



# Efecto del tratamiento enzimático de la semilla de moringa (*Moringa oleífera*) sobre las características físico-químicas del aceite obtenido por extracción con prensa expeller

## Effect of enzymatic treatment of moringa seed (*Moringa oleifera*) on the physico-chemical characteristics of oil obtained by extraction with press expeller

Jhoel Fernández Sobrados<sup>1</sup>; Gloria Pascual Chagman<sup>2</sup>; Marcial Ibo Silva Jaimes<sup>3,\*</sup>; Bettit Salvá Ruiz<sup>2</sup>; Américo Guevara Pérez<sup>2</sup>; Christian Encina Zelada<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Facultad de Industrias Alimentarias de la Universidad Nacional Agraria La Molina. Av. La Universidad s/n. La Molina – Lima.

<sup>2</sup> Departamento de Tecnología de Alimentos y Productos Agropecuarios, Facultad de Industrias Alimentarias de la Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima, Perú. Av. La Universidad s/n. La Molina – Lima.

<sup>3</sup> Departamento de Ingeniería de Alimentos y Productos Agropecuarios, Facultad de Industrias Alimentarias de la Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima, Perú. Av. La Universidad s/n. La Molina – Lima.

Received December 17, 2017. Accepted May 11, 2018.

### Resumen

En el presente estudio se evaluó la eficacia del uso de una enzima (hemicelulasa al 2%, materia prima: agua de 3:1 y tiempo de hidrólisis de 24 horas) para incrementar el rendimiento de la extracción del aceite de moringa con prensa-expeller y los cambios en las características fisicoquímicas y antioxidantes del aceite. Se obtuvo un mayor rendimiento en la extracción del aceite de moringa realizada con previo tratamiento enzimático y se encontró diferencias significativas en el índice de peróxido y grado de acidez en la caracterización fisicoquímica del aceite. Se determinó que el ácido oleico se encuentra en mayor proporción en el aceite de moringa (72%) y se encontró elevadas concentraciones de tocoferoles, siendo el  $\alpha$ -tocoferol el isómero mayoritario (aproximadamente un 80% del total). Además, se determinó que el aceite de moringa extraído con previo tratamiento enzimático presentó un mayor contenido de polifenoles totales con respecto al aceite de moringa control, sin embargo, no se encontró diferencias significativas en la capacidad antioxidante lipofílica e hidrofílica del aceite de moringa determinada por el método ABTS.

**Palabras clave:** *Moringa oleífera*; aceite de moringa; extracción enzimática de aceite; oxidación lipídica; ácidos grasos; polifenoles; tocoferoles.

### Abstract

In the present study, the efficiency of the use of an enzyme (2% hemicellulase, raw material: water of 3:1 and hydrolysis time of 24 hours) was evaluated to increase the yield of the moringa oil extraction with press expeller and the changes in the physicochemical and antioxidant characteristics of the oil. It was obtained a greater yield in the extraction of the moringa oil realized with previous enzymatic treatment and was found significant differences in the peroxide index and degree of acidity in the physicochemical characterization of the oil. It was determined that oleic acid was found to be higher in moringa oil (72%) and high concentrations of tocopherols were found, with  $\alpha$ -tocopherol being the major isomer (approximately 80% of the total). In addition, it was determined that the moringa oil extracted with previous enzymatic treatment had a higher content of total polyphenols compared to the control moringa oil, however, no significant differences were found in the lipophilic and hydrophilic antioxidant capacity of the moringa oil determined by The ABTS assay.

**Keywords:** *Moringa oleifera*; moringa oil; oil enzymatic extraction; lipid oxidation; fatty acids; polyphenols; tocopherols.

\* Corresponding author  
E-mail: [misilva@lamolina.edu.pe](mailto:misilva@lamolina.edu.pe) (M. Silva-Jaimes).

## 1. Introducción

En el año 2010, el Ministerio de Agricultura (MINAG) y el Programa Sembrando, llevaron a cabo en Ica el lanzamiento de una campaña de cultivo de moringa, planta con enorme potencial nutritivo originaria de la India y África, conocida como el “El árbol de la Vida”. Falowo *et al.* (2018) y Olaiya *et al.* (2018) indican que el interés por la *Moringa oleifera* Lam. como recurso nutricional y nutracéutico para dietas humanas y animales ha aumentado en los últimos años, como resultado de su uso en cocinas tradicionales y medicina naturista en varias regiones del mundo. Se le reconoce como una importante fuente de nutrientes esenciales, rico en proteínas, aceite, aminoácidos y ácidos grasos esenciales, minerales y vitaminas, con una cantidad relativamente baja de antinutrientes. También es una fuente rica de otros compuestos bioactivos que incluyen flavonoides y compuestos fenólicos, con varios estudios que demuestran sus propiedades funcionales *in vitro* e *in vivo*, con énfasis en su actividad antioxidante. Los principales aportes de la moringa en términos de macro y micronutrientes, se encuentran en las hojas, que al igual que las vainas frescas y los frutos presentan un valor considerable de vitamina A en forma de  $\beta$ -carotenos, minerales (hierro, potasio y calcio) y vitamina C. Además, las hojas secas y molidas contienen hasta un 30% de proteínas en base seca, razón por la que se conoce que las hojas presentan mayores fuentes de nutrientes que las vainas (Moyo *et al.*, 2011; Martín *et al.*, 2013). Según Dinesha *et al.* (2018) uno de los principales productos obtenidos a partir de las semillas de moringa es el aceite, una excelente fuente de tocoferoles, por lo que en mezcla con aceite de girasol o aceite de soja refuerza la estabilidad oxidativa de la mezcla (Mani *et al.*, 2007). Este aceite se considera equivalente al aceite de oliva en términos de sus propiedades químicas, aunque de forma tradicional, aparte de su uso con fines comestibles, se le atribuye también propiedades medicinales para el tratamiento de reumatismo y gota, purificación de sangre y mejora de la función cardíaca. Según Abdulkarim *et al.* (2005) y Nguyen *et al.* (2011) el aceite de Ben, como se le conoce también al aceite de semilla de Moringa, es más estable que el aceite de canola, aceite de soja y aceite de palma cuando se usa para freír los alimentos. En base a las propiedades fisicoquímicas, la composición nutricional y antinutricional, el aceite de semilla de moringa puede

