

Diversidad en la composición fenólica y capacidad antioxidante de colectas de moringa del estado de Chiapas*

Diversity in the phenolic composition and antioxidant capacity of moringa collections in the state of Chiapas

Salvador Horacio Guzmán-Maldonado^{1§} y Victor Hugo Díaz Fuentes²

¹Campo Experimental Bajío- INIFAP. Carretera Celaya-San Miguel Allende km 6.5. Celaya, Guanajuato. ²Campo Experimental Rosario Izapa-INIFAP. Carretera Tapachula-Cacahoatan km 18, Rosario Izapa, Tuxtla Chico, Tapachula, Chiapas, México. CP. 30870. (diaz.victor@inifap.gob.mx). [§]Autor para correspondencia: guzman.horacio@inifap.gob.mx.

Resumen

Debido a la importancia que la hoja de moringa ha adquirido, su producción se ha incrementado de forma significativa. La cosecha de la hoja se realiza sin tener en cuenta la posible variación en la composición química y la actividad biológica de mezclas de hojas con origen diferente. El objetivo del presente trabajo fue explorar la posible variación en la composición fenólica y la capacidad antioxidante de colectas del estado de Chiapas. La colecta y los análisis se realizaron en 2014. Se determinó en la hoja los fenoles totales, taninos, fenólicos simples y la capacidad antioxidante ORAC y TEAC. Se detectaron amplios rangos en el contenido de fenoles totales (2436.3-3749.9 mg EAG/100 g), taninos condensados (3.04-39.57 mg EC/100 g), así como en el ácido gálico, la rutina, ácido clorogénico y ácido cumárico y la capacidad antioxidante TEAC. Una variación tan alta, permite pronosticar que mezclas de hojas de esta especie presentará poca uniformidad en su composición y por lo tanto, se debe tener precaución al promover mezclas de hoja de moringa como de alto valor nutracéutico.

Palabras clave: antioxidantes, diversidad, fenoles, moringa.

Abstract

Due to the importance that the moringa leaf has acquired, its production has increased significantly. Harvesting of the leaf is carried out without taking into account the possible variation in the chemical composition and biological activity of mixtures of leaves with different origin. The objective of the present work was to explore the possible variation in the phenolic composition and the antioxidant capacity of collections in the state of Chiapas. The collection and analysis were carried out in 2014. The total phenols, tannins, phenolics, and the antioxidant capacity of ORAC and TEAC were determined in the leaf. Extensive ranges were found in total phenol content (2436.3-3749.9 mg EAG/100 g), condensed tannins (3.04-39.57 mg EC/100 g), gallic acid, rutin, chlorogenic acid and coumaric acid and the antioxidant capacity TEAC. A variation so high, allows to predict that mixtures of leaves of this species will present little uniformity in its composition and therefore, caution should be exercised when promoting mixtures of moringa leaf as of high nutraceutical value.

Keywords: antioxidants, diversity, phenols, moringa.

* Recibido: julio de 2017
Aceptado: agosto de 2017

La moringa (*Moringa oleifera*), pertenece a la familia Moringaceae, un pequeño grupo de especies del orden de las Brassicales que incluye a la col y el rábano (Olson, 2002). La hoja ha llamado la atención de público en general por las propiedades nutrimentales y medicinales que se le atribuyen. Desde el punto de vista nutrimental, la hoja de la moringa presenta un alto contenido de proteína (30%) y presenta efectos antiinflamatorios (Tangestani *et al.*, 2015) y es un hepatoprotector (Fakurazi *et al.*, 2012), entre otros efectos. Una de las posibles razones por las cuales esta planta tiene estas propiedades es la presencia de flavonoides, vitaminas y carotenoides, entre otros metabolitos secundarios que contiene (Guzmán-Maldonado *et al.*, 2015).

Debido al auge que la hoja de moringa ha adquirido, su producción se ha incrementado de forma significativa. La cosecha de la hoja se realiza sin tener en cuenta la posible variación en la composición química y la actividad biológica de mezclas de hojas con origen diferente. El objetivo del presente trabajo, fue explorar la posible variación en la composición fenólica y la capacidad antioxidante de colectas del estado de Chiapas. La comparación de medias se realizó por el método de Tukey ($p < 0.05$) mediante un análisis de varianza ANOVA y el método LSD de Fisher para crear intervalos de confianza para generar la diferencia mínima significativa (DMS) ($p < 0.05$).

