

## **Capacidad antioxidante de extractos acuosos de hojas de moringa y elaboración de una bebida funcional**

Antioxidant capacity of aqueous extracts of moringa leaves and design of a functional drink

Edilberto Flores-Aguilar<sup>1\*</sup> <https://orcid.org/0000-0003-0344-3715>.

Emille del Pilar Flores-Rivera<sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0002-7486-9601>

<sup>1</sup>Universidad Católica de Santa María, Arequipa, Perú.

\*Autor para correspondencia: correo electrónico: edicato@yahoo.es

### **RESUMEN**

Compuestos bioactivos de interés se hallan disponibles en diversas partes de las plantas; su extracción y estabilidad es importante en la preparación de alimentos funcionales. Se evaluaron las características antioxidantes de los extractos acuosos de hojas de *Moringa oleífera*. Diversos métodos de extracción: caliente, enzimática, con ultrasonido y microondas fueron evaluados con la finalidad de seleccionar el método más conveniente con el cual se diseñó y preparó una bebida. La estabilidad antioxidante de la bebida fue evaluada durante 28 d a 10, 25 y 35°C. Se determinó que el método más adecuado fue la extracción en caliente a 85°C con una concentración de 0,5 % de hojas de moringa. La bebida tuvo un porcentaje de retención del 90 %, 91 % y 84 % en fenoles totales, CA Cuprac y % de Inhibición DPPH\* a 25°C con respecto a su contenido inicial y un tiempo de vida media de 6,4 meses en el contenido de fenoles totales. En el periodo evaluado, la bebida mostró características sensoriales aceptables.

**Palabras clave:** *Moringa Oleifera*; antioxidantes; enzimas; ultrasonido; microondas; extracción.

## **ABSTRACT**

Bioactive compounds of interest are available in various parts of plants; its extraction and stability are important in the preparation of functional foods. In this work, the antioxidant characteristics of the aqueous extracts from *Moringa oleifera* leaves were evaluated. Various extraction methods. hot, enzymatic, with ultrasound and microwaves were evaluated in order to select the most convenient method to prepare a drink. Furthermore, the antioxidant stability of the drink was evaluated for 28 days at 10, 25 and 35 °C. It was determined that the most suitable method was hot extraction at 85 °C with a concentration of 0,5 % of moringa leaves. The drink showed a retention percentage of 90 %, 91% and 84 % in total phenols, CA Cuprac and % DPPH \* inhibition at 25 ° C with respect to its initial content and a half-life time of 6,4 months in the content of total phenols. In the evaluated period, the drink showed acceptable sensory characteristics.

**Keywords:** *Moringa Oleifera*; antioxidants; enzymes; ultrasound; microwave; extraction.

Recibido: 15/12/2021

Aceptado: 08/04/2022

## **Introducción**

*Moringa Oleifera* es una planta herbácea con múltiples usos, sus hojas son comestibles y contienen diversos fitoquímicos de interés terapéutico como vitaminas, carotenoides, polifenoles, ácidos fenólicos, flavonoides, alcaloides, glucosinolatos, isotiocianatos, taninos, saponinas, oxalatos y fitatos de interés terapéutico.<sup>(1, 2)</sup> Los extractos de hojas exhiben propiedades antioxidantes,

estudios en animales para evaluar la capacidad antioxidante de extractos de hojas acuosas indican un alto grado de seguridad. No se informaron efectos adversos en asociación con estudios en humanos.<sup>(3)</sup>

Se considera el grupo de los flavonoides como el que más contribuye a la actividad antioxidante.<sup>(4)</sup> Los flavonoides de origen natural tienen relativamente baja toxicidad, por esta razón es de interés extraer flavonoides de las plantas empleando diversos métodos de extracción.<sup>(5)</sup>

Existen diversos métodos no convencionales para la extracción de flavonoides de diversas partes de las plantas.<sup>(5, 6)</sup> La extracción por ultrasonido se caracteriza por acelerar la extracción y mejorar los procesos de transferencia de masa debido a la alta potencia ultrasónica que desagrega partículas, reduciéndolas a micro y nano partículas de manera uniforme en el líquido favoreciéndose la disolución de componentes. Las enzimas se utilizan con el propósito principal de alterar la estructura de la pared celular y mejorar el rendimiento de extracción en jugos. El empleo de microondas en los procesos de extracción genera calor debido a la interacción entre las ondas electromagnéticas y las moléculas de agua presentes en los alimentos, las moléculas de agua rotan por efecto de las microondas favoreciendo los procesos de disolución. <sup>(5,6)</sup> La literatura señala el empleo de estos métodos a nivel experimental utilizando solventes orgánicos en la extracción, principalmente soluciones hidroalcohólicas empleando etanol y metanol.<sup>(5)</sup> En la preparación de bebidas funcionales no alcohólicas la presencia de alcohol en los extractos limitaría su empleo directo en la elaboración de este tipo de bebidas.

