
8	Etapas (a) y reacción general (b) de la transesterificación de un triacilglicérido con metanol para la obtención de metiléster. R ₁ , R ₂ , y R ₃ = cadena de carbonos (14 a 24 C).	32
9	Ecuaciones de la velocidad de reacción del proceso de transesterificación.	33
10	Determinación de fenoles totales.	50
11	Determinación de flavonoides totales.	51
12	Determinación de la actividad antioxidante (ABTS ^{•+})	53
13	Determinación de la actividad antioxidante (DPPH [•])	54
14	Localización de <i>Jatropha cordata</i> y <i>Jatropha cardiophylla</i>	58
15	Contenido de fenoles totales en extractos metanólicos de <i>Jatropha cordata</i> y <i>Jatropha cardiophylla</i>	64
16	Contenido de flavonoides totales en extractos metanólicos de <i>Jatropha cordata</i> y <i>Jatropha cardiophylla</i>	65
17	Identificación y cuantificación de los compuestos fenólicos presentes en los extractos de <i>Jatropha cordata</i> y <i>Jatropha cardiophylla</i> .	66
18	Actividad antioxidante de los extractos fenólicos de <i>Jatropha cordata</i> y <i>Jatropha cardiophylla</i> medida como la inhibición del	67

19	Actividad antioxidante de los extractos fenólicos de <i>Jatropha cordata</i> y <i>Jatropha. cardiophylla</i> . medida como la inhibición del radical ABTS ^{•+} (equivalentes Trolox).	68
20	Efecto del extracto metanólico de <i>Jatropha cordata</i> y extracto metanólico de <i>Jatropha. Cardiophylla</i> , TBHQ y BHA sobre la estabilidad oxidativa del biodiésel de soya.	69
21	Cromatograma del perfil de ácidos grasos del aceite de <i>Jatropha cardiophylla</i> .	74
22	Cromatograma del perfil de ácidos grasos del biodiésel de <i>Jatropha cordata</i>	75

TABLA**PÁGINA**

1	Principales especificaciones técnicas para biodiésel	26
2	Composición proximal de las pastas de <i>Jatropha cordata</i> y <i>Jatropha cardiophylla</i>	59
3	Composición de aminoácidos de la pasta de <i>Jatropha cordata</i> y <i>Jatropha cardiophylla</i> (g AA's/100g proteína)	60
4	Antinutrientes en la cáscara y grano de <i>Jatropha cordata</i> y <i>Jatropha cardiophylla</i>	63
5	Propiedades fisicoquímicas del aceite de semillas de <i>Jatropha cordata</i> y <i>Jatropha cardiophylla</i>	72
6	Composición de ácidos grasos de los aceites de <i>Jatropha cordata</i> y <i>Jatropha cardiophylla</i>	73

INTRODUCCIÓN

El género *Jatropha* pertenece a la familia de las Euphorbaceae, el cual incluye al menos 175 especies distribuidas en América, África e India. En México, se encuentran 45 especies de *Jatropha*. En el Noroeste de México, se encuentran como especies endémicas la *Jatropha cordata* (JC) y la *Jatropha cardiophylla* (JCp) (Popham, 1947). Su hábitat incluye los matorrales del desierto de Sonora, bosques tropicales caducifolios y algunos bosques de robles. Estos se pueden encontrar en colonias dispersas, comúnmente asociados con los árboles y arbustos (Martin *et al.*, 1998), y tienen la característica de ser propagada por rizomas, que crecen en las laderas rocosas y suelos arenosos (Turner *et al.*, 1995). JC y JCp son plantas suculentas de madera semi blanda. Están bien adaptadas a las regiones áridas y semiáridas. JC es un hospedero importante para las larvas *Rothschildia cincta*, los grupos indígenas Mayo y Yaqui utilizan los capullos de esta polilla haciéndolos sonar como una serpiente de cascabel en las danzas ceremoniales (Felger *et al.*, 2001). Los tallos de JCp contienen un 3% de ácido tánico, en tanto que las raíces contienen 5%, las cuales se han estado utilizado en el curtido de pieles. La savia se ha utilizado para detener el sangrado de heridas menores y en forma de infusión como astringente (Turner *et al.*, 1995).

Una parte importante de la semilla de las *Jatrophas* es su proteína. Existen reportes de la calidad de la proteína de la pasta proveniente de *Jatropha curcas*, la cual fue considerada alta. Los niveles de aminoácidos esenciales (excepto lisina) son más altos en las pastas de las semillas de *Jatropha* que la referencia (perfil de aminoácidos requerido para un niño de 3 5 años) según la FAO. Makkar *et al.*, (1998), reportaron la presencia de esterres de forbol como el principal compuesto toxico en las semillas de *Jatropha*. Por otro lado, genotipos no tóxicos de *Jatropha curcas* han sido reportados en México (Makkar *et al.*, 1998; Martínez-Herrera *et al.*, 2010). Recientemente una especie nueva de *Jatropha* (*J. Platyphylla*) ha sido reportada no toxica (Makkar *et al.*, 2011). Estas especies no toxicas están libres de esterres de forbol, sin embargo, contienen inhibidores de tripsina y fitatos a niveles similares a los reportadas para la especie toxica *J.curcas* (Makkar *et al.*, 1998).

La necesidad de proteínas en el sector ganadero ha acentuado la búsqueda de fuentes nuevas de proteínas que no entren en conflicto con los intereses de la seguridad alimentaria humana. En la situación actual, las semillas oleaginosas no comestibles son la opción preferida para la obtención de proteínas y otros nutrientes para alimento animal, siempre y cuando estas semillas estén libres de compuestos tóxicos y antinutrientes. Unas de las plantas oleaginosas prometedoras son las especies del género *Jatropha*, debido a su gran adaptabilidad a crecer en diferentes condiciones agroclimáticas, por ejemplo, condiciones adversas del suelo, las zonas de sequía, tierras marginales y áridas. Por otra parte la pasta de *Jatropha curcas* ha resultado ser una fuente importante de fitoquímicos (Devappa, *et al.*, 2010).

Mundialmente, el estudio de la planta de *Jatropha curcas* ha sido ampliamente enfocado además, como fuente de aceite, para la obtención de biocombustibles mas amigables con el medio ambiente y su pasta proteica, para la posible utilización en la formulación de alimento para animales.

La obtención de fuentes alternativas y suplementarias de energía es una necesidad cada vez más imperante por el cercano agotamiento de las fuentes convencionales de energía no renovable aunada al desgaste ecológico que se presenta en la actualidad. La obtención de biocombustibles, como el etanol (combustible a partir de maíz y otras plantas) y biodiésel (combustible a partir de aceites y grasas) son alternativas viables debido a las ventajas de sustentabilidad, económicas y ambientales como lo son: biodegradables, toxicidad reducida por niveles bajos de emisión que representan para el futuro inmediato.

La producción de biocombustibles representa ya una prioridad para países de Europa, EUA, Argentina y Brasil Por tal motivo, se considera pertinente establecer el potencial de nuestro país y región, en base a los recursos naturales que se tienen. Ante esta situación, es necesario desarrollar las alternativas agro-biológicas más viables, promoviendo el uso de las regiones áridas y semiáridas de México, para las cuales una alternativa puede ser el promover el cultivo de *Jatropha cordata* (JC) y *Jatropha cardiophylla* (JCp) en el Estado de Sonora.

Ante esta situación en el presente trabajo se propone evaluar el potencial de las semillas de *Jatropha cordata* y *Jatropha cardiophylla* nativas de las zonas áridas y semiáridas del noroeste de México, como fuente de proteína y compuestos fenólicos y aceite para la producción de biodiésel.

I. ANTECEDENTES

1.1. Diversidad del Género *Jatropha*

1.1.1. Taxonomía

El género *Jatropha* pertenece a la familia de las *Euphorbiaceae*, comprende 320 géneros y 8700 especies. Las euforbiáceas son dicotiledóneas, y pertenecen al orden Euphorbiales. La variación morfológica en la familia es enorme, lo que dificulta su caracterización. Sin embargo, la mayoría de las especies se reconocen por sus flores unisexuales, frecuentemente pequeñas, la presencia de un disco floral, un ovario superior con 3 lóculos, los lóculos con 1 ó 2 óvulos, y frutos típicamente esquizocárpicos capsulares con mericarpos elásticamente dehiscentes (Cronquist, 1977). Además, algunas especies tienen látex, hojas con estípulas y varias formas de glándulas. La familia también es una de las más grandes y diversas de México, y el país constituye el centro de diversidad para varios géneros (Steinmann, 2002).

La *Jatropha* es un género con diversas formas de crecimiento (plantas monoicas y dioicas). Comprende alrededor de 175 especies distribuidas en América, África, e India, comprendiendo regiones tropicales, subtropicales, zonas semiáridas y algunos desiertos (Steinmann y Felger, 1997).

El género *Jatropha* presenta tres formas de crecimiento, árboles, arbustos y herbáceas perennes con raíces tuberosas (Steinmann y Felger, 1997; Felger *et al.*, 2001; Felger, 2000). Los tallos son flexibles, cuando se cortan presentan látex colorido no lechoso, más bien como sangrado. Presentan hojas alternas, con margen dentado-serrado. Las inflorescencias son

cimosas, flores femeninas solitarias, compuestas por cinco sépalos y cinco pétalos, estambres en dos verticilos unidos por debajo de los filamentos en una columna. El fruto resultante es una cápsula usualmente conteniendo tres semillas, pero en la mayoría de las ocasiones suelen presentar una a dos semillas por aborto de uno o dos carpelos (Felger, 2000). Algunas de las especies son tóxicas, por la presencia de taxoalbúminas, alcaloides y otras sustancias. Algunas especies en forma de arbusto son ampliamente distribuidas y comunes en Sonora. *J. cuneata* es usada por los Seris para la elaboración de canastas (Felger *et al.*, 2000).

En México se encuentran 45 especies de *Jatropha* y en Sonora se tienen 7 especies, habitando zonas tropicales y subtropicales. Algunas se encuentran en regiones áridas y semiáridas (Steinmann y Felger, 1997; Felger *et al.*, 2001, Felger, 2000). Entre las especies de *Jatropha* localizadas en Sonora se encuentran: *Jatropha cordata*, *Jatropha cardiophylla*, *Jatropha malacophylla*, *Jatropha cinérea* y *Jatropha cuneata* (Felger *et al.*, 2000).

Jatropha cordata (JC)

La JC, es un arbusto o árbol perene de la familia de las euforbiáceas, que en algunos lugares llega a alcanzar hasta 10 metros de altura; usualmente de aspecto más alto que ancho, madera suave y semi-suculenta, ramas pequeñas flexibles y tronco bien desarrollado. Es una componente importante en el matorral espinoso. Es encontrada en México en ambos lados del Golfo de California, en las montañas de Baja California y a través de Sonora, el sur de Chihuahua, Sinaloa y Jalisco (Popham, 1997). En la Sierra de Mazatán, donde los pobladores la conocen como “torota”, se puede encontrar arriba de los 1000 metros de elevación sobre las pendientes, y también en las planicies alrededor de la Sierra. Su nombre común es “papelío” debido a que su corteza desprende láminas delgadas como papel, de cuyo fruto se obtiene una semilla con un porcentaje alto de aceite; por esta razón es considerada una oleaginosa no tóxica. Presenta hojas ovado-cordadas, crenadas, glabras, lustrosas de 1.5 a 4.5 cm. de ancho y de 2.5 a 6 cm. de longitud (Felger *et al.*, 2001). Las semillas son de forma ovoide y miden de 8-9 mm. de ancho, su longitud es de 10-12 mm, presentando tonalidades de negro, marrón hasta un tinte moteado entre marrón y beige (Figura 1). Las flores son pequeñas y de color rosa blanquecino. Sus hojas son de forma triangular de color verde oscuro brillante. Tiene una

madera suave y succulenta. En Chihuahua es conocida como “Mata muchachos” y “jiotillo” en Sinaloa, son usadas con propósitos medicinales (Dehgan, 1982).

Los Mayos y Yaquis han utilizado su madero para elaborar mascararas de Pascola ya que su madera es fácil de esculpir y no se quiebra al secar. Los hombres de esas tribus utilizan la polilla que alberga esta especie en su madera para confeccionar cascabeles para sus piernas con fines de las danzas ceremoniales.

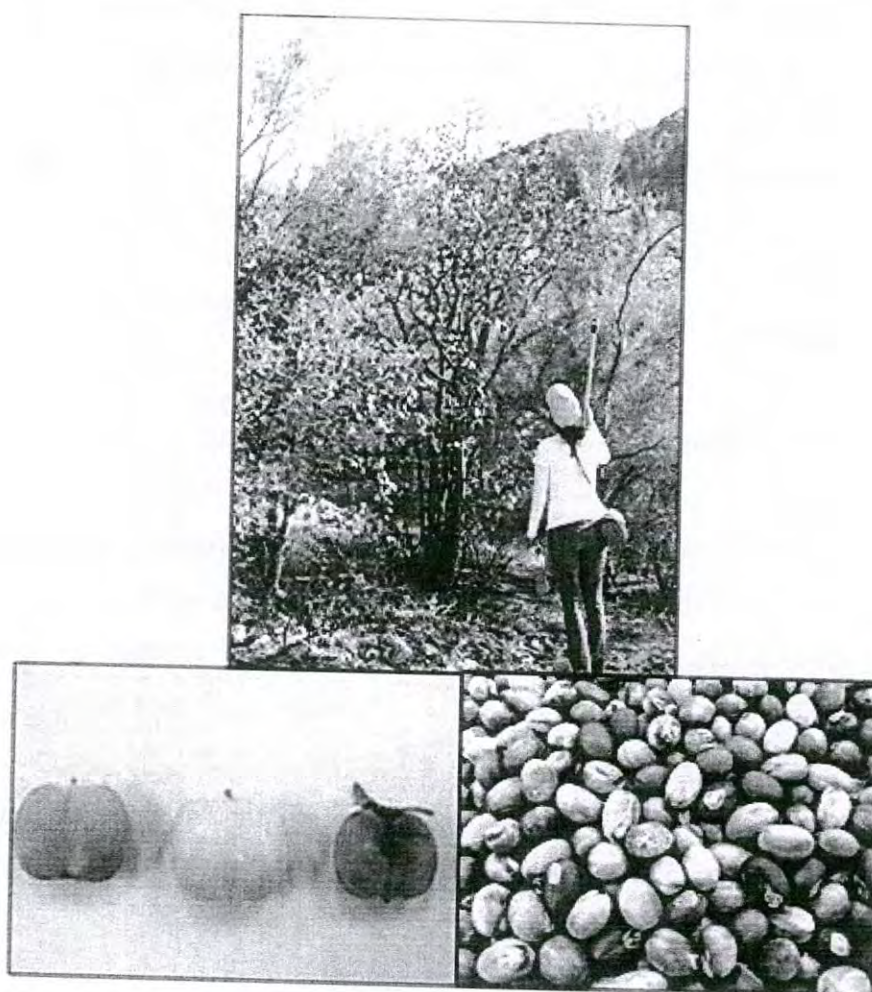


Figura 1. Espécimen de *Jatropha cordata*; Fruto (izquierda); Semilla (derecha).

Jatropha cardiophylla (JCp)

Puede desarrollarse en suelos pobres y en regiones con precipitaciones pluviales altas o bajas, pero los rendimientos mejores se obtienen en suelos arenosos de fertilidad media a escasa, no adecuados para cultivo de alimentos en zonas tropicales y subtropicales del mundo.

Esta especie es encontrada originalmente en México y Arizona. Son arbustos caducifolios de crecimiento bajo, su altura promedio es de 1 m (ocasionalmente de 2 m al Este de Hermosillo), con ramas flexibles de color rojo y hojas de 3 y 5 centímetros de largo y ancho, respectivamente (Martin *et al.*, 1998). Las flores son de color rosa, siendo más pequeñas y atractivas en las plantas masculinas que en las femeninas. Esta planta tiene un atractivo tanto por dentro como por fuera de la hoja (Dehgan, 1982), presenta hojas pequeñas antes de la temporada de lluvias (verano), que aumentan rápidamente de tamaño con el inicio de las lluvias, las hojas empiezan a caer en septiembre y octubre (Turner *et al.*, 1995). Los pétalos son de color blanco, su fase reproductiva comienza a principios de verano (Martin *et al.*, 1998; Steinmann y Felger, 1997). La corteza del tallo es rojiza, las ramas y raíces cuando son cortadas pueden exudar un pigmento con apariencia de sangre, de allí su nombre “sangregado”. Sus hojas son glabras, cordadas, y con un margen crenado; fasciculadas sobre brotes cortos o solo en tallos largos que miden hasta 2.5 cm de largo y de ancho. Algunas plantas son monoicas aunque, la mayoría son dioicas. El tallo es alargado durante la estación lluviosa, las primeras flores aparecen al mismo tiempo que aparecen las hojas nuevas, la floración dura hasta agosto. Esta planta crece sobre pendientes rocosas, frecuentemente debajo de otros arbustos. Las semillas de esta especie se presentan en forma circular con un diámetro de 15 mm, encontrándose una amplia gama de colores desde el marrón oscuro hasta el beige, siendo éste último es más predominante. Es endémica de las zonas subtropicales y del desierto sonorense. Al sur del Estado de Sonora donde las heladas son poco frecuentes las plantas pueden crecer como árboles pequeños, se puede observar a partir de los 610 – 900 metros sobre el nivel del mar (msnm) extendiéndose hasta los 1200 msnm. En cambio, al norte, donde las heladas son más frecuentes y los inviernos más fríos (temperatura 4°C) ocasionalmente las plantas crecen más de 1.5 m (Figura 2).

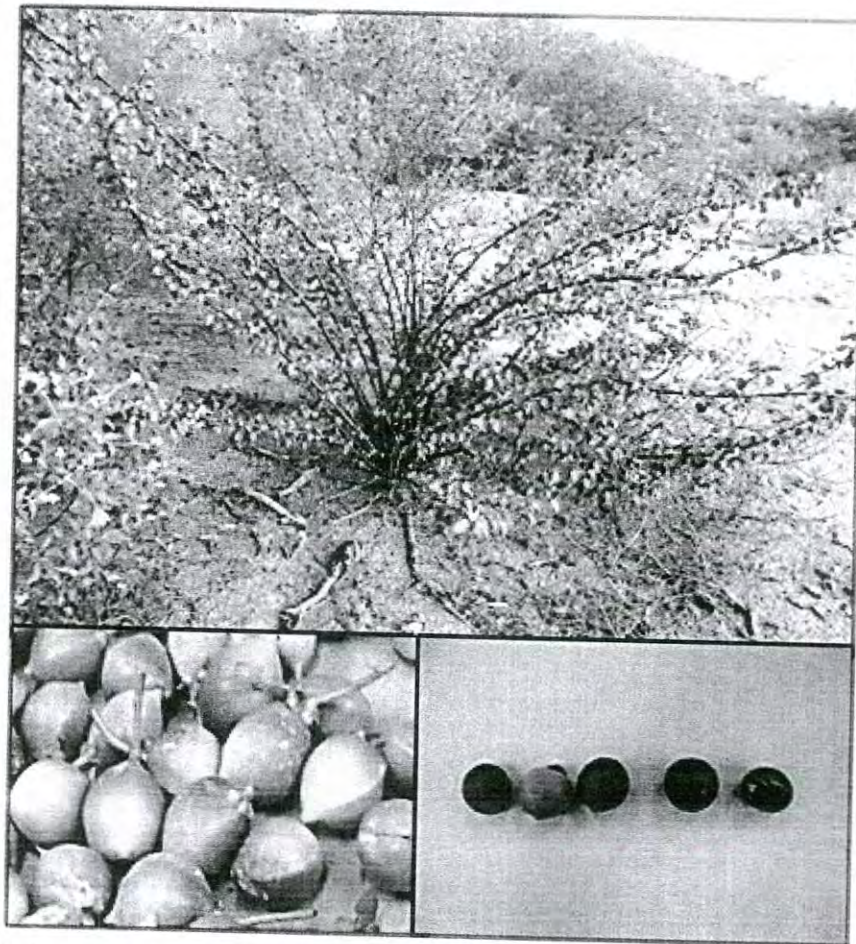


Figura 2. Espécimen de *Jatropha cardiophylla*; Fruto (izquierda); Semilla (derecha).

Semillas de *Jatropha cordata* y *Jatropha cardiophylla*

Las semillas se dividen en dos partes, la cáscara de la semilla y el grano de la misma en el cual se concentra el contenido graso y proteico de la semilla (Figura 3). Las dos especies de *Jatropha cordata* y *cardiophylla* producen semillas que poseen entre 30 y 40% de aceite, cuya composición tiene un patrón de ácidos grasos característico (Popham, 1997), además son cultivos que presentan requerimientos bajos de insumos de agua y cuentan con un potencial uso no alimenticio.

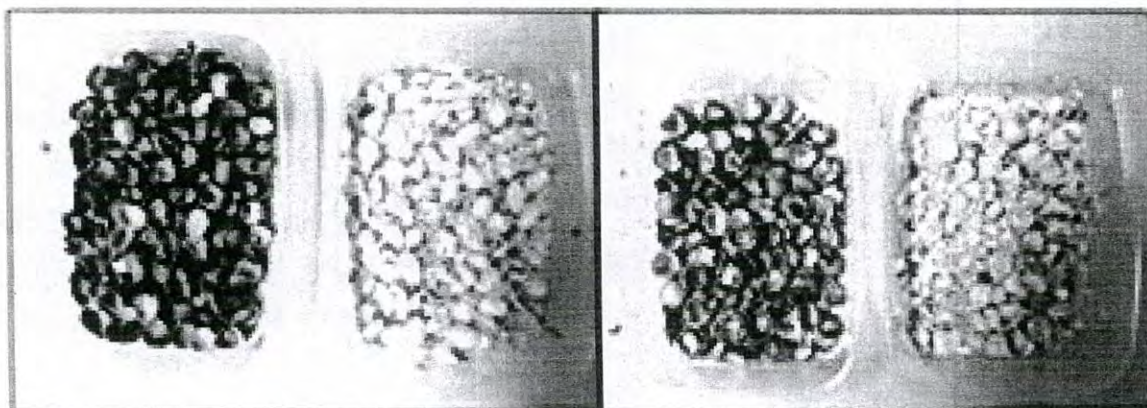


Figura 3. Cáscara y grano de *Jatropha cordata* (izquierda) y *Jatropha cardiophylla* (derecha).

Las semillas de *Jatropha curcas* contienen un porcentaje alto de proteína y un perfil de aminoácidos similar al de la soya (Makkar y Becker, 1999; Makkar *et al.* 1997; Devappa y SwamyIngapa, 2008), siendo deficiente en el aminoácido esencial lisina.-Sin embargo, Martínez-Herrera, (2010), reporta la presencia de compuestos fenólicos en las semillas de *Jatropha curcas*, los cuales son considerados como compuestos antinutrientes que obstaculizan la biodisponibilidad de la proteína para el sector alimentario. Algunos estudios han reportado valores de algunos compuestos antinutrientes como de fitatos, inhibidores de tripsina, y tóxicos como los ésteres de forbol y saponinas (Aderibigbe *et al.*, 1997; Makkar *et al.*, 1997), los cuales al igual que los compuestos fenólicos deberían ser inactivados para que la proteína de las especies de *Jatropha* pueda ser utilizada como nutriente por el ganado. Por otro lado, también han sido cuantificados los glucosinolatos y compuestos cianogénicos (Makkar y Becker, 1997), los cuales son metabolitos secundarios que reaccionan con algunos aminoácidos formando compuestos considerados neurotóxicos. Dichos compuestos pueden ser empleados en beneficio de las plantas, ya sea liberando estas sustancias al medio circundante, de manera que la planta envenena a sus competidores vegetales (alelopatía), o acumulando estos productos químicos en tallos u hojas con el objetivo de que la planta adquiriera un olor o sabor desagradable para los herbívoros ó sea tóxica (López-Riquelme, 2003).

1.1.2. Composición proximal de pastas de oleaginosas

Este análisis consiste en crear los balances adecuados para decidir si las pastas proteicas pueden utilizarse para la alimentación humana o animal. Los métodos oficiales utilizados para realizar el análisis proximal de las pastas están compilados por la “Asociación oficial de métodos analíticos de la AOAC” (2009). En el presente estudio se utilizaron los métodos siguientes:

Humedad (930.04): Este parámetro mide el contenido de agua en la muestra, aun cuando aparentemente parece estar seca. Cenizas (930.05): Este término hace referencia al residuo inorgánico del alimento o muestra, cuando la materia orgánica es incinerada. Proteína cruda (978.04): En este análisis la muestra se disuelve en ácido sulfúrico concentrado y se calienta con la finalidad de que la materia carbonosa se degrade a CO₂, los minerales se sulfaten y el nitrógeno se transforme en sulfato de amonio. La materia carbonosa comprende la grasa, fibra y carbohidratos, la parte oxigenada de la proteína también se libera, y sólo queda la parte nitrogenada de la proteína. Grasa (930.09): La grasa presente en un alimento se determina mediante su extracción con un solvente orgánico. El éter de petróleo es el agente de extracción directa de la grasa más eficiente en materia seca, sin embargo, también extrae material no graso. La extracción puede ser continua utilizando el equipo Goldfish o bien intermitente utilizando un equipo de Soxhlet. Fibra (930.10): La determinación de fibra cruda se lleva a cabo mediante la pérdida de peso, por incineración del residuo orgánico que queda después de la digestión de la muestra con ácido sulfúrico e hidróxido de sodio diluidos. Aunque se considera que la fibra está compuesta principalmente por celulosa y lignina, compuestos fundamentales de la pared celular.

