

Diseño de infusión de *Moringa oleifera* Lam. (moringa) e
Hibiscus sabdariffa L. (flor de Jamaica)

Design of an infusion of *Moringa oleifera* Lam. (moringa) and
Hibiscus sabdariffa L. (Jamaican flower)

Mercedes Campo Fernández^{1*} <https://orcid.org/0000-0002-9835-6886>

Karina Alexandra Burgos Díaz¹ <https://orcid.org/0000-0003-2707-7617>

Marjorie Gabriela Reyes Jara¹ <https://orcid.org/0000-0003-3972-2863>

Nubia Lisbeth Matute Castro¹ <https://orcid.org/0000-0002-6707-4341>

Jorge Vicente Cun Carrión¹ <https://orcid.org/0000-0002-7876-7653>

Osmany Cuesta-Rubio¹ <https://orcid.org/0000-0002-9490-8735>

Ingrid Márquez Hernández¹ <https://orcid.org/0000-0002-1629-6657>

Carmita Gladys Jaramillo Jaramillo¹ <https://orcid.org/0000-0002-3745-8635>

¹Universidad Técnica de Machala. Machala, Ecuador.

*Autor para la correspondencia: mcampo1972@yahoo.es

RESUMEN

Introducción: En la actualidad, se buscan alimentos naturales que posean propiedades nutricionales y funcionales que sean de fácil introducción a la dieta de las personas. La combinación de hojas de *Moringa oleifera* Lam. Moringaceae, con los cálices de *Hibiscus sabdariffa* L. Malvaceae, lograrían una infusión beneficiosa para la salud, por el contenido de compuestos bioactivos hidrosolubles que aporta.

Objetivo: Diseñar una fórmula de infusión, combinando las hojas de *M. oleifera* (moringa) con los cálices de *H. sabdariffa* (flor de Jamaica).

Métodos: Las materias primas fueron evaluadas mediante la determinación de humedad residual, cenizas totales e insolubles en ácido, minerales, proteína y fenoles totales (Folin-Ciocalteu). Mediante cromatografía líquida de alta eficiencia/espectrometría de masas (CLAE/EM), se establecieron los compuestos mayoritarios y además, se determinó la capacidad antioxidante (Cl₅₀ mediante DPPH). Se diseñaron tres formulaciones; se eligió la de mayor

aceptación sensorial y a esta se le realizaron los correspondientes controles de calidad físico-químicos.

Resultados: Los estándares de calidad determinados a las drogas secas se encuentran dentro de los límites referidos en la literatura. El estudio químico permitió identificar en el extracto acuoso de la *M. oleifera*, flavonoides glicosidados derivados de quercetina, apigenina y kaempferol, ácidos fenólicos y un lignano. Además, se encontraron ácidos orgánicos y el aminoácido fenilalanina. En el extracto acuoso de los cálices de *H. sabdariffa* se identificaron antocianinas, flavonoides glicosidados y ácidos orgánicos. La formulación de mayor aceptación sensorial fue la mezcla 50:50 de ambas drogas secas. El control de calidad de la infusión, mediante diversas pruebas físico-químicas, permitió su estandarización. La cuantificación de polifenoles en 200 mL de agua fue de 49,34 mg EAG y la CI_{50} del DPPH de 0,06 mg/mL.

Conclusiones: La infusión diseñada posee las características necesarias para ser considerada, por sus propiedades nutricionales y antioxidantes, como una bebida beneficiosa para la salud humana.

Palabras claves: *Moringa oleifera* Lam; *Hibiscus sabdariffa* L; infusión; compuestos fenólicos; actividad antioxidante; CLAR/EM.

ABSTRACT

Introduction: Currently, natural foods are sought that have nutritional and functional properties and that are easy to introduce to the diet of people. The combination of leaves of *Moringa oleifera* Lam., Moringaceae, with the chalice of *Hibiscus sabdariffa* L., Malvaceae, would achieve a beneficial infusion for health due to the content of water-soluble bioactive compounds that it provides.

Objective: To design a formulation to prepare as an infusion, combining the leaves of *M. oleifera* (moringa) with the chalice of *H. sabdariffa* (flower of Jamaica).

Methods: The raw materials were evaluated by determining residual humidity, total ash and insoluble in acid, minerals, protein and total phenols (Folin-Ciocalteu).

By means of high-efficiency liquid chromatography / mass spectrometry (HPLC / MS), the major compounds were established and, in addition, the antioxidant capacity (IC_{50} by DPPH) was determined. Three formulations were designed, the one with the greatest sensory acceptance was chosen and the corresponding physical-chemical quality controls were performed on this.

Results: The quality standards determined to dry drugs are within the limits referred to in the literature. The chemical study allowed to identify glycosidic flavonoids, derivatives of quercetin, apigenin and kaempferol; phenolic acids and a lignan in the aqueous extract of the *M. oleifera*. In addition to organic acids and the amino acid phenylalanine. In the aqueous extract of the chalice of *H. sabdariffa*, anthocyanins, glycosidic flavonoids and organic acids were

identified. The best accepted sensory formulation was the 50:50 mixtures of both drugs. The quality control of the infusion, through various physicochemical tests, allowed its standardization. The quantification of polyphenols in 200 mL of water was 49.34 mg EAG and the IC₅₀ of DPPH of 0.06 mg / mL.

Conclusions: The designed infusion has the necessary characteristics to be considered, for its nutritional and antioxidant properties, as a beneficial beverage for human health.

Key words: *Moringa oleifera* Lam; *Hibiscus sabdariffa* L; infusion; phenolic compounds; antioxidant activity; HPLC/MS.

