



Universidad de San Carlos de Guatemala
Facultad de Ingeniería
Escuela de Ingeniería Química

**EVALUACIÓN DE RENDIMIENTO DE EXTRACCIÓN Y CARACTERIZACIÓN
FITOQUÍMICA DE LA FRACCIÓN EXTRAÍBLE DE SEMILLA DE
MORINGA (*Moringa oleífera* Lam.), A NIVEL LABORATORIO**

Kandy Paola Gómez Gómez

Asesorado por el Ing. César Alfonso García Guerra
Coasesorado por la Inga. Cinthya Patricia Ortiz Quiroa

Guatemala, junio de 2013

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA



FACULTAD DE INGENIERÍA

**EVALUACIÓN DE RENDIMIENTO DE EXTRACCIÓN Y CARACTERIZACIÓN
FITOQUÍMICA DE LA FRACCIÓN EXTRAÍBLE DE SEMILLA DE
MORINGA (*Moringa oleífera* Lam.), A NIVEL LABORATORIO**

TRABAJO DE GRADUACIÓN

PRESENTADO A LA JUNTA DIRECTIVA DE LA
FACULTAD DE INGENIERÍA

POR

KANDY PAOLA GÓMEZ GÓMEZ

ASESORADO POR EL ING. CÉSAR ALFONSO GARCÍA GUERRA
COASESORADO POR LA INGA. CINTHYA PATRICIA ORTIZ QUIROA

AL CONFERÍRSELE EL TÍTULO DE

INGENIERO QUÍMICO

GUATEMALA, JUNIO DE 2013

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE INGENIERÍA



NÓMINA DE JUNTA DIRECTIVA

DECANO	Ing. Murphy Olympto Paiz Recinos
VOCAL I	Ing. Alfredo Enrique Beber Aceituno
VOCAL II	Ing. Pedro Antonio Aguilar Polanco
VOCAL III	Inga. Elvia Miriam Ruballos Samayoa
VOCAL IV	Br. Walter Rafael Véliz Muñoz
VOCAL V	Br. Sergio Alejandro Donis Soto
SECRETARIO	Ing. Hugo Humberto Rivera Pérez

TRIBUNAL QUE PRACTICÓ EL EXAMEN GENERAL PRIVADO

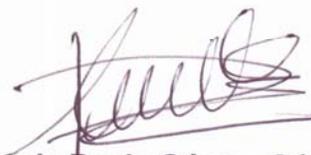
DECANO	Ing. Murphy Olympto Paiz Recinos
EXAMINADOR	Ing. Otto Raúl de León de Paz
EXAMINADOR	Ing. Victor Manuel Monzón Valdez
EXAMINADOR	Ing. Victor Herber de León Morales
SECRETARIO	Ing. Hugo Humberto Rivera Pérez

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

En cumplimiento con los preceptos que establece la ley de la Universidad de San Carlos de Guatemala, presento a su consideración mi trabajo de graduación titulado:

**EVALUACIÓN DE RENDIMIENTO DE EXTRACCIÓN Y CARACTERIZACIÓN
FITOQUÍMICA DE LA FRACCIÓN EXTRAÍBLE DE SEMILLA DE
MORINGA (*Moringa oleífera Lam.*), A NIVEL LABORATORIO**

Tema que me fuera asignado por la Dirección de la Escuela de Ingeniería Química, con fecha 29 de mayo de 2012.



Kandy Paola Gómez Gómez



Guatemala, 06 de mayo de 2013

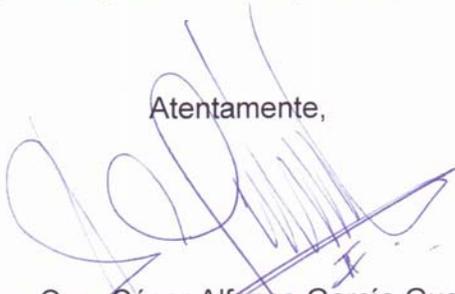
Ingeniero
Victor Manuel Monzón Valdez
Director Escuela de Ingeniería Química
Facultad de Ingeniería
Universidad de San Carlos de Guatemala
Presente.

Respetable Ingeniero Monzón:

Atentamente me dirijo a usted para informarle que he revisado el informe final del Trabajo de Graduación titulado: **“EVALUACIÓN DE RENDIMIENTO DE EXTRACCIÓN Y CARACTERIZACIÓN FITOQUÍMICA DE LA FRACCIÓN EXTRAÍBLE DE SEMILLA DE MORINGA (*Moringa oleífera* Lam.) A NIVEL LABORATORIO”**, desarrollado por la estudiante de Ingeniería Química: Kandy Paola Gómez Gómez, quien se identifica con número de carné 200611094.

Luego de haber realizado la revisión del informe final y de realizar las correcciones pertinentes, considero que cumple con los requisitos para su aprobación.

Atentamente,


Ing. Qco. César Alfonso García Guerra
Colegiado No. 145
ASESOR
Jefe Sección Química Industrial
Centro de Investigaciones de Ingeniería/CII
Universidad de San Carlos de Guatemala





Guatemala, 27 de mayo de 2013
Ref. EI.Q.TG-IF.031.2013

Ingeniero
Víctor Manuel Monzón Valdez
DIRECTOR
Escuela Ingeniería Química
Facultad de Ingeniería

Estimado Ingeniero Monzón:

Como consta en el Acta TG-134-2010-IF le informo que reunidos los Miembros de la Terna nombrada por la Escuela de Ingeniería Química, se practicó la revisión del:

INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADUACIÓN

Solicitado por la estudiante universitaria: **Kandy Paola Gómez Gómez.**

Identificada con número de carné: **2006-11094.**

Previo a optar al título de **INGENIERA QUÍMICA.**

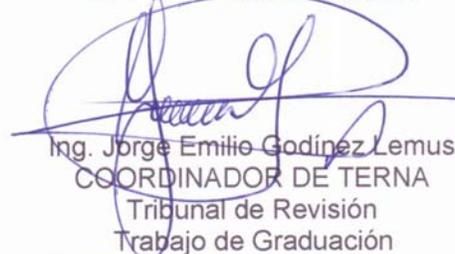
Siguiendo los procedimientos de revisión interna de la Escuela de Ingeniería Química, los Miembros de la Terna han procedido a **APROBARLO** con el siguiente título:

EVALUACIÓN DE RENDIMIENTO DE EXTRACCIÓN Y CARACTERIZACIÓN FITOQUÍMICA DE LA FRACCIÓN EXTRAÍBLE DE SEMILLA DE MORINGA (*Moringa oleífera* Lam.), A NIVEL LABORATORIO

El Trabajo de Graduación ha sido asesorado por el Ingeniero Químico: **César Alfonso García Guerra.**

Habiendo encontrado el referido informe final del trabajo de graduación **SATISFACTORIO**, se autoriza al estudiante, proceder con los trámites requeridos de acuerdo a las normas y procedimientos establecidos por la Facultad para su autorización e impresión.

"ID Y ENSEÑAR A TODOS"


Ing. Jorge Emilio Godínez Lemus
COORDINADOR DE TERNA
Tribunal de Revisión
Trabajo de Graduación

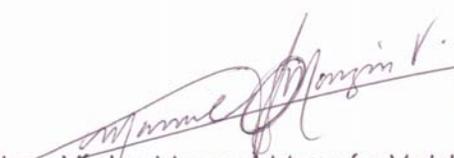


C.c.: archivo





El Director de la Escuela de Ingeniería Química de la Universidad de San Carlos de Guatemala, luego de conocer el dictamen del Asesor y de los Miembros del Tribunal nombrado por la Escuela de Ingeniería Química para revisar el Informe del Trabajo de Graduación de la estudiante, **KANDY PAOLA GÓMEZ GÓMEZ** titulado: **"EVALUACIÓN DE RENDIMIENTO DE EXTRACCIÓN Y CARACTERIZACIÓN FITOQUÍMICA DE LA FRACCIÓN EXTRAÍBLE DE SEMILLA DE MORINGA (*Moringa oleífera* Lam.), A NIVEL LABORATORIO"**. Procede a la autorización del mismo, ya que reúne el rigor, la secuencia, la pertinencia y la coherencia metodológica requerida.


Ing. Víctor Manuel Monzón Valdez
DIRECTOR
Escuela de Ingeniería Química



Guatemala, junio 2013

Cc: Archivo
VMMV/ale



El Decano de la Facultad de Ingeniería de la Universidad de San Carlos de Guatemala, luego de conocer la aprobación por parte del Director de la Escuela de Ingeniería Química, al Trabajo de Graduación titulado: **EVALUACIÓN DE RENDIMIENTO DE EXTRACCIÓN Y CARACTERIZACIÓN FITOQUÍMICA DE LA FRACCIÓN EXTRAÍBLE DE SEMILLA DE MORINGA (*Moringa oleífera Lam.*), A NIVEL LABORATORIO**, presentado por la estudiante universitaria **Kandy Paola Gómez Gómez**, autoriza la impresión del mismo.

IMPRÍMASE:


Ing. Murphy Olympo Paiz Recinos
Decano

Guatemala, 26 de junio de 2013

/gdech

AGRADECIMIENTOS A:

Dios	Por ser la fuente de sabiduría y conocimiento. Por darme la fuerza y ser mi sostén.
La Universidad de San Carlos de Guatemala	Por ser mi alma máter y formarme como profesional.
Mis padres	Edwin Gómez y Candy de Gómez, por sus oraciones y sabia instrucción a lo largo de toda mi vida.
Mis hermanos	Juan Carlos y Jonathan Gómez, por mostrarme su apoyo y cariño.
Mi novio	Allan G. Martin L., por su amor, comprensión, paciencia y palabras de aliento.
Mis amigos de la Facultad de Ingeniería	Con quienes recorrí la mayor parte de la carrera: Gerson Villatoro, Wendy Serrano, Ana Lucrecia González, Mónica Ávila y Esvin Rivas, gracias por ese bonito compañerismo y gran apoyo demostrado durante tanto tiempo. A mis compañeras de trabajo de graduación, Shilonen Camposeco y Rossmery Guzmán, por la gran amistad. A todos aquellos compañeros con quienes pude compartir en algún momento.

**Mis hermanos de Iglesia
El Mesías**

Por ese cariño tan especial que me demuestran.

Ingenieros

César Alfonso García Guerra y Cinthya Patricia Ortiz Quiroa, por el tiempo dedicado en asesorar mi trabajo y por todo el conocimiento transmitido.

**La empresa Magna
Profesional**

Gracias a la Lic. Patricia Ramírez y de forma especial al Ing. Julio César Ortega, por facilitarme la obtención de la materia prima para la realización de este trabajo.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES.....	VII
LISTA DE SÍMBOLOS	XIII
GLOSARIO	XV
RESUMEN.....	XVII
OBJETIVOS/HIPÓTESIS.....	XIX
INTRODUCCIÓN	XXI
1. ANTECEDENTES	1
2. MARCO TEÓRICO.....	5
2.1. <i>Moringa oleifera</i> Lam.....	5
2.1.1. Descripción botánica	5
2.1.1.1. Árbol	5
2.1.1.2. Hojas	6
2.1.1.3. Flores.....	6
2.1.1.4. Fruto y semillas.....	6
2.1.2. Clasificación y origen.....	7
2.1.3. Distribución.....	8
2.1.4. Cultivo.....	9
2.1.4.1. Condiciones agroecológicas	9
2.1.4.1.1. Clima	9
2.1.4.1.2. Suelos y topografía.....	10
2.1.5. Usos	10
2.1.5.1. Usos medicinales atribuidos	11
2.1.5.2. Otros usos populares.....	12

2.1.6.	Valor nutricional.....	13
2.1.7.	Composición química	15
2.1.8.	Actividad biológica.....	17
2.1.9.	Indicaciones terapéuticas	18
2.1.10.	Farmacognosia.....	19
2.1.11.	Toxicología	20
2.2.	Caracterización de las fracciones extraíbles	20
2.2.1.	Tamizaje fitoquímico	20
2.2.1.1.	Aceites esenciales.....	21
2.2.1.2.	Ácidos grasos	21
2.2.1.3.	Agliconas de flavonoides.....	22
2.2.1.4.	Alcaloides	22
2.2.1.5.	Amidas	22
2.2.1.6.	Antocianinas.....	23
2.2.1.7.	Antraquinonas	23
2.2.1.8.	Carotenoides	23
2.2.1.9.	Compuestos reductores	24
2.2.1.10.	Cumarinas	24
2.2.1.11.	Esteroles	24
2.2.1.12.	Flavonoides	24
2.2.1.13.	Glucósidos cianogénicos.....	25
2.2.1.14.	Mucílagos	25
2.2.1.15.	Polisacáridos	25
2.2.1.16.	Saponinas	26
2.2.1.17.	Taninos catéquicos y taninos gálicos ...	26
2.2.1.18.	Triterpenos	26
2.2.2.	Cromatografía	27
2.2.2.1.	Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG-MS).....	28

2.2.2.2.	Cromatografía líquido-sólido (capa fina).....	30
2.2.3.	Índice de refracción	30
2.2.4.	Densidad	31
2.3.	Extracción sólido-líquido.....	31
2.3.1.	Tipos de extracción sólido-líquido.....	33
2.3.1.1.	Extracción sólido-líquido con unidad de tipo Soxhlet.....	34
2.3.1.2.	Extracción sólido-líquido por maceración dinámica con reflujo	35
2.3.2.	Parámetros de la extracción sólido-líquido	36
2.3.2.1.	Tamaño de partícula.....	36
2.3.2.2.	Naturaleza del solvente extractor	36
2.3.2.3.	Presión	37
2.3.2.4.	Temperatura	37
2.3.2.5.	Agitación.....	38
2.3.2.6.	pH.....	38
2.3.2.7.	Tiempo.....	38
2.4.	Tratamiento de la materia prima.....	39
2.4.1.	Recolección	39
2.4.2.	Secado	39
2.4.3.	Molienda	40
2.5.	Solventes.....	41
2.5.1.	Clasificación.....	41
2.5.2.	Metanol.....	43
2.5.3.	Hexano	44
2.5.4.	Agua	46
2.6.	Análisis proximal.....	47
2.6.1.	Proteína cruda	49

2.6.2.	Extracto etéreo	49
2.6.3.	Fibra cruda	50
2.6.4.	Humedad.....	51
2.6.5.	Cenizas	51
2.7.	Estudio histológico	51
3.	DISEÑO METODOLÓGICO.....	55
3.1.	Descripción de variables	55
3.1.1.	Variables independientes	55
3.1.2.	Variables dependientes directas	55
3.1.3.	Variables del proceso de extracción sólido-líquido	55
3.2.	Delimitación del campo de estudio.....	56
3.2.1.	Selección de muestra	56
3.2.2.	Selección de solventes.....	57
3.2.3.	Selección de técnicas.....	58
3.2.4.	Localización.....	58
3.3.	Recursos humanos disponibles	59
3.4.	Recursos materiales disponibles.....	59
3.4.1.	Materia prima	59
3.4.2.	Reactivos.....	59
3.4.3.	Equipo	59
3.4.4.	Cristalería	60
3.4.5.	Instrumentos de medición	60
3.4.6.	Instalaciones	60
3.5.	Técnica cualitativa o cuantitativa.....	61
3.5.1.	Estudio preliminar.....	61
3.5.2.	Estudio histológico y análisis proximal	61
3.5.3.	Preparación de la muestra	62

3.5.4.	Estudio experimental	62
3.5.5.	Evaluación de rendimiento	63
3.5.6.	Caracterización fitoquímica.....	64
3.5.7.	Identificación de compuestos químicos	64
3.5.8.	Interpretación de resultados	64
3.6.	Recolección y ordenamiento de la información	64
3.7.	Tabulación, ordenamiento y procesamiento de la información	66
3.8.	Análisis estadístico	67
4.	RESULTADOS	77
5.	INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS.....	93
5.1.	Estudio histológico.....	93
5.2.	Análisis proximal.....	94
5.3.	Rendimiento de extracción	96
5.4.	Identificación de familias de metabolitos secundarios	100
	CONCLUSIONES	105
	RECOMENDACIONES	107
	BIBLIOGRAFÍA.....	109
	APÉNDICES	113
	ANEXOS	123

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

FIGURAS

1.	Forma de frutos y semillas de la moringa.....	7
2.	Distribución de la moringa en el mundo	8
3.	Estructura de la pterigospermina	15
4.	Cromatograma de separación y cuantificación de componentes químicos en la piel de uva.....	28
5.	Estructura molecular del metanol.....	44
6.	Estructura molecular del hexano.....	45
7.	Estructura molecular del agua.....	47
8.	Método de Weende de análisis proximal.....	48
9.	Proceso del estudio histológico.....	52
10.	Ubicación geográfica de la plantación de moringa en la aldea El Obrajuelo, Villa Canales.....	57
11.	Constantes dieléctricas de solventes	58
12.	Procedimiento para extraer las fracciones extraíbles de la semilla de moringa	63
13.	Diagrama de flujo del desarrollo del trabajo	65
14.	Diagrama de caja del rendimiento (porcentaje) versus solvente extractor de la fracción extraíble de la semilla de moringa (<i>Moringa oleífera</i> Lam.).....	67
15.	Medias marginales del rendimiento porcentual de la fracción extraíble de la semilla de moringa (<i>Moringa oleífera</i> Lam.).....	68

16.	Diagrama de caja de densidad (gramos/mililitro) versus solvente extractor de la fracción extraíble de la semilla de moringa (<i>Moringa oleífera</i> Lam.).....	69
17.	Medias marginales de la densidad de la fracción extraíble de la semilla de moringa (<i>Moringa oleífera</i> Lam.).....	70
18.	Diagrama de caja del índice de refracción versus solvente extractor de la fracción extraíble de la semilla de moringa (<i>Moringa oleífera</i> Lam.)	71
19.	Medias marginales del índice de refracción de la fracción extraíble de la semilla de moringa (<i>Moringa oleífera</i> Lam.).....	72
20.	Diagrama de caja de sólidos solubles totales (gramos) versus solvente extractor de la fracción extraíble de la semilla de moringa (<i>Moringa oleífera</i> Lam.).....	73
21.	Medias marginales de los sólidos solubles totales de la fracción extraíble de la semilla de moringa (<i>Moringa oleífera</i> Lam.)	74
22.	Diagrama de Schewart para el rendimiento de la fracción extraíble de la semilla de moringa (<i>Moringa oleífera</i> Lam.) utilizando hexano como solvente, con un nivel de confianza del 99%	75
23.	Diagrama de Schewart para el rendimiento de la fracción extraíble de la semilla de moringa (<i>Moringa oleífera</i> Lam.) utilizando metanol como solvente, con un nivel de confianza del 99%	76
24.	Diagrama de Schewart para el rendimiento de la fracción extraíble de la semilla de moringa (<i>Moringa oleífera</i> Lam.) utilizando agua como solvente, con un nivel de confianza del 99%	76
25.	Tejido nutritivo que conforma los cotiledones de la semilla de moringa (<i>Moringa oleífera</i> Lam.), teñido con Sudán IV, aumento 4X ...	77
26.	Detalle de las células conteniendo eleoplastos, aumento 40X	77

27.	Corte del área central del tejido de reserva, teñido con Sudán IV, aumento 10X.....	78
28.	Tejido nutritivo de los cotiledones de la semilla de moringa (<i>Moringa oleífera</i> Lam.) teñidos con azul de cresilo, aumento 40X.....	78
29.	Corte longitudinal de los cotiledones teñidos con lugol, aumento 4X...	79
30.	Tejido cotiledonar de la semilla de moringa (<i>Moringa oleífera</i> Lam.) teñido con reactivo de Dragendorff, aumento 20X	79
31.	Composición total de la semilla de moringa (<i>Moringa oleífera</i> Lam.), obtenida del análisis bromatológico	80
32.	Composición con base seca de la semilla de moringa (<i>Moringa oleífera</i> Lam.), obtenida del análisis bromatológico	80
33.	Rendimiento porcentual de la fracción extractable de la semilla de moringa (<i>Moringa oleífera</i> Lam.), en función del solvente utilizado	81
34.	Monitoreo de la densidad del extracto de la semilla de moringa (<i>Moringa oleífera</i> Lam.), durante el proceso de decocción, utilizando la técnica Soxhlet y hexano como solvente.....	89
35.	Monitoreo de los sólidos totales disueltos del extracto de la semilla de moringa (<i>Moringa oleífera</i> Lam.), durante el proceso de decocción, utilizando la técnica Soxhlet y hexano como solvente	89
36.	Monitoreo de la densidad del extracto de la semilla de moringa (<i>Moringa oleífera</i> Lam.), durante el proceso de decocción, utilizando la técnica Soxhlet y metanol como solvente.....	90
37.	Monitoreo de los sólidos totales disueltos del extracto de la semilla de moringa (<i>Moringa oleífera</i> Lam.), durante el proceso de decocción, utilizando la técnica Soxhlet y metanol como solvente	90
38.	Monitoreo de la densidad del extracto de la semilla de moringa (<i>Moringa oleífera</i> Lam.), durante el proceso de decocción, utilizando la técnica de extracción sólido-líquido a reflujo y agua como solvente	91

39.	Monitoreo de los sólidos totales disueltos del extracto de la semilla de moringa (<i>Moringa oleífera</i> Lam.), durante el proceso de decocción, utilizando la técnica de extracción sólido-líquido a reflujo y agua como solvente	91
-----	--	----

