



Vol. 26, No 3, 4
Julio - Diciembre 2018

CIENTIFICA



An International Refereed Scientific Journal
of the Facultad Experimental de Ciencias
at the Universidad del Zulia

Esta publicación científica en
formato digital es continuidad
de la revista impresa

Depósito Legal: pp 199302ZU47

ISSN: 1315-2076

CIENCIA 26 (3,4), 84 - 88, 2018
Maracaibo, VenezuelaDOI: <https://www.doi.org/10.5281/zenodo.5590932>

Caracterización química y contenido de compuestos fenólicos totales de hojas de *Moringa oleífera* Lam cultivadas en el estado Zulia, Venezuela

Viluzca Chiquinquirá Fernández Palmar^{1*} y Joan Vilchez Chávez²

¹Universidad del Zulia. Facultad Experimental de Ciencias. Departamento de Química. Laboratorio de Alimentos

²Moringales Biotech and Food C.A. Nuda Agroalimentario Palito Blanco, Parcelamiento lo De Dlría.

*Fvilu12@gmail.com

Recibido: 11-09-18 Aceptado: 23-10-18

Resumen

Se evaluaron las propiedades químicas y el contenido de compuestos fenólicos totales de hojas de *Moringa oleífera* Lam cultivadas en el estado Zulia. la caracterización fisicoquímica se realizó de acuerdo a lo establecido por la A.O.A.C. La determinación de compuestos fenólicos totales se realizó por el método de Folin-Ciocalteu y el contenido de minerales empleando espectrometría de absorción atómica. Las hojas de moringa presentaron un contenido de 21 mg/100mg de proteínas siendo este constituyente el de mayor importancia desde el punto de vista nutricional. El mineral calcio (Ca) fue el más abundante (0,15 mg/100mg) seguido de sodio (Na) y hierro (Fe) con contenidos de 0,33mg/100mg respectivamente. No se determinaron cantidades significativas de potasio (K) y cobre (Cu). Los extractos de *Moringa oleífera* Lam fueron obtenidos empleando solución etanólica al 70% con dos técnicas de extracción (1) maceración con agitación mecánica y (2) extracción con ultrasonido. Las muestras obtenidas con extracción ultrasónica presentaron un contenido de compuestos fenólicos totales $18,70 \pm 0,032$ mg GAE/100g, mayores a los obtenidos por agitación mecánica lo que demuestra que la técnica empleada afecta la extracción de estos compuestos en la matriz. Los ensayos de screening fitoquímico de los extractos de hojas de *Moringa oleífera* indicaron la presencia de flavonoides, fitoesteroles, taninos y diterpenos por los cuales se puede inferir que los extractos pueden presentar actividad cito génica de interés. Las hojas de *Moringa Oleífera* Lam pueden constituir una fuente de interesante de macro nutrientes, micronutrientes y compuestos funcionales, antioxidantes tipo compuestos fenólicos para la dieta.

Palabras claves: *Moringa oleífera*, compuestos fenólicos.

Chemical characterization and total phenolic content of *Moringa oleífera* Lam leaves grown in the state of Zulia, Venezuela

Abstract

The chemical properties and content of total phenolic compounds of *Moringa oleífera* Lam leaves grown in the state of Zulia are evaluated. The physicochemical characterization was carried out according to established by the A.O.A.C. The determination of total phenolic compounds was carried out by the Folin-Ciocalteu method and the mineral content using atomic absorption spectrometry. The morning leaves since they present a content of 21 mg/100 mg of proteins, this constituent being the most important from a nutritional point of view. The mineral calcium (Ca) was the most abundant (0.15 mg/100mg) followed by sodium and iron with contents of 0.33mg/100mg. No significant amounts of potassium (K) and copper (Cu) were determined. *Moringa oleífera* Lam extracts were obtained using 70% ethanolic solution with two extraction techniques (1) maceration with mechanical stirring and (2) extraction with ultrasound. The samples obtained with ultrasonic extraction presented a content of 18.70 ± 0.032 mg GAE / 100g, higher than those obtained by mechanical stirring, which shows that the technique used affects the extraction of these compounds in the matrix. The phytochemical screening tests of *Moringa oleífera* leaf extracts indicated the presence of flavonoids, phytosterols, tannins and diterpenes by which it can be inferred that the extracts may present cytogenetic activity of interest. *Moringa Oleífera* Lam leaves can be an interesting source of macro-nutrients, micronutrients and functional compounds, antioxidants such as phenolic compounds for the diet.