Recibido: 15/04/2019

Aprobado: 17/06/2020

Introducción

Durante años la naturaleza ha servido como fuente de tratamientos medicinales. Las evidencias científicas han contribuido a que los profesionales encargados de prescribir las plantas medicinales y la población que la consume de manera consciente, las consideren como una herramienta terapéutica efectiva.

De *Moringa oleifera* Lam. (moringa), se utilizan todas sus partes con diferentes propósitos: como medicamento, para la producción de biodiesel y como alimento⁽¹⁾. Las hojas frescas poseen minerales, aminoácidos esenciales, vitaminas, entre otros, los cuales le atribuyen sus cualidades nutricionales. Adicionalmente, se refiere la presencia de compuestos fenólicos simples, flavonoides, glucosinolatos, isotiocianatos, saponinas y alcaloides, los que le otorgan, propiedades farmacológicas, tales como: antioxidante, antiinflamatoria, hipoglicemiante, hipolipidémicas, entre otras.^(2,3)

De *Hibiscus sabdariffa* L. (flor de Jamaica), lo que más se utiliza es el cáliz, debido a su potencial farmacéutico y alimenticio.^(4,5) Estos son ricos en vitaminas, minerales, ácidos carboxílicos, ácidos fenólicos y flavonoides (fundamentalmente antocianinas), los que tributan a sus propiedades antioxidantes, hipolipemiantes, antihipertensivas, diuréticas, etc.⁽⁶⁾

Por todo lo expuesto, el objetivo de este trabajo fue diseñar una formulación para preparar una infusión, combinando las hojas de *M. oleifera* (moringa) con los cálices de *H. sabdariffa* (flor de Jamaica).

Métodos

La cosecha de las hojas de *M. oleifera* y los cálices de *H. sabdariffa* se realizó en los terrenos de la Unidad Académica de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Machala, entre los meses de abril y mayo. Ambas fueron identificadas y clasificadas taxonómicamente por ingenieros agrónomos de dicha Universidad.

Las materias primas vegetales fueron lavadas y desinfectadas con agua potable e hipoclorito de sodio (2 %). Para las hojas de *M. oleifera* se realizó un secado previo a la sombra durante 3 días, a temperatura ambiente (20-25 °C). Posteriormente, se separaron las hojas de los raquis. En los cálices de *H. sabdariffa* se retiraron primero las semillas. Ambas drogas se deshidrataron en una estufa (MEMMERT UF 55, Alemania) a una temperatura de 40 ± 2 °C (moringa) y 45 ± 2 °C (flor de Jamaica), con circulación de aire (100 %) y trampilla abierta (100 %) durante 20 h, aproximadamente. La molienda de las drogas secas se realizó en un molino artesanal (MAGRICO, Ecuador), utilizando una criba de 1 mm.

Control de calidad de las drogas vegetales secas

La determinación de la humedad residual se realizó en una balanza (Ohaus, modelo MB90, USA) con fuente de calentamiento halógeno. La cuantificación de cenizas totales y cenizas insolubles en ácido se hizo según métodos normalizados.^(7,8) En todos los casos se realizaron tres réplicas, reportándose la media y la desviación estándar.

La determinación de minerales se efectuó según normas de la AOAC.⁽⁷⁾ La cuantificación de plomo (Pb) y arsénico (As) se realizó en el laboratorio AVVE, siguiendo la metodología MMQ-AAS-04 para determinar As, y la MMQ-AAS-28 para el Pb, según procedimientos establecidos por dicho laboratorio.

El control microbiológico se realizó, según normas internacionales,⁽⁹⁾ en busca de la presencia de gérmenes aerobios totales, mohos y levaduras, coliformes totales y enterobacterias.

Determinación de proteínas

La cuantificación de proteínas se efectuó mediante el método de Bradford.⁽¹⁰⁾ Para la preparación de la muestra se pesaron 2 g de droga seca y se realizó la extracción con 50 mL de agua destilada, en un baño ultrasónico (ULTRASONIC BATH 5.7 L, Fischer Scientific) por 30 minutos. Se elaboró una curva de calibración con albúmina de suero bovino (Bradford Reagent BSA, SIGMA), con concentraciones entre 2,27 y 13,64 µg/mL. Las diluciones y las muestras se

analizaron por triplicado, efectuándose la lectura en un espectrofotómetro (UVMINI-1240 SHIMADZU) a 595 nm. La ecuación obtenida mediante el análisis de regresión lineal se muestra a continuación ($R=0,99424$):

$$\text{Absorbancia} = 0,00901172 + 0,0282687 * \text{concentración} \quad (1)$$

Determinación de fenoles totales mediante el método de Folin-Ciocalteu

Se elaboraron dos extractos mediante sonicación durante 30 min. Se utilizó 1 g de *M. oleifera* y 0,6 g de *H. sabdariffa*, debidamente pulverizados, empleando como menstuo 100 mL y 50 mL de agua destilada, respectivamente.

El ensayo se basó en la metodología de *Singleton* y otros,⁽¹¹⁾ con algunas modificaciones.⁽¹²⁾ La cuantificación se realizó a partir de la curva de calibración obtenida para la cual, según análisis de regresión lineal, se obtuvo la ecuación (2), ($R=0,99933$):

$$\text{Absorbancia} = 0,0116667 + 1,12071 * \text{concentración} \quad (2)$$

Elaboración del extracto acuoso seco (EAS)

Se pesaron 20 g de droga cruda de ambas muestras, se le añadió 50 mL de agua destilada y se dejó reposar por unos minutos para su humectación. Luego fueron agregados 100 mL más de agua destilada y se sometieron a sonicación durante 30 minutos. Se filtró el extracto y se agregaron otros 100 mL al residuo de la droga vegetal. Se sónico nuevamente durante 30 minutos y se filtró. El extracto obtenido se llevó a sequedad total mediante un rotoevaporador (HEIDOLPH LABOROTA 4001 efficient), acoplado a un criostato (LAUDA/ALPHA RA-8) y a una bomba de vacío (VACUUBRAND PC 600, Alemania).

