

## Obtención de extractos fenólicos foliares de *Moringa oleifera* Lam mediante el uso de diferentes métodos de extracción

Claudia Linares Rivero, Janet Quiñones-Gálvez, Aurora Terylene Pérez Martínez, Carol Cristina Carvajal Ortiz, Maribel Rivas Paneca, Geeisy Angela Cid Valdéz, Lianny Pérez Gómez, Susett La Rosa González, Yanelis Karina Capdesuñer Ruiz

Centro de Bioplantitas, Universidad de Ciego de Ávila Máximo Gómez Báez. Carretera a Morón, km 9. Ciego de Ávila. Ciego de Ávila. Cuba. CP 69450. e-mail: claudia@bioplantitas.cu

### RESUMEN

*Moringa oleifera* Lam. es una de las especies más conocidas y ampliamente distribuidas en el mundo. Se considera como uno de los árboles más útiles, con múltiples beneficios. Una de sus características distintivas es que en sus hojas se acumulan altos contenidos de compuestos fenólicos, los cuales se investigan por sus propiedades biológicas. La presente investigación se desarrolló con el objetivo de obtener extractos foliares etanólicos crudos, con altos rendimientos de extracción y compuestos fenólicos, a partir de *M. oleifera* mediante la comparación entre cuatro métodos de extracción. Se determinó la influencia de la extracción por agitación magnética, extracción estática, extracción por Soxhlet y extracción asistida por ultrasonido en el rendimiento del extracto crudo etanólico foliar y la concentración de compuestos fenólicos. Se realizó la caracterización fitoquímica del extracto y se determinó el perfil cromatográfico por cromatografía en capa fina. Se obtuvo un rendimiento de 185.89 mg g<sup>-1</sup> de masa seca y las mayores concentraciones de fenoles en el extracto (24.86 mg g<sup>-1</sup> de masa seca) con el método de extracción con agitación magnética. La caracterización química cualitativa del extracto fenólico de *M. oleifera* comprobó la presencia de cumarinas volátiles, triterpenos, esteroides, flavonoides, taninos y compuestos fenólicos detectados en el análisis fitoquímico y de ácidos fenólicos, flavonoides glicosilados, aceites esenciales asociados a fenoles y compuestos con principio de picor y amargor en la cromatografía en capa fina. Se concluye que mediante el método de extracción con agitación magnética por 3 h, se obtienen extractos foliares etanólicos crudos de *M. oleifera* con altos rendimientos de extracción y concentración de compuestos fenólicos de variada naturaleza.

Palabras clave: extractos etanólicos, fenoles, moringa, rendimiento

## Obtaining phenolic extracts from the leaf of *Moringa oleifera* Lam by using different extraction methods

### ABSTRACT

*Moringa oleifera* Lam. it is one of the best known and widely distributed species in the world. It is considered as one of the most useful trees, with multiple benefits. One of its distinguishing characteristics is that its leaves accumulate high contents of phenolic compounds, which are investigated for their biological properties. The present investigation was developed with the aim to obtain crude ethanolic leaf extracts, with higher extraction yields and phenolic compounds, from *M. oleifera* by comparing four extraction methods. The influence of extraction by magnetic stirring, static extraction, extraction by Soxhlet and ultrasound-assisted extraction on the yield of crude leaf ethanolic extract and the concentration of phenolic compounds were determined. The phytochemical characterization of the extract was carried out and the chromatographic profile was determined by thin layer chromatography. A yield of 185.89 mg g<sup>-1</sup> of dry mass and the highest concentrations of phenols in the extract (24.86 mg g<sup>-1</sup> dry mass) were obtained by magnetic stirring. The qualitative chemical characterization of the phenolic extract of *M. oleifera* proved the presence of volatile coumarins, triterpenes, steroids, flavonoids, tannins and phenolic compounds detected in the phytochemical and phenolic acids analyses, glycosylated

flavonoids, essential oils associated with phenols and compounds with pungent and bitter principle in thin layer chromatography. It is concluded that by the extraction method with magnetic stirring for 3 h, crude ethanolic leaf extracts of *M. oleifera* are obtained with high yields of extraction and concentration of phenolic compounds of varied nature.

Keywords: ethanolic extracts, phenols, moringa, yield

## INTRODUCCIÓN

*Moringa oleifera* Lam. es nativa de las regiones del sub-Himalaya, naturalizada en gran parte del mundo, incluyendo las regiones tropicales y sub-tropicales (Asante *et al.*, 2014). Posee gran velocidad de crecimiento, facilidad de cultivo y puede desarrollarse en suelos afectados por la sequía. Esta planta muestra una amplia gama de beneficios y se considera como uno de los árboles más útiles. Para todos los órganos de esta especie se han descrito propiedades medicinales tales como: potencial antihipertensivo, antiinflamatorio, antioxidante (Gopalakrishnan *et al.*, 2016), diurético, antidiabético y antiespasmódico.