utilizarse para el consumo humano sin ningún problema. Los PUFA son los ácidos linoleico, linolénico y oleico; estos PUFA tienen la capacidad de controlar el colesterol. Investigaciones muestran que el aceite de semilla de moringa contiene alrededor de 76% de PUFA, por lo que es ideal para usar como sustituto del aceite de oliva (Lalas y Tsaknis, 2001). Por otro lado, Konopka *et al.* (2016) y Kumar *et al.* (2017) indican que la extracción del aceite por técnicas convencionales como el prensado hidráulico, el prensado de expeller y la extracción con solvente se usan intensamente en la obtención de aceite a partir de semillas. En algunos casos, el aceite se extrae directamente empleando una prensa mecánica simple y el aceite se usa directamente sin ningún tipo de procesamiento, mientras que el hexano se utiliza para la extracción del aceite por solvente por su fácil recuperación, al tener un bajo punto de ebullición (63 - 69 °C) y una excelente capacidad solubilizante de la fase oleosa. Desafortunadamente el hexano, siendo muy eficiente, no es un solvente muy popular por cuestionamientos vinculados a la salud, seguridad e impacto ambiental. Para superar estos inconvenientes, en los últimos años, según Nadar *et al.* (2018), se ha incrementado el interés en el desarrollo de técnicas de extracción del aceite y de otras biomoléculas de diversas fuentes naturales, tomando en cuenta que la presencia de polisacáridos como hemicelulosas, almidón, pectina dentro de la pared celular, reducen la eficiencia de la extracción de las técnicas convencionales, generando bajos rendimientos, ineficiencia en el tiempo de extracción y en el caso de la extracción por solvente, una calidad inferior del extracto debido a la presencia de residuos de solventes orgánicos presentes en ellos. Entre las técnicas de extracción verde y novedosas para recuperar biomoléculas (Nadar *et al.*, 2018), el tratamiento enzimático sigue siendo una alternativa. Diversos estudios han demostrado que el empleo de enzimas como pretratamiento previo a la extracción es una opción eficaz para mejorar el rendimiento de aceite en las técnicas de extracción por prensado (Latif, 2009). La técnica enzimática tiene una operación simple y fácil, un menor consumo de energía y es económicamente viable. En general, las gotitas de aceite están rodeadas de proteínas como constituyente principal de la pared celular, en semillas de soja y colza, las proteínas y la pectina forman el componente principal de sus paredes celulares, por lo tanto, la degradación de estos componentes mediante el

uso de proteasas, celulasas, pectinasas y otras mezclas de enzimas resulta en una mejora del rendimiento de aceite obtenido (Mat Yusoff *et al.*, 2017; Durán, 2010).

Sin embargo, Shahidi y Zhong (2005) menciona que la aplicación de enzimas requiere de un aumento de humedad del medio y de la temperatura dejando al aceite más expuesto a una alta actividad de agua, lo que podría causar la hidrólisis de los triglicéridos, aumentando la acidez del aceite. Tomando en cuenta que el aceite de moringa aporta muchos beneficios para la salud por su alto nivel de ácidos grasos monoinsaturados (ácido oleico) y antioxidantes naturales es importante determinar la influencia del tratamiento enzimático en las características del aceite de moringa. Se han realizado estudios sobre el aceite de moringa y sus propiedades en diversos países como Nigeria en donde Ogbunugafor *et al.* (2011) realizaron una investigación sobre las características físicoquímicas y antioxidantes del aceite de moringa, en México en el que Sánchez *et al.* (2015) estudiaron el proceso de refinación y su efecto en las propiedades del aceite o Brazil donde Fernández *et al.* (2015) investigaron sobre las propiedades del aceite de moringa y su posible uso como biodiesel, mientras que Latif y Anwar (2008) evaluaron la composición y la calidad del aceite de semilla de *Moringa concanensis* provenientes de Pakistan extraído mediante enzimas. No se encontró estudios realizados con semillas de moringa provenientes del Perú lo que motiva esta investigación, ya que las condiciones agronómicas y climáticas entre países son diferentes y pueden influir en la composición de las semillas de moringa y por ende en su aceite, como lo indican Moyo *et al.* (2011), quienes encontraron que la composición de nutrientes de la semilla sufría una variación según la ubicación, clima y factores ambientales.

Esta investigación busca determinar el efecto del tratamiento enzimático con hemicelulasa en la extracción del aceite de semillas de moringa, evaluando el rendimiento en la extracción, características físicoquímicas, perfil de ácidos grasos, tocoferoles y capacidad antioxidante del aceite.

## 2. Materiales y métodos

Se utilizaron semillas de moringa, las cuales fueron proporcionadas por la empresa Fondo Escondido SAC, ubicada en el departamento de Ica, Municipio de Salas (Latitud: -13.96667, longitud: -75.76667). La extracción del aceite se llevó a cabo de

acuerdo al diagrama de flujo mostrado en la Figura 1.

Se utilizó semillas limpias (sin cáscara) con diámetro comprendido entre 0,85 – 2,00 mm y 5,30% de humedad, a las que se realizó su análisis proximal. El tratamiento enzimático se realizó en un baño María a una temperatura de 45 °C. Se trabajó con hemicelulasa al 2% (marca Sigma Aldrich, Suiza), relación de moringa/agua de 3/1 y tiempo de hidrólisis de 24 horas y con una muestra control sin tratamiento enzimático, luego las muestras fueron tratadas a 75 °C por 5 minutos en una estufa, con el objetivo de inactivar la enzima. Posteriormente, se realizó un secado a 60 °C hasta lograr una humedad del 6% y así facilitar la extracción del aceite, acorde con pruebas preliminares. El aceite fue extraído con prensa-expeller (Prensa KOMET SCREW OILD, Expeller CA59G- CA 5963 de procedencia alemana), y posterior a ellos se realizó una centrifugación a 4000 RPM por 15 min, obteniendo el aceite crudo de moringa con y sin tratamiento enzimático.

Para la caracterización del aceite se determinó el índice de refracción (AOAC, 1990), el índice de acidez (AOAC, 1990), el índice de peróxido (AOAC, 1990) y los coeficientes de extinción (AOAC, 1990), el índice de p-anisidina (AOAC, 1990). Por otro lado, se hizo la determinación del perfil de ácidos grasos usando cromatografía de gases (Cromatógrafo de gases equipado con FID marca Perkin Elmer Autosystem XL) por el método validado por el (ITP, 2003) y la determinación de tocoferoles se realizó por cromatografía líquida (HPLC Agilent de la serie 1100 acoplado a un detector de fluorescencia Thermo Finnigan modelo FL3000), según el método de la AOCS (1989).

