

SCREENING FITOQUÍMICO Y ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE *MORINGA OLEÍFERA*.

JUAN DANIEL RUIZ DÍAZ

• Doctor en Química, Profesor Titular de Fisicoquímica de los Alimentos. Facultad de Ingeniería y Tecnología, Universidad de la Cuenca del Plata, Corrientes, Argentina.

• *E-mail:* ruizdiazjuan_cen@ucp.edu.ar

RÚVEDA, MARÍA FLORENCIA

• Licenciado en Cs. Químicas. Especialista en Calidad. Director del Laboratorio de Química Ambiental, y de LABAPI, FACENA, Universidad Nacional del Nordeste, Corrientes, Argentina.

GRANDO, FRANCISCO FACUNDO MATÍAS

• Becarios, alumnos del último año de la carrera Ingeniería en Alimentos. Facultad de Ingeniería y Tecnología, Universidad de la Cuenca del Plata, Corrientes, Argentina.

Resumen

Este estudio describe, propiedades físicas y algunas sustancias activas de los aceites esenciales obtenidos en tres estaciones diferentes, primavera, verano y otoño de *Moringa oleifera*. Se examinaron

los fenólicos, se realizó un screening fitoquímico y determinación de la actividad antioxidante por dos métodos diferentes FRAP y DPPH. Se encontró que el contenido total en fenol, determinado por el método de Folin-Ciocalteu, de los diferentes aceites esenciales, expresado en mg equivalentes de ácido gálico (GAE) por 100 g de aceite, era *Moringa Oleifera* 1:52.05, *Moringa Oleifera* 2:48.82 y para *Moringa Oleifera* 3:37.23 totales de mg / g de DW, respectivamente. Y los valores de actividad antioxidantes por DPPH %AAR* (\pm) *Moringa Oleifera* 1: 52.67 \pm 0.71, *Moringa Oleifera* 2: 49.19 \pm 0.88, *Moringa Oleifera* 3:38,20 \pm 0.68. De acuerdo con el ensayo fitoquímico, el aceite esencial de Mo de primavera mostró la mayor actividad antioxidante, que podría estar relacionada con su contenido de compuestos fenólicos.

Palabras Claves

- Fitoquímica
- FRAP, DPPH
- Actividad antioxidante
- Fenoles totales

Introducción

El rápido aumento de las enfermedades degenerativas es amenazante, reclamando la vida de millones de personas en todo el mundo. Por lo que representa un reto importante para la salud de la del próximo siglo. Se estima que hasta el 80% de las enfermedades cardiovasculares, el 90% de la diabetes tipo II, y un tercio de los cánceres se pueden evitar cambiando estilo de vida, incluyendo la dieta, [1] [2] [3]. Colesterol alto relacionado con la dieta, presión arterial alta, obesidad y consumo insuficiente de frutas y verduras como factores de riesgo de interconexión significativos que mayo-

ría de estas enfermedades (OMS, 2003).

En la actualidad se cree que las principales causas estas enfermedades son especies químicas altamente reactivas conocidos como radicales libres. Entre los radicales libres notables se pueden citarse las especies de oxígeno reactivo (ROS) tales como Superóxido ($O_2^{\cdot-}$), el radical hidroxilo (HO^{\cdot}) así como la molécula no radical hidrógeno Peróxido (H_2O_2), todos los cuales ocurren en el cuerpo, ya sea como resultado de procesos metabólicos normales o entrar en el cuerpo de fuentes externas. Daño celular causado por reacciones en cadena inducidas por radicales libres parece ser un importante contribuyente al envejecimiento. Enfermedades como cataratas, disminución del sistema inmunitario, disfunción cerebral, cáncer [6] [7] [8] y muchos más la acumulación de ROS en el cuerpo es contrarrestada por diversos compuestos beneficiosos conocidos como antioxidantes que estabilizan o desactivan los radicales libres protegiendo así las células del daño oxidativo [9]. El efecto beneficiario de la salud antioxidantes se atribuye a su capacidad para romper las reacciones en cadena inducidas por radicales libres, un átomo de hidrógeno o un electrón al radical libre y recibiendo el exceso de energía poseído por el activado [10].

Varios estudios han demostrado que una serie de productos que incluyen sustancias polifenólicas (Flavonoides y taninos) y diversas plantas o hierbas, los extractos ejercen acciones antioxidantes [10], [11], [12].