Adicionalmente, esta especie posee propiedades nutracéuticas (vitaminas A, B, C y minerales como Ca y K) y es utilizada como suplemento nutricional y forraje animal (Martín *et al.*, 2013). Otras de sus utilidades han sido como biocontrolador antimicrobiano (El-Mohamedy y Abdalla, 2014), purificador de agua, potenciador del crecimiento vegetal (Emongor, 2015) y biogás o combustible (Paula *et al.*, 2017).

En Cuba, *M. oleifera* ha sido objeto de estudio en los últimos años. Se han desarrollado investigaciones relacionadas con la composición de aceites y ácidos grasos contenidos en las semillas de la planta (Marrero *et al.*, 2014; Campo *et al.*, 2015; Gómez *et al.*, 2016). Se referencian estudios que reconocen a la especie como promisoría para los sistemas de corte y pastoreo (Toral *et al.*, 2013) y en el tratamiento de residuales líquidos (Rondon, 2017). Además, Abascal (2015) demostró en su estudio la capacidad antimicrobiana de extractos foliares de tres variedades de la planta cultivadas en el país.

Se conoce que una de las características distintivas de la planta de moringa es que en sus hojas, se acumulan altos contenidos de compuestos fenólicos (Valdez *et al.*, 2015) estudiados por sus aplicaciones biológicas (Patel *et al.*, 2014; Kotb *et al.*, 2017). Sin embargo, no se ha realizado la comparación previa entre

diferentes métodos de extracción para aumentar el rendimiento y contenido de compuestos bioactivos en el extracto. En este sentido, Vongsak *et al.* (2013) informaron del beneficio que brinda seleccionar el método óptimo de extracción, simple, rápido y que permita obtener un preparado biológico con alto rendimiento de compuestos activos.

Por otro lado, también se requiere realizar la caracterización química del extracto, lo que contribuye a comprobar la presencia de compuestos bioactivos (Rodríguez *et al.*, 2016). Para ello, los análisis cualitativos por ensayos fitoquímicos y cromatografías en placa fina (TLC, por sus siglas del inglés: *Thin-layer chromatography*) resultan métodos sencillos y prácticos para fines analíticos aplicables a sistemas productivos (Swathi, 2016). Relacionado con esto, la presente investigación se desarrolló con el objetivo de obtener extractos foliares etanólicos crudos con altos rendimientos de extracción y compuestos fenólicos a partir de *Moringa oleifera* mediante la comparación entre cuatro métodos de extracción.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### *Material vegetal*

El material vegetal se colectó de plantas de *Moringa oleifera* cv. Supergenius de 5 años de cultivo, en la Estación Experimental Juan Tomás Roig, en la provincia de Ciego de Ávila. La colecta se realizó en el mes de mayo del año 2017 a horas tempranas (8:00-10:00 am), las hojas se tomaron de las ramas intermedias del árbol, se lavaron con agua destilada y se secaron en una estufa (HS62A Alemania) a 60 °C durante 72 h hasta obtener masa constante. Posteriormente, se trituraron en un molino (Mikro-Feinmuhle-Culatti Alemania).

### Métodos de extracción

Las extracciones se realizaron a partir de 10 g del polvo de hojas secas y se utilizó como solvente etanol comercial 95% (v/v) en una

proporción 1: 30 (m:v) y 3 h como tiempo de extracción. Se compararon los siguientes métodos de extracción: extracción con agitación magnética (EAG), extracción estática (EE), extracción por Soxhlet (ES) y extracción por ultrasonido (EU).

Para realizar la EAG se usó un agitador magnético (RETOMED Cuba AM.04) 27 °C. Similares condiciones ambientales se asumieron para la EE. El método de ES se desarrolló con cuatro ciclos por hora a 70 °C y para la EU se utilizó un equipo ultrasónico (Ultrasonic Cleaner SB-3200DT China) (poder ultrasónico: 120 W y frecuencia: 40 kHz) a temperatura ambiente (27 °C). Los extractos se filtraron al vacío (Vacu/TrolTM Regulated Vacuum Pump China) y se concentraron al 10% en un rotoevaporador (IKA HB10 basic Alemania) a temperatura controlada (60 °C). Se utilizaron cinco réplicas para cada método de extracción.

#### *Rendimiento de extracción y cuantificación de fenoles solubles*

Se tomaron, por triplicado, alícuotas de 1 ml de los extractos obtenidos por cada método de extracción y se concentraron hasta sequedad a 50 °C a peso constante (Speed Vac SC100 Savant Rusia). El producto obtenido se pesó y se determinó el rendimiento de extracción como el cociente entre la masa de producto y la masa seca (MS) a partir de la que se realizó la extracción. El resultado se expresó en mg de extracto crudo seco por cada g de MS ( $\text{mg g}^{-1}$  de MS).