Las bebidas funcionales en la industria de alimentos son aquellas que ofrecen beneficios para la salud y comprenden una variedad de productos, dentro de ellas las bebidas de té, disponibles en el mercado, las hojas de té contienen alto contenido de catequinas y flavonoles. Distintas especies vegetales son propicias para su empleo en la preparación de bebidas, dentro de ellas las hojas de moringa que presenta un amplio espectro de ingredientes fitoquímicos y que muestran actividad antioxidante.

Los métodos convencionales de infusión y decocción son mayormente empleados en la extracción de flavonoides de diversas partes de las plantas, el primero consiste en agregar agua hirviendo o caliente sobre la muestra y dejarla en reposo, en la decocción la muestra se calienta en el agua desde un inicio hasta ebullición y se mantiene así por un tiempo determinado dejando luego en reposo.<sup>(7,8)</sup> La temperatura en esos procesos es variable, en la infusión la temperatura va disminuyendo en el reposo y en la decocción parte de la planta es sometida a un sobrecalentamiento que implica el tiempo en llegar a ebullición adicionado al tiempo en la cual se mantiene a esa temperatura y el tiempo de reposo, que degradan el contenido de flavonoides extraídos.<sup>(8)</sup>

Teniendo en cuenta las consideraciones anteriores los objetivos principales del presente trabajo fueron:

- 1- Comparar diversos métodos de extracción acuosa de hojas de moringa determinando la capacidad antioxidante y el contenido de fenoles totales en los extractos obtenidos empleando la extracción en caliente a temperatura constante, extracción enzimática, por ultrasonido y microondas
- 2- Evaluar la estabilidad antioxidante y la aceptación sensorial de una bebida a base de hojas de moringa elaborada con el mejor método de extracción.

## **Materiales y métodos**

### **Materia prima y tratamiento**

Diez kilogramos de ramas de la planta de moringa fueron recolectados de manera aleatoria del Fundo de la Universidad Católica de Santa María, Distrito del Pedregal Majes (S16°21'10,01" O72°17'46,93"), Arequipa – Perú. Previo tratamiento de lavado y secado bajo sombra, las hojas de moringa se envasaron y se conservaron a -18°C hasta su uso.

El secado se realizó durante 5d de secado bajo sombra, siendo el rendimiento de 15,9 % como hojas con respecto al peso inicial de ramas, con una humedad de

7,3 %, mucho menor del 12 %, límite máximo de humedad para el caso de hierbas aromáticas.<sup>(9)</sup> Las hojas de moringa secadas bajo sombra conservan sus propiedades fitoquímicas mejor que el secado solar y con aire caliente, pero en menor grado que la liofilización.<sup>(10)</sup>

### **Métodos de extracción**

**Extracción acuosa en caliente (EC):** las hojas de moringa (0,5, 1 y 2 % m/v) fueron sometidas a procesos de extracción a temperaturas de 85 °C y 92 °C a 3, 5, 8, 10, 12 y 15 min, después del cual las muestras son enfriadas.

**Extracción enzimática (EE):** la extracción se realizó a 40°C a baño María (Memmert WN22) durante 2 h. Las hojas trituradas de moringa (1 %) se hidrataron por 10 min en 100 ml de agua destilada. La solución enzimática se preparó disolviendo 100 µl de la enzima Pectinex Ultra Clear (Sigma) en agua destilada en un volumen final de 10 mL; se dosificó a cada frasco 0, 0,5, 1, 1,5 y 2 mL, que corresponden a 0, 5, 10, 15 y 20 µL de la enzima respectivamente.

**Extracción asistida con Ultrasonido (EU):** 1 g de hojas trituradas de moringa (1 %) se colocaron en 100 ml de agua destilada, la extracción se realizó empleando un procesador de ultrasonido (UP 100HP, 100 Watts, frecuencia 30 KHz, Hielscher Ultrasonics GmbH), se aplicó una amplitud de 100 %, pulsos: 0,6 y 1,0, tiempo: de 5, 10, 15 min en cada caso.

**Extracción asistida con microondas (EM):** 1 g de hojas trituradas de moringa (1 %) se colocaron en 100 ml de agua destilada cubierta con una luna de reloj. La muestra fue colocada en el plato del microondas (LG Intelowave grill: Potencia 800 W) y se expuso por 30 s (1 ciclo) a la energía del microondas, después de la exposición la muestra se enfrió a temperatura ambiente. Para la aplicación de un nuevo ciclo la muestra enfriada se colocó nuevamente en el microondas y así sucesivamente según el número de ciclos aplicado. Se realizaron extracciones con 2, 3, 5, 7, 9 y 11 ciclos.

Al final de los procesos de extracción las muestras fueron prensadas, filtradas y centrifugadas. Antes de realizar los análisis de las muestras se repuso a las muestras el agua a evaporada.

### **Elaboración de la bebida y evaluación de su estabilidad**

**Elaboración de la bebida:** el extracto acuoso se pasteurizó por 10 min a 85 °C; antes de su finalización se añadió 100 ppm, 0,25 g/L, 0,4 g/L y 3 mL de sorbato de potasio, ácido cítrico, stevia y saborizante de naranja, respectivamente. Se evaluaron las características antioxidantes y propiedades fisicoquímicas de la bebida además de sus características sensoriales; se compararon las características antioxidantes con la de dos bebidas comerciales elaboradas con té verde.