Análisis químico de los EAS de *M. oleiferae* *H. sabdariffa* mediante cromatografía líquida de alta eficiencia acoplada a espectrometría de masas (CLAE/EM)

Se empleó un sistema UHPLC (Thermo Scientific, UltiMate 3000), compuesto por una bomba cuaternaria, un automuestreador, un compartimento de columna, un sistema DAD (Detectores de diodos), acoplado a un espectrómetro de masas Thermo Scientific LTQ XL controlado por el programa Xcalibur. Se utilizó una columna Accucore RP-MS C18 (100 x 2,1 mm; 2,6 μm), acondicionada a 35 °C y un flujo de 0,4 mL/min. El volumen de inyección de la muestra fue 2 μL . La fase móvil utilizada fue acetonitrilo (A) y agua ácida (B) (ácido fórmico al 0,1 % en agua) con el método de elución en gradiente que comenzó con 20 % (A) y 80 % (B). Las condiciones utilizadas en el espectrómetro de masa fueron: voltaje de Spray: 5,00 kV, voltaje capilar: -50,00 V, temperatura del capilar: 225,00 °C. Gas principal: 34; gas auxiliar: 5 y gas de barrido: 3 unidades

arbitrarias (nitrógeno). Se empleó el modo ion negativo y el modo ion positivo, por medio del modo "Full Scan" con rangos de 100-1000 Da, en modo dependiente MS/MS. Para la preparación de las muestras, se pesaron alrededor de 3 mg de ambos EAS y se diluyeron en 1 mL de metanol para CLAE. Posteriormente se pasaron por filtros de 0,2 µm de diámetro.

Determinación de la capacidad secuestradora de radicales libres frente al 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH)

Se determinó a través de la concentración inhibitoria media (CI₅₀), según método descrito por Barrón-Yáñez y otros,⁽¹³⁾ donde se efectuó la lectura a 516 nm en el espectrofotómetro. Se prepararon dos disoluciones madres de los EAS de ambas drogas (1 mg/mL), a partir de las cuales se obtuvieron diluciones acuosas de concentración 0,05; 0,1; 0,2; 0,3; 0,4 mg/mL. Para esta determinación se graficó el porcentaje de inhibición *versus* concentración y la CI₅₀ se calculó mediante la regresión lineal.

Para la determinación de la cinética se elaboró una curva de calibración con DPPH, a partir de una concentración de 0,1 mM. De esta disolución madre se prepararon diluciones metanólicas de concentraciones entre 0,01 y 0,08 mM. Las lecturas se realizaron por triplicado en un espectrofotómetro a 516 nm, con el uso como blanco del metanol. El análisis de regresión lineal de la curva de calibración para la determinación del DPPH remanente dio como resultado la ecuación (3), (R=0,99913):

$$\text{Absorbancia} = -0,01939 + 11,4344 * \text{concentración} \quad (3)$$

Para evaluar la cinética de ambos extractos se siguió el método propuesto por Barrón-Yáñez y otros,⁽¹³⁾ con algunas modificaciones. De cada muestra se prepararon diluciones acuosas de los EAS a concentraciones de 1; 1,5 y 2 mg/mL. Se tomaron 0,05 mL de cada una y se pusieron a reaccionar con 1,9 mL de DPPH (0,1 mM). Adicionalmente, se preparó la disolución del estándar quercetina (0,08 mg/mL, Sigma Aldrich). Se midieron las absorbancias a 516 nm con intervalos de 60 s, desde tiempo cero (DPPH_{t=0}) hasta concluir 30 min. (DPPH_{rem}). Cada lectura se hizo por triplicado y como blanco se usó metanol. La concentración de DPPH_{rem} a los diferentes tiempos se calculó a través de la ecuación (4):

$$\% \text{ DPPH}_{\text{rem}} = 100 * \text{DPPH}_{\text{rem}} / \text{DPPH}_{t=0} \quad (4)$$

Diseño de la formulación y control de calidad de la infusión

Se realizó un diseño experimental completamente al azar, donde se usó como variables independientes los porcentajes de inclusión de ambas plantas en la

formulación, los que serían: 80/20, 70/30 y 50/50. Fueron identificados para la evaluación sensorial como 240, 140 y 310, respectivamente. Como variable independiente, se utilizó la respuesta sensorial de un panel de 46 jueces consumidores, y se aplicó una prueba afectiva de ordenamiento, sobre la base del nivel de aceptación. La evaluación de los resultados para la selección de la mejor formulación se hizo con el paquete estadístico Statgraphics Centurion XVII, a través de un análisis de varianza y la prueba de rangos múltiples, con un nivel de significancia del 95 %.

La formulación de mayor aceptación fue envasada en bolsas de papel filtro sellable, en una envasadora automática para bolsas de té sin sobre, marca ECUAPACK, modelo DXDC-125.

Se tomó el contenido de un sobre (1,5183 g) y se agregó a 200 mL de agua a punto de ebullición (100 °C), dejándose reposar durante 10 min. La infusión fue evaluada según: características organolépticas; pH (pH-metro digital marca BANTE); grados Brix, índice de refracción, porcentaje de fructosa, glucosa (refractómetro ANTON PAAR) y densidad relativa por picnometría. La determinación de fenoles totales, así como la Cl_{50} , se desarrolló de la manera antes descrita. Todas las determinaciones se realizaron por triplicado, reportándose la media y desviación estándar.

Análisis estadístico

El análisis de la media y desviación estándar se realizó mediante Excel 2013. El procesamiento de los datos del análisis de regresión lineal se hizo con el paquete estadístico *Statgraphics Plus* versión 5.0.