1.1.3. Factores antinutrientes y tóxicos

1.4.2.1. Inhibidor de tripsina

El inhibidor de tripsina es un factor que ha sido implicado con efectos adversos en el valor nutricional de las proteínas, conocido como inhibidor de proteasas; tiene la habilidad de

inhibir la actividad proteolítica de las proteasas de diversos orígenes. Los inhibidores de proteasas que han sido aislado de la soya y otras legumbres se clasifican bioquímicamente en dos categorías principales: (1) los que tienen un peso molecular de 20,000 a 25, 000 Da, con una difusibilidad baja y una actividad específicamente dirigida hacia la tripsina (inhibidor Kunitz) y (2) aquellos que tienen un peso molecular de solo 6,000 a 10,000 Da con una porción alta de residuos de cisteína y son capaces de inhibir tanto la quimotripsina como la tripsina en los sitios de unión independientes (inhibidor Bowman-Birk) (Makkar *et al.*, 2007)

Los inhibidores de tripsina inducen la hipertrofia/hiperplasia del páncreas. Concomitante con este aumento del tamaño del páncreas se presenta un aumento de la secreción de las enzimas digestivas, como tripsina, quimiotripsina y la elastasa. Esto llevó a la hipótesis de que el crecimiento del páncreas causado por los inhibidores de tripsina es la consecuencia de una pérdida endógena de aminoácidos en forma de enzimas siendo secretadas por la hiperactividad pancreática. La secreción pancreática es controlada por un mecanismo de retroalimentación negativa por el cual la secreción enzimática es inversamente relacionada a los niveles de tripsina en el intestino delgado. Por lo tanto, cuando los niveles de tripsina en el intestino decrecen, como sería el caso cuando se combina con el inhibidor, el páncreas responde en forma compensatoria produciendo más enzimas, como resultado de la secreción alta de colecistoquinina (una hormona estimulante del páncreas). Aparte de esto, el inhibidor interfiere en la digestión de proteínas en el tracto intestinal, disminuyendo la disponibilidad de aminoácidos para los propósitos de producción. Los inhibidores de proteasas pueden ser inactivados mediante tratamiento con calor, la fermentación y germinación (Makkar *et al.*, 2007).

1.1.3.2. Ácido fítico

El ácido fítico es un compuesto cíclico llamado 1,2,3,4,5,6-hexaquis dihidrogenofosfato inositol, forma común de almacenamiento de fosforo en las semillas y es también considerado como un compuesto antinutriente. El ácido fítico, por poseer carga negativa en una amplia gama de valores de pH, tiene una fuerte afinidad para unirse a iones de metales tales como calcio, zinc y hierro. Esto causa interferencia en la absorción de estos minerales en el intestino

delgado y afecta negativamente varios procesos metabólicos. Además, es también conocido por formar complejos con proteínas y el almidón, lo que reduce la digestibilidad de estos nutrientes (Makkar *et al.*, 2007). El fósforo en el ácido fítico no está nutricionalmente disponible para los animales monogástricos.

Sin embargo, el ácido fítico a concentraciones no antinutritivas en fuentes dietarias ha sido considerado recientemente como un antioxidante potencial. Además ha sido sugerido como un compuesto terapéutico por su papel protector en la carcinogénesis (Makkar *et al.*, 2007).

1.1.3.3. Saponinas

La definición de saponinas se basa en su actividad superficial, muchas saponinas presentan propiedades detergentes. Se trata de glucósidos esteroideos o de triterpenoides, llamados así debido que al estar en contacto con el agua pueden formar espuma similar a los jabones. Las saponinas tienen una acción irritante sobre las células. En el parénquima pulmonar se traduce en una acción expectorante, sobre las células renales produce una acción diurética y sobre los glóbulos rojos una acción hemolítica, tienen un sabor amargo y son tóxicos para los animales. Además de ser tóxicas, las saponinas son absorbidas por el cuerpo de manera muy pobre, por lo cual tienen a atravesar el sistema digestivo sin causar daño, también pueden ser destruidas por la cocción de carne animal. Las saponinas se encuentran en muchas plantas, incluyendo varias utilizadas para la alimentación humana, tales como algunas legumbres. Es aconsejable no comer grandes cantidades de alimentos que contienen saponinas (Ceyhun y Artik, 2010).

Se cree que su toxicidad proviene de su habilidad para formar complejos con esteroides, por lo que podrían interferir en la asimilación de estos por el sistema digestivo, o romper las membranas de las células tras ser absorbidas hacia la corriente sanguínea. : cada molécula está constituida por un elemento soluble en lípidos (el esteroide o el triterpenoide) y un elemento soluble en agua (el azúcar), la porción sacárida se llama genin o saponinas. Dependiendo de que tipo de genin forme a la saponina será su clasificación (Hostettmann y Marston, 1995).

1.1.3.4. Ésteres de forbol

El término forbol se utiliza para describir una familia de compuestos de origen natural que se refieren a los diterpenos tiglianos (Evans, 1986). Estos son ampliamente distribuidos en las especies de plantas de la familia *Euphorbiaceae* y *Thymelaeaceae*.

Los esteres de forbol son naturalmente inestables y susceptibles a la oxidación, hidrólisis, transesterificación y epidermización (Haas *et al.*, 2002). Se ha reportado que los esteres de forbol y sus derivados a concentraciones realmente bajas, son responsables de la irritación de la piel y la promoción tumoral debido a que estimulan la PKC (proteína quinasa C por sus siglas en inglés), la cual está involucrada en las señales de traducción y en los procesos de desarrollo de la mayoría de las células y tejidos, produciendo una variedad de efectos biológicos en un amplio número de organismos (Goel *et al.*, 2007).

La ingesta de plantas tóxicas por algunos animales mamíferos de interés comercial, puede causar la reducción del rendimiento en la producción de leche, contaminación de la leche y muerte (Forsyth 1968). En este sentido, la intoxicación de ganado tras la ingesta de plantas del género *Jatropha*, ha sido reportada. También han sido reportados estudios de toxicidad en humanos; y roedores (Adam 1974; Adam y Magzoub 1975; Ahmed y Adam 1979; Joubert *et al.*, 1984). La toxicidad de semillas de *Jatropha* ha sido estudiada extensivamente en diferentes animales como cabras, ovejas, ratones, ratas y peces al utilizarse alimentos con contenido de esteres de forbol: (Adam 1974; Adam y Magzoub 1975; Makkar y Becker 1999). Los síntomas reportados son mareos, vómitos y diarrea. El grupo éster de estos compuestos es reconocido como esencial en el desarrollo de estos síntomas en los seres vivos.

1.1.4. Antioxidantes

Los antioxidantes son compuestos que inhiben o retrasan la oxidación de otras moléculas al inhibir la iniciación o la propagación de las reacciones en cadena de la oxidación. Los antioxidantes contienen un hidrógeno altamente disponible que puede ser más fácilmente tomado por un radical peróxido que de un aceite o un hidrogeno de un éster. El radical libre que

resulta del antioxidante puede permanecer estable o reaccionar para formar una molécula estable deteniendo el proceso de oxidación. De esta manera, la acción de los antioxidantes interrumpe la reacción en cadena de oxidación (El Diwani *et al.*, 2009).

Existen dos categorías de antioxidantes, los sintéticos y los naturales (Velioglu, 1998). Los antioxidantes sintéticos son compuestos con estructuras fenólicas con sustituciones de álcalis, en tanto que los antioxidantes naturales pueden ser compuestos fenólicos (tocoferoles, flavonoides y ácidos fenólicos), compuestos nitrogenados (alcaloides, clorofilas, aminoácidos y aminas) o carotenoides (Larson, 1988; Hudson, 1990; Hall y Cuppett, 1997).

Los antioxidantes sintéticos han sido ampliamente estudiados y analizados (Figura 4). Sendzikiene *et al.*, (2005) encontraron que el 3-ter-butil-4-hidroxianisol (BHA) y el 2,6-di-ter-butil-4-metilfenol (BHT) tienen casi el mismo efecto en la estabilidad oxidativa en el biodiésel producido a partir de aceite de colza y sebo. Mittlebach *et al.*, (2003) reportaron que el pirogalol (PY), propilgalato (PG) y el ter-butil hidroquinona (TBHQ) pueden mejorar de manera significativa la estabilidad del biodiésel obtenido a partir de aceite de colza, aceite de freído y sebo vacuno.

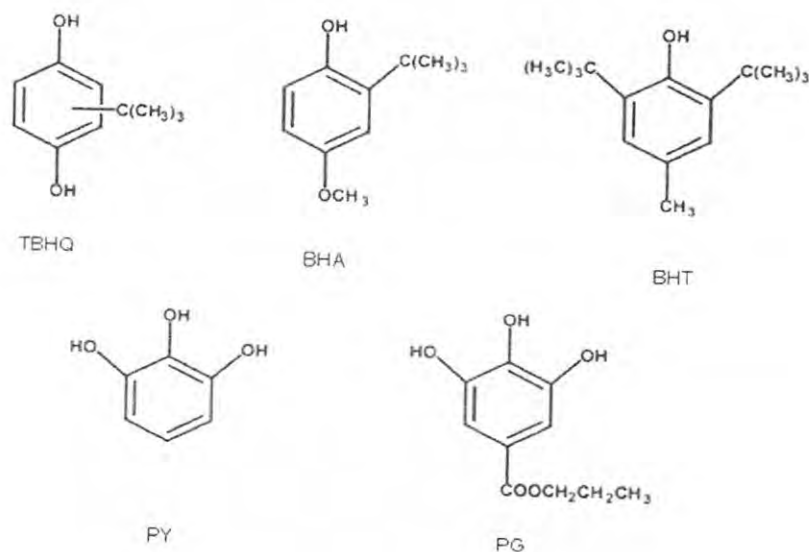


Figura 4. Estructura química de algunos antioxidantes sintéticos.

Antioxidantes sintéticos como el BHT, es efectivo en la protección de grasas insaturadas y aceites. Sin embargo, el uso de los antioxidantes sintéticos como BHT, BHA y TBHQ, se ha reducido debido a su toxicidad y carcinogenicidad (Shahidi, 1997; Jeong *et al.*, 2004).

1.1.4.1. Compuestos fenólicos

La actividad antioxidante de algunos materiales vegetales (antioxidantes naturales) ha sido reportada desde años atrás (Al-Saikhan *et al.*, 1995; Yen y Duh, 1995; Oomah y Mazza, 1996; Wang *et al.*, 1996; Cao *et al.*, 1996; Amarowicz *et al.*, 1996); sin embargo, no se ha podido establecer relación precisa entre la actividad antioxidante y la constitución de compuestos fenólicos.

Los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios producidos por los vegetales. Presentan en su estructura química común un anillo aromático que lleva al menos un sustituyente hidroxilo (Figura 5), el cual es un grupo fenólico responsable de su actividad antioxidante (Cano *et al.*, 2002). El término fenoles comprende aproximadamente 8,000 compuestos que aparecen en la naturaleza.

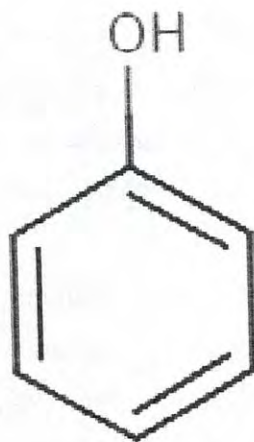


Figura 5. Grupo fenol

Los compuestos fenólicos son solubles en agua porque la mayoría de las veces se encuentran unidos a azúcares formando glicósidos y normalmente se localizan en las vacuolas. En general, son sintetizados por una de dos vías biosintéticas: la vía del ácido shikímico o la vía del ácido malónico (o por las dos, en el caso de los flavonoides). Entre los compuestos fenólicos naturales se encuentran los fenoles monocíclicos, los flavonoides, los fenilpropanoides, las quinonas fenólicas y las coumarinas. Las sustancias poliméricas de las plantas como los lignanos y taninos son polifenólicos y ocasionalmente se encuentran unidades fenólicas en las proteínas, alcaloides y terpenoides (Valencia y Robles -Sardin, 2005).

La actividad antioxidante de los compuestos fenólicos es principalmente debida a las propiedades redox que les permite actuar como agentes reductores, donadores de hidrógeno y quelantes del oxígeno en singulete (Ramarathnam *et al.*, 1997).

1.1.4.2. Flavonoides

Los flavonoides son compuestos fenólicos constituyentes de la parte no energética de la dieta humana. Son pigmentos naturales presentes en los vegetales que protegen al organismo de daño producido por agentes oxidantes. Están ampliamente distribuidos en plantas, frutas, verduras y en diversas bebidas. Los flavonoides se denominaron en un principio vitamina P (por su permeabilidad) y también vitamina C₂ (porque se comprobó que algunos flavonoides tenían propiedades similares a la vitamina C) (Singleton, 1981).

Los flavonoides tienen en su estructura química un número variable de grupos hidroxilo fenólicos y poseen excelentes propiedades para atrapar el hierro y otros metales de transición, presentando una amplia capacidad antioxidante (Peres, 1994). Sus propiedades anti-radicales libres se dirigen principalmente hacia los radicales hidroxilo y superóxido, especies altamente involucradas en la cadena de la peroxidación lipídica (Jovanovic *et al.*, 1998). Además de estabilizar radicales libres, atrapar iones metálicos e inhibir oxidasas, los flavonoides pueden aumentar la disponibilidad de antioxidantes endógenos, así como incrementar la actividad de

enzimas antioxidantes. Paralelamente son capaces de inhibir enzimas involucradas en la generación de especies reactivas del oxígeno (ERO) (Pérez-Trueba, 2003).

Los flavonoides son compuestos de peso molecular bajo que comparten un esqueleto común de difenil-piranos, compuesto por dos anillos de fenilos (A y B) ligados a través de un anillo C pirano (heterocíclico) (Figura 6). La actividad de los flavonoides como antioxidantes depende de las propiedades redox de sus grupos hidroxifenólicos y de la relación estructural entre las diferentes partes de la estructura química (Bors *et al.*, 1990).

Los flavonoides son sintetizados por las plantas y participan en la fase dependiente de luz de la fotosíntesis. Se ubican principalmente en las hojas y en el exterior de las plantas, apareciendo solo restos de ellos en las partes de la planta por encima de la superficie del suelo (Martínez-Flórez *et al.*, 2002).

Los criterios químicos para establecer la capacidad antioxidante de los flavonoides son:

- Presencia de la estructura O-dihidroxi en el anillo B; que confiere una mayor estabilidad a la forma radical y participa en la deslocalización de los electrones.
- Doble ligadura, en conjugación con la función 4-oxo del anillo C.
- Grupos 3- y 5-OH con función 4-oxo en los anillos A y C necesarios para ejercer el máximo potencial antioxidante.

Quercetina es el flavonoide que siguiendo estos criterios reúne los requisitos para ejercer una acción antioxidante más efectiva. El ácido ascórbico reduce la oxidación de la quercetina, de modo que combinado con ella le permite mantener sus funciones antioxidantes por más tiempo. (Martínez-Flórez *et al.*, 2002).

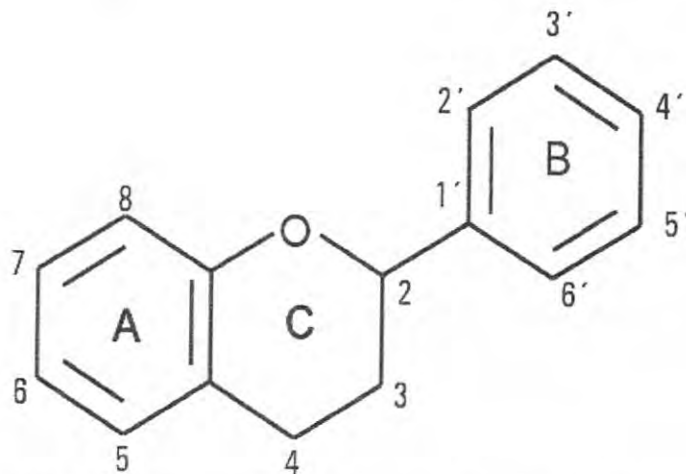


Figura 6. Estructura básica de los flavonoides y sistema de numeración.

La transformación de los flavonoides en el organismo humano tienen lugar en dos localizaciones: en primer lugar en el hígado, por medio de reacciones de biotransformación de fase I en las que se introducen o exponen grupos polares; en segundo lugar en el colon mediante reacciones de biotransformación de fase II, en las que los microorganismos degradarán a los flavonoides que no han sido absorbidos (Rimm *et al.*, 1996).

1.2. Aceites

Los aceites vegetales son compuestos insolubles en agua pero solubles en disolventes orgánicos, como el hexano, cloroformo y éter de petróleo. Están constituidos predominantemente por triacilglicéridos y éstos a su vez por ésteres de tres ácidos grasos monocarboxílicos y el glicerol. Estos ácidos grasos generalmente poseen un número par de átomos de carbono ($C_{14} - C_{22}$) y pueden ser saturados e insaturados. Entre los ácidos grasos saturados los más comunes son el ácido palmítico (C_{16}) y el ácido esteárico (C_{18}), dentro de los insaturados se encuentran los monoinsaturados como el ácido oléico ($C_{18:1}$) y los poliinsaturados como el ácido linoléico ($C_{18:2}$) y el α -linolénico ($C_{18:3}$). (Belitz *et al.*, 2009).

Los aceites son la materia prima para la reacción de transesterificación y a través de esta reacción la obtención de biodiésel. Por tal razón, el costo y calidad del biodiésel depende de la

fuente de donde proviene el aceite y de su perfil de ácidos grasos. Estudios reportan que el precio de los aceites es uno de los factores más importantes que afectan la obtención del biodiésel. Entre el 70-95% del costo total de la producción del biodiésel se deriva del costo de la materia prima (Dorado, 2008). Se ha demostrado además, que el número de cetano, viscosidad cinemática y la estabilidad oxidativa del biodiésel depende de la composición de ácidos grasos de la materia prima (Ramos *et al.*,2009). Se ha demostrado que el grado de insaturación de los metilésteres definirá la estabilidad oxidativa del biodiésel.

La oxidación en los aceites es una de las principales causas de deterioro, durante el calentamiento, que a su vez induce a una pérdida significativa de calidad. Además, la reacción de oxidación en los aceites también afecta la producción de biodiésel. La reacción de oxidación constituye la formación de nuevos compuestos tales como: peróxidos, aldehídos y cetonas (Ahmad y Wai, 2008). El contenido de ácidos grasos saturados influye directamente sobre la estabilidad de los aceites. A mayor cantidad de ácidos grasos saturados mayor estabilidad oxidativa del aceite. Asimismo, los aceites con contenido alto de ácidos grasos saturados producirán un biodiésel con un número de cetano alto, en cambio a partir de un aceite insaturado se obtendrá un biodiésel con un número de cetano bajo (Pinzi *et al.*,2009).

1.2.1. Protección natural del aceite

Los aceites vegetales contienen antioxidantes naturales. Los más comunes son los tocoferoles, los cuales de forma natural inhiben la generación de radicales libres, los cuales son altamente reactivos a la reacción de oxidación (El Diwani *et al.*,2009; Avello y Suwalsky, 2006). Aldehídos, cetonas, ácidos, ésteres y grasas polimerizadas son los productos directos de la oxidación. Por otra parte, los peróxidos pueden iniciar la oxidación y destrucción de las vitaminas liposolubles (A, D, E y K) y otros constituyentes alimenticios susceptibles, como las xantofilas (Calabotta y Shermer, 1985).

1.5.2. Caracterización Fisicoquímica del aceite

Para determinar la calidad de un aceite se determinan ciertos parámetros físicos y químicos. Para medir estas características físicas y químicas del aceite, existen numerosas técnicas, proporcionando información sobre la naturaleza, origen, pureza y composición del aceite. Los métodos oficiales utilizados para realizar éstos análisis están compilados en "Official Methods and Recommended Practices of the AOCS" (2009). En el presente estudio se utilizaron los métodos siguientes:

Humedad

Este método determina la humedad y cualquier otro material volátil, por diferencia de peso (AOCS, Ca 2d-25). El valor máximo permitido por la NOM (NMX-F-252-SCFI-2005) para humedad es de 0.05%.

Color

La medición del color en la industria aceitera se realiza en un colorímetro estandarizado llamado tintómetro (Tintómetro Lovibond). Este método se basa en la comparación del color haciendo sombra mediante tres juegos de filtros con los colores primarios: rojo, amarillo y azul (AOCS, Cc 13e-92). El color sugerido por la NOM (NMX-F-252-SCFI-2005) para un aceite de soya desodorizado es 20 amarillo, 2 rojo.

Ácidos grasos libres (AGL)

Es el número de miligramos de hidróxido de potasio necesarios para saponificar los ácidos grasos libres de un gramo de muestra de un aceite o de una grasa y se expresa como porcentaje de ácido oléico; es una medida del grado de descomposición de los triacilglicéridos del aceite (AOCS, Ca 5a-40) (Ahmad y Wai, 2008).

Valor de peróxido

El valor de peróxidos es determinado por medio de una titulación, este método cuantifica los compuestos primarios de la reacción de oxidación de aceites y grasas. El resultado se expresa como miliequivalentes de peróxidos oxidados por el yoduro de potasio en un kilogramo de aceite (AOCS, Cd 8-53). Esta determinación sirve como un indicador de la calidad de aceites durante las operaciones unitarias del procesamiento de aceites vegetales y durante su almacenamiento. La NOM (NMX-F-252-SCFI-2005) establece límites máximos de 2.0 mEq/kg, para aceite de soya desodorizado. Sin embargo, con el fin de obtener un aceite con mejor estabilidad oxidativa, se recomienda alcanzar valores cercanos a cero peróxidos después de la operación de blanqueo y valores menores a 1 mEq/kg después de la operación de desodorización (Erickson, 1995).

p-Anisidina

El valor de *p*-anisidina, es una medición colorimétrica (350 nm) basada en el desarrollo del color que produce la reacción entre el reactivo de *p*-anisidina y los compuestos secundarios de la oxidación (aldehídos, cetonas, alcoholes y ácidos) (AOCS, Cd 19-90). Aceites procesados recientemente y con buena estabilidad oxidativa deberán tener valores de *p*-anisidina no mayores de 2 mmol/kg.

Tocoferoles

Los tocoferoles son las principales sustancias con propiedades antioxidantes solubles en grasa presentes de forma natural en aceites de semillas. Su acción antioxidante tiene una doble función:

- Ejercen protección a los lípidos celulares contra la oxidación (actividad de la vitamina E).
- Protegen al aceite y a los alimentos de la rancidez oxidativa.

Perfil de ácidos grasos

La composición de los ácidos grasos es una de las características químicas más importantes para identificar a los aceites, debido a que cada aceite tiene un perfil característico. A través de cromatografía de gases es factible la identificación y cuantificación rápida y segura de la composición de los ácidos grasos (de 8 hasta 24 carbonos) en los aceites y grasas (AOCS, Ce 8-89) después de su conversión a metilésteres (AOCS, Ce 2-66). A través de esta determinación se pueden predecir las propiedades químicas del biodiésel, al determinar el porcentaje de los ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados.

1.3. Obtención de Biocombustibles

1.3.1. Combustibles alternativos

El concepto de combustibles alternativos nace con la necesidad de producir y usar combustibles que sean más amigables con el medio ambiente, reduciendo las emisiones de contaminantes dañinas a la salud. Los principales combustibles alternativos que se tienen en la actualidad son; biodiésel, electricidad, etanol, hidrógeno, metanol, gas natural, gas LP entre otros. De los combustibles alternativos que actualmente se conocen, solamente el biodiésel y el bioetanol son totalmente renovables, de aplicación directa, no requieren cambios sustanciales a los motores y son idóneos para desarrollarse en México, debido a que pueden fortalecer sensiblemente el sector agrícola, favorecer la independencia tecnológica, mejorar la administración de los recursos petroleros, además de otorgar excelentes beneficios ambientales (Aguilar, 2005).