La polifenoles totales fueron determinados siguiendo el método colorimétrico propuesto por Vásquez *et al.* (1973) y Gutfinger (1981). El procedimiento consiste en pesar con precisión 10 g de la muestra de aceite a analizar y disolverlos en 20 mL de hexano. Esta disolución se pasa a un embudo de decantación y se realizan tres extracciones consecutivas, con alícuotas de 10 mL de metanol-agua 60:40 (v/v), agitando vigorosamente durante 2 minutos. El embudo se dejó en reposo hasta que las fases se separan, y los tres extractos metanólicos se recogen en un mismo matraz aforado de 50 mL que se enrasa con agua destilada, obteniendo así el extracto fenólico.

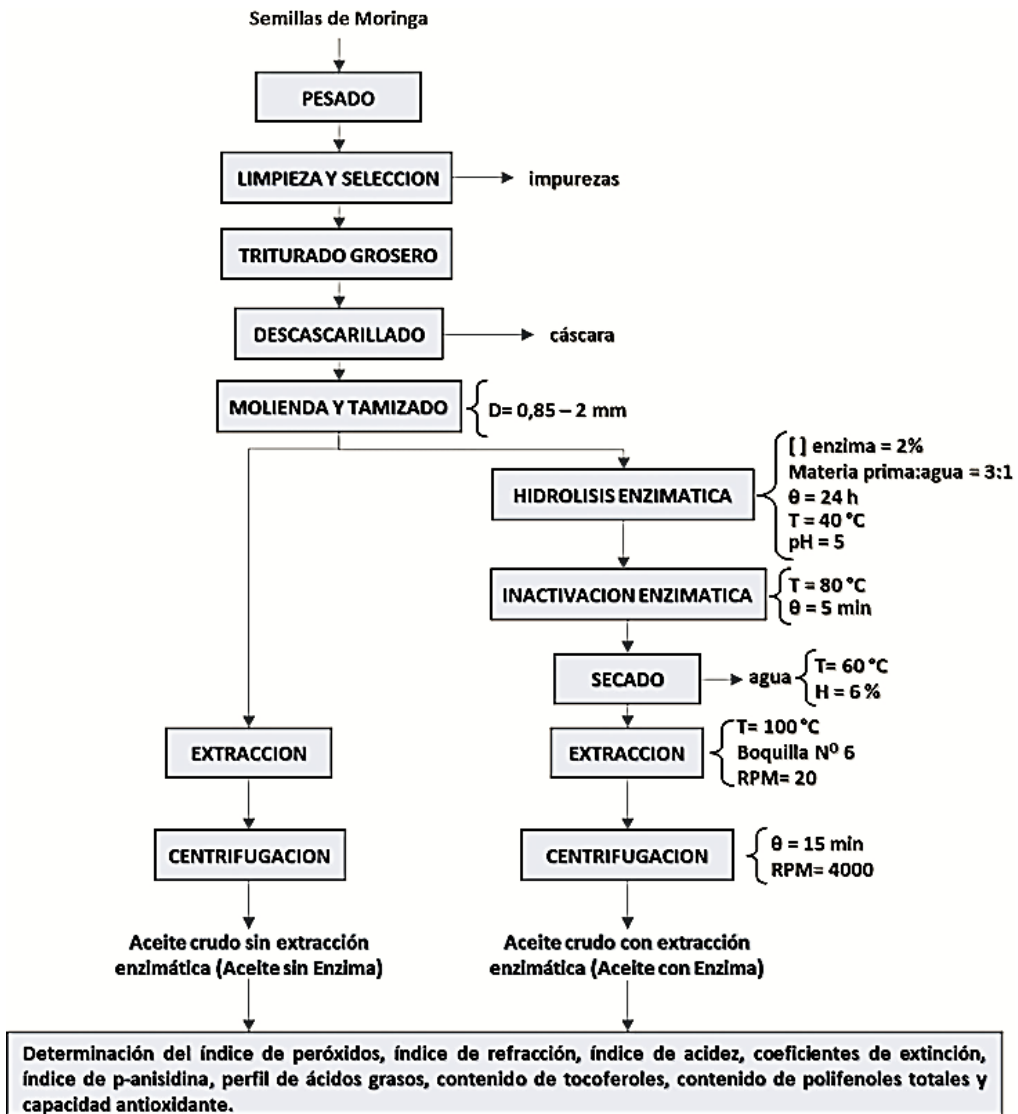
Para la determinación de los polifenoles totales, se toman 2,50 mL de extracto fenólico y se llevan a un matraz aforado de 25 mL en el que también se añaden 9 mL de

agua destilada y 1,25 mL de extracto de reactivo de Folin-Ciocalteu. El matraz se tapa y agita, dejándolo finalmente en reposo por 3 minutos. Se añaden 3,75 mL de carbonato sódico al 20% (p/v) y se enrasa el matraz con agua destilada. Transcurridas dos horas en la oscuridad, se centrifuga a 1500 RPM durante 10 minutos y se mide la absorbancia del sobrenadante en una cubeta de 1 cm de paso óptico a 725 nm, frente a un blanco que se prepara de la misma forma, pero añadiendo, en lugar del extracto fenólico, 1,50 mL de metanol-agua 60:40 (v/v) y 1 mL de agua.

La concentración de compuestos fenólicos en el extracto (Cef) expresada en mg/L, se determina interpolando en una recta de calibrado obtenida en las mismas condiciones a

partir de disoluciones de ácido gálico patrón de concentraciones comprendidas entre 10 y 120 mg/L. El contenido en polifenoles totales de la muestra de aceite se expresa en mg/kg de ácido gálico.

Para determinar la capacidad antioxidante hidrofílica y lipofílica se siguió el método descrito por *Prior et al.* (2005). En primer lugar, se procedió a obtener los extractos hidrofílicos y lipofílicos a partir del aceite de moringa, para ellos se procedió a realizar extracciones sucesivas las que se describen a continuación. Se pesó 2 g de aceite y se disolvió en 1 mL de n-hexano. Luego se añadió 2 mL de metanol-agua 80:20 (v/v), agitándose vigorosamente durante 2 min y se procedió a centrifugar a 4000 RPM durante 5 min.



**Figura 1.** Diagrama de flujo para la extracción del aceite de moringa sometido a tratamiento enzimático y sin tratamiento.

Posterior a ello se separó la parte lipídica (lipofílica) de la metanólica (hidrofílica). Se realizaron dos extracciones adicionales con metanol-agua a la parte lipídica y se almacenaron los dos extractos en oscuridad (Marfil, 2008).