Moringa oleífera pertenece a la familia *Moringaceae* que consiste en un solo género, *Moringa*, que tiene cerca de 14 especies diferentes [13]. La planta es nativa del Cuerno de África Particularmente en el sur de Etiopía, Kenya del Norte Y Somalia oriental [14]. Se encuentra diseminado en una gran parte del planeta; se conoce con diversos nombres comunes: Paraíso blanco, acacia, árbol de las perlas, chinto borrego, flor de Jacinto, paraíso de España, perlas de oriente, libertad, árbol de mostaza, árbol de rábano picante, maringa calalu, marango, marengo, carango, palo jeringa, jazmín marengo, tamarindo cimarrón[15]. Es una planta que se destaca por sus



múltiples usos y adaptación a diferentes condiciones climáticas, constituyendo una opción para la alimentación, sobre todo en los países tropicales. La arbustiva *Moringa oleífera* tiene una gran plasticidad ecológica, ya que es capaz de adaptarse a las más diversas condiciones de suelo y clima. Su valor nutricional y los elevados rendimientos de biomasa, la hacen un recurso fitogenético de importancia en los sistemas de producción. Además es una planta que se puede emplear como cerca viva, cortina rompevientos, abono verde y para la producción de etanol y goma, entre otros; de ahí que sea una especie interesante para el trópico [16]. Tradicionalmente, se utiliza *Moringa oleífera* como antiespasmódico, estimulante, expectorante y diurético. La corteza es abortiva, antifúngica y antibacteriana. Las flores son colágeno, estimulante tónico y diurético, útil para aumentar el flujo de la bilis. Esta planta también es usada tradicionalmente como tónico circulatorio cardíaco y antiséptico [17]. Tiene otros usos como floculante natural ya que contiene cmol WSMoL y lectinas, que son proteínas de unión a carbohidratos capaces de reducir la turbidez del agua debido a su actividad coagulante, también energético como fuente de materia prima de celulosa y de hormonas reguladoras de crecimiento vegetal [18], [19]. Las hojas de moringa tienen grandes cualidades nutritivas [20]. Con respecto a la actividad anticancerígena y antioxidante los estudios revelan que la fruta y las hojas son eficaces para retrasar el crecimiento del tumor, mientras que estudios de supervivencia revelan que las hojas fueron los más efectivos en el aumento del tiempo de supervivencia. Así ingesta diaria de hojas y frutos de esta planta en la dieta puede retrasar el crecimiento del tumor y aumentar la vida útil de los pacientes con cáncer. Además esta planta puede ser utilizada como una medida de protección en los pacientes con cáncer que son sometidos a radioterapia debido a que se ha demostrado la actividad protectora de radio vivo. Estos hallazgos indican un posible potencial de la *Moringa oleífera* en la terapia de tumores, y debido a que refleja mayor actividad antioxidante en comparación con la vitamina E, podría tener un efecto preventivo del cáncer [20]. Los extractos a base de metanol y diclo-

rometano de *Moringa oleífera* poseen actividad antioxidante, atribuyéndose esta actividad a los polifenoles contenidos, siendo los principales: ácido gálico, quercetina y kaempferol. [21].



Figura1- *Moringa oleifera*

Materiales y Métodos

1- Recolección de material vegetal

Se realizó una búsqueda en un herbario de referencia, el herbario CTES (IBONE) para organizar su búsqueda.

Se recolectaron muestras *Moringa Oleifera* de la ciudad de Formosa Capital (26° 11' 0" S, 58° 10' 30" W), en los primeros días de primavera (Mo1), verano (Mo2) y otoño (Mo3).

La recolección se realizó en bolsas de arpillera, reservándose un ejemplar para el depósito en el herbario de referencia. El material vegetal *Moringa Oleifera*, se secaron por venteo colocando hojas de papel diario, para remover la humedad, mantenido en un lugar



fresco y seco, y alejado de los rayos solares para permitir secarse por 7 días. Posteriormente a su secado se separó manualmente la hoja y el tallo, conservando únicamente las hojas, que son el objeto de esta investigación.

2.- EXTRACCIÓN DE LOS ACEITES ESENCIALES

Para la extracción del aceite esencial se hizo mediante destilación por arrastre de vapor de agua, para lo cual se utilizó un equipo Clevenger, Vidrio Borosilicato C/Esmeril 3.3, que consta de 1 trampa para Aceites Esenciales + 1 balón x 3000ml + 2 pinzas con nuez + 1 manto calefactor con regulación de temperatura para balón 3000ml + 1 soporte universal + 1 Erlenmeyer x 250ml, + 10 frascos ámbar con tapa e inserto x 10ml + 2 metros manguera látex como el que se muestra en la figura 1.



Figura2- Equipo Clevenger para destilación de los aceites esenciales

Inicialmente se colocaron 1200 mL de agua bidestilada (Proveedor: FRR), en matraz de ebullición de 3 L de capacidad. Se pesaron 600 g de *Moringa Oleifera* en una báscula modelo (PRECISA 180 A). Una vez armado el equipo de destilación, se enciende el sistema de refrigeración, controlado que la temperatura de enfriamiento de-

be mantenerse como máximo a una temperatura de 6°C. El proceso termina cuando el volumen del aceite esencial acumulado en el florentino no varíe con el tiempo de extracción. A continuación, el aceite es retirado del florentino y almacenado en un recipiente y en lugar apropiado. El *hidrodestilador* es evacua y llenado con la siguiente carga de materia prima vegetal, para iniciar una nueva operación. El tiempo de extracción fue aproximadamente de 3 (tres) horas. Para iniciar la destilación se conecta y enciende la parrilla de calentamiento, la experiencia fue iniciada a una temperatura de 23 °C y presión atmosférica.