TABLAS

I.	Contenido del aminoácido de las hojas de moringa.....	14
II.	Contenido de vitaminas y minerales de la hoja de moringa.....	14
III.	Componentes químicos de la moringa.....	16
IV.	Ácidos grasos contenidos en la semilla de moringa	17
V.	Características de solventes.....	42
VI.	Clasificación de solventes.....	43
VII.	Propiedades del metanol	44
VIII.	Propiedades del hexano	45
IX.	Propiedades del agua	46
X.	Variables del proceso de extracción de las fracciones extractables de la semilla de moringa	56
XI.	Diseño experimental	66
XII.	Tabla para el monitoreo de propiedades durante el proceso de extracción	67
XIII.	Análisis de varianza para el rendimiento porcentual.....	68
XIV.	Comparación de Tukey para las medias del rendimiento porcentual....	69
XV.	Análisis de varianza para la densidad.....	70
XVI.	Comparación de Tukey para las medias de la densidad	71
XVII.	Análisis de varianza para el índice de refracción	72
XVIII.	Comparación de Tukey para las medias del índice de refracción.....	73
XIX.	Análisis de varianza para los sólidos solubles totales.....	74

XX.	Comparación de Tukey para las medias de los sólidos solubles totales	75
XXI.	Rendimiento porcentual total de la fracción extraíble con hexano, de la semilla de moringa (<i>Moringa oleífera</i> Lam.)	81
XXII.	Rendimiento porcentual total de la fracción extraíble con metanol, de la semilla de moringa (<i>Moringa oleífera</i> Lam.)	82
XXIII.	Rendimiento porcentual total de la fracción extraíble con agua, de la semilla de moringa (<i>Moringa oleífera</i> Lam.)	82
XXIV.	Familias de metabolitos secundarios detectados en la fracción extraíble de la semilla de moringa (<i>Moringa oleífera</i> Lam.), al realizar el tamizaje fitoquímico, para cada solvente	83
XXV.	Metabolitos secundarios detectados en la fracción extractable de la semilla de moringa (<i>Moringa oleífera</i> Lam.), utilizando cromatografía capilar de gases acoplada a espectrometría de masas (CGC/MS/DS)	84
XXVI.	Clasificación de los metabolitos secundarios encontrados en la fracción extractable de la semilla de moringa (<i>Moringa oleífera</i> Lam.), al utilizar cromatografía capilar de gases acoplada a espectrometría de masas (CGC/MS/DS)	85
XXVII.	Densidad de las fracciones extraíbles de la semilla de moringa (<i>Moringa oleífera</i> Lam.), obtenidas con los diferentes solventes	86
XXVIII.	Índice de refracción de las fracciones extraíbles de la semilla de moringa (<i>Moringa oleífera</i> Lam.), obtenidas con los diferentes solventes	87
XXIX.	Sólidos solubles de las fracciones extraíbles de la semilla de moringa (<i>Moringa oleífera</i> Lam.), obtenidas con los diferentes solventes	88

LISTA DE SÍMBOLOS

Símbolo	Significado
atm	Atmósfera
cm	Centímetro
ϵ	Constante dieléctrica
°C	Grados Celsius
ρ	Densidad
F	Fisher calculada
g	Gramo
h	Hora
H_i	Hipótesis de investigación
H_o	Hipótesis nula
kg	Kilogramo
μ	Media

m	Metro
msnm	Metros sobre el nivel del mar
mm	Milímetro
mmHg	Milímetros de mercurio
No.	Número
%	Porcentaje
pH	Potencial de hidrógeno
s	Segundo

GLOSARIO

Aceite esencial	Fracción líquida volátil que contiene las sustancias responsables del aroma de las plantas.
Ácido graso	Molécula orgánica formada por una larga cadena hidrocarbonada, en cuyo extremo hay un grupo carboxilo.
Análisis proximal	Procedimiento cuyo objetivo es someter un material a una serie de pruebas químicas para determinar su contenido de humedad, proteína cruda, cenizas, lípidos, fibra cruda y carbohidratos digeribles.
Constante dieléctrica	Es la capacidad de una mezcla de solventes de inducir un momento dipolar.
Cromatografía	Técnica de separación en donde existen dos fases, una móvil y una estacionaria, que se mueven una respecto de la otra, manteniendo un contacto íntimo.
Cromatografía de gases	Método físico de separación en el cual los componentes a separar se distribuyen entre dos fases, una fase estacionaria y un gas que pasa a lo largo de la fase estacionaria.

Decocción	Procedimiento de extracción sólido-líquido que se refiere específicamente al uso del disolvente, a su temperatura de ebullición.
Estudio histológico	Serie de métodos y técnicas utilizadas para estudiar las características morfológicas y moleculares de los tejidos.
Extracción	Separación de los componentes de cualquier sustancia por el contacto con una fase líquida.
Peptización	Proceso químico por el cual se forman suspensiones coloidales a través de la simplificación de macromoléculas.
Percolación	Movimiento lento de un líquido a través de un lecho fijo de sólido poroso.
Tamizaje fitoquímico	Técnica utilizada para detectar metabolitos secundarios presentes en especies vegetales, desde el punto de vista cualitativo.
Técnica Soxhlet	Consiste en el lavado sucesivo de una mezcla sólida con un determinado solvente, que va extrayendo de la mezcla los componentes más solubles en él.

RESUMEN

El presente trabajo de graduación consistió en extraer las fracciones solubles de la semilla de moringa (*Moringa oleífera* Lam.), a nivel laboratorio, mediante la extracción sólido-líquido bajo procedimiento de decocción, utilizando solventes de diferente constante dieléctrica, los cuales fueron hexano, metanol y agua.

El proceso extractivo fue monitoreado mediante las mediciones de parámetros fisicoquímicos, siendo el más sensible la densidad, que permitió identificar etapas extractivas. De esta manera se llevó el sólido al agotamiento efectivo y se obtuvieron diferentes rendimientos extractivos, siendo el mayor el obtenido con agua, luego el del hexano y el más bajo con metanol. Una vez obtenida la fracción extractable, se caracterizó mediante tamizaje fitoquímico y cromatografía capilar de gases acoplada a espectrometría de masas. De estos estudios se evidenció que con metanol se obtuvo mayor cantidad y variedad de metabolitos secundarios.

La investigación se complementó con un análisis proximal, que aportó información sobre el alto valor nutricional de la semilla. Así también se realizó un estudio histológico de la semilla, mediante el cual se comprobó la presencia de abundantes aceites, alcaloides y almidones.

OBJETIVOS

General

Evaluar el rendimiento de extracción y realizar el tamizaje fitoquímico de la fracción extraíble de semilla de moringa (*Moringa oleífera Lam.*) a nivel laboratorio.

Específicos

1. Realizar el estudio histológico de la semilla de moringa.
2. Evaluar el resultado del análisis proximal de la semilla de moringa.
3. Evaluar el rendimiento de la fracción extraíble obtenida de la semilla de moringa a través de la extracción sólido-líquido, bajo procedimiento de decocción, utilizando los tres diferentes solventes hexano, metanol y agua.
4. Identificar de la fracción extraíble respectiva de cada solvente, las familias de metabolitos secundarios presentes en la semilla de moringa, mediante el tamizaje fitoquímico y la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas.

HIPÓTESIS

Hipótesis de trabajo

Es posible determinar el rendimiento completo de la extracción sólido-líquido y realizar la caracterización fisicoquímica y fitoquímica de la semilla de moringa, utilizando el procedimiento de decocción mediante la técnica de extracción sólido-líquido con unidad de tipo Soxhlet con los solventes hexano y metanol en concentraciones absolutas y la técnica de extracción sólido-líquido a reflujo, utilizando agua como solvente.

Hipótesis de investigación (Hi)

Existe diferencia significativa en el rendimiento y las propiedades fisicoquímicas y fitoquímicas de la fracción extractable de la semilla de moringa, obtenida con cada uno de los solventes de extracción.

$$\mu_1 \neq \mu_2 \neq \mu_3 \neq 0$$

Hipótesis nula (Ho)

No existe diferencia significativa en el rendimiento y las propiedades fisicoquímicas y fitoquímicas de la fracción extractable de la semilla de moringa, obtenida con cada uno de los solventes de extracción.

$$\mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = 0$$

INTRODUCCIÓN

Moringa oleífera es la especie más conocida de trece especies del género Moringácea. La moringa tuvo un valor muy alto en el mundo antiguo. Los romanos, los griegos y los egipcios extrajeron aceite comestible de las semillas y lo usaron para perfume y loción. Desde hace siglos se han ocupado las vainas y hojas de la moringa como alimento en las regiones de Asia y África. En el pasado reciente, más de 750 estudios, artículos y otras publicaciones han incluido la moringa, sin embargo la mayoría de estos estudios se han enfocado en las características nutricionales de las hojas.

Los pocos estudios orientados a la semilla han demostrado la presencia de componentes químicos, como la pterigospermina entre otros, que pueden ser utilizados en la industria farmacéutica, en la industria de grasas y aceites y en la perfumería. En la actualidad, en muy pocas regiones se empieza a cultivar el árbol con fines comerciales, principalmente por los nutrientes y vitaminas que ofrecen sus hojas. En Guatemala se ha empezado a obtener provecho del árbol, por ser un país con clima tropical y con una gran gama de suelos, reúne las condiciones propicias para desarrollar el cultivo del árbol de moringa en varios departamentos, con alturas hasta los 1,200 msnm.

Es así como en el país ya se ha dado a conocer el gran valor nutritivo de las hojas del árbol de moringa, las cuales han sido comercializadas como cápsulas nutritivas de origen natural; sin embargo, aún no se tienen estudios concretos de la semilla del árbol de moringa naturalizada en Guatemala, ni de los extractos que estas contienen, por lo que no se ha aprovechado su gran potencial.

Este trabajo de graduación busca contribuir a la investigación de la semilla del árbol de moringa, cultivado en Guatemala, y así favorecer el desarrollo económico de las comunidades rurales y el uso de la medicina natural. Para lograr este objetivo se recolectaron muestras de la aldea El Obrajuelo, municipio de Villa Canales, departamento de Guatemala; se realizaron las extracciones de las fracciones solubles de la semilla de moringa utilizando el método de extracción sólido-líquido con los solventes a temperatura de ebullición (procedimiento de decocción).

Se utilizó la técnica Soxhlet para los solventes hexano y metanol, y la técnica de extracción a reflujo con agua como solvente. Luego se calculó el rendimiento porcentual obtenido con cada uno de los solventes. Posteriormente se realizó la caracterización fitoquímica y fisicoquímica de cada uno de los extractos. El estudio se complementó con un análisis proximal y un estudio histológico de la semilla, estudios que aportaron información importante acerca de las propiedades que la semilla de moringa ofrece.

Los resultados obtenidos al ser aprovechados, proveen un panorama más amplio de los componentes de la semilla de moringa y permiten explotar al máximo su potencial. Esto también podría colaborar con la erradicación de la pobreza en el país, porque al conocer las propiedades de la semilla, se puede incentivar el cultivo del árbol en más regiones, y así aprovechar los numerosos beneficios, tanto de la semilla como del resto de la planta.

1. ANTECEDENTES

El árbol de moringa es nativo del subcontinente de la India y se ha propagado por todas partes del mundo. Fue introducido a Guatemala desde el siglo pasado, por lo tanto se tienen pocos estudios de investigación de la especie que crece en el país. Se sabe que el árbol se ha naturalizado en Chiquimula, El Progreso, Escuintla, Guatemala, Jutiapa, Petén, Retalhuleu, San Marcos, Santa Rosa, Suchitepéquez y Zacapa, en terrenos de clima cálido; sin embargo, son escasas las regiones en donde se planta y cultiva el árbol como tal, porque al ser de rápido crecimiento, y que resiste fácilmente la sequía, crece como árbol silvestre sin cuidado y aprovechamiento.

En la Universidad de San Carlos de Guatemala se han realizado algunos estudios relacionados con el árbol de moringa. En el mes de julio del año 2010, la empresa Magna Profesional solicitó al Laboratorio de Investigación de Extractos Vegetales, LIEXVE, de la sección de Química Industrial del Centro de Investigaciones de Ingeniería, realizar pruebas de secado de la hoja de moringa. Para ello se utilizó un secador eléctrico de flujo transversal a una temperatura de 40°C durante 4 días, para secar lotes de 20 Kg de hojas de moringa.

En el último análisis realizado, se redujo el contenido de humedad de un 76.10% a un 7.14% y así se obtuvo la relación de peso en base humedad: peso deshidratado de 4.07:1.

A nivel de tesis se han desarrollado las siguientes investigaciones: “La utilización de la semilla de la *Moringa oleífera* como coagulante natural” realizado por el ingeniero Juan Manuel Mejía Guillén, como trabajo de graduación para optar al título de Máster en Ingeniería Sanitaria de la Facultad de Ingeniería, en 1986, en donde se concluyó que la semilla de moringa tuvo un mejor comportamiento al compararse con el sulfato de aluminio y un mejor desempeño como removedor de turbiedad.

“Acción antiinflamatoria de las infusiones de raíz, tallo, hoja, flor y semilla de *Moringa oleífera* Lam. (paraíso blanco) evaluada en ratas” es una investigación realizada por la estudiante Gloria Lorena Zabala Barrena, como trabajo de graduación para optar al título de Químico Farmacéutico de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacias, en 1989, encontrándose que la infusión de la semilla posee acción antiinflamatoria, no así las infusiones de tallo, raíz, hoja y flor.

Luego, “Acción inhibitoria *in vitro* de los extractos acuosos de la raíz y corteza de *moringa oleífera* sobre cinco bacterias patógenas al hombre y *Cándida albicans*” realizado por la estudiante Ana Patricia Mollinedo Solis, como trabajo de graduación para optar al título de Químico Farmacéutico de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia en 1989, no encontrándose actividad inhibitoria.

El efecto antimicrobiano *in vitro* de extractos acuosos de semillas y hojas de *Moringa oleífera* Lam. sobre cinco bacterias patógenas al hombre y *Cándida albicans* fue investigado por la estudiante Ofyluz Cabrera Mancio, previo a optar el título de Químico Farmacéutico de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, en 1989, en donde se determinó que el extracto de semillas a 56°C tiene actividad inhibitoria *in vitro* sobre *S. aureus*. Y *P. aeruginosa*.

“Determinación de la acción antiespasmódica *in vitro* de las infusiones de las flores, hojas, raíces, semillas y tallos de *Moringa oleífera* Lam.” realizado por la estudiante Ingrid Sofía Rizzo Juárez, como trabajo de graduación para optar al título de Químico Farmacéutico de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, en 1989, en donde se determinó que únicamente las infusiones de semilla presentaron acción inhibitoria del espasmo intestinal.

“Contribución al estudio fitoquímico y farmacológico de la semilla de *Moringa oleífera* Lam. (paraíso blanco) como antiespasmódico” realizado por la estudiante Vilma Eunice Cumes Santizo, como trabajo de graduación para optar al título de Químico Farmacéutico de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacias en 1990, encontrándose que el extracto clorofórmico de la semilla posee acción antiespasmódica y que el mismo no es tóxico en dosis altas.

“Contribución al estudio fitoquímico y farmacológico de *Moringa oleífera* Lam. (paraíso blanco) como antiinflamatorio” realizado por la estudiante Verónica Georgina Morales Cordón, como trabajo de graduación para optar al título de Químico Farmacéutico de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacias, en 1990, que comprobó que las semillas de moringa tienen acción antiinflamatoria comprobada.

“Determinación de la acción diurética de las infusiones de las semillas, tallos, raíces y hojas de *Moringa oleífera* Lam. (paraíso blanco)” realizado por el estudiante Edy Elizabet A. de León Lemus, como trabajo de graduación para optar al título de Químico Farmacéutico de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacias, en 1990, en donde no se comprobó el efecto diurético atribuido popularmente a la semilla de moringa en comparación con un fármaco de referencia.

“Efectos de la semilla de *Moringa oleífera* Lam. sobre *Staphylococcus aureus* en el tratamiento de piodermias” realizado por la estudiante Sandra Mercedes Floralvia López Girón, como trabajo de graduación para optar al título de Químico Farmacéutico de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacias, en 1990. Mediante este estudio se concluyó que tanto el extracto acuoso como el aceite obtenido de las semillas de moringa, son efectivos en el tratamiento de infecciones y se le da validez como antibacteriano.

“Uso de la semilla de la *Moringa oleífera* Lam. como desinfectante de aguas residuales tratadas” realizado por la ingeniera Gladys Arely Loucel Molina, como trabajo de graduación para optar al título de Máster en Ingeniería Sanitaria de la Facultad de Ingeniería, en 1999. La ingeniera Loucel determinó mediante esta investigación, que la semilla de moringa no puede usarse como desinfectante al aplicarse al agua residual tratada, ya sea como harina o en suspensión; sin embargo puede ser usada como ayudante de coagulación y actuar como agente removedor de bacterias.

2. MARCO TEÓRICO

2.1. *Moringa oleífera* Lam.

La *Moringa oleífera* es reconocida con diferentes nombres comunes. En Guatemala se le llama moringa, ben, árbol de ben, perlas, paraíso blanco, arango, badumbo, brotón, caragua, caraño, marengo, sasafrás, o teberindo; en Honduras se le denomina marango o morunga; en el Salvador teberinto; en Estado Unidos *drumstick tree* o *horseradish tree*; en Francia *ben aile*; en India *sajna, sajana, sujinal* (Balbir, 2005), entre muchos más. También se le ha dado el nombre de árbol mágico, debido a la infinidad de propiedades que tiene.

2.1.1. Descripción botánica

En 1996 el doctor Armando Cáceres publicó en su libro “Plantas de uso medicinal en Guatemala” una descripción botánica del árbol de moringa citada a continuación.

2.1.1.1. Árbol

Árbol o arbusto caduco pequeño, de crecimiento rápido, resistente a la sequía, con una copa abierta, tipo paraguas. Mide de 5 a 10 metros de altura pero puede llegar hasta 12 metros en su madurez. Su tronco es un poco torcido, tiene de 25-30 cm de diámetro, con corteza blanquecina. Sus raíces son ligeras y gruesas.

2.1.1.2. Hojas

Las hojas son compuestas y están dispuestas en grupos de folíolos con 5 pares de estos acomodados sobre el pecíolo principal y un folíolo en la parte terminal. En los folíolos contienen láminas foliares ovaladas de 200 mm de área foliar, organizadas frontalmente entre ellas, en grupos de 5 a 6. Las hojas compuestas son alternas bi o tripinadas, con una longitud total de 30 a 70 cm.

2.1.1.3. Flores

Inflorescencia en panículo lateral, de 10 a 20 cm de largo con muchas flores; cinco sépalos y cinco pétalos blancos tienen estambres amarillos y son perfumadas.

2.1.1.4. Fruto y semillas

El fruto es una cápsula colgante, seca, marrón, con tres ángulos fuertes, 17-55 cm de largo por 2-3 cm de ancho, dehiscente. Las semillas de la moringa son carnosas, de color pardo oscuro, globulares y de aproximadamente 1 cm de diámetro, con tres alas y una consistencia papirácea; su endospermo es blanquecino y muy oleaginoso.

Aparentemente existen variaciones en los pesos de las semillas de acuerdo con la variedad, desde 3,000 a 9,000 semillas por kilogramo. Cada árbol puede producir de 15000 a 25000 semillas por año. Las vainas maduras con semillas permanecen en el árbol por varios meses antes de partirse y de liberarlas, las cuales son dispersadas por el viento, agua y probablemente animales (Cáceres, 1996).

Figura 1. **Forma de frutos y semillas de la moringa**



Fuente: Parcelamiento El Obrajuelo, Villa Canales.

2.1.2. **Clasificación y origen**

- Reino: Plantae
- División: Magnoliophyta
- Subclase: Dilleniidae
- Clase: Magnoliopsida
- Orden: Capparidales
- Familia: Moringaceae
- Género: Moringácea
- Especie: Moringa oleífera
- Nombre Científico: Moringa oleífera Lam.
- Variedades: M. arbórea, M. borziana, M. concanensis, M. drouhardii, M. hildebrandtii, M. longituba, M. ovalifolia, M. peregrina, M. pygmaea, M. rivaie, M. ruspoliana, M. stenopetala (Balbir, 2005)

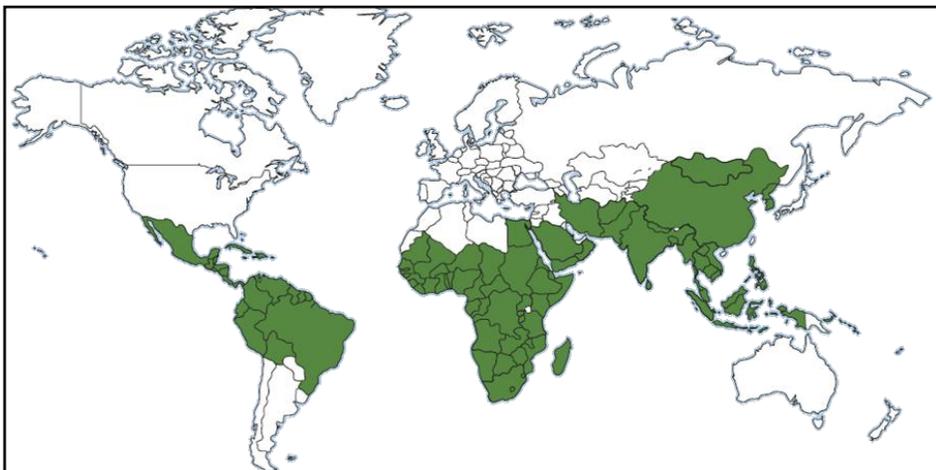
Existe un solo género de 14 especies conocidas en todo el mundo. La *M. oleifera* es una de las especies más importantes y de mayor uso y cultivo; ésta es originaria de las regiones montañosas de los Himalayas al noreste de la India.