Se tomaron 2 mL de la disolución diluida de ABTS+ y se mezcló con 100  $\mu$ L de muestra (extracto hidrofílico o lipofílico) de aceite de moringa a ensayar. Posteriormente, la mezcla se agitó durante 30 segundos y se dejó reaccionar por un tiempo determinado hasta cuando la medida de la absorbancia fuera constante (30 min). Las muestras (extracto lipofílico e hidrofílico) y el blanco fueron leídos en espectrofotómetro a 734 nm. Todas las medidas se realizaron por triplicado. La capacidad antioxidante total se obtuvo por sumando la capacidad antioxidante lipofílica e hidrofílica. Los resultados obtenidos se expresan en forma de un índice, el valor TEAC (Capacidad Antioxidante Equivalente al Trolox). Dicho valor se define como los mmoles de Trolox que tienen la misma capacidad antioxidante que 1 kg de la muestra a ensayar.

Se realizó análisis de varianza y t de Student para determinar si el efecto del tratamiento enzimático causa diferencias significativas en el rendimiento y las características de calidad del aceite, con un error estadístico del 5% ( $\alpha = 0,05$ ), con el apoyo del software Statgraphics Centurión.

### 3. Resultados y discusión

Rendimiento y propiedades del aceite de semillas de moringa

El porcentaje de aceite de moringa extraído con el método enzimático (28,43%) resultó ser más elevado que el aceite control (24,70%) (Tabla 1), obteniéndose una diferencia significativa entre ambas extracciones. El incremento en el rendimiento del aceite puede ser atribuido a la actividad de la enzima (hemicelulasa), además, Grasso (2013) menciona que la combinación del tratamiento mecánico y el enzimático permite la eficaz demolición de las paredes

celulares y conlleva a una mayor extractibilidad del aceite.

Latif y Anwar (2008) realizaron la extracción del aceite de semillas de Moringa concanensis utilizando enzimas comerciales y obteniendo rendimientos que oscilan entre 23,54 a 27,46%. Estos valores de rendimiento son ligeramente inferiores a los encontrados en esta investigación (28,43%) al realizar la extracción del aceite de las semillas de Moringa oleífera con el uso de enzimas. Estas variaciones pueden deberse a la variedad de semilla usada, al lugar de procedencia de la semilla y al método de extracción del aceite, debido a que en la investigación realizada por Latif y Anwar (2008) se usó una extracción acuosa, mientras que en este estudio la extracción se llevó a cabo usando la prensa-expeller.

Tsaknis et al. (1999) realizaron la extracción del aceite de las semillas de Moringa oleífera variedad Mbololo de Kenya con prensado en frío y obtuvieron un rendimiento de 25,8%, mientras que Lalas y Tsaknis (2001) trabajaron con semillas de Moringa oleífera variedad Periyakulam de India, obteniendo 25,1% de rendimiento con prensado en frío. En comparación con este estudio, estos valores son semejantes al obtenido en el aceite de moringa control 24,70%, posiblemente a que se trabajó con la misma variedad de semilla y método de extracción. El índice de refracción encontrado para el aceite de moringa control resultó de 1,4678, mientras que el aceite con un previo tratamiento enzimático tuvo un índice de 1,4677, no encontrándose diferencias significativas entre ambas muestras. Latif et al. (2011) encontró valores de 1,4562 - 1,4574, mientras que Lalas y Tsaknis (2001) obtuvo índices de refracción entre 1,459 - 1,460.

Con respecto al índice de peróxido, se obtuvo 0,86 mEq O<sub>2</sub>/kg en el aceite de moringa control, mientras que para el aceite obtenido con previo tratamiento enzimático resultó de 1,26 mEq O<sub>2</sub>/kg, encontrándose diferencias significativas entre ambas muestras. Este incremento puede ser debido al tratamiento enzimático.

**Tabla 1**  
Rendimiento y propiedades físico-químicas del aceite de moringa (n = 3)

Parámetro	Sin tratamiento enzimático	Con tratamiento enzimático
Rendimiento (%)	24,70 $\pm$ 0,20	28,43 $\pm$ 0,29
Índice de refracción (20°C)	1,4678 $\pm$ 0,0001	1,4677 $\pm$ 0,0001
Índice de peróxido (mEqO <sub>2</sub> /kg)	0,86 $\pm$ 0,05	1,26 $\pm$ 0,05
Grado de acidez (%m/m ácido oleico)	1,23 $\pm$ 0,04	1,51 $\pm$ 0,04
Índice de p-anisidina	0,31 $\pm$ 0,02	0,33 $\pm$ 0,02
Coefficiente de extinción molar en el rango UV para hidroperóxidos (K <sub>232</sub> )	1,25 $\pm$ 0,01	1,26 $\pm$ 0,01
Coefficiente de extinción molar en el rango UV para productos secundarios (K <sub>270</sub> )	0,11 $\pm$ 0,01	0,12 $\pm$ 0,01

Ruttarattanamongkol *et al.* (2014), en el aceite de moringa extraído con prensa-expeller, obtuvieron un índice de peróxido de 1,05 mEq O<sub>2</sub>/kg; mientras que Sánchez *et al.* (2015) obtuvieron un valor de 1,0 mEq O<sub>2</sub>/kg en el aceite crudo de moringa. En comparación a los resultados obtenidos, se obtuvieron valores ligeramente inferiores (0,86 mEq O<sub>2</sub>/kg) a los reportados por estos autores, pudiendo deberse a la procedencia de la semilla de moringa.

Se encontró diferencias significativas en el grado de acidez entre el aceite de moringa control (1,23% expresado como ácido oleico) y el aceite de moringa con previo tratamiento enzimático (1,51%). Shahidi y Zhong (2005) mencionan que la aplicación de enzimas requiere de un aumento de humedad del medio y de la temperatura dejando al aceite más expuesto a la humedad, lo que causa la hidrólisis de los triglicéridos aumentando la acidez del aceite. Tsaknis *et al.* (1999) obtuvieron 1,01% de acidez (expresado como ácido oleico) al realizar la extracción del aceite de moringa por prensado en frío; mientras que Lalas y Tsaknis (2001) encontraron un valor de 1,94%. Ruttarattanamongkol *et al.* (2014) realizaron la extracción con prensa-expeller del aceite de moringa encontrando un valor de 1,13%. Los valores obtenidos en esta investigación (1,23% y 1,51%) son semejantes a los reportados por estos autores, quienes también realizaron la extracción por prensado.