La obtención de biocombustibles, como el etanol (a partir de biomasa vegetal como caña y maíz) y el biodiésel (a partir de aceites y grasas) puede llegar a ser una alternativa viable, debido a las ventajas económicas (desarrollo agroindustrial) y de sustentabilidad ambiental que representan para el futuro inmediato. Los biocombustibles se consideran compuestos biodegradables de toxicidad reducida por los niveles de emisión bajos. Con respecto a otras fuentes de energía renovables (hidráulica, eólica, la energía del oleaje, etc), la

biomasa tiene la ventaja de que su estructura química puede ser modificada químicamente, lográndose un producto estructuralmente similar al petróleo. Por esta razón, los combustibles derivados de biomasa renovable pueden ser utilizados en los motores diesel, en sustitución de los combustibles derivados del petróleo. Los combustibles derivados de biomasa tienen algunas ventajas: A) Durante su combustión no se producen emisiones de azufre, debido a que la biomasa carece de compuestos azufrados; B) Durante su combustión no se producen hidrocarburos aromáticos policíclicos; y C) El dióxido de carbono (CO₂) producido por la combustión de los biocombustibles es reciclado, debido a que es un sustrato para la fotosíntesis llevada a cabo por las plantas, coadyuvando a la reducción del efecto invernadero (Sulaiman Al-Zuhair, 2007).

1.3.2. Biodiésel

El biodiésel se define como los metilésteres de ácidos grasos de cadena larga producidos por la transesterificación de los triacilglicéridos presentes en las grasas animales o en aceites vegetales con un alcohol, usualmente metanol, en presencia de un catalizador, comúnmente una base fuerte como hidróxido de sodio o de potasio (Knothe, 2006). La mezcla de esteres resultante tiene propiedades fisicoquímicas similares a las del diesel de petróleo (Cerveró *et al.*, 2008).

El biodiésel tiene varias ventajas: es menos contaminante, promueve el desarrollo agroindustrial, es un buen lubricante, es de producción simple, es biodegradable, proviene de materia prima renovable, posee alto punto de inflamación alto, es menos irritante y presenta una mejor combustión.

El biodiésel es 100% renovable. Debido a que es derivado de material vegetal no emite sulfuros durante su combustión, es biodegradable y amigable con el ambiente. Bunger y col., (2001) estudiaron los efectos citotóxicos y mutagénicos de las emisiones de los motores diesel utilizando petrodiesel y biodiésel como combustibles. Los resultados demostraron una menor mutagenicidad al comparar el biodiésel con el combustible diesel.

El biodiésel se considera “carbono neutral” debido a que todo el dióxido de carbono liberado durante la combustión ha sido secuestrado de la atmosfera durante el crecimiento de los cultivos de aceites vegetales, los cuales se utilizaron para la producción del biodiésel. Estudios han demostrado que la combustión 1 a 1 de diesel y biodiésel liberan 2.6 kg de CO₂/kg contra 1 CO₂/kg, respectivamente (Bajpai *et al.*, 2006).

Entre las desventajas más importantes del biodiésel se encuentran: los costos altos de la materia prima para su producción, la estabilidad oxidativa y tiempos de almacenamiento bajos, menor contenido volumétrico de energía y en algunos casos las emisiones altas de óxidos de nitrógeno (NO_x) (Knothe, 2008).

El biodiésel ofrece numerosos beneficios ambientales, económicos y de seguridad energética, su capacidad de producción ha crecido considerablemente en los últimos dos o tres años, especialmente en la Unión Europea y Estados Unidos de América. La producción anual de biodiésel en EEUU en el 2000, fue de 2 millones de galones, incrementándose de 25, 75 y 250 millones de galones en el 2004, 2005 y 2006, respectivamente. Estados Unidos, con el 17.7%, fue el segundo mayor productor de biodiésel en el mundo en 2009, alcanzando una producción de 2.822 millones de litros en el 2010 y pretende una producción de 6.453 millones en el 2020 (National Biodiesel Board Website, 2011).

Las especificaciones de calidad para biodiésel, según los métodos oficiales aceptados en Estados Unidos (ASTM D6751) y Europa (EN 14214) se mencionan en la Tabla 1.

Tabla 1. Principales especificaciones técnicas para biodiésel

Especificaciones	ASTM D6751	EN 14214
Número de cetano	47 mínimo	51 mínimo
Viscosidad cinemática @ 40°C (mm ² /s)	1.9 a 6.0	3.5 a 5.0
Densidad, 15°C (kg/m ³)	----	860 - 900
Acides (mg KOH/g)	0.5 máximo	0.5 máximo
Estabilidad antioxidativa a 110°C h, Rancimat	3 mínimo	6 mínimo

Gerhard Knothe, 2008. Knothe, G. 2006.

1.3.2.1. Biodiésel: La materia prima

La producción anual de biodiésel está aumentando rápidamente a nivel mundial, de 10 mil toneladas (4 millones de galones) en el año 2000 a 3.5 millones de toneladas (mil millones de galones) en el año 2005 (Gubler, 2006). El informe de Global Data, empresa especializada en el análisis e investigación de mercados, señala que la producción de biodiésel pasó de 959 millones de litros en el 2001 a 15.760 millones en el 2009, con un ritmo de crecimiento anual del 41.9%. El pronóstico del futuro para la producción del biodiésel que hace el informe es que, con el apoyo de los gobiernos para incrementar la independencia energética y satisfacer la demanda en alza de energía, el mercado del biodiésel espera producir 45.291 millones de litros en el 2020, lo que representa una tasa acumulativa de crecimiento anual del 10.1% entre el 2009 y 2020, notablemente inferior a la de la pasada década.

Existen dos pasos que deben ser tomados en cuenta al momento de pretender producir biodiésel a grande escala: 1) cultivo de la materia prima y, 2) procesar esta materia hasta biodiésel. El principal problema es si existe o no algún cultivo que pueda satisfacer con aceite vegetal la demanda de biodiésel. En los Estados Unidos, Brasil y Argentina, se asume que el aceite de soya podría ser el aceite de elección, seguido de las grasas animales como segunda opción. Sin embargo, no se puede fijar la materia prima para la producción de biodiésel con una perspectiva global. Otras materias primas (aceite de palma en el Sureste de Asia, *Jatropha* en la India, colza en el Unión Europea, y cultivos de girasol y camelia en EEUU) presentan un potencial mayor basándose en el rendimiento del aceite (Kurki *et al.*, 2006).

Las grasas animales son otra opción viable para la producción de biodiésel, sin embargo, están disponibles en una cantidad limitada. La producción total de grasa se estima en 15 millones de toneladas por año a nivel mundial (Russell, 2001). Asumiendo una conversión de 1:1 de la grasa animal a biodiésel, toda la grasa solo podría reemplazar menos del 2% del diesel utilizado anualmente a nivel mundial.

La demanda de aceites vegetales y grasas animales para la producción de biodiésel agotará rápidamente sus excedentes. Además, la producción de biodiésel a partir de aceites

comestibles, ha generado controversia, debido a que son la causa de un incremento en los costos de los alimentos a nivel mundial. Estos aceites comestibles requieren de recursos naturales para poder cumplir esta demanda. Por lo tanto, después de un análisis más serio se ha demostrado que estos biocombustibles, llamados de primera generación, son tan dañinos para el medio ambiente como los combustibles tradicionales (Luque *et al.*, 2008).

Inicialmente la producción de biodiésel, como se mencionó anteriormente, se obtuvo a partir de aceites vegetales comestibles (soya, canola y palma). Sin embargo, actualmente ha existido una creciente reacción ante el hecho de que se emplee productos alimenticios para la fabricación de biocombustibles. Las legislaciones de la mayoría de los países, incluido México (Ley de Promoción y Desarrollo de los Bioenergéticos, 2010), han restringido el uso de aceites para la obtención de biodiésel a aquellos que no compitan con los alimentos, y el cultivo de vegetales que no presenten una amenaza en el uso de tierras empleadas para el cultivo de alimento (Torrey, 2006).

Sin embargo, existen países con condiciones climatológicas no favorables para estos cultivos, por lo tanto para regiones áridas o semiáridas es necesaria la búsqueda de otras alternativas vegetales.

En las regiones áridas y semiáridas de México, se han detectado especies vegetales, adaptadas a las condiciones de irradiación solar alta, escasez de agua así como una mayor resistencia a las bajas temperaturas. Entre estas especies se puede destacar la JC y JCp, las cuales podrían tener un potencial alto para la producción biodiésel. Las dos especies son cultivos oleaginosos que poseen entre 40 y 60% de aceite, cuya composición tiene un patrón de ácidos grasos único (Popham, 1997), además son cultivos que presentan requerimientos bajos de insumos ambientales (agua y energía) y un potencial uso no alimenticio. Este tipo de biocombustibles son los llamados de segunda generación.

La composición de ácidos grasos de los aceites vegetales es amplia, dependiendo de la fuente de la que provengan. El biodiésel típicamente contiene más de catorce tipos de metilésteres de ácidos grasos (Cerveró *et al.*, 2008). Este perfil de metilésteres de ácidos grasos influye en las propiedades del biodiésel. Un aceite con un contenido alto de ácidos grasos

saturados incrementa la turbidez y el número de cetano y disminuye las emisiones de NO_x y proporciona una estabilidad mayor del biodiésel. En tanto que, un aceite con un número alto de ácidos grasos poliinsaturados proporciona el efecto opuesto (Ma y Hanna, 1999)

El biodiésel ocupa una posición prominente entre las alternativas de los combustibles convencionales, por varios factores técnicos y económicos. El biodiésel está ganando interés constantemente y progresos recientes como son el aumento en los precios del petróleo y la implementación de incentivos financieros para este recurso. El biodiésel ha sido establecido y está siendo desarrollado en varios países y regiones alrededor del mundo incluyendo EEUU, Europa, Brasil, Sudáfrica y Australia (Knothe, 2006).

1.3.2.2. Métodos para la producción de biodiésel

Tres tipos de procesos han sido estudiados para la producción de biodiésel: pirolisis, emulsificación y transesterificación.

Pirólisis. Se define como la conversión de una sustancia en otra por medio de la aplicación de energía térmica o calor con ayuda de un catalizador (Sonntag, 1979). La reacción de pirolisis es difícil de caracterizar debido a los múltiples caminos que pueden llevarse en la reacción y la variedad de productos de reacción que pueden obtenerse. Los materiales pirolizados son aceites vegetales, grasas animales, ácidos grasos naturales y metilésteres de ácidos grasos. La primera pirolisis de un aceite vegetal fue realizada con el fin de sintetizar petróleo. La descomposición térmica o pirólisis de los triacilglicéridos produce alcanos, alquenos, alcadienos, compuestos aromáticos y ácidos carboxílicos (Ma y Hanna, 1999).

Microemulsiones. Son preparadas con solventes como metanol, etanol y 1-butanol con el objetivo de disminuir la viscosidad alta del biodiésel. Las microemulsiones son dispersiones isotrópicas, claras y termodinámicamente estables de aceite, agua y surfactante. Este proceso produce un combustible con viscosidad baja, pero la inyección en los motores no es eficiente, generándose una combustión incompleta y torpe (Isona *et al.*, 1995).

1.3.3. Reacción de transesterificación

Transesterificación. También llamada alcoholisis, es el desplazamiento de un alcohol en la molécula del éster por otro alcohol como sucede en una reacción de hidrólisis, empleado alcohol en lugar de agua. La transesterificación de aceites, reducen la viscosidad de los triacilglicéridos y mejora las propiedades físicas del producto final (número de cetano, eficiencia en el encendido), resultando un mejor combustible. Los metilésteres obtenidos pueden ser empleados directamente y presentan una eficiencia energética similar a la del diesel fósil (Cerveró *et al.*, 2008). Durante esta reacción se realiza el intercambio de un éster (triacilglicérol) por otro éster que puede ser otro triacilglicérido o un metiléster (Figura 7).

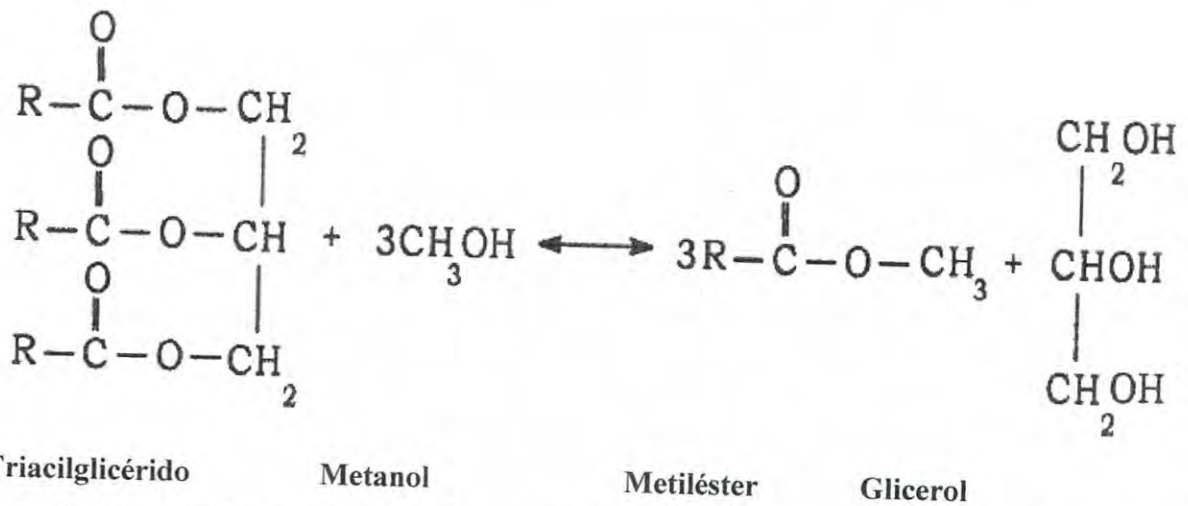


Figura 7. Reacción de transesterificación de un triacilglicérido con metanol para la obtención de metiléster.

La transesterificación es una reacción en equilibrio que se queda por debajo de su eficiencia si se agrega solamente la cantidad de alcohol estequiométricamente necesario. Para forzar a que se llegue al equilibrio, punto en el que más del 98% de la glicerina ha sido separada de los triglicéridos para producir el biodiésel, es necesario agregar al menos 100% más de alcohol en exceso (Freedman *et al.*, 1982). Éste nivel de la reacción es necesario para alcanzar las especificaciones establecidas por la ASTM (American Society for Testing and Materials) para el biodiésel.

La glicerina libre es un producto de la reacción de transesterificación, y en general no se encuentra presente si los metilésteres son lavados con agua (la glicerina es polar y tiene mayor afinidad por el agua). La separación de la glicerina de los metilésteres puede llevarse a cabo mediante gravedad por decantación, con una centrifuga, o con tecnología coalescente. La presencia de glicerina en el biodiésel podría causar depósitos en el motor.

1.3.3.1. Cinética de la reacción

La velocidad de reacción está conformada por la velocidad de formación y la velocidad de descomposición. Esta velocidad no es constante y depende de varios factores, como la concentración de los reactivos, la presencia de un catalizador, la temperatura de reacción y el estado físico de los reactivos. En algunos casos una reacción puede durar unos segundos, mientras que en otros puede tardar siglos.

En la reacción de transesterificación la molécula de triacilglicérido se divide en tres moléculas de metiléster y una de glicerina. El catalizador rompe los enlaces que unen a los ácidos grasos con la glicerina, la glicerina se separa y las cadenas de ácidos grasos se unen al alcohol. Esta reacción se lleva a cabo en tres pasos y en presencia del catalizador NaOH. Primero reacciona el triacilglicérido (TG) con metanol ($R'OH$), generando diglicéridos (DG) y metilésteres ($R'COOR_1$), en el segundo paso de la reacción los DG reaccionan con otra molécula de $R'OH$ y producen los monoglicéridos (MG) y $R'COOR_2$. En la tercer etapa de la reacción los MG y $R'OH$, dando como resultado final los $R'COOR_3$ y glicerina (G) (Doell, 2008). En la Figura 8, se muestra las tres etapas de la reacción (a) y la reacción general (b). En la reacción de transesterificación se pueden presentar como productos intermedios mono o diglicéridos, los cuales pueden quedar como residuos de la reacción, junto con ácidos grasos libres, alcohol y catalizador residual (Knothe, 2006). Estos productos tienen baja solubilidad en el biodiésel y formarán cristales que aparecerán como flóculos blancos en el biocombustible. Una vez formados estos flóculos, es difícil que puedan ser redisueltos, especialmente después de haberse llevado una mezcla con diesel fósil (Van Gerper, 2007).



Figura 8. Etapas de la transesterificación de un triacilglicérido con metanol para la obtención de metiléster. R_1 , R_2 , y R_3 = cadena de carbonos (14 a 24 C).

Al principio la reacción es rápida, pero después se torna lenta. Primero el 50% de los triacilglicéridos se convierte en diglicéridos (después en monoglicéridos y finalmente en biodiésel), posteriormente reacciona solo el 50% de los triacilglicéridos remanentes de la primera fase de la transesterificación y en la tercera fase de la reacción solo se transforma el 50% otra vez, hasta quedar una cantidad ínfima. La velocidad de la reacción disminuye progresivamente y nunca se completa del todo. Al final la cantidad de glicéridos es insignificante y cumple con los límites fijados por los estándares de calidad (Díaz y Sotolongo,2007).

Cada una de estas reacciones es reversible con una velocidad de reacción diferente constante (k_n), haciendo notar que las reacciones en un sentido y en otro tienen lugar a velocidades diferentes (Fig. 9). Las reacciones son todas conocidas, de segundo orden (o pseudo-segundo orden) (Díaz y Sotolongo, 2007). La velocidad de reacción de la primera reacción elemental tiene una dependencia cuadrática con la concentración del reactivo; para expresar la velocidad de aparición y desaparición de los componentes es posible establecer una serie de ecuaciones diferenciales:

$$\begin{aligned} \frac{d[TG]}{dt} &= -k_1[TG][A] + k_2[DG][E] \\ \frac{d[DG]}{dt} &= -k_3[DG][A] + k_4[MG][E] + k_1[TG][A] - k_2[DG][E] \\ \frac{d[MG]}{dt} &= -k_5[GL][E] + k_6[GL][E] + k_3[DG][A] - k_4[MG][E] \\ \frac{d[GL]}{dt} &= k_5[MG][A] - k_6[GL][E] \\ \frac{d[E]}{dt} &= k_1[TG][A] - k_2[DG][E] + k_3[DG][A] - k_4[MG][E] + k_5[MG][A] - k_6[GL][E] \\ \frac{d[A]}{dt} &= -k_1[TG][A] + k_2[DG][E] - k_3[DG][A] + k_4[MG][E] - k_5[MG][A] + k_6[GL][E] \\ \frac{d[A]}{dt} &= -\frac{d[E]}{dt} \end{aligned}$$

Figura 9. Ecuaciones para la velocidad de reacción del proceso de transesterificación. Los corchetes representan las concentraciones molares de los componentes siguientes: $[TG]$: Triacilglicéridos, $[DG]$: Diglicéridos, $[MG]$: Monoglicéridos, $[GL]$: Glicerina, $[A]$: Alcohol, $[E]$: Etiléster, k_1 , k_2 , k_3 , k_3 , k_5 y k_6 : Constantes de la reacción.

La cinética de la reacción de transesterificación se altera por varios factores: tipo de catalizador, relación alcohol:aceite vegetal y la temperatura (Sulaiman, 2007). Cuando en esta reacción se utiliza un catalizador alcalino, se debe utilizar aceite vegetal seco (> 0.2 % de agua) y con un contenido de ácidos grasos libres menor al 0.5%. La presencia de humedad y ácidos grasos libres en el aceite bajo condiciones alcalinas, puede producir saponificación de ésteres produciendo jabón. Estos jabones secuestran las moléculas del catalizador e inhiben la separación del glicerol del biodiésel. Una cantidad excesiva de jabón puede contribuir a la formación de emulsión cuando se lava el biodiésel. Todo esto reduce significativamente la eficiencia en la producción de biodiésel (Schumacher *et al.*, 2004).

1.3.3.2..Variables de la reacción

a) Impurezas. Cuando la transesterificación es catalizada por un álcali, los glicéridos y el alcohol deben de ser anhidros debido a que el agua causa una saponificación parcial produciendo jabón (Alike *et al.*, 2001). Esto consume el catalizador, reduce la eficiencia de la catálisis, incrementa la viscosidad, produce geles y dificulta la separación del glicerol

(Freedman *et al.*, 1984). La concentración de ácidos grasos libres es un factor importante en la reacción cuando el catalizador es una base, ya que se requerirá una cantidad mayor del mismo para neutralizarlos.

b) Tipo de alcohol. La transesterificación es también llamada alcoholísis. Dentro de los alcoholes que se pueden emplear para este tipo de reacción el metanol y el etanol son los más empleados, principalmente por el costo y sus propiedades fisicoquímicas (alcoholes de cadena corta). Éstos pueden reaccionar fácilmente con los triacilglicéridos y con el catalizador empleado. Se ha reportado un rendimiento mayor de éteres de alcohol cuando se ha utilizado metanol para llevar a cabo la transesterificación (Bajpai y Tyagi, 2006).

c) Relación de los reactantes. El efecto de la relación molar entre los reactantes es otro factor importante en el rendimiento de la reacción. Teóricamente, la relación para la reacción de transesterificación requiere 3 moles de alcohol por cada mol de triacilglicéridos para producir 3 moles de ésteres de ácidos grasos y 1 mol de glicerol. En la producción de biodiésel se utiliza un exceso de alcohol para asegurar que los aceites o las grasas sean convertidas completamente a esterés, un relación mayor de alcohol:triacilglicéridos lleva a una conversión mayor de esterés en menor tiempo. Este factor está asociado al tipo de catalizador utilizado. En una catálisis ácida se necesita una relación molar de 30:1 entre el alcohol y el aceite, en tanto que para la catálisis alcalina la relación molar disminuye 6:1 para tener la misma tasa de esterificación. Debido a que la reacción es reversible, es necesario contar con un exceso de alcohol o remover uno de los productos de la mezcla de reacción para favorecer el sentido de la reacción hacia la obtención de producto. Freedman *et al.*, (1984) recomiendan una razón 6:1, para asegurar una máxima conversión de triacilglicéridos a esterés. En el caso del etanol, algunos estudios indican que una razón molar de 9:1 sería la más apropiada (Meher, 2006). Si la cantidad de alcohol no es suficiente, el producto contendrá monoglicéridos y diglicéridos (productos intermedios de la transesterificación), los cuales cristalizan fácilmente en el biodiésel y pueden causar taponamiento de los filtros.

d) Tipo de catalizadores. Pueden ser catalizadores ácidos (H_2SO_4 , HCl , derivados del H_2PO_4), alcalinos (KOH , $NaOH$) o enzimas (lipasas). La catálisis alcalina es mucho más rápida que la

ácida, pero cuando se trata de aceites con un número alto de ácidos grasos libres y contenido de agua, la catálisis ácida es la más indicada (Freedman *et al.*, 1986). La alcoholisis catalizada por lipasas en ausencia de solventes es importante en el campo industrial. En recientes estudios, la lipasa cruda de la levadura *Cryptococcus sp.* mostró una considerable estabilidad en los solventes y la que puede ser utilizada para llevar a cabo la hidrólisis de los aceites vegetales (Kamini y Lefugi, 2001).

e) La temperatura y el tiempo de reacción son otros factores que afectan la reacción de transesterificación. La conversión se incrementa con el tiempo de reacción. Freedman *et al.*, (1984) estudiaron el efecto de la temperatura en la reacción de transesterificación y encontró que al cabo de un minuto se obtiene aproximadamente un 80% de conversión y una hora después se incrementa el rendimiento, alcanzando entre un 93% y un 97%. La transesterificación puede transcurrir a diferentes temperaturas en dependencia del tipo de aceite que se emplee. Generalmente la reacción es conducida a temperatura cercana al punto de ebullición del metanol (60-70°C) y a presión atmosférica. Sin embargo, estas condiciones de reacción requieren que los ácidos grasos libres sean removidos del aceite. El máximo rendimiento de esteres ocurre al llevar la reacción entre 60-80°C, con una relación molar de alcohol-aceite de 6:1. A temperaturas mayores a estas se presentan efectos negativos en la conversión (Bajpai y Tyagi, 2006). Xiangmei *et al.*, (2008) realizaron un estudio a diferentes temperaturas y determinaron las condiciones óptimas de reacción para la transesterificación de aceites utilizados en cocinas. Estas condiciones fueron, temperatura 50° C con una relación molar alcohol-aceite de 9:1, 1.0 % de NaOH como catalizador y un tiempo de reacción de 90 minutos.

f) Efecto de la agitación durante la reacción. Durante la reacción de transesterificación, los reactantes forman inicialmente un sistema líquido de dos fases. Por tanto, una agitación desde el inicio de la reacción es necesaria para que los reactantes de las dos fases puedan reaccionar entre sí.