Resultados

Los parámetros determinados para evaluar la calidad de las materias primas vegetales se muestran en la tabla 1.

Tabla 1. Control de calidad de las drogas crudas, hojas de *M. oleifera* y cálices de *H. sabdariffa*

Parámetros (%)	<i>M. oleifera</i> media / DS	<i>H. sabdariffa</i> media / DS
Humedad residual	5,11/0,45	6,92/0,50
Cenizas totales	9,46/0,03	4,92/0,01
Cenizas insolubles en HCL al 10%	3,39/0,09	1,12/0,07
Cuantificación de minerales		

Macrominerales (% en materia seca)	3,82	0,86
N	0,45	0,28
P	2,58	1,97
K	2,43	1,37
Ca	0,26	0,21
Mg		
Microminerales (ppm)	18,60	27,50
Zn	12,20	7,40
Cu	114,90	54,80
Fe	39,40	20,40
Mn	92,10	58,40
Na		
Control microbiológico	cumple	cumple

Como se puede apreciar el proceso de secado resultó óptimo, pues la humedad residual no supera el 12 %. La cuantificación de cenizas totales mostró que la *M. oleifera* presenta un mayor porcentaje de materia inorgánica, que los cálices de *H. sabdariffa*. Las cenizas insolubles en ácido clorhídrico fueron inferiores al 2 %, lo que indica que hay baja concentración de residuos de arena o tierra silíceas.

Los estudios realizados mostraron que los niveles de metales pesados no superan los límites permisibles, ya que se obtuvieron valores de As inferiores a 0,005 mg/kg y de Pb inferiores a 0,09 mg/kg. El contenido proteico obtenido en las hojas de *M. oleifera* secas fue de 27,67 mg por cada 100 g. En el caso de los cálices de *H. sabdariffa*, los valores resultaron despreciables, según la técnica desarrollada. La cuantificación de fenoles total en los extractos acuosos de *H. sabdariffa* (5138,83 mg EAG/ 100 g de droga cruda) resulta ser casi el doble de *M. oleifera* (2748,26 mg EAG/ 100 g de droga cruda).

El análisis mediante CLAE/EM (Tabla 2), permitió la identificación de los principales metabolitos presentes en los EAS de ambas especies. La asignación de cada compuesto se realizó por comparación de los iones moleculares obtenidos y los correspondientes iones fragmentos, con lo referido por otros autores para las mismas especies, utilizando similar técnica de espectrometría.

Tabla 2. Compuestos químicos identificados en la *M. oleifera* (modo negativo) e *H. sabdariffa* (modo ion positivo y negativo) mediante CLAE/EM

<i>M. oleifera</i>			
t _R (min)	Compuesto	m/z [M - H] ⁻	MS ² * pico base
0,61	ácido glucónico ⁽¹⁴⁾	195	176, 158, 129*, 99
0,67	ácido cítrico ⁽¹⁴⁾	191	173, 129, 127, 111*
0,83	Fenilalanina ⁽¹⁴⁾	164	147
0,85	ácido 3,4-di-O-caffeoilquinico ⁽¹⁵⁾	515	353, 341, 335, 191, 179*, 173

1,14	ácido 3-O-caffeoilquinico ⁽¹⁵⁾	353	191*, 179, 135
1,43	ácido 3,4-di-O-caffeoilquinico (isómero) ⁽¹⁵⁾	515	353, 341*, 335, 191, 179, 173
1,47	quercetina diglicosidada ⁽¹⁴⁾	625	463*, 301
1,82	ácido 4-O-caffeoilquinico ⁽¹⁵⁾	353	191, 179, 173*
2,82	6,8-C-dihexosa apigenina ⁽¹⁶⁾	593	575, 503, 473*, 383, 353
3,86	quercetina diglicosidada ⁽¹⁴⁾	625	463*, 301
5,16	isolariciresinol glicósido/lariceresinol glicósido ⁽¹⁴⁾	521	359
5,32	glucósido de apigenina ⁽¹⁴⁾	431	341, 311*, 283
5,68	quercetina-3-O-galactósido ⁽¹⁵⁾	463	301*, 300
6,73	quercetina-3-O-acetil galactósido ⁽¹⁵⁾	505	463, 301*, 300
7,06	hidroxi-metilglutaroil hexosa quercetina ⁽¹⁶⁾	607	545, 505, 463*, 301
7,50	kaempferol 3-O-glucósido ⁽¹⁴⁾	447	327, 285, 284*, 255
9,98	kaempferol acetil glicósidos ⁽¹⁶⁾	489	285
11,52	acetil hexosa-isoramnetina ⁽¹⁶⁾	519	315*
<i>H. sabdariffa</i>			
0,66	ácido hidroxycítrico ⁽¹⁷⁾	207	189*, 127
0,68	ácido hibiscus ⁽¹⁷⁾	189	127
17,28	quercetina 3-rutinósido ^(17,18)	609	301
17,50	quercetina 3-glucósido ⁽¹⁷⁾	463	301
17,86	kaempferol3-(<i>p</i> -coumarilglucósido) ⁽¹⁷⁾	593	447, 285*
Tr (min)	Compuesto	M ⁺	MS ² * pico base
14,70	delfinidina-3-sambubiósido ⁽¹⁸⁾	597	303
15,42	cianidina 3-sambubiósido ⁽¹⁹⁾	581	287
17,44	delfinidina-3-galactósido ^(18,19)	465	315*, 303

Los resultados de CI₅₀ de cada EAS constataron que, el extracto acuoso de *H. sabdariffa* a menor concentración (0,0503 mg/mL) logra inhibir el 50 % de la concentración inicial del radical DPPH. Lo anterior permite afirmar que dicho extracto posee mayor poder antioxidante que el de *M. oleifera*, según la

metodología empleada. La relación entre el contenido de compuestos fenólicos totales (mg EAG/ 100 g de droga cruda) y la actividad antioxidante determinada a través del CI_{50} se muestra en la figura 1.