El índice de p-anisidina encontrado para el aceite de moringa control resultó de 0,31, mientras que el aceite de moringa con un previo tratamiento enzimático tuvo un índice de 0,33, no encontrándose diferencias significativas entre ambas muestras. Sánchez *et al.* (2015) obtuvo un índice de p-anisidina de 0,36 en el aceite crudo de moringa al realizar la extracción por solvente, valores semejantes fueron obtenidos en esta investigación (0,31 y 0,33), aunque el método de extracción usado (prensa-expeller) fuera diferente. Manzoor *et al.* (2007) obtuvieron

un valor de 1,84 para *Moringa oleifera*, mientras Latif y Anwar (2008) reportaron un valor de 1,82 para *Moringa concanensis*.

Por otro lado, los coeficientes de extinción molar en el ultravioleta son índices fisicoquímicos que se utilizan para detectar la presencia de compuestos oxidados como hidroperóxidos (k<sub>232</sub>) o de productos secundarios de oxidación (k<sub>270</sub>), como pueden ser los dienos conjugados, aldehídos, cetonas, etc., que alteran la calidad de los aceites. Los coeficientes de extinción k<sub>232</sub> y k<sub>270</sub> encontrados para el aceite de moringa control fueron de 1,25 y 0,11, respectivamente; mientras que para el aceite de moringa con un previo tratamiento enzimático se obtuvo un k<sub>232</sub> de 1,27 y un k<sub>270</sub> de 0,12. Los valores de absorción de radiación en el ultravioleta a 232 y 270 nm reflejaron bajas concentraciones, lo que evidencia el buen estado del aceite de moringa obtenido. El valor de k<sub>232</sub> en el aceite de *Moringa oleifera* resultó en 1,25 (control) y 1,27 (aceite con tratamiento enzimático); estos valores son menores a los reportados por Tsaknis *et al.* (1999) para *Moringa peregrina* (1,67) y Anwar *et al.* (2006) para *Moringa oleifera* (1,92), pero similar a los de Anwar y Rashid (2007) para el aceite de las semillas de *Moringa oleifera* (1,38).

#### Perfil de ácidos grasos del aceite de semillas de moringa

En la **Tabla 2** se presenta los resultados del perfil de ácidos grasos del aceite de moringa. Se puede observar que el ácido graso mayoritario en el aceite de moringa es el ácido oleico, representando aproximadamente 72%. En otros aceites de semillas, por ejemplo, en el aceite de girasol, oscila entre 15% - 85%, en el de soja entre 20% - 35% y en el de colza entre 50% - 65% (Gil, 2010).

Tuberoso *et al.* (2007) concluyen que el aceite de cacahuete, colza y oliva están caracterizados por una alta cantidad de ácido oleico (58,3%, 60,7% y 67,2%, respectivamente).

**Tabla 2**

Contenido de ácidos grasos del aceite de semillas de *moringa* obtenido sin y con tratamiento enzimático (n = 3)

Ácido graso	Contenido (%)	
	Sin tratamiento enzimático	Con tratamiento enzimático
Palmitico (C 16:0)	5,91 ± 0,14	5,93 ± 0,06
Palmitoleico (C 16:1)	0,97 ± 0,03	0,99 ± 0,01
Esteárico (C 18: 0)	3,95 ± 0,01	3,96 ± 0,02
Oleico (C 18: 1 w-9)	72,07 ± 0,03	71,97 ± 0,30
Vaccénico (C 18: 1 w-7)	4,80 ± 0,01	4,79 ± 0,01
Linoleico (C 18: 2 w-6)	0,61 ± 0,01	0,63 ± 0,01
α-linolénico (C 18: 3 w-3)	0,20 ± 0,01	0,21 ± 0,01
Araquídico (C 20:0)	2,54 ± 0,04	2,53 ± 0,04
Eicosanoico (C 20:1 w-9)	1,83 ± 0,02	1,82 ± 0,01
Behénico (C 22:0)	6,03 ± 0,11	6,04 ± 0,21
Lignocérico (C 24:0)	1,13 ± 0,02	1,16 ± 0,09

En el aceite de oliva el ácido oleico puede representar un 79% del total de ácidos grasos, pudiendo esa cantidad variar ampliamente, encontrando aceites con un porcentaje de ácido oleico, del orden del 57% y en otros puede incluso alcanzar el 82% (Gil, 2010).

Los datos encontrados con respecto al contenido de ácido oleico en el aceite de moringa son similares a los reportados por Abdulkarim et al. (2005); Tsaknis et al. (1999) y Lalas y Tsaknis (2001), quienes obtuvieron los siguientes valores de 70%, 75,39% y 71%, respectivamente. El elevado porcentaje de ácido oleico en el aceite de moringa lo hace deseable en términos de nutrición y alta estabilidad de cocción y fritura (Siguel y Lerman, 1993).

Además, aparecen otra serie de ácidos grasos en inferiores proporciones, encabezados por el ácido behénico (6,04%), palmítico (5,92%), vaccénico (4,8%) y esteárico (3,96%), con pequeñas cantidades de ácido palmitoleico, linoleico, linolénico y eicosanoico. No hubo diferencias significativas en las cantidades de los principales ácidos grasos en las dos muestras de aceite de moringa.

El aceite de moringa extraído con y sin previo tratamiento enzimático contiene una cantidad substancial de ácido behénico (6,04%). El aceite de moringa puede, por lo tanto, ser usado como una fuente natural de ácido behénico, que ha sido usado como un agente estructurante y solidificante en margarinas y en alimentos que contiene grasas semisólidas y sólidas, eliminando la necesidad de hidrogenar el aceite (FDA, 2001).

#### Contenido de polifenoles totales del aceite de semillas de moringa

En la Tabla 3 se presentan los resultados de polifenoles totales de las muestras de aceite de moringa analizadas. Se encontró diferencias significativas en la concentración de polifenoles totales entre el aceite de moringa control (53,4 mg/kg expresado en ácido gálico) y el aceite de moringa extraído con previo tratamiento enzimático (65,7 mg/kg expresado en ácido gálico). Estos valores son superiores a los reportados por Ogbunugafor et al. (2011) quienes obtuvieron un valor de 40,17 mg/kg de polifenoles totales presentes en el aceite de moringa, con la diferencia que el método de extracción fue por solvente. Al comparar los resultados del contenido de compuestos fenólicos totales del aceite de moringa obtenidos con y sin tratamiento enzimático (65,7 y 53,4 mg ácido gálico/kg, respectivamente), se observa un mayor valor en el primero. Meyer et al. (1998) menciona que

las enzimas hidrolíticas actúan sobre las paredes celulares de las semillas pudiendo provocar una mejora en la extracción de compuestos con actividad antioxidante en el aceite, es por ello que probablemente el contenido de polifenoles aumentó tras la aplicación de dicho tratamiento.