1.3.3.2. Refinación del glicerol crudo

Aunque el biodiésel es el producto deseado a partir de la reacción, la refinación del glicerol es también importante debido a las numerosas aplicaciones en diferentes productos industriales tales como cremas, jabones cosméticos, medicinas, y otros productos del glicerol.

De acuerdo a lo establecido por Van Gerpen *et al.*, (2004), el glicerol típicamente obtenido es en realidad 50% glicerol y el resto de la composición consiste en agua, sales, alcohol sin reaccionar y catalizador. La separación de la glicerina de los metilésteres puede llevarse a cabo mediante gravedad por decantación, con una centrifuga, o con tecnología coalescente. La glicerina que se obtiene tiene solamente un 50% de pureza conteniendo el exceso de metanol y casi todo el catalizador y jabón. Refinar la glicerina hasta un 99.5% de pureza, no es rentable para los productores de biodiésel. Es más común que se logre un 80% de pureza, el cual es aceptado por las refinadoras de glicerina comercial. Éste incremento en la pureza se lleva a cabo por medio de la acidulación de la glicerina con un ácido fuerte como clorhídrico, sulfúrico o fosfórico, para neutralizar el catalizador y romper las moléculas de jabón. Debido a que los ácidos grasos libres producidos por la división del jabón no son solubles en la glicerina, se pueden retirar y ser utilizados en la producción de biodiésel o en la alimentación animal. El metanol es recuperado de la glicerina por evaporación. El metanol puede contener cantidades significativas de agua que puede ser eliminada por destilación fraccionada. Después de estos pasos, la glicerina tendrá una pureza de 80-90%, en función de los contaminantes en el aceite original.

1.3.3.4. Purificación del biodiésel crudo

Después de la separación de la fase del glicerol, el biodiésel crudo puede estar contaminado principalmente con catalizador residual, agua, alcohol que no reaccionó, glicerol libre y jabón que ha sido generado durante la reacción de transesterificación.

Normalmente, el biodiésel crudo pasa por un paso de neutralización, después se elimina el alcohol residual, por último se lava el biodiésel con agua. (Dennis *et al.*, 2010)

Debido a que tanto el glicerol como el alcohol son altamente solubles en agua, el lavado con agua es eficiente para remover ambos contaminantes. Éste paso también puede remover cualquier residuo de sales de sodio o jabones presentes en el biodiésel. Es necesario contar con agua destilada caliente o agua blanda (ligeramente ácida) (Chen *et al.*, 2007; Demirbas & Kara, 2006). El agua caliente previene la precipitación de los esteres de ácidos grasos saturados y retarda la formación de emulsiones al emplear un lavado suave. El agua blanda (ligeramente ácida) elimina la contaminación por calcio o magnesio y neutraliza cualquier remanente del catalizador.

Después de algunos lavados (tres veces aproximadamente), la fase acuosa se torna clara, indicando que los contaminantes han sido removidos por completo. En seguida, las fases de biodiésel y agua son separadas por medio de un embudo funnel o por centrifugación. El agua remanente puede ser eliminada del biodiésel añadiendo Na_2SO_4 (25 wt% de la cantidad de biodiésel) por toda una noche y después separar por filtración o decantación.

1.3.3.5. Almacenamiento del biodiésel

El biodiésel es un biocombustibles que se puede almacenar de manera segura y las propiedades del biodiésel deberán cumplir con los estándares de calidad aun después de haber sido almacenado por un periodo largo. Existen algunos factores claves que necesitan ser considerados para el almacenamiento del biodiésel, incluyendo la exposición a temperatura, su estabilidad oxidativa, su solvencia de combustible y la compatibilidad con materiales (Leung *et al.*, 2006).

Lee *et al.*, (1995) establecieron que la temperatura de almacenamiento debería de ser controlada para evitar la formación de cristales los cuales podrían tapar las líneas y los filtros del combustible. Por lo tanto, la temperatura de almacenamiento ideal es entre 7 y 10°C.

Se ha visto que la estabilidad oxidativa es una propiedad importante cuando se trata de tiempos de almacenamiento prolongados. Una estabilidad baja incrementa el valor de acidez y la viscosidad del combustible y la formación de gomas y sedimentos. Por lo tanto, si la

duración del almacenamiento del biodiésel o las mezclas de biodiésel es por más de 6 meses, deberán ser adicionados antioxidantes (Van Gerpen *et al.*, 2004). Los tanques para el almacenamiento del biodiésel deben de ser de aluminio, acero, o recubiertos con teflón o polietileno. Los tanques deben minimizar las posibilidades de que el biocombustible se contamine con agua y deben limpiarse y secarse antes de realizar el almacenamiento.

1.3.3.6. Número de cetano

Este parámetro es una medida de la calidad de la combustión durante la ignición. Determina la calidad del combustible diesel; es proporcional al retardo de la ignición (ID) en los motores de combustión interna. Combustibles con un bajo NC tienden a causar golpeteo en el motor y muestran un incremento en las partículas de las emisiones de escape y gases emitidos, debido a una combustión incompleta (Mittelbach y Remschmidt, 2004). En general, el biodiésel presenta un NC más alto que el combustible fósil, lo cual es considerada una ventaja en términos de desempeño del motor y en las emisiones presentadas, permitiendo que el trabajo de los motores de biodiésel sea más suave y con menos ruido (Knothe *et al.*, 2003).

El biodiésel producido a partir de la reacción de transesterificación exhibe mejores propiedades como combustible al ser comparado con el aceite de su procedencia debido a que la transesterificación reduce la masa molecular de los aceites vegetales, lo cual incrementa la volatilidad y reduce su viscosidad. La viscosidad influye en el retraso de ignición; por tanto una mejoría en la volatilidad y viscosidad explica la mejoría del número de cetano del biodiésel en comparación con el del aceite vegetal (Pinto *et al.*, 2005).

Tiempos largos o retraso de la ignición y un bajo NC, han sido asociados para los metilésteres de ácidos grasos con contenido alto de ésteres de ácidos grasos insaturados como linoléico (C18:2) y linolénico (C18:3). Valores altos de NC se han observado en los ésteres de ácidos grasos saturados, como palmítico (C16:0) y esteárico (C18:0). Klopfenstein (1985) determinó el número de cetano para varios ésteres de ácidos grasos y encontró que éste se incrementa en una relación no lineal a medida que incrementa la longitud de la cadena de los ácidos grasos.

1.3.4. Estabilidad Oxidativa del Biodiésel

La estabilidad oxidativa del biodiésel depende de varios factores, principalmente de la composición de los metilésteres, la adición de antioxidantes y la presencia de oxígeno (Wagner y Elmadfa, 2000; McCormick *et al.*, 2007). Una estabilidad oxidativa alta de los biodiésels conlleva a la presencia de antioxidantes, los cuales son secuestradores de radicales libres (Abuzaytoun y Shahidi, 2006; Tang *et al.*, 2008).

En el biodiésel, los procesos oxidativos conllevan a un incremento en la viscosidad como resultado de las reacciones de condensación que involucran a las dobles ligaduras, también lleva a la formación de gomas que potencialmente pueden obstruir el sistema de filtros de un motor. El incremento en la acidez y en el valor de peróxidos como resultado de las reacciones de oxidación también pueden causar la corrosión de los componentes del sistema de combustible, el endurecimiento de los componentes de caucho y la fusión de los componentes en movimiento (Monyem *et al.*, 2001).

Durante el proceso de oxidación, los metilésteres de ácidos grasos forman un radical al lado de la doble ligadura. Este radical rápidamente se une con el oxígeno del aire, el cual es un biradical, formándose un radical peróxido. El radical peróxido rápidamente forma un nuevo radical en otros metilésteres que se unirá al oxígeno del aire. Es así como inicia el ciclo destructivo de auto-oxidación por radicales libres. Durante el proceso, más de 100 radicales son creados a partir de un solo radical libre, llevando a que la descomposición ocurra a un grado exponencial causando la formación de subproductos (Hui, 1996). El combustible se deteriora debido a que existe la formación de sedimentos y gomas. La formación de peróxidos a través de esta vía lleva a la oligomerización incluso a temperatura ambiente.

El biodiésel se produce principalmente a partir de aceites vegetales los cuales contienen antioxidantes como tocoferoles, esteroides y tocotrienoles. Sin embargo, estos son inactivados durante el proceso de producción del biodiésel (Sharma, 2008).

La ASTM D6751-07 (2007) tienen como un estándar de estabilidad oxidativa un período de inducción (IP) de 3 horas como mínimo, utilizando el método de Rancimat (EN14112). El CEN (European Committee for Standardization) adoptó un IP mínimo de 6 horas (EN 14112, 2003) (Tabla 1).

Los factores que influyen en la estabilidad oxidativa del biodiésel incluyen, además de los ya mencionado (composición de ácidos grasos) es el contenido de antioxidantes naturales, el nivel total de glicerina, las condiciones de almacenamiento del combustible tales como temperatura, exposición a la luz, al aire y el material de construcción del tanque de almacenamiento (McCormick *et al.*, 2005; Schober *et al.*, 2004). Estudios previos han demostrado que la estabilidad del biodiésel puede mejorar añadiéndosele antioxidantes naturales o sintéticos (Waynick, 2005; Sendzikiene *et al.*, 2005). Sin embargo, los efectos no han sido claramente demostrados y los resultados siguen siendo inconclusos o conflictivos de interpretar o establecer una relación lógica.

1.3.5. Mercado de biodiésel

El diesel utilizado mundialmente se estima en los 1.12 mil millones de toneladas (330 mil millones de galones) por año. Los Estados Unidos utilizan un 18% de esa suma, esto equivale a unos 205 millones de toneladas (60 mil millones de galones) (USEAIA, 2004). Debido a que los motores diesel son más eficientes que los motores de gasolina (45% contra 30%), existe la posibilidad de que el uso de motores diesel en vehículos aumente, por lo tanto se incrementará la demanda de combustible diesel (Doe, 2003).

El sector del transporte consume un 30% de toda la energía utilizada en el mundo. Esta cifra se eleva en la Unión Europea al 32% y en España al 39%. Actualmente se consumen diariamente 83,7 millones de barriles de petróleo en todo el mundo y las estimaciones indican que esta cifra aumentará hasta llegar a los 112 millones de barriles diarios en 2020. Cada año se utiliza una cantidad de petróleo cuatro veces superior a la que se descubre. Además la extracción de petróleo es cada vez más difícil y más caro. El suministro futuro depende de nuevos yacimientos, siempre de pequeño tamaño, y de la mejora en las tecnologías de

extracción de los grandes pozos ya existentes, en su mayoría descubiertos en la década de los 70. En base a esta información las previsiones más optimistas son las del Departamento de Energía de los EE.UU., que pone fecha al declive de la industria petrolera para el 2037. Sin embargo, este cálculo se hace en base a la demanda actual, sin tener en cuenta que esta crece día a día.

Los biocombustibles constituyen, por lo tanto, una salida poco traumática para resolver la escasez de crudo, ya que son capaces de sustituirlo sin necesidad de realizar cambios significativos en el parque móvil mundial. El biodiésel es el biocombustible de mayor implantación en Europa, con un porcentaje cercano al 80% del total de la producción, según EurObserv'ER.

Normativa comunitaria

En el marco del protocolo de Kyoto y a raíz de la creciente preocupación de algunos países por reducir sus emisiones de CO₂ y los otros cinco gases de invernadero, existe un proceso de elaboración de nuevas legislaciones en materia de producción energética en los países que han ratificado el protocolo.

A principios de este año, los jefes de Estado y de Gobierno de la Unión Europea dieron su respaldo a un conjunto de medidas propuestas por la Comisión Europea para frenar el cambio climático y reducir la dependencia energética de Europa, entre las que se destaca el lograr una cuota mínima de un 10% de biocombustibles (obtenidos de biomasa o de materias agrícolas) en el consumo total de gasolina y gasóleo de transporte para el 2020.

Reportes recientes indican que los Estados Unidos de América exportaron a la Unión Europea (UE) 1.5 millones de MT (toneladas métricas) de biodiésel en el 2008, pero menos de 400,000 MT en 2009. En tanto la venta de Canadá a la UE se incrementó de 1,700 MT en 2008 a 140,000 MT en el 2009.

En la actualidad, muchos países y compañías están invirtiendo en cultivar miles de hectáreas de *Jatropha curcas* para poder ir disminuyendo el consumo de combustibles fósiles necesarios. El ferrocarril Central de la India ha plantado más de 750,000 plantas de *Jatropha curcas* las divisiones de Mumbai, Pune y Nagpur con la idea de que sea el biocombustible que obtengan de estas plantas, su fuente de energía para los trenes en un futuro.

1.3.5.1. Biocombustibles en México

Para México el desarrollo de los biocombustibles es un reto de política pública innovadora para la atención de las necesidades concretas de la sociedad actual. Esta política se enmarca dentro de la estrategia 15.14 del Plan Nacional de Desarrollo 2007-2012, “Sobre el fomento y el aprovechamiento de fuentes renovables de energía y biocombustibles”. Tiene también su fundamento en el objetivo 3 del Programa Sectorial de Desarrollo Agropecuario y Pesquero de la SAGARPA 2007- 2012, que establece “mejorar los ingresos de los productores incrementando nuestra presencia en los mercados globales, vinculándolos con los procesos de agregación de valor y la producción de bioenergéticos”. Y el objetivo III.2 del Programa Sectorial de Energía de la SENER, “fomentar el aprovechamiento de fuentes renovables de energía y biocombustibles técnica económica, ambiental y socialmente viables”

La Ley de Promoción y Desarrollo de los Bioenergéticos publicada el pasado 1 de febrero 2010, en el Diario Oficial de la Federación, tiene por objeto, como su nombre lo indica la promoción y desarrollo de los bioenergéticos con el fin de coadyuvar a la diversificación energética y el desarrollo sustentable como condiciones que permitan garantizar el apoyo al campo mexicano.

El desarrollo de la industria de biocombustibles busca fomentar la seguridad energética al diversificar las fuentes de energía, sin poner en riesgo la seguridad alimentaria del país.

Uno de los retos para llevar a cabo estas normativas es aprovechar el potencial productivo de diversos cultivos para generar la biomasa suficiente que permita cubrir la

demanda establecida en los programas de producción sustentable de insumos e introducción de bioenergéticos en México.

Algunos países de la Unión Europea y Asia buscan impulsar el desarrollo del biodiésel, mientras que otros países están analizando la participación que los biocombustibles deberán tener en sus sistemas de energía en el futuro. Durante la década pasada, la producción de biodiésel se concentró en países europeos, con un marcado liderazgo por parte de Alemania. En años recientes la mayor capacidad de producción se ha incorporado en Estados Unidos, Brasil, Canadá, Australia y el sur de Asia.

Los países líderes en la producción de biodiésel durante 2008 fueron Alemania con 2.2 mil millones de litros, Estados Unidos de América con 2.0 mil millones de litros, Francia con 1.6 mil millones de litros, Argentina y Brasil con 1.2 mil millones de litros y Tailandia con 0.4 mil millones de litros.

JUSTIFICACIÓN

En el presente trabajo se pretende hacer un uso integral de las semillas de las especies de *Jatropha* nativas de las regiones áridas y semi-áridas del noroeste de México (*Jatropha cordata* y *Jatropha cardiophylla*) al obtener por un lado la proteína de la pasta residual después de la extracción del aceite, el aceite para la producción de biodiésel, y por otro lado, los compuestos fenólicos presentes en la pasta residual, que actúen como antioxidantes, proporcionándole estabilidad oxidativa al biodiésel producido.

El uso de biocombustibles en el mundo es una necesidad creciente debido al declive en las reservas de los combustibles fósiles y las altas en los precios de estos. El mundo busca vivir de una manera más sustentable por lo que muchas alternativas amigables con el ambiente han sido exploradas, entre ellas está la producción de biodiésel a partir de aceites vegetales. Este combustible de nueva generación ha sido ideado para sustituir los combustibles tradicionales,

nocivos para el medio ambiente, con las ventajas de ser biodegradables, ecológicos y renovables.

Las especies del genero *Jatropha* han mostrado potencial para producir biodiésel de buena calidad. Sonora cuenta con especies de este género que al ser estudiadas permiten establecer posibles alternativas ecológicas en el ámbito de los biocombustibles.

El biodiésel al provenir de aceites vegetales, tiende a la oxidación al estar expuesto a la luz, oxígeno y a temperatura. Por tal razón, el uso de antioxidantes se vuelve indispensable. Por otro lado, las pastas de JC y JCp son una buena fuente de compuestos fenólicos, los cuales en un principio se consideraron como antinutrientes, sin embargo actualmente son considerados compuestos con actividad antioxidante, los cuales al ser añadidos al biodiésel obtenido de los aceites de JC y JCp pueden mejorar la estabilidad oxidativa.

Por otra parte, el estudio del contenido de proteína de la pasta residual de las semillas de JC y JCp es de suma importancia por lo que eso representa en el ámbito ganadero, al poder ser inducida en el alimento al sector animal.

PLANTEAMIENTO DE LA PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

En base a antecedentes ya mencionados y a los objetivos de la investigación se plantea la siguiente pregunta de investigación:

¿Las semillas de las especies de *Jatropha* nativas de las regiones áridas y semi-áridas del noroeste de México, son una fuente de proteína, compuestos fenólicos y aceite para la producción de biodiésel?

II. HIPOTESIS

Las semillas de *Jatropha cordata* y *Jatropha cardiophylla* son plantas adaptadas a las condiciones de las zonas áridas y semiáridas (precipitaciones pluviales menor a 500 mm y temperaturas de 8°C a 45°C). Además, son una fuente importante de proteína, compuestos fenólicos y aceites con potencial para la producción de biodiésel. Esto permitirá un uso integral

y un balance energético positivo de estas plantas, al proponer utilizar las pastas de las semillas como alimento para animales y fuente de fitoquímicos y el aceite para la producción de biodiésel.

III. OBJETIVOS

3.1. Objetivo General

Evaluar las semillas de *Jatropha cordata* y *Jatropha cardiophylla*, como fuentes de proteína, compuestos fenólicos y aceite para la obtención de biodiésel.

3.2. Objetivos Específicos

1. Caracterizar fisicoquímicamente las pastas de las semillas de *Jatropha cordata* y *Jatropha cardiophylla*.
2. Evaluar la actividad antioxidante de los extractos fenólicos de las pastas de las semillas de *Jatropha cordata* y *Jatropha cardiophylla* en biodiésel de soya.
3. Probar la toxicidad de los forbol esteres presentes en las pastas de las semillas *Jatropha cordata* y *Jatropha cardiophylla*.
4. Caracterizar fisicoquímicamente los aceites de las semillas de *Jatropha cordata* y *Jatropha cardiophylla*.
5. Obtener biodiésel a partir de los aceites de *Jatropha cordata* y *Jatropha cardiophylla*.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Materia Prima

Se realizaron colectas en diferentes regiones de Sonora, México: en el Municipio de Hermosillo (LN 28° 58' 47.87", LO 110° 56' 36.25") y (LO 28° 59' 14.53", LO 110° 56' 56.08") para JC y en la carretera Hermosillo-Ures (LO 28° 58' 47.87", LO 110° 56' 36.25"W) para JCp, durante los meses de septiembre y octubre del 2009 y 2010 para la obtención de las semillas de *Jatropha cordata* y *Jatropha cardiophylla*. Las semillas fueron limpiadas a mano y se almacenaron a temperatura ambiente (25 °C) para futuros análisis.

4.1.1 Características Físicas de las semillas de *Jatropha cordata* y *Jatropha cardiophylla*

El peso, largo y ancho de las semillas se estimó tomando un promedio de 30 semillas de JC y JCp tomadas al azar.

4.2 Obtención de Pasta y Aceite de las Semillas de *Jatropha cordata* y *Jatropha cardiophylla*

Las semillas de JC y JCp fueron expuestas al sol por 12 horas, para ser secadas. Posteriormente se molieron en una licuadora (Osterizer, Modelo 4122, México) y se desgrasaron en un extractor tipo Soxhlet, usando hexano (p.e. 40-60°C) en una relación pasta: solvente 1:6, por 16 horas siguiendo el método (AOAC, 930.09). El hexano remanente en el aceite fue removido utilizando un rotavapor (Labconco) a 40°C. El aceite fue sometido a un reflujo con nitrógeno y almacenado a -20 °C hasta ser analizado fisicoquímicamente. Las pastas residuales de JC y JCp remanente de la extracción del aceite fueron secadas a 105°C por una hora y almacenadas a -20°C hasta sus posteriores análisis.

4.3. Análisis Proximal y Determinación del Perfil de Aminoácidos de las Pastas Residuales de las Semillas de *Jatropha cordata* y *Jatropha cardiophylla*

A la pasta desgrasada se le determinó en base a las técnicas de la AOAC (2000) los parámetros de: humedad (930.04), cenizas (930.05), proteína cruda (978.04), determinación de grasa (930.09) y fibra (930.10). El contenido de nitrógeno orgánico fue cuantificado por el método de Kjeldahl, y un estimado de la proteína cruda fue calculado multiplicando el contenido de nitrógeno orgánico por el factor 6.25. Las dos muestras de pastas de JC y JCp fueron analizadas por duplicado.

La composición de aminoácidos de JC y JCp fue determinada utilizando un analizador de aminoácidos automatizado después de la hidrólisis de las muestra con HCl 6M a 110°C por 24 horas (Bassler y Buchholz, 1993). El contenido de aminoácidos sulfúricos fueron oxidados utilizando ácido perfórmico antes de la hidrólisis.

4.4. Determinación de Antinutrientes y Tóxicos en las Pastas de *Jatropha cordata* y *Jatropha cardiophylla*

4.4.1. Determinación del inhibidor de tripsina

La actividad del inhibidor de tripsina fue determinada de acuerdo a Smith et al., (1980), con algunas modificaciones, la enzima se añadió a lo último en el proceso (Liu y Markakis, 1989). Alrededor de 0.25 g de muestra desgrasada fue sometida a Ultra-turraxed por 30 seg en 12.5 mL de NaOH 0.01M. El pH de la mezcla fue ajustado a un rango de 9.4-9.6 con NaOH 1M o HCl 1M y se centrifugó a una velocidad de 3000 x g por 15 min. Se tomó el sobrenadante para realizar el ensayo utilizando benzoil-DL-arginina-p-nitroanilida (BADPA) como sustrato.

4.4.2. Determinación del contenido de fitatos

Por otro lado, el contenido de fitatos de las muestras se determinó por el método espectrofotométrico descrito por Vaintraub y Lapteva (1988). Los resultados fueron expresados

como g/100 g ácido fítico, usando el estándar de ácido fítico (sal sódica; Sigma, St.Louis, MO, USA).

4.4.3. Determinación del contenido de saponinas

El valor de saponinas totales fue determinado utilizando el método espectrofotométrico descrito por Hiai *et al.*, (1976). La concentración de saponinas fue calculada en base a una curva de calibración, empleando diferentes concentraciones de diosgenina en medio metanol agua (20:80 v:v), y fue expresado como equivalentes de diosgenina.

4.4.4. Determinación de los Ésteres de Forbol en Pastas y Aceites de *Jatropha cordata* y *Jatropha cardiophylla*

La extracción de los ésteres de forbol se realizó cuatro veces con metanol tomando 0.5 g de muestra. Una alícuota adecuada fue analizada por cromatografía de alta resolución (HPLC) en fase reversa con una columna C18 LiChrospher 100 (250 x 4 mm i.d., 5 µm) from Merck (Darmstadt, Alemania). La separación fue realizada a temperatura ambiente (23°C) y la velocidad de flujo fue de 1.3 cm³ min⁻¹, utilizando un gradiente de elución (Makkar *et al.*, 2007). Los ésteres de forbol fueron detectados a 280 nm y aparecieron entre los 25.5 y 30.5 min. El PMA (forbol-12-meristato-13-acetato) fue utilizado como estándar externo, el cual aparece entre los 31 y 32 min. La cuantificación fue considerando el área de los picos y convertida a equivalentes de PMA. Los esteres de forbol (PEs) fueron determinados por duplicado.

4.4.4.1. Bioensayo de la Toxicidad de Ésteres de Forbol en Caracoles

Los caracoles (*Physa fontinalis*) son altamente susceptibles a los ésteres de forbol. El bioensayo se llevó a cabo de acuerdo al método descrito por Devappa *et al.*, (2009). Todas las pruebas se llevaron a cabo utilizando agua destilada a temperatura ambiente (23°C). La solución de los extractos fue preparada en metanol y posteriormente diluida en agua 50:50 v/v.

Grupos de 10 caracoles se colocaron en contenedores de vidrio con 400 mL de agua y la sustancia de prueba (extracto metanólico diluido en agua). Para prevenir que los caracoles se salieran de los contenedores se colocó una malla de acero inoxidable suspendida justo por encima de la superficie del agua. Después de 24 h de incubación los caracoles fueron retirados y colocados en agua destilada por 48 h. La muerte de los caracoles fue determinada por la ausencia de movimiento y la falta de reacción con una aguja. Se llevaron a cabo pruebas control con la misma cantidad de metanol en agua sin presentarse mortalidad alguna de los caracoles. Todas las pruebas fueron repetidas por triplicado. La toxicidad se expresa como LC100, referida como la concentración que causa la muerte al 100% de los caracoles.