**Estabilidad de la bebida:** la estabilidad antioxidante de las bebidas fue evaluada durante 28 d a 10, 25 y 35 °C. Se evaluaron las características antioxidantes, propiedades fisicoquímicas: pH, acidez y características sensoriales empleando una escala hedónica de 7 puntos donde 1: Me disgusta mucho y 7: Me gusta mucho.<sup>(11)</sup>

Los parámetros cinéticos de velocidad  $k$  ( $d^{-1}$ ) de degradación se calcularon a partir de la variación del contenido de fenoles totales, CA Cuprac y el % de inhibición DPPH\* durante 28 d, efectuando los análisis cada 7 d, las ecuaciones resultantes permiten hallar los valores de  $k$  ( $d^{-1}$ ) y el coeficiente de determinación  $r^2$ , el tiempo de vida media se estimó considerando una atenuación del 50 % en el contenido de fenoles totales.

### **Métodos de análisis**

El contenido de fenoles totales y la CA Cuprac (Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity) fue determinado según lo señalado por la literatura.<sup>(12)</sup>

El porcentaje de inhibición, I (%) DPPH\*, fue determinado con algunas modificaciones de acuerdo a lo señalado por algunos autores.<sup>(13)</sup>

La claridad de los extractos se determinó por medio de su transmitancia en un espectrofotómetro Shimadzu UV-1800 a 650 nm.

Las determinaciones de pH y acidez se realizaron por duplicado y las características antioxidantes por triplicado determinándose el promedio y la desviación estándar. Se utilizó programas informáticos Microsoft Excel.

## **Resultados y discusión**

### **Resultados y análisis de la aplicación de los métodos de extracción acuosa**

La tabla 1 muestra los resultados del contenido de fenoles, CA Cuprac y el % de inhibición DPPH\* en la EC. Se observa un incremento en el contenido de fenoles cuando aumenta la concentración de 0,5 % a 2 % de hojas de moringa, resultados con la misma tendencia fueron observados en bebidas funcionales a base de moringa y chía, cuando la concentración de extracto de moringa empleado aumenta de 0,26 a 0,43 % en la formulación.<sup>(14)</sup>

La extracción a 92 °C generó un mayor contenido de fenoles con 1 % de hojas de moringa, lo cual se atribuye a la ruptura de las células por acción de la temperatura permitiendo una mayor solubilidad de sustancias en el medio acuoso, sin embargo, se apreció turbidez en los extractos obtenidos. Los valores de transmitancia variaron de 74,7 a 22 % a 92 °C, de 96 a 95,7 % a 85 °C, a los 3 y 15 min de extracción y con 1 % de hojas de moringa. En extractos con 0,5 % de hojas de moringa y 85 °C la variación de transmitancia fue de 98,5 a 97,55 % en los tiempos indicados. Se aprecia buena transparencia en los extractos obtenidos a 85°C al 1 y 0,5 % de hojas de moringa.

Considerando los valores iniciales de fenoles totales como 100 % se observa un mayor incremento de extracción ( $\Delta$  %) en función del tiempo de extracción cuando la concentración de hojas de moringa es de 0,5% a 85 °C, y que corresponde a una mayor dilución con respecto a las demás preparaciones. Algunos autores <sup>(15)</sup>

emplearon etanol a 60 % como solvente y observaron la misma tendencia a incrementar la dilución (soluto-disolvente) de 1:25 a 1:35 en la extracción de hojas logrando mayores niveles de extracción de polifenoles totales.

**Tabla 1-** Análisis de extractos obtenidos en la extracción acuosa en caliente

Tiempo (min)	92°C				85°C			
	2%		1%		1%		0,5%	
	µmol TR/l	Δ (%)	µmol TR/l	Δ (%)	µmol TR/l	Δ (%)	µmol TR/l	Δ (%)
Fenoles totales								
3	9935,0±96,3	100	5442,5±40	100	4466,9±40,6	100	2512,5±26,6	100
5	10451,9±91,9	105	6178,8±115	114	5359,4±39,4	120	3235,0±38,9	129
8	10635,0±160	107	6425,0±57,5	118	5680,6±85,2	127	3538,1±45	141
10	10754,4±122	108	6413,1±57,7	118	5506,3±91,3	123	3492,6±39,7	139
12	10443,8±126,9	105	6510,0±133	120	6057,5±60,6	136	3511,0±50	140
15	10016,3±90,1	101	6608,1±65,3	121	6357,5±42,5	142	3823,2±55	152
CA Cuprac								
3	8677,0±98,1	100	4541,1±75	100	3445,6±51,6	100	1459,3±53,3	100
5	10082,3±44,8	116	4653,4±73,7	102	4070,0±26,6	118	1999,4±38,8	137
8	10390,7±90,9	120	5096,0±41,6	112	4556,0±75	132	2204,2±75,3	151
10	10004,4±113,6	115	5236,6±130	115	4705,4±84,1	137	2156,3±116,7	148
12	10273,2±105	118	5405,1±40,3	119	4967,1±83,4	144	2200,4±85,2	151
15	10335,5±120	119	5445,4±95	120	4863,5±91,6	141	2458,4±35	168
% Inhibición DPPH*								
	I (%)	Δ (%)	I (%)	Δ (%)	I (%)	Δ (%)	I (%)	Δ (%)
3	37±0,2	100	25,3±0,3	100	18±0,8	100	6±0,1	100
5	42±0,5	114	26,1±0,3	103	20±0,3	115	8±0,3	131
8	44±0,4	118	26,9±0,9	106	23±0,8	128	9±0,2	145
10	52±0,8	140	28,1±1	111	20±0,3	113	9±0,1	142
12	51±0,3	137	29±0,5	115	19±0,6	110	8±0,3	135
15	52±1,3	140	29,2±0,6	115	20±0,3	115	10±0,2	158