**Tabla 3**

Contenido de polifenoles totales del aceite de moringa obtenido sin y con tratamiento enzimático (n = 3)

Polifenoles	Sin tratamiento enzimático	Con tratamiento enzimático
Totales (mg ácido gálico/kg)	53,4 ± 2,26	65,7 ± 2,79

#### Contenido de tocoferoles del aceite de las semillas de *M. oleifera*

El nivel de tocoferoles totales en el aceite de moringa fue de 344,85 mg/kg y de 329,05 mg/kg para el aceite de moringa extraído con previo tratamiento enzimático (Tabla 4), encontrándose diferencias significativas solo en el contenido de  $\alpha$ -tocopheroles. Estos datos son superiores a los niveles de tocoferoles totales reportados por Latif y Anwar (2008) quienes obtuvieron 120,39 mg/kg, sin embargo, en ese estudio se extrajo el aceite por solvente y la variedad usada fue *Moringa concanensis*. Además, Ruttarattanamongkol et al. (2014) obtuvieron una concentración de 198,5 mg/kg de tocoferoles totales, en donde solo identificaron el  $\alpha$ -tocopherol (137,8 mg/kg) y  $\gamma$ -tocopherol (60,7 mg/kg); siendo los valores obtenidos en esta investigación superiores a los reportados por estos autores.

**Tabla 4**

Contenido de tocoferoles del aceite de moringa (mg/kg de aceite) (n = 3)

Tocopherol	Sin tratamiento enzimático	Con tratamiento enzimático
$\alpha$ -Tocopherol	274,65 ± 0,18	252,98 ± 0,17
$\beta$ -Tocopherol	19,26 ± 0,17	19,02 ± 0,30
$\gamma$ -Tocopherol	42,87 ± 1,42	48,71 ± 1,44
$\delta$ -Tocopherol	8,07 ± 0,30	8,34 ± 0,37
Total	344,85 ± 1,47	329,05 ± 2,30

En este estudio, el isómero mayoritario es  $\alpha$ -tocopherol, representando un 80%, comparado con el  $\gamma$ -tocopherol (12%), el  $\beta$ -tocopherol (6%) y el  $\delta$ -tocopherol (2%). Sin embargo, en el estudio llevado a cabo por Latif y Anwar (2008) el  $\alpha$ -tocopherol es la forma predominante, pero con una menor proporción (66%); el segundo tocoferol que se encuentra en mayor proporción es el  $\delta$ -tocopherol con 25% y el  $\gamma$ -tocopherol se encuentran como componente minoritario (9%), mientras que el  $\beta$ -tocopherol no fue identificado. Estas diferencias en las proporciones de los diferentes isómeros se deben principalmente al método de extracción empleado y a la variedad de semilla de moringa usada.

### Capacidad antioxidante del aceite de las semillas de *M. oleifera*

En la [Tabla 5](#) se muestra los resultados de la capacidad antioxidante hidrofílica, lipofílica y total del aceite de moringa extraído con y sin tratamiento enzimático. No hubo diferencias significativas entre la capacidad antioxidante lipofílica, hidrofílica y total de las 2 muestras de aceite.

Con respecto a la capacidad antioxidante hidrofílica, el aceite de moringa control presentó un valor de 0,58 mmol Trolox/kg de aceite, mientras que para el aceite de moringa asistido con un previo tratamiento enzimático resultó de 0,61 mmol Trolox/kg de aceite. [Gorinstein \*et al.\* \(2003\)](#) aportan valores TEAC en aceites de oliva virgen que oscilan entre 0,78 - 2,64 mmol Trolox/kg. [Espín \*et al.\* \(2000\)](#) resaltan que en la fracción hidrofílica o polar de los aceites vegetales se extraen principalmente los compuestos fenólicos. [Brenes \*et al.\* \(1999\)](#), [Valavanidis \*et al.\* \(2004\)](#) y [Franconi \*et al.\* \(2006\)](#) puntualizan que esta fracción contiene la mayoría de los compuestos fenólicos presentes en el aceite de oliva virgen, lignanos y oleuropeína, entre otros compuestos.

**Tabla 5**

Capacidad antioxidante por el método de ABTS del aceite de moringa (mmol Trolox/kg aceite) obtenido sin y con tratamiento enzimático (n = 3)

Capacidad antioxidante	Sin tratamiento enzimático	Con tratamiento enzimático
Hidrofílica	0,58 ± 0,01	0,61 ± 0,01
Lipofílica	1,12 ± 0,10	1,15 ± 0,11
Total	1,70 ± 0,11	1,76 ± 0,12

La capacidad antioxidante lipofílica del aceite de moringa control fue de 1,12 mmol Trolox/kg de aceite, mientras que para el aceite de moringa asistido con un previo tratamiento enzimático resultó de 1,15 mmol Trolox/kg de aceite. Se obtuvo una mayor capacidad antioxidante lipofílica e hidrofílica en el aceite con un tratamiento enzimático previo, resultados semejantes fueron obtenidos por [Wiesman \(2009\)](#) quien reporta un aumento considerable de compuestos antioxidantes en el aceite de oliva cuya extracción fue previamente asistida por enzimas, esto debido a que las enzimas hidrolíticas actúan sobre las paredes celulares de las semillas pudiendo provocar una mejora en la extracción de compuestos con actividad antioxidante en el aceite.

Con respecto a la capacidad antioxidante lipofílica realizado con el método ABTS, [Pellegrini \*et al.\* \(2001\)](#) en un estudio llevado a cabo en Italia, obtienen valores TEAC comprendidos entre 1,53 - 2,69 mmol Trolox/kg en aceite de oliva virgen extra y

entre 0,72 - 1,06 mmol Trolox/kg en aceite de oliva. Los valores encontrados en este estudio para el aceite de moringa (1,12 y 1,15 mmol Trolox/kg de aceite) se asemejan a la capacidad antioxidante reportada para el aceite de oliva.

[Pellegrini \*et al.\* \(2001\)](#) reporta valores de capacidad antioxidante total por el método ABTS entre 1,53 a 2,69 mmol Trolox/kg de aceite para aceites de oliva extra virgen y de 0,72 a 1,06 mmol Trolox/kg de aceite para aceites de oliva, indicando que la diferencia se debe a diferentes procesos de manufactura. Además, menciona que la capacidad antioxidante total del aceite de oliva se debe a su contenido de polifenoles y tocoferoles.