4.5. Extracciones y Determinaciones Analíticas de Compuestos Fenólicos

4.5.1. Extracción

Se agregó a 1 g de muestra 10 mL de metanol al 70% (70:30 v/v). Posteriormente la mezcla se sonicó (Sonic 1510 R-DTH, Branson Ultrasonics Corporation, CT, USA) por 30 minutos y posteriormente se centrifugó bajo las siguientes condiciones: 10000 x g por 15 min a 4°C (IEC L31 Thermo electron). Se filtró el sobrenadante y se repitió la extracción. El extracto fue almacenado a -20° C (Chitindingu *et al.*, 2006; Tanaka *et al.*, 2009; Helmja *et al.*, 2007).

4.5.2. Fenoles totales

La determinación de fenoles totales se realizó por el método de Folin-Ciocalteu. (Howard *et al.*, 2000). Los fenoles totales se expresaron como mg de ácido tánico por 100 g de muestra. En la Figura 10, se presenta el diagrama de flujo de la determinación.

4.5.3. Flavonoides totales

La determinación se realizó utilizando un método colorimétrico, según Helmja *et al.* (2007). Se utilizó quercetina como estándar y se expresó como mg de quercetina por 100 g de muestra fresca. El diagrama de flujo se presenta en la Figura 11.

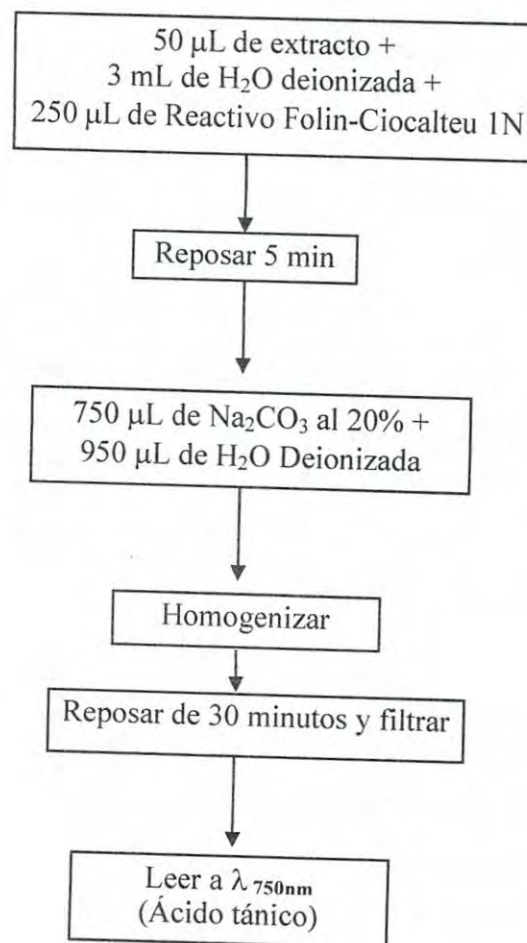


Figura 10. Determinación de fenoles totales.

4.5.4. Identificación y cuantificación de los compuestos fenólicos por HPLC

La cuantificación e identificación de compuestos fenólicos se realizó de acuerdo a Cantos *et al.*, 2000. Se empleó un cromatógrafo HPLC, equipado con una columna Supercosil™ LC18 (30 x 0.4 cm x 5µm, Supelco, Bellafonte, PA) y detector UV-VIS Varian 9050. La fase móvil fue ácido fórmico al 5% y metanol al 100% a un flujo de 1.5 mL/min. Se trabajó con diferentes estándares: ácido gálico, catequina, epicatequina, ácido clorogénico, resveratrol, rutina, y luteolina, ácido caféico, ácido ferúlico, ácido sinápico, ácido p-cumárico, ácido gálico y miricetina.

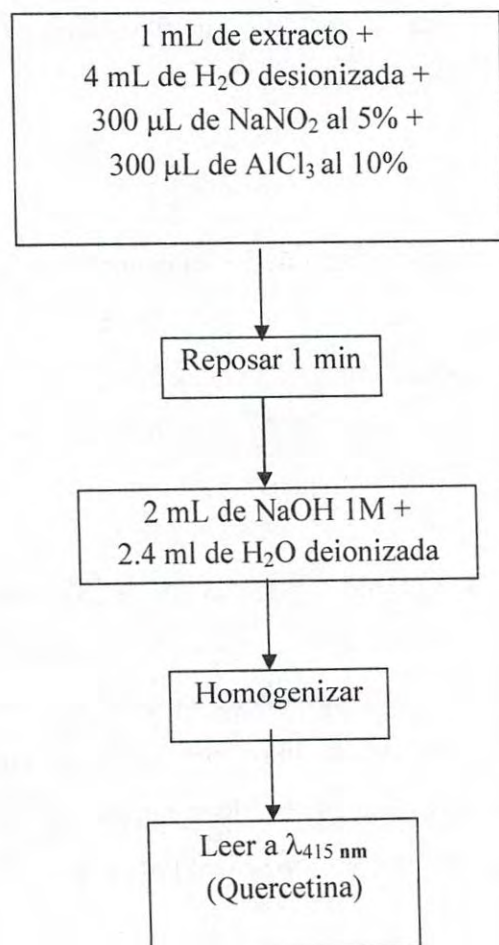


Figura 11. Determinación de flavonoides totales.

Para la cuantificación se elaboraron curvas de calibración para cada uno de los compuestos fenólicos identificados. El ácido gálico, el ácido caféico, la catequina y epicatequina fueron cuantificados a 280 nm (longitud de onda a la cual presentan su absorbancia máxima), el resveratrol y el ácido clorogénico a 320 nm y la quercetina-3-rutinosido conocida como rutina y la luteolina a 360 nm (García-Alonso y col., 2003). Los compuestos fenólicos de los extractos metanólicos fueron analizados por triplicado.

T-160182

4.5.5. Evaluación de Actividad Antioxidante de los Extractos fenólicos de la Pasta de *Jatropha cordata* y *Jatropha cardiophylla*

4.5.5.1 Métodos Químicos

Se evaluó la actividad antioxidante de los cada uno de los extractos utilizando el catión radical ácido 2,2 azino bis (3-etilbenzo tiazolin-6 sulfónico) (ABTS \bullet +) según Mollyneux (2004) y Materska y Perucka (2005) y el radical 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH \bullet) de acuerdo a Pellegrini *et al.*, (2003) y Kuskosi *et al.*, (2005). En las Figuras 12 y 13 se presentan los diagramas de flujo de ambas metodologías.

El método de TEAC se basa en la reducción de la coloración verde/azul producida por la reacción del ABTS con el antioxidante presente en la muestra. El radical 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH \bullet) se reduce en presencia de antioxidantes manifestándose un cambio de color en la solución. Él es un radical libre que puede obtenerse directamente sin una preparación previa, mientras que el ABTS \bullet + tiene que ser generado tras una reacción que puede ser química (dióxido de manganeso, persulfato potasio).

Con el ABTS \bullet + se puede medir la actividad de compuestos de naturaleza hidrofílica y lipofílica, mientras que el DPPH \bullet solo puede disolverse en medio orgánico (Kuskosi *et al.*, 2005; Gorinstein *et al.*, 2009).

4.5.5.2. Método Rancimat

La estabilidad oxidativa de las muestras fue determinada utilizando un equipo Rancimat (model 679; Metrohm, Ltd., Herisau, Switzerland) mediante el método EN 14112. La prueba consiste en que una corriente de aire seco con una flujo de 20 L/h se hace burbujear en 3 g de muestra (biodiésel de aceite de soya) a una temperatura constante de 110°C, los productos volátiles formador por la oxidación de la muestra se llevan a través de la cámara del detector que contienen agua desionizada. El cambio en la conductividad del agua es medido y registrado

cada 36 s (0.01h) el aumento en la conductividad es medido como una función del tiempo hasta el cambio máximo el cual refleja el IP (punto de inflexión) de la muestra.

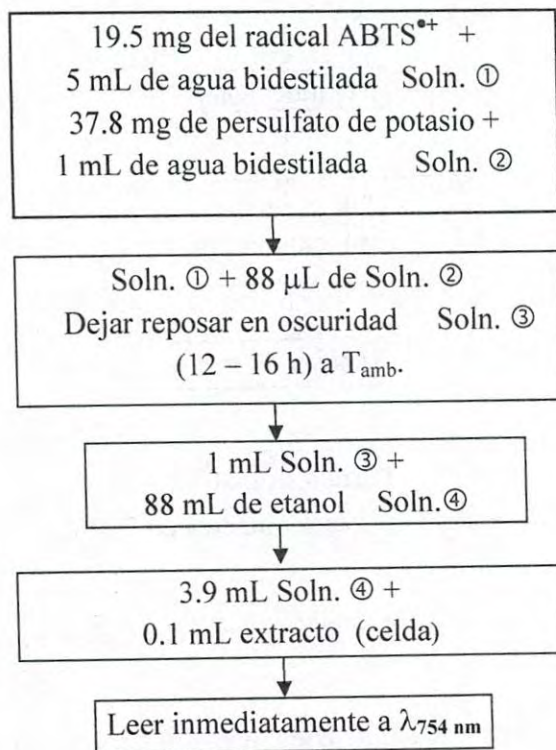


Figura 12. Determinación de la actividad antioxidante con ABTS

Durante la prueba se evaluó la estabilidad oxidativa que le brindan al biodiésel tanto antioxidantes sintéticos como naturales. Los antioxidantes sintéticos fueron TBHQ y BHA en concentraciones de 250 ppm, 500 ppm y 1000 ppm. Las mismas concentraciones fueron evaluadas para los extractos fenólicos obtenidos de las pastas de de JC y JCp.

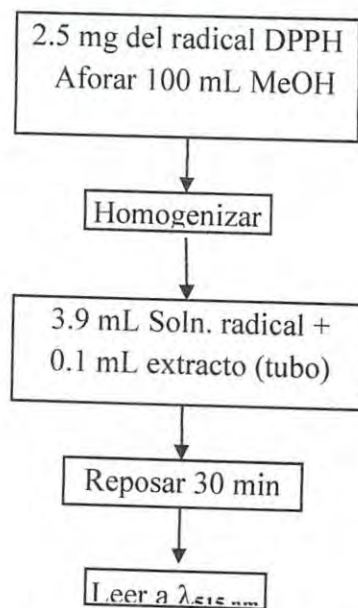


Figura 13. Determinación de la actividad antioxidante con DPPH.

4.6. Determinación de la Calidad del Aceite de *Jatropha cordata* y *Jatropha cardiophylla*

4.6.1. Caracterización de las propiedades fisicoquímicas del aceite extraído de las semillas de *Jatropha cordata* y *Jatropha cardiophylla*

A los aceites obtenidos se les determinó el contenido de humedad (Ca 2d-25), color (Cc 13e-92), ácidos grasos libres (AGL) (Ca 5a-40), valor de peróxidos (VP) (Cd 8-53) y valor de p-anisidina (VA) (Cd 19-90) de acuerdo a los métodos oficiales de la AOCS (2009).

4.6.2. Perfil de ácidos grasos

Las muestras de aceite fueron saponificadas y metiladas de acuerdo al procedimiento de la AOCS (Ce 2-66), para la determinación del perfil de ácidos grasos. Los ésteres metílicos de los ácidos grasos (FAME) se analizaron en un cromatógrafo (modelo Varían 3400), el cual cuenta con una detector de ionización de flama (FID) y una columna capilar de sílica SP-2560 (100 m x 0.25 mm i.d. 25µm de grosor de película, Supelco, Bellefonte, PA). Se utilizó

nitrógeno como gas acarreador con un flujo de 20 cm/s., una temperatura isotérmica para la columna de 180°C. La temperatura del inyector y detector fue de 250 °C. Para la cuantificación de cada uno de los picos se realizó utilizando la estación de trabajo Varian Star ver. 6.0. La identificación de los picos de los FAME se llevó a cabo por comparación con los tiempos de retención de sus respectivos estándares (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO). La cuantificación se realizó utilizando el C17:0 como estándar interno. Los resultados fueron la media de dos replicas.

4.6.3. Cuantificación de carotenoides

La cuantificación e identificación de carotenoides se realizó mediante HPLC de acuerdo a Mínguez-Mosquera y Hornero-Méndez, 1993. Se utilizó una columna SupercosilTM LC18 (30 x 0.4 cm x 5µm, Supelco, Bellafonte, PA) con detector UV-VIS Varian 9050. La determinación espectrofotométrica se realizó a 450 nm. La fase móvil consistió en acetona y agua a un flujo de 1.5 mL/min. Los estándares utilizados fueron β-caroteno, luteína, zeaxantina, violaxantina, capsorubina, capsantina, criptoxantina, anteraxantina y β-criptoxantina. También se cuantificó a la clorofila *a* y clorofila *b*.

4.6.4. Cuantificación de tocoferoles

La cuantificación e identificación de tocoferoles se realizó por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) de acuerdo al método Ce 8-89 (AOCS, 2009). Dos gramos del aceite se disolvieron en 25 mL de hexano. Las muestras (100 µL) se inyectaron directamente en un cromatógrafo Varian 9050 (Varian México) equipado con un detector ultravioleta (Varian 3400). Se utilizó una columna Lichrosorb Si60, (25x 4mm x 5µm, Supelco, Bellafonte, PA) a temperatura ambiente. La fase móvil fue hexano-isopropanol (99.5:0.5 v/v) a una velocidad de flujo de 1.7 mL/min. Los tocoferoles fueron medidos a una longitud de onda de 292 nm. Los picos de los cromatogramas fueron identificados por comparación con los tiempos de retención de los estándares α-tocoferol, γ-tocoferol y δ-tocoferol (Supelco-Sigma, Aldrich Química, México).

4.7. Reacción de Transesterificación de los Aceites de *Jatropha cordata* y *Jatropha cardiophylla*

Esta reacción se desarrolló en un reactor de tres bocas a nivel laboratorio con una capacidad de 500 mL. Este reactor está conectado a un condensador de reflujo, con agitador magnético y con chaqueta de calentamiento para control de temperatura. En el reactor se colocaron 100 g del aceite, una cantidad adecuada de metanol de 30 g, e hidróxido de sodio de 1 g como catalizador. Cuando se inició la reacción se mantuvo una agitación constante de 300 rpm a una temperatura de 70 °C por 1 h. Después se analizó la calidad de los metilésteres obtenidos (biodiésel).

4.7.1. Lavado con agua destilada del biodiésel

Para el análisis de cromatografía de gases el biodiésel crudo se lavó con agua destilada en una proporción 1:1. El proceso se llevó a 125 rpm por 10 min., después las fases de agua y ésteres fueron introducidas a un embudo de separación para obtener la fase de los metilésteres, tal como lo recomienda He *et al.*, (2006).

4.7.2. Análisis de los metilésteres del biodiésel

A los productos de la reacción de transesterificación se les determinó, por cromatografía de gases (AOCS, Ce 8-89), el contenido de metilésteres.

4.7.3. Número de Cetano (CN)

El número de cetano es un indicador de calidad de ignición y por tanto de calidad de los combustibles en el ámbito de los motores diesel. Este es conceptualmente similar a utilizar el índice de octano en la gasolina. La determinación del número de cetano se realizó a partir del perfil de ácidos grasos de los aceites de JC y JCp utilizándose la ecuación propuesta por Bamgboye (2008). Éste parámetro brinda una medida de la calidad de la combustión del combustible. Combustibles con bajo CN tienden a causar golpeteo y a aumentar las emisiones

de gases al momento de la combustión debido a que ésta no se lleva a cabo de manera completa. El grado de insaturaciones de un ácido graso es el causante de un bajo CN, en cambio un ácido graso saturado de cadena larga proporcionará un mayor CN (Pinzi *et al.*, 2009).

4.8. Análisis Estadístico

Los datos fueron analizados por ANOVA utilizando Sigma Stat-Statistical Software versión 2.0 (Jandel Scientific, Sausalito, CA, USA). Las diferencias significativas entre las medias de los resultados fueron en base a la prueba de Tukey ($p < 0.05$). Los valores fueron expresados como las medias \pm la desviación estándar.

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Recolección e Identificación de las Semillas de *Jatropha cordata* y *Jatropha cardiophylla*

En las colectas de las semillas de *Jatropha cordata* y *Jatropha cardiophylla*, las plantas mostraron una baja producción de frutos, posiblemente esto se debió a las lluvias, durante el año 2009, las cuales no fueron consecutivas y por lo tanto se pudo haber originado una alteración en la ecofisiología. En la Figura 14 se muestra las localizaciones de estas especies tanto en México como en Estado Unidos de América.

Las plantas se encontraron en asociación simpátrica en ambos sitios de colecta, sin embargo, durante las colectas se observó algunas preferencias de crecimiento. Con respecto a *Jatropha cordata*, esta crece sobre laderas y/o pendientes, mostrando una menor abundancia sobre planicies, contrariamente a lo observado con *Jatropha cardiophylla*, que prefiere los terrenos planos. La planta de *Jatropha cordata* se desarrolla en suelos más pedregosos con respecto a *Jatropha cardiophylla*. Cabe destacar que en los muestreos realizados se observó mayor abundancia de frutos en *Jatropha cordata* en arroyos y cañadas.

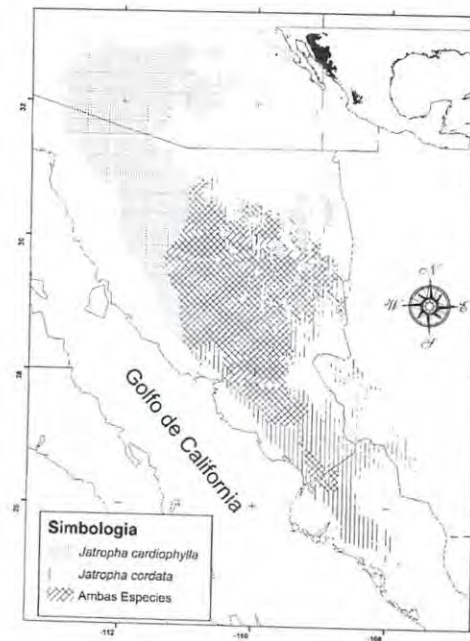


Figura 14. Localización de *J. cordata* y *J. cardiophylla*

5.2. Características Físicas de las Semillas de *Jatropha cordata* y *Jatropha cardiophylla*

El promedio de peso de las semillas fue de 0.38 y 0.46 g para JC y JCp, respectivamente. Liberalino *et al.*, (1998) reportaron un peso de 0.75 g para *Jatropha curcas*. Martínez-Herrera *et al.*, (2010) reportaron promedios de peso \geq mayores a 0.60 g para *Jatropha curcas* provenientes de diferentes regiones de México. En tanto, Makkar *et al.*, (1997) reportaron un intervalo de pesos de 0.53 a 0.83 g para la misma especie.

La relación de almendra:cáscara fue de 46.6:53.4 y 47.7:52.3 para JC y JCp, respectivamente; en tanto que la relación para la variedad de *Jatropha curcas* no tóxica de México fue de 63.5:36.5 (Makkar *et al.*, 1998). Martínez-Herrera *et al.*, (2010) reportaron valores de 61 y 69% de grano en comparación con cáscara para especies de *Jatropha curcas* de diferentes regiones de México. La diferencia en esta relación presentada entre *Jatropha curcas* y las especies JC y JCp puede deberse a las condiciones climáticas a las que se ven sometidas las especies en las zonas semiáridas donde crecen éstas últimas.

5.3. Composición Química de las Pastas de las Semillas de *Jatropha cordata* y *Jatropha cardiophylla*

La composición química de las semillas de *Jatropha cordata* y *Jatropha cardiophylla*, muestra que son una fuente buena de proteína (28.3 y 28.9%, respectivamente), y de lípidos (51.7 y 53.7%, respectivamente) (Tabla 2). No se encontraron diferencia significativa entre JC y JcP al evaluar proteína cruda, lípidos y contenido de cenizas. Sin embargo, el contenido de lípidos en JC y JcP fue menor al reportado para *Jatropha curcas*. La cáscara de ambas especies fue alta en fibra (>82% FDN y >68% FDA) y lignina (>32%) y es muy pobre en proteína (<6.3%) indicando un valor nutricional muy bajo. Todos estos valores son similares a los reportados por Makkar *et al.*, (1998) y Devappa *et al.*, (2010).

Tabla 2. Composición proximal de las pastas de *Jatropha cordata* y *Jatropha cardiophylla*^a

Compuestos	<i>J. cordata</i>		<i>J. cardiophylla</i>		<i>J. curcas</i> ^b	
	Almendra	Cáscara	Almendra	Cáscara	Almendra	Cáscara
Materia seca (MS%)	96.7	94.8	96.8	95.0	94.2	89.8
Proteína cruda	28.3	5.4	28.9	6.3	23.2	4.4
Lípido	51.7	1.0	53.7	0.4	55.5	0.5
Ceniza cruda	4.7	3.4	4.60	5.9	4.3	2.8
Fibra detergente neutro	---	88.4	---	82.1	4.5	89.4
Fibra detergente ácido	---	72.0	---	68.8	2.4	78.3
Lignina detergente ácido	---	32.7	---	33.5	0.00	45.6

^aAnálisis, % in DM, ^bMakkar *et al.*, (1998).

5.3.1. Perfil de aminoácidos de las pastas de *Jatropha cordata* y *Jatropha cardiophylla*

La composición de aminoácidos de JC fue mayor a la reportada para *Jatropha curcas*; y los niveles de los aminoácidos esenciales fueron superiores a los referidos por la FAO/WHO (Tabla 3). También, el contenido de aminoácidos esenciales de JcP fue mayor al patrón de

referencia de la FAO, excepto para lisina, tirosina y cisteína. Una comparación entre la composición de aminoácidos de JC y la de las semillas de soya presentan un patrón muy similar. En tanto que las pastas de JCp presentan deficiencias únicamente en el aminoácido lisina en comparación con las de soya.

Tabla 3. Composición de aminoácidos de pasta de *J. cordata* y *J. cardiophylla*, *J. curcas*, soya (g AA's/100g proteína).

Aminoácido	<i>J. cordata</i>	<i>J. cardiophylla</i>	<i>J. curcas</i> ^a	Soya ^b	FAO/WHO ^c
<i>Esencial</i>					
Cisteína	ND	ND	1.58	1.64	2.5 ^d
Metionina	2.86	1.82	1.76	1.39	
Valina	7.65	4.72	5.30	4.72	3.5
Isoleucina	8.15	4.54	4.85	3.98	2.8
Leucina	11.40	7.08	7.50	7.61	6.6
Tirosina	4.49	2.81	3.78	4.94	6.3 ^e
Fenilalanina	6.72	4.13	4.89	5.76	
Histidina	4.15	2.38	3.08	3.03	1.9
Lisina	7.48	4.57	3.40	6.84	5.8
Treonina	4.85	3.10	3.59	3.85	3.4
Triptófano	ND	ND		0.88	1.1
<i>No-esencial</i>					
Ácido aspártico	13.47	7.32	9.92	11.9	
Prolina	ND	ND	3.80	5.10	
Serina	6.40	3.56	4.82	4.15	
Ácido glutámico	23.88	14.69	15.91	18.6	
Glicina	7.65	6.10	4.61	3.93	
Alanina	7.06	5.01	4.94	4.19	
Arginina	16.48	10.96	7.64	7.47	
Total	132.76	82.86		99.98	

ND= No Detectado. ^aMakkar *et al.* (1998); ^bVasconcelos *et al.*, (1997); ^cFAO/WHO(1990).

^dcistina + metionina. ^etirosina + fenilalanina.

5.4. Contenido de antinutrientes en pastas de *Jatropha cordata* y *Jatropha cardiophylla*

5.4.1. Contenido del inhibidor de tripsina.

Los antinutrientes detectados en las muestras de estudios se presentan en la Tabla 4. La actividad del inhibidor de tripsina para las pastas desgrasadas fue de 26.0 mg/g y 33.16 mg/g para JC y JCp, respectivamente. Estos valores fueron similares a los reportados por Makkar *et al.*, (2010) para la variedad toxica de *Jatropha curcas* y para la harina de soya cruda (Makkar y Becker, 1998). El inhibidor de tripsina interfiere con el proceso fisiológico de la digestión a través de la interferencia con el funcionamiento normal de enzimas proteolíticas en el páncreas en animales no rumiantes, lo que provoca una grave depresión en el crecimiento (White *et al.*, 1989) y también puede disminuir la digestibilidad de la proteína (Hajos *et al.*, 1995).