Key words: *Moringa oleífera*, phenolic compounds.

Introducción

Los compuestos fenólicos son sustancias orgánicas ampliamente distribuidas en el reino vegetal, se sintetizan como compuestos secundarios y son en gran medida responsables de las propiedades del color, la astringencia y el aroma de los vegetales 1,2. Las propiedades anti-radicales libres de los fenoles se dirigen fundamentalmente hacia los radicales hidroxilos y superóxidos, especies altamente reactivas implicadas en el inicio de la cadena de peroxidación lipídica, previenen la agregación paquetería y protegiendo a las lipoproteínas de baja densidad de la oxidación 3. Los antioxidantes pueden definirse como sustancias que previenen o inhiben la oxidación de biomoléculas a nivel celular 2. En condiciones normales el organismo humano cuenta con sistemas antioxidantes los cuales mantienen el equilibrio redox a nivel celular, sin embargo, un incremento de estos radicales libres puede modificar importantes moléculas como el ADN, lípidos y proteínas afectando su funcionalidad y causando un desbalance en la producción de especies reactivas de oxígeno y en la defensa antioxidante provocando un daño oxidativo conocido como estrés oxidativo, el cual se ha asociado a varias enfermedades humanas incluidas: cáncer, neurodegeneración, enfermedades inflamatorias, cardiovasculares y envejecimiento 4,5. *Moringa oleífera*, es un árbol perteneciente a la familia *Moringaceae*, es nativo de las estribaciones meridionales del Himalaya y en la actualidad se cultiva prácticamente en todas las regiones tropicales, subtropicales y semiáridas del mundo. Las hojas, flores y frutos son apreciados por su valor nutritivo y pueden ser usados tanto en la alimentación humana como en la animal. Las raíces presentan dos alcaloides, la *moringina* y *moringinina*, cuyos efectos alucinógenos cuestionan su uso sin fines médicos supervisados. Las hojas son excepcionalmente ricas en vitaminas y diferentes aminoácidos, por lo que se recomiendan para tratar problemas de malnutrición en niños 6,7. Los compuestos fenólicos presentes en *Moringa* incluye flavonoides, antocianos, proantocianidinas (o taninos condensados), quercentina, kaempferol, cinamatos y formas derivadas del ácido cafeico que tienen importante actividad antioxidante y microbiana 8.

Materiales y métodos

1. Obtención de la materia prima

El material vegetal analizado fue provisto por Moringales Biotech and Food C.A. estado Zulia-Venezuela. El muestreo de las hojas se realizó durante el periodo seco (mayo 2018), las hojas recolectadas fueron almacenadas en cajas de polietileno y trasladadas al área de deshoje, lavado

y deshidratado. El secado del material se realizó empleando un deshidratador de las siguientes características: 2m x 0,50m x 1m con 20 bandejas de malla metálica, 2 ventiladores de extracción con resistencia-controlador eléctrico 001CC a una temperatura de 35-40 °C durante 24h-36h hasta una humedad aproximada de 5%. La muestra seca fue pulverizada empleando un molinillo TURMEX® y posteriormente tamizada con un tamiz de apertura 20 mech (apertura de 850 µm). Se tomaron (3) muestras de 60 g, las cuales se almacenaron en envases ámbar y fueron mantenidos en un desecador protegido de la luz hasta su análisis.

2. Caracterización fisicoquímica de las muestras de *Moringa Oleífera Lam.*

Se evaluaron los parámetros acidez iónica, humedad, grasa, proteínas y carbohidratos de acuerdo a lo establecido por la Association of Official Agricultural Chemists (AOAC). El contenido de metales calcio, hierro, potasio, sodio y magnesio se realizó en un espectrofotómetro AA- Shimadzu modelo AA 3250 previa digestión ácida con ácido nítrico empleando sistemas cerrados.

3. Contenido de compuestos fenólicos totales

Obtención de los extractos: Se emplearon dos métodos de extracción: (1). Maceración con agitación mecánica y (2). Agitación Ultrasónica de alta intensidad (USAI). Se empleó etanol al 70% (v/v) agente de extracción bajo condiciones previamente establecidas^{11,12}. Una vez obtenidos los extractos se centrifugaron (20 min y 12.000 rpm) y se concentraron a presión reducida en un evaporador giratorio (Buchi Rotavapor R-215, Suiza) bajo vacío controlado. Los extractos se almacenaron a -5°C en envases ámbar hasta su análisis el cual se realizó en un tiempo no mayor de 48h desde su obtención para evitar el deterioro de los compuestos fenólicos extraídos.