Los resultados de CA Cuprac y del % de Inhibición DPPH\* hallados mostraron un comportamiento similar con mayores incrementos de extracción a 85°C con 0,5 % de hojas de moringa. Se observó una relación directa entre el contenido de fenoles totales y la CA Cuprac siendo los coeficientes de correlación de Pearson calculados de 0,999 (0,5 % de hojas de moringa, 85 °C), 0,930 (1 % hojas de moringa, 85 °C), 0,849 (1 % hojas de moringa, 92 °C), 0,569 (2% hojas de moringa y 92 °C). Para 85 °C, 0,5 % de hojas de moringa se obtuvo un coeficiente de correlación de 0,999 entre el contenido de fenoles y el % de Inhibición DPPH\*. Otras investigaciones reportan una relación directa entre el contenido de flavonoides y el % de captura del radical libre DPPH\* en extractos obtenidos a



partir de hojas de sauco <sup>(16)</sup> y un coeficiente de correlación de 0,913 entre el contenido de flavonoides y la capacidad antioxidante DPPH\* en extractos de hojas de camote.<sup>(17)</sup>

El extracto acuoso de 2 % de moringa es de color amarillo oscuro y posee un sabor tánico que se intensifica con el tiempo de extracción, incrementando la turbidez. Al respecto se encontró que infusiones de hojas de moringa obtenidas a 75 °C/20 min y 65 °C/30 min., no mostraron diferencias en color y sabor; sin embargo, infusiones obtenidas a 95 °C/10 min presentaron mayor turbidez y menor contenido de polifenoles.<sup>(18)</sup> Los extractos acuosos de hojas de moringa contienen isotiocianatos, diversos tipos de fenoles, glucosinolatos, rutina, catequinas, entre otros <sup>(19,20)</sup> por lo que los resultados hallados expresan la presencia de diversos metabolitos en los extractos acuosos obtenidos que denotan actividad antioxidante.

Los resultados obtenidos con el método de EE no fueron relevantes (tabla 2), esto se debe al tiempo (2 h) y temperatura de extracción (40 °C) y no a la acción de la enzima sobre las muestras. Es importante considerar el tipo de muestra sobre la cual la enzima actúa.

**Tabla 2-** Análisis de extractos acuosos obtenidos por acción enzimática

Solución Enzimática (ml)	1% hojas de moringa					
	Fenoles totales		CA Cuprac		% Inhibición DPPH*	
	µmol TR/l	Δ (%)	µmol TR/l	Δ (%)	I (%)	Δ (%)
0	6583,8±53	100	3375,3±84,4	100	11,3±0,3	100
0,5	6518,2±130,6	99	3344,9±66,9	99	11,4±0,3	101
1	6562,5±67,2	100	3389,2±104,8	100	11,4±0,3	101
1,5	6474,4±73,2	98	3333,2±74,7	99	11,3±0,3	100
2	6284,4±90,6	95	3313,9±104	98	11,4±0,1	101

El método de EU demostró que una máxima intensidad y un pulso continuo de 1 frente a un pulso de 0.6 mejoran los procesos de extracción acuosa (tabla 3). La aplicación del ultrasonido generó calor, llegando a una temperatura de alrededor de 40 °C después de 10 min de aplicación. Se observa mayor capacidad antioxidante con el tiempo de extracción. Sin embargo, los extractos muestran

problemas de turbidez, los valores de transmitancia fueron de 81, 62, 34% (pulso 1), y de 95, 85, 81% (pulso 0,6) para 5, 10 y 15 min de extracción. La aplicación de ultrasonido y su eficiencia en los niveles de extracción dependen de factores como la matriz y/o, el tipo de solvente empleado, entre otros.