El contenido de fenoles solubles en las muestras se determinó (por triplicado) mediante el método colorimétrico Folin–Ciocalteu según Gurr *et al.* (1992) que se describe brevemente. Se mezclaron 10  $\mu\text{l}$  del extracto etanólico, 990  $\mu\text{l}$  de agua destilada y 100  $\mu\text{l}$  del reactivo Folin–Ciocalteu. Luego de 5 min, se añadió a la muestra 600  $\mu\text{l}$  de carbonato de sodio saturado en hidróxido de sodio (1 M). Pasada una hora se midió la absorbancia a 725 nm ( $\text{Abs}_{725}$  nm) en Espectrofotómetro UV-Vis (Farmacia LKB. Ultrospec II Holanda). El resultado se expresó en mg de fenoles solubles por cada gramo de MS ( $\text{mg g}^{-1}$  MS), referidos a una curva patrón de ácido clorogénico.

A partir de los resultados se seleccionó un método de extracción.

#### Ensayos fitoquímicos

Se realizó el análisis fitoquímico del extracto etanólico foliar de *M. oleifera* para la presencia de: cumarinas volátiles, taninos, flavonoides, saponinas, triterpenos y/o esteroides siguiendo el protocolo de Rondina y Coussio (1970). Las determinaciones se realizaron por triplicado.

*Cumarinas volátiles:* Se colocaron 2 ml del extracto en un tubo de ensayo. Los tubos de ensayo con las muestras se taparon con papel de filtro impregnado en solución diluida de NaOH y se colocaron en un baño termostataado a 100°C por 5 min. Luego se removió el papel de filtro y se examinó bajo luz UV. La fluorescencia amarilla resultó indicativa de la presencia de cumarinas.

*Saponinas:* Se evaporaron 5 ml del extracto y el producto seco se resuspendió en 5 ml de agua hirviendo (100 °C). Luego se enfrió, se agitó vigorosamente y se dejó reposar por 20 min. Se consideró como resultado positivo la formación de espuma con una altura mayor de 3 cm.

*Triterpenos y/o esteroides:* Se evaporaron 10 ml del extracto y se adicionaron 10 ml de cloroformo. Se filtró y se dividió el filtrado en dos porciones. En uno de los tubos se realizó la reacción de Liebermann-Burchard que consistió en añadir 10 ml de anhídrido acético y dos gotas de ácido sulfúrico concentrado en baño de hielo. El desarrollo de coloración violeta, azul o azul-verdoso resultó indicativo de la presencia de un anillo esteroideal. En el otro tubo de ensayo se realizó la reacción de Salkowski para la presencia de esteroides, a las muestras se les adicionaron 5 ml de ácido sulfúrico concentrado. Como resultado positivo se consideró la aparición de coloración roja intensa en la fase clorofórmica.

*Flavonoides:* Se colocaron en un tubo de ensayo 2 ml del extracto y se añadieron algunos fragmentos de Mg sólido. Luego se agregó por las paredes del tubo de ensayo unas gotas de HCl (Reacción de Shinoda). Se evaluó el cambio de coloración que varía para las diferentes estructuras químicas.

*Taninos y compuestos fenólicos:* Se evaporaron 5 ml del extracto. El producto

seco se disolvió en 10 ml de agua destilada y se filtró. Luego se tomaron 3 ml del extracto acuoso y se le adicionaron dos gotas de solución de  $\text{FeCl}_3$  al 10% (m/v). Se evaluó el cambio de coloración. La coloración azul resultó indicativa de presencia de taninos hidrolizables y la coloración verde de taninos condensados.

#### Cromatografía en capa fina (TLC)

Para la cromatografía en capa fina se utilizaron placas de gel de sílice 60 F254 (Merck Alemania) de 7.5 x 7 cm. Las placas se activaron mediante calor en la estufa a 100 °C por 5 min. La aplicación de las muestras se realizó sobre cada carril a una distancia de 0.5 cm entre cada muestra y 1.0 cm de los bordes; se aplicaron 10  $\mu\text{l}$  de cada extracto concentrado a 5  $\mu\text{g } \mu\text{l}^{-1}$ . Se utilizó el sistema de solvente acetato de etilo: metanol: ácido acético: agua (17.6: 1.7: 1: 1).

Las placas cromatográficas se revelaron con el reactivo de productos naturales (PN) y anisaldeído-ácido sulfúrico (AS). El reactivo de PN consistió en: 2-aminoetil difenilborinato (1%) en metanol (v:v) y polietilenglicol 400 (5%) en etanol (v:v) y permitió la detección de compuestos de naturaleza fenólica (flavonoides, ácidos fenólicos y fenoles glicosilados). El reactivo de AS consistió en anisaldeído (0.5 ml) unido a ácido acético glacial (10 ml), metanol (85 ml) y ácido sulfúrico concentrado (5 ml) y permitió la detección de compuestos fenólicos asociados a terpenos (compuestos con principio de picor, amargor y otros asociados). Las TLC se observaron a luz UV366nm y el factor de retención (Rf) se calculó como el cociente entre la distancia recorrida por el compuesto desde el punto de aplicación y la distancia recorrida por el frente del solvente.

