

**UNIVERSIDAD PRIVADA ANTONIO GUILLERMO URRELO**



**Facultad de Ciencias de la Salud**

**“DR. WILMAN RUIZ VIGO”**

**Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica**

**DETERMINACIÓN DEL EFECTO ANTIOXIDANTE DE DISTINTOS  
HIDROLIZADOS PROTEICOS DE LAS SEMILLAS Y HOJAS DE  
*Moringa oleífera* “Moringa”**

**Lita Hisela Ramos Burga**

**Martha Isabel Valencia Soto**

**Asesor:**

**Mg. Q.F. Alexander Jair Ríos Ñontol**

**Cajamarca- Perú**

**Octubre - 2020**

**UNIVERSIDAD PRIVADA ANTONIO GUILLERMO URRELO**



**UPAGU**

**Facultad de Ciencias de la Salud**

**“DR. WILMAN RUIZ VIGO”**

**Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica**

**DETERMINACIÓN DEL EFECTO ANTIOXIDANTE DE DISTINTOS  
HIDROLIZADOS PROTEICOS DE LAS SEMILLAS Y HOJAS DE  
*Moringa oleífera* “Moringa”**

Tesis presentada en cumplimiento parcial de los requerimientos para optar el  
Título Profesional de Químico Farmacéutico

**Bach. Lita Hisela Ramos Burga**

**Bach. Martha Isabel Valencia Soto**

**Asesor: Mg. Q.F. Alexander Jair Ríos Ñontol**

**Cajamarca- Perú**

**Octubre - 2020**

**COPYRIGHT © 2020 by**  
LITA HISELA RAMOS BURGA  
MARTHA ISABEL VALENCIA SOTO  
**Todos los derechos reservados**

## PRESENTACIÓN

### SEÑORES MIEMBROS DEL JURADO DICTAMINADOR

Dando cumplimiento a lo establecido por el Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo, sometemos a vuestra consideración y elevado criterio profesional el presente trabajo de investigación intitulado: **“Determinación del efecto antioxidante de distintos hidrolizados proteicos de las semillas y hojas de *Moringa oleífera* “Moringa”** para poder optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico.

Es propicia la oportunidad para expresar un cordial agradecimiento a nuestra Alma máter la “Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo”, y a su plana docente que con su aptitud y buen interés cooperaron a nuestra formación profesional.

Señores miembros del Jurado, dejamos a su disposición la presente tesis para su evaluación y sugerencias.

Cajamarca, Octubre del 2020

---

Lita Hisela Ramos Burga  
BACH. EN FARMACIA Y BIOQUÍMICA

---

Martha Isabel Valencia Soto  
BACH. EN FARMACIA Y BIOQUÍMICA

**UNIVERSIDAD PRIVADA ANTONIO GUILLERMO URRELO**

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**

**“DR. WILMAN RUÍZ VIGO”**

**CARRERA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**

**APROBACIÓN DE TESIS PARA OPTAR TÍTULO PROFESIONAL DE  
QUÍMICO FARMACÉUTICO**

**Determinación del efecto antioxidante de distintos hidrolizados proteicos de  
las semillas y hojas de *Moringa oleífera* “Moringa”**

**JURADO EVALUADOR**

---

Mg. Q.F. Patricia Burga Chávez  
**(PRESIDENTE)**

---

Mg. Q.F. Edwin Antonio Rodríguez Vera  
**(SECRETARIO)**

---

Mg. Q.F. Alexander Jair Ríos Ñontol  
**(VOCAL)**

## DEDICATORIA

Al motor de mi vida, mi familia:

Benjamín Ramos, mi querido papá, que siempre me da fuerzas para cumplir todas mis metas. Te quiero mucho papá.

Aurelia Burga, mi querida mamá que supo brindarme su apoyo cuando lo necesitaba que siempre me dio fuerza para seguir adelante. Te quiero mucho, mamá.

Mis hermanos, Hilmer, Mabel y Darwin, que más que solo hermanos, son verdaderos amigos a Rosita, una hermana en amor y el regalo más hermoso, Estefany Ariana.

*Lita*

## **DEDICATORIA**

A mi familia, que con mucho esfuerzo y amor estuvieron siempre dispuestos a brindarme su apoyo incondicional.

A José Julián Valencia, mi padre; por el amor infinito y sacrificio para darme una carrera. Por inculcarme valores y ser la persona que soy en el presente.

A Juana Soto, mi madre; por ser la persona que más me conoce y que no permitió que me rindiera en ningún momento, a pesar de momentos difíciles, por contagiarme de coraje para alcanzar todas mis metas y ser la persona más importante en mi vida y mi máxima inspiración.

A Mis hermanos Gladys y Willams, por ver en mí un ejemplo, con ello darme la responsabilidad de no decepcionarlos.

*Martha*

## **AGRADECIMIENTOS**

A Dios por la vida, la fortaleza y por guiar nuestros pasos.

A nuestros padres por su apoyo incondicional durante los cinco años de nuestra carrera.

A la Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo y a toda su plana docente, por las enseñanzas impartidas para nuestra formación profesional.

A nuestro asesor, Mg. Q.F. Alexander Jair Ríos Ñontol, por brindarnos su apoyo sus enseñanzas, paciencia y tiempo para el desarrollo de nuestra tesis.

*Lita y Martha*

## RESUMEN

El objetivo principal de esta investigación fue determinar el efecto antioxidante de distintos hidrolizados proteicos de las semillas y hojas de *Moringa oleífera* “Moringa”. La muestra vegetal se obtuvo del mercado “San Antonio” de Cajamarca, a partir de la cual se prepararon dos extractos proteicos de hojas y semillas; al mismo tiempo, se prepararon las enzimas proteolíticas papaína y pancreatina a una concentración de 100 mg/mL y 10 mg/mL respectivamente. La hidrólisis enzimática se realizó con 100 ml de mezcla, teniendo en cuenta una relación enzima - sustrato de 1:9, es decir, 10 mL de solución de enzima por cada 90 mL de extracto proteico. La reacción se llevó a cabo durante 6 horas, luego de las cuales se obtuvieron los distintos hidrolizados. La actividad antioxidante se determinó a través del ensayo del radical DPPH.

Los datos obtenidos fueron procesados en el Programa Estadístico Statistical Package for the Social Sciences (IBM - SPSS), expresados en gráficos correspondientes, la técnica estadística a emplear fue el análisis de varianza (ANOVA), que comparó el promedio de los resultados de todos los grupos de estudio y una prueba post hoc (Tukey), que compara el promedio grupo por grupo. Se consideró el intervalo de confiabilidad del 95 % y como valores de  $p \leq 0,05$  significativo.

Los resultados mostraron que el hidrolizado de hojas con papaína presenta 57,05% de capacidad atrapadora de radicales libres; de la misma forma el hidrolizado de semillas con pancreatina alcanzó un 61,15% de capacidad atrapadora; el hidrolizado de hojas con pancreatina solo logró 26,56% y el

hidrolizado de las semillas con papaína un 6,07%. El análisis estadístico confirmó que existe diferencia significativa ( $p = 0,000$ ) entre el grupo patrón y los problemas de investigación. Concluyendo en que los hidrolizados proteicos de las semillas y hojas de *Moringa oleífera* “Moringa”, tienen actividad antioxidante.

**Palabras claves:** *Moringa oleífera*, hidrolizados proteicos, actividad antioxidante, enzimas, porcentaje de absorbancia, DPPH.

## ABSTRACT

The main objective of this research was to determine the antioxidant effect of different protein hydrolyzates from the seeds and leaves of *Moringa oleifera* "Moringa". The vegetable sample was obtained from the "San Antonio" market in Cajamarca, to from which were prepared two protein extracts of leaves and seeds; At the same time, were prepared the proteolytic enzymes papain and pancreatin at a concentration of 100 mg/mL and 10 mg/mL respectively. The enzymatic hydrolysis was carried out with 100 ml of mixture, taking into account an enzyme-substrate ratio of 1:9, that is, 10 ml of enzyme solution for every 90 ml of protein extract. The reaction was carried out for 6 hours, after which were obtained the different hydrolyzates. Antioxidant activity was determined through the DPPH radical assay.

The data obtained were processed in the Statistical Program Statistical Package for the Social Sciences (IBM - SPSS), expressed in corresponding graphs, the statistical technique to be used was the analysis of variance (ANOVA), which compared the average of the results of all study groups and a test post hoc (Tukey), which compares the average group by group. The confidence interval of 95% and p values  $\leq 0.05$  were considered significant.

The results showed that the leaf hydrolyzate with papain has 57,05% of free radical trapping capacity; in the same way, the hydrolyzate of seeds with pancreatin reached 61,15% of trapping capacity; leaf hydrolyzate with pancreatin only achieved 26,56% and seed hydrolyzate with papain 6,07%. Statistical analysis confirmed that there is a significant difference ( $p = 0,000$ ) between the standard

group and the research problems. Concluding that the protein hydrolyzates of the seeds and leaves of *Moringa oleifera* "Moringa" have antioxidant activity.

**Keywords:** *Moringa oleifera* "Moringa", protein hydrolyzates, antioxidant activity, enzymes, percentage of absorbance, DPPH.

# ÍNDICE

PRESENTACIÓN.....	iii
JURADO EVALUADOR.....	iv
DEDICATORIA .....	v
AGRADECIMIENTOS .....	vii
RESUMEN.....	viii
ABSTRACT.....	x
ÍNDICE.....	xii
LISTA DE TABLAS .....	xiv
LISTA DE GRÁFICOS .....	xv
LISTA DE FIGURAS .....	xvi
LISTA DE SIGLAS Y ABREVIACIONES .....	xvii
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. MARCO TEÓRICO .....	4
2.1. Teorías que sustentan la investigación .....	4
2.2. Bases Teóricas .....	7
2.3. Definición de términos básicos.....	30
III. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN.....	32
3.1. Unidad de análisis, universo y muestra.....	32
3.2. Métodos de investigación.....	33
3.3. Técnicas de investigación.....	33
3.4. Instrumentos, equipos, materiales y reactivos.....	39

3.5. Técnicas de análisis de datos .....	40
3.6. Aspectos éticos de la Investigación .....	41
IV. RESULTADO .....	42
V. DISCUSIÓN .....	47
VI. CONCLUSIONES .....	53
VII.RECOMENDACIONES .....	54
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	55
ANEXOS .....	65

## LISTA DE TABLAS

Tabla N° 1: Absorbancia promedio obtenida de cada grupo	
experimental.....	42
Tabla N° 2: Porcentaje de Captación Obtenida en cada grupo	
experimental.....	43

## LISTA DE GRÁFICOS

Grafico N° 1: Absorbancia promedio obtenida de cada grupo experimental.....	43
Grafico N° 2: Porcentaje de Captación Obtenida en cada grupo experimental .....	44

## LISTA DE FIGURAS

Figura N° 1: Ilustración de <i>Moringa oleifera</i> “Moringa” .....	9
Figura N° 2: Fitoquímicos encontrados en las hojas de <i>Moringa Oleifera</i> . ....	11
Figura N° 3: Estructuras fitoquímicas importantes en las especies de Moringa .....	11
Figura N° 4: Fitoquímicos bioactivos encontrados en hojas de <i>M. oleífera</i> .....	13
Figura N° 5: Cadena de reacciones que ocurren a partir del O <sub>2</sub> .....	23
Figura N° 6: “Esquema que muestra el efecto que producen las EROs sobre la peroxidación lipídica” .....	28
Figura N° 7: Reacción de reducción del radical DPPH. ....	29
Figura N° 8: Estructura del DPPH antes del después de la reacción con el antioxidante. ....	37

## LISTA DE SIGLAS Y ABREVIACIONES

<b>ADN</b>	:	Acido Desoxirribonucleico.
<b>AAPH</b>	:	2,2'-azobis-(2-aminopropano)-dihidroclorhídrico.
<b>AIH</b>	:	Hidrolizados aislantes de alcalasa.
<b>AMI</b>	:	Amilasa.
<b>DS</b>	:	Desviación estándar.
<b>DPPH</b>	:	2,2-difenil-1-picrilhidrazil.
<b>DPG</b>	:	Difosfoglicerato.
<b>AG</b>	:	Ácido gálico.
<b>ERO</b>	:	Especie reactiva de oxígeno.
<b>EO</b>	:	Estrés oxidativo.
<b>FIT</b>	:	Fitoquímico.
<b>GCS</b>	:	Glutamil cisteinil sintetasa.
<b>GPx</b>	:	Glutación peroxidasa.
<b>GR</b>	:	Glutación reductasa.
<b>GST</b>	:	Glutación-S-transferasa.
<b>GSH</b>	:	Glutación reducido.
<b>HAT</b>	:	Reacción de transferencia de un átomo de hidrogeno.
<b>HO·</b>	:	Radical hidroxilo.
<b>IC</b>	:	Índice de confianza.
<b>MDA</b>	:	Malondialdehído.
<b>Mn</b>	:	Nanómetros.

<b>NADPH</b>	:	Nicotinamida, adenina, dinucleótido de fosfato reducido.
<b>PEP</b>	:	Pepsina.
<b>PIH</b>	:	Hidrolizados aislantes de pepsina.
<b>PL</b>	:	Peroxidación lipídica.
<b>RL</b>	:	Radicales libres.
<b>SET</b>	:	Reacción de transferencia de un electrón.
<b>SOD/CAT</b>	:	Sistema antioxidante superóxido dismutasas/catalasa.
<b>SOD</b>	:	Superoxido dismutasa.
<b>TIH</b>	:	Hidrolizados aislantes de tripsina.

## I. INTRODUCCIÓN

Los efectos del estrés oxidativo en la población han tenido un notable aumento en los últimos años. Desde el período de los años sesenta, se ha originado un estallido en las áreas de exploración respectivas a los radicales libres y antioxidantes. Los esfuerzos han sido dirigidos en la investigación de potentes antioxidantes naturales. Asimismo, las hierbas, las especias e infusiones de té son importantes grupos en la que se basa la exploración de los antioxidantes naturales y el hombre los han manejado desde la antigüedad no sólo para aromatizar los alimentos, sino como antisépticos y por sus propiedades medicinales<sup>1-0</sup>.