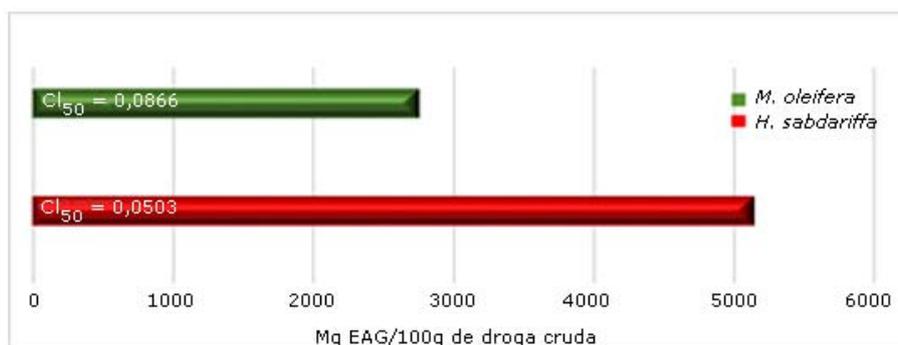


Fig. 1. Relación entre los mg EAG por cada 100 g de droga y la capacidad secuestradora de radicales libres (CI_{50}) de las dos especies estudiadas

La mayor capacidad antioxidante del extracto acuoso de *H. sabdariffa*, guarda estrecha relación con los niveles de polifenoles totales determinados para dicho extracto.

En el estudio cinético (Fig. 2), se observa que el estado estacionario a las diferentes concentraciones ensayadas, se logra de manera lenta. En la medida que la concentración del extracto aumenta, la velocidad de inhibición del DPPH se incrementa. Incluso el comportamiento resulta ser similar al que muestra la quercetina, utilizada en el ensayo, como patrón. El patrón muestra un perfil muy similar al obtenido con el extracto de *M. oleifera* a una concentración de 1,5 mg/mL y con el extracto de *H. sabdariffa* a la concentración de 1 mg/mL.

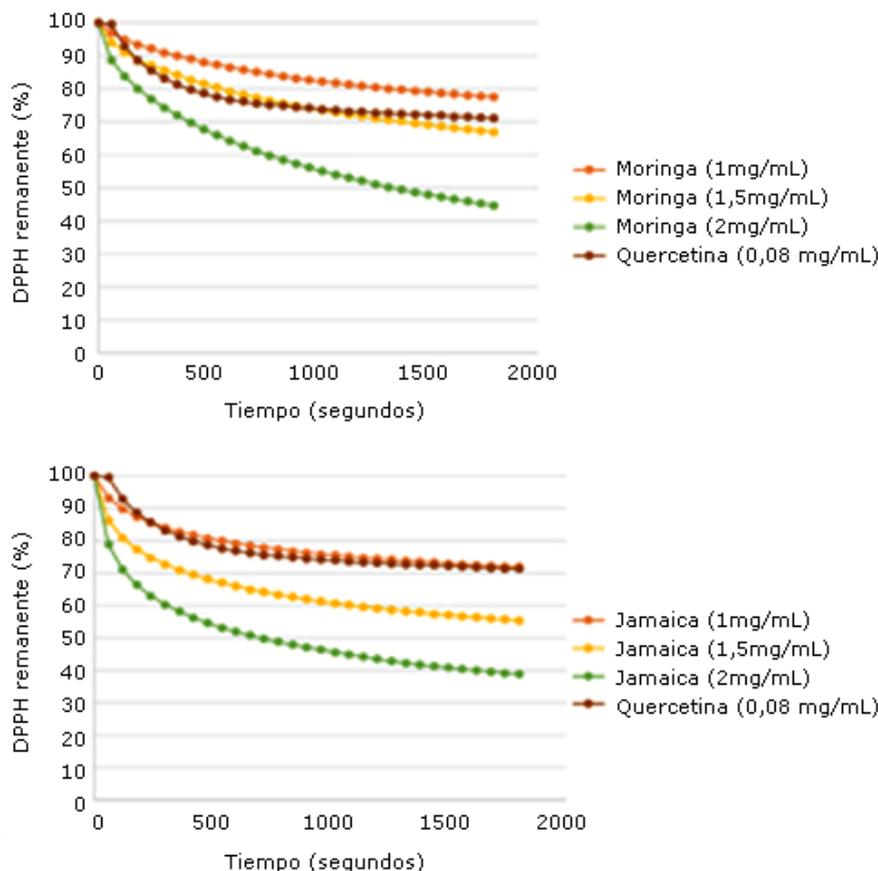


Fig. 2. Cinética de la reacción con DPPH para los extractos acuosos de *M. oleifera* e *H. sabdariffa* a diferentes concentraciones

Diseño de la formulación y control de calidad de la infusión

El análisis estadístico aplicado a los resultados de la evaluación sensorial, demostró que la formulación de mayor aceptación, con un nivel de confianza del 95 %, fue la 310 (50/50), la cual difirió estadísticamente de la 240 y la 150. Los parámetros que definen la calidad de la infusión sin endulzar se muestran en la tabla 3. Organolépticamente la infusión presentó un olor agradable y su color rojo es característico de las antocianinas. El sabor es discretamente ácido por la existencia de ácidos orgánicos. Cabe resaltar que el aporte de fenoles totales por funda de té que se utilice para elaborar la infusión con 200 mL de agua, es de 49,34 mg EAG. Dicha bebida lograría una CI_{50} de 0,06 mg/mL.