2.1.3. Distribución

El árbol de moringa es originario de Asia y África. En América Central fue introducido en los años 1920 como planta ornamental y para cercas vivas, se encuentra en áreas desde el nivel del mar hasta los 1800 metros.

Se ha vuelto nativo en muchos países de África, Madagascar, Arabia, el Sureste de Asia, la zona del Pacífico, las Islas del Caribe y América del Sur (ver figura 2). Es el árbol ideal para zonas áridas, semiáridas, tropicales y subtropicales

Figura 2. Distribución de la moringa en el mundo



Fuente: BALBIR, Mathur. *Trees for life Moringa Book*. p 12.

2.1.4. Cultivo

En Guatemala es cultivado en clima cálido y se ha naturalizado en Chiquimula, El Progreso, Escuintla, Guatemala, Jutiapa, Petén, Retalhuleu, San Marcos, Santa Rosa, Suchitepéquez y Zacapa, en donde se siembra como cerco vivo y sombra de café (Cáceres,1996).

Se cultiva durante todo el año, pero especialmente durante los meses de diciembre a febrero y julio a agosto. Se propaga por semilla o estaca. Las semillas se colocan en bolsas de almácigo a 2 cm de profundidad, germinan en 1 a 2 semanas, viabilidad de 25 a 80% que desaparece con el tiempo; para propagación asexual se siembran estacas de 1 m de largo para que enraícen. Se trasplantan las plántulas al tener 30 a 50 cm de alto a 5 m de distancia. Es de rápido crecimiento, requiere poca atención y abono orgánico, es resistente a la sequía. La planta producida de estaca comienza a producir frutos en 6 a 8 meses, la de semilla en 2 a 3 años; un árbol sano puede dar 800 a 1,600 vainas.

2.1.4.1. Condiciones agroecológicas

A continuación se describen las diversas condiciones para la producción de moringa.

2.1.4.1.1. Clima

El árbol de moringa es muy resistente a la sequía y se cultiva en regiones áridas y semiáridas de la India, Paquistán, Afganistán, Arabia Saudita y África del este, en donde la precipitación puede ser de 300 mm.

Por ser una planta de origen tropical, se desarrolla en climas semiáridos, semihúmedos y húmedos. La moringa crece bien en alturas que van desde el nivel del mar hasta los 1,200 m de altitud y prospera en temperaturas altas, considerándose óptimas para un buen comportamiento las que están entre 24 y 32 °C. En el subtrópico, la moringa tolera heladas ligeras. Una helada puede matar un árbol maduro hasta las raíces, pero es capaz de recuperarse. Rápidamente produce un retoño desde el tronco cuando es cortado, o desde el suelo cuando se ha congelado.

2.1.4.1.2. Suelos y topografía

La moringa crece en altitudes de hasta aproximadamente 1,400 m a lo largo de los ríos más grandes de su área de distribución natural, en aluviones arenosos o guijosos. Estos suelos tienen por lo general un buen drenaje y a menudo poca materia orgánica. Mientras que el suelo superficial puede ser muy seco durante varios meses al año, el nivel de agua subterránea se encuentra por lo general dentro de la zona de profundidad máxima de sus raíces. Se adapta a diversos terrenos (alcalinos hasta de pH de 9) de arena a caliza, prefiere los suaves y bien drenados.

En los sitios en donde ha sido introducido prospera en lugares al nivel del mar, hasta altitudes de 1,200 m en la mayoría de suelos con textura de ligera a mediana, pero el mejor crecimiento ocurre en francos arenosos.

2.1.5. Usos

A la moringa se le atribuyen diversos usos; a continuación se describen los principales.

2.1.5.1. Usos medicinales atribuidos

Es un remedio popular para ascitis, asma, catarro, cólera, convulsiones, disentería, dolor de oído, epilepsia, fiebre, gota, inflamación, neuralgia, neumonía, reumatismo, espasmos, sífilis, tos, dolor dental, tumores, úlceras, fiebre amarilla, entre otros (Cáceres, 1996).

La corteza fresca se usa como antídoto contra picadura de insectos y veneno de serpientes, así también se aplica como contrairritante en diversos dolores. La corteza se dice que es estimulante, diurética y antiescorbútica; se usa para el corazón, tos y otros desórdenes; su jugo se toma contra el asma, gota, lumbago, reumatismo e inflamaciones.

La raíz se usa en parálisis, fiebre, epilepsia, reumatismo y gastralgia. Se dice que la raíz es laxante, diurética, enriquece la sangre y cicatriza las úlceras gingivales. La decocción de la misma se usa contra la viruela. La tintura de raíz seca se usa para edema causado por malaria y como linimento para reumatismo.

Los frutos se consideran afrodisiacos y también se utilizan en trastornos del hígado y bazo. La infusión de la almendra de la semilla es purgante y febrífuga. Tópicamente el aceite de semillas se aplica en gota, reumatismo, quemaduras, induraciones, tumores y otras afecciones de la piel (Cáceres, 1993).

A las flores, hojas y raíz se les atribuye propiedad abortiva, bactericida, colagoga, depurativa, diurética, ecbólica, emética, estrogénica, expectorante, purgante, rubefaciente, estimulante, tónica y vermífuga.

Por siglos, la gente en muchos países ha usado las hojas de la moringa como una medicina tradicional para curar enfermedades leves comunes. Los estudios clínicos han empezado a sugerir que por lo menos algunas de estas ideas son válidas.

En Guatemala se han utilizado las hojas de moringa para las infecciones de la piel, llagas, escorbuto, catarro y como purgante. En la India, para la anemia, ansiedad, asma, espinillas, impuridades de la sangre, bronquitis, catarro, congestión del pecho, cólera conjuntivitis, tos, diarrea, infecciones de ojos y de oído, calentura, hinchazón de las glándulas, dolor de cabeza, presión de sangre anormal, histeria, dolor en las articulaciones, soriasis, trastornos respiratorios, escorbuto, deficiencia de semen, dolor de garganta, esguince, tuberculosis.

En Malasia, Puerto Rico y Venezuela se usa contra los gusanos intestinales. En Nicaragua, para el dolor de cabeza, infecciones de la piel y llagas. En Filipinas se ha usado contra la anemia e hinchazón glandular, además de tratar enfermedades; también se les da a las mujeres en lactancia. En Senegal se aplica para la diabetes, infecciones de piel y llagas además de tratar enfermedades, también se les da a las mujeres embarazadas. Otros países las usan para la colitis, diarrea, hidropesía, disentería, gonorrea, ictericia, malaria, úlceras del estómago, tumores, trastornos de la vejiga y heridas varias (Balbir, 2005).

2.1.5.2. Otros usos populares

En Sudán los habitantes purifican y potabilizan el agua a nivel doméstico por medio de un polvo de semillas usando tecnología apropiada.

El aceite se usa en perfumería, como fijado y lubricante de maquinaria fina, es muy resistente al enranciamiento. La goma de la corteza tiene buenas cualidades para pegar. La mayoría de las partes de la planta son comestibles. La raíces gruesas y carnosas tienen un sabor parecido al maní, otros autores mencionan que es similar al rábano inclusive en su olor y preparación.

Las hojas son consumidas crudas en ensaladas, en caldos o en polvo como sazonador de comida. Las flores son consumidas en ensalada y se dice que tienen un sabor y textura parecida a la de los champiñones.

El árbol se siembra como cerco vivo y sombra de café, se usa como forraje para animales, las hojas y flores se comen cocidas, la ceniza de la corteza se usa para hacer jabón, las flores se usan para adornar altares, el tronco se usa para leña de encendido rápido y para construcciones rurales.

2.1.6. Valor nutricional

Un análisis nutritivo indica que las hojas de moringa contienen una riqueza de nutrientes esenciales que evitan enfermedades. Además contienen todo el aminoácido esencial (tablas I y II), algo que es poco común en una planta. Dado que las hojas secas son concentradas, contienen grandes cantidades de varios nutrientes, con excepción de la vitamina C (Balbir, 2005).

El contenido nutritivo de la sustancia vegetal puede cambiar dependiendo de la variedad de la planta, la estación, el clima y la condición del suelo. Así que diferentes análisis producen diferentes números.

Tabla I. **Contenido del aminoácido de las hojas de moringa**

Contenido	Hojas frescas (mg)	Hojas secas (mg)
Arginina	406,6	1 325,0
Histidina	149,8	613,0
Isoleucina	299,6	825,0
Leucina	492,2	1 950,0
Lisina	342,4	1 325,0
Metionina	117,7	350,0
Fenilalanina	310,3	1 388,0
Treonina	117,7	1 188,0
Triptófano	107,0	425,0
Valina	374,5	1 063,0

Fuente: BALBIR, Mathur. *Trees for life Moringa Book*. p 22.

Tabla II. **Contenido de vitaminas y minerales de la hoja de moringa**

Contenido	Hojas frescas (mg)	Hojas secas (mg)
Caroteno (Vitamina A)	6,78	18,90
Tiamina (B1)	0,06	2,64
Riboflavina (B2)	0,05	20,50
Niacina (B3)	0,80	8,20
Vitamina C	220,00	17,30
Calcio	440,00	2 003,00
Carbohidratos	12 500,00	38 200,00
Cobre	0,07	0,57
Grasa	1 700,00	2 300,00
Fibra	900,00	19,20
Hierro	0,85	28,20
Magnesio	42,00	368,00
Fósforo	70,00	204,00
Potasio	259,00	1 324,00
Proteína	6 700,00	27 100,00
Zinc	0,16	3,28

Fuente: BALBIR, Mathur. *Trees for life Moringa Book*. p 22.

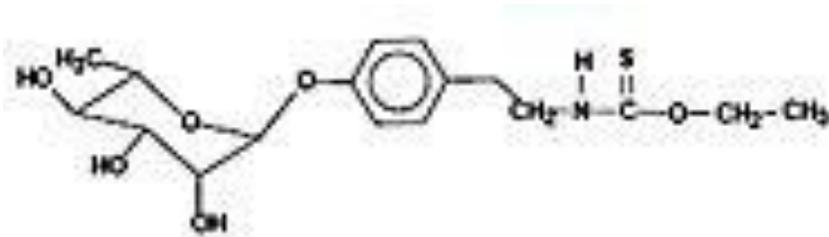
2.1.7. Composición química

Las semillas contienen 25-30% de aceite, glicósidos, pterigospermina, ilustrada en la figura 3, y 4-benzilisocianato y trazas de alcaloides. La corteza de la raíz contiene β -sitosterol, trazas de alcaloides, afomina, espiraquina y gomas.

Las hojas y flores contienen aminoácidos, quercetina, vitaminas y minerales. La goma del tallo contiene dextrina, basorina, enzimas (emulsina y mirosina) y un alcaloide (moringenina).

Las hojas secas contienen humedad (8.4%), cenizas (12.5%), nitrógeno total (3.3%), proteínas (20.6%), fibra cruda (3.8%), extracto etéreo (9%) y extracto no nitrogenado (45.6%) (Cáceres, 1996). Las tablas III y IV muestran los componentes químicos de la moringa.

Figura 3. Estructura de la pterigospermina



Fuente: <http://www.biorgamix.com/infomoringa.html>. Consulta: enero de 2011.

Tabla III. **Componentes químicos de la moringa**

Componente químico	Semilla	Tallo	Hoja	Flor	Raíz	Corteza
4(α -L-ramnosil) bencilisotiocianato	x				x	
Ácidos grasos	x					
Afomina					x	
Alcaloide (moringenina)		x			x	
Aminoácidos			x	x		
Basorina		x				
Dextrina		x				
Enzimas (emulsina, mirosina)		x				
Espiraquina					x	
Glicósidos (moringina)	x					
Gomas						x
Pterigospermina	x				x	
Quercetina			x	x		
Trazas de alcaloides	x					x
Vitaminas y minerales	x		x	x		
β -sitosterol						x

Fuente: elaboración propia.

Tabla IV. **Ácidos grasos contenidos en la semilla de moringa**

Estructura	Ácido graso	Porcentaje (%)
C 14:0	Mirístico	1,50
C 16:0	Palmítico	3,60
C 18:0	Esteárico	10,80
C 18:1 n-9	Oleico	68,00
C 18:2 n-6	Linoléico	3,80
C 20:4 n-6	Araquidónico	7,80
C 22:0	Behénico	6,30
C 24:0	Lignocérico	0,13

Fuente: elaboración propia.

2.1.8. Actividad biológica

Estudios antimicrobianos demuestran que los extractos tienen actividad contra bacterias *E. coli* y *S. aureus*, las infusiones de hojas y semillas frescas son activas además contra *P. aeruginosa* y *S. pyogenes* y algunos hongos, aunque no presentan actividad antidermatofítica. Una pomada a base del extracto clorofórmico de semillas redujo el tiempo de curación de la piodermia experimental inducida por *S. aureus* en ratas rasuradas. La corteza no tiene actividad antimalárica.

Estudios farmacológicos demuestran que la infusión de semillas tiene actividad diurética en dosis de 1,000 mg/kg en rata y espasmolítica en ileon aislado de rata, a dosis de 750 mg/kg. El extracto acuoso de hojas por vía intravenosa tiene actividad hipotensora, estimula el corazón aislado de conejo, produce bloqueo neuromuscular y provoca sedación de animales conscientes. La raíz ha demostrado actividad hipoglucémica.

De acuerdo con Cáceres (1993) el extracto de corteza de raíz tiene actividad antiinflamatoria medida por tres métodos de inducción de la inflamación, sugiriéndose un modo de acción similar a la adrenalina; otro estudio demuestra que inhibe el edema por carragenina en rata, solo en la inflamación aguda y presenta aumento de la actividad tensil, de la lisiloxidasa y del contenido de hexosamina; lo que indica una actividad cicatrizante.

La infusión de semillas es antiinflamatoria con relación a la dosis efecto (1000 mg/kg); la infusión de raíz y la de flores también (750 mg/kg); los otros órganos no mostraron actividad; el principio responsable se extrae en mayor cantidad con cloroformo. El extracto acuoso de raíz produce una curación más rápida en heridas inducidas experimentalmente (Cáceres, 1993).

La decocción de raíces tiene un efecto antifertilidad, ya que presenta un efecto estrogénico, hay cambios en la histoarquitectura del ovario e interferencia con la formación de deciduoma en un 50%; otro estudio demuestra que el ovario de ratas durante el embarazo temprano, tratadas con 200 mg/kg, se mantuvo en condiciones cíclicas, como un cuerpo recién formado, los cuerpos lúteos, se mantuvieron compactos, los folículos de Graaf en diferentes etapas de desarrollo, por lo que se postula que la actividad debe estar relacionada con la trompa de Falopio; se concluye que las causas son múltiples.

2.1.9. Indicaciones terapéuticas

Por su actividad antiinflamatoria, antiséptica y cicatrizal, su uso tópico está indicado en el tratamiento de quemaduras, heridas, piodermias y otras afecciones de la piel. Se aplica el aceite o infusión de semillas o raíz en forma de compresas, lavados o cataplasma; el aceite puede entrar en preparaciones fitofarmacéuticas o cosméticas.

2.1.10. Farmacognosia

Los órganos usados medicinalmente son corteza, raíz y semillas, que deben reunir las mismas características fisicoquímicas y sanitarias de la materia prima usada para la elaboración de productos fitofarmacéuticos. En la revisión de literatura realizada se encontró información sobre la relación entre la actividad farmacológica atribuida y la composición química, no se encontraron estudios tendientes a la formulación de productos fitofarmacéuticos.

El aceite de la almendra (aceite de ben) tiene un rendimiento de 25 a 30%, es transparente, sabor ligeramente dulce, densidad de 0.899 a 0.912 g/mL, índice de refracción 1.4652; la extracción en frío da menor rendimiento pero mejor calidad; la extracción en caliente da más rendimiento pero menor calidad; es un aceite que no se enrancia fácilmente; se utiliza en perfumería, en la industria farmacéutica y como lubricante (Cáceres, 1996).

La actividad antibiótica se asocia con pterigospermina y otros compuestos que se extraen mejor por la acción del ácido ascórbico. La pterigospermina similar a 4(α -L-ramnosil) bencilisotiocianato, es el producto de condensación de dos moléculas de bencilisotiocianato con una molécula de benzoquinona.

Tiene potente actividad antibiótica (*A. aerogenes*, *B. subtilis*, *E. coli*, *S. aureus*, *S. typhi*, *S. enteritidis*, *S. dysenteriae* y *M. tuberculosis*) y antimicótica; la tiamina y ácido glutámico antagonizan con su actividad antibiótica, mientras que la piridoxina la aumenta. Otro principio antibiótico de las semillas es la atomina, activa contra *V. cholerae*; en la raíz se encuentra espiroquina que tiene actividad profiláctica y antiséptica contra *S. aureus*, aun en altas diluciones (1:70,000), promueve la epitelización y presenta actividad analgésica y antipirética.

Por fraccionamiento bioguiado se han aislado del extracto etanólico de las hojas, al menos nueve glicósidos completamente acetilados con grupos tiocarbamato, carbamato o nitrilo, los cuales son muy raros en la naturaleza; los compuestos de tiocarbamato presentan actividad hipotensora (Cáceres, 1996).

2.1.11. Toxicología

La planta se considera segura por pruebas toxicológicas en varias especies de animales, tanto por administración oral como intravenosa. Los cotiledones son tóxicos para los peces y protozoos, por inhibición de la acetilcolinesterasa, aunque sin riesgo para la salud humana en las concentraciones usadas. Estudios sobre la toxicidad crónica de las semillas no demuestran alteraciones histológicas en 28 órganos examinados. La DL₅₀ de pterigospermina por vía oral en ratón es 400 mg/kg; en dosis mayores los animales mueren por paro respiratorio; la DL₅₀ de espiroquina por vía intravenosa en ratón es 350 mg/Kg (Cáceres, 1996).

2.2. Caracterización de las fracciones extraíbles

A continuación se describen los diferentes estudios que pueden ser utilizados para caracterizar una fracción extractable.

2.2.1. Tamizaje fitoquímico

Es una técnica que se utiliza para detectar metabolitos secundarios presentes en especies vegetales, desde el punto de vista cualitativo y se basa en la realización de reacciones químicas con diferentes reactivos, donde la aparición de determinado color o precipitado coloreado o no, es indicativo de la presencia de un determinado metabolito.

Las familias de compuestos posibles de identificar se describen a continuación.

2.2.1.1. Aceites esenciales

Son aceites muy livianos, contenidos en diferentes partes de las plantas aromáticas, algunas de las cuales contienen la esencia principalmente en:

- Semillas (anís, eneldo, coriandro)
- Cáscaras de su fruto (limón, bergamota, naranja)
- Hojas (menta, eucalipto, *tea tree*)
- Madera (canela, sándalo, cedro)
- Flores (jazmín, lavanda, *ying yang*)
- Raíces (vetiver, jengibre, angélica)
- Resina (incienso, benjuí, mirra)

Estos aceites son, debido a su estructura molecular específica, tan livianos, que algunas de sus fracciones se evaporan a temperatura ambiente, hecho que es determinante para su uso en perfumes.

2.2.1.2. Ácidos grasos

Son compuestos constituyentes de las grasas, producto de la hidrólisis básica de grasas animales o vegetales. Estos pueden ser saturados, monoinsaturados o poliinsaturados. Si un ácido graso tiene todos los átomos de hidrógeno que puede soportar, se le llama saturado; en cambio, si algunos de los átomos de hidrógeno están ausentes y la unión sencilla entre los átomos de carbón se ha reemplazado por una unión doble, es insaturada. Si hay solo una unión doble, es monoinsaturada. Si hay más de una, es poliinsaturada.

2.2.1.3. Agliconas de flavonoides

Grupo alquilo o arilo que se encuentra unido a un azúcar (residuo glucósido) y constituye parte de los denominados glucósidos naturales, que son sustancias derivadas de la glucosa, que se obtienen por el metabolismo de la misma, dando lugar a una parte activa en forma de aglucona (ésta posee efectos terapéuticos). Se extraen de las plantas mediante quimiosíntesis. Se usan en fitoterapia y medicina como laxantes (ruibardo, cambronería), reguladoras del ritmo cardíaco (digital, lirio de los vales, eléboro), aromáticas (sauce, arándano y brezo).

2.2.1.4. Alcaloides

Compuestos nitrogenados de origen vegetal. Pueden ser sólidos, solubles en alcohol o insolubles en el agua. Se extraen mediante el agua, alcohol, con álcalis y con disolvente. Son el resultado del metabolismo de los aminoácidos. Su función es reguladora y protege a la planta contra los insectos y parásitos. En medicina, farmacología y fitoterapia se emplea en estado puro o por infusiones; se utiliza su cafeína (café, té) y en bebidas refrescantes (colas). Existen innumerables plantas que contienen alcaloides: opio, cafeto, té, cornezuelo del centeno, ruda, cicuta, belladona y eléboro.