En todos los casos, el promedio es la media de tres repeticiones. Se cosecharon hojas de 20 árboles diferentes de la huerta de moringa del Campo Experimental de Izapa Chiapas-INIFAP. Cada uno de los árboles fue colectado de diferentes localidades del estado y sembradas con la intención de mantener una colección representativa de la especie. Se determinaron el contenido de fenoles totales (Singlenton *et al.*, 1999), taninos condensados (Deshpande y Cheryan, 1985), fenólicos simples por (HPLC) (Ramamurthy *et al.*, 1992) y la capacidad antioxidante contra radicales de oxígeno (ORAC) (Ou *et al.*, 2001) y contra radicales positivos (ABTS⁺) (TEAC) (Van den Berg *et al.*, 1999).

El rango en el contenido de fenoles totales fue de 2 436.3 a 3 749.9 mg EAG/100 g mientras que el de taninos condensados fue de 3.04 a 39.57 mg EC/100 g (Cuadro 1). En ambos casos, la diferencia mínima significativa (DMS) fue de 202.2 para los fenoles totales y de 4.8 para los taninos condensados; es obvio que existe mayor variabilidad en las colectas en el contenido de taninos condensados y por lo tanto las mezclas presentarán una mayor variación en estos compuestos. Sin embargo, el nivel de taninos condensados es muy bajo en

Moringa (*Moringa oleifera*), belongs to the family Moringaceae, a small group of species of the order of Brassicales that includes cabbage and radish (Olson, 2002). The leaf has attracted the attention of the general public due to the nutritional and medicinal properties attributed to it. From the nutritional point of view, the moringa leaf has a high protein content (30%) and has anti-inflammatory effects (Tangestani *et al.*, 2015) and is a protective hepatoprotector (Fakurazi *et al.*, 2012), among others effects. One of the possible reasons why this plant has these properties is the presence of flavonoids, vitamins and carotenoids, among other secondary metabolites it contains (Guzmán-Maldonado *et al.*, 2015).

Due to the boom that the moringa leaf has acquired, its production has increased significantly. Harvesting of the leaf is carried out without taking into account the possible variation in the chemical composition and biological activity of mixtures of leaves with different origin. The objective of the present work was to explore the possible variation in the phenolic composition and the antioxidant capacity of collections in the state of Chiapas. The means comparison was performed by the Tukey method ($p < 0.05$) using an ANOVA variance analysis and Fisher's of LSD method to create confidence intervals to generate the least significant difference (DMS) ($p < 0.05$).

In all cases, the average is the average of three replicates. The leaves of 20 different trees were harvested from the moringa orchard of the Experimental Field of Izapa Chiapas-INIFAP. Each of the trees was collected from different localities of the state and planted with the intention of maintaining a representative collection of the species. The content of total phenols (Singlenton *et al.*, 1999), condensed tannins (Deshpande and Cheryan, 1985), simple phenolics by (HPLC) (Ramamurthy *et al.*, 1992) and antioxidant capacity against oxygen radicals (ORAC) (Ou *et al.*, 2001) and against positive radicals (ABTS⁺) (TEAC) (Van den Berg *et al.*, 1999).

The range in total phenol content ranged from 2 436.3 to 3 749.9 mg EAG/100 g while that of condensed tannins was 3.04 to 39.57 mg EC/100 g (Table 1). In both cases, the minimum significant difference (DMS) was 202.2 for total phenols and 4.8 for condensed tannins; it is obvious that there is greater variability in the collections in the content of condensed tannins and therefore the mixtures will present a greater variation in these compounds. However, the level of condensed tannins is very low in

comparación con otras especies y por lo tanto, se puede descartar un posible efecto anti nutrimental de los taninos ya que tienen la propiedad de disminuir la biodisponibilidad de minerales y proteínas.

comparison with other species and therefore, a possible anti-nutritental effect of tannins can be ruled out as they have the property of decreasing the bioavailability of minerals and proteins.

Cuadro 1. Contenido de fenoles totales y taninos condensados en la hoja de colectas de moringa provenientes del estado de Chiapas.

Table 1. Content of total phenols and condensed tannins in the moringa collection leaf from the state of Chiapas.

Muestra	Fenoles totales (mg EAG/100 g, bs)	Taninos condensados (mg EC/100 g, bs)
1	3 308.5±107.4	18.07±1.08
2	3 072.7±34.8	20.52±1.87
3	3 263.2±18.4	27.95±1.86
4	3 002.7±13.9	13.73±1.08
5	3 749.9±12.2	11.83±1.08
6	3 429.7±99.1	10.01±1.08
7	3 330.3±231.6	17.47±1.08
8	3 529.9±18.6	16.3±1.09
9	3 531.3±69.3	12.06±1.1
10	2 789.4±8.1	29.53±2.88
11	2 896.9±20.3	15.87±1.06
12	2 751.9±51	39.57±3.46
13	3 246.6±4.6	10.46±1.07
14	3 162.4±16.4	23.15±2.11
15	3 173.5±27.1	20.05±1.08
16	3 203.2±9.2	17.33±1.07
17	2 806.2±7.9	6.76±1.06
18	2 436.3±3.2	13.86±1.04
19	2 542.5±27.4	3.04±1.05
20	2 867.7±21.4	8.81±1.09

EAG= equivalentes de ácido gálico; EC= equivalentes de catequina; DMS= fenoles totales= 202.2; taninos condensados= 4.8.