**Tabla 3-** Análisis de extractos acuosos obtenidos con extracción asistida por ultrasonido

Tiempo (min)	Hojas de moringa 1%, Amplitud 100 %			
	Pulso 0,6		Pulso 1	
	$\mu\text{mol TR/l}$	$\Delta$ (%)	$\mu\text{mol TR/l}$	$\Delta$ (%)
	Fenoles totales			
5	7663,8 $\pm$ 70	100	8215,3 $\pm$ 168,4	100
10	7880,1 $\pm$ 86,3	103	8382,2 $\pm$ 210,1	102
15	8080,7 $\pm$ 160,9	106	8585,8 $\pm$ 190,1	105
	CA Cuprac			
5	3319,7 $\pm$ 64,3	100	3889,3 $\pm$ 32,1	100
10	3572,8 $\pm$ 76	108	3976,8 $\pm$ 79,5	102
15	3908,8 $\pm$ 114,5	118	4103,4 $\pm$ 58,8	106
	Inhibición DPPH*			
	I (%)	$\Delta$ (%)	I (%)	$\Delta$ (%)
5	6,8 $\pm$ 0,19	100	8,0 $\pm$ 0,2	100
10	6,8 $\pm$ 0,12	100	9,3 $\pm$ 0,3	116
15	7,4 $\pm$ 0,17	109	9,6 $\pm$ 0,2	120

La EM (800 W) fue favorecida con el aumento de ciclos aplicados (tabla 4). Asimismo, el porcentaje de extracción con respecto al valor inicial se incrementó alcanzando valores máximos al séptimo ciclo (3.5 min de aplicación de microondas). Es importante señalar el aumento de temperatura por efecto de la radiación aplicada (20 a 65 °C) en cada ciclo. En la extracción de fenoles totales, taninos y flavonoides de hojas de jaca, se obtuvo un buen rendimiento a 900 W; sin embargo, extracciones hechas a 600 W y 1200 W reducen el rendimiento de la extracción por exceso o defecto de radiación aplicada; un exceso genera un sobrecalentamiento interno, afectando la estructura de compuestos fenólicos.<sup>(21)</sup>

**Tabla 4-** Análisis de extractos acuosos obtenidos con extracción asistida con microondas

Ciclos	1%					
	Fenoles totales		CA Cuprac		% Inhibición DPPH*	
	$\mu\text{mol Tr/l}$	$\Delta$ (%)	$\mu\text{mol Tr/l}$	$\Delta$ (%)	I (%)	$\Delta$ (%)
2	2719,4 $\pm$ 31,9	100	1796,7 $\pm$ 28	100	8,3 $\pm$ 0,1	100
3	4056,3 $\pm$ 32,5	149	2500,4 $\pm$ 38,2	139	10,6 $\pm$ 0,1	128
5	4643,8 $\pm$ 40	171	2921,5 $\pm$ 30	163	13,0 $\pm$ 0,1	157
7	5510,0 $\pm$ 50	203	3486,2 $\pm$ 40	194	16,0 $\pm$ 0,1	193
9	5331,9 $\pm$ 55	196	3233,9 $\pm$ 45	180	14,0 $\pm$ 0,2	169
11	5486,3 $\pm$ 39	202	3401,7 $\pm$ 39	189	15,1 $\pm$ 0,2	182

Al comparar los diversos métodos de extracción (figura 1) se observó que la cantidad de fenoles obtenidos empleando EU dentro de los métodos no convencionales fue la que obtuvo mejores resultados. Sin embargo, los extractos muestran turbidez. Los resultados en fenoles totales son altos en la EC a 92 °C con 1 y 2 % de hojas de moringa, pero sus extractos muestran problemas de turbidez que no se presentan en la EC al 1 % y 0,5 % de hojas de moringa a 85 °C. Al observar el  $\Delta$  % de extracción con respecto al método empleado se observa que la EU tiene un  $\Delta$  % bajo; sin embargo, muestra mayor eficacia por el contenido de fenoles extraídos respecto a los demás métodos por efecto de la alta energía transmitida en la extracción; concentraciones al 0.5 % de hojas de moringa muestran mayor  $\Delta$  (%) que el resto, se resalta la EM por el corto tiempo aplicado (7 ciclos equivalentes a 3,5 min), en cambio el contenido de fenoles totales es menor comparado con los métodos de EC y la EU al 1 %. La EE no fue favorable, toda vez que sus resultados son similares al blanco sin enzima.

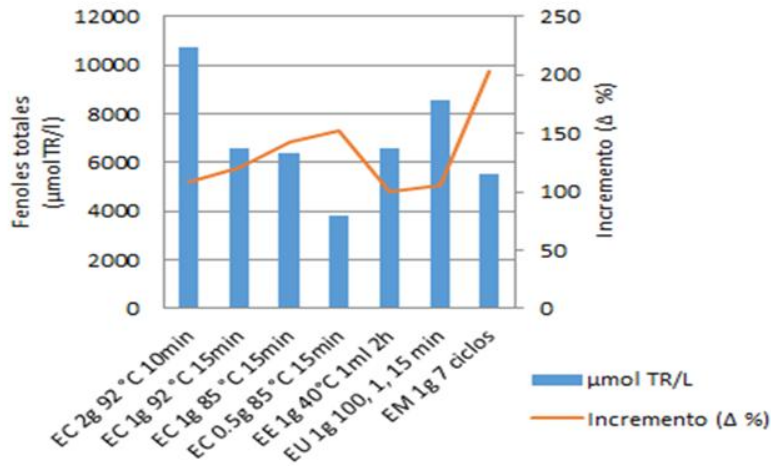


Fig. 1- Comparación de diversos métodos de extracción

## Comparación con muestras comerciales y elaboración de la bebida

De los métodos no convencionales evaluados, la EU alcanza altos valores de extracción; sin embargo, sus extractos muestran turbidez, su aplicación a nivel industrial presentaría además limitaciones en cuanto al dimensionamiento de sus equipos, por lo que la EC muestra ventajas sobre ellos.