Las muestras de AE se secaron con Na₂SO₄, con el fin de eliminar el agua residual y preparar la muestra para el análisis cromatográfico. Se guardaron en frasco ámbar, manteniéndolas refrigeradas a 4 °C. El rendimiento de cada aceite esencial se calculó mediante la fórmula:

$$\% \text{Rendimiento} = (\text{ml Aceite esencial} / \text{masa de material vegetal}) \times 100$$

PROPIEDADES FÍSICAS

1.- Determinación de Densidad

Para la determinación de la densidad, fue utilizada la siguiente fórmula: $\delta = m / V$.

Utilizando un picnómetro de pequeñas dimensiones, utilizando una balanza RDWAG AS 220/C/2 (220g/0,1mg). Las determinaciones se realizaron por triplicado.

2.- Determinación del Índice de refracción.

Se utilizó un refractómetro Bellingham & Stanley. Realizándose tres lecturas con una tolerancia de deben tener una tolerancia de ± 0.0003 .

Antes de depositar la muestra en el refractómetro, se mantiene una temperatura próxima a la que se va a tomar la lectura. Se hace circular una corriente de agua en el refractómetro, con el objeto de que el instrumento esté a la temperatura a la cual se efectuaron las lecturas. Esta temperatura no debe exceder de la de referencia en



± 20°C y estar dentro de ± 0.2°C.

3- Marcha Fitoquímica [23]. [24].

3.1-Alaoides Test Dragendorf (ioduro de bismuto y potasio)

Solución A

0,6 g de subnitrito de bismuto
2 ml de ácido clorhídrico concentrado
10 ml de agua

Solución B

6 g de ioduro de potasio
10 ml de agua
Al momento de uso, mezclar ambas soluciones con 7 ml de ácido clorhídrico concentrado y 15 ml de agua. El total se diluye a 400 ml con agua.

POSITIVO: en presencia de sales de alcaloides, en solución clorhídrica o sulfúrica, un precipitado amorfo de color rojo ladrillo.

3.2.-Fenoles: reacción con FeCl₃

FeCl₃ al 10 % en agua.

POSITIVO: coloración verde a marrón para derivados del catecol, y coloración azulada para derivados del pirogalol.

3.3.- Taninos: Reacción con gelatina/NaCl- placa o tubo

Reactivo: 1 g de gelatina + 100 ml de agua + 10 g de NaCl
Gotas del aceite con el reactivo

POSITIVO: Abundante precipitado indica la presencia de taninos

3.4.- Flavonoides: reacción de Shinoda

Gotas de aceite
Pequeños trozos de Mg metálico

Gotas de HCl ce

POSITIVO: Naranja- flavonas

Rojo –cereza: flavonoles

Violeta: Flavanonas

3.5.- Aminoácidos

Ninhidrina al 0,1 % alcohólica

POSITIVO: color violeta con los aminoácidos.

3.6.- Antranoides: Quininas- reacciones en tubo

Solución al 5 % NaOH

POSITIVO: soluciones amarillas en benceno, viran al rojo en medio alcalino y poseen fluorescencia roja a 365 nm. Sin tratamiento químico todas las antraquinonas dan fluorescencia amarillo o rojo-marrón a 365 nm

3.7.- Cumarinas

Fluorescencia azul, marrón o azul verdosa a 365 nm las cumarinas simples amarillo, marrón o azul o azul verdoso las furano cumarinas y piranocumarinas.

Las cumarinas no sustituidas fluorescen amarillo verdoso luego de tratamiento con KOH o vapores de amoníaco. Las cromonas poseen fluorescencia débil con KOH 5 % alcohólico (Fluorescencia azul a 365 nm).

Los resultados se exponen en la tabla 1.

4-Poder reductor de los extractos (FRAP) [25].

4.1-Preparación de las diluciones.

Se pesó 1 mg de aceite esencial se diluyó en 3 mL de etanol y después en 7 mL de agua destilada. Esta dilución corresponde a 1000 µg de aceite esencial o una concentración de 100 µg/mL. Se toma-



ron 3 mL de la dilución anterior y se diluyó en 1 mL de agua destilada. Esta dilución corresponde a 300 µg o a una concentración de 75 µg/mL de aceite esencial. Se tomó 1 mL de la dilución de 1000 µg y se diluyó en 1 mL de agua destilada. Esta dilución corresponde a 50 µg/mL, y en aceite esencial equivale a haber pesado 100 µg de aceite por haber tomado una décima parte de la solución original. Se tomó 1 mL de la dilución de 1000 µg y se diluyó en 3 mL de agua destilada. La concentración final es de 25 µg/mL, y en aceite esencial equivale a 100 µg de aceite esencial porque se toma la décima parte de la solución original. Se tomó 1 mL de la dilución de 1000 µg y se diluyó en 9 mL de agua destilada. Esta dilución corresponde a 10 µg/mL. Cada una de las diluciones se realizó por triplicado. Al final, se tiene una serie de soluciones con concentraciones de 100, 75, 50, 25 y 10 µg/mL.