2.2.1.5. Amidas

Compuestos orgánicos que se pueden considerar derivados de un ácido carboxílico por sustitución del grupo —OH del ácido, por un grupo —NH_2 , —NHR o —NRR (siendo R y R radicales orgánicos). Formalmente, también se pueden considerar derivados del amoníaco, de una amina primaria o de una amina secundaria por sustitución de un hidrógeno por un radical ácido.

2.2.1.6. Antocianinas

Técnicamente, son conocidos como flavonales. Son pigmentos hidrosolubles, a los que las flores, las hojas (sobre todo amarillas u otoñales) y los frutos, deben sus tintes rojos, violetas o azules. Fortalecen y hacen de puente entre las proteínas de colágeno. Las antocianinas, siendo solubles en agua, también recogen radicales libres que se encuentran en los fluidos de los tejidos. Esta es una potente habilidad que beneficia especialmente, a atletas y otras personas dedicadas a la actividad deportiva y física, debido a que el ejercicio extenuante genera gran cantidad de radicales libres. Se emplean como antioxidantes.

2.2.1.7. Antraquinonas

Las antraquinonas son una clase de metabolitos secundarios vegetales con una funcionalidad p-quinoides en un núcleo antracénico, cuyos carbonos se enumeran.

2.2.1.8. Carotenoides

Son poliisoprenoides. Responsables del color amarillo, naranja, verde y rojo de diversas frutas y vegetales, como el tomate, perejil, naranja, espinaca, entre otros, y en algunos alimentos de origen animal como la yema del huevo. Algunos de los carotenoides tienen la capacidad de transformarse en vitamina A en nuestro cuerpo de acuerdo con las necesidades. Presentan una importante acción antioxidante. El alto consumo de carotenoides se asocia con un menor riesgo de cáncer. Además, tienen un efecto favorable sobre el sistema inmunológico y protegen a la piel de la radiación ultravioleta.

2.2.1.9. Compuestos reductores

Compuestos que poseen una o varias funciones alcohólicas y una función pseudoaldehídica (aldosas) o cetónica (cetosas). Son importantes en la alimentación, la glucosa y la fructosa, que son directamente asimilables. La glucosa es producida en la escala industrial por la hidrólisis ácida del almidón. Se utiliza para preparar el suero glucosado en medicina y líquidos fisiológicos.

2.2.1.10. Cumarinas

Sustancia que se encuentra en muchos vegetales, siendo más abundantes cuando se secan. Se encuentra en hojas, frutas, semillas y raíces, mayormente, en las gramíneas y umbelíferas. Da un olor agradable en el espliego, la asperilla olorosa, el tabaco, etc.

2.2.1.11. Esteroles

En la naturaleza se encuentra una gran cantidad y diversidad de sustancias con el núcleo esteroide, las cuales incluyen a los esteroides (o 3-hidroxiesteroides), los esteroides con grupos carbonilo (también denominados oxa o cetoesteroides), los esteroides con grupos amino en el núcleo o la cadena lateral (alcaloides esteroidales) y los cardenólidos (o cardiotónicos) entre otros. Estos a su vez se les encuentra en forma libre, esterificados con ácidos grasos o glicosidados.

2.2.1.12. Flavonoides

Derivados polihidroxilados de las estructuras básicas del 2 fenilcromano. Reducen el riesgo de varios tipos de cáncer y algunos trastornos de la vista.

Así también reducen la fragilidad capilar, protegen frente a estados tóxicos, antiinflamatorios y colorantes, combaten alergias, agregados plaquetarios, radicales libres, microbios, virus, tumores, hipertensión y protegen el sistema circulatorio. Se encuentran, por ejemplo, en la manzanilla.

2.2.1.13. Glucósidos cianogénicos

Los glucósidos cianogénicos son sustancias constituidas de una porción esteroide, una porción glicosídica y un anillo de lactona, que actúan sobre el músculo cardíaco y por tanto se utilizan como medicamentos contra la insuficiencia cardíaca. Se conocen entonces según el anillo lactónico dos grandes clases de cardiotónicos: los cardenólidos, y los bufanólidos o escilanólidos.

2.2.1.14. Mucílagos

Se componen en su mayor parte de polisacáridos, fermentos, productos de oxidación y elementos minerales. Al mezclarse con el agua dan como resultado una sustancia viscosa de aspecto gelatinoso. Poseen un amplio espectro de actuación: como antiinflamatorias, emolientes y vulnerarias.

2.2.1.15. Polisacáridos

Son polímeros de cadena lineal o ramificada, unidos a través de enlaces glicosídicos, sus monosacáridos son galactosa, fructosa y glucosa, siendo esta última la principal, pues está presente en un gran número. Estos carbohidratos tienen un alto peso molecular y son insolubles en agua. De los polisacáridos más utilizados en la industria de alimentos se tiene almidones, celulosas, pectinas, gomas, exudados de plantas, entre otros.

2.2.1.16. Saponinas

Son glucósidos presentes en muchas plantas. Son compuestos solubles en agua, incoloros y amorfos. Forman emulsiones muy espumosas y coloideas, por lo que son empleadas para la fabricación de jabones y lejías. La solubilidad en agua de estos compuestos está facilitada por su alto peso molecular y la presencia de los residuos de monosacáridos y de otros grupos polares en la aglicona. En fitoterapia, se usan porque producen un aumento en la liberación de glóbulos rojos (esto hace de ellas sustancias peligrosas, pues pueden llegar a ser tóxicas). En medicina se emplean como diuréticos, expectorantes y desinfectantes del aparato genitourinario. Plantas ricas en saponinas son el gordolobo, ginseng y saponaria, entre otras.

2.2.1.17. Taninos catéquicos y taninos gálicos

Son cada uno de los compuestos ternarios del carbono, hidrógeno y oxígeno. Suelen estar en la familia de las fanerógamas (robles, encinas) y en algunas criptógamas. Son solubles en agua, acetona y alcohol. En medicina natural se emplean para combatir la tos, la bronquitis, las quemaduras, heridas, hemorroides, diarreas y excesiva sudoración. Industrialmente, se usan para dar al cuero un aspecto más curtido. Los taninos catéquicos son sustancias que los ácidos no hidrolizan; los ácidos fuertes con calor o los agentes de oxidación, los convierten en rojas u oscuras.

2.2.1.18. Triterpenos

Constituyen los llamados aceites esenciales, que son compuestos de varias sustancias orgánicas volátiles o aromáticas, que pueden estar constituidos por alcoholes, acetonas, cetonas, éteres y aldehídos.

Se les extrae, preferentemente, por arrastre de vapor o por solventes orgánicos. Las plantas con aceites esenciales se ubican, principalmente, en las familias de las labiadas y las umbelíferas. Las propiedades curativas son variadas y abundantes. Por lo general, poseen propiedades sedantes, antiespasmódicas y desinfectantes. Dado que son compuestos volátiles, son eliminados por las vías respiratorias y actúan como expectorantes.

2.2.2. Cromatografía

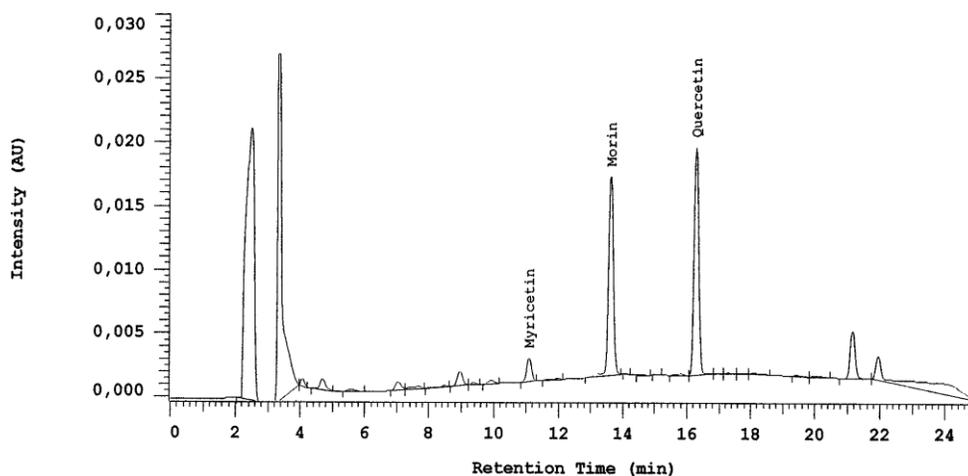
Cromatografía es el nombre que recibe una clase de procesos para la separación de mezclas multicomponentes de gases o líquidos. Se utiliza un lecho de sólidos o líquido inmovilizado como una fase estacionaria, así como alimentación intermitente del material a separar. Los componentes de la mezcla se mueven a través del lecho o eluyen mediante flujo continuo de un gas o líquido acarreador, que se convierte en la fase móvil.

La separación de los componentes de la alimentación entre las fases estacionaria y móvil se efectúa a diferentes velocidades a través del lecho debido a los distintos coeficientes de distribución. Si el lecho o columna es lo suficientemente grande, todos los componentes emergen de manera secuencial como impulsos separados, y un analizador en la salida muestra la concentración de cada componente en la fase móvil.

El término cromatografía proviene de las bandas de color vistas cuando se utilizó una columna de vidrio para separar mezclas líquidas de pigmentos de células vegetales. En la actualidad se aplica a otras separaciones similares. La columna, el analizador y el equipo asociado para controlar la velocidad de flujo y la temperatura reciben el nombre de cromatógrafo.

La gráfica de la señal del analizador que muestra los picos para cada componente es un cromatograma. Un cromatograma típico se representa en la figura 4 presentada a continuación:

Figura 4. **Cromatograma de separación y cuantificación de componentes químicos en la piel de uva**



Fuente: Upcommons.Upc.Edu/Revistes/ Bitstream/2099/2733/1/5cromgases.Pdf. Consulta: febrero de 2011.

Los cromatógrafos se clasifican por la naturaleza de las fases móvil y estacionaria de la siguiente manera: cromatografía de gases, cromatografía de líquidos, cromatografía de intercambio iónico y cromatografía de exclusión. A continuación se describen las que serán utilizadas en esta investigación.

2.2.2.1. Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG-MS)

La cromatografía de gases es una técnica separativa que tiene la cualidad de conseguir la separación de mezclas muy complejas.

Una vez separados, detectados, e incluso cuantificados todos los componentes individuales de una muestra problema, el único dato del que se dispone para la identificación de cada uno de ellos es el tiempo de retención de los correspondientes picos cromatográficos. Este dato no es suficiente para una identificación inequívoca, sobre todo cuando se analizan muestras con un número elevado de componentes, como es frecuente en cromatografía capilar de gases.

Por otra parte, la espectrometría de masas puede identificar de manera casi inequívoca cualquier sustancia pura, pero normalmente no es capaz de identificar los componentes individuales de una mezcla sin separar previamente sus componentes, debido a la extrema complejidad del espectro obtenido por superposición de los espectros particulares de cada componente. Por lo tanto, la asociación de las dos técnicas, GC (*Gas Chromatography*) y MS (*Mass Spectrometry*) da lugar a una técnica combinada GC-MS que permite la separación e identificación de mezclas complejas.

La utilización de la cromatografía de gases acoplada a un espectrómetro de masas requiere sistemas especiales de conexión. En principio, se trata de dos técnicas que trabajan en fase gaseosa y necesitan una muy pequeña cantidad de muestra para su análisis, por lo que son muy compatibles. El único obstáculo serio a la hora de realizar su acoplamiento es que el efluente que emerge de la columna cromatográfica sale a presión atmosférica y debe introducirse en el interior del espectrómetro de masas que trabaja a alto vacío.

En resumen, una mezcla de compuestos inyectada en el cromatógrafo de gases se separa en la columna cromatográfica obteniendo la elución sucesiva de los componentes individuales aislados que pasan inmediatamente al espectrómetro de masas.

Cada uno de estos componentes se registra en forma de pico cromatográfico y se identifica mediante su respectivo espectro de masas.

2.2.2.2. Cromatografía líquido-sólido (capa fina)

La técnica de cromatografía en capa fina (TLC) es una de las más comunes empleadas en un laboratorio de Química Orgánica. Entre otras cosas, permite determinar el grado de pureza de un compuesto, comparar muestras, realizar el seguimiento de una reacción y controlar el contenido de las fracciones obtenidas en cromatografía de columna.

2.2.3. Índice de refracción

La refracción es un fenómeno que se produce cuando la luz pasa de un medio de propagación a otro con una densidad óptica diferente, sufriendo un cambio de rapidez y un cambio de dirección, si no incide perpendicularmente en la superficie.

La velocidad de la luz depende del medio que atraviese, por lo que es más lenta cuanto más denso sea el material y viceversa. Por ello, cuando la luz pasa de un medio menos denso (aire) a otro más denso (cristal), el rayo de luz es refractado acercándose a la normal y por tanto, el ángulo de refracción será más pequeño que el ángulo de incidencia.

Del mismo modo, si el rayo de luz pasa de un medio más denso a uno menos denso, será refractado alejándose de la normal y por tanto, el ángulo de incidencia será menor que el de refracción.

El índice de refracción es la relación o cociente entre el ángulo de incidencia y el de refracción. El valor de este índice es una función directa del peso molecular de los aceites, aumentando en proporción al número de átomos de carbono que posean los ácidos grasos y a un grado de insaturación.

2.2.4. Densidad

Es una propiedad física que expresa la relación que existe entre la masa del cuerpo y su volumen. La densidad puede obtenerse de forma indirecta y directa. Para la obtención indirecta, se miden la masa y el volumen por separado y posteriormente se calcula la densidad. La masa se mide habitualmente con una balanza, mientras que el volumen puede medirse determinando la forma del objeto y midiendo las dimensiones apropiadas o mediante el desplazamiento de un líquido, entre otros métodos.

2.3. Extracción sólido-líquido

Debido a su importancia en la industria de hoy en día y su historia pasada, la extracción sólido-líquido ha sido conocida por muchos nombres. A continuación se presenta un resumen de las definiciones más comunes que conlleva el proceso de extracción sólido-líquido:

- Lixiviación (en minería): es un proceso que permite obtener el cobre de los minerales oxidados que lo contienen, aplicando una disolución de ácido sulfúrico y agua. Este proceso se basa en que los minerales oxidados son sensibles al ataque de soluciones ácidas. Se denomina también a una de las formas de obtener oro, se utiliza cianuro a la mina de oro para purificarlo (Diccionario RAE, 2001).

- Lixiviación: es la disolución preferente de uno o más componentes de una mezcla sólida por contacto con un disolvente líquido (Treybal, 1988).
- Lixiviación (según su origen semántico e histórico): se origina del latín “*lixivia*, -ae” sustantivo femenino que significa lejía. Los romanos usaban este término para referirse a los jugos que destilan las uvas antes de pisarlas, a las aceitunas antes de molerlas (Diccionario RAE, 2001).
- Percolación: es el movimiento lento de un líquido a través de un lecho fijo de un sólido poroso (Diccionario RAE, 2001).
- Decocción: es el procedimiento de extracción sólido-líquido que se refiere específicamente al uso del disolvente a su temperatura de ebullición (Treybal, 1988).
- Elución: es el procedimiento de extracción sólido-líquido, cuando el material soluble está sobre todo en la superficie de un sólido insoluble y simplemente se lava con el disolvente (Treybal, 1988).

“La lixiviación o extracción sólido-líquido, se utiliza para disolver materia soluble a partir de su mezcla con un sólido insoluble” (McCabe, 2007). De esta referencia se denota el uso de los términos “extracción sólido-líquido” o “lixiviación” para referirse a la misma operación unitaria; sin embargo, por las connotaciones semánticas de la palabra lixiviación, se utilizará para esta tesis el término “extracción sólido-líquido” para referirse al procedimiento consistente en separar uno varios componentes de una mezcla que forme parte de un sólido, mediante un disolvente adecuado.

En la forma más sencilla de esta operación básica se mezclan bien el material de extracción y el disolvente. A continuación se separa y se regenera el disolvente junto con el soluto en él disuelto. El material de extracción puede estar presente también como lecho fijo, que es atravesado por el disolvente.

En otra forma de aplicación, el material de extracción percola a través del disolvente. La regeneración del disolvente consiste, generalmente, en un proceso de evaporación/destilación. En él se elimina parte del disolvente y queda una solución concentrada de extracto como producto. El disolvente se condensa y se puede reutilizar.

Al empapar el sólido con el líquido de extracción (solvente), se disuelven primero las sustancias a las que el disolvente puede llegar sin obstáculos. Al triturar el sólido se destruyen varias células donde el grado de finura creciente favorece la disolución. Las sustancias que están contenidas en el sólido son lavadas y arrastradas de los fragmentos celulares por los disolventes mediante un proceso denominado “lavado celular”, simultáneamente, transcurre el proceso de difusión celular.

La extracción termina cuando se produce un equilibrio de concentraciones. La calidad del extracto vegetal depende de la calidad del material de partida. El contenido en sustancia activa de un sólido viene determinado, generalmente, por factores previos a la cosecha y que pueden tener su origen en el tiempo de recolección, el lugar, el tipo de abono, suelo y factores climáticos.

2.3.1. Tipos de extracción sólido-líquido

Los procesos de extracción varían en función de la escala de producción, de la naturaleza y calidad de la materia prima y de la naturaleza del solvente.

La técnica y el tipo de extracción están vinculados, ya que definiendo la técnica de extracción se estará también puntualizando el tipo de extracción que se va a realizar, por ejemplo:

- Técnica: maceración dinámica; tipo de extracción: dinámica
- Técnica: agotamiento; tipo de extracción: estática/intermitente
- Técnica: percolación; tipo de extracción: estática/intermitente
- Técnica: maceración estática; tipo de extracción: estática
- Técnica: lixiviación; tipo de extracción: continua/intermitente

De las técnicas anteriores, las más utilizadas a escala laboratorio, son la percolación a través de lechos de partículas y la maceración dinámica con reflujo. El equipo para la percolación a través de lechos es fácil de conseguir y sencillo de operar; por ejemplo en el aparato Soxhlet se realiza la clásica extracción sólido-líquido y para la maceración dinámica con reflujo solo se necesita un balón, un condensador, una plancha de calentamiento y un agitador.

2.3.1.1. Extracción sólido-líquido con unidad de tipo Soxhlet

El método Soxhlet es una de las formas más simples de la extracción sólido-líquido de materiales biológicos, el procedimiento básico consiste en llenar un dedal de celulosa con una muestra sólida de material. El solvente es puesto en un matraz, el cual cuando es llevado a temperatura de ebullición sube por un pequeño tubo; el condensador hace su función y cae nuevamente el solvente en el dedal. Aquí existe una percolación de todo el sólido y luego cuando se llena la cámara sifonea y vuelve a empezar un nuevo ciclo.

En la técnica Soxhlet cada etapa comienza desde que cae la primera gota del solvente condensado, hasta que sifonea la cámara de extracción. La técnica Soxhlet es una de las más sensibles en la toma de datos, ya que en sí, la unidad experimental, puede sacar muchas conclusiones con solo tomar los datos adecuados. Algunos datos que pueden ser útiles para monitorear el proceso se listan a continuación:

- pH
- Densidad
- Viscosidad
- Colorimetría (absorbancia)
- Refractometría (índice de refractancia)
- Tiempo de ciclo
- Ciclos por día
- Temperatura de cámara de extracción de Soxhlet

2.3.1.2. Extracción sólido-líquido por maceración dinámica con reflujo

La extracción sólido-líquido a través de la maceración dinámica con reflujo es una técnica de lixiviación rápida, donde a través de la agitación y las partículas totalmente suspendidas en la solución lixivante, se agota rápidamente el analito en la muestra (Reynoso, 2009).

La desventaja que presenta esta técnica es la poca información que se puede obtener, ya que no es posible obtener una muestra cada cierto tiempo por el peligro de afectar los balances de masa. Como ventaja presenta que es una técnica rápida, que da lugar para variar parámetros obteniendo solamente datos iniciales y finales.

El muestreo en esta técnica no se puede realizar con tanta frecuencia, por lo que únicamente es posible realizar mediciones de los siguientes parámetros:

- pH
- Densidad
- Viscosidad
- Absorbancia
- Índice de refractancia

2.3.2. Parámetros de la extracción sólido-líquido

El proceso de extracción sólido-líquido, conlleva algunos parámetros que pueden ser variados de acuerdo con el estudio que se está realizando. Estos se describen a continuación.

2.3.2.1. Tamaño de partícula

Cuanto más pequeño sea, mayor será el área de contacto entre el sólido y el líquido extractor, favoreciendo la velocidad de transferencia de materia del sólido al disolvente. Asimismo, se ve favorecida la difusión del soluto hacia el disolvente, por la menor distancia que ha de recorrer el soluto por el interior del sólido. Por otra parte, es aconsejable que el tamaño de partícula sea lo más homogéneo posible, procurando que no haya demasiadas partículas pequeñas que se alojen en los poros del sólido, impidiendo el paso del disolvente.

2.3.2.2. Naturaleza del solvente extractor

Debe de ser selectivo, y de baja viscosidad para facilitar su flujo a través del sólido.