En la comparación de las características antioxidantes con muestras comerciales Prototipo A y B (bebidas de té verde, tabla 5) cuyas características antioxidantes fueron determinadas en este trabajo y los extractos acuosos de hojas de moringa con 1 y 0,5 % de hojas de moringa obtenidos a 85 °C con un tiempo de extracción de 8 min y que muestran altos valores en el menor tiempo de extracción (tabla 1), se observa que los extractos acuosos de hojas de moringa con 1 % poseen mayor capacidad antioxidante que las muestras comerciales; los extractos al 0,5 % obtenidos muestran resultados similares e incluso superiores al producto comercial A.

Tabla 5- Análisis comparativo con muestras comerciales

Producto	Fenoles ( $\mu\text{mol TR/l}$ )	CA Cuprac ( $\mu\text{mol TR/l}$ )	% Inhibición DPPH*
Prototipo A	2468,8 $\pm$ 22,5	1106,1 $\pm$ 29,2	5,1 $\pm$ 0,2
Prototipo B	4055,0 $\pm$ 47,5	2217,5 $\pm$ 21,1	11,1 $\pm$ 0,3
Moringa 0,5 %	3538,0 $\pm$ 120	2204,0 $\pm$ 75,3	9,0 $\pm$ 0,1
Moringa 1 %	5680,6 $\pm$ 180,6	4556,0 $\pm$ 75	22,6 $\pm$ 0,6

Los extractos de hojas de moringa a 1 % obtenidos a 85 y 92 °C poseen un sabor herbáceo similar a haba cruda por lo que se consideró emplear una concentración de 0,5 % de hojas de moringa. Filtrantes comerciales de diversas especies de hierbas aromáticas (te puro, boldo, hierba luisa, manzanilla, anís) contienen entre 0,9 y 1,4 g de hierba contenidos en una bolsita para una taza, que equivalen a una concentración de 0,3 a 0,5%. Trabajos similares señalan que la capacidad antioxidante es mayor en infusiones de hojas de moringa obtenidas a menores tiempos que en una decocción.<sup>(8)</sup> Considerando tales observaciones se preparó una bebida a una concentración de 0,5% de hojas de moringa y una temperatura de extracción de 85 °C en un tiempo de 8 min.

Después de la pasteurización el contenido de fenoles totales fue de 3422,1  $\pm$  44  $\mu\text{mol TR/L.}$ , CA Cuprac de 1 916,3  $\pm$  40,4  $\mu\text{mol TR/L}$  y un % de inhibición DPPH\* de 7,6  $\pm$  0,1%.

### **Estabilidad de la bebida**

La estabilidad de la bebida se analizó durante 28 d en la cual los valores de pH y de acidez expresada como % de ácido cítrico se mantuvieron constantes; sin embargo, esta última se incrementó de 0,036 a 0,050 en la última semana a la temperatura de 35 °C.

La tabla 6 muestra el contenido de fenoles totales, CA Cuprac y el % de Inhibición DPPH\* en el periodo de evaluación de 28 d. También se muestra el porcentaje de retención (% R) el cual se calcula dividiendo el valor de la característica antioxidante entre su valor inicial y multiplicando por 100 y el porcentaje de atenuación (A %) al final de periodo que resulta de la diferencia entre el % de retención final y el inicial.

Los parámetros cinéticos de degradación muestran constantes de velocidad muy bajos para este tipo de matriz alimentaria. Los valores de  $k$  ( $d^{-1}$ ) fueron los siguientes: fenoles totales 0,0039, CA Cuprac 0,002 7 y % inhibición DPPH 0,009 1, los coeficientes de determinación  $r^2$  fueron 0,81, 0,51, 0,64 y los tiempos de vida media señalan un tiempo de 6.4 meses para el contenido de fenoles, 8,8 meses para la CA Cuprac y 2,8 meses para el % inhibición DPPH a 25 °C, respectivamente.