4.2 Método de poder reductor.

A cada una de las diluciones se les agregó 2.5 mL de buffer de fosfatos de potasio (0.2 M, pH 6.6) y 2.5 mL de K₃Fe(CN)₆ al 1% W/V en agua, después se incubó a 50 °C por 20 min. Una vez pasado el tiempo de incubación se le agregó 2.5 mL de ácido tricloroacético, al 10% W/V en agua y posteriormente se centrifugó a 3000 rpm por 10 min. De esta solución se tomaron 2.5 mL del sobrenadante y se mezclaron con 2.5 mL de agua destilada. Posteriormente, se agregaron 0.5 mL de FeCl₃ al 1% y se dejó reposar por 10 min, para finalmente medir la absorbancia a 700 nm en un espectrofotómetro de UV/Vis, ver Figura 3

5- Actividad antioxidante (DPPH•)

En una placa de 96 pozos, se añadieron 20 µL de aceite y 0.2 mL del radical 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH•, 125 µM). Se agregaron 0.02 mL de BHT (100 µM) como estándar y como absorbancia control 0.02 mL de DMSO y a cada una se le añaden 0.2 mL de 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH•, 125 µM). Las muestras y los estándares se preparan por triplicado. La placa se mantiene cubierta

y en la oscuridad a temperatura ambiente por 30 minutos y pasado este tiempo, se lee en un espectrofotómetro de ELISA a 545 nm. En este ensayo se analizó el efecto inhibitor, de radicales, por los aceites y se puede observar que los mismos muestran una actividad mayor para *Moringa Oleifera*, para atrapar al radical libre DPPH•. En esta prueba se toma en cuenta el IC₅₀, es decir, el índice de concentración necesario para decolorar en un 50% la concentración inicial de DPPH•, con el fin de tener un parámetro de referencia entre los extractos. En esta prueba hay una concentración constante de DPPH• por lo cual aunque se incremente la concentración del extracto habrá un límite de decoloración. Por otro lado, la presencia de color en los aceites debido a la oxidación de metabolitos secundarios, provoca interferencias al momento de llevar a cabo la lectura del DPPH•, esto puede conducir a una disminución aparente de la actividad antirradical de los aceites.

Con respecto al BHT (Hidroxitolueno butilado), se utilizó como estándar por ser uno de los mejores antioxidantes. En la Tabla 3, podemos observar que a una concentración de 0.26 mg de BHT/mL DMSO tiene una actividad antirradical del 50 %.

Los valores obtenidos guardan relación con la bibliografía de referencia.

$$\% \text{ de inhibición} = \frac{(ADPPH - A \text{ ACEITE})}{ADPPH}$$

Donde *ADPPH* es la absorbancia de la muestra blanco de DPPH y *ACEITE* es la absorbancia de las soluciones preparadas.[26]

6-Determinación de fenoles totales.

Se preparó una solución stock de 1 mg/mL de ácido gálico. Se prepararon las siguientes diluciones para obtener la curva de calibración ver Figura 3. A 20 µL del extracto o estándar correspondiente, por triplicado, se le agregaron 1.5 mL de agua destilada, 100 µL de reactivo de Folin-Ciocalteu, después de 5 minutos se agregaron 300 µL de solución de carbonato de sodio al 20 %, se dejó reposar por 30 min a 40°C.



Posteriormente se midió la absorbencia a 765 nm. La concentración de fenoles se calcula con base en la curva de calibración y se expresó como mg equivalentes de ácido gálico/mL, Tabla 1.

Concentración mg/mL	Solución stock µL	Agua destilada µL
0.00	0	1000
0.05	50	950
0.10	100	900
0.15	150	850
0.20	200	800
0.25	250	750
0.30	300	700
0.40	400	600
0.45	450	550
0.50	500	500

Tabla 1. Diluciones para preparar la curva de calibración de fenoles totales

Discusión de Resultados

Los rendimientos de los aceites esenciales obtenidos de las partes aéreas de *Moringa oleífera* fueron los siguientes: Mo1 (primavera) 0,28%; Mo2 (verano) 0,22 %; Mo3 (otoño) 0,16%, éste último valor es realmente bajo ya que en esta estación la mayoría de las hojas estaban con poco contenido de clorofila.

Los valores de densidad para las muestras fueron para las tres estaciones: 0,984 ±0,01 g/cm³, mostrando bastante coincidencia con lo informado anteriormente [1]. Los valores de índice de refracción obtenidos: ND₂₅= 1,4670.

En cuanto a la marcha fitoquímica

Muestra	Moringa oleífera 1,2,3
Alcaloides	+
Fenoles	+++
Taninos	-
Flavonoides	++
Aminoácidos	+++
Quininas	-
Cumarinas	+

Tabla 2. Resultados de screening fitoquímico.
 +++ resultado colorimétrico altamente positivo.
 +- resultado colorimétrico intermedio
 - resultado negativo

Se han detectado cantidades apreciables de fenoles, flavonoides, aminoácidos y vestigios de cumarinas, coincidentes con investigaciones anteriores en aceites de semillas. [27].