El daño oxidativo es originado por una inestabilidad entre la fabricación de especies reactivas del oxígeno y el contenido de un sistema biológico de detoxificar velozmente los reactivos o remediar el deterioro resultante. Las formas de vida conservan un ambiente reductor dentro de sus células. Este ambiente reductor es resguardado por las enzimas que conservan la etapa reducida a través de un firme aporte de energía metabólica. Desbalances en el estado normal redox logran originar efectos tóxicos a través de la fabricación de peróxidos y radicales libres que deterioran a todos los componentes de la célula, conteniendo las proteínas, los lípidos y el ADN<sup>5-</sup>

En el sujeto humano, el estrés oxidativo está implicado en muchos males, como la aterosclerosis, la enfermedad de Parkinson, encefalopatía miálgica, sensibilidad química múltiple, y la enfermedad de Alzheimer e igualmente puede ser significativo en el envejecimiento<sup>8-10</sup>.

Las representaciones de antioxidantes para impedir el estrés oxidativo son encaminadas en exclusivo para la ciudadanía adulta mayor, por lo cual se define a una dieta simple con escasa cantidad de frutas y verduras. Se habla de una ciudad que requiere luchar contra el estrés oxidativo e impedir un mayor desperfecto de su salud y a su vez poder conservar una buena capacidad energética<sup>11</sup>.

Los antioxidantes exigen un papel primordial certificando que los alimentos conserven su sabor, su color, y logren consumirse durante más tiempo. Resulta fundamentalmente útil para evadir la oxidación de las grasas y los productos que las reducen. En los antioxidantes se aumentan en la grasa o aceite, se retarda el inicio de las últimas fases de la autooxidación, cuando la descomposición (el proceso de olores y sabores desagradables) se hace indiscutible que la *Moringa Oleífera* L. “Moringa” tienen una extensa gama de propiedades antioxidantes, protectores de tejidos (hígado, riñones, corazón, testículos y pulmones), gracias a sus metabolitos secundarios como flavonoides glucosinolatos y los ácidos fenólicos principalmente y la eliminación de radicales libres, que son ventajosos para disminuir el estrés oxidativo reduciendo la fabricación de especies reactivas de oxígeno (EROS), y conservar el potencial antioxidante<sup>12-14</sup>.

Por lo antes mencionado se formuló la siguiente pregunta de investigación:

**¿Tendrán efecto antioxidante los distintos hidrolizados proteicos de las semillas y hojas de *Moringa oleífera* “Moringa”?**

Y se plantearon los siguientes objetivos:

### **Objetivo General**

Determinar el efecto antioxidante los distintos hidrolizados proteicos de las semillas y hojas de *Moringa oleífera* “Moringa”.

### **Objetivos Específicos**

- Extraer proteínas de las semillas y hojas de *Moringa oleífera* “Moringa”.
- Realizar una hidrólisis enzimática de las proteínas de las semillas y hojas de *Moringa oleífera* “Moringa”.
- Evaluar la capacidad atrapadora de radicales libre de los hidrolizados de las semillas de *Moringa oleífera* “Moringa” mediante el ensayo DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidracilo).

Con la finalidad de dar respuesta a la pregunta y objetivos planteados se formuló la siguiente hipótesis:

Los hidrolizados proteicos de *Moringa oleífera* “Moringa” tienen efecto antioxidante.

## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1. Teorías que sustentan la investigación

**Mamani J y Tacora R (2017)<sup>15</sup>** en su investigación encabezada “Aislado proteico y efecto antioxidante del extracto de la *Moringa oleífera* “Moringa” para la elaboración de una bebida funcional”. Se obtuvo un contenido proteico de 71,20% en hojas y 88,47% en semillas, en las pruebas biológicas se determinó los siguientes valores PER: HM = 1,28, SM=1,67, control 2,88 y DV: HM = 77,07, SM = 84,07 y control = 86,77. Los resultados señalan que las dietas de semilla son más aprovechables, en la capacidad antioxidante, se utilizó la metodología de DPPH y los compuestos fenólicos por el método Follin Ciocalteu, obteniendo como resultado de capacidad antioxidante en HM = 26,45  $\mu\text{mol Trolox equivalente/g}$ , SM =31,43  $\mu\text{mol Trolox equivalente/g}$  y compuestos fenólicos HM = 237,17 mg de ácido gálico/100g y SM= 212,97 mg de ácido gálico/100g. Las hojas muestran mayor capacidad antioxidante y compuestos fenólicos.

**Taiwo A et al (2018)<sup>16</sup>** en su investigación titulada “Composición de aminoácidos y propiedades antioxidantes del aislado de proteína de semilla de *Moringa oleífera* “Moringa” e hidrolizados enzimáticos”, se aislaron proteínas de la semilla de *Moringa oleífera*, éstas se sometieron a hidrólisis enzimática (alcalasa, pepsina y tripsina) para obtener hidrolizados de alcalasa, aislados de pepsina y aislados de tripsina (AIH, PIH, TIH). Concluyendo en que los hidrolizados de proteína de semilla de *Moringa oleífera* “Moringa” tienen

potencial para ser manipulados como ingredientes para la formulación de alimentos funcionales y nutracéuticos.

**Olusola A et al (2018)<sup>17</sup>** en su investigación titulada “hidrolizados de proteína de semilla de *Moringa oleífera* “Moringa”: Cinética de la inhibición de la  $\alpha$ -amilasa y potenciales antioxidantes”, sugiere que de los hidrolizados de “moringa”, se determinaron las propiedades inhibidoras de la  $\alpha$ -amilasa y la cinética, además las actividades antioxidantes frente a los radicales superóxido y los iones férricos. El estudio concluyó que las proteínas de semillas de *Moringa oleífera* “Moringa” contienen secuencias de péptidos biológicamente activos que podrían valer para la formulación de nuevos aditivos para alimentos y para el progreso de nuevos agentes antidiabéticos.

**Cacelín J (2011)<sup>18</sup>** en su investigación titulada “*Moringa oleífera* “Moringa”, un potencial antioxidante y descontaminante, en la Universidad del Papaloapan, en México”; hallaron que las hojas de *Moringa oleífera* “Moringa”, posee efecto antioxidante asignados a compuestos fenólicos, especialmente ácido gálico, kaempferol y derivados glicósidos de quercetina, tiene todos los aminoácidos esenciales. A partir de la hoja obtuvieron extractos con el fin de conservar los antioxidantes y han promovido a desarrollar la elaboración de películas biodegradables con actividad antioxidante y antimicrobiana con posibles aplicaciones para empaques en alimentos.

**Liang L et al (2019)**<sup>19</sup> en su investigación titulada “Composiciones nutricionales de la semilla de *Moringa oleifera* india y actividad antioxidante de sus polipéptidos”. Los polipéptidos de semilla conseguidos por hidrólisis enzimática se ultrafiltraron, y los fragmentos de péptidos activos se examinaron con DPPH, HO ( $\bullet$ OH), ABTS y anión superóxido ( $O_2 \bullet^-$ ) capacidad de eliminación de radicales libres y tasa de inhibición de la oxidación de lípidos como indicadores. Los resultados revelaron que el contenido de proteína en la semilla de *Moringa oleifera* de la India era alto al 40,34%, conteniendo siete aminoácidos esenciales. El potasio, el sodio y el magnesio es alto, con un contenido de potasio tan alto como 2 357,71 mg / kg, entre los microelementos, el contenido de hierro es tan alto como 36,2 mg / kg. Las reglas de eliminación de radicales libres fueron 4,0; 4,2; 5,3 y 4,3 mg / ml, correspondientemente. Los resultados muestran que la semilla de *M. oleifera* india no solo tiene un alto valor nutricional, sino que su hidrolizado enzimático de proteasa además tiene una actividad antioxidante demostrativa, que puede ampliar aún más en productos de nutrición, productos de salud, alimentos eficaces, productos de belleza y cuidado de la piel, hígado drogas de protección, etc.

## 2.2. Bases Teóricas

### 2.2.1. *Moringa oleífera* “Moringa”

La moringa es un arbusto nativo del norte de la india, crece muy bien: en América tropical, donde es conocida, entre otros nombres, como Teberinto, Arango, Morango, Narango, Árbol de las Perlas, Chinto Borrego, Jacinto, Paraíso Blanco, San Jacinto, Perla de la India, o Rábano Picante. En la actualidad se distribuye en todo el mundo, en los trópicos y subtropicos<sup>0</sup>.

#### 2.2.1.1. Clasificación Taxonomía

La codificación botánica está manifestado por el sistema de sistematización de Engles y Prantl, misma que fue modificado por Melchior en 1964<sup>0</sup>.

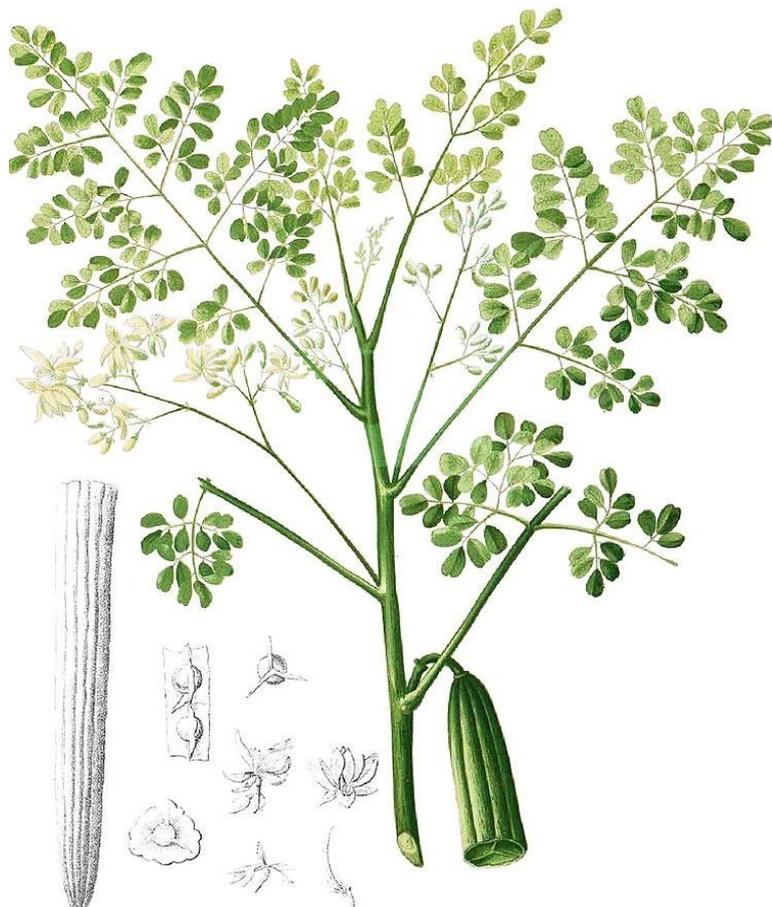
<b>Reino</b>	Plantae
<b>División</b>	Magnoliophyta
<b>Clase</b>	Magnoliopsida
<b>Sub clase</b>	Dilleniidae
<b>Orden</b>	Capparales
<b>Familia</b>	Moringaceae
<b>Género</b>	<i>Moringa</i>
<b>Especie</b>	<i>Moringa Oleifera</i>

### 2.2.1.2. Descripción morfológica

La Moringa oleífera es un árbol verde o caducifolio de tamaño pequeño y desarrollo acelerado, puede llegar a 10 a 12 m de alto tiene una capa abierta y esparcida de ramas predispuestas y frágiles, un follaje pulmonoso de pinnadas en tres y una corteza gruesa, blanquecina y de aspecto suberoso. Se valora especialmente por sus frutas, hojas, flores, raíces, todas comestibles, y por el aceite (también comestible)<sup>27</sup>.

- **Raíz:** Mide varios metros y es pulposa en forma de rábano. Es pivotante y globosa lo que le brinda a la planta cierta resistencia a la sequía en periodos prolongados. En la corteza se produce una goma color rojizo parduzco<sup>15</sup>.
- **Hojas:** Son compuestas, de unos 20 cm de largo, con hojuelas delgadas, ovaladas de 1 a 2 cm de largo y de color verde claro; tienen caracteres nutritivos destacadas como son; proteínas un 27%; también tienen sumas significativas de calcio, hierro y fósforo, así como vitamina A y C<sup>16</sup>.
- **Flores:** Son fragantes, bisexuales, de color blanco amarillento con tallos vellosos en panículas axilares extendidas de 10 a 25 cm de largo. Las flores individuales tienen cerca de 0,7 a 1 cm de largo y 2 cm de ancho, y cinco pétalos espatulados, amarillentos, cinco estambres, cinco estambres estériles más pequeños y un pistilo compuesto por un ovario<sup>17</sup>.

- **Fruto:** Son unas cápsulas de color pardo, de tres lados, lineares y pendientes, surcos longitudinales, aproximadamente de unos 20 a 45 cm de largo, algunas llegan hasta 120 cm de largo, y de 2 a 2,5 cm de ancho que dan forma de vaina.
- **Semillas:** Son redondas de 1 cm de diámetro de color parduzco, algunas pueden ser blancas si los granos son de baja viabilidad. Las semillas viables germinan en 2 semanas, cada árbol puede producir alrededor de 15,000 a 25,000 semillas por año. El peso medio es de 0,3 g / semilla<sup>15</sup>.



**Figura N° 1: Ilustración de *Moringa oleifera* “Moringa”.**

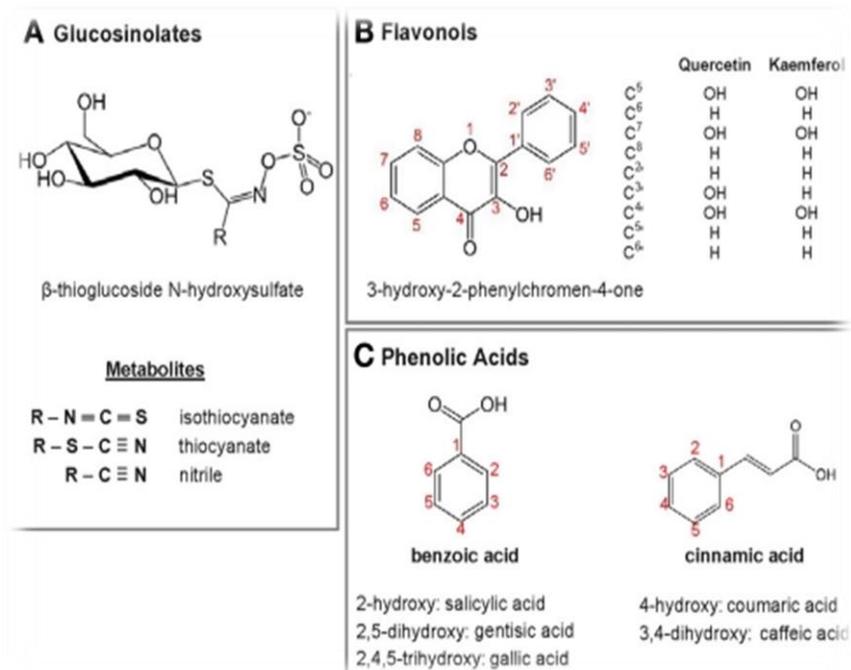
**Fuente:** Blanco F. *Moringa oleifera*. [en línea]. Wikipedia. [Citado el 3 de Octubre del 2019]<sup>22</sup>.