Tabla 3. Parámetros de calidad determinados en la infusión

Control de calidad	Media ± de
Índice de refracción	1,33 ± 0,00
Grados Brix	0,84 ± 0,01
Fructosa (%)	0,86 ± 0,01
Glucosa (%)	0,85 ± 0,01
pH	3,16 ± 0,00

Densidad relativa	1,00 ± 0,00
Fenoles totales (mg EAG/funda de té)	49,34 ± 2,60
Cl ₅₀ (mg/mL)	0,06 ± 0,15

EAG: equivalente de ácido gálico. DE: Desviación estándar.

Discusión

Según las normas nacionales⁽²⁰⁾, los parámetros evaluados cumplieron con los estándares de calidad. Garantizar un adecuado porcentaje de humedad residual en las drogas vegetales secas, es una medida de conservación que previene el deterioro de la materia prima, por hidrólisis de sus metabolitos o la acción de microorganismos.⁽²¹⁾

En una comparación de los minerales cuantificados para las hojas de *M. oleifera*, con los referidos por *Campo* y otros,⁽¹²⁾ resulta coincidente que el mineral que se encuentra en mayor cantidad es el Fe. De manera similar, los resultados obtenidos para los cálices de *H. sabdariffa*, difieren en mayor o menor medida con los reportados por otros autores.^(22,23) Los niveles de estos elementos inorgánicos depende de la composición química del suelo, al ser absorbidos por las plantas a través de las raíces. Estos pueden provenir de productos fitosanitarios, fertilizantes o, incluso, por la contaminación del medio ambiente.⁽²⁴⁾ Elementos tales como el hierro, el calcio, el magnesio y el zinc, se han determinado como esenciales para la salud humana.⁽²⁵⁾ Sin embargo, otros como el plomo, el cadmio, el aluminio o el arsénico, resultan ser tóxicos.^(26,27)

Al comparar el contenido total de polifenoles, con resultados referidos por otros autores,⁽¹²⁾ se observa que en este caso las hojas de *M. oleifera* recolectadas en los mismos terrenos, pero con solo 3 meses de sembrada, presentaron una mayor cantidad de compuestos fenólicos (3521 mg EAG/100 g de hojas secas). Este resultado hace notar la importancia de realizar los estudios de dinámica de acumulación de los metabolitos secundarios, para explotar la planta medicinal, cuando presente la madurez óptima o en su mejor estado fenológico.

La composición química obtenida mediante CLAE/EM, evidencia la presencia mayoritaria de compuestos fenólicos en sentido general y de flavonoides glicosidados en particular. Muchos de los metabolitos identificados en las hojas de *M. oleifera*, corresponden a derivados de la quercetina, flavonoide reconocido por su capacidad antioxidante.⁽²⁸⁾ Los ácidos orgánicos y las antocianinas derivadas de la cianidina y delphinidina, son referidos como los marcadores químicos de *H. sabdariffa*, siendo responsables de su actividad antioxidante.⁽²⁹⁾

Campo y otros,⁽¹²⁾ determinaron la presencia de glucosinolatos en las hojas de *M. oleifera*, metabolitos que no fueron hallados en la muestra analizada. Este hallazgo sugiere la necesidad de estudiar la composición química de la planta a diferente edad de cosecha.

La idea de evaluar la actividad antioxidante surge por los diversos artículos que hacen alusión al poder antioxidante de ambas drogas en estudio.^(30,31) Los resultados infieren que, en la medida que exista mayor contenido de metabolitos de naturaleza fenólica, mayor será la capacidad antioxidante (Fig. 1). Resultados similares han sido referidos para infusiones realizadas con otras plantas.⁽³²⁾ Estudios análogos con extractos acuosos de ambas materias primas,⁽³³⁾ han mostrado diferencias entre los resultados. Lógicamente, puede estar atribuido a factores intrínsecos y extrínsecos que afectan la composición química de una planta y como consecuencia su actividad biológica.

Según *Brand-Williams* y otros,⁽³⁴⁾ no todos los metabolitos muestran una misma cinética de reacción frente al DPPH. Los extractos en estudio exhiben un comportamiento similar al guayacol, en donde la reacción con el radical ocurre más lentamente.

Como se puede apreciar la infusión que se propone se compone de dos especies vegetales, cuya combinación garantizaría un excelente suministro de biomoléculas, con capacidad antioxidante. Podría resultar una opción para que los consumidores degusten una bebida que, además de ser agradable, posee las características necesarias para ser considerada como una posible bebida funcional, útil en la prevención de trastornos inherentes a la salud humana.

Referencias bibliográficas

1. Guaycha N, Jaramillo C, Cuenca S, Tocto J, Márquez I. Estudios farmacognósticos y toxicológicos preliminares de hojas, tallo y raíz de moringa (*Moringa oleifera* Lam.). Revista Ciencia. UNEMI. 2017[acceso:30/11/2018];10(22):60-8. Disponible en: <http://ojs.unemi.edu.ec/index.php/cienciaunemi/article/view/459>
2. Leone A, Spada A, Battezzati A, Schiraldi A, Aristil J, Bertoli S. Cultivation, genetic, ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacology of *Moringa oleifera* leaves: An overview. Int. J. Mol. Sci. 2015[acceso:30/11/2018];16(6):12791-835. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4490473/>
3. Abdallah E. Antibacterial properties of leaf extracts of *Moringa oleifera*