2.3.2.3. Presión

Es muy difícil de variar ya que se requiere de equipos sofisticados, por lo tanto, la mayor parte de experimentos a nivel laboratorio son a presión atmosférica (640 mmHg); sin embargo, también se pueden realizar a presiones de vacío o a presiones supercríticas.

2.3.2.4. Temperatura

La temperatura es un factor favorecedor del proceso para la velocidad de extracción. En cualquier caso, el límite máximo de temperatura vendrá determinado por otros condicionantes, como la degradación de los sólidos biológicos, destrucción total o parcial de los principios activos o la pérdida de sustancias volátiles, por ejemplo, los componentes de aceites esenciales. Es más fácil de controlar en el proceso, solo hay que tener cuidado de mantenerla durante el mismo. Existen diferentes temperaturas para realizar la operación, las más comunes son:

- Temperatura ambiente
- Temperatura de ebullición de la solución
- A 70°C, ya que muchos sólidos biológicos se degradan a esta temperatura, o bien las proteínas de la matriz del sólido se desnaturalizan y se extraen otros elementos, por lo que la extracción deja de ser selectiva.
- Temperatura de fusión
- Temperatura supercrítica

2.3.2.5. Agitación

La eficiencia del proceso extractivo es función del equilibrio de saturación del solvente. La agitación hace que nuevas cantidades de solvente, pobre en las sustancias extraíbles, entren en contacto con el sólido y un nuevo punto de equilibrio de saturación sea alcanzado. El movimiento del líquido, con ayuda de bombas para la recirculación del solvente o agitadores mecánicos, desplaza el equilibrio en el sentido de la saturación del solvente, aumentando la eficiencia del proceso.

2.3.2.6. pH

El pH influye en la solubilidad de diversos compuestos ya que permite la posibilidad de formación de sales. La obtención de alcaloides constituye un ejemplo clásico de la influencia del pH en el proceso de extracción. La extracción de alcaloides con solventes orgánicos de baja polaridad exige un pretratamiento con soluciones alcalinas, buscando con esto liberar los alcaloides de sus sales y así volverlos solubles en el solvente orgánico. En el caso de extracción de alcaloides con soluciones acuosas, es necesario un pH ácido, buscando con esto la conversión de los alcaloides en sus respectivas sales, solubles en agua.

2.3.2.7. Tiempo

El tiempo de extracción se determina experimentalmente en función del solvente y del equipo seleccionado. El tiempo de extracción debe ser suficiente para permitir la separación de los compuestos de interés, aunque se debe prestar cuidado para que no sea excesivo. Prolongar el tiempo de extracción más allá del necesario, no influye en el proceso en sí, más sí en los costos, al consumirse más energía y mano de obra.

2.4. Tratamiento de la materia prima

A continuación se describen los pasos del tratamiento de la materia prima.

2.4.1. Recolección

Debido a que los resultados de la investigación dependerán de la calidad de la materia prima recolectada, debe procurarse su homogeneidad en estado de madurez, tamaño, forma, color etc. Para el caso específico de semillas, su calidad inicial dependerá tanto de los componentes visibles, por ejemplo, niveles de infestación por insectos u otros daños físicos; como no visibles, por ejemplo, la viabilidad inicial, el potencial de almacenamiento y la tolerancia al secado.

Generalmente, las semillas son recolectadas después de estar maduras; si estas provienen de frutos carnosos, deben estar limpias de los restos de la pulpa que las envuelve y estar secas. Además de la calidad, el recolector también debe asegurarse que la cantidad de semillas existente en la población potencial sea suficiente para satisfacer los requerimientos de la investigación. La limpieza y clasificación de la semilla es importante porque si el cuerpo extraño posee contaminantes, puede hacer variar los índices característicos del aceite que se va a obtener. Esta tarea se realiza utilizando cernidores.

2.4.2. Secado

Luego de la recolección viene un tratamiento especial de la semilla, teniendo como objetivo la conservación de las características físicas, químicas, organolépticas y farmacológicas.

El secado es la etapa en la que se reduce el contenido de humedad de la materia prima, sin embargo un tratamiento inadecuado de la semilla da como resultado una materia prima de baja calidad, con pérdida de principios activos, así como un aumento de la carga microbiana.

El contenido de humedad en las plantas frescas varía de 60% a 80%. El proceso de secado reduce este contenido a 5%-12%. La mayoría de las plantas medicinales pueden ser secadas a temperaturas que varían entre 30°C y 60°C, dejando siempre una buena circulación de aire para facilitar el proceso de secado.

2.4.3. Molienda

El éxito de una lixiviación y la técnica que se va a utilizar dependen con mucha frecuencia de cualquier tratamiento anterior que se le pueda dar al sólido. La molienda y trituración son etapas fundamentales en el tratamiento de la materia prima, ya que facilitará el paso del solvente a través del sólido. En primer lugar se debe emplear el seccionamiento que consiste en la división de los sólidos por medio de cortadoras y luego empleando una banda de cuchillas. También se puede emplear el proceso de percusión cuyo efecto de rompimiento se realiza por golpes bruscos de martillos.

Luego se tritura la materia biológica; la trituración expone más glándulas de aceite esencial crudo y reduce el grueso del material; esto permite una extracción más rápida, mayor rendimiento y mejor calidad del aceite esencial crudo, al mismo tiempo que menor consumo de solvente. Por último se muele la materia prima y se hace pasar por tamices específicos para obtener un tamaño de partícula uniforme.

2.5. Solventes

El solvente tiene la función de extraer el analito deseado, rompiendo las fuerzas de atracción que mantienen unidas a las partículas del soluto. Las moléculas del soluto no existen en solución como partículas desnudas; están solvatadas. Hay muchas moléculas de disolventes unidas por enlaces a cada partícula disuelta. Dichas fuerzas de atracción pueden ser enlaces ion-ion, enlaces dipolo-dipolo, fuerzas de Van der Waals o enlaces ion-dipolo.

En realidad un buen solvente debe presentar el llamado poder de solvatación: o la capacidad de formar enlaces. El poder de solvatación no depende, simplemente, de un elevado momento dipolar, sino que también tiene que ver con la naturaleza de los enlaces químicos formados.

2.5.1. Clasificación

Los solventes poseen varias características, pero la polaridad es una de las más importantes, debido a que esta propiedad dicta la capacidad para solvatar y estabilizar cargas. Los solventes pueden catalogarse de dos maneras: polares y no polares. Además pueden subdividirse en solventes polares próticos, polares apróticos, solventes apolares no oxigenados y apolares oxigenados.

En la siguiente tabla, se establece una clasificación general de los disolventes, considerando su carácter polar o apolar y la capacidad para ceder protones y formar enlaces de hidrógeno. Se muestran las propiedades que presentan los compuestos próticos y apróticos.

Tabla V. **Características de solventes**

Clasificación	Características
Próticos	<ul style="list-style-type: none"> • Poseen un grupo funcional capaz de ceder protones (OH, NH, SH) • Capacidad para formar puentes de hidrógeno • Polares
Apróticos polares	<ul style="list-style-type: none"> • Carecen de grupos funcionales capaces de ceder protones • Constante dieléctrica alta
Apróticos apolares	<ul style="list-style-type: none"> • Carecen de grupos funcionales capaces de ceder protones • Constante dieléctrica baja

Fuente: elaboración propia.

La constante dieléctrica y el momento dipolar son propiedades complementarias de una sustancia. Con frecuencia se utilizan ambas constantes físicas para caracterizar su polaridad, aunque el momento dipolar no representa la polaridad de un disolvente.

Cuando se dice que una molécula es polar, se quiere decir que tiene un elevado momento dipolar. Sin embargo, cuando se dice que un disolvente es polar, significa que tiene una elevada constante dieléctrica (ver tabla VI).

En otras palabras, la polaridad de un disolvente o constante dieléctrica, es una propiedad macroscópica, mientras que la polaridad molecular o momento dipolar es una propiedad de moléculas aisladas.

Tabla VI. **Clasificación de solventes**

Clasificación		Solvente	Constante dieléctrica (25°C)
Polar	Prótico	Agua	78,30
		Metanol	33,60
		Etanol	24,30
		Isopropanol	18,30
	Aprótico	Acetona	20,70
Apolar	Hidrocarburo Oxigenado	Acetato de etilo	6,0
		Éter etílico	4,34
	Hidrocarburo no Oxigenado	Hexano	1,89

Fuente: elaboración propia.

2.5.2. Metanol

También conocido como alcohol metílico o alcohol de madera, es el alcohol más sencillo. A temperatura ambiente se presenta como un líquido ligero (de baja densidad), incoloro, inflamable y tóxico que se emplea como anticongelante, disolvente y combustible.

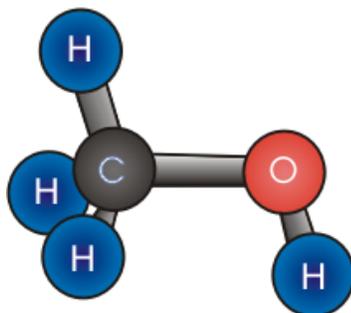
Las propiedades del metanol se presentan a continuación en la tabla VII, y su estructura molecular en la figura 5.

Tabla VII. **Propiedades del metanol**

Fórmula molecular	CH ₄ O
Masa molar	32,04 g/mol
Apariencia	Líquido claro, incoloro
Densidad	0,786 g/mL (20°C)
Punto de ebullición	64,7°C (1 atm)
Punto de fusión	-97,16°C (1 atm)
Temperatura de ignición	455 °C
Constante dieléctrica	33,6 (25°C)
Solubilidad en agua	Totalmente miscible

Fuente: elaboración propia.

Figura 5. **Estructura molecular del metanol**



Fuente: <http://quimica602.blogspot.com>. Consulta: febrero de 2011.

2.5.3. Hexano

El hexano es un hidrocarburo alifático alcano con seis átomos de carbono. Existen varios isómeros de esta sustancia, siendo la más conocida e importante la del n-hexano: CH₃ - CH₂ - CH₂ - CH₂ - CH₂ - CH₃.

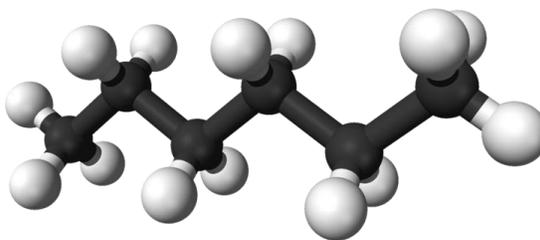
Se trata de un líquido incoloro, fácilmente inflamable y con un olor característico a disolvente. Es poco no polar o combinable con el agua, pero se mezcla bien con los disolventes orgánicos apolares como el alcohol, el éter o el benceno. Es muy poco polar, por lo que su momento dipolar es casi nulo y su fuerza de elución es muy baja ($\epsilon^{\circ}=0,01$). Las propiedades del hexano se presentan a continuación en la tabla VIII, su estructura molecular en la figura 6.

Tabla VIII. **Propiedades del hexano**

Fórmula molecular	C ₆ H ₁₄
Masa molar	86,2 g/mol
Apariencia	Líquido claro, incoloro
Densidad	0,66 g/mL
Punto de ebullición	68,85°C (1 atm)
Punto de fusión	-95,15°C (1 atm)
Temperatura de ignición	240 °C
Constante dieléctrica	1,89 (25°C)
Solubilidad en agua	Inmiscible

Fuente: elaboración propia.

Figura 6. **Estructura molecular del hexano**



Fuente: <http://quimica602.blogspot.com>. Consulta: febrero de 2011

2.5.4. Agua

El agua es un compuesto químico formado por dos átomos de hidrógeno (H) y uno de oxígeno (O). La molécula de agua es muy polar, puesto que hay una gran diferencia de electronegatividad entre el hidrógeno y el oxígeno. Los átomos de oxígeno son mucho más electronegativos que los de hidrógeno, lo que dota a los dos enlaces de una fuerte polaridad eléctrica, con un exceso de carga negativa del lado del oxígeno, y de carga positiva del lado de los hidrógenos.

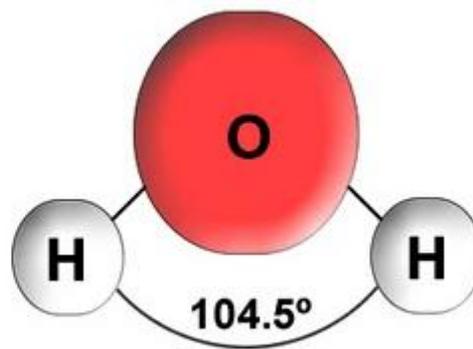
Los dos enlaces no están opuestos, sino que forman un ángulo de $104,45^\circ$ debido a la hibridación sp^3 del átomo de oxígeno, así que en conjunto, los tres átomos forman una molécula angular, cargada negativamente donde se ubica el oxígeno y positivamente donde se encuentran los hidrógenos. Este hecho permite que las moléculas de agua se atraigan fuertemente, adhiriéndose por donde son opuestas las cargas. Las propiedades se presentan a continuación en la tabla IX y su estructura molecular en la figura 7.

Tabla IX. **Propiedades del agua**

Fórmula molecular	H ₂ O
Masa molar	18,02 g/mol
Apariencia	Líquido, incoloro
Densidad	1 g/cm ³
Punto de ebullición	100°C (1 atm)
Punto de fusión	0°C (1 atm)
Constante dieléctrica	78,3 (25°C)
Solubilidad en agua	Totalmente miscible

Fuente: elaboración propia.

Figura 7. **Estructura molecular del agua**



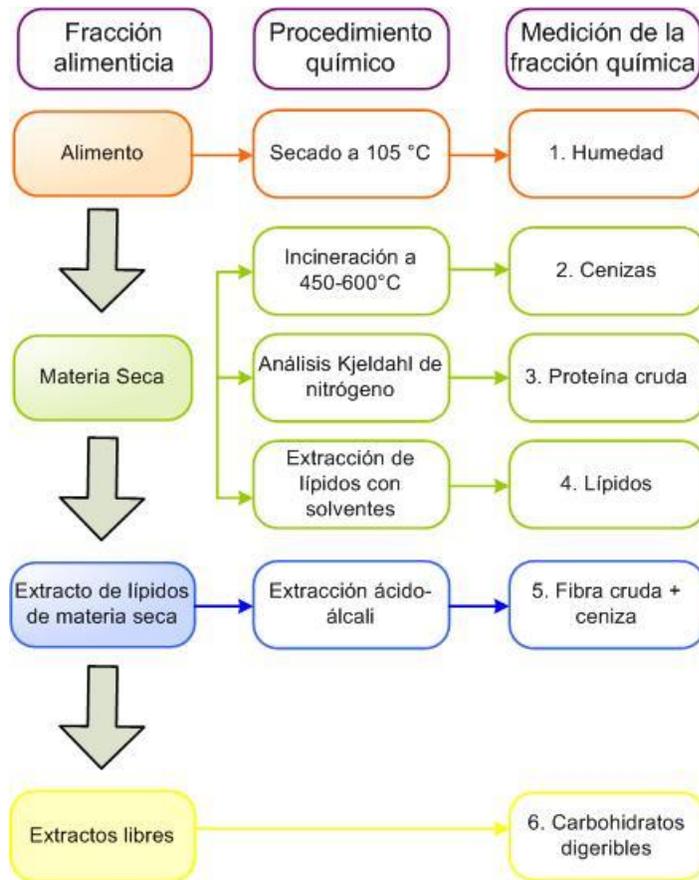
Fuente: <http://quimica602.blogspot.com>. Consulta: febrero de 2011.

2.6. **Análisis proximal**

El análisis proximal tiene como objetivo someter un material a una serie de pruebas químicas relativamente simples, para determinar su contenido de humedad, proteína cruda, cenizas, lípidos, fibra cruda y carbohidratos digeribles.

Este método es proximal porque no determina sustancias químicamente definibles, sino que asocia combinaciones orgánicas que responden a determinadas reacciones analíticas. Por ello se habla de grupos nutritivos. Una representación diagramática del esquema del método de Weende de análisis proximal de alimentos, se muestra en la figura 8.

Figura 8. **Método de Weende de análisis proximal**



Fuente: elaboración propia.

Estos procedimientos químicos revelan también el valor nutritivo de un producto y cómo puede ser combinado de la mejor forma con otras materias primas para alcanzar el nivel deseado de los distintos componentes de una dieta.

Es también un excelente procedimiento para realizar control de calidad y determinar si los productos terminados alcanzan los estándares establecidos por los productores y consumidores.

2.6.1. Proteína cruda

El contenido de proteína cruda de un ingrediente se determina usualmente por medio del método Kjeldahl, en el cual se mide el contenido de nitrógeno total en la muestra, convirtiendo luego este resultado a un valor total de proteína cruda, mediante una multiplicación por el factor empírico 6.25 (este factor de conversión se basa en la suposición de que la proteína promedio, contiene alrededor de 16% de nitrógeno por unidad de peso, aun cuando en la práctica es posible una variación entre 12 y 19% de nitrógeno entre proteínas individuales).

La mayor desventaja del método Kjeldahl, es que no diferencia entre nitrógeno proteico y no-proteico (NNP). Consecuentemente, aun cuando este método es generalmente satisfactorio para ingredientes alimenticios convencionales (ya que estos solo contienen pequeñas cantidades de NNP), no es el caso para proteínas microbianas unicelulares (proteína unicelular; bacterias, microalgas y levaduras) y ciertos productos animales de desecho, los cuales pueden contener cantidades considerables de NNP.

2.6.2. Extracto etéreo

El contenido de lípidos en los ingredientes alimenticios es usualmente determinado por extracción en solventes como éter de petróleo. Otros solventes que también han sido usados en la extracción de lípidos incluyen cloroformo, metanol y triclorofluorometano. Aun cuando la fracción lipídica o “extracto etéreo” de ingredientes de origen animal y oleaginosas convencionales, está compuesta predominantemente de triglicéridos, grasas y aceites alrededor de la mitad del “extracto etéreo”, puede estar en forma de sustancias no-glicéridos.

2.6.3. Fibra cruda

Varias técnicas químicas están disponibles para la estimación de carbohidratos en alimentos vegetales y animales. El método más comúnmente empleado divide los carbohidratos en dos fracciones, fibra cruda y extracto libre de nitrógeno.

La fibra cruda es el residuo orgánico insoluble, remanente después de extraer un material libre de grasa con ácido y álcali diluidos, bajo condiciones controladas. Sin embargo, el análisis de fibra en la dieta ha presentado múltiples dificultades.

La fibra cruda conocida en ocasiones como “*roughage*” es generalmente considerada como el componente carbohidrato no digerible de un ingrediente alimenticio o dieta. Entre los alimentos de origen vegetal, la fibra cruda se compone principalmente de varias proporciones de celulosa, hemicelulosa y lignina (esta última no es un carbohidrato, sino un compuesto aromático complejo), mientras que en productos animales, la fibra cruda se compone de varias proporciones de *glucans*, *manans* y aminoazúcares.

Por otra parte, el extracto libre de nitrógeno (ELN) es una medida indirecta de los carbohidratos “solubles” o “digeribles” presentes en el alimento. Se obtiene mediante la sumatoria de los valores porcentuales determinados para la humedad, proteína cruda, lípidos, fibra cruda y ceniza, y sustrayendo el total de 100. En alimentos basados en vegetales, esta fracción se compone principalmente de azúcares libres, almidón y otros carbohidratos digeribles.

2.6.4. Humedad

La determinación de humedad puede ser el análisis más importante llevado a cabo en un producto alimentario; sin embargo, puede ser el análisis del que es más difícil obtener resultados exactos y precisos. La materia seca que permanece en el alimento posterior a la remoción del agua se conoce como sólidos totales. Todos los cálculos de valor nutricional requieren del conocimiento previo del contenido de humedad. Los datos sobre contenido de humedad se utilizan para expresar los resultados de otras determinaciones analíticas en una base uniforme (por ejemplo, con base en el peso seco). El contenido de humedad de los alimentos varía enormemente. El agua es un constituyente principal en la mayoría de los productos alimenticios.

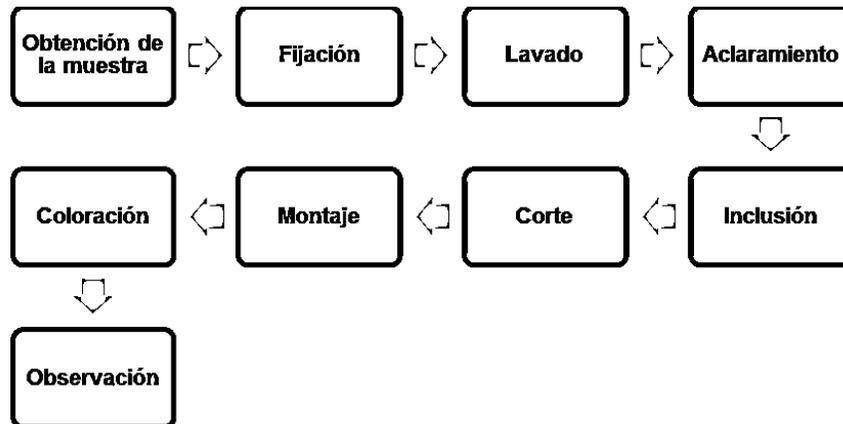
2.6.5. Cenizas

El contenido de ceniza de un alimento es el residuo inorgánico remanente, después de que la materia orgánica ha sido destruida por combustión en una mufla.