### 2.2.1.3. Composición química

La Moringa posee una vasta serie de compuestos bioactivos que se desarrollan a partir de otras estructuras vegetativas, como: hojas, semillas, tallos y cascaras de las vainas. Estos elementos bioactivos comprenden carbohidratos, compuestos fenólicos, aceites, ácidos grasos, proteínas y péptidos funcionales y constituyen un gran potencial para ser utilizados en diversas formulaciones de productos alimenticios<sup>24</sup>.

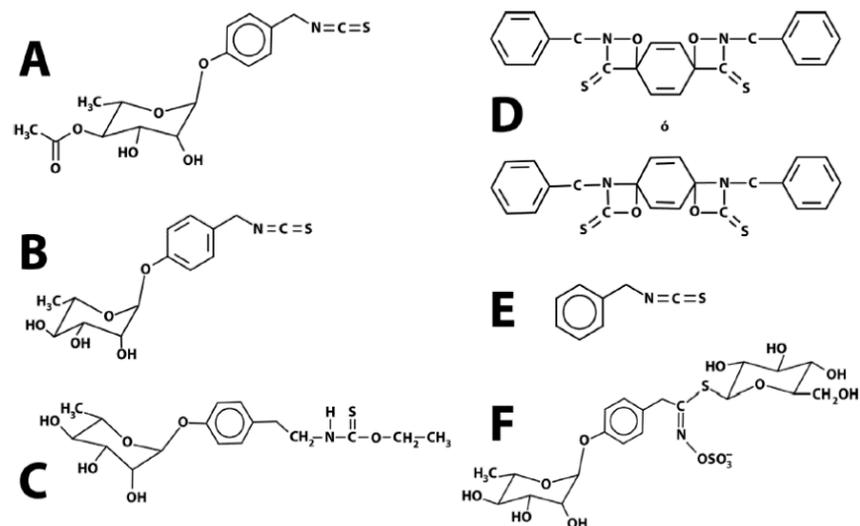
*Moringa oleifera* “Moringa” contiene valioso contenido de proteína, ácidos fenólicos, flavonoides, glucosinolato e isocinocinatos. Los flavonoides que destacan son; quercetina y kaempferol, que juegan un rol significativo en el estrés oxidativo, con efectos antihipertensivos, antiproliferativos y antiinflamatorios. Asimismo, el kaempferol es responsable del retraso del período celular en células de cáncer de colon<sup>25</sup>.

- **Glucosinolatos:** Contienen el  $\beta$ -tioglucósido *N* - hidroxisulfato. En las hojas de *Moringa oleifera* “Moringa”, en general todos los fotoquímicos de esta clase llevan un grupo bencilglicósido unido al carbono único. El más cuantioso de ellos es el 4- *O* ( $\alpha$ -1 - ramnopiranosil-oxi) -bencilglucosinolato, conocido como glucomoringina. La hidrólisis enzimática del glucosinolato de los integrantes de esta clase corresponde a los isotiocianatos, tiocianatos o nitrilos. Se ha indicado que diversos de estos subproductos conservan propiedades antihipertensivas<sup>26</sup>.



**Figura N° 2: Fitoquímicos encontrados en las hojas de *Moringa Oleifera*.**

**Fuente:** Martín C, Martín G, García A, Fernández T, Hernández E, Puls J. Potenciales aplicaciones de *Moringa oleifera*. Una revisión crítica. [en línea]. Pastos y Forrajes. 2013; 36(2). [Consultado el 03 de octubre del 2019]<sup>26</sup>.



**Figura N° 3: Estructuras fitoquímicas importantes en las especies de *Moringa Oleifera*.**

**Fuente:** Olson F. Moringa: un árbol multusos [en línea]. Revista Mexicana de Biodiversidad; 82: 1071-1082, 2011. [Consultado el 03 de octubre del 2019]<sup>27</sup>.

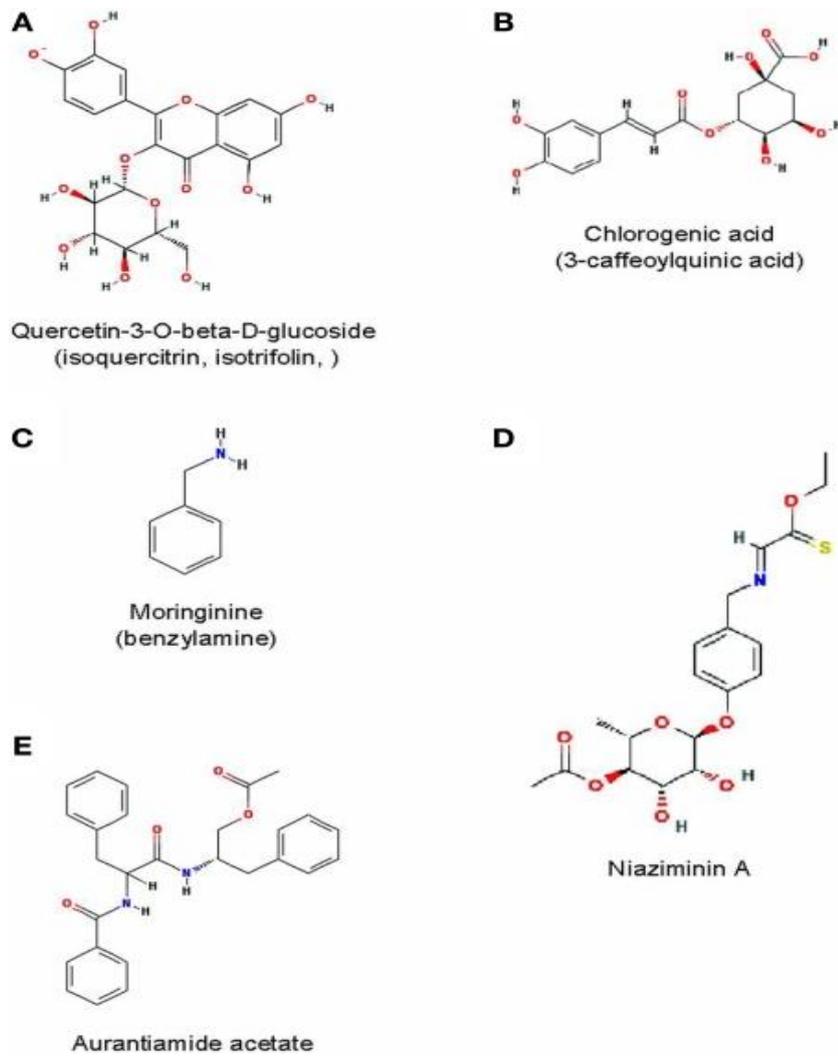
- **Los flavonoides y los ácidos fenólicos:**

El esqueleto estructural de los flavonoides está constituido por dos anillos aromáticos agregados por un enlace de tres carbonos; de la subclase de flavonoles es 3-hidroxi-2-fenilcromen-4-ona. La quercetina y el kaempferol, en su escritura de 3'- O- glucósido, son los flavonoles superiores en las hojas de *Moringa oleifera* “Moringa”.

Los residuos de azúcar contienen, entre otros, grupos de ramnoglicósilo (rutinosidos), glucosilo (glucósidos), malonglucosilo 6 'y 2'-galoylrutinosido. Estructuralmente, los flavonoides son más reconocidos por sus propiedades antioxidantes, sin embargos sus vías metabólicas de acción aún no se han sido descubiertas. Los ácidos fenólicos poseen ácido benzoico y ácido cinámico como esqueletos, con uno o varios grupos hidroxilo. El ácido clorogénico, es un éster del ácido dihidrocinámico (ácido cafeico) y del ácido quínico, es un ácido fenólico significativo en las hojas de *Moringa oleifera* “Moringa”.

- **Quercetina:** La quercetina se halla en concentraciones tan altas como 100 mg / 100 g de hojas secas de *Moringa oleifera* “moringa”, predominante como quercetina-3 O- β- D -glucósido, asimismo caracterizado por contener isoquercitrina o isotrifolina. La quercetina es un poderoso antioxidante, con múltiples propiedades terapéuticas.

Ha revelado efectos anti-dislipidémicos, hipotensivos y antidiabéticos. Puede resguardar las células  $\beta$  pancreáticas productoras de insulina contra el estrés oxidativo inducido.



**Figura N° 4: Fitoquímicos bioactivos encontrados en hojas de *M. oleífera*.**

**Fuente:** Olson F. Moringa: un árbol multiusos [en línea]. Revista Mexicana de Biodiversidad; 82: 1071-1082, 2011. [Consultado el 03 de octubre del 2019]<sup>27</sup>.

#### 2.2.1.4. Propiedades

Las hojas de moringa tienen propiedades adicionales que podrían alertar tumores y el cáncer, es decir, anti-tumores y anti-cancerígenas. La planta completa cuenta con las siguientes constituyentes: a los cuales se les atribuye estas peculiares propiedades; el O-Etil-4-( $\alpha$ -L-ramnosiloxi)bencil carbamate en conjunto con el 4( $\alpha$ -L-ramnosiloxi)-bencil isotiocianato, niacimicina y 3-O-(6'-O-oleoyl- $\beta$ -D-glucopiranosil)- $\beta$ -sitosterol, han sido demostrados por su potencial actividad promotora antitumoral utilizando un ensayo in vitro que mostró efectos inhibidores reveladores sobre Epstein Barr virus principios de antígeno<sup>0</sup>.

- El valioso contenido en vitaminas B, C y hierro, lo cataloga en un alimento útil para ayudar en el tratamiento y la prevención de la anemia ferropénica.
- Propiedades analgésicas y antiinflamatorias, principalmente contrarresta los dolores inducidos por artritis.
- Sedante de los males gástricos, mayormente empleado para calmar ardor de estómago, gastritis e incluso para regular el estreñimiento.
- El poder antioxidante, de las hojas de moringa tienen acción antidiabética, previniendo los niveles de azúcar en sangre de personas con diabetes II.
- Provechosa para calmar las variaciones endocrinas, especialmente las afines con el tiroides.

- Beneficiosa contra los hongos al reforzar el sistema inmunitario.
- Efecto cicatrizante, así como sus beneficios contra la hipertensión.
- Los efectos antioxidantes de *Moringa oleifera* “Moringa” tiene más de 40 compuestos con acción antioxidante. Entre los combinados con este potencial, ya sea por actividad de atracción de radicales libres o por contenido de secuencias de quelatos de iones metálicos reconocidos en las semillas de moringa, se hallan compuestos fenólicos como el kaempferol y los ácidos gálico y elágico<sup>0</sup>.
- Estudios *in vitro* enuncian que los análisis de hojas, frutos y semillas de moringa, en relación a sus peculios antioxidantes, resguardan las células vivas del perjuicio oxidativo del ADN agrupado con el senectud, el cáncer y los males degenerativos<sup>0</sup>; asimismo se indica que los extractos postergan la peroxidación lipídica y el *quorum sensing* bacteriano, y se formuló a *Moringa oleifera* “Moringa” como el candidato idóneo para las industrias farmacéutica, nutracéuticos y de alimentos eficaces. En un estudio se deja ver que la parte extraída con acetato de etilo, rica en ácidos fenólicos y flavonoides, muestra la superior influencia antioxidante entre las fracciones extraídas con diferentes disolventes<sup>0</sup>. La actividad antioxidante de las hojas de moringa está relacionada a los contextos agroclimáticas y estacionales<sup>0</sup>.

Las regiones frías de Pakistán revelaron mayor actividad antioxidante en las regiones despejadas de ese país, mientras que en diciembre revelaron mayor actividad que las están en junio.

- Los coagulantes originarios de la semilla de moringa, su valioso contenido de aminoácidos como metionina, cisteína, y de antioxidantes como las vitaminas C y E, y  $\beta$  caroteno son los mediadores de la remediación del estrés oxidativo ocasionado por el arsénico<sup>0</sup>.

#### **2.2.1.5. Análisis químico de *Moringa oleífera* “Moringa”**

El análisis químico de la moringa refiere que cada 100g, de vaina con semillas contienen 86,9 g de agua; 2,5 g de proteínas; 0,1 g de margarina, 8,5 g de carbohidratos, 2,0 g de residuo; 30 mg de calcio, 110 mg de fósforo; 5,3 mg de hierro; 184 UI de vitamina A; 0,2 mg de niacina; 120 mg de ácido ascórbico; 310  $\mu$ g de cobre y 1,8  $\mu$ g de yodo. El núcleo de la semilla contiene 38,4 g de proteína cruda y 34,7% de aceitoso. El aceite de la semilla contiene 9,3% de ácido palmítico, 7,4% de ácido esteárico, 8,6% ácido behénico y 65,7% de ácido oleico. Los ácidos grasos frecuentes son; ácidos mirístico y lignocérico. La extracción de aceite contiene 58,9% de proteína cruda<sup>0</sup>.

Cada 100 g de muestra fresca de hojas contiene: 75 g de agua; 6,7 g de proteínas; 1,7 g de grasa; 14,3 g de carbohidratos; 0,9 g de fibra; 440 mg de calcio; 70 mg de fósforo; 7 mg hierro; 110 µg de cobre; 5,1 µg de yodo; 11.300 UI de vitamina A; 120 µg vitamina B; 0,8 mg de ácido nicotínico; 220 mg de ácido ascórbico y 7,4 mg de tocoferol. Se hallan sustancias estrogénicas, que contiene el compuesto antitumoral  $\beta$  sitosterol y una pectínesterasa<sup>0</sup>.