- Lam. growing in sudan. Journal of Advances in Medical and Pharmaceutical Sciences (JAMP). 2016 [acceso:30/11/2018];5(1):1-5. Disponible en: <https://pdfs.semanticscholar.org/39bc/e9f1d9288cca16c1a0383ab5b62eb09d3e52.pdf>
4. Zhen J, Villani TS, Guo Y, Qi Y, Chin K, Pan MH, *et al.* Phytochemistry, antioxidant capacity, total phenolic content and anti-inflammatory activity of *Hibiscus sabdariffa* leaves. Food Chem. 2016;190:673-80. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.06.006>
5. Apáez-Barrios P, Pedraza-Santos ME, de las Nieves M. Rendimiento y concentración de antocianinas en *Hibiscus sabdariffa* L. con aplicación foliar de micronutrientos. Rev. Chapingo Ser Hortic. 2018[acceso:5/1/2019];24(2):107-20. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1027-152X2018000200107
6. Salinas Y, Zúñiga A, Serrano V, Sánchez C. Color en cálices de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) y su relación con características fisicoquímicas de sus extractos acuosos. Revista Chapingo. Ser Hortic. 2012[acceso:1/12/2018];18(3):395-407. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1027-152X2012000300012
7. AOAC. Official methods of analysis of the association of official's analytical chemists, 17th edn. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, Virginia. 2003[acceso:1/12/2018]:2-66. Disponible en: <https://law.resource.org/pub/us/cfr/ibr/002/aoac.methods.1.1990.pdf>
8. Miranda M, Cuéllar A. Farmacognosia y productos naturales. Ciudad de La Habana. Cuba. MES. La Habana: Editorial Félix Varela; 2000.
9. Bacteriological Analytical Manual (BAM). U.S. Food & Drug administration (FDA). [acceso:8/11/2018]. Disponible en: <https://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm2006949.htm>
10. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal. Biochem. 1976;72(1-2):248-54. DOI: [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)
11. Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventos RM. Analysis of Total Phenols

and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent. *Methods Enzymol.* 1999;299:152-178. DOI:

[https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1)

12. Campo M, Sojos CG, Bastidas EV, Silva KM, Matute NL, Cun JV, *et al.* Infusión de hojas de *Moringa oleífera* L (moringa) y cascarilla de *Theobroma cacao* L (cacao). *Rev. Cub. Plantas Medicinales.* 2019[acceso:1/4/2019];24(1). Disponible en:

<http://www.revplantasmedicinales.sld.cu/index.php/pla/article/view/803/357>

13. Barron-Yáñez RM, García MR, Soto MR, Colinas T, Kite G. Flavonoides y actividad antioxidante de *Calia secundiflora* (Ort.) yakovlev. *Rev Fitotec Mex.* 2011[acceso:9/1/2019];34(3):151-7. Disponible en:

http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-73802011000300005

14. Rodríguez-Pérez C, Quirantes-Piné R, Fernández-Gutiérrez A, Segura-Carretero A. Optimization of extraction method to obtain a phenolic compounds-rich extract from *Moringa oleífera* Lam leaves. *Ind Crops Prod.* 2015;66:246-54. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.01.002>

15. Masike K, Khoza BS, Steenkamp PA, Smit E, Dubery IA, Madala NE. A Metabolomics-Guided Exploration of the Phytochemical Constituents of *Vernonia fastigiata* with the Aid of Pressurized Hot Water Extraction and Liquid Chromatography-Mass Spectrometry. *Molecules* 2017[acceso:10/1/2019];22:1200. Disponible en:

<https://www.mdpi.com/1420-3049/22/8/1200>

16. Makita C, Chimuka L, Steenkamp P, Cukrowska E, Madala E. Comparative Analyses of Flavonoid Content in *Moringa oleífera* and *Moringa ovalifolia* with the Aid of UHPLC-qTOF-MS Fingerprinting. *S. Afr. J. Bot.* 2016[acceso:1/12/2018];105:116-22. Disponible en:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0254629916002507>

17. Rodríguez-Medina IC, Beltrán-Debón R, Molina VM, Alonso-Villaverde C, Joven J, Menéndez JA, Segura-Carretero A, Fernández-Gutiérrez A. Direct Characterization of Aqueous Extract of *Hibiscus Sabdariffa* Using HPLC with Diode Array Detection Coupled to ESI and Ion Trap MS. *J. Sep. Sci.* 2009[acceso:12/1/2019];32(20):3441-8. Disponible en:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19750503/>

18. Beltrán-Debón R, Alonso-Villaverde C, Aragonés G, Rodríguez-Medina I,

Rull A, Micol V, *et al.* The aqueous extract of *Hibiscus sabdariffa* calices modulates the production of monocyte chemoattractant protein-1 in humans. *Phytomedicine*. 2010[acceso:12/1/2019];17(3-4):86-191. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19765963/>

19. Sarkar B, Kumar M, Mukhopadhyay K. A Rapid Method for Detection and Characterization of Anthocyanins from *Hibiscus*, *Ocimum* and *Syzygium* Species and Evaluation of Their Antioxidant Potential. In: Mukhopadhyay K, Sachan A, Kumar M. (eds) *Applications of Biotechnology for Sustainable Development*. Springer Singapore. 2017[acceso:11/1/2019]. Disponible en: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-981-10-5538-6_16

20. Instituto Ecuatoriano de Normalización. Hierbas aromáticas. Requisitos. NTE INEN. 2007[acceso:1/12/2018];2392:2013. Disponible en: <https://archive.org/details/ec.nte.2392.2007>

21. Márquez I, Bastidas TL, Fernández GK, Campo M, Jaramillo CG, Rojas L. Estudio farmacognóstico preliminar de tallo y raíz de la especie *Moringa oleifera* Lam cosechada en Machala. *Rev. Cub. Plantas Medicinales*. 2017[acceso:11/1/2019];22(1):1-13. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962017000100013

22. Nnam NM, Onyeke NG. Chemical composition of two varieties of sorrel (*Hibiscus Sabdariffa* L.), calyces and the drinks made from them. *Plant Foods Hum. Nutr.* 2003[acceso:11/1/2019];58(3):1-7. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1023/B:QUAL.0000040310.80938.53>