2.7. Estudio histológico

Se trata de una serie de métodos y técnicas utilizadas para poder estudiar las características morfológicas y moleculares de los tejidos. Este procedimiento se resume en la figura 9.

Figura 9. **Proceso del estudio histológico**



Fuente: elaboración propia.

La técnica histológica abarca varios procedimientos a los que se somete un tejido para proporcionar los cortes como se conocen, montados bajo un cubreobjeto con imágenes de estructuras contrastadas, para su estudio bajo microscopía óptica o electrónica. Para la obtención de cortes para observar a microscopio, hay que seguir un protocolo en el que se incluye la obtención de la muestra, su corte y montaje.

Para empezar con la técnica histológica se debe obtener una muestra del tejido.

- **Fijación:** este proceso se refiere al tratamiento del tejido con sustancias químicas, para mantener las células con las propiedades intactas lo mejor posible. Esto se logra al inactivar ciertas enzimas celulares que de otra manera iniciarían la autólisis. La fijación mantiene las estructuras al estimular la formación de enlaces cruzados entre las proteínas.

- Lavado: se hace para eliminar el exceso de fijador. Existen medios de inclusión que son hidrófobos y precisan de la eliminación de agua en la muestra. Debido a que una gran parte del tejido está constituida por agua, se aplica una serie gradual de soluciones acuosas de menor a mayor grado de agente deshidratante, por ejemplo, alcohol etílico o acetona.
- Aclaramiento o diafanización: luego de deshidratar el tejido, se pasa a una solución de una sustancia que es miscible tanto con el alcohol como con el medio de inclusión a utilizar (en la mayoría de los casos se utiliza como medio de inclusión parafina líquida). La sustancia comúnmente utilizada es el xileno o xilol. Se llama aclaramiento, ya que el tejido se torna transparente o claro en el xileno, esto se debe a que cambia su índice de refracción. También se puede utilizar tolueno, benzol o cloroformo, como medios de aclaramiento.
- Inclusión: por lo general, los tejidos son estructuras blandas y frágiles, incluso después de la fijación. De tal forma que previo a la obtención de los cortes, es necesario incluirlos en un medio de soporte. Los medios más utilizados son las ceras o resinas. En estado líquido, estos medios tienen la capacidad de penetrar y rodear el tejido, de esta forma se puede producir el endurecimiento (por enfriamiento o por polimerización), para formar un bloque sólido que pueda ser cortado fácilmente en el micrótopo. El objetivo de la inclusión es hacer facilitar la sección del tejido, a cortes lo suficientemente delgados, como para permitir el paso de la luz y ser examinados mediante el microscopio.

- Corte: la mayor parte de los preparados para microscopía óptica tienen un grosor entre 5 a 10 micrómetros. Para estos cortes se utiliza un aparato llamado micrótomo, con cuchillas de acero.
- Montaje: una vez cortadas las muestras, se deben fijar a un portaobjetos; para esto existen dos métodos de montaje: el de baño termostático y el de plancha caliente. En cualquiera de los dos métodos de montaje, los cortes se guardan al final en una estufa a 38°C para dejar evaporar la solución de montaje y terminar de adherir, como mínimo 48 horas.
- Coloración: se utiliza como medio de contraste. Para esto se debe proceder a la hidratación que se hace con una serie decreciente de alcohol, y luego ya se podrá aplicar la solución acuosa coloreada que sí podrá teñir la muestra. Los cortes ya hidratados se ponen en unos frascos llamados *copleen*, y no hay que dejar nunca que se sequen las muestras. Después de cada coloración hay que hacer un baño con agua.

3. DISEÑO METODOLÓGICO

3.1. Descripción de variables

Las principales variables involucradas en el estudio se describen a continuación, según su carácter dependiente o independiente.

3.1.1. Variables independientes

- Semilla de moringa proveniente del parcelamiento El Obrajuelo, municipio de Villa Canales, departamento de Guatemala.

3.1.2. Variables dependientes directas

- Caracterización en el análisis proximal y estudio histológico
- Humedad inicial (porcentaje) de la semilla de moringa
- Rendimiento de extracción (porcentaje) por solvente seleccionado
- Familias de metabolitos secundarios encontrados en el tamizaje fitoquímico
- Índice de refracción, densidad (gramos/mililitro) y sólidos totales de los extractos obtenidos

3.1.3. Variables del proceso de extracción sólido-líquido

La tabla X presenta las variables implicadas en el proceso de extracción de las fracciones extractables de la semilla de moringa.

Tabla X. **Variables del proceso de extracción de las fracciones extractables de la semilla de moringa**

No.	Descripción	Factor potencial de diseño		Factor perturbador	
		Constante	Variable	Controlable	No controlable
1	Solvente		X	X	
2	Temperatura		X	X	
3	Materia prima	X		X	
4	Relación soluto-solvente		X	X	
5	Tiempo de extracción		X		X
6	Tamaño de partícula	X		X	
7	Humedad de muestra	X		X	
8	Número de ciclos extractivos para técnica Soxhlet		X		X

Fuente: elaboración propia.

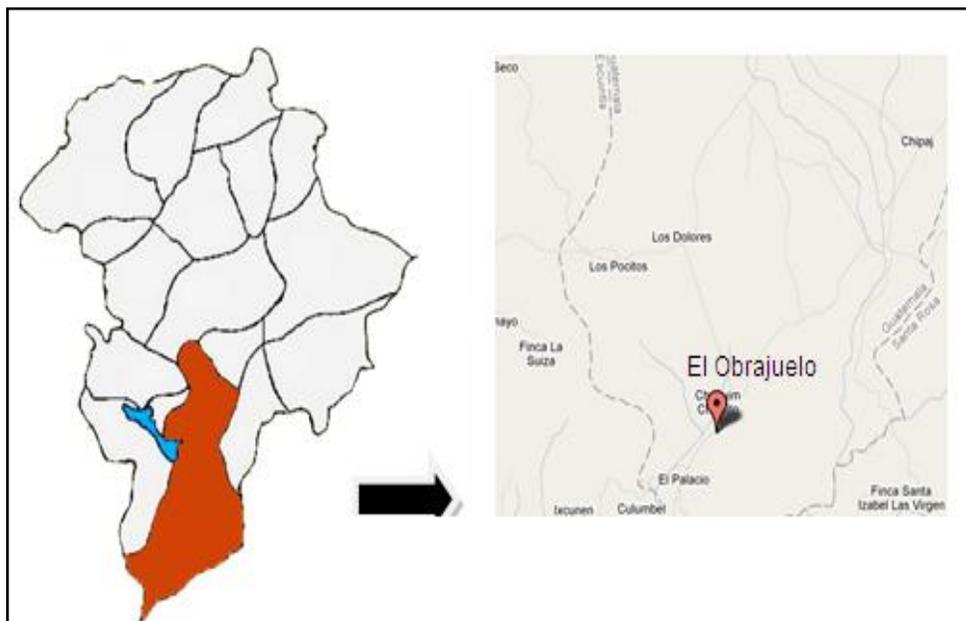
3.2. Delimitación del campo de estudio

A continuación se define la muestra, los solventes, las técnicas que se van a aplicar y el lugar en donde se desarrollará el experimento.

3.2.1. Selección de muestra

El estudio está enfocado en el estudio de la extracción por solventes a nivel laboratorio de la semilla de moringa, producida localmente en el municipio de Villa Canales, parcelamiento El Obrajuelo, el cual se encuentra en las coordenadas latitud 14°17'18" y longitud 90°33'44", a 800 metros sobre el nivel del mar (figura 10).

Figura 10. **Ubicación geográfica de la plantación de moringa en la aldea El Obrajuelo, Villa Canales**



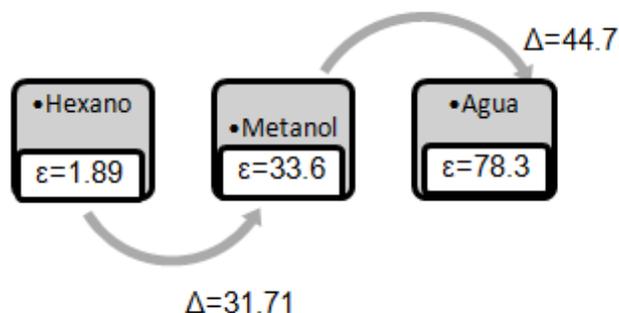
Fuente: elaboración propia.

3.2.2. Selección de solventes

Para el estudio se escogieron tres solventes con diferente constante dieléctrica, con el propósito de evaluar los efectos que tiene la polaridad de los solventes en la extracción de diferentes compuestos químicos contenidos en las semillas.

Los solventes son hexano con una baja constante dieléctrica de 1.89, el metanol con una constante dieléctrica media de 33.6 y el agua con una alta constante dieléctrica de 78.3, tal como se puede comparar en la figura 11.

Figura 11. **Constantes dieléctricas de solventes**



Fuente: elaboración propia.

3.2.3. Selección de técnicas

Para el presente estudio se obtuvieron las fracciones extraíbles de la semilla de moringa mediante la extracción sólido-líquido bajo el procedimiento de decocción. Se utilizó la técnica de extracción sólido-líquido con unidad de tipo Soxhlet para los solventes hexano y metanol y extracción sólido-líquido a reflujo para el agua. El criterio para la comparación de las técnicas es que el sólido será llevado hasta su agotamiento utilizando los tres solventes. Para verificar el estado del sólido se monitoreó en cada uno de los procedimientos la densidad y los sólidos totales de los extractos obtenidos, para ello se obtuvieron muestras durante la extracción.

3.2.4. Localización

La parte experimental de la investigación se realizó en los laboratorios del área de química de la Escuela de Ingeniería Química y la sección de química industrial, del Centro de Investigaciones de Ingeniería (CII), de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

3.3. Recursos humanos disponibles

- Investigadora: Br. Kandy Paola Gómez Gómez
- Asesor: Ingeniero Químico César Alfonso García Guerra
- Coasesora: Ingeniera Química: Cinthya Patricia Ortiz Quiroa

3.4. Recursos materiales disponibles

A continuación se describen todos los materiales utilizados.

3.4.1. Materia prima

- Semilla de moringa (*Moringa oleífera* Lam.)

3.4.2. Reactivos

- Solvente hexano (C_6H_{14}) concentración 99.9%
- Solvente metanol (CH_3O) concentración 99.9%
- Solvente agua desmineralizada (H_2O) marca Salvavidas

3.4.3. Equipo

- Equipo de extracción Soxhlet
- Molino de cuchillas
- Horno
- Plancha calentador-agitador
- Bomba de vacío
- Rotaevaporador
- Campana de extracción

3.4.4. Cristalería

- Matraces
- *Earlenmeyers*
- Balones
- *Beackers*
- Picnómetro
- Probetas
- Pipetas volumétricas
- Vidrios de reloj

3.4.5. Instrumentos de medición

- Termómetro
- Balanza analítica
- Balanza de humedad
- Refractómetro
- Cronómetro digital

3.4.6. Instalaciones

- Instalaciones del Laboratorio de Investigación de Extractos Vegetales (LIEXVE) de la Sección de Química Industrial del Centro de Investigaciones de Ingeniería, de la Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Instalaciones del Laboratorio de Investigación de Productos Naturales (LIPRONAT), Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, USAC.

- Herbario Aguat, Facultad de Agronomía, USAC.
- Laboratorio de Histología, Facultad de Agronomía, USAC.
- Instalaciones del laboratorio de Bromatología, Facultad de Veterinaria, USAC.

3.5. Técnica cualitativa o cuantitativa

A continuación se describe la metodología utilizada para la realización del estudio.

3.5.1. Estudio preliminar

Durante esta etapa se buscó conocer y analizar todos los conceptos básicos de la extracción sólido-líquido, a través de diferentes solventes. También se estudió el origen y usos actuales del árbol de moringa.

3.5.2. Estudio histológico y análisis proximal

Se recolectaron muestras del árbol de moringa, de sus vainas y semillas. Se realizó la identificación botánica de una muestra del árbol de moringa, para verificar que es de la especie deseada.

Mediante el estudio histológico se pudieron identificar las diferentes capas de células que componen la semilla de moringa, y así obtener conclusiones relevantes para la diferenciación específica del género y de los componentes químicos de la misma. El análisis proximal midió el contenido de humedad, grasa, proteína, cenizas y otros, presentes en la semilla a utilizar. Estos procedimientos químicos revelaron también el valor nutritivo del producto.

3.5.3. Preparación de la muestra

A las semillas recolectadas se les midió su contenido de humedad, el cual se encontró por debajo del 10%, por lo que no fue necesario secarlo para evitar su descomposición. Luego fueron molidas por un molino de cuchillas eléctrico y tamizadas entre dos tamices seleccionados, hasta obtener un tamaño de partícula uniforme entre los 2.00 y 1.70 micrones.

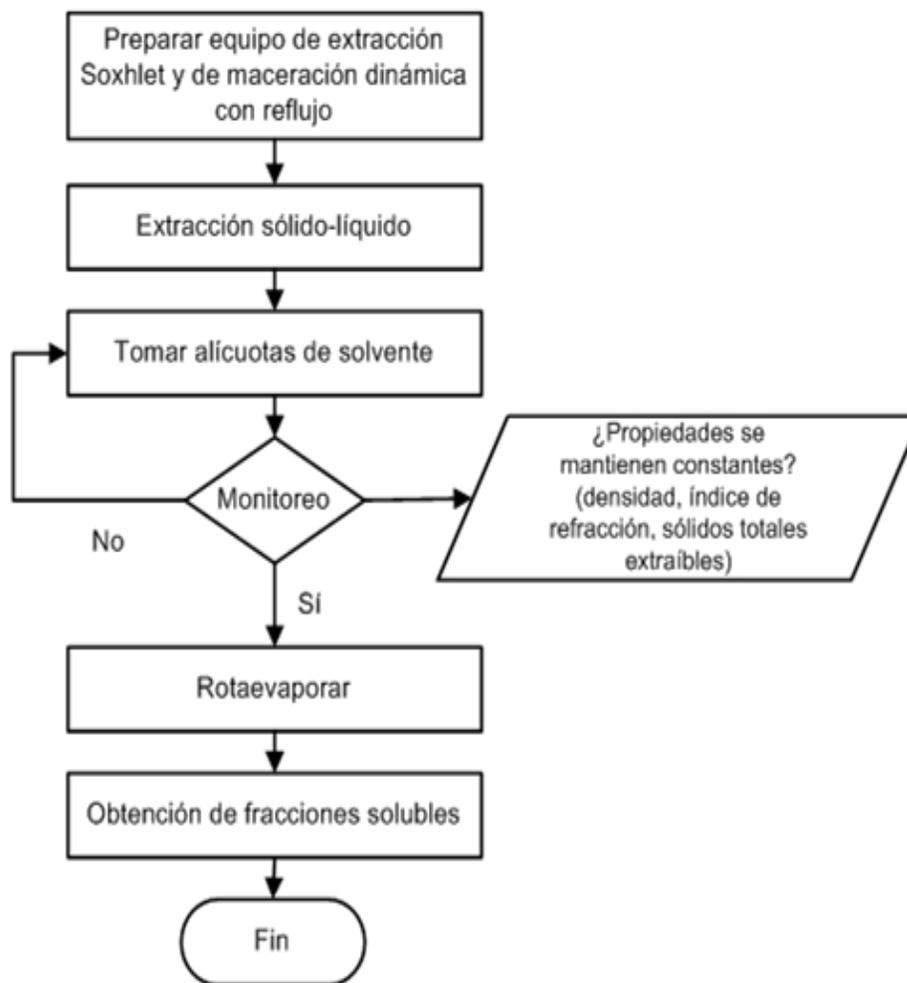
3.5.4. Estudio experimental

En esta fase se realizaron pruebas de tipo experimental. Se utilizó el procedimiento de decocción para obtener las fracciones extraíbles de la semilla de moringa. Para la extracción sólido-líquido con los solventes metanol y hexano se utilizó la unidad de extracción tipo Soxhlet, mientras que para la extracción de la fracción acuosa se utilizó el equipo de extracción sólido-líquido a reflujo.

La relación de masa soluto y volumen de solvente utilizado es de 6:1, solvente por semilla molida. Esta relación se estableció de manera que no haya tanto solvente como para evitar la formación de una pasta que obstaculice el paso del solvente a través del sólido, pero que exista la suficiente cantidad de solvente para dispersarse en el sólido.

El tiempo de extracción se estableció a partir de otras variables que fueron monitoreadas, como los sólidos totales y densidad del solvente. El proceso de extracción se continuó hasta que estas propiedades se mantuvieron constantes (ver figura 12), indicio de que el sólido se ha agotado.

Figura 12. **Procedimiento para extraer las fracciones extraíbles de la semilla de moringa**



Fuente: elaboración propia.

3.5.5. Evaluación de rendimiento

Durante esta fase se realizaron los cálculos para determinar el rendimiento de extracción con cada uno de estos solventes. El porcentaje de rendimiento se determinó en base seca (materia prima deshidratada/fracción extraíble).

3.5.6. Caracterización fitoquímica

En la última fase del proyecto se realizó el tamizaje fitoquímico de la fracción extraíble respectiva de la semilla de moringa; esto mediante técnicas cualitativas, para comprobar la presencia de metabolitos secundarios.

3.5.7. Identificación de compuestos químicos

Se realizó el análisis de cromatografía capilar de gases acoplada a espectrometría de masas (CGC-MS-DS), con el objeto de identificar y cuantificar los componentes volátiles y semivolátiles obtenidos de los extractos.

3.5.8. Interpretación de resultados

Para concluir con el estudio, se compararon los resultados de rendimiento de extracción obtenidos y así también se determinó la presencia de metabolitos secundarios de la fracción extraíble.

3.6. Recolección y ordenamiento de la información

Por el tipo de estudio realizado, tanto de tipo cualitativo como cuantitativo, y por ser los resultados de diferentes índoles, se resumen en la figura 13, cada una de las fases de las que se obtuvo información para cumplir con los objetivos del estudio.

Figura 13. Diagrama de flujo del desarrollo del trabajo



Fuente: elaboración propia.

3.7. Tabulación, ordenamiento y procesamiento de la información

Para la evaluación estadística del rendimiento de extracción se utilizó un diseño completamente al azar con un arreglo combinatorio, debido a que se evaluaron tres solventes para la extracción de la fracción soluble, con cinco repeticiones cada uno, haciendo un total de quince determinaciones.

Se realizó un análisis de varianza en una sola dirección, pues solo se analizó un factor con un tratamiento para tener un arreglo matricial como el presentado en la tabla XI.

Tabla XI. **Diseño experimental**

No. observación	Variación del solvente		
	Tratamiento 1 Técnica: Soxhlet (solvente: hexano)	Tratamiento 2 Técnica: Soxhlet (solvente: metanol)	Tratamiento 3 Técnica: maceración a reflujo (solvente: agua)
1	Y1,1	Y1,2	Y1,3
2	Y2,1	Y2,2	Y2,2
3	Y3,1	Y3,2	Y3,3
4	Y4,1	Y4,2	Y4,3
5	Y5,1	Y5,2	Y5,3

Fuente: elaboración propia.

Además la tabulación de datos obtenidos durante la experimentación se realizó en tablas como la tabla XII, presentada a continuación.

Tabla XII. **Tabla para el monitoreo de propiedades durante el proceso de extracción**

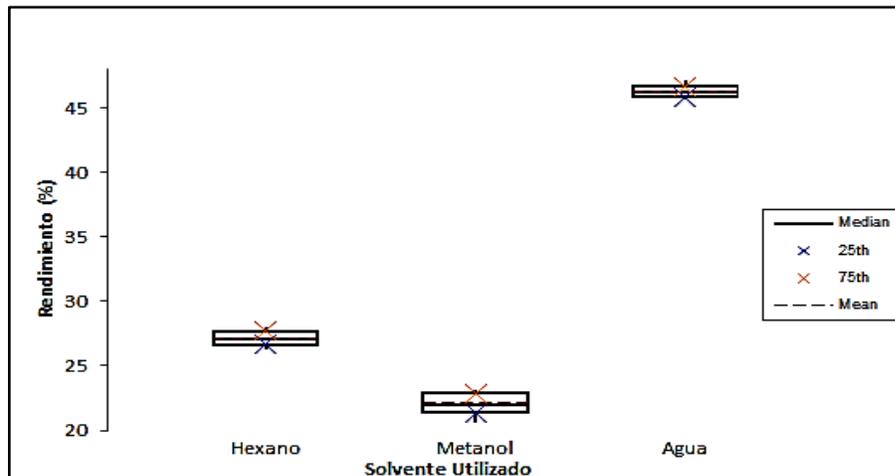
Ciclo No.	Tiempo (h:mm:ss)	Masa (g)	Humedad (%)	Sólidos totales (g)
1				
2				
3				
n				

Fuente: elaboración propia.

3.8. Análisis estadístico

Las siguientes tablas y gráficas presentan el análisis estadístico que fue realizado para la parte experimental del estudio.