5.4.2. Contenido de fitatos

El contenido de fitatos en las pastas de JC y JCp (6.29-7.55%) fueron menores que los reportados para *Jatropha curcas* (8.54-9.27%) (Martínez Herrera *et al.*, 2006; Makkar *et al.*, 1997). Los niveles de fitatos podrían disminuir la digestibilidad de las proteínas y la absorción de minerales, particularmente calcio, zinc y hierro (Reddy y Pierson, 1994).

5.4.3. Contenido de saponinas

El contenido de saponinas de las pastas desgrasadas fue de 0.89% en JC y 0.82% para JCp. Al igual que los demás antinutrientes, los valores reportados para éstas especies de saponinas totales fueron menores que los reportados para *Jatropha curcas* (Makkar *et al.*, 2008). Es importante entender que aunque los valores de los antinutrientes estén presentes en más bajas cantidades que en *Jatropha curcas*, la simple presencia de los mismos a le provee a estas especies cierto grado de toxicidad que inhabilita su empleo; de manera directa, en la industria de alimento para ganado.

5.4.4. Contenido de ésteres de forbol en la pasta de *Jatropha cordata* y *Jatropha cardiophylla*

El contenido de esteres de forbol en la almendra de JC fue más alto que en JCp (2.73 mg/g contra 1.46 mg/g). Estos valores caen dentro de los reportados para *J. curcas* (1-3 mg/g). Los ésteres de forbol estuvieron presentes en mayor grado en la almendra desgrasada de JC (1.37 mg/g) que en el de JCp (0.79 mg/g). Es la presencia de los esteres de forbol (y no del inhibidor de tripsina, lecitinas, saponinas o fitatos) lo que determina que las pastas puedan ser consumidas por humanos.

En la especie toxica de *Jatropha curcas*, la ausencia de aceite en la pasta de la almendra y una considerable cantidad de esteres de forbol en dicha pasta sugiere que los esteres de forbol están fuertemente unidos a la matriz de la pasta (Makkar *et al.*, 2008).

Aunque en el presente trabajo se encontró la presencia de esteres de forbol tanto en la pasta de la almendra como en el aceite, el bioensayo en caracoles mostró una mortalidad menor para ambas especies que la presentada por *Jatropha curcas* (Devappa *et al.*, 2009), lo cual indica una menor toxicidad de las especies, esto se debe a las concentración bajas de forbol detectado.

Se ha encontrado que los esteres de forbol son purgantes, irritantes de la piel y promueven la formación de tumores ya que estimulan la proteína C quinasa, que está implicada en la transducción de señales y procesos de desarrollo de la mayoría de las células y tejidos (Adolf *et al.*, 1984; Hirota *et al.*, 1988). La ingestión de plantas de las familias Euphorbiaceae y Thymelaeaceae que biosintetizan ésteres diterpenos del tipo de forbol, provocan síntomas graves de intoxicación en el ganado (Kingsbury, 1964). En los seres humanos, se han reportado mareos, vómitos y diarrea por intoxicación accidental con semillas de *Jatropha*. La mortalidad también ha sido reportada en ratones, pollos, cabras y cerdos (Chivandi *et al.*, 2006; Goel *et al.*, 2007) cuando han sido alimentados a la fuerza con estas especies.

Tabla 4. Antinutrientes en la cascara y grano de *Jatropha cordata* y *Jatropha cardiophylla*

Componente	<i>J. cordata</i>	<i>J. cardiophylla</i>	<i>J. curcas</i> ^a
Inhibidor de tripsina (mg tripsina inhibida por g muestra)	26.0±0.01 ^a	33.16±0.02 ^b	26.50
Fitatos (% ácido fítico)	6.29±0.01 ^a	7.55±0.02 ^b	9.4
Saponinas (%diosgenina equivalente)	0.89±0.01 ^a	0.82±0.00 ^b	2.39
Fenoles totales en cáscara (%ácido tánico equivalente)	2.18±0.16 ^a	1.31±0.08 ^b	4.40
Esteres de forbol (mg/g grano)	2.73±0.02 ^a	1.46±0.00 ^b	1-3
Bioensayo en caracoles con esterres de forbol (% mortalidad)	20	33	100

^aMakkar *et al.* (1998) and Makkar and Becker (2009)

5.5. Contenido de Compuestos Fenólicos

5.5.1. Contenido de fenoles totales

Diferentes concentraciones de metanol al 60%, 70% y 100%, fueron evaluadas para la obtención más adecuada del extracto metanólico de las semillas de JC y JCp.

En el presente estudio al comparar los niveles de fenoles totales de los extractos metanólicos de JC se encontró que no presentaron diferencia significativa ($p < 0.05$) entre los extractos de 70% y 100%, siendo éste último el extracto al que se logró una mejor extracción (1.31 g/100g). Del lado de JCp la extracción al 60% de metanol fue la mejor con una concentración de 1.31 g/100g, presentando diferencia significativa ($p < 0.05$) con las extracciones del 70 y 100% que mostraron concentraciones alrededor de 1.24 g/100g (Figura 15).

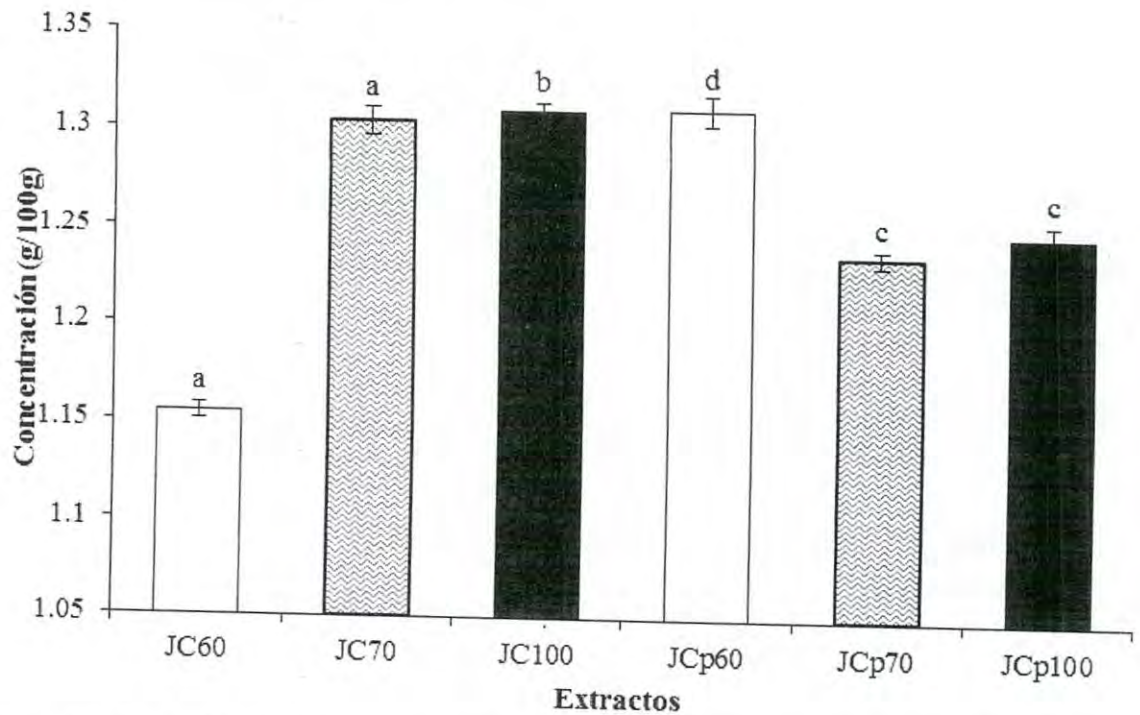


Figura 15. Contenido de fenoles totales en extractos metanólicos de JC y JCp. Letras diferentes en las barras (a-d) indican una diferencia significativa ($p < 0.05$).

Martínez-Herrera (2005) evaluó los compuestos tóxicos y antinutrientes que contienen la planta *J. curcas* de diferentes provincias de México, uno de estos compuestos fue el contenido de fenoles totales. En ese estudio se encontraron concentraciones de fenoles totales desde 0.151 g/100g a 0.24 g/100g. Al comparar esos resultados con los obtenidos en el presente estudio se puede apreciar que el nivel de fenoles totales encontrados en las especies JC y JCp está por encima del reportado para *Jatropha curcas* en México, esto puede deberse a las condiciones de las zonas en las que se desarrollan éstas especies, al ser plantas adaptadas a zonas áridas y estar expuestas a temperaturas extremas y bajo un constante estrés hídrico, que puede llevar a desarrollar este tipo de metabolitos secundarios para protegerse y sobrevivir en estas circunstancias.

5.5.2. Contenido de flavonoides totales

Al evaluar la concentración de flavonoides totales se observó que no existe diferencia significativa ($p < 0.05$) entre las concentraciones de metanol empleadas para la obtención de los

extractos tanto para JC como JCp (Figura 16). Debido a esto, se seleccionó el sistema de solventes de menor costo (metanol al 60%).

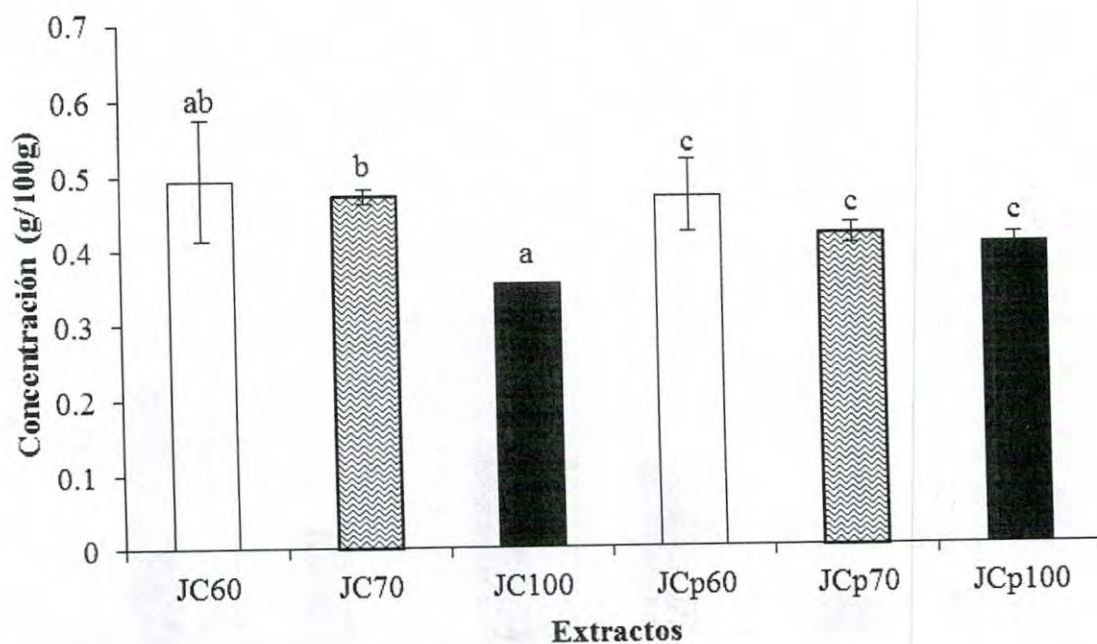


Figura 16. Contenido de flavonoides totales en extractos metanólicos de JC y JCp. Letras diferentes en las barras (a-c) indican una diferencia significativa ($p < 0.05$).

5.5.3. Identificación de los Compuestos Fenólicos por HPLC

La identificación de los compuestos fenólicos presentes en las pastas de JC y JCp se logró realizando extracción con metanol al 60%. Durante la identificación fenólica por HPLC se encontraron ácidos fenólicos (caféico, clorogénico, sinápico y ferúlico) y flavonoides (miricetina, quercetina) (Figura 17).

Se encontró que el ácido sinápico fue el compuesto fenólico significativamente ($p < 0.05$) más abundante en JC (27.44 ± 2.34 mg/100g). El flavonoide miricetina fue el compuesto fenólico con el nivel más alto encontrado en el extracto de JCp con en una concentración de 14.9 ± 1.34 mg/100g, seguido de los ácidos ferúlico y clorogénico. En tanto que los compuestos

fenólicos encontrados en menor concentración fueron la miricetina para el caso de JC (9.45 ± 0.01 mg/100g) y el ácido caféico en la pasta de JCp (2.88 ± 0.59 mg/100g).

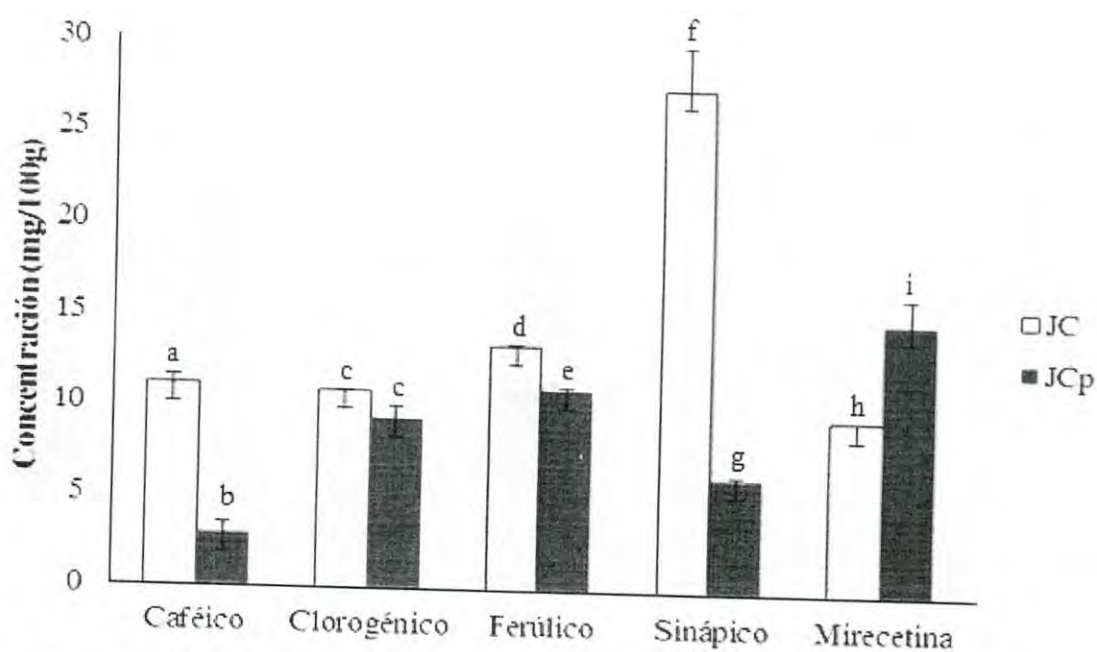


Figura 17. Niveles de compuestos fenólicos presentes en los extractos de JC y JCp. Letras diferentes en las barras (a-i) indican una diferencia significativa ($p < 0.05$).

5.5.4. Evaluación de la actividad antioxidante por métodos químicos

5.5.4.1. Capacidad antioxidante por método DPPH*

La evaluación de la actividad antioxidante ejercida por los extractos metanólicos de JC y JCp inhibiendo al radical (% IR) 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH*) se muestra en la Figura 18. Los extractos de JC 60 y 70% fueron los que mostraron mayor inhibición para esta prueba (36.1 ± 6.82 y $34.92\% \pm 1.22$, respectivamente), sin presentar diferencia significativa entre ellos ($p < 0.05$). Los extractos de JCp presentaron diferencia significativa ($p < 0.05$) en los diferentes sistemas (60, 70 y 100% de metanol), siendo el de 60% el que presentó una mayor inhibición del radical con un $72.81\% \pm 7.6$, seguido del extracto del 70% con $48.41\% \pm 3.1$. Solamente los extractos de JCp al 60 y 70% presentaron inhibición mayor del 50%. Los resultados obtenidos

demuestran que los extractos metanólicos de JC y JCp muestran una importante capacidad antioxidante, atribuida principalmente al contenido de compuestos fenólicos.

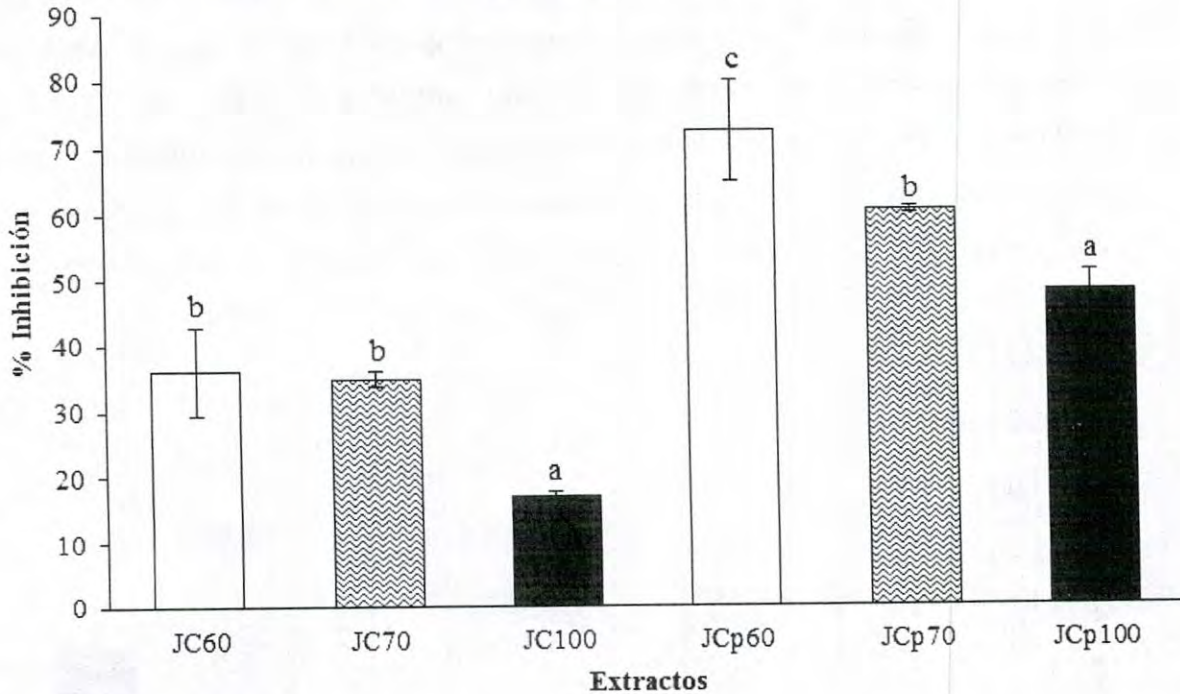


Figura 18. Actividad antioxidante de los extractos fenólicos de JC y JCp medida como la inhibición del radical DPPH*. Letras diferentes en las barras (a-c) indican una diferencia significativa ($p < 0.05$).

5.5.4.2. Capacidad Antioxidante Equivalente a Trolox (TEAC)

En tanto a la capacidad antioxidante medida a través del radical ABTS^{•+} (Figura 19), se encontró que la actividad antioxidante significativamente mayor ($p < 0.05$) fue exhibida por los extractos de 60% de JC y JCp (78.15 ± 10.9 y 108.21 ± 7.8 milimoles de equivalentes trolox/g), respectivamente. La capacidad menor la exhibieron los extractos de 100% de metanol, encontrándose diferencia significativa ($p < 0.05$) entre estos extractos y los de 60 y 70%.

La capacidad antioxidante medida a los 7 minutos mostró el mismo comportamiento que la actividad inmediata (1 minuto), evidenciando que los extractos al 60% son los que ejercieron una mayor actividad antioxidante en este método.

Basándose en los resultados encontrados tanto en fenoles totales, flavonoides totales, capacidad antioxidante ABTS^{•+} y DPPH[•], se observó que la extracción que presentó mayor actividad antioxidante y que no significa un gasto excesivo e innecesario de metanol es la obtenida con 60% del alcohol. No se encontraron diferencias significativas entre las extracciones de 60 y 70% y fueron las que mostraron una mejor actividad antioxidante. Debido a esto, las siguientes extracciones y evaluaciones fueron realizadas con metanol al 60%.

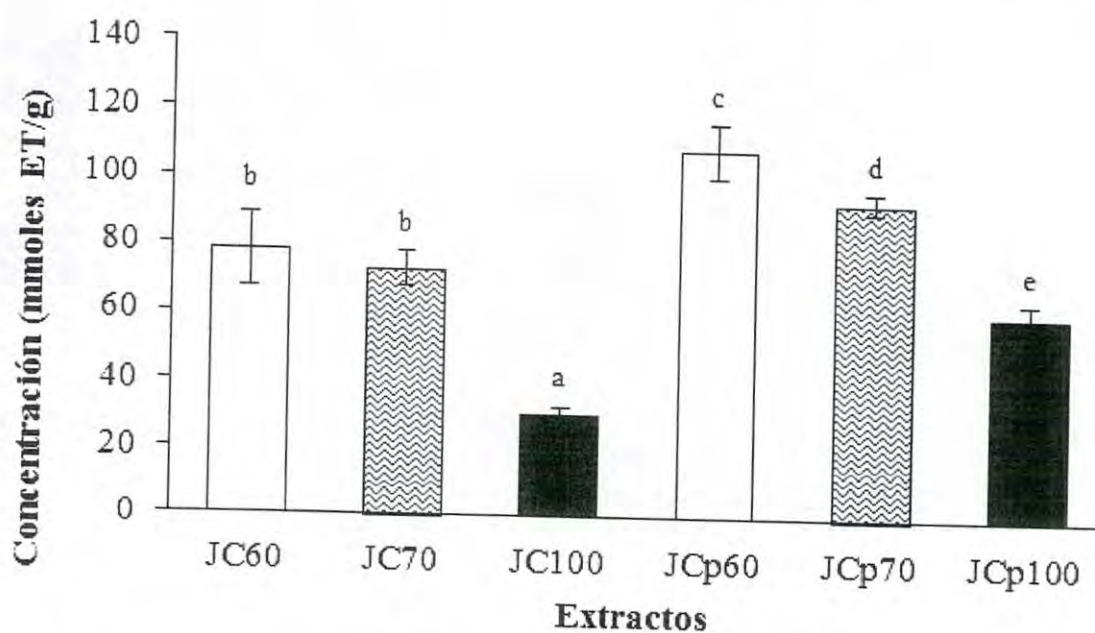


Figura 19. Actividad antioxidante de los extractos fenólicos de JC y JCp medida como la inhibición del radical ABTS^{•+} (equivalentes Trolox). Letras diferentes en las barras (a-d) indican una diferencia significativa ($p < 0.05$).

5.5.5. Evaluación de la actividad antioxidante por el método Rancimat

La actividad antioxidante de los extractos metanólicos al 60% (60:40 v/v) de JC y JCp fue evaluada en biodiésel proveniente de aceite de soya. Al biodiésel de soya se le agregaron concentraciones de 250, 500 y 1000 ppm de los extractos metanólicos y de los antioxidantes sintéticos TBHQ y BHA.

La estabilidad oxidativa del biodiésel de soya aumentó (período de inducción, PI) en tanto aumentó la concentración de los extractos metanólicos de JC y JCp y los antioxidantes sintéticos TBHQ y BHA. El TBHQ mostró una protección mayor ($p < 0.05$) al biodiésel contra la oxidación, con un PI de 8.8 h, seguida por el BHA (7 h) a la concentración de 1000 ppm (Figura 20). En tanto que los extractos metanólicos de JC y JCp mostraron un PI de 6.67 y 6.5 h, respectivamente, a 1000 ppm no presentando diferencias significativas ($p < 0.05$) con los períodos de inducción ocasionados por los antioxidantes sintéticos (TBHQ y BHA). Estudios previos de actividad antioxidante de extractos naturales con biodiésel de semillas de algodón, han mostrado una actividad similar con el BHA (Tang, *et al.*, 2008).

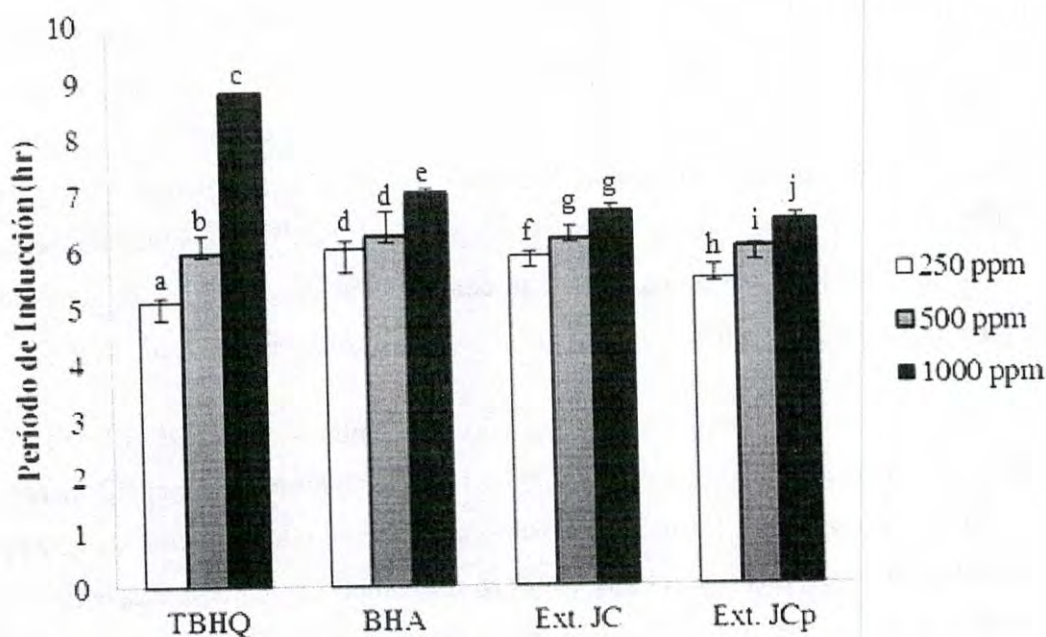


Figura 20. Efecto de las concentraciones de TBHQ, BHA, extracto metanólico de JC y extracto metanólico de JCp sobre la estabilidad oxidativa del biodiésel de soya.