El ensayo de poder antioxidante reductor férrico mide la capacidad de los antioxidantes en las muestras de Moringa para reducir el ferricianuro de potasio, K₃ [Fe (CN) 6], al ferrocianuro de potasio, K₄ [Fe (CN) 6]. La adición de Fe 3+ libre al producto reducido conduce a la formación de ferrocianuro férrico, Fe₄ [Fe (CN) 6] 3, también conocido como complejo azul prusiano de Perl que tiene una absorbancia fuerte a 700 nm. En este sentido, el aumento de la transformación de Fe³⁺ a Fe²⁺ en presencia de una muestra de ensayo implica que la muestra contiene compuestos que dan lugar a electrones y puede por tanto provocar la reducción de los productos intermedios oxidados[28].

Como se muestra en la Figura 3, un aumento de la absorbancia de

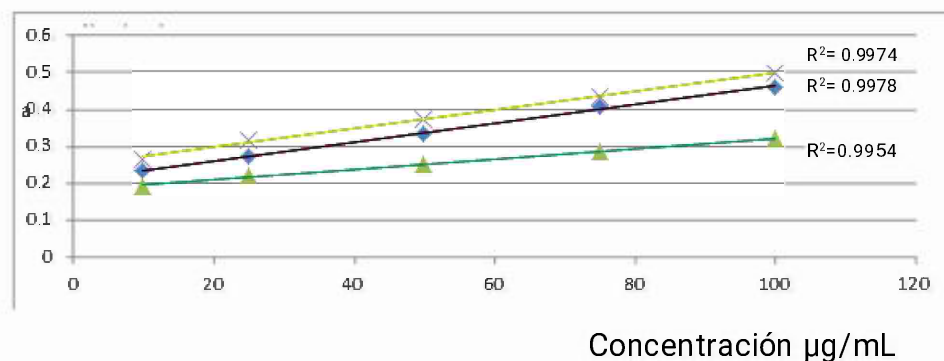


la mezcla de reacción va acompañado de un aumento de la capacidad reductora debido a un aumento en la formación del complejo. Esta observación sugiere que algunos compuestos polifenólicos en los extractos de la muestra son donantes de electrones. Un aumento similar en la reducción de potencia con el aumento de la concentración fue observado en un estudio realizado en extractos metanólicos de pulpa y semilla de *Cassia stula* [29]. Se ha informado de que los extractos fenólicos brutos de hojas de arándanos mostraron un considerable poder reductor, principalmente debido a su efecto como donadores de electrones y de este modo detener las reacciones en cadena radicales convirtiendo radicales libres en productos más estables [30]

Los aceites esenciales de *M. Oleífera*, al presentar poder reductor, consecuentemente tienen la capacidad de donar electrones al Fe³⁺ para convertirlo en Fe²⁺. Esto conlleva, finalmente a decir que dichos aceites tiene actividad antioxidante. Siendo mayor el correspondiente a la estación primavera Mo1.

Cabe señalar que se realizaron estudios preliminares donde se involucraron muestras con concentraciones de extractos superiores a los 100 µg/mL (valores hasta de 500 µg/mL), sin encontrarse cambios importantes en el poder reductor de las mismas.

Figura 3-FRAP Moringa oleífera



Referencias X. Mo1: ◆ Mo2 ▲ Mo3

El barrido del radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil estable (DPPH), que muestra una fuerte absorción a 545 nm, es un método ampliamente utilizado para valorar las actividades antioxidantes en un tiempo relativamente corto en comparación con otros métodos [31]. Las sustancias capaces de donar átomos de hidrógeno o electrones son capaces de convertir el radical libre de DPPH en la forma no radicalmente reducida, una reacción que puede ser monitorizada espectrofotométricamente [32]. La actividad de barrido de radicales libres de los extractos en el presente trabajo se evaluó así también investigando su capacidad para extinguir los radicales libres de DPPH mediante la donación de átomos de hidrógeno o electrones. El blanqueo del color de DPPH es indicativo de la capacidad del extracto de ensayo para eliminar radicales libres.

La Actividad antirradical (DPPH•) de los aceites esenciales estudiados en las diferentes estaciones figuran en, Tabla3, todos tienen actividad antioxidante. En este ensayo se analizó el efecto inhibitor, de radicales, por los aceites esenciales y se puede observar que los correspondiente a la estación de primavera nuevamente muestran una actividad mayor para atrapar al radical libre DPPH•. Dicha actividad, va disminuyendo de acuerdo a la estación de recolección.