#### **2.2.1.6. Actividad farmacológica**

Las partes diferenciadas del árbol de *Moringa oleifera* “Moringa”, conteniendo las raíces, cortezas, hojas, flores, frutos y semillas se emplean tradicionalmente en diversas aplicaciones terapéuticas, como, tumores abdominales, la histeria (un trastorno psicológico), el escorbuto, la parálisis, la vejiga por helmintos, problemas de próstata, llagas y otras infecciones de la piel.

Los fitoquímicos de *Moringa oleifera* “Moringa” han manifestado efecto antidislipidémicos, antihelmíntico, antidiabético, antiinflamatorio, antimicrobiano, antioxidante, antiproliferativa, anti-úlceras, antiurolitiasis, y propiedades hepatoprotector. Se han confirmado potentes propiedades antiproliferativas y apoptóticas del extracto de la hoja de *Moringa oleifera* “Moringa”, manejando el modelo de línea celular de tumor humano (KB).

El extracto de la hoja de moringa ha expuesto transmutaciones a nivel morfológico muy reveladoras y una disminución de la viabilidad celular, con una ampliación de la fragmentación del ADN internucleosomal y la generación de EROS en las células KB.

#### 2.2.1.7. Usos

Se le conoce como el “*Árbol de la vida*”, se logran manejar varias partes: las semillas, hojas, raíces, frutos y flores. A continuación, los usos más comunes de este árbol:

- **Fruta:** La moringa se consume, de modo cocida.
- **Semillas:** Se toman tostadas, formando un snack bello y sano para picar entre horas, así como aderezo para algunos platos como ensaladas.
- **Hojas:** Sabrosas en vitamina C y en hierro. Se utilizan como aliño para unos platos, en preparaciones frías y ensaladas. Además, se pueden preparar en forma de infusión.
- **Polvo:** (Habitualmente de hoja) es estrechamente usada gracias a la aptitud de su uso y a sus grandiosas propiedades, lo que la hace ideal para ser administrado como complemento en smoothies, zumos, cremas o salsas.

- **Aceite de moringa:** Es saludable y de gran poder hidratante, una elección ideal para defender un daño a nuestro cabello y piel.

### 2.2.2. Aislados y concentrados proteicos

Los proteicos aislados son la simbolización productiva más afinada de los extractos proteicos, que se obtiene eliminando algunos mecanismos ya sea por hidrólisis o por posterior precipitación registrando los otros medidas como pH, temperatura, solubilidad y otros que admiten la ganancia de la proteína, logrando el beneficio final con un 90% o más de proteína.<sup>¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.</sup>

Los concentrados proteicos vegetales originados de un enriquecido material en su contenido proteico, mediante una separación relativa de sus miembros no proteicos (lípidos, fibra, carbohidratos, minerales, etc.), de tal modo que sus propiedades nutricionales no se extingan. Según el Codex, para productos de soya, un concentrado debe tener entre 65 y 90% de proteína en base seca y en el caso de productos de otro tipo de vegetales son considerados proteicos al contener un porcentaje de proteína mayor de 40%.<sup>¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.</sup>

### **2.2.3. Estrés oxidativo**

Es una etapa de la célula en la cual se halla perturbada la homeostasis óxido-reducción intracelular, es mencionar el cálculo entre prooxidantes y antioxidantes. El desbalance se origina a causa de una descomunal fabricación de especies reactivas de oxígeno (EROs) y/o por defecto en los mecanismos antioxidantes, llevando a daño celular<sup>33</sup>. Un aspecto especialmente abrumador del estrés oxidativo es la fabricación de especies reactivas del oxígeno, que encierran los radicales libres y los peróxidos. El total de estos géneros procedentes del oxígeno se originan en un nivel bajo en contextos estándar de metabolismo aeróbico y el daño que producen a las células es modificado tenazmente. A excepción bajo los difíciles rases de estrés oxidativo que causa la necrosis, el daño provoca agotamiento de ATP retardando la muerte celular por apoptosis registrada, induciendo que la célula estrictamente se desmorone<sup>0</sup>.

### **2.2.4. Radicales libres y especies reactivas del oxígeno.**

Son especies químicas (átomos, iones o moléculas) con un electrón desapareado en su orbital más externa, lo que le da una disposición sideral eventual y, tiene un gran contenido de transformarse con otros componentes.

En estas micropartículas no se evidencia el estilo estándar espontáneo de los electrones limitados en los átomos y moléculas en el orden de parejas, y poseen una gran aspiración para reaccionar, tanto en los compuestos o reacciones inespecíficas que se originan entre ellas como con otras moléculas adicionales de la estructura celular (carbohidratos, lípidos, proteínas y ácidos nucleicos, esencialmente)<sup>33</sup>.

Estas especies se originan de modo fisiológico como parte de las reacciones orgánicas de oxidación-reducción.

Los radicales libres del oxígeno ( $O_2$ ) tienen un bajo peso molecular y se originan en respuesta a disminuciones univalentes subsecuentes del oxígeno; muestran una media vida muy corta y, por su entorno birradicálica, logran transformarse con las macromoléculas orgánicas cambiando su estructura y puesto, por lo que son letalmente citotóxicos y clastogénicos. Durante estas reacciones químicas se producen, también, compuestos que no son radicales libres del  $O_2$ , es decir no muestran electrones desapareados, pero que son sus antecesores o elementos intermedias en la alineación de éstos y asimismo potencialmente dañinos. Los radicales libres del  $O_2$  y estas modernas sustancias se designan, en su ligado, especies reactivas del oxígeno (EROs)<sup>33</sup>.

Las especies reactivas de oxígeno más importantes son:

- Radical hidroxilo ( $HO^+$ )
- Peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ )
- Anión superóxido ( $O^{2o-}$ )

- Oxígeno singlete ( $1O_2$ )
- Óxido nítrico (NO)
- Peróxido (ROO)
- Semiquinona (Q)

Los radicales libres del oxígeno se categorizan de la forma siguiente:

- Radicales libres primarios o inorgánicos. Surgen por transmisión de elementos sobre el átomo de oxígeno, constituyen diversos estados en la reducción de este y se determinan tener una vida media muy corta; estos son el anión superóxido, el radical hidróxilo y el óxido nítrico.
- Radicales libres secundarios u orgánicos. Es causado mediante el traspaso de un electrón de un radical principal a un átomo de una molécula orgánica o por la reacción de 2 radicales principales entre sí, poseen una vida media un total más larga que los primeros; los iniciales átomos de las biomoléculas son: carbono, nitrógeno, oxígeno y azufre.
- Mediadores estables coherentes con los radicales libres del oxígeno. Formado por un grupo de variedades químicas que sin ser radicales libres, son productoras de estas sustancias o trascienden la disminución o metabolismo de ellas, entre las que existen el oxígeno singlete, el peróxido de hidrógeno, el ácido hipocloroso, el peroxinitrito, los hidroperóxidos orgánicos<sup>0</sup>.

La originaria ERO se forma a partir del  $O_2$  es el radical superóxido ( $O_2^{\circ-}$ ), el cual es un radical libre, puede ser claramente tóxico. Muestra una acotada reactividad con la totalidad de los elementos biológicos, toda cubierta, en medio acuoso, el cual unos han puesto en duda su toxicidad de por sí. Sin embargo, puede propagarse a distancias respectivamente grandes y hallar situaciones propicias para su acción (medio hidrofóbico como membranas celulares), así como por su aforo de generar otras EROs potentes, se cataloga como un agente tóxico potencial<sup>33</sup>.

La disminución univalente del  $O_2^{\circ-}$  forma peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ), mezclado que es una EROs, pero no un RL. A partir del  $H_2O_2$ , y asimismo del radical  $O_2^{\circ-}$ , logra producir fácilmente el poderoso agente reactivo radical hidroxilo ( $OH\cdot$ ), el cual se reúne por la fuerza de Haber Weiss, logrando la disminución y oxidación de trazas de metal en aspecto de estos compuestos.

No constan técnicas enzimáticas que excluyan las sumas en exceso del radical  $OH\cdot$ , lo que crea aún más peligroso<sup>33</sup>.



**Figura N° 5: Cadena de reacciones que ocurren a partir del  $O_2$ .**

**Fuente:** Ríos M. El estrés oxidativo y destino celular. Revista Química Viva. [Revista en Internet]. 2003; 2 (1): 1 – 4. [Citado el 03 de Octubre 2019]<sup>0</sup>.

Se forman los radicales libres a nivel extracelular e intracelular. Entre las células análogas con la fabricación de radicales libres del oxígeno

obtenemos los monocitos, neutrófilos, eosinófilos, y macrófagos, y las células endoteliales.

Las oxidantes enzimas implicadas son la indolamindioxigenasa, la xantina-oxidasa, la triptofano-dioxigenasa, la mieloperoxidasa, la galactosa oxidasa, la ciclooxigenasa, la monoamino-oxidasa, la lipoxigenasa, y la NADPH oxidasa. Entre las agentes y sustancias es prominente la conformidad de los productos cíclicos de naturaleza redox como son: paraquat, diquat, alloxano, estreptozozina y doxorubicina, con los radicales libres. Asimismo, se originan radicales libres por la dirección del tetracloruro de carbono, paracetamol, y furosemida; y, por último, otros agentes como el humo de cigarrillos, las irradiaciones ionizantes, el shock térmico, la luz solar, y las sustancias que oxidan el glutatión (GSH) a modo que las fuentes de radicales libres. Están algunas circunstancias en que además se originan radicales libres como son<sup>0</sup>:

- Dieta hipercalórica.
- Antioxidantes en dieta insuficiente.
- Procesos inflamatorios y traumatismos.
- Fenómenos de isquemia y repercusión.
- Ejercicio extenuante.

#### **2.2.5. Efectos de las Especies Reactivas del Oxígeno sobre el metabolismo celular y mecanismos de protección.**

El daño celular por las especies reactivas del oxígeno ocurre sobre otros macromoléculas<sup>0</sup>:

- Lípidos. se origina el mayor deterioro en un proceso conocido como peroxidación lipídica, impacta a las estructuras ricas en ácidos grasos poliinsaturados, al alterar la filtración de la membrana celular causando edema y muerte celular. La peroxidación lipídica simboliza una señal de daño hístico que puede ser liberado por el oxígeno, el peróxido de hidrógeno, el oxígeno singlete, y el radical hidroxilo<sup>0</sup>.
- Los insaturados ácidos grasos son agregados esenciales de las membranas celulares, significativas para su trabajo normal, a excepción de, son sensibles a la agresión oxidativa adherido por los radicales libres del oxígeno. Los componentes que influyen en la magnitud de la peroxidación lipídica son:
  - a) La naturaleza cuantitativa del agente inicializador y cualitativa.
  - b) Los comprendidos de la membrana en ácidos grasos poliinsaturados y su accesibilidad.
  - c) La tensión de oxígeno.
  - d) El aspecto del hierro.
  - e) El comprendido celular de antioxidantes (betacarotenos, alfatocoferoles, glutatión).
  - f) La aceleración de enzimas que logran terminar la cadena de reacción como el glutatión peroxidasa (GSH-Prx).

El periodo inicia con la fabricación de radicales libres que transporta a la alineación de peróxidos orgánicos y otros productos, a partir de los ácidos grasos insaturados; una vez hechos, estos radicales libres son los garantes de los bienes citotóxicos<sup>0</sup>.

- Proteínas. ocurre oxidación de un grupo de aminoácidos como tirosina, histidina, fenilalanina y metionina; además se constituyen un cruce de cadenas peptídicas, y por posterior hay elaboración de grupos carbonilos<sup>0</sup>.
- Ácido desoxirribonucleico (ADN). Suceden fenómenos de alteraciones y carcinogénesis, hay lesión de locución o síntesis de una proteína por perjuicio a un gen determinado, modificaciones oxidativas de las bases, deleciones, fragmentaciones, interacciones estables ADN-proteínas, reordenamientos cromosómicos y desmetilación de citosinas del ADN que mueven genes.

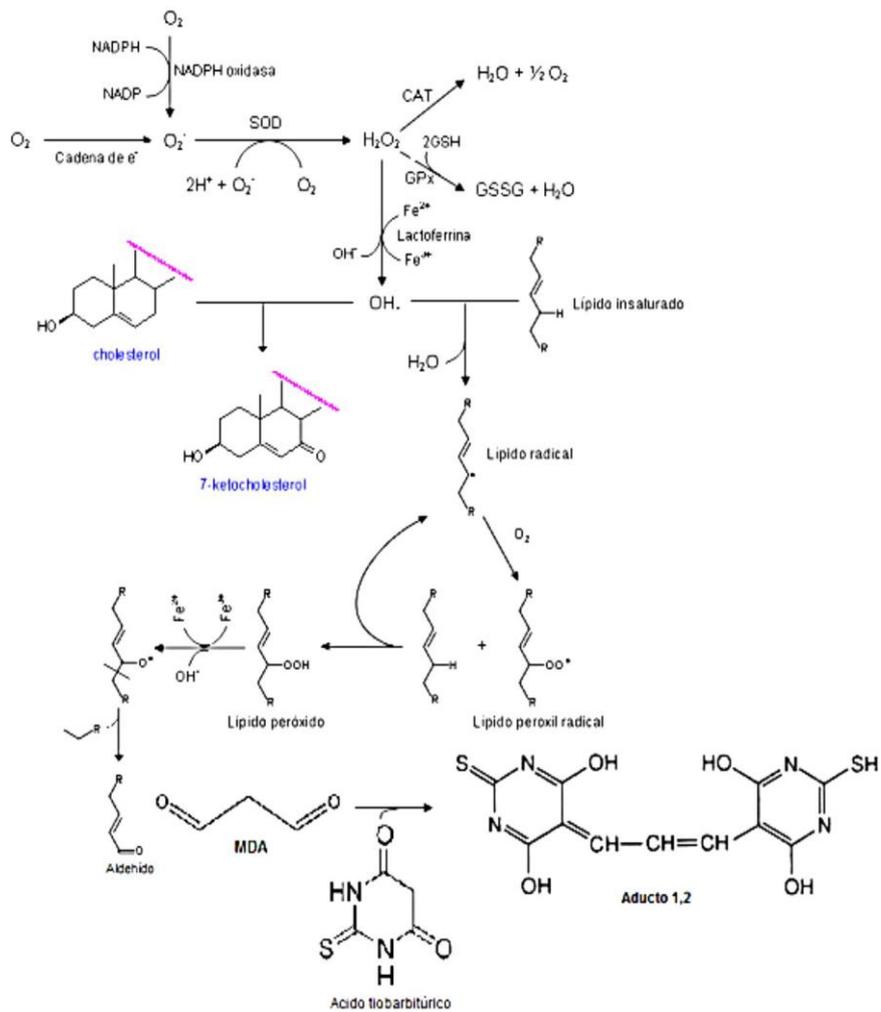
El deterioro puede darse por la variación (inactivación/pérdida de unos genes supresores de tumores que logran la iniciación, progresión, o entrambas de la carcinogénesis).