**Tabla 6-** Análisis de la bebida de hojas moringa en anaquel

Tiempo (d)	10°C		25°C		35°C	
	μmol TR/L	% R	μmol TR/L	% R	μmol TR/L	% R
	Fenoles totales					
0	3422,1±41,1	100	3422,1±41,1	100	3422,1±41,1	100
7	3470,6±45,1	101	3418,8±68,4	100	3460,0±31,1	101
14	3400,0±30,6	99	3380,0±46,3	99	3340,6±45,6	98
21	3376,4±37,1	99	3276,3±51,3	96	3321,9±39,4	97
28	3053,8±24,1	89	3073,8±92,2	90	2997,5±60	88
A (%)		11		10		12
	CA Cuprac					
0	1916,3±40,4	100	1916,3±40,4	100	1916,3±40,4	100
7	1892,3±24,7	99	1899,9±37,4	99	1870,9±20,9	98
14	1917,8±28,8	100	1927,5±36,7	101	1872,3±33,7	98
21	1911,9±36,3	100	1902,3±28,5	99	1872,3±37,5	98
28	1775,9±35,5	93	1740,8±34,8	91	1705,6±15,1	89
A (%)		7		9		11
	Inhibición DPPH* (%)					
	I (%)	% R	I (%)	% R	I (%)	% R
0	7,6±0,1	100	7,6±0,1	100	7,6±0,1	100
7	8,6±0,3	113	8,6±0,2	113	7,9±0,1	104
14	7,8±0,1	103	7,5±0,2	99	6,2±0,1	82
21	6,8±0,2	89	6,4±0,1	84	5,4±0,2	71
28	6,8±0,2	89	6,4±0,2	84	6,3±0,1	83
A (%)		11		16		17

Las bebidas mantenidas a 10 y 25 °C, conservan sus características sensoriales de “me gusta”, en cambio las bebidas mantenidas a 35 °C disminuyen esta característica a “me gusta ligeramente” en el periodo evaluado. Las características sensoriales de la bebida de la bebida elaborada son favorables con la formulación empleada y después del procesamiento seguido.

## Conclusiones

Se compararon diversos métodos de extracción considerando sus características antioxidantes. Se encontró que la EC (92 °C, 1 y 2%) y EU (pulso 0,6, 1 %) muestra mayor capacidad antioxidante. Sin embargo, estos extractos muestran turbidez. La EC (85 °C, 0,5 a 1%) muestra capacidad antioxidante comparable a las muestras comerciales. Sin embargo, el extracto a 1% posee un sabor no aceptable. La EE no mostró resultados favorables. Como método más adecuado se consideró la EC a 85 °C, 0,5 % de hojas de moringa y un tiempo de extracción de 8 min; con estas condiciones se elaboró una bebida cuya estabilidad antioxidante fue evaluada durante 28 d, al inicio el contenido de fenoles totales fue de  $3\,422,1 \pm 44 \mu\text{mol TR/L.}$ , CA Cuprac de  $1\,916,3 \pm 40,4 \mu\text{mol TR/L}$  y un % de inhibición DPPH\* de  $7,6 \pm 0.1 \%$ , el % de retención a 25 °C al final del periodo de almacenamiento de 28 d fue de 90, 91 y 84 % respectivamente, el periodo de vida media de la bebida en términos del contenido de fenoles totales fue de 6,4 meses a 25 °C. Los resultados de evaluación sensorial calificaron la bebida como “me gusta”. Los resultados de esta investigación propician una metodología en el desarrollo de prototipos de bebidas saludables más ajustados a las necesidades del consumidor ricos en antioxidantes y sin azúcar en remplazo de bebidas tradicionales.

## Referencias bibliográficas

1. GUZMÁN S, ZAMARRIPA C, HERNÁNDEZ L. Calidad nutrimental y nutraceutica de hoja de moringa proveniente de árboles de diferente altura. *Rev Mex ciencias agrícolas*. 2015; **6** (2):14. Versión impresa ISSN 2007-0934.
2. OLUWASEUN O. How Functional Is Moringa oleifera? A Review of Its Nutritive, Medicinal, and Socioeconomic Potential. *Food Nutr Bull*. 2018; **39**(1):149-170. <https://doi.org/10.1177/0379572117749814>

3. STOHS S.J, HARTMAN M.J. Review of the safety and efficacy of *Moringa oleifera*. *Phyther Res.* 2015; **29**(6), 796–804. <https://doi.org/10.1002/ptr.5325>
4. LOOI Y.F, ONG S.P, JULKIFLE A, ALIAS M.S. Effects of pretreatment and spray drying on the physicochemical properties and probiotics viability of *Moringa* (*Moringa oleifera* Lam) leaf juice powder. *J Food Process Preserv.* 2019; **43**(4),1-15. <https://doi.org/10.1111/jfpp.13915>
5. RODRÍGUEZ DE LUNA S, RAMÍREZ-GARZA R.E, SERNA SALDÍVAR S.O. Environmentally Friendly Methods for Flavonoid Extraction from Plant Material: Impact of Their Operating Conditions on Yield and Antioxidant Properties. *Sci World J.*; 2020:1–38. <https://doi.org/10.1155/2020/6792069>
6. MOKKILA M, MUSTRANTRA A, BUCHERT J, POUTANEN K. *Combining Power Ultrasound With Enzymes in Berry Juice Processing*. In: 2nd International Conference on Biocatalysis in the Food and Drinks Industries. Germany. 2004.
7. CAMPO-FERNÁNDEZ M, SOJOS *et al.*, Diseño de una infusión de hojas de *Moringa oleifera* (moringa) y cascarilla de *Theobroma cacao* L (cacao) *Rev. Cubana de Plantas medicinales* **24** (1) 2019. Editorial de Ciencias Médicas (ECIMED), ISSN: 1028-4796
8. COZ-BOLAÑOS X, CAMPOS-VEGA R, REYNOSO-CAMACHO R, RAMOS-GÓMEZ M, FLAVIA LOARCA-PIÑA G, GUZMÁN-MALDONADO SH. *Moringa* infusion (*Moringa oleifera*) rich in phenolic compounds and high antioxidant capacity attenuate nitric oxide pro-inflammatory mediator in vitro. *Ind Crops Prod.* 2018, **118**, 95–101. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.03.028> (8) COZ
9. BONAL RUIZ R, RIVERA ODIO R, BOLÍVAR CARRIÓN M. *Moringa oleifera*: una opción saludable para el bienestar. *Medisan.* 2012; **16** (10):1596–9. versión On-line ISSN 1029-3019
10. ADEMILUYI A, ALADESELU O, OBOH G, BOLIGON A. Drying alters the phenolic constituents, antioxidant properties,  $\alpha$ -amylase, and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory properties of *Moringa* (*Moringa oleifera*) leaf. *Food Sci Nutr.* 2018; **6**(8):2123–2133. <https://doi.org/10.1002/fsn3.770>