Purificación de compuestos fenólicos totales: Para evaluar la calidad fenólica de los extractos estos se separaron empleando cartuchos C₁₈ (Alltech® Maxi-Clean™ Cartridges, Hight Flow tamaño de partícula: 100µm y tamaño de poro: 60Å). Los extractos se concentraron a sequedad en un rotavapor giratorio (Buchi Rotavapor R-215, Suiza) unido a una bomba de aspiración a 45 °C. Las muestras se re-diluyeron con agua acidificada (HCl al 0,01%) y pasadas por los cartuchos C₁₈ previamente activados con 20 mL de metanol acidificado, seguido de 30 mL de agua acidificada, los compuestos solubles en agua, incluyendo azúcares y ácidos, se eluyeron con 30 mL de agua acidificada y los compuestos fenólicos se

recuperaron con 15 mL de metanol acidificado. Los extractos se emplearon para cuantificar el contenido de compuestos fenólicos totales.

Determinación del contenido de compuestos fenólicos totales: Se realizó empleando el reactivo Folin Ciocalteu según lo reportado por Singleton y Rossi¹³. Los resultados se expresaron en equivalentes de ácido gálico (GAE, por sus siglas en inglés: Galic Acid Equivalents).

Screening fitoquímico de extracto etanólico de Moringa Oleífera Lam: La caracterización fitoquímica del extracto de hojas de *Moringa oleífera* Lam incluyó las pruebas de flavonoides (Shinoda y Reactivo Alcalino), esteroides (ensayos de Salkowski y Liebermann Burchard), saponinas (ensayo de espuma), taninos (ensayo del cloruro férrico y ensayo de gelatina), fenoles (ensayo de FeCl₃) y alcaloides (ensayos de Mayer, Wagner y Dragendorff) de acuerdo a lo señalado por Tiwari y col.¹⁵ El extracto analizado fue el obtenido luego de la extracción (ambos métodos) sin realizar el tratamiento de micro extracción con Cartuchos C8

Resultados y Discusión

1. Caracterización fisicoquímica de hojas deshidratadas de *Moringa oleífera* Lam

En la Tabla 1 se muestran los resultados de la caracterización química y evaluación nutricional de hojas deshidratadas de *Moringa oleífera* Lam. Los parámetros fisicoquímicos humedad y pH cumple con lo establecido por el Reglamento Técnico Centroamericano RTCA67.04.50:08 para este tipo de muestras. Las hojas presentaron un contenido proteico de 21mg/100mg el cual puede ser beneficioso para su implementación como fuente exógena de este componente a la dieta. El contenido de metales como hierro y manganeso constituye de las hojas de moringa un aporte para el suplemento de estos en la dieta. El hierro y manganeso han sido reportados como minerales esenciales para el mantenimiento del organismo, el primero es esencial para producir las proteínas hemoglobina y mioglobina que transportan el oxígeno a la sangre y el segundo es fundamental para la activación de diversas enzimas, la correcta utilización de las vitaminas B₁ y E y necesario para sintetizar la acetilcolina y un neurotransmisor cuya deficiencia puede estar conectada a la *diabetes mellitus*, además participa en la producción de anticuerpos, protegiendo al organismo de infecciones².

Tabla 1. Caracterización química y evaluación nutricional de hojas deshidratadas de *Moringa oleífera* Lam

ANÁLISIS QUÍMICO	VALOR OBTENIDO
Humedad (% m/m)	5,32±0,13
pH	4,22±0,005
Grasa total, mg/100mg	11,01±0,012
Carbohidratos totales, mg/100mg	42
Proteínas, mg/100mg	21,12±0,01
Calcio, mg/100g	0,15±0,001
Cobre, mg/100mg	No detectable
Hierro, mg/100mg	0,066±0,0012
Potasio, mg/100mg	No detectable
Sodio, mg/100mg	0,33±0,005
Manganeso, mg/100mg	0,066±0,0011

Nota: ¹Valores promedio del análisis de las muestras por triplicado ± desviación estándar

2. Contenido de compuestos fenólicos totales

Determinación del contenido de compuestos fenólicos totales. El contenido de compuestos fenólicos totales en extracto crudo y purificado se muestra en la Tabla 2.