Los genes de tumores son modificados por un simple intercambio en una base crítica de la secuencia del ADN<sup>0</sup>.

Ante el riesgo que simboliza el perjuicio oxidativo, las células disponen mecanismos de protección: preventivos, secuestradores y reparadores de este deterioro.

Los antioxidantes celulares mejor ensayados son las enzimas catalasa, glutatión, y superóxido dismutasa (SOD), peroxidasa. Antioxidantes enzimáticos menos rebuscado (pero muy significativos) son la peroxirredoxina y la sulfirredoxina. Otras enzimas que poseen propiedades antioxidantes tenemos; la paraoxonasa, la glutatión S - transferasa, y la aldehído deshidrogenasa. El estrés oxidativo, en el ser humano involucra diversas enfermedades, como la aterosclerosis, la enfermedad de Parkinson, sensibilidad química múltiple, la enfermedad de Alzheimer, encefalopatía miálgica, asimismo puede ser significativo en el envejecimiento.

Los radicales hidroxilos dan lugar a transmutaciones de aminoácidos (la alineación de meta-tirosina y orto-tirosina a partir de fenilalanina), hidratos de carbono, instruir la peroxidación de lípidos, y oxidar núcleos bases. Fuera de los géneros reactivos de oxígeno son beneficiosas ya que son manejadas por el sistema inmunitario como intermediario para atacar y matar a los patógenos, a través de la fagocitosis<sup>0</sup>.



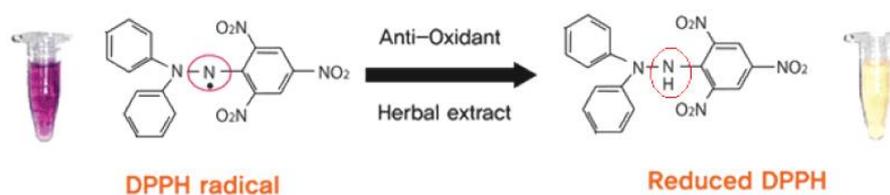
**Figura N° 6: Esquema que muestra el efecto que producen las EROs sobre la peroxidación lipídica.** NADPH: Nicotinamida Adenina Dinucleótido Fosfato reducida; NADP: Nicotinamida Adenina Dinucleótido Fosfato oxidada; SOD: Superoxido Dismutasa; CAT: Catalasa; GPx: Glutation Peroxidasa; GSH: Glutation reducido; GSSG: Glutation Oxidada; MDA: Malondialdehído.

**Fuente:** Cruz J, Licea M, Hernández P, et al. Estrés oxidativo y Diabetes Mellitus. Rev Mex Patol Clin [Revista en Internet]. México; 2011; 58 (1): 4 - 15 [Citado el 03 de Octubre 2019]<sup>33</sup>.

### 2.2.6. Fundamento teórico del método DPPH para determinar la capacidad antioxidante.

Este método fue desarrollado por Blois (1958) para comprobar la actividad antioxidante de algunas sustancias mediante el uso de un radical libre estable, el 1,1 - difenil-2-picrilhidracilo (DPPH;  $C_{18}H_{12}N_5O_6$ , PM = 394,33). El ensayo se fundamenta en la medición del contenido de reducción de este con el coherente cambio de coloración. El electrón impar del átomo de nitrógeno en el DPPH se somete mediante la admisión de un átomo de hidrógeno derivado de antioxidantes<sup>0</sup>.

Mientras el DPPH pueda aceptar un electrón o radical para convertirse en una molécula estable, diamagnética de hidrógeno, este se puede oxidar sólo con dificultad y de forma irreverente. DPPH muestra una fuerte banda de absorción a 517 nm debido a su electrón impar y en solución aparece de un color violeta oscuro y vira a amarillo de acuerdo a la reacción de reducción se lleva a cabo<sup>0</sup>.



**Figura N° 7: Reacción de reducción del radical DPPH.**

**Fuente:** Capacidad antioxidante (AOC) [en línea]. [Consultado el 3 de octubre del 2019]<sup>0</sup>.

### 2.3. Definición de términos básicos

- **Antiproliferativa:** Sustancia que limita la reproducción celular, actúa sobre células normales, como médula ósea, intestinales, piel o cabello<sup>41</sup>.
- **Antioxidante:** Sustancias natural o artificial que previene o retrasa diferentes tipos de daño celular, se encuentran generalmente en frutas y verduras<sup>42</sup>.
- **Aminoácidos:** Es una molécula orgánica con un grupo amino y un grupo carboxilo, juegan un rol imprescindible en casi todos los procesos biológicos<sup>47</sup>.
- **Biactivos:** Sustancia química presente en pequeñas cantidades en frutas, verduras, nueces, aceites y granos integrales, y previenen enfermedades crónicas<sup>48</sup>.
- **Glucosinolatos:** Responsables del sabor picante de especias como la mostaza o los rábanos picantes<sup>49</sup>.
- **DPPH:** Es el compuesto químico orgánico 2,2-difenil-1-picrylhydrazyl; constituido por moléculas estables de radicales libres, usado como indicador; que al neutralizarse, vira de violeta intenso a incoloro o amarillo pálido<sup>43</sup>.
- **Enzimas:** Son moléculas orgánicas que catalizan reacciones químicas, son de naturaleza proteica, pero también de ARN<sup>44</sup>.
- **Hidrolizados proteicos:** Son proteínas que mediante el proceso de hidrólisis, se hace la rotura de la estructura normal de la proteína<sup>46</sup>.

- **Oligoelemento:** Elemento químico que se encuentra en las células de los seres vivos y es preciso para el desarrollo normal del metabolismo<sup>47</sup>.
- **Panículas:** Es una inflorescencia racimosa compuesta de racimos que disminuyen el tamaño hacia el ápice<sup>50</sup>.
- **Peroxidación lipídica:** Es el proceso a través del cual los radicales libres enlazan electrones de los lípidos en las membranas celulares, proceso iniciado por un mecanismo de reacción en cadena de un radical libre<sup>45</sup>.
- **Radicales libres:** Son un grupo de átomos que poseen un electrón (e-) emparejado, son muy reactivos, en el organismo suprimir un electrón a moléculas firmes para lograr su estado electroquímica<sup>45</sup>.

### III. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

#### 3.1. Unidad de análisis, universo y muestra

##### 3.1.1. Unidad de análisis

Hidrolizado proteico de las semilla y hojas de *Moringa oleífera* “Moringa”.

##### 3.1.2. Universo

Semilla y hojas de *Moringa oleífera* “Moringa”.

##### 3.1.3. Muestra

4 hidrolizados proteicos obtenidos a partir de 160g de semillas y 80g hojas de *Moringa oleífera* “Moringa”.

- **Criterios de Inclusión**

- Semillas y hojas de la especie *Moringa oleífera* “Moringa”.
- Semillas y hojas provenientes del mercado “San Antonio” de Cajamarca.

- **Criterios de Exclusión**

- Semillas y hojas maltratadas.
- Semillas y hojas enfermas, o con algún tipo de manifestación patológica.
- Semillas y hojas secas.

### **3.2. Métodos de investigación**

#### **a. De acuerdo al fin que se persigue.**

La presente investigación fue básica, ya que estuvo orientada a lograr nuevos conocimientos de manera sistemática y metódica con el único objetivo de ampliar los ya existentes y sin contrastarlo con ningún aspecto práctico.

#### **b. De acuerdo a la técnica de contrastación.**

La investigación fue de tipo experimental, pues se realizó mediante la manipulación de una variable experimental no comprobada, en condiciones rigurosamente controladas, con el fin de describir la actividad antioxidante de los hidrolizados proteicos de las hojas y semillas de *Moringa Oleifera* L. “Moringa” obtenidas.

### **3.3. Técnicas de investigación**

#### **3.3.1 Obtención y selección de la especie vegetal**

- 2 Kg de hojas y semillas de *Moringa oleifera* fueron compradas del mercado “San Antonio” de la ciudad de Cajamarca.
- Una vez adquirida la muestra, se empacó en bolsa de papel teniendo en cuenta la temperatura y humedad (que no se maltraten o les llegue los rayos solares directamente) y se trasladó al Laboratorio de Química de la Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo.

- Luego se lavaron con agua potable y se secaron al aire libre por cuatro días consecutivos, transcurrido este tiempo las semillas fueron descascarilladas.
- Se seleccionó la muestra que se encontró en mejores condiciones.

### **3.3.2 Obtención de extractos proteicos de las semillas y hojas de *Moringa oleífera* “Moringa”**

Las proteínas de las semillas y hojas de *Moringa oleífera* “Moringa”, fueron extraídas usando la siguiente técnica:

En un mortero se colocaron 40 gramos de semillas de moringa (y se trituraron) y en otro, 20 gramos de hojas trozadas. Ambas muestras se mantuvieron en un baño de hielo durante este proceso. A continuación, se agregó a cada mortero 100 mL de Buffer fosfato salino 50 mM/pH 7 y 10 mL de glicerina 25% v/v y se homogenizó con el pilón hasta disgregar los tejidos. Se filtró rápidamente en un beaker (evitando que aumente mucho la temperatura) y se colocó en un frasco ámbar cerrado a -20°C aproximadamente, hasta el momento de su uso.

### **3.3.3. Extracción de Papaína de cáscaras y semillas de *Carica papaya* “papaya”**

Antes de comenzar la extracción se preparó la materia prima, que fue obtenida en el mercado de Cajamarca, mediante el siguiente procedimiento:

- a) Se seleccionaron las cáscaras de los frutos de papayas inmaduras y las semillas de papaya de la fruta madura.
- b) Los frutos inmaduros fueron lavados y pelados raspando a una profundidad no mayor de 1,5 mm.
- c) Se extrajeron las semillas de los frutos maduros y posteriormente se limpiaron para eliminar restos de pulpa de fruta
- d) Tanto cáscaras como semillas fueron pesadas.
- e) La extracción de la papaína contenida en las cáscaras y semillas se realizó mediante el método de Extracción Convencional tipo Soxhlet según la técnica usada por Guerra V y Revetti V (2015).

Para esta investigación se utilizó, etanol de 96° como solvente de extracción y una relación de sustrato/solvente (expresadas en % p/v) de 1:15, según la técnica usada por Febres L y Guerra D (2013).

Se tomó una muestra de semillas y cáscaras deshidratadas en la estufa por 72 horas a una temperatura de 50 °C para eliminar la mayor cantidad de agua posible; se prepararon cartuchos de extracción con ayuda de papel filtro e hilo pabilo. Se realizó el montaje del equipo Soxhlet, colocando el cartucho con la muestra; para lograr la evaporación de solvente dentro del equipo se abrió el paso de agua. Finalmente, se encendió la placa calefactora y se inició el proceso de extracción. El proceso de extracción se llevó a cabo durante 4 horas continuas (o hasta producir 3 xifoneos como mínimo), contadas a partir de la primera gota de solvente condensado.

Pasadas las 4 horas se procedió al desmontaje del equipo. Después de la extracción, la materia vegetal (residuo) se llevó a cabo el secado en estufa por 72 horas, tiempo en el cual se garantiza la estabilidad del peso de la muestra, a 55°C para eliminar el solvente aún presente.

El extracto obtenido se envasó en frascos de vidrio color ámbar y sellados, para evitar la degradación y oxidación de los compuestos. Las muestras se dejaron enfriar en un recipiente para evitar que absorban humedad del medio ambiente, y posteriormente se refrigeraron inmediatamente, para evitar su degradación antes de su uso.

### **3.3.3 Hidrólisis enzimática de las proteínas extraídas de las semillas y hojas de *Moringa oleífera* “Moringa”**

En primer lugar, se prepararon soluciones madre de las enzimas a una concentración de 100 mg/mL para papaína y 10 mg/mL para pancreatina en buffer fosfato 50 mM, pH 7. La temperatura elegida para la reacción fue de 38,5 °C. La relación enzima - sustrato implementada para cada enzima será de 10 % v/v, es decir, 10 mL de solución madre de la enzima para 90 mL de cada extracto proteico. Estas mezclas fueron preparadas en matraces y se colocaron en baño maría.

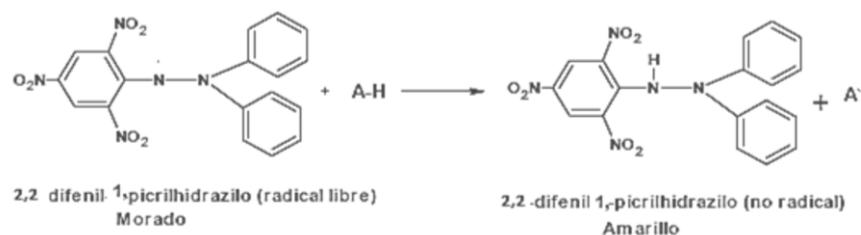
La reacción se llevó a cabo durante 6 horas, luego de las cuales se detuvo agregando 9 mL de ácido tricloroacético (TCA) 6,25% (p/v) a una proporción de 1 mL de cada muestra, y se dejó reaccionar durante 30 minutos a 4°C.

Finalmente, se centrifugaron las muestras a 5000 rpm por 10 minutos, y se retiraron los sobrenadantes. Estos hidrolizados proteicos fueron almacenados a 4 °C hasta su uso.