## 4. Conclusiones

Se mejoró el rendimiento de la extracción del aceite de moringa al usar el tratamiento enzimático, sin embargo, se obtuvo valores más elevados de índice de peróxidos y grado de acidez con este tratamiento. El perfil de ácidos grasos del aceite de moringa revela la predominancia del ácido oleico (72%) seguido por los ácidos grasos saturados como el ácido palmítico (6%), behénico (6%), esteárico (4%) y araquídico (2,5%) sin obtenerse diferencias significativas entre los dos tratamientos. Se aumentó el contenido de polifenoles totales en el aceite de moringa extraído con previo tratamiento enzimático (65,7 mg ácido gálico/kg) comparado con el aceite control (53,4 mg ácido gálico/kg), sin embargo, no se encontró diferencias significativas en la capacidad antioxidante lipofílica e hidrofílica del aceite de moringa determinada por el método ABTS. Se encontró también elevadas concentraciones de tocoferoles (275 y 253 mg/kg), pero disminuyó el contenido del  $\alpha$ -tocoferol en el aceite de moringa extraído con el uso de enzimas en comparación del tratamiento control. Además, se determinó que el  $\alpha$ -tocoferol es el isómero mayoritario (aproximadamente un 80% del total). Es necesario seguir investigando sobre el aceite de moringa y sus propiedades, y específicamente se sugiere evaluar el efecto del uso de complejos multienzimáticos sobre el rendimiento de la extracción y las características del aceite obtenido, así como de los beneficios tecnológicos, nutricionales y funcionales del aceite.

## Agradecimientos

Financiado por el Programa Nacional de Innovación para la Competitividad y Productividad (Innovate Perú), de acuerdo al contrato 226-FINCYT-IA-2013.



## Referencias Bibliográficas

- Abdulkarim, S.M.; Long, K.; Lai, O.M.; Muhammad, S.K.S.; Ghazali, H.M. 2005. Some physico-chemical properties of *Moringa oleifera* seed oil extracted using solvent and aqueous enzymatic methods. *J. Food Chem.* 93(1): 253-263.
- Anwar, F.; Nahid, Z.; Rashid, U. 2006. Characterization of *Moringa oleifera* seed oil from drought and irrigated regions on Punjab, Pakistan. *Grasas y Aceites.* 57(2): 160-168.
- Anwar, F.; Rashid, U. 2007. Physico-chemical characteristics of *Moringa oleifera* seeds and seed oil from a wild provenance of Pakistan. *Pak. J. Bot.* 39(5): 1443-1453.
- AOAC (Association of official Analytical Chemistry). 1990. Official methods of Analysis of the Association of official Analytical Chemistry. 15th Edition. DC: Washington, EEUU.
- AOCS (American Oil Chemists Society). 1989. Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists Society. 4th Edition. EEUU.
- Brenes, M.; García, A.; García, P.; Ríos, J.; Garrido, A. 1999. Phenolic compounds in Spanish olive oils. *J. Agric. Food Chem.* 47: 3535-3540.
- Dinesha, B.L.; Udaykumar-Nidoni, C.T.; Ramachandra, N.N.; Sankalpa, K.B. 2018. Effect of extraction methods on physicochemical, nutritional, antinutritional, antioxidant and antimicrobial activity of *Moringa (Moringa oleifera Lam.)* seed kernel oil. *J. Appl. Natural Sci. (IJANS)* 10(1): 287 – 295
- Durán, J. 2010. Aplicación de enzimas en el proceso de extracción del aceite residual de la torta de palmiste. Tesis de título, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga. Colombia.
- Espin, J.; Soler-Rivas, C.; Wichers, H. 2000. Characterization of the total free radical scavenger capacity of vegetable oils and oil fractions using 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl radical. *J. Agric. Food Chem.* 48: 648-56.
- Falowo, A.B.; Mukumbo, F.E.; Idamokoro, E.M.; Lorenzo, J.M.; Anthony J. Afolayan, A.J.; Muchenje, V. 2018. Multi-functional application of *Moringa oleifera* Lam. in nutrition and animal food products: A review. *Food Res. Int.* 106: 317-334
- FDA (Food and Drug Administration). 2001. Agency response letter. GRAS notice No. 000069. DC: Washington, EEUU.
- Fernandes, D.; Sousa, R.; De Oliveira, A.; Morais, S.; Richter, E.; Muñoz, R. 2015. *Moringa oleifera*: A potential source for production of biodiesel and antioxidant additives. *Fuel* 146: 75-80.
- Franconi, F.; Coinu, R.; Carta, S.; Urgeghe, P.; Ieri, F.; Mulinacci, N.; Romani, A. 2006. Antioxidant effect of two virgin olive oils depends on the concentration and composition of minor polar compounds. *J. Agric. Food Chem.* 54: 3121-3125.
- Gil, A. 2010. *Grasas y Aceites. Tratado de Nutrición. Tomo II: Composición y calidad nutritiva de los alimentos.* 2da edición. Editorial Médica Panamericana. Argentina.
- Gorinstein, S.; Martin-Belloso, O.; Katrich, E.; Lojek, A.; Ciz, M.; Gligelmo-Miguel, N.; Haruenkit, R.; Park, Y.; Jung, S.; Trakhtenberg, S. 2003. Comparison of the contents of the main biochemical compounds and the antioxidant activity of some Spanish olive oils as determined by four different radical scavenging tests. *J. Nutr. Biochem.* 14: 154-9.
- Grasso, V. 2013. Diseño del proceso: Pretratamiento enzimático para extracción de aceites vegetales en un extractor de columna. Tesis Doctoral, Universidad Nacional de La Plata. Argentina. 194 pp.
- Gutfinger, T. 1981. Polyphenols in olive oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 58: 966.
- ITP (Instituto Tecnológico Pesquero del Perú). 2003. Laboratorio de Análisis Físicoquímico: Composición de ácidos grasos por cromatografía de gases. Lima, Perú.
- Konopka, I.; Roszkowska, B.; Czaplicki, S.; Tańska, M. 2016. Optimization of pumpkin oil recovery by using aqueous enzymatic extraction and comparison of the quality of the obtained oil with the quality of cold-pressed oil. *Food Technol. Biotechnol.* 54(4): 413-420.
- Kumar, S.P.J.; Prasad, S.R.; Banerjee, R.; Agarwal, D.K.; Kulkarni, K.S.; Ramesh, K.V. 2017. Green solvents and technologies for oil extraction from oilseeds. *Chem. Central J.* 11(1): 9.
- Lalas, S.; Tsaknis, J. 2001. Characterization of *Moringa oleifera* Seed Oil Variety “Periyakulam 1”. Technological Educational Institute. *J. Food Compos. Anal.* 15: 65-77.
- Latif, S. 2009. Analytical investigations to compare the enzyme-assisted extraction of vegetable oils with conventional methods. Tesis de doctorado, University of Agriculture Faisalabad. Pakistán.
- Latif, S., Anwar, F.; Hussain, A.; Mahmood, S. 2011. Aqueous enzymatic process for oil and protein extraction from *Moringa oleifera* seed. *Eur. J. Lipid. Sci. Technol.* 113: 1012-1018
- Latif, S.; Anwar, F. 2008. Quality assessment of *Moringa concanensis* seed oil extracted through solvent and aqueous-enzymatic techniques. *Grasas y aceites* 59: 69-75.
- Mani, S.; Jaya, S.; Vadivambal, R. 2007. Optimization of solvent extraction of *Moringa (Moringa oleifera)* seed kernel oil using response surface methodology. *J. Food Bioprod. Processing.* 85(4): 328-335.
- Manzoor, M.; Anwar, F.; Iqbal, T. 2007. Physico-chemical characterization of *Moringa concanensis* seeds and seed oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 84: 413-419.
- Marfil, R. 2008. Parámetros de calidad y componentes con interés nutricional del aceite de argán (*Argania spinosa*). Tesis de doctorado, Universidad de Granada. España. 269 pp.
- Martin, C.; Martin, G.; García, A.; Fernández, T.; Hernández, E.; Puls, J. 2013. Potential applications of *Moringa oleifera*. A critical review. *Pastos y Forrajes* 36(2): 150-158.
- Mat Yusoff, M.; Gordon, M. H.; Ezeh, O.; Niranjan, K. 2017. High pressure pretreatment of *Moringa oleifera* seed kernels prior to aqueous enzymatic oil extraction. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, 39, 129-136.
- Meyer, A.; Jepsen, S.; Sorensen, N. 1998. Enzymatic release of antioxidants for human low-density lipoprotein from grape pomace. *J. Agric. Food Chem.* 46: 2439-2446.
- Moyo, B.; Masika, P.J.; Hugo, A.; Muchenje, V. 2011. Nutritional characterization of *Moringa (Moringa Oleifera Lam.)* leaves. *Afr. J. Biotechnol.* 10: 12925-12933.
- Nadar, Sh. S.; Rao, P.; Rathod, V.K. 2018. Enzyme assisted extraction of biomolecules as an approach to novel extraction technology: A review. *Food Res. Int.* 108: 309-330
- Nguyen, H.N.; Gaspillo, P.D.; Maridable, J.B.; Malaluan, R.M.; Hinode, H.; Salim, C.; Huynh, H.K.P. 2011. Extraction of oil from *Moringa oleifera* kernels using supercritical carbon dioxide with ethanol for pretreatment: Optimization of the extraction process. *J. Chem. Eng. Proc.* 50(1): 1207-1213.
- Ogbunugafor, H.; Eneh, F.; Ozumba, A.; Igwo-Ezikpe, M.; Okpuzor, J.; Igwilo, I.; Adenekan, S.; Onyekwelu, O. 2011. Physico-chemical and Antioxidant Properties of *Moringa oleifera* Seed Oil. *Pak. J. of Nut. (PJNI)* 10(5): 409-414.
- Olaiya, O.; Temitayo, G.; Joseph, O.; Opeyemi, D.; Timothy, A.; Olusola, Y. 2018. *Moringa oleifera* phytochemicals protect the brain against experimental nicotine-induced neurobehavioral disturbances and cerebellar degeneration. *J. Agric. Food Chem.* 25: 57-62.
- Pellegrini, N.; Visioli, F.; Buratti, S.; Brighenti, F. 2001. Direct analysis of total antioxidant activity of olive oil and studies on the influence of heating. *J. Agric. Food Chem.* 49: 2532-2538.
- Prior, R.; Wu, X.; Schaich, K. 2005. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Agric. Food Chem.* 53: 4290-4302.