Tabla 2. Contenido de compuestos fenólicos totales de hojas deshidratadas de *Moringa oleífera* Lam

Extractos fenólicos purificados (mg/ g extracto seco)	Observación experimental de interés
7,23±0,077 ^b	Extracto etanólicos (maceración con agitación mecánica)
18,70 ±0,0,32 ^a	Extracto etanólicos (USAI)

a,b Índices de Duncan diferentes indican diferencias significativas entre la serie de datos (p<0,05)

El contenido de compuestos fenólicos en las muestras analizadas fue superior (p<0,05) cuando se empleó USAI para la extracción de estos compuestos. La aplicación de ultrasonido incita la formación de pequeñas burbujas sometidas a una rápida compresión y expansión adiabática, que provoca un aumento local de la temperatura y presión dentro de ellas, lo que puede provocar un aumento en el rendimiento de extracción^{15,16}. Durante la sonicación, el proceso de cavitación provoca el hinchamiento de las células, absorción del solvente y una ampliación de los poros de la pared celular con lo cual se permite una mayor difusividad del solvente a través de los tejidos y los rendimientos de extracción son favorecidos, así mismo debe considerarse el hecho de que la sonicación puede incitar el rompimiento de las paredes celulares y facilitar el “lavado” del contenido de las mismas¹⁶. La técnica es adicionalmente considerada como una tecnología inserta en la *Green Chemistry* y comparada con otras técnicas más sofisticadas para la extracción de estos metabolitos a escala industrial la misma se reconoce como de más fácil operatividad y bajo costo comparada con técnicas como extracción supercrítica de fluidos o microondas.

Una de las limitaciones de los procesos de extracción de compuestos bioactivos es la afinidad del agente extractor y el substrato, así aunque la extracción busque solubilizar los compuestos fenólicos en la matriz, otros compuestos pueden

ser extraídos en el proceso. Por esta razón para evaluar la pureza fenólica de los extractos estos se purificaron con el empleo de columnas C₁₈.

El contenido de compuestos fenólicos totales superior al reportado por Valdes–Hernández¹⁸ para hojas *Moringa oleífera* Lam *variedad supergenius*, cultivadas en Instituto Finlay (La Habana, Cuba), quienes reportaron valores de 17,5 mg/ g extracto seco. Pakade y col., 19 han reportado valores de 42,5±0,14 mg/ g extracto seco en hojas de origen nicaragüense, 28,7 ±4,0; 31,9 ±4,9 y 30,4±5,9 mg/ g extracto seco en hojas pulverizadas para suplemento distribuidas por proveedor comercial. Estos valores son superiores a los determinados en este estudio, sin embargo es importante destacar que los valores en dichas investigaciones fueron determinados en extractos cetónicos, los cuales a diferencia de los etanólicos obtenidos en esta investigación su aplicabilidad es cuestionable debido a su alta toxicidad, por lo cual el etanol es un solvente más atractivo para realizar estas extracciones ya que tiene propiedades químicas a fines con los metabolitos a extraer, siendo a la vez menos toxico.

Los valores obtenidos del contenido de compuestos fenólicos (mg GAE/100g) son superiores a los reportados para otras fuentes tradicionales de estos metabolitos 11,8 ±6,0 (repollo), 14,4 ±2,6 (espinacas); 10,4 ±7,9 (frijoles) 14,7 ±3,9 (coliflor) y 17,6 ±2,9 (brócoli) por lo cual su inclusión en la dieta puede ser considerada como fuente de compuestos fenólicos en la dieta con los efectos positivos derivados y/o asociados para el beneficio del consumidor.

3.1. Screening fitoquímico de los extractos etanólicos

Los resultados de la caracterización fitoquímica del extracto etanólico en hojas *Moringa oleífera* Lam Tabla 3. El extracto contiene taninos, flavonoides, terpenos y esteroides. No se evidenció la presencia de alcaloides en lo extractos. La formación de un precipitado rojo cuando los extractos fueron tratados con solución Fehling indica la presencia de glucósidos en su composición. Los flavonoides por su actividad antioxidante y microbiana y los fenoles son potentes captadores de radicales libres, antivirales, antimicrobianos y antiinflamatorios 20.