### 3.3.4. Determinación de la capacidad atrapadora de radical libres mediante el método DPPH (2,2-Difenil-1-picril-hidrazilo):

#### Fundamento:

La prueba de DPPH (2,2- Difenil-1-picril-hidrazilo) calcula la capacidad de un viable antioxidante para someter el radical DPPH. El compuesto 2,2- Difenil-1-picril-hidrazilo (DPPH) es un radical estable, de color azul-violeta y que impregna radiación a 517 nm, descolorar hacia amarillo pálido por firmeza con una sustancia antioxidante, por lo que su concentración se puede establecer por métodos espectrofotométricos y por discrepancia de absorbancias se puede lograr el porcentaje de captación de radicales libres<sup>39</sup>.



**Figura N° 8: Estructura del DPPH antes del después de la reacción con el antioxidante.**

**Fuente:** Alam M, Bristi N, Rafiquzzaman M. Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. Saudi Pharmaceutical Journal. 2012; 2 (1): 143 – 152<sup>39</sup>.

### 3.3.5. Preparación de la solución de DPPH:

Se pesaron 2 mg del reactivo DPPH al 99 % en una balanza analítica, a continuación, se añadió a un matraz de aforo de 100 mL y se llevó a volumen con metanol. El reactivo se preparó el día de su uso y se mantuvo aislado de la luz por medio de la defensa del matraz de aforo con papel aluminio.

### 3.3.6. Medición de la actividad atrapadora de radicales libres de los hidrolizados de *Moringa oleifera*.

40 µL de cada hidrolizado de *Moringa oleifera* “Moringa”, se adiciono a 960 µL de la solución metanólica de DPPH, esta solución se homogenizó con la ayuda de un vortex y se llevó a incubar por 30 minutos en baño maría a 37 °C. Transcurrido el tiempo se determinó la absorbancia a 517 nm en espectrofotómetro.

Se utilizó como blanco la solución metanólica de DPPH, como control negativo una mezcla de buffer fosfato y DPPH y para el control positivo se utilizó una mezcla de Trolox y DPPH.

Con los efectos de las absorbancias obtenidos, se calculó el porcentaje de radicales libres DPPH atrapados, usando la siguiente fórmula:

$$A = 100 * (1 - (\text{Abs muestra} / \text{Abs referencia}))$$

**Dónde: A = Porcentaje atrapador de radicales libres.**

### **3.4. Instrumentos, equipos, materiales y reactivos**

#### **3.4.3. Instrumentos**

- Ficha de Recolección de datos.
- “Programa Estadístico Software I.B.M. Statistical Package for the Social Sciences (IBM - SPSS) versión 22,0”.
- Programa Básico Estadístico Excel 2013.

#### **3.4.4. Equipos**

- Espectrofotómetro UV/VIS Spectronic 20.
- Estufa.
- Refrigeradora.
- Balanza analítica.
- Baño maría.
- Centrifuga.
- Vórtex.
- Equipo sholext

#### **3.4.5. Reactivos**

- DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) 99%.
- Trolox(R)-(+) -6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico) 98%.
- Solución de buffer fosfato pH 7,4.
- Etanol 96°.

- Metanol 99,8%.
- Agua destilada.
- Enzimas: Papaína, pancreatina.

#### **3.4.6. Materiales**

- Tubos de ensayo.
- Micropipeta automática rango variable 10 y 100  $\mu\text{L}$ .
- Micropipeta automática rango variable 100 y 1000  $\mu\text{L}$ .
- Vasos de precipitación con pico graduado de 50 y 100 mL.
- Fiola con tapa esmerilada de 25, 50, 100, 150, 250 y 500 mL.
- Matraz Erlenmeyer 100 y 1000 mL.
- Pipetas de vidrio de 1, 2, 5 y 10 mL.
- Cubeta de plástico 1,5 mL.
- Gradillas
- Espátulas.
- Cápsulas de porcelana.
- Morteros y pilones.
- Papel de aluminio.
- Frascos de color de ámbar con tapa rosca.

#### **3.5. Técnicas de análisis de datos**

Los datos obtenidos fueron procesados en el Programa Estadístico Statistical Package for the Social Sciences (IBM - SPSS) versión 22,0 y fueron expresados en los gráficos correspondientes, la técnica estadística

a emplear fue el análisis de varianza (ANOVA), que ayudó para comparar el promedio de los resultados de todos los grupos de estudio y una prueba post hoc (Tukey) que compara el promedio grupo por grupo. Se consideró el intervalo de confiabilidad del 95 % y como valores de p:

- $p \leq 0,05$  significativo
- $p < 0,01$  medianamente significativo
- $p < 0,001$  muy significativo
- $p > 0,05$  como no significativo

### **3.6. Aspectos éticos de la Investigación**

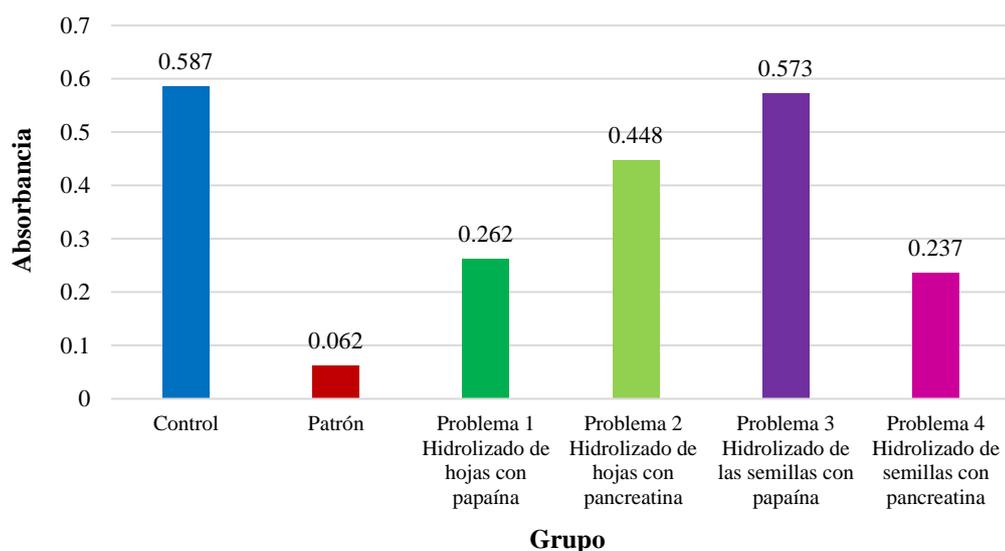
Los datos y resultados obtenidos en la presente investigación fueron reportados con honestidad, de esta manera se garantizó confiabilidad en el presente trabajo de investigación.

Asimismo, se tuvo en cuenta la adecuada protección del medio ambiente que aloja a la especie vegetal en estudio, que es base de la investigación y que podría producir valiosos conocimientos a futuro.

#### IV. RESULTADO

**Tabla N° 1: Absorbancia promedio obtenido de cada grupo experimental.**

<b>GRUPO</b>	<b>SISTEMA 1</b>	<b>SISTEMA 2</b>	<b>SISTEMA 3</b>	<b>PROMEDIO</b>
<b>BLANCO</b>	-	-	-	<b>0,610</b>
<b>CONTROL</b>	0,577	0,596	0,588	<b>0,587</b>
<b>PATRÓN</b>	0,059	0,064	0,062	<b>0,062</b>
<b>PROBLEMA 1</b> (Hidrolizado de hojas con papaína)	0,262	0,267	0,258	<b>0,262</b>
<b>PROBLEMA 2</b> (Hidrolizado de hojas con pancreatina)	0,449	0,405	0,489	<b>0,448</b>
<b>PROBLEMA 3</b> (Hidrolizado de las semillas con papaína)	0,572	0,55	0,596	<b>0,573</b>
<b>PROBLEMA 4</b> (Hidrolizado de semillas con pancreatina)	0,26	0,215	0,237	<b>0,237</b>



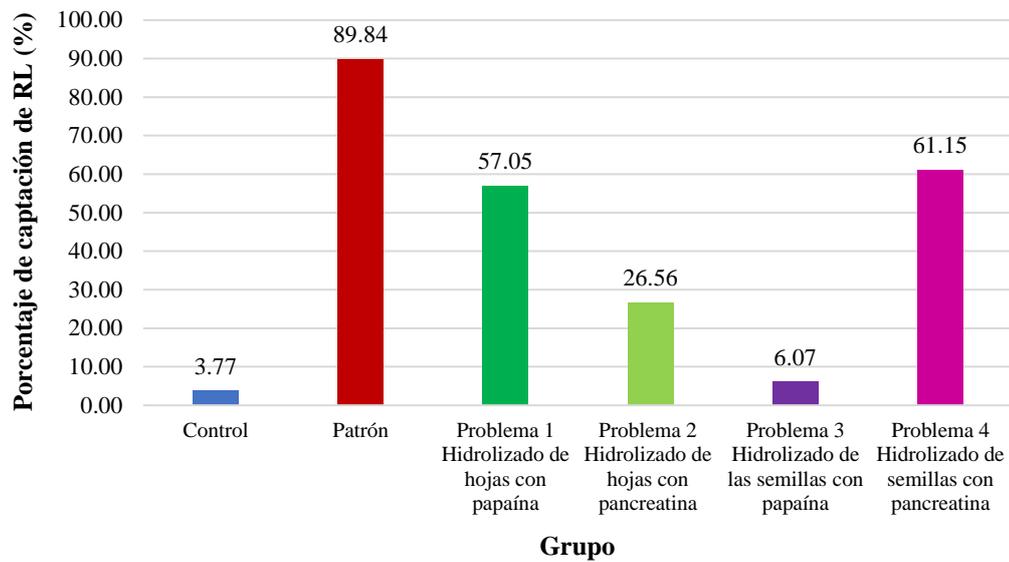
**Gráfico N° 1: Absorbancia promedio obtenido de cada grupo experimenta.**

**Interpretación:** En la tabla N° 1 y gráfico N° 1 se observa la absorbancia promedio para cada grupo experimental, donde el grupo control y el problema 3 son los que presentan mayores absorbancias; en cambio, el grupo patrón, problema 1 y problema 4 son los que tienen menores absorbancias.

**Tabla N° 2: Porcentaje de captación de radicales libres por cada grupo experimental.**

GRUPO	ABSORBANCIA PROMEDIO	CAPTACIÓN DE RADICALES LIBRES (%)
CONTROL	0,587	3,77
PATRÓN	0,062	89,84
PROBLEMA 1 (Hidrolizado de hojas con papaína)	0,262	57,05
PROBLEMA 2 (Hidrolizado de hojas con pancreatina)	0,448	26,56
PROBLEMA 3 (Hidrolizado de las semillas con papaína)	0,573	6,07
PROBLEMA 4	0,237	61,15

**(Hidrolizado de semillas con pancreatina)**



**Gráfico N° 2: Porcentaje de captación de radicales libres por cada grupo experimental.**

**Interpretación:** En la tabla N° 2 y gráfico N° 2 se observa el porcentaje de captación de radicales libres de los 6 grupos experimentales; donde los grupos problema 2 (26,56%) y el problema 3 (6,07%) son los de menor porcentaje, a comparación del grupo patrón (89,84%), problema 1 (57,05%) y problema 4 (61,15%) que son los que evidenciaron mayores porcentajes de captación de radicales libres.

**Tabla N° 3: Análisis estadístico ANOVA de los porcentajes de captación de radicales libres de los distintos grupos de experimentación.**

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	P
<b>Entre grupos</b>	17589,77	5	3517,95	2706118,34	<b>0,000</b>

**Interpretación:** En la tabla N°3, se muestra el resumen de la prueba ANOVA de todos los grupos estudiados, obtenemos como resultado para el valor de  $p = 0,000$ , el cual está en el rango  $p \leq 0,05$ , que indica que hay diferencia significativa entre grupos. Se utilizó un IC de 95%.

**Tabla N° 4: Prueba estadística post hoc (Tukey) para comparar los porcentajes de captación de radicales libres de los distintos grupos de experimentación.**

<b>Grupo (a)</b>	<b>Grupo (b)</b>	<b>Diferencia de medias (a-b)</b>	<b>Error estándar</b>	<b>p value</b>
<b>Control</b>	Patrón	-86,07000	0,02944	0,000
	Hidrolizado de hojas con papaína (HH/Pap)	-53,28000	0,02944	0,000
	Hidrolizado de hojas con pancreatina (HH/Panc)	-22,79000	0,02944	0,000
	Hidrolizado de semillas con papaína (HS/Pap)	-2,30000	0,02944	0,000
	Hidrolizado de semillas con pancreatina (HS/Panc)	-57,38000	0,02944	0,000
<b>Patrón</b>	Control	86,07000	0,02944	0,000
	Hidrolizado de hojas con papaína (HH/Pap)	32,79000	0,02944	0,000
	Hidrolizado de hojas con pancreatina (HH/Panc)	63,28000	0,02944	0,000
	Hidrolizado de semillas con papaína (HS/Pap)	83,77000	0,02944	0,000
	Hidrolizado de semillas con pancreatina (HS/Panc)	28,69000	0,02944	0,000
<b>Hidrolizado de hojas con papaína (HH/Pap)</b>	Control	53,28000	0,02944	0,000
	Patrón	-32,79000	0,02944	0,000
	Hidrolizado de hojas con pancreatina (HH/Panc)	30,49000	0,02944	0,000
	Hidrolizado de semillas con papaína (HS/Pap)	50,98000	0,02944	0,000
<b>Hidrolizado de semillas con pancreatina (HS/Panc)</b>	Hidrolizado de semillas con pancreatina (HS/Panc)	-4,10000	0,02944	0,000
	Control	22,79000	0,02944	0,000
	Patrón	-63,28000	0,02944	0,000
<b>Hidrolizado de hojas con pancreatina (HH/Panc)</b>	Hidrolizado de hojas con papaína (HH/Pap)	-30,49000	0,02944	0,000
	Hidrolizado de semillas con papaína (HS/Pap)	20,49000	0,02944	0,000
	Hidrolizado de semillas con pancreatina (HS/Panc)	-34,59000	0,02944	0,000
<b>Hidrolizado de semillas con papaína (HS/Pap)</b>	Control	2,30000	0,02944	0,000
	Patrón	-83,77000	0,02944	0,000
	Hidrolizado de hojas con papaína (HH/Pap)	-50,98000	0,02944	0,000
	Hidrolizado de hojas con pancreatina (HS/Panc)	-20,49000	0,02944	0,000
<b>Hidrolizado de semillas con pancreatina (HS/Panc)</b>	Hidrolizado de semillas con pancreatina (HS/Panc)	-55,08000	0,02944	0,000

<b>Hidrolizado</b>	Control	57,38000	0,02944	0,000
<b>de semillas</b>	Patrón	-28,69000	0,02944	0,000
<b>con</b>	Hidrolizado de hojas con papaína (HH/Pap)	4,10000	0,02944	0,000
<b>pancreatina</b>	Hidrolizado de hojas con pancreatina (HS/Panc)	34,59000	0,02944	0,000
<b>(HS/Panc)</b>	Hidrolizado de semillas con papaína (HS/Pap)	55,08000	0,02944	0,000

**Interpretación:** En la tabla N° 4, se muestra el resumen de la prueba de Tukey. Se obtuvo que el p valor para la comparación entre el grupo patrón y el problema 1 (hidrolizados de hojas con papaína) fue 0, 000, de la misma forma para los demás problemas. Indicando que existe diferencia significativa.