En esta prueba se toma en cuenta el IC50, es decir, el índice de concentración necesario para decolorar en un 50% la concentración inicial de DPPH•, con el fin de tener un parámetro de referencia entre los extractos. En esta prueba hay una concentración constante de DPPH• por lo cual aunque se incremente la concentración del extracto habrá un límite de decoloración. Al realizar el análisis estadístico se observó que existe diferencia significativa entre la mayoría de los aceites esenciales. Por otro lado, la presencia de color en los aceites debido a la oxidación de metabolitos secundarios, provoca interferencias al momento de llevar a cabo la lectura del DPPH•, esto puede conducir a una disminución aparente de la actividad antirradical de los extractos. Con respecto al BHT(Hidroxitolueno butilado), se utilizó como estándar por ser uno de los mejores antioxidantes. En la Tabla 3, podemos observar que a una



concentración de 0.26 mg de BHT/mL DMSO tiene una actividad antirradical del 50 %.

Aceite esencial	%AAR* (± 6)++	Concentración de aceite mg/mL
<i>Moringa Oleifera</i> 1	52.67 \pm 0.71	18.12
<i>Moringa Oleifera</i> 2	49.19 \pm 0.88	18.08
<i>Moringa Oleifera</i> 3	38,20 \pm 0.68	17,92
BHT	50.00 \pm 0.90	0.26

*porcentaje de actividad antirradical ++ desviación estándar

Tabla 3- Capacidad antioxidante por DPPH

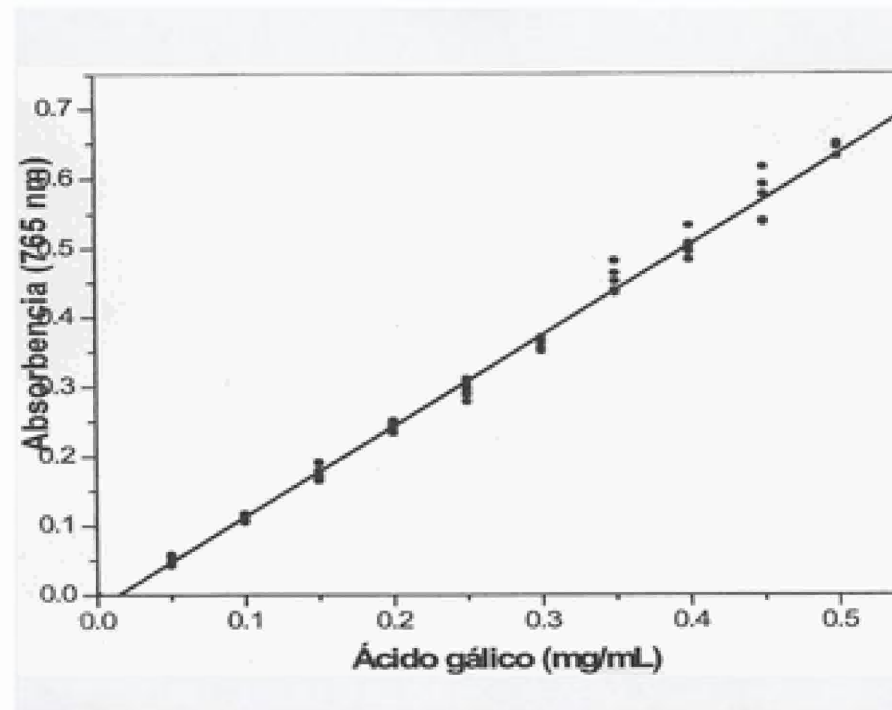
La presencia de reducciones como donadores de electrones y son capaces de convertirlos en un producto más estable y terminando la reacción de radicales libres. La capacidad de reducción del BHT fue (IC50 = 50.00 \pm 0,90 mg / mL). El poder reductor de los distintos aceites esenciales, se debe probablemente, a la acción del grupo hidroxilo de los compuestos fenólicos que podrían actuar como donantes de electrones. Basándose en los resultados de este estudio, el aceite con la mayor actividad antioxidante tuvo la mayor concentración de fenoles Mo1. Los compuestos fenólicos son constituyentes vegetales muy importantes debido a su capacidad de barrido en los radicales libres debido a sus grupos hidroxilo. Por lo tanto, los fenólicos en las plantas contribuyen directamente a su antioxidante.

Determinación de compuestos fenólicos

La aparición de una solución de color azul debido a la reducción de los ácidos fosfo-molibdico y fosfo-tungstático contenidos en el reactivo de Folin-Ciocalteu indica la presencia de compuestos fenólicos en las muestras [33]. La absorbancia del complejo azul se midió a 765 nm. Para estimar el contenido fenólico total, se construyó una curva de calibración de la absorbancia de ácido gálico (a 765 nm) frente a la concentración ($Y = 1.3051X + 0.0183$, $R^2 = 0.9959$). Se encontró que el contenido total en fenol de los diferentes aceites esen-

ciales, expresado en mg equivalentes de ácido gálico (GAE) por 100 g de peso seco (DW) del material de Moringa, era *Moringa Oleifera* 1:52.05; *Moringa Oleifera* 2:48.82 y *Moringa Oleifera* 3:37.23. Estos resultados están dentro del reportados anteriormente [34]. Los informes de la literatura revelan que las condiciones de secado tales como la temperatura y las circunstancias de secado pueden inducir cambios en la composición de los constituyentes químicos que, a su vez, pueden afectar las actividades antioxidantes de los materiales vegetales. Se informó un alto contenido fenólico de la especie *Moringa oleifera* en una muestra liofilizada [35].