- Ruttarattanamongkol, K.; Siebenhandeln, S.; Schreiner, M.; Petrasch, A. 2014. Pilot-scale supercritical carbon dioxide extraction, physico-chemical properties and profile characterization of *Moringa oleifera* seed oil in comparison with conventional extraction methods. *Ind. Crops Prod.* 58: 68-77.
- Sánchez, D.; López, J.; Núñez, J.; Servín, G.; López, J.; Paseiro, P. 2015. Effect of the refining process on *Moringa oleifera* seed oil quality. *Food Chem.* 187: 53-57.
- Shahidi, F.; Zhong, Y. 2005. Lipid oxidation: Measurement methods. 6th edition. Editorial Bailey's industrial oil and fat products, Wiley and Sons. Estados Unidos.
- Siguel, E.; Lerman, R. 1993. Trans-fatty acid patterns in patients with angiographically documented coronary artery disease. *Am. J. Cardiol.* 71: 916-920.
- Tsaknis, J.; Lalas, S.; Gergis, V.; Dourtoglou, V.; Spiliotis, V. 1999. Characterization of *Moringa oleifera* Variety Mbololo Seed Oil of Kenya. *J. Agric. Food Chem.* 47: 4495-4499.
- Tuberoso, C.; Kowalczyk, A.; Sarritzu, E.; Cabras, P. 2007. Determination of antioxidant compounds and antioxidant activity in commercial oil seeds for food use. *Food Chem.* 103(4): 1494-1501.
- Valavanidis, A.; Nisiotou, C.; Papageorgiou, Y.; Kremli, I.; Satravelas, N.; Zinieris, N.; Zygalki, H. 2004. Comparison of the radical scavenging potential of polar and lipidic fractions for olive oil and other vegetable oils under normal conditions and after thermal treatment. *J. Agric. Food Chem.* 52: 2358-2365.
- Vásquez, A.; Janer, C.; Janer, M. 1973. Determinación de los polifenoles del aceite de oliva. *Grasas y Aceites* 24: 350-357.
- Wiesman, Z. 2009. Desert olive oil cultivation. *Advanced Bio Technologies*. Primera edición. Editorial Academic Pres. Estados Unidos. 416 pp.