Tabla 3. Análisis fitoquímico de extracto etanólicos de hojas *Moringa oleífera* Lam

Constituyente	Prueba	Resultado	Descripción del resultado
Alcaloides	Ensayo de Mayer Ensayo de Wagner Ensayo de Dragendroff	-	Formación de precipitado blanco Formación de precipitado marrón Formación de precipitado rojo
Flavonoides	Shinoda Reactivo Alcalino	+	Coloración magenta Coloración amarilla/incolora
Glucósidos	Ensayo de Fehling Ensayo de Molich	-	Precipitado rojo Formación anillo violeta
Saponinas	Ensayo de espuma	-	Formación de espuma (< 20 s)
Taninos	Ensayo del cloruro férrico Ensayo de gelatina	+	Precipitado verde oscuro Precipitado blanco
Fitoesteroides	Ensayo de Salkowski Ensayo Liebermann Burchard	+	Coloración amarilla Anillo marrón
Diterpenos	Ensayo de acetato de cobre	+	Coloración esmeralda

Conclusión

Las hojas deshidratadas de *Moringa oleífera* Lam son una fuente de compuestos fenólicos y otros metabolitos secundarios para la dieta. Presentan una calidad nutricional de elevada para el consumo como suplemento dietético, principalmente como fuente de hierro y proteínas.

Referencias bibliográficas

- Ashwell R., Ndhlala, M., Van Staden, J. *Molecules* 15(3): 6905-6930. 2010
- Benzie, I.; Choi, S. *Advances in Food and Nutrition Research* 71: 1-53. 2016.
- Martínez-Flórez, S., González-Gallego, J., Culebras, J., Tuñón, M. *Nutr Hosp.* 17: 271-278. 2002.
- Kyeong, J, Mi-Kyoung, K. *Review Molecule* 15: 7268-7291. 2010
- Gülçin, I. *Toxicol*, 81: 345-391. 2012.
- OLSON, M y FAHEY, J. *Rev. Mex. Biodiv*, 82(4):1071-1082. 2011
- Jayaprakasha, K., Selvi, T., Sakariah, K. *Food Res Int*, 36: 117-122. 2003.
- Goyal, B., Agrawal, B., Goyal, R., Mehta, A. *Natural Products Radiance*, 6 (4): 347-353. 2017.
- Meyer, B., Ferrigni, R.; Putnam, E., Jacobsen, B., Nichols, E., Mc Laughling, J. *Planta Med.* 45 (1): 31-34. 1982.
- Rodriguez E., Gutierrez, E., Quintero, R. *Rev. Cubana Plant Med*, 3: 26-29. 1997.
- Araya H.; Clavijo C.; Herrera C. *ALAN* 56 (4): 361-365. 2006.
- Hernández-Varela, J, Moncayo, A, Fernández, V, Sulbarán, B. *Revista de la Sociedad Química del Perú.* 79 (2): 175-177. 2013
- Singleton, V., Ross, J. *Am. J. Enol. Vitic.* 16: 44-158. 1965.
- Galvan d'Alessandro, A., Kriaa, K., Nikov, I., Dimitrov, K. *Separ Purif Tech* 93: 42-47. 2016.
- Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur, G., Kaur, H. *Int. Pharm. Sci.*, 1(1): 98-106. 2011.
- Japon-Lujan, R., Luque-Rodriguez, J., Luque de Castro, M. *J. Chromatogr. A.*, 110: 76-82. 2006.
- Vinatoru, M. *Ultrason. Sonochem*, 8, 303-313. 2001.
- Valdes-Hernandez, G., Viera, L., Comet-Rodriguez, R. *CENIC* 40: 135-145. 2015.
- Pakade, V., Cukrowska, V., Chimuka, L., *South African Journal of Science*, 109 (3-4): 1-5. 2005
- Marcano, D., Hasegawa, M., Fitoquímica Orgánica. Segunda Edición, Caracas, Venezuela, Ediciones Torino, pp. 117-234. 2002



UNIVERSIDAD
DEL ZULIA

CIENCIA

Vol.26 N°3, 4

*Esta revista fue editada en formato digital y publicada en diciembre de 2018, por el **Fondo Editorial Serbiluz**, Universidad del Zulia. Maracaibo-Venezuela*

www.luz.edu.ve
www.serbi.luz.edu.ve
produccioncientifica.luz.edu.ve