11. ESPINOSA J. *Evaluación sensorial de los alimentos*. Raul C, Morales T, editors. Editorial Universitaria. Cuba: Editorial Universitaria; 2007. Publicación interna.
12. GUCLU K, ALTUN M, OZYUREK M, KARADEMIR S, APAK R. Antioxidant capacity of fresh, sun and sulphited dried Malatya apricot assayed by Cuprac, Abts, and Folin methods. *International Journal of Food Science and Technology*, 2006; **41**, (Supplement I) 76-85\_ <https://doi.org/10.1111j.1365-2621.2006.01347.x>
- 13 BOROSKY M, VISENTAINER J, COTTICA S, RODRIGUEZ DE MORAIS, A. *Antioxidantes, Principios y Métodos analíticos*. Editora Appris; Curitiba, Brasil. 2015. ISBN 978-85-8192-730-5
14. FLORES C. *Efecto de la concentración de extracto de hojas de Moringa (Moringa oleífera) y Chía (Salvia hispánica L.) sobre las características fisicoquímicas y sensoriales de una bebida funcional*. Tesis para obtener el Título Profesional de Ingeniero en Industria Alimentaria, Universidad Privada Antenor Orrego; 2019.
15. VALDÉS-HERNÁNDEZ G, CRUZ-VIERA L, COMET-RODRÍGUEZ R. Influencia de las condiciones de operación en la extracción de polifenoles a partir de hojas de Moringa oleífera Lam. *Rev CENIC Ciencias Químicas*. 2015; **46**,135–45. ISSN: 1015-8553
16. RUIZ, R., VENEGAS, E., HORNA L. RUIDIAS, D., LOPEZ C. Capacidad antioxidante in vitro de los flavonoides totales obtenidos de las hojas de sambucus peruviana h.b.k. (sauco) proveniente de la ciudad de Huamachuco. *Pharmaciencia*. 2013, **1** (2), 57–64. Revista científica de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo. ISSN 2224-5545
17. CERVANTES-SIERRA R, BARRAGÁN-CONDORI M, CHAQUILLA-QUILCA G. Evaluación de antioxidantes en el té de hojas de camote morado (Ipomoea batatas L.). *Rev Tecnol en Marcha*. 2019, **32**(4),50–59: <https://doi.org/10.18845/tm.v32i4.4790>
18. GUEVARA MEDINA J, ROVIRA QUINTERO M. Caracterización de tres extractos de Moringa oleífera y evaluación de sus condiciones de infusión en sus

características fisicoquímicas. 2012, recuperado de:

<https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/1005/1/AGI-2012-T022.pdf>

19. DHAKAD AK, IKRAM M, SHARMA S, KHAN S, PANDEY V V., SINGH A. Biological, nutritional, and therapeutic significance of *Moringa oleifera* Lam. *Phyther Res*. 2019, **33**(11):2870–903. <https://doi.org/10.1002/ptr.6475>

20, LOPEZ-RODRIGUEZ NA, GAYTÁN-MARTÍNEZ M, DE LA LUZ REYES-VEGA M, LOARCA-PIÑA G. Glucosinolates and Isothiocyanates from *Moringa oleifera*: Chemical and Biological Approaches. *Plant Foods Hum Nutr*. 2020,**75**(4),447–57. <https://doi.org/10.1007/s11130-020-00851-x>

21. VAZQUEZ-GONZÁLES Y, RAGAZZO-SANCHEZ J, CALDERON-SANTOYO M. *Extracción de fenoles de hoja de jaca (Artocarpus heterophyllus Lam.) mediante métodos emergentes: caracterización y actividad antifúngica*. In: IV Ccngreso en tendencias en ciencias de alimentos y desarrollo tecnológico. Mexico. 2019. p. 112.

### **Conflicto de interés**

Los autores declaran que no existen conflictos de intereses

### **Contribución de los autores**

Edilberto Flores Aguilar: trabajo experimental, procesamiento de resultados y redacción.

Emille del Pilar Flores Rivera: trabajo experimental, procesamiento de resultados y redacción.