#### Análisis estadístico

El procesamiento estadístico de los resultados se realizó con el utilitario *Statistical Package for Social Sciences* (SPSS) (versión 20 para Windows, SPSS Inc.). Los datos referentes al rendimiento de extracción y cuantificación de fenoles solubles en los diferentes métodos de

extracción se procesaron como experimento monofactorial con más de dos niveles, mediante un ANOVA simple. Las medias se compararon mediante la prueba Tukey para  $p \leq 0.05$ . Previamente se demostró en cada experimento que los datos de cada tratamiento cumplían los supuestos de distribución normal y homogeneidad de varianzas, según las pruebas Kolmogorov-Smirnov y Levene respectivamente para  $p \leq 0.05$ . Los detalles del tratamiento estadístico aparecen en cada figura o tabla de resultados y discusión.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Métodos de extracción

Los rendimientos de extracción y el contenido de fenoles solubles referente a MS de los extractos etanólicos foliares de *M. oleifera* obtenidos variaron con los diferentes métodos de extracción (EAG, EE, ES y EU) (Tabla 1). Al comparar los resultados con respecto al rendimiento de extracción, no se obtuvieron diferencias significativas entre EAG, ES y EU, mientras que la EE mostró el menor rendimiento.

El contenido de fenoles solubles en los métodos evaluados fue superior para EAG, seguido por la ES. Los resultados del uso de los métodos de EU y EE fueron similares entre ellos, pero inferiores respecto a los demás métodos evaluados (Tabla 1).

Los rendimientos obtenidos en esta investigación para EAG, UL y ES fueron superiores a los informados por otros autores. Al respecto, Adeoye *et al.* (2014) usaron la extracción estática por 24 h y alcanzaron rendimientos de 15% en extractos foliares de *M. oleifera*. De igual forma, Abdulkadir *et al.* (2015) con el mismo método por 48 h, con movimiento ocasional, obtuvieron un rendimiento de 13% y Okoronkwo *et al.* (2015) con este método refirieron 17.85%. En otros estudios, Engsuwana *et al.* (2017) obtuvieron extractos foliares de *M. oleifera* con bajos rendimiento (7.2%) con el uso de etanol 95% (v/v) como solvente de extracción y agitación durante 48 h así como Sadek *et al.* (2017) usaron la percolación por 24 h con rendimientos 10.16%.

Tabla 1. Rendimientos de extracción y contenido de fenoles solubles referente a masa seca (MS) de extractos etanólicos foliares de *M. oleifera* obtenidos mediante diferentes métodos de extracción.

Método de extracción	Rendimiento de extracción	Contenido de fenoles solubles
	mg g <sup>-1</sup> de MS	mg g <sup>-1</sup> de MS
Agitación magnética	185.89 a	24.86 a
Extracción estática	86.79 b	11.01 c
Soxhlet	159.16 a	16.6 b
Ultrasonido	176.55 a	11.46 c

Medias con letras desiguales difieren significativamente (ANOVA simple, Tukey  $p \leq 0.05$ ;  $n=5$ )

Es importante tener en cuenta la influencia de parámetros como la agitación en la obtención del extracto (Khoddami *et al.*, 2013). Su presencia en el proceso, desplaza el equilibrio en el sentido de la saturación del solvente, y aumenta la superficie de contacto entre el soluto y el solvente y por tanto su eficiencia (Azwanida, 2015). En los estudios realizados por Vongsak *et al.* (2013) obtuvieron resultados similares a los que se muestran en la tabla 1, al comparar el contenido de fenoles y rendimiento entre el método EE por 72 h y ES por 20 h. El contenido de fenoles del método con agitación respecto al Soxhlet se mostró significativamente superior, lo cual coincide con los resultados que se analizan. Por otro lado, el aumento de la temperatura por encima de 50 °C puede llevar a la disminución del contenido de polifenoles en la muestra, probablemente debido a su degradación (Rajbhar *et al.*, 2015), lo que pudo ser la causa de que se obtuvieran extractos con menor contenido fenólico mediante ES, lo que coincide con lo descrito por Vongsak *et al.* (2013).

El método de EU mostró las menores concentraciones de fenoles solubles, al igual que la EE, lo que pudiera estar relacionado con el tiempo de extracción (3 h) al que estuvo sometida la muestra. Según Dukic *et al.* (2017) la eficiencia de la extracción está muy influenciada por el tiempo de interacción entre el soluto y el solvente. El tiempo óptimo de este proceso para el baño ultrasónico se considera entre 10-60 min a temperatura variable (Ghasemzadeh *et al.*, 2015). Con tiempos mayores a 60 min pudiera ocurrir la degradación de diferentes compuestos fenólicos (Medina *et al.*, 2017), por lo que los resultados pudieran asociarse

a esto. De igual forma, el extracto obtenido a partir de EE, mostró poca presencia de fenoles solubles. Este resultado pudiera relacionarse con el hecho de no estar en presencia de un proceso activo que favoreciera esta acción.