Se ha reportado en frijol que niveles arriba de 2 000 mg EC/100 g presentan un efecto negativo en el desarrollo de ratas de laboratorio (Reynoso *et al.*, 2007). Por otro lado, 13 de 20 colectas presentan un alto contenido de fenoles totales lo cual puede reflejarse en una alta capacidad antioxidante.

Se identificaron cuatro compuestos fenólicos simples: el ácido gálico, la rutina, ácido clorogénico y ácido cumárico en las hojas de la colección de moringa (Cuadro 2); sin embargo, el ácido cumárico solo se presentó en el 25% de las muestras, pero con un rango amplio en su contenido de 89.3 a 805.2 mg/100 g. Una situación similar se observó con la rutina (83.3-1948.7 mg/100 g), el ácido gálico (24.08-110.22 mg/100 g) y el ácido clorogénico (97-1315.2 mg/10 g).

It has been reported in beans that levels above 2000 mg EC/100 g have a negative effect on the development of laboratory rats (Reynoso *et al.*, 2007). On the other hand, 13 of 20 collections have a high content of total phenols which can be reflected in a high antioxidant capacity.

Four simple phenolic compounds were identified: gallic acid, rutin, chlorogenic acid and cumaric acid in the leaves of the moringa collection (Table 2); however, coumaric acid was only present in 25% of the samples, but with a wide range in its content from 89.3 to 805.2 mg/100 g. A similar situation was observed with rutin (83.3-1948.7 mg/100 g), gallic acid (24.08-110.22 mg/100 g) and chlorogenic acid (97-1315.2 mg/10 g).

Cuadro 2. Contenido de compuestos fenólicos simples (mg/100 g, bs) en hoja de colectas de moringa provenientes de Chiapas.
Table 2. Contents of simple phenolic compounds (mg/100 g, bs) in the moringa collection leaf from Chiapas.

Muestra	Ácido gálico	Rutina	Ácido clorogénico	Ácido cumárico
1	34.96±0.301	1279.9±10.6 b	1315.2±10 a	nd
2	110.22±0.59 a	1282.6±25.1 b	373±7.1 e	nd
3	29.48±0.65 n	958±16.5 ef	288.5±2.8 f	nd
4	38.32±0.54 k	636.9±7.6 i	286.7±9.6 f	nd
5	42.16±0.77 hi	1948.7±22.9 a	286.9±9.6 f	nd
6	77.97±0.94 d	455±8.9 m	275.2±6 fg	nd
7	92.05±0.77 c	617.2±5.5 ij	446.2±5.2 d	nd
8	99.55±0.59 b	1118±13.2d	695.1±4 c	805.2±9 a
9	76.44±0.37 d	918.7±6.5 fg	760.9±7.3 b	776.1±11.7 a
10	59.83±0.46 e	983±8.6 e	186.6±2.8 k	92.8±1.3 bc
11	51.12±0.61 g	728.5±16.2 h	373.3±13.3 e	89.3±1.3 bc
12	56.66±0.41 f	576.4±6 jk	97±2.4 m	nd
13	39.82±0.32 jk	508.7±1.71	nd	262.9±3.2 b
14	32.13±0.03 m	130.4±1.2 o	462.4±8.6 d	nd
15	24.08±0.25 o	83.3±1.3 p	234.3±3.6 hij	nd
16	40.09±0.62 ijk	892.4±1.3 g	239±5.5 hi	nd
17	43.36±0.36 h	1204±3.8 c	209.1±10.6 jk	nd
18	29.09±0.6 n	418.7±10.3 m	155.5±1.91	nd
19	41.53±0.22 hij	567.6±5.8 k	225.1±2.3 ij	nd
20	30.9±0.56 mn	370.6±3 n	185.3±2.8 k	nd

Promedios con letras similares en la misma columna son estadísticamente iguales (Tukey, 0.05).

Los niveles en la capacidad antioxidante de las colectas presentó un menor rango (402.53-559.39 µmol ET/g) para ORAC que para TEAC (389.3-587.72 µmol ET/g) (Cuadro 3). Esta variación tan alta, permite pronosticar que mezclas de hojas de esta especie presentarán poca uniformidad en el contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante.

The levels in the antioxidant capacity of the collections presented a lower range (402.53-559.39 µmol ET/g) for ORAC than for TEAC (389.3-587.72 µmol ET/g) (Table 3). This high variation allows predicting that leaf blends of this species will exhibit poor uniformity in the phenolic compounds content and antioxidant capacity.