El patrón de eficacia de los antioxidantes sintéticos para el biodiésel de soya, algodón y grasa amarilla según Tang, *et al.*, (2008) es: BHA-BHT (3-ter-butyl-4-hydroxyanisole; 2,6-di-ter-butyl-4-methylphenol) < DTBHQ-TBHQ (ter-butyl hydroquinone) < PG-PY (propyl galate;

pirogalol), con excepción del TBHQ presentan una mayor estabilidad oxidativa en el biodiésel de algodón.

Mittelbach y Schober (2003) demostraron que el TBHQ resultó ser el mejor antioxidante a una concentración de 1000 ppm en biodiésel de colza; en tanto que PG y PY fueron más efectivos en biodiésel de girasol y de aceite de freído seguido por TBHQ, BHA y BHT.

Para el biodiésel destilado de soya (Tang *et al.*, 2008) se observó que tanto TBHQ como BHA (500 ppm) mejoraron la estabilidad oxidativa por arriba de las 6 h, proporcionando PI de alrededor de 12 y 9 h, respectivamente. Liang *et al.*, (1998) demostró que el TBHQ es más efectivo que el BHT en el biodiésel destilado de palma. A pesar de que tanto el biodiésel como el biodiésel destilado presentan aproximadamente la misma composición de metilésteres de ácidos grasos. Sin embargo, contienen diferentes niveles de antioxidantes naturales (contenido de glicerina total y glucósidos de esteroides) (Tang *et al.*, 2007). Recientemente se ha reportado que tanto el contenido de antioxidantes, la composición de FAME, y el contenido total de glicerina impactan la estabilidad oxidativa del biodiésel (McCormick *et al.*, 2007)

En cuanto a biodiésel de *Jatropha curcas*, Chaithongdee *et al.*, (2010) evaluaron la estabilidad oxidativa brindada por TBHQ, PG y BHA, encontrando que el PG incrementaba las horas de estabilidad de 4.21 (sin antioxidante) a 37.55 h a concentración de 750 ppm. En el mismo estudio se observó que el BHA mostró un comportamiento similar en el biodiésel de *Jatropha curcas* similar al observado en el biodiésel de soya en este trabajo, mostrando una estabilidad de alrededor de 7 h a concentración de 500 ppm.

5.6. Propiedades fisicoquímicas del aceite de las semillas de *Jatropha cordata* y *Jatropha cardiophylla*

Se realizó la caracterización del aceite de las semillas de *Jatropha cordata* y *Jatropha cardiophylla*, los resultados mostraron que el contenido de aceite en la semilla de las dos especies fue similar al reportado para *Jatropha curcas*. Con respecto al contenido de humedad

de los aceites de JC y JCp, se presentaron valores por debajo del valor máximo permitido por la NOM (NMX-F-252-SCFI-2005) para aceites vegetales (humedad 0.05%). Los aceites de las semillas de *Jatropha* mostraron color amarillo cercano al recomendado por la NOM (NMX-F-252-SCFI-2005- aceite de soya desodorizado 20 A, 2 R) y valores de rojo \leq menores a 6 (Tabla I). Los valores bajos de humedad son desables durante el almacenamiento de los aceites con el fin de asegurar que no se presente la reacción de hidrólisis en los aceites. El contenido bajo de ácidos grasos libres (AGL) en los aceites sugiere que podrían tener una estabilidad hidrolítica buena y una producción baja de jabón durante la transesterificación (Goodrum, 2002). El contenido de AGL para aceite de soya crudo generalmente es de 0.3-0.8% (Erickson, 1995) (Tabla 5). Los valores de peróxidos fueron altos para los dos aceites, esto se puede deber a que el aceite no contiene antioxidante natural. Además, comparados con *Jatropha curcas* este aceite mostró valor bajo de peróxidos (Oyekunle y Omode, 2008). Los valores de peróxidos y *p*-anisidina son parámetros importantes para predecir la estabilidad oxidativa en un aceite (Solís y Zumbado, 1995). Los valores de peróxidos de los aceites de *Jatropha cordata* y *Jatropha cardiophylla* fueron altos para un aceite vegetal. Esto indica la sensibilidad de estos aceites a la reacción de oxidación. Sin embargo, los valores bajos de *p*-anisidina indican que el aceite no ha pasado a la segunda fase de la reacción de oxidación donde los ácidos grasos son transformados a aldehídos y cetonas, los cuales le dan un sabor y olor desagradable (Calabotta y Shermer, 1985).

Se realizó la cuantificación de tocoferoles en los aceites de las semillas de *Jatropha cordata* y *Jatropha cardiophylla* por HPLC. En estos aceites no se detectó la presencia de tocoferoles (<2 ppm), estos resultados concuerdan con lo reportado por Shivashankara *et. al.* (2004). Sin embargo, sería recomendable realizar de nuevo el análisis de tocoferoles en otra etapa del ciclo de la planta (Septiembre- Octubre).

Tabla 5. Propiedades fisicoquímicas del aceite de semillas de *Jatropha cordata* y *Jatropha cardiophylla*

Constituyentes	<i>J. cordata</i>	<i>J. cardiophylla</i>	<i>J. curcas</i> ^a
Aceite (%)	34.76 ± 0.77	36.16 ± 0.17	36.7 ± 1.10
Humedad (%)	0.23 ± 0.02	0.51 ± 0.03	ND
AGL (%)	0.38 ± 0.02	0.31 ± 0.05	12.2 ± 0.10
Valor peróxido (mequiv O ₂ /Kg)	22.28 ± 0.72	36.31 ± 0.43	4.7 ± 0.10
Valor p-anisidina (mmol/Kg)	1.82 ± 0.03	7.54 ± 0.02	ND
Tocoferoles	ND	ND	--
Color	21.7A, 1.7R	19.8A, 1R	ND

Media ± desviación estándar de dos determinaciones. ND= No determinado. A=Amarillo R=Rojo. ^a Oyekunle y Omode (2008). ND= no detectado, límite de detección <2 ppm.

5.6.1. Contenido de ésteres de forbol en los aceites de *Jatropha cordata* y *Jatropha cardiophylla*

Los ésteres de forbol en los aceites de JC y JCp fueron relativamente bajos (0.29 y 0.21 mg/mL), respectivamente (no reportados en la Tabla). Estos valores son mucho más bajos que los reportados por Makkar y Becker (2009) y Devappa et al., (2010) para *J. curcas* (2-7mg/mL). El aceite de JC y JCp se espera que sea mucho menos tóxico comparado con el aceite de *J. curcas*. Sin embargo, para la especie tóxica de *Jatropha curcas*, se ha reportado que el aceite contiene de un 70 a 75% del total de los ésteres de forbol y el resto se encuentra en la pasta de la almendra (Makkar et al., 2008).

5.6.2. Determinación perfil de ácidos grasos del aceite de *Jatropha cordata* y *Jatropha cardiophylla*

La determinación del perfil de ácidos grasos del aceite de *Jatropha cordata* y *Jatropha cardiophylla*, es importante porque con esta determinación se puede predecir la estabilidad oxidativa y el número de cetano del biodiésel. Aceites con un contenido alto de ácidos grasos insaturados, producirán biodiésel, con baja estabilidad oxidativa y bajo número de cetano (Pinzi et al., 2009). Los resultados de la determinación del perfil de ácidos grasos de los aceites de *Jatropha cordata* y *Jatropha cardiophylla* (Tabla 6), mostraron un contenido alto de ácido oléico (C18:1), 36.64±2.23 y 34.36±1.01 y linoléico (C18:2), 49.88±1.32 y 50.72±3.12, respectivamente. La composición de ácidos grasos de estos aceites es similar a la reportada para el aceite de *Jatropha curcas* (Heller, 1996; Martínez-Herrera et al., 2006; Makkar et al.,

2010). De acuerdo al perfil de ácidos grasos de los aceites de JC y JCp se puede predecir que estos aceites producirán un biodiésel con un número de cetano alrededor de 50. El biodiésel producido con el aceite de soya presenta un número de cetano de 49.2 (Bamgboye y Hansen, 2008; Pinzi *et al.*, 2009). El contenido alto de ácidos grasos insaturados de estos aceites puede causar una estabilidad oxidativa baja. Esto prevé la necesidad futura de proteger el biodiésel obtenido a partir de aceite de *Jatropha* con antioxidante. Sin embargo, el biodiésel de estas especies parece ser adecuado para el uso a temperaturas bajas. Con respecto a *Jatropha curcas* (Akbar *et al.*, 2009), ésta presenta un porcentaje alto de ácido oleico (44.7%), esto favorece la estabilidad oxidativa al biodiésel proveniente de esta *Jatropha*, ya que éste ácido graso es menos susceptible a la oxidación con respecto al biodiésel obtenido a partir de aceite de *Jatropha cordata* y *Jatropha cardiophylla*. En las Figuras 21 y 22 se muestran los cromatogramas típicos de aceite de *Jatropha cordata* y *Jatropha cardiophylla*.

Tabla 6. Composición de ácidos grasos de los aceites de *Jatropha cordata*, *Jatropha cardiophylla*

Constituyentes (% w/w)	<i>J. cordata</i>	<i>J. cardiophylla</i>	<i>J. curcas</i> ^a
Contenido de aceite	34.76±0.77 ^a	36.16±0.17 ^b	36.7±1.1
Mirístico C14:0	0.42 ± 0.01 ^c	0.32 ± 0.01 ^d	0.2
Palmítico C16:0	7.66 ± 0.12 ^e	8.02 ± 0.02 ^f	13.4
Palmitoléico C16:1	1.35 ± 0.07 ^g	1.05 ± 0.06 ^h	0.8
Estearico C18:0	4.16 ± 0.82 ⁱ	5.41 ± 0.04 ^j	6.4
Oléico C18:1	36.64 ± 2.23 ^k	34.36 ± 1.01 ^k	44.7
Linoléico C18:2	49.88 ± 1.32 ^l	50.72 ± 3.12 ^l	34.1
Linoléico C18:3	0.23 ± 0.01 ^m	0.21 ± 0.01 ^m	0.2
Araquídico C20:0	0.09 ± 0.02 ⁿ	0.18 ± 0.07 ⁿ	0.2
Total saturados	12.33	13.93	20.3
Total monoinsaturados	37.99	35.41	37.3
Total poliinsaturados	50.11	50.93	42.3

Media ± desviación estándar de dos determinaciones. ^aMakkar *et al.* (1998).

5.7. Obtención de biodiésel a Partir del Aceite de las Semillas de *Jatropha cordata* y *Jatropha cardiophylla*

La reacción de transesterificación para la producción de biodiésel se realizó utilizando como catalizador NaOH, por ser el catalizador básico y de mayor eficiencia (Riveros y Molano, 2006), la reacción se lleva a cabo en tiempos cortos (Bajpai y Tyagi, 2006). La proporción

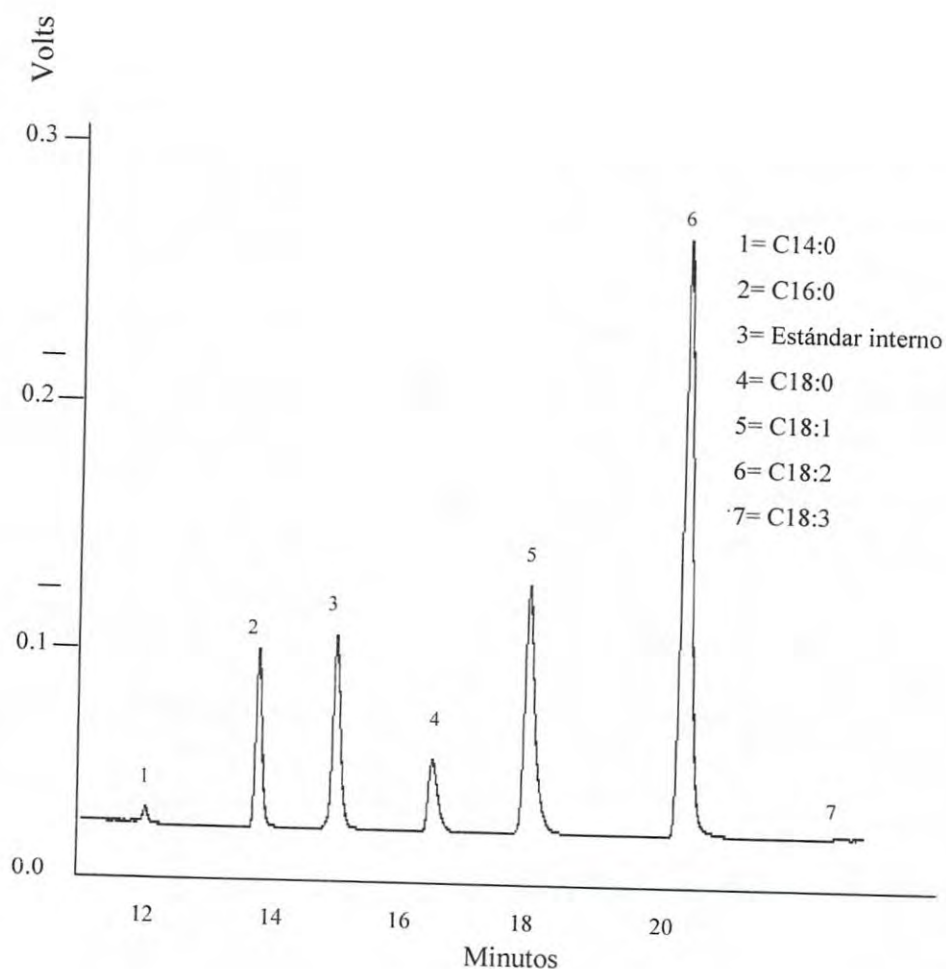


Figura 21. Cromatograma del perfil de ácidos grasos de *Jatropha cardiophylla*.

aceite: metanol utilizada fue la recomendada por He *et al.*(2006). La eficiencia de la reacción está fuertemente influenciada por la temperatura, generalmente se emplea un intervalo de 60-70°C el cual es el punto de ebullición del metanol. Al incrementar la temperatura se presenta un efecto negativo en la reacción (Bajpai y Tyagi, 2006).

La reacción de transesterificación de los aceites de las semillas de *Jatropha cordata* y *Jatropha cardiophylla*, se llevó a cabo con un rendimiento de 91.95%, antes del proceso de refinación. Después, el biodiésel obtenido se refinó con el fin de eliminar residuos de catalizador y productos intermedios de la reacción. El rendimiento de la producción de

biodiésel a partir de JC y JCp (91.95%), indica un porcentaje de conversión del aceite adecuado, si se compara con otros estudios, donde se obtuvo biodiésel a partir de aceite de girasol con un rendimiento del 82% (Fukuda et al., 2001).

Con el fin de comprobar que la reacción de transesterificación se realizó y se obtuvo biodiésel de las semillas de *Jatropha cordata* y *Jatropha cardiophylla*, se procedió a inyectarlos directamente al cromatógrafo de gases (sin llevar a cabo la reacción de metilación). Los resultados muestran que los ácidos grasos que fueron detectados en las muestras de biodiésel de JC y JCp, concuerdan con el perfil de los aceites de las mismas (Figura 23). Esto comprueba que efectivamente se obtuvieron metilésteres del aceite de las semillas en estudio.

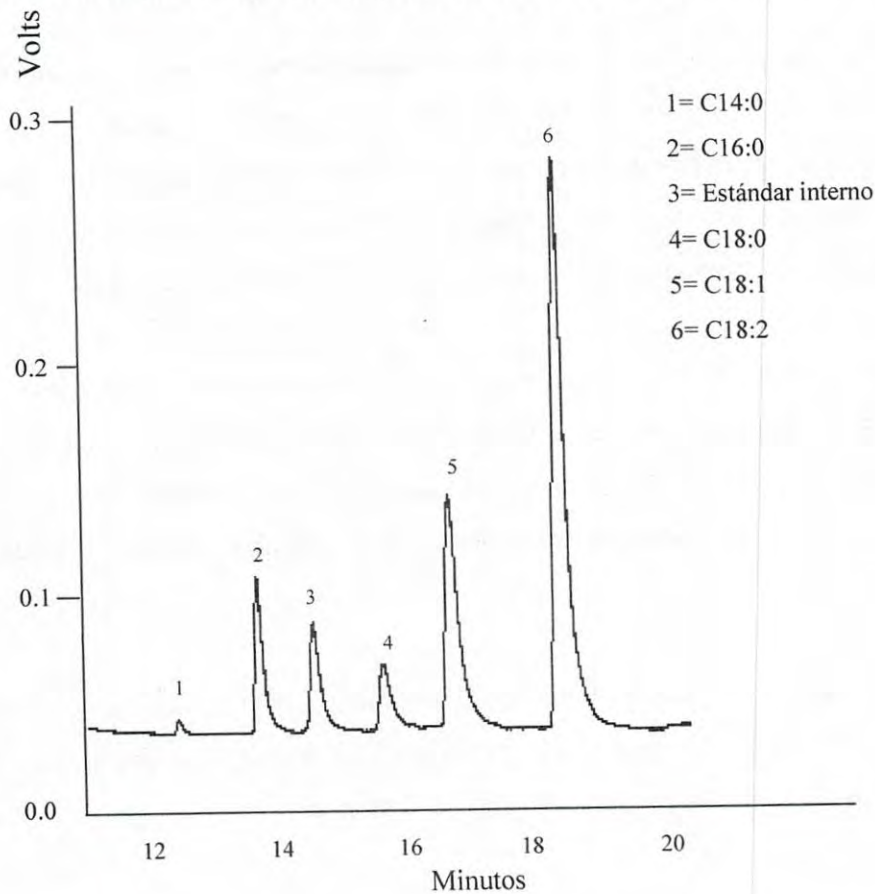


Figura 23. Cromatograma de metilésteres de biodiésel de *Jatropha cordata*.

VI. CONCLUSIONES

Las semillas de *Jatropha cordata* y *Jatropha cardiophylla* son una fuente importante de proteína de calidad buena, compuestos fenólicos y aceite.

Las pastas residuales de las semillas de *Jatropha cordata* y *Jatropha cardiophylla* son una fuente importante de proteínas, por tal razón, podrían ser utilizadas como alimento para ganado, después de su detoxificación. Dado el contenido de antinutrientes como los inhibidores de tripsina, fitatos y los ésteres de forbol.

Las pastas residuales de las semillas de *Jatropha cordata* y *Jatropha cardiophylla* también resultaron ser una fuente importante de compuestos fenólicos, los cuales mostraron una actividad antioxidante adecuada en las pruebas químicas por los radicales ABTS^{•+} y DPPH[•]. El compuesto fenólico de mayor abundancia en la pasta de *Jatropha cordata* fue el ácido sinápico en tanto que en *Jatropha cardiophylla* fue la miricetina.

Los aceites provenientes de la semilla de *Jatropha cordata* y *Jatropha cardiophylla* podrían ser utilizados para la producción de biodiésel, ya que éstos aceites tienen un contenido alto de ácidos grasos poliinsaturados. Debido a esta característica el biodiésel obtenido sería líquido a temperatura ambiente, con número de cetano alto y una sensibilidad a la reacción de oxidación.

La capacidad antioxidante de los extractos metanólicos de la pasta de semilla de *Jatropha cordata* y *Jatropha cardiophylla* en biodiésel de soya por el método Rancimat, fue similar a la del BHA a una concentración de 1000 ppm.

VII. RECOMENDACIONES

Se recomienda ampliar este estudio a todas las especies del género *Jatropha* que se encuentran en el Estado de Sonora para tener un estudio más completo de éste género.

Es importante ampliar lugares de ubicación de éstas especies para llevar a cabo una colecta mas exhaustiva con la finalidad de contar con muestra suficiente que permita llevar a cabo una buena extracción de compuestos fenólicos y aceite suficiente para la producción a mayor volumen de biodiésel.

Es conveniente contar con más volumen de biodiésel para la caracterización química del mismo de acuerdo a los métodos de la ASTM.

Es recomendable, al contar con biodiésel a gran escala, llevar a cabo pruebas en motor diesel para observar el desempeño de éste al emplear el biodiésel obtenido de especies nativas de la región.

VIII. REFERENCIAS

- Adam, S. E. 1974. Toxic effects of *Jatropha curcas* in mice. *Toxicol.*, 2:67-76.
- Adam, S. E., and M. Magzoub. 1975. Toxic effects of *Jatropha curcas* in goats. *Toxicology* 4:347-354.
- Aguilar González, J.L. Combustibles Alternativos convenientes para México.
- Abuzaytoun, R. y Shahidi, F. 2006. Oxidative Stability of Flax and Hemp Oils. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 83 (10): 855-861.
- Aderibigbe, A., Johnson, C., Makkar, H.P.S., Becker, K. y Foildl, N. 1997. Chemical composition and effect of heat on organic matter and nitrogen-degradability and some antinutritional components of *Jatropha* meal. *Animal Feed Sci. Tech.*, 67: 223-243.
- Adolf, W., Opferkuch, H. J., y Hecker, E. 1984. Irritant phorbol derivatives from four *Jatropha* species. *Phytochemistry* 23: 129-132.
- Aguilar J.L. 2005. Combustibles Alternativos. Primer Foro Regional de Tecnología en Procesos Productivos. Puebla, México, 30 de Junio de 2005.
- Ahmad Tarmizi, A. H. y Wai Lin, S. 2008. Quality assessment of palm products upon prolonged heat treatment. *J. Oleo Sci.* , 57 (12): 639-648.
- Ahmed, O. M. y Adam, S. E. 1979. Effects of *Jatropha curcas* on calves. *Vet. Pathol.* 16:476-482.
- Al-Saikhan, M. S., Howard, L. R. y Miller, J. C., Jr. 1995. Antioxidant activity and total phenolics in different genotypes of potato (*Solanum tuberosum*, L.). *J. Food Sci.* 60 (2): 341-343.
- Altin R., Centikaya S. y Yucesn H.S. 2001. The Potential of Vegetable Oil Fuel for Diesel Engines. *ENer Convery Manag.* 4 (529).
- Amarowicz, R., Wanasundara, U. N., Karamac, M. y Shahidi, F. 1996. Antioxidant activity of ethanolic extract of mustard seed. *Nahrung*, 40 (5): 261-263.
- Amado, G. E., Villamizar, A. y Gafaro A. 2005. Evaluación del proceso de producción de biodiésel a partir de grasas amarillas con altos contenidos de ácidos grasos libres. *Redalyc.*, 3 (1): 54-60.
- A.O.A.C. Association of Official Analytical Chemists. In AOAC, Official Methods of Analysis, 17Ed., Maryland, USA, 2000.
- A.O.C.S. American Oil Chemists' Society. Official methods and recommended practices of American Oil Chemists' Society. 2009.
- ASTM D 6751-07 (2007) Standard specification for biodiesel fuel blend stock (B100) for middle distillate fuels, Philadelphia
- Avello, M. y Suwalsky, M. 2006. Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. *Redalyc*, 494: 161-172.
- Bajpai, D. y Tyagi, V.K. 2006. Biodiesel: Source, Production, Composition, Properties and its benefits. *J. Oleo Sci.* 55 (10): 487-502.
- Bamgboye, A. I. y Hansen, A. C. 2008. Prediction of cetane number of biodiesel fuel from the fatty acid methyl ester. *International Agrophysics* , 22: 21-29.
- Belitz, H. D., Grosch, W. y Schieberle, P. 2009. Lipids. *Food Chemistry* , 158-172.
- Benavides, A., Benjumea, P. y Pashova, V. 2007. El biodiesel de aceite de huiguerilla como combustible alternativo. *Redalyc* , 74 (153): 141-150.