Figura 14. **Diagrama de caja del rendimiento (porcentaje) versus solvente extractor de la fracción extraíble de la semilla de moringa (*Moringa oleífera* Lam.)**



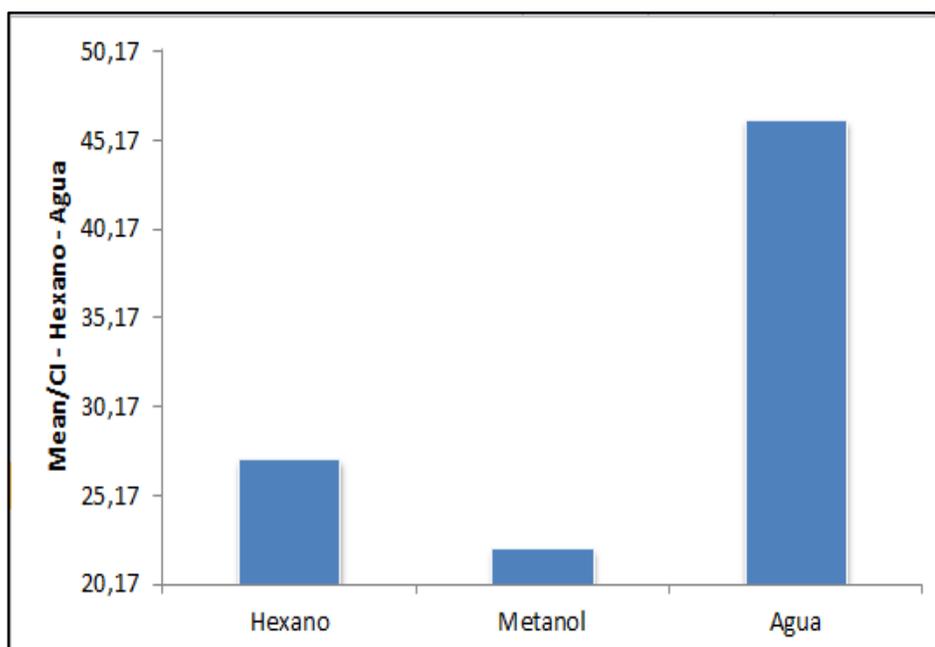
Fuente: elaboración propia.

Tabla XIII. **Análisis de varianza para el rendimiento porcentual**

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad
Solvente	1622,7301	2	811,3651	1 800,69	0,00
Error	5,4070	12	0,4506		
Total	1628,1372	14			

Fuente: elaboración propia.

Figura 15. **Medias marginales del rendimiento porcentual de la fracción extraíble de la semilla de moringa (*Moringa oleífera* Lam.)**



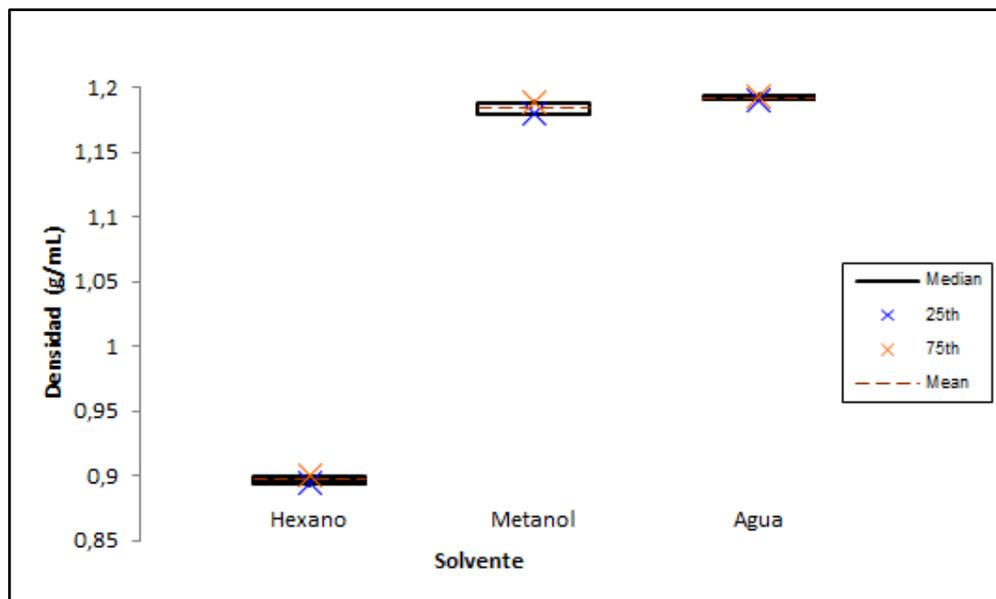
Fuente: elaboración propia.

Tabla XIV. **Comparación de Tukey para las medias del rendimiento porcentual**

Solvente	Media (%)	Subconjunto
Metanol	22,1007	A
Hexano	27,1519	B
Agua	46,2523	C

Fuente: elaboración propia.

Figura 16. **Diagrama de caja de densidad (gramos/mililitro) versus solvente extractor de la fracción extraíble de la semilla de moringa (*Moringa oleífera* Lam.)**



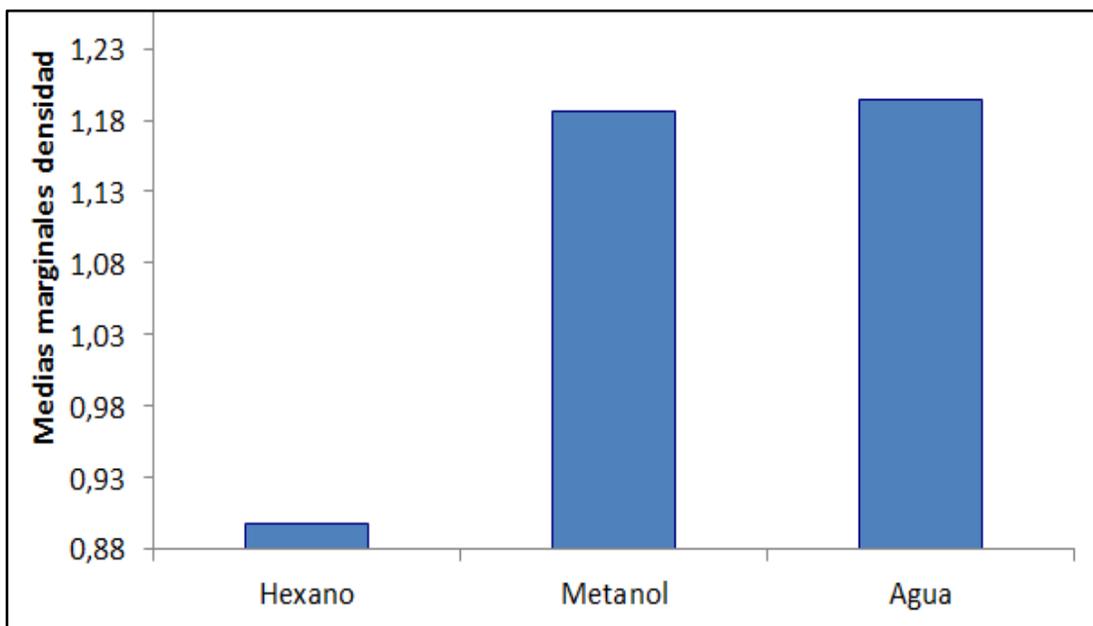
Fuente: elaboración propia.

Tabla XV. **Análisis de varianza para la densidad**

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad
Solvente	0,2834	2	0,1417	11 472,05	0,00
Error	0,0001	12	0,0000		
Total	0,2835	14			

Fuente: elaboración propia.

Figura 17. **Medias marginales de la densidad de la fracción extraíble de la semilla de moringa (*Moringa oleífera* Lam.)**



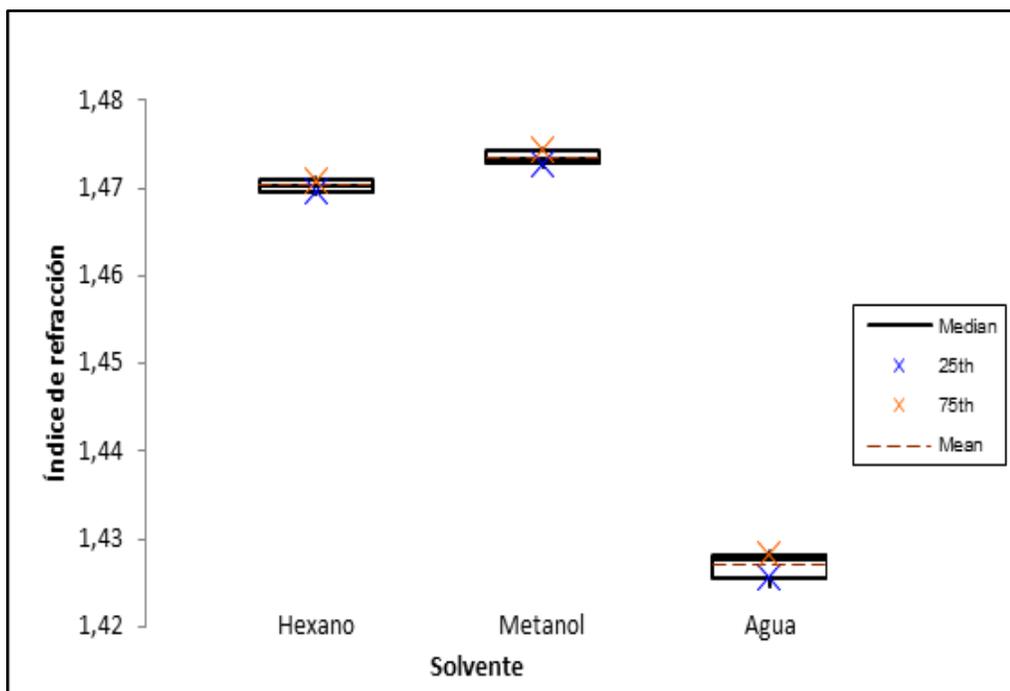
Fuente: elaboración propia.

Tabla XVI. Comparación de Tukey para las medias de la densidad

Solvente	Media (g/mL)	Subconjunto
Metanol	0,8968	A
Hexano	1,1846	B
Agua	1,1919	C

Fuente: elaboración propia.

Figura 18. Diagrama de caja del índice de refracción versus solvente extractor de la fracción extraíble de la semilla de moringa (*Moringa oleífera* Lam.)



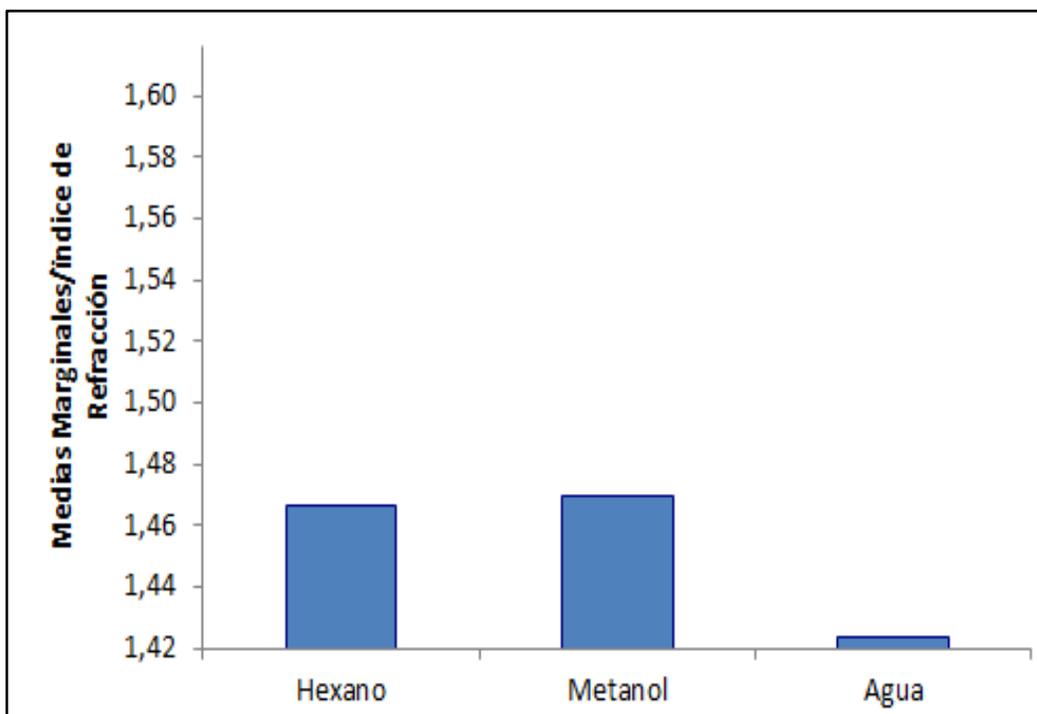
Fuente: elaboración propia.

Tabla XVII. **Análisis de varianza para el índice de refracción**

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad
Solvente	0,0067	2	0,0034	2 799,24	0,00
Error	0,0000	12	0,0000		
Total	0,0067	14			

Fuente: elaboración propia.

Figura 19. **Medias marginales del índice de refracción de la fracción extraíble de la semilla de moringa (*Moringa oleífera* Lam.)**



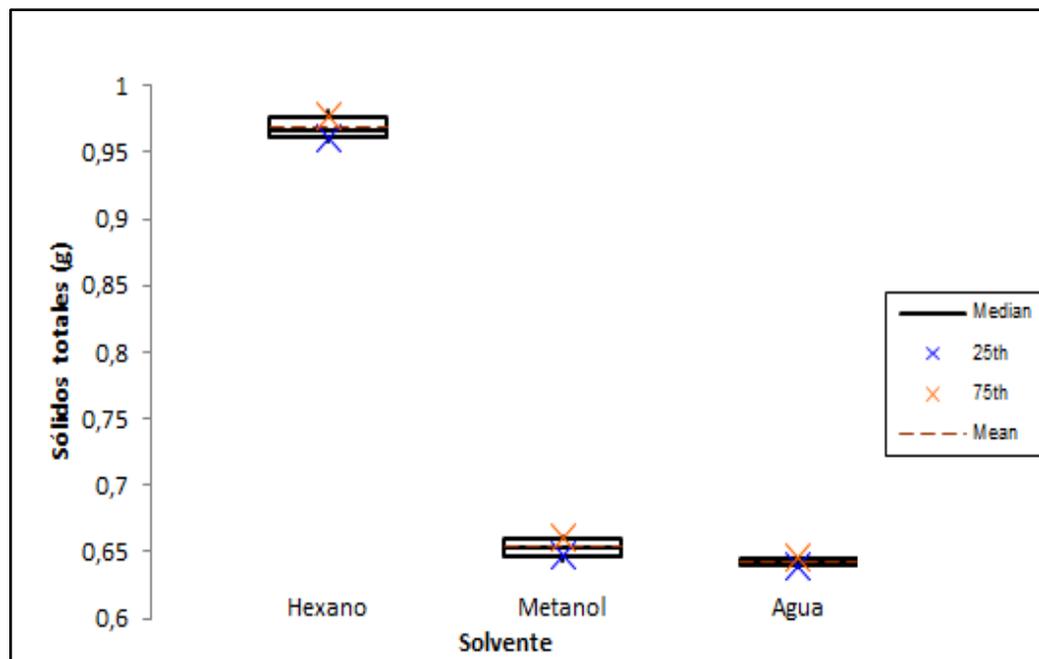
Fuente: elaboración propia.

Tabla XVIII. **Comparación de Tukey para las medias del índice de refracción**

Solvente	Media	Subconjunto
Metanol	1,4703	A
Hexano	1,4735	B
Agua	1,4270	C

Fuente: elaboración propia.

Figura 20. **Diagrama de caja de sólidos solubles totales (gramos) versus solvente extractor de la fracción extraíble de la semilla de moringa (*Moringa oleífera* Lam.)**



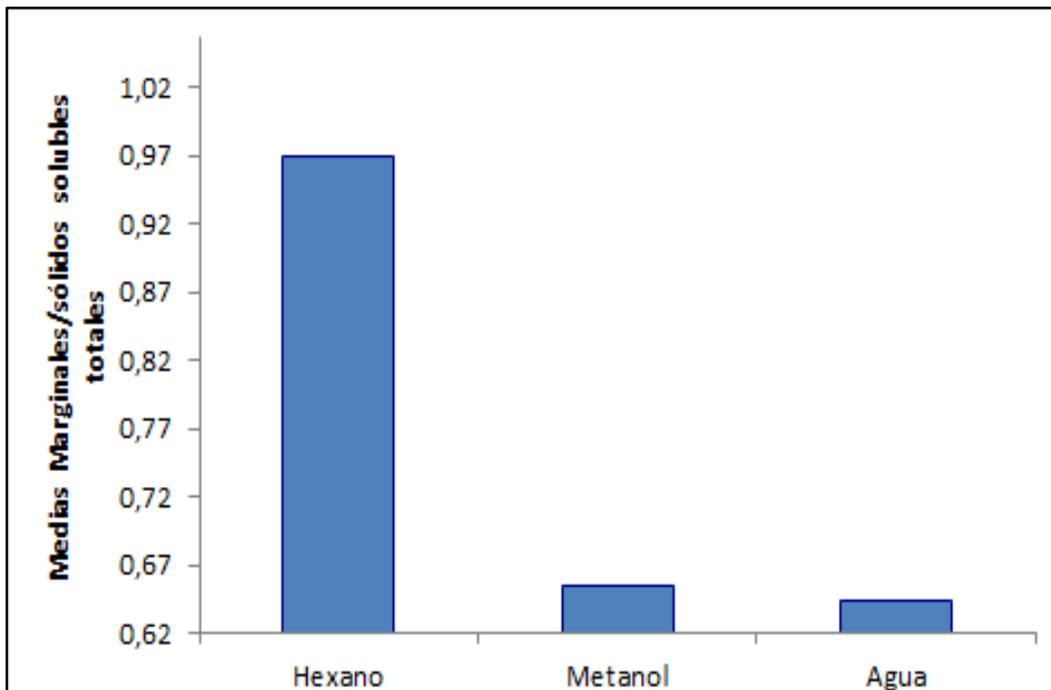
Fuente: elaboración propia.

Tabla XIX. **Análisis de varianza para los sólidos solubles totales**

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad
Solvente	0,3425	2	0,1713	3 786,09	0,00
Error	0,0005	12	0,0000		
Total	0,3431	14			

Fuente: elaboración propia.

Figura 21. **Medias marginales de los sólidos solubles totales de la fracción extraíble de la semilla de moringa (*Moringa oleífera* Lam.)**



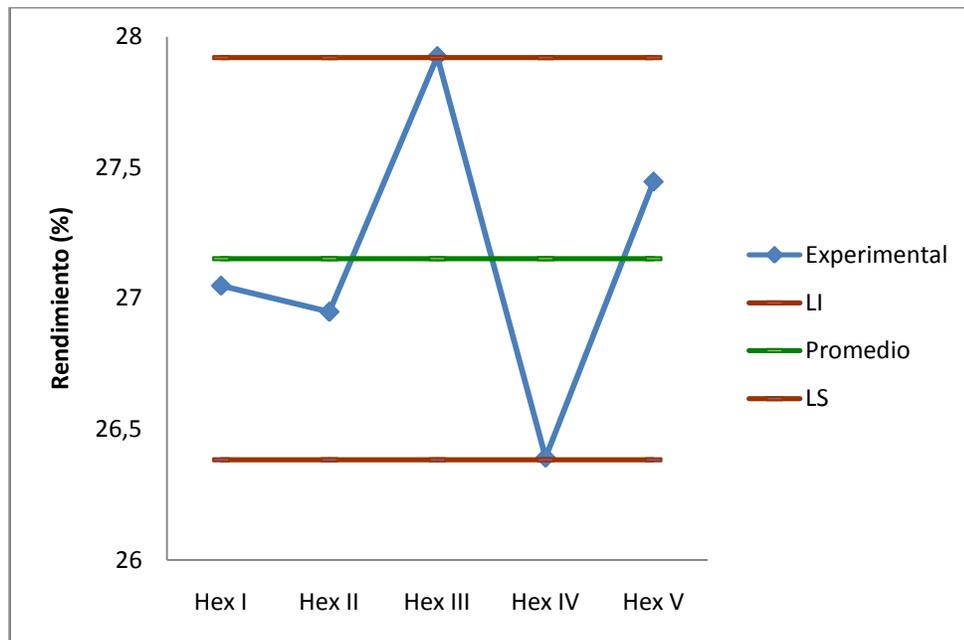
Fuente: elaboración propia.

Tabla XX. **Comparación de Tukey para las medias de los sólidos solubles totales**

Solvente	Media (g)	Subconjunto
Metanol	0,6536	A
Hexano	0,9685	B
Agua	0,6426	A

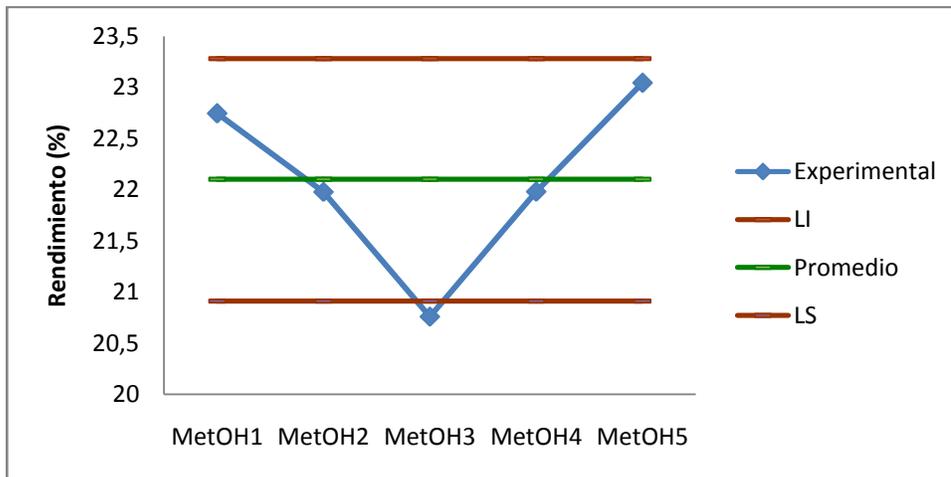
Fuente: elaboración propia.