## V. DISCUSIÓN

Los efectos del estrés oxidativo en la población han tenido un notable aumento en los últimos años. Desde el período de los años sesenta, se ha originado un estallido en las áreas de exploración respectivas a los radicales libres y antioxidantes. Los radicales libres de oxígeno son responsables del desarrollo de muchas enfermedades e inducen directamente el daño celular al modificar proteínas, lípidos o ADN<sup>33</sup>.

Los esfuerzos han sido dirigidos en la investigación de potentes antioxidantes naturales. Asimismo, las hierbas, las especias e infusiones de té son importantes grupos en la que se basa la exploración de los antioxidantes naturales y el hombre los han manejado desde la antigüedad no sólo para aromatizar los alimentos, sino como antisépticos y por sus propiedades medicinales<sup>28</sup>.

Los antioxidantes sintéticos a menudo se han utilizado para proteger contra los radicales libres al eliminar el oxígeno reactivo o al terminar las reacciones en cadena de los radicales. Por esta razón, se utilizó los hidrolizados proteicos de semillas y hojas de *Moringa oleífera* “moringa” para para determinar el efecto antioxidante<sup>28</sup>.

En la tabla N° 1 y gráfico N° 1 se observa la absorbancia promedio para cada grupo experimental, donde el grupo control y el problema 3 son los que presentan mayores absorbancias; en cambio, el grupo patrón, problema 1 y problema 4 son los que tienen menores absorbancias.

Los radicales libres son moléculas que se derivan del oxígeno, están en continua formación en las células del organismo, y en pequeñas cantidades no producen efectos tóxicos. En situaciones normales la producción de radicales libres es constante, pero en una concentración determinada, y son neutralizados por las defensas antioxidantes propias del organismo, como enzimas (glutatión peroxidasa, superóxido dismutasa y catalasa)<sup>33</sup>.

Aunque el oxígeno es fundamental para la vida, también es el principal causante del envejecimiento y de numerosas enfermedades degenerativas (tales como: enfermedades cardiovasculares, neurológicas, cataratas, cáncer, etc.).

En la tabla N° 2 y gráfico N° 2 se observa el porcentaje de captación de radicales libres de los 6 grupos experimentales; donde los grupos problema 2 (26,56%) y el problema 3 (6,07%) son los de menor porcentaje, a comparación del grupo patrón (89,84%), problema 1 (57,05%) y problema 4 (61,15%) que son los que evidenciaron mayores porcentajes de captación de radicales libres. Estos resultados concuerdan con la investigación de **Mamani J y Tacora R (2017)**<sup>15</sup> en su estudio denominado “Aislado proteico y efecto antioxidante del extracto de la “moringa” *Moringa oleífera* “moringa” para la elaboración de

una bebida funcional”, obtuvo un contenido proteico de 71,20% en hojas y 88,47% en semillas, en las pruebas biológicas se logró los siguientes valores PER: HM = 1,28, SM=1,67, control 2,88 y DV: HM = 77,07, SM = 84,07 y control = 86,77. Estos resultados indican que la hidrólisis enzimática con alcalasa, pepsina y tripsina puede usarse para producir hidrolizados de proteínas de semillas de *M. oleifera* con potencial para ser utilizados como ingredientes para la formulación de alimentos funcionales y nutraceuticos<sup>15</sup>.

**Liang L et al (2019)<sup>19</sup>**, en su estudio denominado composiciones nutricionales de la semilla de *Moringa oleifera* india y actividad antioxidante de sus polipéptidos”, obtuvo que el contenido de proteína en la semilla de *Moringa oleifera* de la India era alta al 40,34%, conteniendo siete aminoácidos esenciales. Quiere decir que los aminoácidos tienen capacidad antioxidante<sup>19</sup>.

Una ventaja adicional es la capacidad de producir péptidos de productos vegetales fácilmente disponibles y subutilizados con pocos o ningún efecto secundario, pero con capacidades protectoras contra sustancias nocivas. Las proteínas alimentarias son ricas en varios péptidos bioactivos (BAP), que son capaces de ejercer funciones fisiológicas positivas más allá de sus funciones básicas de proporcionar beneficios nutricionales. Estos BAP son fragmentos de proteínas específicos, que están inactivos dentro del polipéptido original. Dependiendo de la secuencia de aminoácidos primaria de la proteína original y la especificidad de la enzima hidrolizante empleada, pueden proporcionar un

grado variado de funciones fisiológicas tales como antihipertensivos, antimicrobianos, opioides, inmunomoduladores y actividades antioxidantes<sup>19</sup>.

Además, menciona que, la semilla de moringa posee un valioso contenido de aminoácidos como metionina, cisteína, y de antioxidantes como las vitaminas C y E, y  $\beta$ -caroteno. Además, contiene 7 aminoácidos hidrofóbicos; alanina, valina, metionina, isoleucina, leucina, tirosina y fenilalanina. La actividad antioxidante está estrechamente ligada con la composición de estos aminoácidos, debido a que aumentan la solubilidad en la interfaz agua – lípido e interactuar mejor con los radicales libres. El tamaño molecular juega un papel importante en la actividad antioxidante; los péptidos que tienen dos a diez aminoácidos muestran actividad de eliminación de radicales libres y pueden inhibir la peroxidación lipídica<sup>19</sup>.

Para esta investigación, la actividad antioxidante se determinó a través del método de DPPH (2,2 – Difenil – 1 – picril - hidracilo) que calcula la capacidad de un viable antioxidante para someter el radical DPPH. En la Tabla N° 2 y Gráfico N° 2 se evidencia el problema 1 (hidrolizados de hojas con papaína), muestra una actividad antioxidante de 57,05%. Por otro lado, en el problema 4 (hidrolizados de semillas con pancreatina) muestra una capacidad de 61,15%, observándose que los hidrolizados de semillas con pancreatina muestra una actividad antioxidante mayor.

Por lo antes mencionado, se le podría atribuir la propiedad antioxidante de los hidrolizados al contenido de aminoácidos como la cisteína y metionina; el

posible mecanismo de acción podría estar fundamentada en que la enzima glutatión peroxidasa reducida (R-S-H), dona los electrones al radical libre para estabilizarlo, produciendo dos moléculas de agua y oxígeno, las cuales son inocuas para el organismo, de esta forma queda la enzima glutatión oxidada (R-S-S-R), y es aquí en dónde la cisteína y la metionina podrían intervenir, gracias a la presencia del grupo Tiol en ambos, compiten por el azufre de la glutatión oxidada y rompen el enlace disulfuro de esta, con ello se reduce a la glutatión para iniciar nuevamente su actividad antioxidante y estabilizar a los radicales<sup>19</sup>.

Las semillas contienen gran cantidad de proteínas globulares, que están constituidos por prolaminas, quienes poseen entre 3 - 4 restos de cisteína y 6 a 8 grupos disulfuro, la cisteína, además, se caracteriza por adherirse a otra cisteína, formando cistina, capaz de formar o simular la actividad de la glutatión peroxidasa<sup>19</sup>.

Por otro lado, **Leung R (2018)**<sup>51</sup> menciona que los péptidos que contienen tirosina pueden actuar principalmente a través de un mecanismo de la transferencia de átomos de hidrógeno o hemolíticos (HAT), mientras que los péptidos de cisteína, triptófano e histidina actúan principalmente a través de mecanismos transferencia de electrones individuales (SET), mediante esos dos mecanismos los aminoácidos desactivan radicales libres<sup>51</sup>.

Cabe aclarar que la propiedad antioxidante de *Moringa oleifera* también se podría explicar por la presencia de fitoconstituyentes con capacidad antioxidante como los flavonoides, entre los cuales tenemos a la quercetina y kaempferol, que juegan un significativo papel en el estrés oxidativo.

Finalmente, y por todo lo expuesto en la presente investigación se concluye en que los hidrolizados proteicos de las semillas y hojas de *Moringa oleifera* “Moringa” tienen actividad antioxidante significativa.

## VI. CONCLUSIONES

- Se determinó que los hidrolizados proteicos de las semillas y hojas de *Moringa oleífera* “Moringa” tienen actividad antioxidante significativa, debido a su contenido de secuencias de péptidos biológicamente activos que pueden aprovecharse para la formulación de nuevos aditivos nutricionales y farmacológicos.
- Se realizó la extracción de proteínas de semillas y hojas de *Moringa oleífera* “Moringa”, es rica en aminoácidos esenciales capaces de eliminar radicales libres según su tamaño molecular y solubilidad para detoxificar y prevenir el daño celular.
- Se realizó la hidrólisis enzimática de proteínas de semillas y hojas de *Moringa oleífera* “Moringa” con enzimas naturales como papaína y pancreatina, usando el método DPPH, dando como resultado una actividad antioxidante significativa en ambos hidrolizados proteicos.
- La capacidad atrapadora de radicales libres mediante el método de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo), que alcanzó los hidrolizados proteicos de las hojas de *Moringa oleífera* “Moringa”, fue de 57,049; y de las semillas de *Moringa oleífera* fue de una concentración de 61,148%, demostrando actividad antioxidante significativa.

## VII. RECOMENDACIONES

- Se recomienda realizar un estudio de todas las partes de la planta, con la finalidad de encontrar donde existe la mayor concentración de metabolitos de interés.
- Realizar un estudio de toxicidad de la planta para identificar la dosis toxica.
- Emplear otros métodos de actividad antioxidante.
- Tener en cuenta ciertas condiciones como son volúmenes, calibración de equipos, tiempos de medición y la presencia de luz para la obtención de resultados más preciso

## VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin M, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol.* 2007; 39 (1): 44–84. [Consultado el 2 de octubre del 2019]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1357272506002196?via%3Dihub>
2. Benzie I, Szeto T. 1999. Total, antioxidant capacity of teas by the ferric reducing/ antioxidant power assay. *J Agric Food Chem.* (47): 633-636. [Consultado el 2 de octubre del 2019]. Disponible en: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jf9807768>
3. Gow-Chin Y, Hui-Yin C. Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their antimutagenicity. *J Agric Food Chem.* (43): 27-32. [Consultado el 2 de octubre del 2019]. Disponible en: [https://pubs.acs.org > doi > abs](https://pubs.acs.org/doi/abs)
4. Proestos C, Chorianopoulos N, Nychas G, Komaitis M. RP- HPLC analysis of the phenolic compounds of plant extracts. Investigation of their antioxidant capacity and antimicrobial activity. *J Agric Food Chem.* (53): 1190-1195.
5. Sies H. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Exp Physiol* 82 (2): 291-5.

6. Stadtman E. "Protein oxidation and aging". *Science* 257 (5074): 1220–4.
7. Valko M, Izakovic M, Mazur M, Rhodes C, Telser J. Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence". *Mol Cell Biochem* 266 (1–2): 37–56.
8. Adamson, G, Lazarus, S, Mitchell A, Jacobs P, Kremers B, Hammerstone J, Rucker R, Ritter K, Schmitz H. HPLC method for the Quantification of procyanidins in cocoa and Chocolate samples and correlation to total antioxidant capacity. *J Agric Food Chem.* (47): 4184 - 4188.
9. Akiba S, Matsugo S, Packer L, Konishi T. "Assay of protein-bound lipoic acid in tissues by a new enzymatic method". *Anal Biochem.* 258 (2): 299 – 304. PMID 9570844.
10. Lenaz G. "The mitochondrial production of reactive oxygen species: mechanisms and implications in human pathology". *IUBMB Life* . 52 (3–5): 159-64.
11. Krieger-Liszkay A. "Singlet oxygen production in photosynthesis". *J Exp Bot.* 56 (411): 337-46.
12. Matill H. Antioxidants. *Annu Rev Biochem* 16: 177–192.