En la Tabla 4 podemos observar que, como era de esperarse de acuerdo a los resultados obtenidos para la actividad antioxidante y poder reductor, el aceite de primavera presenta una cantidad mayor de fenoles totales.



$$Y = 1.3051X + 0.0183$$

$$R^2 = 0.9959$$

$$\delta = 0.01699$$

Figura4- Curva de calibración de ácido gálico.

Tabla 4. Contenido de fenoles totales

	Extracto mg /mL	mg/g aceite*
<i>Moringa Oleifera</i> 1	52.05	111.59
<i>Moringa Oleifera</i> 2	48.82	112.34
<i>Moringa Oleifera</i> 3	37.23	115.46

* mg equivalentes de ácido gálico por g de aceite

Las diferencias en el efecto de sobre el contenido fenólico total (aumento o disminución). Puede deberse a la estación de recolección de planta, a las características geográficas y condiciones, composición, procedimientos de extracción, etc.

Conclusión

Los resultados obtenidos concluyeron que los aceites esenciales de *Moringa oleifera*, poseen una alta actividad antioxidante, su alto contenido de fenoles y su origen natural, los hacen promisorio como aditivos nutricionales para la dieta humana.

Bibliografía

- [1] Stampfer, M.J., Hu, F.B., Manson, J.E., Rimm, E.B and Willett W.C. (2000). Primary prevention of coronary heart disease in women through diet and lifestyle. *The New England Journal of Medicine* 343:16-22.
- [2] Hu, F.B. (2001). Diet, lifestyle, and the risk of type II diabetes

mellitus in women. *New England Journal of Medicine* 345:790-797.

- [3] Key, T.J. (2002). The effect of diet on risk of cancer. *Lancet* 360:861-868.
- [4] Halliwell, B. (1994). Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence? *Lancet* 344:721-724.
- [5] Halliwell, B. (1999). Establishing the significance and optimal intake of dietary antioxidants: The biomarker concept. *Nutrition Reviews* 57:104- 113.
- [6] Temple, N.J. (2000). Antioxidants and Diseases: More questions than answers. *Nutritional Research* 20: 449-459.
- [7] Lee, L., Koo, N and Min, D.B. (2004). Reactive oxygen species, aging and antioxidant nutraceuticals. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 3:21-33.
- [8] Sharma, S and Verma, H. N. (2013). *In-vitro* antioxidant activity of seed extracts of *Benincasa hispida*. *Journal of Natural Products and Plant Resources* 3(4): 34-37.
- [9] Tyagi, S. N., Ajeet, R., Saxena, A and Patel, B.D. (2010). *In-vitro* antioxidant activity of methanolic and aqueous extract of *Flacourtia induca* Merr. *American-Eurasian Journal of Scientific Research* 5(3):201-206.
- [10] Osawa, T and Namiki, M. (1981). A novel type of antioxidant isolated from leaf wax of *Eucalyptus* leaves. *Agricultural and Biological Chemistry* 45:735-739.
- [11] Yen, G. C., Wu, S. C and Duh, P. D. (1996). Extraction and identification of antioxidant Components from the leaves of mulberry (*Morus*



alba L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 44:1687-1690.

- [12] Thea, N.S. (2012). Analytical Methods for Determination of the Oxidative Status in Oils. M. Se. Thesis. Norwegian University of Science and Technology.
- [13] Edwards, S., Mesfin Tadesse, Sebsebe Demissewand Hedberg, I. (2002). Flora of Ethiopia and Eritrea: *Mangnoliaceae to flacourtiaceae*. The National Herbarium, Ethiopia. 2(1):155-163.
- [14] Mohammed Adefa Seid. (2013). Medicinal and dietary role of *Moringa stenopetala* (Bak.f.) Cuf.in South Ethiopia. *African Journal of Agricultural Science and Technology* 1:1-6.
- [15] Alfaro N, Martínez W, Román A, Bressani R, Solórzano J, Chajón V, Pelico I, Sem A, Guzmán R et al. (2006). Rendimiento y uso potencial de Paraíso blanco, *Moringa oleífera* en la producción de alimentos de alto valor nutritivo para su utilización en comunidades de alta vulnerabilidad alimentario – nutricional de Guatemala. Secretaria Nacional de Ciencia y Tecnología,
- [16] Pérez A, Sánchez T, Armengol N, Reyes F. (2010), Características y potencialidades de *Moringa oleifera*, Lamark. Una alternativa para la alimentación animal. *Pastos y Forrajes* 33(4): 1-1
- [17] Acosta L, Aliaga R, Pérez D, Chacón E, Ayala H, Bernal H, et al.(2000). Fundamento de Agrotecnología de cultivo de Plantas Medicinales Iberoamericanas. 1ra ed. Santa Fe de Bogotá: Álvaro Campo Cabal y Henry Yesid Bernal.
- [18] Foidl N, Mayorga L y Vásquez W.(2003). Utilización del marango (*Moringa oleifera*) como forraje fresco para ganado. Conferencia electrónica de la FAO sobre “Agroforestería para la producción animal en Latinoamérica” Managua Nicaragua.