Se tuvo en cuenta como criterio de selección para el método de extracción el contenido de compuestos fenólicos en el extracto. Por ello, se seleccionó la agitación magnética (EAG), que además es un método simple, rápido y económico (Vongsak *et al.*, 2013).

#### Ensayos fitoquímicos

En el extracto etanólico foliar se encontraron diferentes componentes fitoquímicos (Tabla 2). Se observó la presencia de cumarinas volátiles en el extracto evaluado y la detección de saponinas resultó negativa. No se observó la formación de la capa espumosa en los tratamientos evaluados. En los ensayos realizados para determinar la presencia de triterpenos y/o esteroides se observó el desarrollo de coloración azul-verdoso. Esto evidencia la presencia de un anillo esteroideal formando parte de la estructura química de componentes del extracto.

Por otra parte, la reacción de Salkowski resultó positiva, se observó la formación de un anillo rojo intenso en la fase clorofórmica, que indica la presencia de esteroides en el extracto. La reacción de Shinoda resultó positiva y mostró una coloración rosada intensa. La presencia de taninos y compuestos fenólicos se detectó al observarse el desarrollo de coloración verde

Tabla 2. Componentes fitoquímicos detectados en hojas de *M. oleifera* obtenido a partir de agitación magnética por 3 h como método de extracción.

Constituyente	Prueba o reactivo utilizado	Confirmación
Cumarinas volátiles	NaOH	+
Saponinas	Prueba de la espuma	-
Triterpenos y/o esteroides	Reacción de Liebermann-Buchard	+
	Reacción de Salkowski	+
Flavonoides	Reacción de Shinoda	+
Taninos y compuestos fenólicos	FeCl <sub>3</sub>	+

(+) Presencia (-) Ausencia

intensa que indica la presencia de taninos condensados.

Los resultados mostrados en la tabla 2 coinciden con los obtenidos por Abascal (2015), donde se observó la presencia de triterpenos/esteroides, fenoles/taninos, flavonoides y la ausencia de saponinas específicamente para extractos etanólicos foliares del cultivar Supergenius en moringa. De igual forma, otros autores han referenciado la presencia de compuestos fenólicos, flavonoides (Torres *et al.*, 2013), esteroides, taninos (Abdulkadir *et al.*, 2015) y cumarinas (Fowoyo y Oladoja, 2015) en extractos etanólicos foliares de *M. oleifera*.

Para el caso de las saponinas, Sahaya y Samrot (2010) indicaron la ausencia de estos compuestos en el extracto de moringa, lo que coincide con los resultados de esta investigación. Sin embargo, estudios realizados por Khandelwal *et al.* (2014) determinaron la presencia de saponinas. Otros grupos de compuestos como alcaloides, glicósidos e hidroxiantraquinonas también se han identificados en extractos etanólicos foliares de *M. oleifera* a partir de ensayos fitoquímicos (Patel *et al.*, 2014). Varios autores refieren el uso de ensayos colorimétricos para la determinación de la presencia o ausencia de diferentes metabolitos secundarios, esta constituye una herramienta sencilla y práctica que permite la caracterización parcial de un extracto vegetal (Bueno *et al.*, 2016).

#### Cromatografía en capa fina (TLC)

La tinción con PN/PEG a luz UV<sub>366nm</sub> mostró en el extracto etanólico tres bandas a

diferentes Rf y con variedad de colores: Rf=0.50 (verde), Rf=0.36 (amarillo) y Rf=0.12 (azul). Esto se corresponde según Wagner y Bladt (1996) con la presencia en el extracto de flavonoides glicosilados y ácidos fenólicos (Tabla 3).

Los resultados de este estudio fueron similares a los alcanzados por Irfan *et al.* (2017) donde mediante el empleo de patrones demostraron la presencia de estos compuestos en extractos etanólicos foliares de *M. oleifera*. Los autores utilizaron como patrones los compuestos 3-β-D glucósido de quercetina, 3-O-glucósido de caemferol y ácido criptoclorogénico; asociaron el compuesto amarillo a la 3-β-D glucósido de quercetina, el verde al 3-O-glucósido de caemferol y el azul al ácido criptoclorogénico.

En la TLC de extractos foliares de *M. oleifera* teñida con AS a luz UV<sub>366</sub> nm se observaron cuatro bandas con diferentes colores para cada Rf calculado: Rf=0.53 (azul-violeta), Rf=0.38 (marrón), Rf=0.3 (verde-azul) y Rf=0.18 (verde) (Tabla 3). Wagner y Bladt (1996) relacionaron estos colores a la presencia de compuestos fenólicos glicosilados y asociados a terpenos (compuestos con principio de picor y amargor). Algunos ácidos fenólicos (ácido cafeico y clorogénico) y flavonoides glicosilados se conocen como compuestos con principio de amargor. Por otra parte, los sesquiterpenos fenólicos y algunos aceites esenciales unidos a fenoles, dentro de ellos el eugenol, toman coloraciones azul oscuro o azul fluorescente en presencia del reactivo revelador AS. Marrufo *et al.* (2013) demostraron la presencia de ácido clorogénico y oleanólico en extractos

Tabla 3. Evaluación cualitativa de la separación por TLC de extractos etanólicos foliares de *M. oleifera* Lam.