13. Yogalakshmi B, Viswanathan P, Anuradha C. Investigation of antioxidant, anti-inflammatory and DNA-protective properties of eugenol in thioacetamide-induced liver injury in rats. *Toxicology*. 2010, 9;268(3):204-12.
14. Cubiña M. “Determinación de la actividad antioxidante de los extractos clorofórmico, etanólico y acuoso del arrayán, calaguala, canayuyo, y tipo” [en línea]. Tesis para obtener el título de Bioquímico Farmacéutico; Facultad de Ciencias de la salud, Carrera de Farmacia y Bioquímica. Riobamba – Ecuador, 2012. Consultado el 2 de octubre del 2019. Disponible en: [https://yguamoringa.com > wp-content > uploads > 2017/04 > Tesis-Moringa](https://yguamoringa.com/wp-content/uploads/2017/04/Tesis-Moringa)
15. Mamani J, Tacora R. Aislado proteico y efecto antioxidante del extracto de la “moringa” *Moringa oleífera* para la elaboración de una bebida funcional [en línea]. Para obtener el título de Ingeniero Agroindustrial, Facultad de Ciencias Agrarias. Puno – Perú, 2017. Consultado el 2 de octubre del 2019. Disponible en: [repositorio.unap.edu.pe > bitstream > handle > UNAP > Ccasa\\_Mamani\\_Ju...](repositorio.unap.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/Ccasa_Mamani_Ju...)
16. Taiwo A, Fabemi T, Enujiugha V, Alashi A, Aluko R. Composición de aminoácidos y propiedades antioxidantes del aislado de proteína de semilla de *Moringa oleífera* “Moringa” e hidrolizados enzimáticos [en línea]. ScienceDirect Heliyon 4 (10), (2018) e00877. doi: 10.1016/j.heliyon.2018.e00877. Consultado el 2 de octubre del 2019. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2405844018327464>

17. Olusola A, Ekun O, David T, Olorunfemi O, Oyewale M. “hidrolizados de proteína de semilla de *Moringa oleifera* “Moringa”: Cinética de la inhibición de la  $\alpha$ -amilasa y potenciales antioxidantes” [en línea]. Res J Med Med Sci. 2018. Consultado el 2 de octubre del 2019. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/330310825\\_Moringa\\_oleifera\\_Seed\\_Protein\\_Hydrolysates\\_Kinetics\\_of\\_aamylase\\_Inhibition\\_and\\_Antioxidant\\_Potentials](https://www.researchgate.net/publication/330310825_Moringa_oleifera_Seed_Protein_Hydrolysates_Kinetics_of_aamylase_Inhibition_and_Antioxidant_Potentials)
18. Cacelín J. 2016. *Moringa oleifera* un potencial antioxidante y descontaminante [en línea]. Consultado el 2 de octubre del 2019. Disponible en: <http://www.cienciamx.com/index.php/tecnologia/biotecnologia/9990-moringa-oleifera-un-potencial-antioxidante-y-descontaminante>.
19. Liang L, Wang C, Li S, Chu X, Sun K. Composiciones nutricionales de la semilla de *Moringa oleifera* india y actividad antioxidante de sus polipéptidos” [en línea]. *Food Sci Nutr*. 2019, mayo; 7 (5): 1754–1760. [Consultado el 2 de octubre del 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6526633/>
20. Viatela V. 2019. La *Moringa oleifera* [en línea]. Consultado el 3 de octubre del 2019. Disponible en: <http://irinafigueroa.blogspot.com/>
21. Martínez M, Di Sapio O, Cargo J, Scandizzi A, Taleb L, Campagna M, et al. Principios de Botánica Sistemática [en línea]. Argentina: Universidad Nacional

- de Rosario, Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas. 2011: 11.  
[Citado el 03 de octubre del 2019]. Disponible en:  
<http://www.fbioyf.unr.edu.ar/textos/botanica/botanicasist.pdf>
22. Blanco F. *Moringa oleifera* [en línea]. Wikipedia. [citado el 3 de octubre del 2019]. Disponible en: [https://ast.wikipedia.org/wiki/Moringa\\_oleifera](https://ast.wikipedia.org/wiki/Moringa_oleifera)
23. Pasto D, Tamba E. Determinación *in vitro* de la digestibilidad gástrica y duodenal en concentrados proteicos de *Moringa oleifera* [en línea]. Para obtener el título de Licenciadas en Enfermería. Universidad Estatal de Bolívar, Facultad de Ciencias de Salud y del Ser Humano. Guaranda – Ecuador; 2019. [citado el 3 de octubre del 2019]. Disponible en: <http://dspace.ueb.edu.ec/bitstream/123456789/2987/1/MORINGA.pdf>
24. Sausedo S, Torres J, Castro C, Rojas R, Sanchez E, Ngangyo M, Martínez G. Moringa plants: Bioactive compounds and promising applications in food products. *PubMed*. 2018;1-58.
25. Cuellar M, Ocampo L, Vega R, Gallegos M, Gonzales E, Loarca G. Physicochemical and nutraceutical properties of moringa (*Moringa oleifera*) leaves and their effects in an *in vivo* AOM/DSS-induced colorectal carcinogenesis model. *Food Research International*. 2018: 159-168.
26. Martín C, Martín G, García A, Fernández T, Hernández E, Puls J. Potenciales aplicaciones de *Moringa oleifera*. Una revisión crítica. [en línea]. Pastos y

- Forrajes. 2013; 36(2). [Consultado el 03 de octubre del 2019]. Disponible en:  
[http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-03942013000200001](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03942013000200001)
27. Olson F. Moringa: un árbol multiusos [en línea]. Revista Mexicana de Biodiversidad. 2011; 82: 1071-1082. [Consultado el 03 de octubre del 2019]. Disponible en:  
[http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1870-34532011000400001](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-34532011000400001)
28. Sohaimy, S, Hamad G, Mohamed S, Amar M, Al-Hindi R. Biochemical and functional properties of Moringa oleifera leaves and their potential as a functional food [en línea]. [consultado el 03 de octubre del 2019]. Disponible en: <https://rgproteam.wordpress.com/composicion-de-la-moringa-oleifera/>
29. Singh N. Oxidative DNA damage protective activity, antioxidant and anti-quorum sensing potentials of *Moringa oleifera*. *Food Chem Toxicol*. 2009. 47:1109.
30. Verma R, Vijayakumar M, Mathela C, Rao C. In vitro and in vivo antioxidant properties of different fractions of *Moringa oleifera* leaves. *Food Chem Toxicol*. 2009. 47:2196.

31. Iqbal S, Bhanger M. Effect of season and production location on antioxidant activity of *M. oleifera* leaves grown in Pakistan. *J Food Comp. Analysis*. 2006. 19:544.
32. Karthivashan G, Kura A, Aruselvan P, Isa N, Fakurazi S. El efecto modulador de Moringa extracto de hoja de oleifera en endógeno sistemas antioxidantes e inflamatorios marcadores en un inducido por acetaminofeno modelo de ratones nefrotóxicos [en línea]. 2016. *PeerJ*, DOI 10.7717/peerj.2127. [consultado el 03 de octubre del 2019]. Disponible en: <https://peerj.com/articles/2127/>
33. Cruz J, Licea M, Hernández P, Abraham E, Quesada M. Estrés oxidativo y Diabetes Mellitus. *Rev Mex Patol Clin*. [Revista en internet]. 2011; 58 (1): 4 - 15. [Citado el 3 de octubre 2019]. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/patol/pt-2011/pt111b.pdf>
34. Díaz D. Hiperglicemia y estrés oxidativo en el paciente diabético. *Rev Cubana Invest Bioméd*. [Revista en internet]. 2006; 25 (3): 1 - 8. [Citado el 3 de octubre 2019]. Disponible en: [www.sid.cu/galerias/pdf/sitios/diabetes/hiperglucemia\\_y\\_estres\\_oxidativo\\_en\\_el\\_paciente\\_diabetico.pdf](http://www.sid.cu/galerias/pdf/sitios/diabetes/hiperglucemia_y_estres_oxidativo_en_el_paciente_diabetico.pdf)
35. Stork H. *Otholobium pubescens*. Muestras Neotropicales de Herbario. [En Línea]. Chicago, USA: Field Museum Neotropical Herbarium Specimens. 1987. [Publicado en 2009; [Citado el 3 de octubre 2019]. Disponible en:

<http://fm1.fieldmuseum.org/vrrc/index.php?language=esp&page=view&id=22700&PHPSESSID=3930497e3b06018e9fc8c72968197710>

36. Ríos M. El estrés oxidativo y el destino celular. Revista Química Viva. [Revista en internet]. 2003; 2 (1): 1 - 4. [Citado el 3 de octubre 2019]. Disponible en: <http://www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar/Actualizaciones/estres%20oxidativo.htm>
37. Capacidad antioxidante (AOC) [en línea]. [consultado el 3 de octubre del 2019]. Disponible en: <http://radio.cuci.udg.mx/bch/EN/Antioxid.html>.
38. Pedroche J, Yust M, Megías C, Lqari H, Girón-Calle J, Alaiz M, Vioque J. Binding to chickpea (*Cicer arietinum* L.) p2 albumin enhances hemindependent oxidative reactions. Journal of Food Biochemistry. 2006; 30(4): 444-452.
39. Alam M, Bristi N, Rafiquzzaman M. Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. Saudi Pharmaceutical Journal. 2012; 2 (1): 143 - 152.
40. Singleton V, Rossi J. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. Am J Enol Viticult. 1965; 16 (3): 144 - 158.
41. Antiproliferativo [en línea]. [consultado el 3 de octubre del 2019]. Disponible en: <https://es.mimi.hu/medicina/antiproliferativo.html>

42. Ramírez J, García C, Vizcaíno J, Cárdenas J, Gutiérrez F, Mariel H, Villagrán R. Revista De Divulgación Científica y Tecnológica De La Universidad Veracruzana. [Revista en internet]. 2012. [consultado el 3 de octubre del 2019]. Disponible en: <https://www.uv.mx/cienciahombre/revistae/vol25num2/articulos/antioxidantes/>
43. Guija E, Inocente M, Ponce J, Zarzosa E. Evaluación de la técnica 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH) para determinar capacidad antioxidante. [en línea]. Horiz Med 2015; 57 – 60. [Consultado el 03 de octubre del 2019]. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/hm/v15n1/a08v15n1.pdf>
44. Enzyme. National Human Genome Research Institute. [en línea]. [consultado el 3 de octubre del 2019]. Disponible en: <https://www.genome.gov/es/genetics-glossary/Enzima>
45. Carrillo R, Díaz J, Peña C, Flores O, Maldonado R, Zepeda A, Pérez A, Ortiz A. Especies reactivas de oxígeno, sepsis y teoría metabólica del choque séptico [en línea]. Revista de la Facultad de Medicina de la UNAM; Vol. 59, N°1. 2016; 6 – 18. [Consultado el 3 de octubre del 2019]. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/facmed/un-2016/un161b.pdf>
46. Benítez R, Ibarz A, Pagan J. Protein hydrolysates: processes and applications. Acta Bioquím Clín Latinoam 2008; 42 (2): 227-36. [Consultado el 3 de octubre

- del 2019]. Disponible en:  
[https://www.researchgate.net/publication/262552066\\_Hidrolizados\\_de\\_proteina\\_Procesos\\_y\\_aplicaciones](https://www.researchgate.net/publication/262552066_Hidrolizados_de_proteina_Procesos_y_aplicaciones)
47. Luque M. Estructura y Propiedades de las Proteínas. [Consultado el 10 de octubre del 2019]. Disponible en:  
[https://www.uv.es/tunon/pdf\\_doc/proteinas\\_09.pdf](https://www.uv.es/tunon/pdf_doc/proteinas_09.pdf)
48. Herrera F, Betancur D, Segura M. Compuestos bioactivos de la dieta. Nutr Hosp. 2014; 29(1):10-20. [Consultado el 5 de octubre del 2019]. Disponible en: <http://scielo.isciii.es/pdf/nh/v29n1/03revision1.pdf>
49. Glucosinolatos (Tioglicósidos). [en línea]. [consultado el 3 de octubre del 2019]. Disponible en:  
[http://www.biorom.uma.es/contenido/UPV\\_EHU/hc/sugar33c6.htm](http://www.biorom.uma.es/contenido/UPV_EHU/hc/sugar33c6.htm)
50. Panícula. [en línea]. [consultado el 3 de octubre del 2019]. Disponible en:  
<https://es.linkfang.org/wiki/Pan%C3%ADcula>
51. Leung R. Structure-function relationships of hydroxyl radical scavenging and chromium-VI reducing cysteine-tripeptides derived from rye secalin. Food Chem.. 2018; 254. 165-169.

# **ANEXOS**

## GALERIA FOTOGRÁFICA



Fotografía N° 1. Lavado y selección de *Carica papaya* “Papaya”.



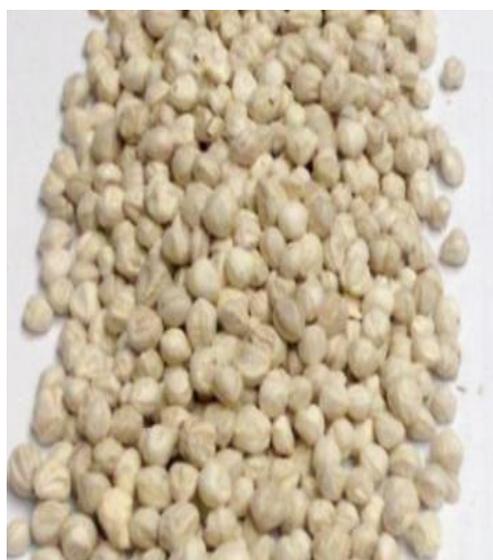
Fotografía N°2. Obtención de la cascara de *Carica papaya* “papaya” para obtención de Papaína.



Fotografía N° 3. Obtención de semillas de papaya para extracción de papaína.



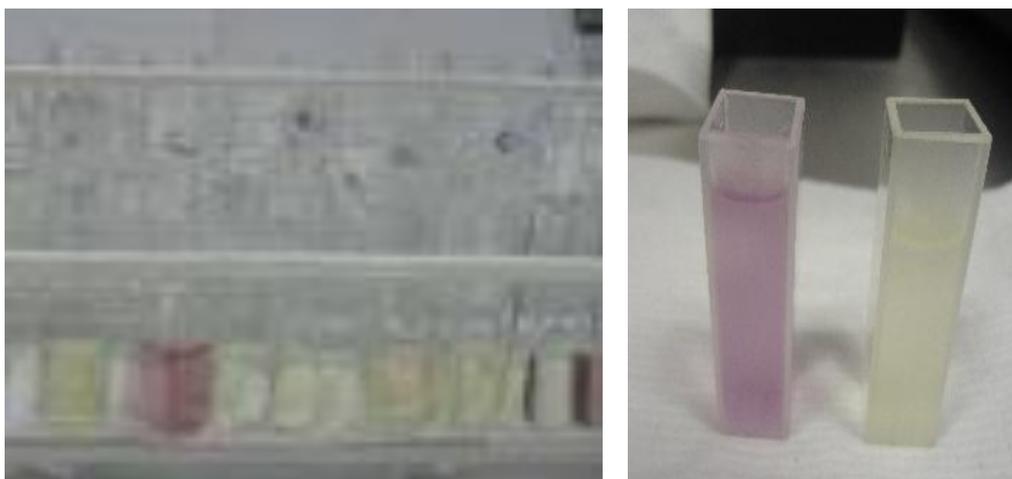
Fotografía N° 4. Filtración y obtención de las enzimas papaína y pancreatina.



Fotografía N° 5. Semillas y hojas de Moringa oleífera “Moringa.”



Fotografía N° 6. Obtención de extractos proteicos de las hojas de *Moringa oleifera* “Moringa.



Fotografía N° 7. Medición de la actividad atrapadora de radicales libres de los hidrolizados de *Moringa oleifera* “Moringa.