Cuadro 3. Capacidad antioxidante de extractos de la hoja de colectas de moringa provenientes del estado de Chiapas.
Table 3 Antioxidant capacity of leaf extracts from moringa collections from the state of Chiapas.

Muestra	ORAC (µmol ET/g)	TEAC (µmol ET/g)
1	479.43±22.77	442.88±37.63
2	462.99±10.84	478.54±19.8
3	496.89±14.11	501.37±9.79
4	402.53±13.22	452.44±28.05
5	443.18±16	532.88±37.74
6	471.32±27.91	486.11±27.57
7	468.48±45.51	511.48±22.03
8	559.39±22.58	587.72±17.64

ET = Equivalentes de Trolox; DMS: ORAC= 77.7; TEAC= 65.8.

Cuadro 3. Capacidad antioxidante de extractos de la hoja de colectas de moringa provenientes del estado de Chiapas (continuación).

Table 3 Antioxidant capacity of leaf extracts from moringa collections from the state of Chiapas (continuation).

Muestra	ORAC ($\mu\text{mol ET/g}$)	TEAC ($\mu\text{mol ET/g}$)
9	506.95 \pm 25.55	548.39 \pm 20.83
10	453.19 \pm 28.15	440.64 \pm 35.28
11	415.3 \pm 21.92	421.14 \pm 28.63
12	444.79 \pm 42.92	470.85 \pm 43.63
13	471.29 \pm 27.76	515.6 \pm 35.04
14	415.23 \pm 12.54	482.77 \pm 29.62
15	511.7 \pm 28.14	503.31 \pm 7.58
16	471.31 \pm 19.05	430.46 \pm 20.11
17	438.58 \pm 11.27	450.88 \pm 17.14
18	421.05 \pm 36.06	389.3 \pm 13.75
19	440.64 \pm 6.99	391.82 \pm 21.39
20	486.38 \pm 27.02	450.48 \pm 8.44

ET = Equivalentes de Trolox; DMS: ORAC= 77.7; TEAC= 65.8.

Conclusiones

Se debe tener precaución al promover mezclas de hoja de moringa como de alto valor nutracéutico.

Literatura citada

- Deshpande, S. S. and Chetyan, M. 1985. Evaluation of vannillin assay for tannin analysis of dry beans. *J. Food Sci.* 50(4): 905-916.
- Fakurazi, S.; Sharifudin, S. A. and Arulselvan, P. 2012. *Moringa oleifera* hydroethanolic extracts effectively alleviate acetaminophen-induced hepatotoxicity in experimental rats though their antioxidant nature. *Molecules.* 17(7):334-350.
- Guzmán, M. S. H.; Zamarripa-Colmenares, A. y Hernández-Durán, L. G. 2015. Calidad nutrimental y nutracéutica de hoja de moringa proveniente de árboles de diferente altura. *Rev. Mex. Cienc. Agríc.* 6(2):317-330.
- Olson, M. E. 2002. Intergeneric relationships within the Caricaceae-Moringaceae clade (Brassicales), and potential morphological synapomorphies of the clade and its families. *Int. J. Plant Sci.* 163(1):51-65.
- Ou, B.; Hampsh-Woodill, M. and Prior, R. 2001. Development and validation of an improved oxygen radical absorption capacity assay using fluorescein as a fluorescent probe. *J. Agric. Food Chem.* 49(10):4619-4626.
- Ramamurthy, M. S.; Maiti, B.; Thomas, P. and Nair, M. 1992. High performance liquid chromatography determination of phenolic acids in potato tubers (*Solanum tuberosum*) during wound healing. *J. Agric. Food Chem.* 40(4):569-572.

Conclusions

Caution should be exercised when promoting moringa leaf blends as high nutraceutical value.

End of the English version

- Reynoso, C. R.; Ríos, U. M. C.; Torres, P. I.; Acosta, G. J. A.; Palomino, S. A. C.; Ramos G. M.; González, J. E. y Guzmán, M. S. H. 2007. El consumo de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) y su efecto sobre el cáncer de colon en ratas Sprague-Dawley. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas.* 3(3):43-52.
- Singlenton, V.; Orthofer, R. and Lamuela, R. R. M. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzimol.* 152-178 pp.
- Tangestani, F. M.; Arulselvan, P.; Karthivashan, G.; Khadijah, A. S. and Fakurazi, S. 2015. Bioactive extract from *Moringa oleifera* inhibits the pro-inflammatory mediators in lipopolysaccharide stimulated macrophages. *Pharmac. Magazine.* 11(Suppl 4):S556-S563.
- Van den Berg, R.; Haenen, G. R. M.; Van den Berg, H. and Bast, A. 1999. Applicability of an improved Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay for evaluation of antioxidant capacity measurements of mixtures. *Food Chem.* 66(4):511-517.