Sistema de revelado	Rf	Color	Grupo de compuestos
1	0.5	Verde	Flavonoides glicosilados
	0.36	Amarillo	Flavonoides
	0.12	Azul	Ácidos fenólicos y flavonoides
	0.53	Azul oscuro	Principio de picor (Sesquiterpenos fenólicos y aceites esenciales asociados a fenoles)
2	0.38	Marrón	Terpenos, aceites esenciales asociados a fenoles
	0.3	Verde-azul	Principio de amargor (Ácidos fenólicos y flavonoides glicosilados)
	0.18	Verde	Terpenos y aceites esenciales

1: Cromatograma revelado con Productos Naturales/Polietilenglicol (PN/PEG), 2: Cromatograma revelado con Anisaldeído-ácido sulfúrico (AS)

En la literatura científica, se referencian sistemas de solventes de diferentes polaridades para la corrida cromatográfica de extractos etanólicos foliares de *M. oleifera*. Enwa *et al.* (2013) mediante el sistema cloroformo: metanol (1:1) determinaron la presencia de ocho bandas a diferentes Rf. Por otro lado, se observaron diez bandas cuando se utilizó el sistema hexano: diclorometano: metanol (1: 3.75: 0.25) (Perera *et al.*, 2017). En ninguno de los artículos antes citados relacionan los valores de Rf o los colores de las bandas cromatográficas a grupos de compuestos o compuestos específicos, esto se muestra como una desventaja respecto a los resultados obtenidos en la presente investigación.

A partir de los ensayos fitoquímicos y la TLC se logró realizar la caracterización cualitativa del extracto y además, establecer su perfil cromatográfico. Fue posible corroborar la presencia de compuestos de naturaleza fenólica con demostradas propiedades biológicas (Kotb *et al.*, 2017). Dentro de ellos, los ácidos fenólicos y flavonoides los cuales son objeto de estudio por su capacidad antioxidante (Gopalakrishnan *et al.*, 2016) y propiedades antimicrobianas frente a patógenos de plantas y animales (Kotb *et al.*, 2017). Estos ensayos cualitativos se utilizan en numerosas investigaciones. Principalmente, debido a la conveniencia económica y simplicidad de estas técnicas,

brindan información de real importancia para la caracterización de un material vegetal (Swathi, 2016).

## CONCLUSIONES

Mediante el método de extracción con agitación magnética por 3 h, se obtienen extractos foliares etanólicos crudos de *M. oleifera* con altos rendimientos de extracción y concentración de compuestos fenólicos. Se comprueba la presencia en el extracto crudo de compuestos fenólicos de variada naturaleza, dentro de ellos flavonoides, cumarinas volátiles, taninos, ácidos fenólicos, entre otros.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan su agradecimiento al trabajo del técnico Danilo Pina Morgado en la colecta del material vegetal de *M. oleifera*.

## Conflicto de intereses

Los autores no declaran conflicto de intereses.

## REFERENCIAS

Abascal V (2015) Actividad antimicrobiana de extractos de hojas secas de tres variedades de *Moringa oleifera* Lam cultivadas en Cuba. Tesis de Maestría, Universidad de la Habana, La Habana, Cuba