- [19] Corrêa L, Santos J, Napoleão T, Barreto F, Souza A, Moura M, Cavalcanti M, Breitenbah L, Gonçalves T. (2013). Evaluation of Cytotoxic and Anti-inflammatory Activities of Extracts and Lectins from *Moringa oleífera* Seeds. 8 (12): 1-15.
- [20] Magaña W, (2012).Aprovechamiento Poscosecha de la moringa (*Moringa oleífera*). Rev. Iber.
- [21] Purwal L, Pathak A, Jain U. (2010). In vivo Anticancer Activity of the Leaves and Fruits of *Moringa oleífera* on mouse melanoma. *Pharmacology on line* (Internet) 1(1): 655-665. Disponible en: <http://pharmacologyonline.silae.it/files/archives/2010/vol1/66.Jain.pdf>
- [22] Charoensin S. (2014). Antioxidant and anticancer activities of *Moringa oleífera* leaves. *Journal of Medicinal Plant Research* (Internet). 8(7): 318-325.
- [23] Fabiola,R., (2002). Tesis UNSM.http://investigación.y.desarrollo.blogspot.com/2010/11/unms-tesis-digitales-facultad-de_1891.html.
- [24] Wagner,H. (2001).Plant Drug Analysis. A thin layer chromatography atlas. 2ª edition. Springer- Verlag. Berlin Heidelberg. New York.
- [25] Atawodi, S.E., Atawodi, J.C., Idakwo, G.A., Pfundstein, B., Haubner, R., Wurtele, G., Bartsch, H and Owen, R.W. (2010). Evaluation of the polyphenol content and antioxidant properties of methanol extracts of the leaves, stem, and root barks of *Moringa oleifera* Lam. *Journal of Medicinal Food* 13(3): 710-716.
- [26] Gulluce M, Sokmen M, Sahin F, Sokmen A, Adiguzel A, OzerH (2004) Biological activities of the essential oil and methanolic extract of *Micromeria fruticosa* (L) Druce ssp *serpy llifolia* (Bieb) PH davis plants from the Eastern Anatolia region of Turkey. *J Sci Food Agric* 84:735–741



- [27] Amina A. Aly • Rabab W. Maraey1 • Hoda G. M. Ali (2016). Fatty Acids Profile and Chemical Composition of Egyptian *Moringa oleifera* Seed Oils J Am Oil Chem Soc 93:397–404
- [28] Sayed, A.E., Mohamed, S.M.E and Abdel-Tawab, H.M. (2011). Phenolic metabolites from *Acacia nilotica* owers and evaluation of its free radical scavenging activity. *Journal of American Sciences* 7(3):287-295.
- [29] Irshad, Md, Zafaryab, MD., Singh, M., Moshahid, M and Rizvi, A. (2012). Comparative analysis of the antioxidant activity of *Cassia stula* extracts. *International Journal of Medicinal Chemistry* doi:10.1155/2012/157125, 1-6.
- [30] Naczka, M. R., Amarowicz, R., Zadernowski, R., Pegg, R. B and Shahidi F. (2003). Antioxidant activity of crude phenolic extracts from wild blueberry leaves. *Polish Journal of Food and Nutrition Science* 12: 166–169.
- [31] Rajesh, P., Patel, M and Natvar, J. (2011). In-vitro antioxidant activity of coumarin compounds by DPPH, super oxide and nitric oxide free radical scavenging methods. *Journal of Advanced Pharmacy Education and Research* 1:52-68.
- [32] Hounsome N, Hounsome B, Tomos D, Edwards-Jones G. Changes in antioxidant compounds in white cabbage during winter storage. *Postharvest Biology and Technology* 2009; 52: 173-179.
- [33] Rusak, G., Komes, D., Likic, S., Horzic, D and Kovac, M.(2008). Phenolic content and Antioxidative capacity of green and white tea extracts depending on extraction conditions and the solvent used. *Food Chemistry* 110:852–858.
- [34] Shih, M-C., Chang, C-M., Kang S-M and Tsai, M-L. (2011). Effect

of different parts (leaf, stem and stalk) and seasons (summer and winter) on the chemical compositions and antioxidant activity of *Moringa oleifera*. *International Journal of Molecular Sciences* 12:6077-6088.

- [35] Siddhuraju, P and Becker, K. (2003). Antioxidant properties of various solvent extracts of total phenolic constituents from three different agroclimatic origins of drumstick tree (*Moringa oleifera* Lam.) leaves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51:2144-2155.