- Bors, W., Heller, W. y Christia, M. 1990. Flavonoids as antioxidants: determination of radical-scavenging efficiencies. *Methods Enzymol*, 186: 343-355.
- Bunger, J., Krahl, J., Baum, K., Shroder, O., Muller, M., Westphal, G. y Rahnu, P. 2001. Cytogenic and Mutagenic Effects, Particle Size and Concentrations: Analysis of Diesel Engine Emissions Using Biodiesel and Petrodiesel as fuel. *Arch. Toxicol.* 74: 490-498.
- Calabotta, D. F. y Shermer, W. D. 1985. Controlling feed oxidation can be rewarding. *Feedstuffs*, 57 (48): 25-32.
- Cerveró, J.M. Coca, J. y Luque, S. 2008. Production of biodiesel from vegetable oils. *Grasas y Aceites.* 59:76-83.
- Ceyhun, A.E. y Artik, N. 2010. Determination of saponin content in turkish tahini halvah by using HPLC. *J. Food Sci. Tech.*, 2(2): 109-115.
- Chaithongdee, D., Chutmanop, J. y Srinophakun, P. 2010. Effect of antioxidants and additives on the oxidative stability of Jatropha biodiesel. *J. Nat. Sci.*, 44: 243-250.
- Chitindingu, K., Ndhkala, A.R., Chapano, C., Benhyura, M.A. y Muchuweti, M. 2006. Phenolic compound content, profiles and antioxidant activities of amaranthus hybridus (pigweed), brachiaria brizantha (upright brachiaria) and panicum maximum (guinea grass). *J. Food Biochem.*, 31: 206-216.
- Chivandi, E., Erlwanger, K.H., Makuza, S.M., Read, J.S. y Mtimuni, J.P. 2006. Effects of dietary Jatropha curcas meal on percent packed cell volume, serum glucose, cholesterol and triglyceride concentration and alpha-amylase activity of weaned fattening pigs. *Research J. Animal Veterinary Sci.*, 1:18-24.
- Day Martha M., y Anthony Carpi. 2002 "Densidad," Visionlearning vol. SCI- 1 (4s) <http://es.wikipedia.org/wiki/Densidad>.
- Dehgan, B. 1982. Novel Jatropha for Florida landscapes. Proc. Fla. State Hort. Soc. 95:277-280.
- Dennis, J.S., Howe, C.J., Scott, S.A. y Smith, A. 2010. Life cycle assessment of potential algal biodiesel production in the United Kingdom: a comparison of raceways and air-lift tubular reactors. *Energy & Fuels*, 24: 4062-4077.
- Devappa, R.V., Maes, J., Makkar, H.P.S., Greyt, W.D. y Becker, K. 2009. Isolation of phorbol esters from Jatropha curcas oil and quality of produced biodiesel. 2nd International Congress on Biodiesel: the science and the technologies, Munich, Germany.
- Devappa, R.V., Makkar, H.P.S., Becker, K. 2010. Nutritional, Biochemical, and Pharmaceutical Potential of Proteins and Peptides from Jatropha: Review, *J. Agric. Food Chem.*, 58: 6543-6555.
- Diario Oficial de la Federación el 27 de marzo de 1987. NMX-F-252-SCFI-2005. Alimentos, aceite comestible puro de soya, especificaciones.
- Diario oficial de la Federación. 1º de Febrero de 2008. Ley de promoción y desarrollo de los bioenergéticos. Cámara de Diputados del H. Congreso de la Unión.
- Díaz A. y Sotolongo J. 2007. Modelación matemática de la reacción de transesterificación. *Tecnología Química.* 27 (3): 92-97.
- Dorado, M. P. 2008. In *Biofuels Refining and Performance*; Nag, A., Ed.; McGraw Hill Professional, 107-148.
- El Diwani, G., El Raffie, S., y Hawash, S. 2009. Protection of biodiesel and oil from degradation by natural antioxidants of Egyptian Jatropha. *Int. J. Env Sci. Tech.*, 6 (3): 369-378.
- EN 14112 . 2003. Determination of oxidation stability (accelerated oxidation test)
- Evans, F. J. 1986. *Naturally occurring phorbol esters*. Boca Raton, FL: CRC Press.

- Erickson, D. R.. 1995. Practical Handbook of Soybean Processing and Utilization. United States of America: AOCS press, 364.
- FAO/WHO. 1990. Protein quality evaluation. In *Report of a joint FAO/WHO expert consultation*. (p. 23). Rome, Italy: Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Felger, R. S., Johnson, M. B. y Wilson, M. F. 2001. The trees of Sonora, México. United States of America: Oxford.
- Freedman, B., Pryde, E.H. 1982. Fatty Esters from Vegetable Oils for Use as a Diesel Fuel, from Vegetable Oil Fuels. In: Proceedings of the International Conference on Plant and Vegetable Oils as Fuels, ASAE, St. Joseph, MI.
- Freedman, B., Pryde, E.H. y Mounts, T.L.. 1984. Variables affecting the yield of fatty esters from transesterified vegetable oils, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 61 (10):1638–1643.
- Fukuda, H.; Kondo, A.; Noda, H. 2001. Biodiesel fuel production by transesterification of oils. *J. Biosci. Bioengineering*, 92 (5), 405-416.
- Goel, G., Makkar, H.P.S., Francis, G. y Becker, K. 2007. Phorbols esters structure, biological activity, and toxicity in animals. *Inter. J. Toxicol.*, 26: 279-288.
- Gómez Hernández, T. 2008. Bioenergéticos en México: el relevo ya llegó. *inifap.*, 1-5.
- Gorinstein, S., Yong-Seo, P., Buk-Gu, H., Namiesnik, J., Leontowicz, H., Leontowicz, M., Kyung-Sik, H., Ja-Yong, C. y Seong-Gook, K. 2009. A comparative study of phenolic compounds and antioxidant and antiproliferative activities in frequently consumed raw vegetables. *Euro. Food Research Tech.* 228:903–911.
- Goodrum, J.W., 2002. Volatility and boiling points of biodiesel from vegetable oils and tallow. *Biomass Bioenergy* 22: 205–211.
- Gubler, R. CEH Report Biodiesel. Published November 2006.
- Hall, C. A. y Cuppett, S. L. 1997. Structure-activities of natural antioxidants. In *Antioxidant Methodology In Vivo and In Vitro Concepts*, AOCS, 2-29.
- Halliwell, B. y Gutteridge JMC. 1985. Free radicals, ageing, and disease, free radicals in biology and medicine, 2nd edn. Clarendon, Oxford. 279–315.
- Haas, W., H. Sterk, y M. Mittelbach. 2002. Novel 12-deoxy-16- hydroxyphorbol diesters isolated from the seed oil of *Jatropha curcas*. *J. Nat., Prod.* 65:1434–1440.
- Hajos, G., Gelenser, E., Pusztai, A., Grant, G., Sakhri, M., y Bardocz, S. 1995. Biological effects and survival of trypsin inhibitors and agglutinin from soybean in the small intestine of the rat. *J. Agric. Food Chem.*, 43: 165–170.
- He, H.Y., Guo, X., y Zhu, S.L. 2006. Comparison of membrane extraction with traditional Extraction methods for biodiesel production. *JAOCS* 83 (5).
- Helmj, K., Vaher, M., Gorbatšova, J. y Kaljurand M. 2007. Characterization of bioactive compounds contained in vegetables of the Solanaceae family by capillary electrophoresis. *Proc. Estonian Acad. Sci. Chem.* 56(4): 172–186.
- Hiai, S., Oura, H. y Nakajima, T. 1976. Color reaction of some saponin and saponins with vanillin sulfuric acid. *Planta Medica*, 29: 116–122.
- Himmelblau, D.M. 1988. Balances de materia. pp. 102-124. En: Balances de material y energía. Cuarta edición. Editorial Prentice Hall.
- Hirota, M., Suttajit, M. y Suguri, H. 1988. A new tumor promoter from the seed oil of *Jatropha curcas* L., an intramolecular diester of 12-desoxy-16-hydroxyphorbol. *Cancer Res.* 48: 5800–5804.

- Hostettmann, K. and A. Marston, 1995. Saponins. Chemistry and Pharmacology of Natural Products. Cambridge University Press. Avustralia, pp: 584
- Howard, L. R. , Talcott , S. T. , Brenes, C. H. y Villalon, B. 2000. Changes in phytochemical and antioxidant activity of selected pepper cultivars (*Capsicum* species) as influenced by maturity. *J. Agric. Food Chem.* 48: 1713-1720.
- Howard, L.R. y Wildman, R.E.C. 2007. Isoflavones: source and metabolism. En: Wildman, R.E.C. editor. Handbook of nutraceuticals and functional foods. Boca Raton, Fla.: CRC Press.165–191.
- Hudson, B. J. F. 1990. Ed. *Food Antioxidants*; Elsevier Applied Science: London.
- Hui, Y.H. 1996. Bailey's industrial oil and fat products. 5° Ed. 4: 411.
- Jadhav SJ, Nimbalkar SS, Kulkarni AD,y Madhavi DL.1996. Lipid oxidation in biological and food systems. In: Madhavi DL, Deshpande SS, Salunkhe DK (eds) Food antioxidants. Marcel Dekker, New York. 5–63.
- Jeong, S., Kim, S., Kim, D., Jo, S., Nam, C., Anh, D. y Lee, S. 2004. Effect of heat treatment on the antioxidant activity of extracts from citrus peels. *J. Agric. Food Chem.*, 52 (11): 3389-3393.
- Jovanovic, S.V., Steenken, S., Simic, M.G. y Harta, Y. 1998. Antioxidant properties of flavonoids: reduction potentials and electron transfer reactions of flavonoid radicals. En: Rice Evans C, Parker L (eds): Flavonoids in health and disease. Marcel Dekker, New York, 137-161.
- Joubert, P. H., Brown, J. M., Hay, I. T y Sebata. P. D. 1984. Acute poisoning with *Jatropha curcas* (purging nut tree) in children. *S. Afr. Med. J.* 65:729–730.
- Kamal -Eldin, A. y Appelqvist , L. A. 1996. The chemistry and antioxidant properties of tocopherols and tocotrienols. *Lipids.* 31: 671 –701.
- Kamini, N.R. y Lefugi H. 2001. Lipase Catalysed Methanolysis of Vegetable Oil and Aqueous Medium by *Cryptococcus* spp. *Process Biotechnol.* 37 (405).
- Khor, H.T. y Raajeswari , R. 2001. Red palm oil, vitamin A, and the antioxidant enzymes. En: Micronutrients and Health: Molecular Biological Mechanisms. Nesaretnam K y Packer L, (Eds) . AOCS Press. Champaign, IL.
- Klopfenstein, W.E. 1985. Effect of Molecular Weights of Fatty Acid Esters on Cetane Numbers as Diesel Fuels. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 62 (6): 1029-10231.
- Knothe, G., Matheaus, A. C. y Ryan, T. W. 2003. Cetane numbers of branched and straight-chain fatty esters determined in an ignition quality tester. *Fuel*, 82: 971–975.
- Knothe, G. 2006. Analyzing Biodiesel: Standards and Methods. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 83: 823-833.
- Krinsky, N. I. 2001. Carotenoids as antioxidants. *Nutrition*, 17:815-817.
- Kurki A, Hill A y Morris M .2006. Biodiesel: The Sustainability Dimensions. ATTRA Publications, 12 p.
- Kuskoski , M.E. , Asuero, A.G. , Troncoso, A. M. , Mancini -Filho, J. y Fett , R. 2005. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* 25(4): 726-732.
- Laberalino, A.A.A.; Bambirra, E.A.; Moreas-Santos, T.;Viera,E.C. 1988. *Jatropha curcas* L. sedes: Chemical analysis and toxicity. *Arquivos de biología e tecnologia*, 31, 539-550.
- Larson, R. A. The antioxidants of higher plants. *Phytochemistry* 1988, 27 (4), 969-978.
- Liu, K. y Markakis, P. 1989. Trypsin inhibition assay as related to limited hydrolysis of inhibitors. *Anal. Biochem.*, 178: 159–165.

- López-Riquelme, G. 2003. Chilli: La especial del Nuevo Mundo. *Ciencias*, 69: 66-75.
- Luque, L.R., Herrero-Davila, Campelo, J. M., Clark, J. H., Hidalgo, J. M., Luna, D., Marinasa J. M. y Romeroa. A. A. 2008. Biofuels: a technological perspective, *Energy Environ. Sci.*, 1: 542-564.
- Makkar, H. P. S., Aderibigbe, A. O. y Becker, K.. 1998. Comparative evaluation of non-toxic and toxic varieties of *Jatropha curcas* for chemical composition, digestibility, protein degradability and toxic factors. *Food Chem.*, 62 (2): 207-215.
- Makkar, H.P.S., y Becker, K. 1997. Nutrients and antiquality factors in different morphological parts of Moringa oleifera tree. *J. Agric. Sci.*, 128: 311-322.
- Makkar, H. P. S., Becker, K., Sporer, F. y Wink, M. 1997. Studies on Nutritive Potential and Toxic Constituents of Different Provenances of *Jatropha curcas* *J. Agric. Food Chem.* 45: 3152-3157.
- Makkar, H. P. S., Francis, G. y Becker, K. 2008. Protein concentrate from *Jatropha curcas* screw-pressed seed cake and toxic and antinutritional factors in protein concentrate. *J. Sci. Food Agric.* 88:1542-1548.
- Makkar, H.P.S., Siddhuraju, S., Siddhuraju, P. y Becker, K. 2007. Plant Secondary Metabolites. Humana Press Inc., new jersey, USA. 1-3;23-24 p.
- Makkar, H.P.S., Maes, J., De Greyt, W. y Becker, K. 2009. Removal and degradation of phorbol esters during pre-treatment and transesterification of *Jatropha curcas* oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 86: 173-181.
- Makkar, H. P. S., y Becker, K.. 1999. Nutritional studies on rats and fish (carp *Cyprinus carpio*) fed diets containing unheated and heated *Jatropha curcas* meal of a non-toxic provenance. *Plant Foods Hum. Nutr.* 53:183-192.
- Martin, P., Yetman, D., Fishbein, M., Jenkins, P., Van Devender, T. y Wilson, R. 1998. The tropical Dediduos Forest and Environs of Northwest Mexico. Gentry's Rio Mayo Plants Tucson, Arizona: The University of Arizona. 319 p.
- Martinez-Flórez, S., González- gallego, J., Culebras, J.M. y Tuñón, T.J. 2002. Los flavoooides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutrición Hospitalaria*, 6: 271-278.
- Martinez-Herrera, J., Martinez-Ayala, A.L. y Makkar, H.P.S., Francis, G. y Becker, K. 2010. Agroclimatic conditions, chemical and nutritional characterization of different provenances of *Jatropha curcas* L. From Mexico. *Eur. J. Sci. Research*, 39 (3): 396-407.
- Materska, M. y Perucka, I. 2005. Antioxidant Activity of the main phenolic compounds isolated from hot pepper fruit (*Capsicum annuum* L.) . *J. Agric. Food Chem.*, 53: 1750-1756.
- McCormick R.L., Alleman T.L., Ratcliff M., Moens L. y Lawrence R. 2005. Survey of the quality and stability of biodiesel and biodiesel blends in the United States in 2004. National Renewable Energy Laboratory, NREL/TP-540-38836
- McCormick R.L., Ratcliff M.A., Moens L. y Lawrence R. 2007. Several factors affecting the stability of biodiesel in standard accelerated tests. *Fuel Process Technol.*, 88(7):651-657.
- Meng, X., Chen, G. y Wang, Y. 2008. Biodiesel production from waste cooking oil via alkali catalist and its engine test. *Fuel Process. Technol.*, 89(9): 851-857.
- Mínguez-Mosquera, M. I. y Hornero-Méndez, D. 1993. Separation and quantification of the carotenoid pigments in red pepper (*Capsicum annuum*, L.), paprika and oleoresin by reversed phase HPLC. *J. Agric. Food Chem.* 41: 1616-1620.
- Mittelbach M. y Schober S .2003. The influence of antioxidants on the oxidation stability of biodiesel. *J. Am. Oil Chem. Soc* 80(8):817-823.
- Mittelbach, M. y Remschmidt, C. 2004. *Biodiesel: The Comprehensive Handbook*.

- Mohamad, I.A. y O.A. Ali. 2002. Experimental Evaluation of the transesterification of Waste Palm Oil into Biodiesel, *Bioresour. Technol.* 85:253–256.
- Montoya R.M., Cardona A.C., Orrego A.C. y Gutiérrez M.L. 2006. Obtención de biodiesel por reacción extractiva. *Energía y computación*, 14 (2): 49-57.
- Monyem A. y Van Gerpen J.H. 2001. The effect of biodiesel oxidation on engine performance and emissions. *Biomass Bioenergy* 20(4):317–325.
- National Biodiesel Board Web site. 2007. Estimated US biodiesel sales, http://www.biodiesel.org/pdf_files/fuelfactsheets/Biodiesel_Sales_Graph.pdf. (accessed Aug. 2007)
- Ong, A.S.H. y Choo, Y.M. 1997. Carotenoids and tocopherols from palm oil. En: Natural Antioxidants. F. Shahidi (Ed) Cap.8, AOCS Press Champaign Illinois USA. 133 – 149 p.
- Oomah, B. D. y Mazza, G. 1996. Flavonoids and antioxidative activities in buckwheat. *J. Agric. Food Chem.* 44 (7): 1746- 1750.
- Oyekunle, J. A. y Omode, A. A. 2008. Chemical composition and fatty acid profile of the lipid fractions of selected Nigerian indigenous oilseeds. *Inter. J. Food Properties*, 11: 273-281.
- Peres, W. 1994. Radicais Livres em níveis biológicos. Ed. Universidade católica de Pelotas, Brasil, 49-81.
- Perez-Trueba, G. 2003. Los flavonoides: antioxidantes o pro oxidantes. *Rev. Cubana Invest. Biomed.* 22 (1): 48-57.
- Pinto, A.C., Guarieiro, L.L.N., Rezende, M.J.C., Ribeiro N.M., Torres, E.A. y Lopes W.A. 2005. Biodiesel: an overview. *J. Braz. Chem. Soc.* 16:1313–30.
- Pinzi, S., Garcia, I. L., Lopez-Gimenez, F. J., Luque de Castro, M. D., Dorado, G., y Dorado, M. P. 2009. The ideal vegetable oil-based biodiesel composition: A review of social, economical and technical implications. *Energy & Fuels*, 23: 2325-2341.
- Popham, R. 1947. Developmental Anatomy of seedling of *Jatropha cordata*. *The Ohia J. Sci.*, 42.
- Prakash, C. B. Global changes strategies international, Inc. (GCSI). Canada. 1998.
- Ramarathnam, N., Ochi, H. y Takeuchi, M. 1997. Antioxidant defense system in vegetable extracts. In: Shahidi F (ed) Natural antioxidants: chemistry health effects and applications. AOCS Press, Champaign, 76–87 p.
- Ramos, M. J., Fernández, C. M., Casas, A., Rodríguez, L. y Pérez, A. 2009, Influence of fatty acid composition of raw materials on biodiesel properties, *Bioresource Technology*, 100:261-268.
- Reddy, N. R. y Pierson, M. D. 1994. Reduction in antinutritional and toxic components in plant foods by fermentation. *Food Research International*, 27: 281–290.
- Rimm, E.R., Katan, M.B., Ascherio, A., Stampfer, M. y Willet, W. 1996. Relation between intake of flavonoids and risk for coronary heart disease in male health professionals. *Ann Intern Med*, 125: 384-389.
- Riveros Santamaría, L. M. y Molano, M. Á. 2006. Transesterificación del aceite de palma con metanol por medio de una catálisis heterogénea empleando un catalizador ácido. *Revista de Ingeniería*, (24): 43-51.
- Rodríguez-Amaya, D.B. 1999. Latin American food sources of carotenoids. *Arch. Latinoam. Nutr.* 49:74S–84S.
- Rothkopf, G. 2007. 2020 Global competitive outlook. *A Blueprint for Green Energy in the Americas*, 213-219.
- Schober S, Mittellbach M (2004) The impact of antioxidants on biodiesel oxidation stability. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 106(6):382–389.

- Sendzikiene E., Makareviciene V. y Janulis P. 2005. Oxidation stability of biodiesel fuel produced from fatty wastes. *Polish J Environ Stud.*, 14(3):335–339.
- Shahidi, F. y Shukla, V.K.S. 1996. Nontriacylglycerol Constituents of Fats and Oils, *INFORM* 7:1227–1231.
- Shahidi, E. 1997. Natural Antioxidants: An overview, In: Natural Antioxidants, Chemistry, Health effects and Applications. AOCS Press Champaign. 1-10.
- Shemer, W.D. y Calabotta, D.F. 1985. Oxidation of fed: How much has occurred?, *Feedstuff*, 57 (45): 19-20.
- Shreve, F. y Wiggins, I. L. En *Vegetation and Flora of the Sonoran Desert* (Vol. I, pág. 803). United States of America: Stanford. 1964.
- Singleton, V.L. 1982. Flavonoids. En: Childester CO, Mrak EM, Stewart Gf (eds.): Advance in Food research. New York: Academic press, 149-242.
- Smith, C., Van Megen, W., Twaalfhoven, L. y Hitchcook, C. 1980. The determinations of trypsin inhibitor levels in foodstuffs. *J. Sci. Food Agric.*, 31:341–350.
- Solís, J. E. y Zumbado, M. E. 1995. Evaluación del proceso de oxidación de la nuez de la palma aceitera (*Elaeis guineensis*). *Agronomía costarricense*, 19 (2): 53-58.
- Sonntag, N.O.V. 1979. Reactions of fats and fatty acids. Bailey's industrial oil and fat products. Swern, D., John Wiley & Sons. New York, USA. 99.
- Sulaiman Al-Zuhair, 2007. Production of biodiesel: possibilities and challenges, *Biofuels*, *Bioprod. Bioref.* 1:57–66.
- Tanaka, Y., Hosokawa, M., Otsu, K., Watanabe, T. y Yazawa, S. 2009. Assessment of capsaicinoid composition, nonpungent capsaicinoid analogues, in *Capsicum* cultivars. *J. Agric. Food Chem.* 57(12):5407–5412.
- Tang, H., Salley, S.O. y Ng, K.Y.S. 2007. Fuel properties and precipitate formation above the cloud point in soy-, cottonseed-, and poultry fat-based biodiesel blends. *Fuel* (submitted).
- Tang, H., Wang, A., y Salley, S. 2008. The Effect of Natural and Synthetic Antioxidants on the oxidative stability of biodiesel. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 85:373-382.
- Tomasevic, A.V. y Marinkovic, S.S. 2003. Methanolysis of used frying oils. *Fuel Process Technology*, 81: 1–6.
- Turner, R. M. 1995. Sonoran Desert plants: an ecological atlas. Tucson, Az.: The University of Arizona.
- Valencia, M.E. y Robles -Sardin, A.E. 2005. El valor nutricional y protector de las frutas y verduras en la dieta humana. En González -Aguilar G.A., Gardea, A.A. y Cuamea-Navarro, F. (Eds.) Nuevas Tecnologías de Conservación de Productos Vegetales Frescos Cortados. Logiprint Digital. Guadalajara, México. 1 -14.
- Vaintraub, I.A., y Lapteva, N.A. 1988. Colorimetric determination of phytate in unpurified extracts of seeds and the products of their processing. *Anal Biochem.* 175: 227-230.
- Van Gerpen, J. 2007. Biodiesel production. P. Ranalli (ed.), *Improvement of Crop Plants for Industrial End Uses*, 281–289.
- Vasconcelos, I. M., Siebra, E. A., Maia, A. A. B., Moreira, R. A., Neto, A. F., Campelo, G. J. A. y Oliveira, J. T. A. 1997. Composition, toxic and antinutritional factors of newly developed cultivars of Brazilian soybean (*Glycine max*). *J. Sci. Food Agric.*, 75: 419-426.
- Velioglu, Y.S., Mazza, G., Gao, L. y Osmah, B.D. 1998. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables and grain products. *J. Agric. Food Chem.* 46:4113-4117.
- Wagner, K.-H., y Elmalfa, I. 2000. Effects of Tocopherol and Their Mixtures on the Oxidative Stability of Olive Oil and Linseed Oil Under Heating, *Eur. J. Lipid Sci.* 102:624–629.

- Wang, H. Cao, G. H. y Prior, R. L. 1997. Oxygen radical absorbing capacity of anthocyanins. *J. Agric. Food Chem.*, 45: 304-309.
- Waynick, J.A. 2005. Characterization of biodiesel oxidation and oxidation products: CRC project No. AVFL-2b. National Renewable Energy Laboratory, NREL/TP-540-39096.
- White, C. E., Campbell, D. R. y Combs, G. E. 1989. Effect of moisture and processing temperature on activities of trypsin inhibitors and urease in soybeans fed to swine. In J. Huisman, T. F. B. van der Poel, & I. E. Liener (Eds.), *Recent advances in antinutritional factors in legume seeds*. Wageningen: Puduc. 230-234 p.
- Yen, G. C. y Duh, P. D. 1995. Antioxidant activity of methanolic extracts of peanut hulls from various cultivars. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 72 (9): 1065-1067.