- Abdulkadir I, Nasir I, Sofowora A, Yahaya F, Ahmad A, Hassan I (2015) Phytochemical screening and antimicrobial activities of ethanolic extracts of *Moringa oleifera* Lam on isolates of some pathogens. Journal of Applied Pharmacy 7(4): 2-7; doi: 10.4172/1920-4159.1000203
- Adeoye M, Lawal A, Azeez L, Olayiwola O (2014) Effect of solvent type on the yields and mineral compositions of the leaf extracts of *Moringa oleifera* Lam.. African Journal of Pure and Applied Chemistry 8(9): 134-146; doi: 10.5897/AJPAC2014.0545
- Ajayi AO, Fadeyi TE (2015) Antimicrobial activities and phytochemical analysis of *Moringa oleifera* leaves on *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus species*. American Journal of Phytomedicine and Clinical Therapeutics 3(10): 643-653
- Asante WJ, Nasare IL, Tom D, Ochire K, Kentil KB (2014) Nutrient composition of *Moringa oleifera* leaves from two agro ecological zones in Ghana. African Journal of Plant Science 8(1): 65-71; doi: 10.5897/AJPS2012.0727
- Azwanida N (2015) A review on the extraction methods use in medicinal plants, principle, strength and limitation. Medicinal & Aromatic Plants 4(196): 1-6; doi: 10.4172/2167-0412.1000196
- Bueno P, Russelle M, Raymond C, Macapulay R, Jayson F, Heralde F (2016) Thin layer chromatography (TLC) and high-performance liquid chromatography (HPLC) profiling and phytochemical analysis of *Euphorbia hirta*, *Gliricidia sepium* and *Moringa oleifera* methanol extracts. Der Pharma Chemica 8(2): 43-48
- Campo CM, Adames Y, Bello A, Scull R, Bracho G, Nils A (2015) Análisis farmacognóstico preliminar de las semillas de *Moringa oleifera* Lam cosechadas en Cuba. Revista Cubana de Farmacia 49(2): 360-374
- Dukic D, Maskovic P, Moracanin S, Kurcubic V, Milijasevic M, Babic J (2017) Conventional and unconventional extraction methods applied to the plant, *Thymus serpyllum* L.. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science 85: 1-5; doi:10.1088/1755-1315/85/1/012064
- El-Mohamedy R, Abdalla A (2014) Evaluation of antifungal activity of *Moringa oleifera* extracts as natural fungicide against some plant pathogenic fungi *in vitro*. Journal of Agricultural Technology 10(4): 963-982
- Emongor V (2015) Effects of moringa (*Moringa oleifera*) leaf extract on growth, yield and yield components of snap beans (*Phaseolus vulgaris*). British Journal of Applied Science & Technology 6(2): 114-122
- Engsuwana J, Waranuchb N, Limpeanchobc N, Ingkaninana K (2017) HPLC methods for quality control of *Moringa oleifera* extract using isothiocyanates and astragaloside as bioactive markers. ScienceAsia 43(3): 169-174; doi: 10.2306/scienceasia1513-1874.2017.43.169
- Engsuwana J, Waranuchb N, Limpeanchobc N, Ingkaninana K (2017) HPLC methods for quality control of *Moringa oleifera* extract using isothiocyanates and astragaloside as bioactive markers. ScienceAsia 43(3): 169-174; doi: 10.2306/scienceasia1513-1874.2017.43.169
- Enwa F, Omojate C, Adonu C (2013) A review on the phytochemical profile and the antibacterial susceptibility pattern of some clinical isolates to the ethanolic leaves extract of *Moringa oleifera* Lam (*Moringaceae*). International Journal of Advanced Research 1(5): 226-238
- Fowoyo P, Oladoja E (2015) Phytochemical screening, nutritional composition and antimicrobial activity of *Moringa oleifera* seed and leaf extract against selected gastrointestinal pathogens. Journal of Pharmacy and Biological Sciences 10(6): 116-124; doi: 10.9790/3008-1062116124
- Ghasemzadeh A, Jaafar H, Juraimi A, Tayebi-Meigooni A (2015) Comparative evaluation of different extraction techniques and solvents for the assay of phytochemicals and antioxidant activity of hashemi rice bran. Molecules 20(6): 10822-10838; doi:10.3390/molecules200610822
- Gómez D, Pita V, Zumalacárregui B (2016) Caracterización de aceites de las semillas de *Moringa oleifera* a partir de la extracción por diferentes métodos. Revista Colombiana de