23. Tazoho GM, Gouado I, Ndomou M, Bonsi ST, Wamba YM, Agbor EE. Clinical, hematological and biochemical health benefit effects of *Hibiscus Sabdariffa* Lin dried calyces beverage in human. *Food Nutr. Sci.* 2016;7(5):383-95. DOI: <http://dx.doi.org/10.4236/fns.2016.75040>

24. Apáez-Barríos P, Pedraza-Santos ME, de las Nieves M. Yield and anthocyanin concentration in *Hibiscus sabdariffa* L. with foliar application of micronutrients. *Rev. Chapingo Ser Hortic.* 2018[acceso:11/1/2019];24(2):107-20. Disponible en: <http://www.scielo.org.mx/pdf/rcsh/v24n2/2007-4034-rcsh-24-02-107.pdf>

25. Gharibzahedi SMT, Jafari SM. The importance of minerals in human nutrition: Bioavailability, food fortification, processing effects and nanoencapsulation. *Trends in Food Science & Technology* 2017;62:119-32. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.02.017>

26. Kirmani MZ, Mohiuddin S, Naz F, Naqvi I, Zahir E. Determination of some toxic and essential trace metals in some medicinal and edible plants of Karachi city. *Journal of Basic & Applied Sciences*. 2011[acceso:15/1/2019];7(2):89-95. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/267934323_Determination_of_some_toxic_and_essential_trace_metals_in_some_medicinal_and_edible_plants_of_Karachi_city?enrichId=rgreq-f92d8c63dacafcc2b8d644d9f6669530-XXX&enrichSource=Y292ZXJQYWdlOzI2NzkzNDMyMztBUzoyOTkzNjU3MjI4MDQyMjRAMTQ0ODM4NTc1ODI4NA%3D%3D&el=1_x_2&_esc=publicationCoverPdf
27. Londoño-Franco LF, Londoño-Muñoz PT, Muñoz-García FG. Los riesgos de los metales pesados en la salud humana y animal. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial* 2016[acceso:15/1/2019];14(2):145-53. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/bsaa/v14n2/v14n2a17.pdf>
28. Martínez-Flórez S, González-Gallego J, Culebras JM, Tuñón M. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutr. Hosp*. 2012[acceso:15/1/2019];17(6):271-8. Disponible en: <http://www.nutricionhospitalaria.com/pdf/3338.pdf>
29. Williamson E, Driver S, Baxter K. (Eds.). *Stockley's herbal medicines interactions*. Pharmaceutical Press. 2013. Disponible en: https://www.stonybrookmedicine.edu/sites/default/files/herbal_medicines_interactions-1.pdf
30. Nobossé P, Fombang EN, Mbofung CM. Effects of age and extraction solvent on phytochemical content and antioxidant activity of fresh *Moringa oleifera* L. leaves. *Food Science & Nutrition*. 2018[acceso:15/1/2019];6(8):2188-98. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6261213/>
31. Vargas-Álvarez D, Chino-Patricio P, Damián-Nava A, Palemón-Alberto F, Hernández-Castro E, Silva-González M. Quercetin, kaempferol and apigenin in roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.). *Int. J. Adv. Res. Biol. Sci*. 2018[acceso:15/1/2019];5(1):62-66. Disponible en: <https://www.ijarbs.com/pdfcopy/jan2018/ijarbs11.pdf>
32. Bramati L, Aquilano F, Pietta P. Unfermented rooibos tea: quantitative characterization of flavonoids by HPLC–UV and determination of the total antioxidant activity. *J. Agric. Food Chem*. 2003;51(25):7472-74. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf0347721>
33. Reyes-Luengas A, Salinas-Moreno Y, Ovando-Cruz ME, Arteaga-Garibay RI,

Martínez-Peña MD. Análisis de ácidos fenólicos y actividad antioxidante de extractos acuosos de variedades de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) con cálices de colores diversos. Agrocienca. 2015[acceso:16/1/2019];49(3):277-90. Disponible en:

http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-31952015000300004

34. Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT-Food Sci Technol.

1995[acceso:16/1/2019];28(1):25-30. Disponible en:

http://radio.cuci.udg.mx/bch/EN/Manuals/Techniques/DPPH-original_LebensWissTechnol_1995-v28-p25.pdf

Conflicto de intereses

Los autores no declaran conflictos de intereses

Contribución de los autores

Mercedes Campo F: Responsable del proyecto de investigación. Participó en toda la investigación. Estructuró y escribió el artículo.

Karina Alexandra Burgos Díaz: Estudiante que desarrolló su trabajo de tesis en el tema que se aborda, participó en todas las etapas de investigación.

Marjorie Gabriela Reyes Jara: Estudiante que desarrolló su trabajo de tesis en el tema que se aborda. Participó en todas las etapas de investigación.

Nubia Lisbeth Matute Castro: Especialista que se encargó del estudio de evaluación sensorial y la orientación según las normativas vigentes en el país en materia de alimentos funcionales. Revisión del documento.

Jorge Vicente Cun Carrión: Agrónomo responsable del cultivo y mantenimiento de las siembras de moringa y jamaica, así como de la cosecha de las plantas.

Osmany Cuesta-Rubio: Especialista encargado del trabajo con el equipo de espectrometría de masas y el procesamiento de los resultados. Revisión del documento.

Ingrid Márquez Hernández: Análisis químico de las hojas de moringa, cuantificación de polifenoles y de la actividad antioxidante. Discusión de los resultados. Revisión del documento.

Carmita Gladys Jaramillo J: Se enfocó en el tratamiento poscosecha y evaluación de las materias primas. Revisión del documento.