- Biotechnologia 18(2): 106-111; doi: 10.15446/rev.colomb.biote.v18n2.54324
- Gopalakrishnan L, Doriya K, Kumar D (2016) *Moringa oleifera*: A review on nutritive importance and its medicinal application. Food Science and Human Wellness 5(2): 49-56; doi: 10.1016/j.fshw.2016.04.001
- Gurr S, McPherson J, Bowles D (1992) Lignin and associated phenolic acids in cell walls. Molecular Plant Pathology and Practical Approach (3): 62
- Irfan H, Asmawi M, Khan N, Sadikun A, Mordi M (2017) Anti-diabetic activity-guided screening of aqueous-ethanol *Moringa oleifera* extracts and fractions: Identification of marker compounds. Tropical Journal of Pharmaceutical Research 16(3): 543-552; doi: 10.4314/tjpr.v16i3.7
- Khandelwal S, Rishi A, Khurana S (2014) Estimation of primary and secondary metabolites from leaves of three medicinal plants. International Research Journal of Pharmacy 5(10): 783-785
- Khoddami A, Wilkes M, Roberts T (2013) Techniques for analysis of plant phenolic compounds. Molecules 18(2): 2328-2375
- Kotb D, Shahein M, Abd M, Metwally M (2017) Determination of polyphenolic compounds and antioxidant activity of olive leave, moringa leave and marigold petals extracts. World Journal of Dairy & Food Sciences 12(2): 102-107; doi: 10.5829/idosi.wjdfs.2017.102.107
- Marrero D, Vicente R, González V, Gutiérrez J (2014) Composición de ácidos grasos del aceite de las semillas de *Moringa oleifera* que crece en La Habana, Cuba. Revista Cubana de Plantas Medicinales 19(2): 197-204
- Marrufo T, Encarnacao S, Silva O, Duarte A, Neto F, Barbosa F, Agostinho A (2013) Chemical characterization and determination of antioxidant and antimicrobial activities of the leaves of *Moringa oleifera*. International Network Environmental Management Conflicts 2(1): 1-15
- Martín C, Martín G, García A, Fernández T, Hernández E, Puls J (2013) Potenciales aplicaciones de *Moringa oleifera*. Una revisión crítica. Pastos y Forrajes 36(2): 137-149
- Medina N, Ayora T, Espinosa H, Sánchez A, Pacheco N (2017) Ultrasound assisted extraction for the recovery of phenolic compounds from vegetable sources. Agronomy 7(3): 1-19; doi:10.3390/agronomy7030047
- Okoronkwo NE, Ajomiwe MO, Ike-Amadi CA (2015) Comparative study of fatty acid composition of *Dennettia tripetala* leaves extracted with different solvents. Chemistry Journal 1(2): 35-40
- Patel P, Patel N, Patel D, Desai S, Meshram D (2014) Phytochemical analysis and antifungal activity of *Moringa oleifera*. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences 6(5): 144-147
- Paula C, Sousa DO, Oliveira JT, Carvalho AF, Alves BG, Pereira ML, Farias DF, Viana MP, Santos FA, Morais TC (2017) A protein isolate from *Moringa oleifera* leaves has hypoglycemic and antioxidant effects in alloxan-induced diabetic mice. Molecules 22(2): 271; doi: 10.3390/molecules22020271
- Perera PK, Subasinghe UL, Arawwawala LDAM (2017) Evaluation of physico-chemical properties and antioxidant capacity of leaf powder of *Moringa (Moringa oleifera)* Lam) grown in Sri Lanka. Asian Journal of Medical and Health Research 2(5): 1-9
- Rajbhar K, Dawda H, Mukundan U (2015) Polyphenols: Methods Of Extraction. Scientific Reviews & Chemical Communication 5(1): 1-6
- Rodríguez C, Gilbert B, Mendiola JA, Quirantes R, Segura A, Ibáñez E (2016) Optimization of microwave assisted extraction and pressurized liquid extraction of phenolic compounds from *Moringa oleifera* leaves by multiresponse surface methodology. Electrophoresis 37(13): 1938-1946; doi: 10.1002/elps.201600071
- Rondina R, Coussio JD (1970) Estudio fitoquímico de plantas medicinales argentinas (1). Revista Investigaciones Agropec Serie 2 Biología y Producción Vegetal 6(2): 352-66
- Rondón M, Díaz Y, Rodríguez S, Guerra B, Fernández E, Tabio D (2017) Empleo de semillas de *Moringa oleifera* en el tratamiento de residuales líquidos. Ingeniería Hidráulica y Ambiental 38(2): 87-101

- Sadek KM, Abouzed TK, Abouelkhair R, Nasr S (2017) The chemo-prophylactic efficacy of an ethanol *Moringa oleifera* leaf extract against hepatocellular carcinoma in rats. *Pharmaceutical biology* 55(1): 1458-1466; doi: 10.1080/13880209.2017.1306713
- Sahaya A, Samrot A (2010) Bioactivity of *Moringa oleifera*. *National Journal on ChemBiosis* 1(2): 10-14
- Swathi S (2016) Phytochemical screening and TLC studies of *Moringa oleifera* extract: their antibacterial and anti-oxidant activities. *International Journal of Current Pharmaceutical Research* 8(1): 46-49
- Toral O, Cerezo Y, Reino J, Santana H (2013) Caracterización morfológica de ocho procedencias de *Moringa oleifera* (Lam.) en condiciones de vivero. *Pastos y Forrajes* 36(4): 409-416
- Torres JA, Sinagawa S, Martínez G, López A, Sánchez E, Aguirre V, Torres R, Olivares E, Osorio E, Gutiérrez A (2013) *Moringa oleifera*: phytochemical detection, antioxidants, enzymes and antifungal properties. *International Journal of Experimental Botany* 82: 193-202
- Valdez-Solana MA, Mejía VY, Téllez A, García G, Salas J, Alba JJ, Sierra E (2015) Nutritional content and elemental and phytochemical analyses of *Moringa oleifera* grown in Mexico. *Journal of Chemistry* 2015: 1-9; doi: 10.1155/2015/860381
- Vongsak B, Sithisarn P, Mangmool S, Thongpraditchote S, Wongkrajang Y, Gritsanapan W (2013) Maximizing total phenolics, total flavonoids contents and antioxidant activity of *Moringa oleifera* leaf extract by the appropriate extraction method. *Industrial Crops and Products* (44): 566-571; doi: 10.1016/j.indcrop.2012.09.021
- Wagner H, Bladt S (1996) *Plant drug analysis: a thin layer chromatography atlas*. Springer Science & Business Media, Munich, Germany; ISBN: 3540586768

Recibido: 04-12-2017

Aceptado: 30-01-2018