Figura 22. **Diagrama de Schewart para el rendimiento de la fracción extraíble de la semilla de moringa (*Moringa oleífera* Lam.) utilizando hexano como solvente, con un nivel de confianza del 99%**



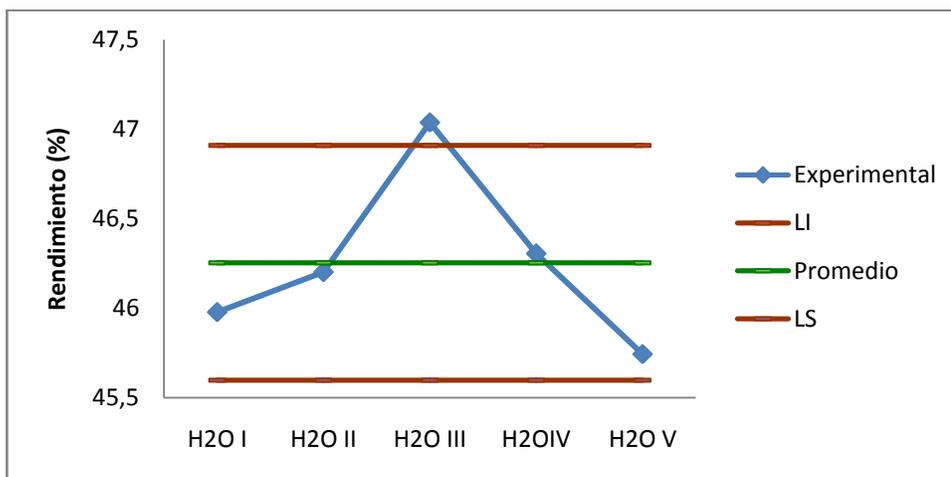
Fuente: elaboración propia.

Figura 23. Diagrama de Schewart para el rendimiento de la fracción extraíble de la semilla de moringa (*Moringa oleífera* Lam.) utilizando metanol como solvente, con un nivel de confianza del 99%



Fuente: elaboración propia.

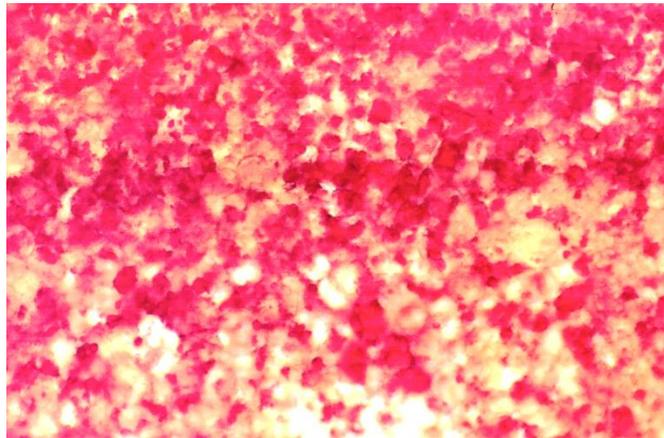
Figura 24. Diagrama de Schewart para el rendimiento de la fracción extraíble de la semilla de moringa (*Moringa oleífera* Lam.) utilizando agua como solvente, con un nivel de confianza del 99%



Fuente: elaboración propia.

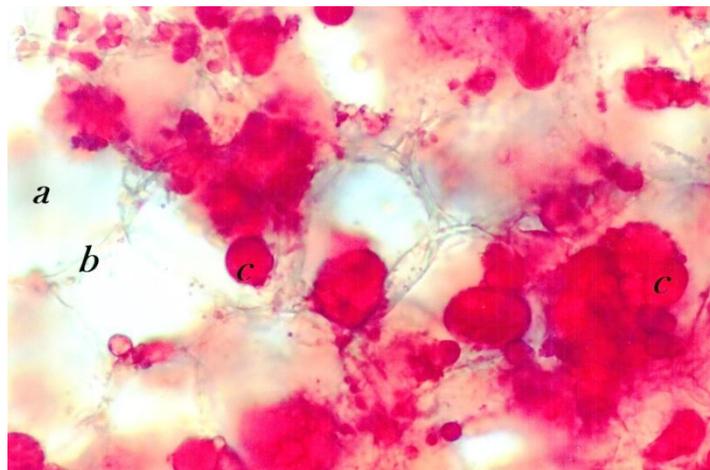
4. RESULTADOS

Figura 25. **Tejido nutritivo que conforma los cotiledones de la semilla de moringa (*Moringa oleífera* Lam.), teñido con Sudán IV, aumento 4X**



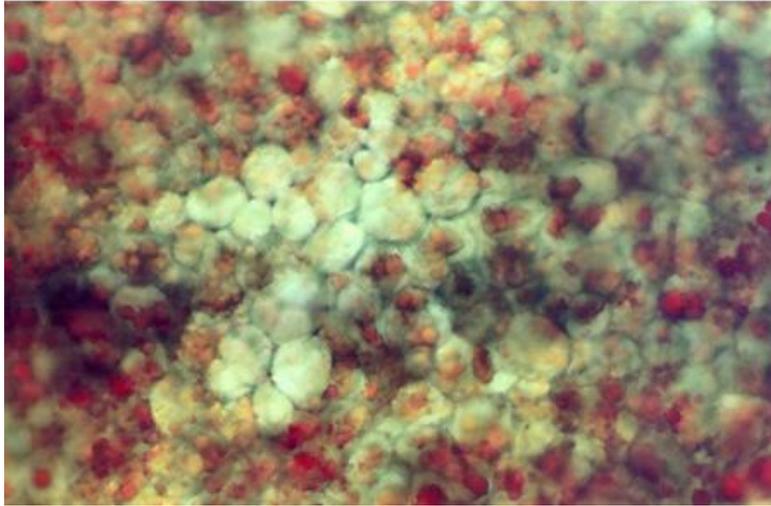
Fuente: Centro de microscopía, Facultad de Agronomía, USAC.

Figura 26. **Detalle de las células conteniendo eleoplastos, aumento 40X**



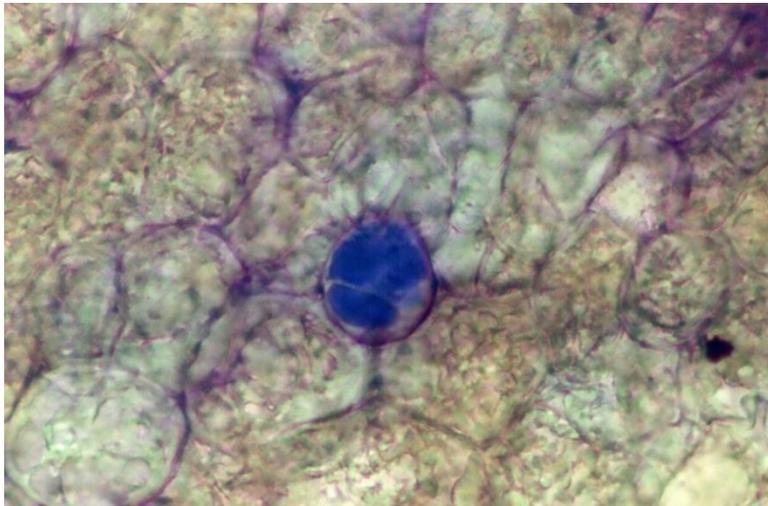
Fuente: Centro de microscopía, Facultad de Agronomía, USAC.

Figura 27. **Corte del área central del tejido de reserva, teñido con Sudán IV, aumento 10X**



Fuente: Centro de microscopía, Facultad de Agronomía, USAC.

Figura 28. **Tejido nutritivo de los cotiledones de la semilla de moringa (*Moringa oleífera* Lam.) teñidos con azul de cresilo, aumento 40X**



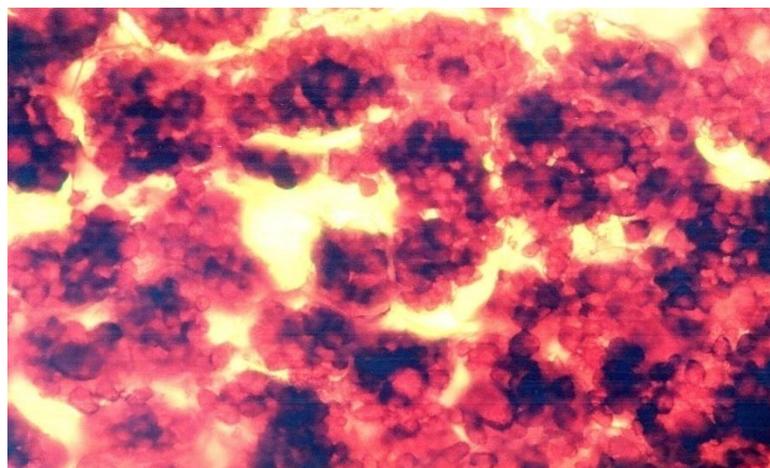
Fuente: Centro de microscopía, Facultad de Agronomía, USAC.

Figura 29. **Corte longitudinal de los cotiledones teñidos con lugol, aumento 4X**



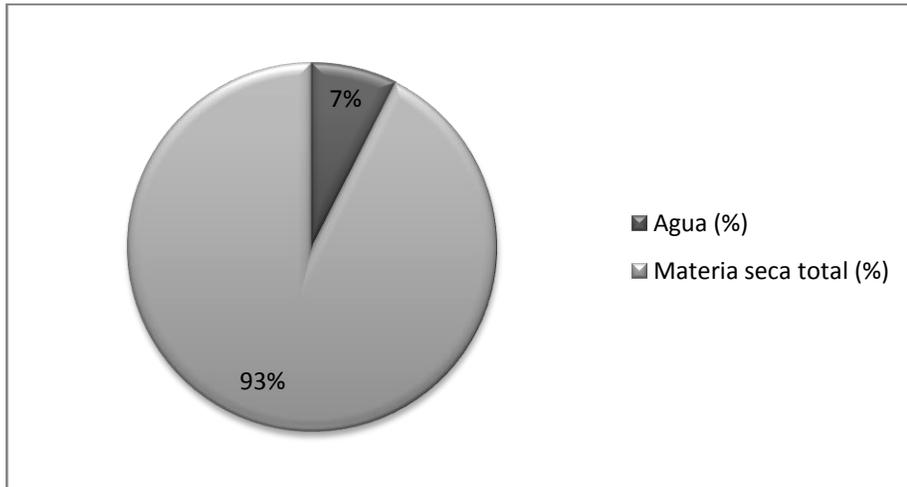
Fuente: Centro de microscopía, Facultad de Agronomía, USAC.

Figura 30. **Tejido cotiledonar de la semilla de moringa (*Moringa oleífera* Lam.) teñido con reactivo de Dragendorff, aumento 20X**



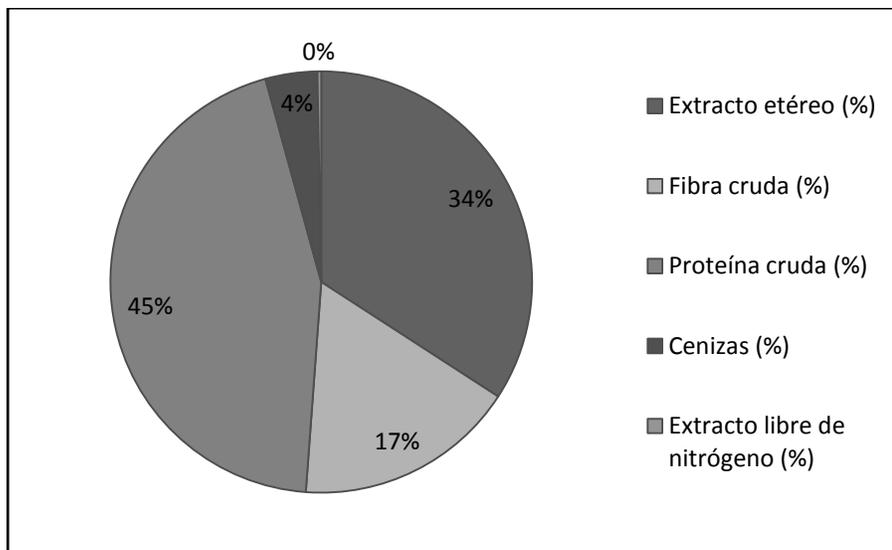
Fuente: Centro de microscopía, Facultad de Agronomía, USAC.

Figura 31. **Composición total de la semilla de moringa (*Moringa oleífera* Lam.), obtenida del análisis bromatológico**



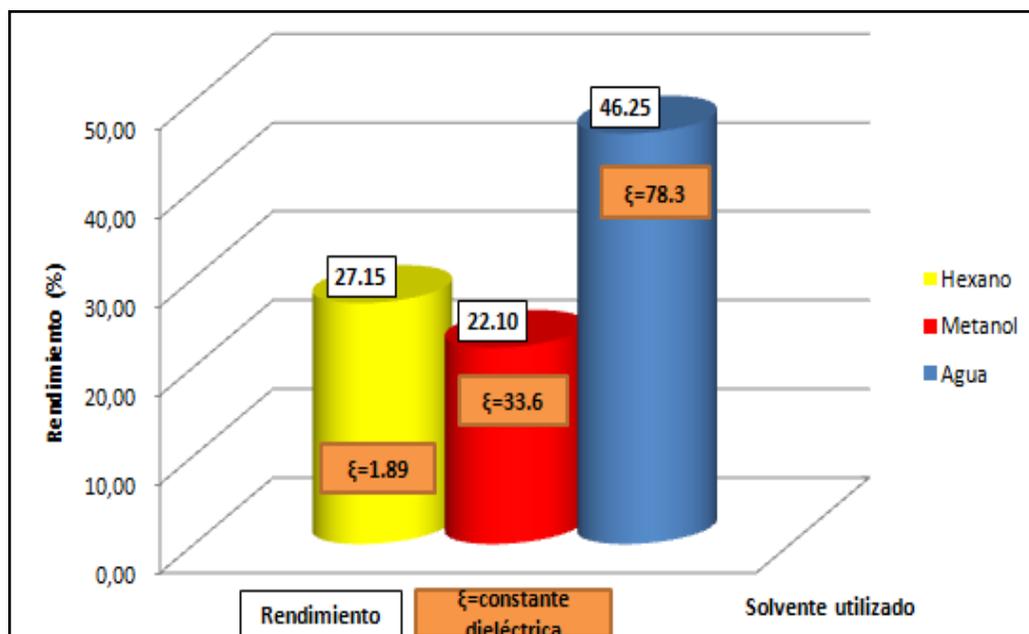
Fuente: elaboración propia.

Figura 32. **Composición con base seca de la semilla de moringa (*Moringa oleífera* Lam.), obtenida del análisis bromatológico**



Fuente: elaboración propia.

Figura 33. Rendimiento porcentual de la fracción extractable de la semilla de moringa (*Moringa oleífera* Lam.), en función del solvente utilizado



Fuente: elaboración propia.

Tabla XXI. Rendimiento porcentual total de la fracción extraíble con hexano, de la semilla de moringa (*Moringa oleífera* Lam.)

Repetición	Rendimiento (%)	Media (%)	Desviación estándar (%)
1	27,05	27,15	±0,5732
2	26,95		
3	27,92		
4	26,39		
5	27,45		

Fuente: elaboración propia.

Tabla XXII. Rendimiento porcentual total de la fracción extraíble con metanol, de la semilla de moringa (*Moringa oleífera* Lam.)

Repetición	Rendimiento (%)	Media (%)	Desviación estándar (%)
1	22,74	22,10	±0,8855
2	21,98		
3	20,76		
4	21,98		
5	23,04		

Fuente: elaboración propia.

Tabla XXIII. Rendimiento porcentual total de la fracción extraíble con agua, de la semilla de moringa (*Moringa oleífera* Lam.)

Repetición	Rendimiento (%)	Media (%)	Desviación estándar (%)
1	45,98	46,25	±0,4889
2	46,20		
3	47,04		
4	46,30		
5	45,74		

Fuente: elaboración propia.

Tabla XXIV. **Familias de metabolitos secundarios detectados en la fracción extraíble de la semilla de moringa (*Moringa oleífera* Lam.), al realizar el tamizaje fitoquímico, para cada solvente**

Metabolito Secundario		Solvente		
		Hexano	Metanol	Agua
Flavonoides		-	-	-
Antraquinonas		-	-	-
Alcaloides		-	-	-
Saponinas		+	+	+
Cumarinas		-	-	-
Aceites esenciales	Citronela	-	+	-
	Mirceno	+	+	+
	Limoneno	-	-	-
Taninos		-	-	-
Terpenos		-	-	-
+: indica la presencia del metabolito secundario -: indica la ausencia del metabolito secundario				

Fuente: elaboración propia.

Tabla XXV. **Metabolitos secundarios detectados en la fracción extractable de la semilla de moringa (*Moringa oleífera* Lam.), utilizando cromatografía capilar de gases acoplada a espectrometría de masas (CGC/MS/DS)**

Técnica	Solvente	Constante dieléctrica	Metabolito Secundario	Área (%)	Tiempo de retención
Extracción Soxhlet	Hexano	1,89	Éster del ácido ftálico	88,93	20,29
			Éster metilo del ácido oleico	9,11	16,07
			Éster metilo del ácido palmítico	1,07	14,97
			Éster metilo del ácido esteárico	0,90	16,20
Extracción Soxhlet	Metanol	33,6	5-Hidroximetil-2-furancarbaldehído	7,78	10,39
			4-Hidroxibencenoacetoniitrilo	28,40	12,37
			Éster metilo del ácido palmítico	0,84	14,95
			Ácido palmítico	0,46	15,18
			Éster metilo del ácido oleico	8,01	16,07
			Éster metilo del ácido esteárico	0,63	16,19
			Ácido oleico (cis)	1,39	16,36
			Ácido 3-nitroftálico	30,77	20,28
			Otros (sin identificar)	21,72	-
Extracción sólido-líquido a reflujo	Agua	78,3	3 fluoro-2,5 dimetil 2,4 hexadieno	0,25	8,79
			4-Hidroxibencenoacetoniitrilo	29,43	12,34
			Éster metilo del ácido oleico	0,92	16,07
			Éster del ácido ftálico	37,51	20,24
			Otros (sin identificar)	31,89	-

Fuente: elaboración propia.

Tabla XXVI. **Clasificación de los metabolitos secundarios encontrados en la fracción extractable de la semilla de moringa (*Moringa oleífera* Lam.), al utilizar cromatografía capilar de gases acoplada a espectrometría de masas (CGC/MS/DS)**

Tipo	Solvente	Nombre
Ésteres	Hexano	Éster del ácido ftálico
		Éster metilo del ácido oleico
		Éster metilo del ácido palmítico
		Éster metilo del ácido esteárico
	Metanol	Éster metilo del ácido palmítico
		Éster metilo del ácido oleico
		Éster metilo del ácido esteárico
	Agua	Éster metilo del ácido oleico
Éster del ácido ftálico		
Ácidos Grasos	Hexano	-
	Metanol	Ácido palmítico
		Ácido oleico (cis)
		Ácido 3-nitroftálico
	Agua	-
Otros	Hexano	-
	Metanol	5-Hidroximetil-2-furancarbaldehído
		4-Hidroxibencenoacetnitrilo
	Agua	3 fluoro-2,5 dimetil 2,4 hexadieno
		4-Hidroxibencenoacetnitrilo

Fuente: elaboración propia.

Tabla XXVII. **Densidad de las fracciones extraíbles de la semilla de moringa (*Moringa oleífera* Lam.), obtenidas con los diferentes solventes**

Muestra	Densidad a 22°C (g/mL)	Media (g/mL)	Desviación estándar (g/mL)
Hexano 1	0,8922	0,8968	± 0,0030
Hexano 2	0,8989		
Hexano 3	0,8965		
Hexano 4	0,8963		
Hexano 5	0,8999		
Metanol 1	1,1873	1,1846	± 0,0049
Metanol 2	1,1789		
Metanol 3	1,1879		
Metanol 4	1,1891		
Metanol 5	1,1798		
Agua 1	1,1905	1,1919	± 0,0022
Agua 2	1,1902		
Agua 3	1,1956		
Agua 4	1,1918		
Agua 5	1,1917		

Fuente: elaboración propia.

Tabla XXVIII. Índice de refracción de las fracciones extraíbles de la semilla de moringa (*Moringa oleífera* Lam.), obtenidas con los diferentes solventes

Muestra	Índice de refracción	Media	Desviación estándar
Hexano 1	1,4707	1,4703	± 0,0007
Hexano 2	1,4700		
Hexano 3	1,4702		
Hexano 4	1,4693		
Hexano 5	1,4711		
Metanol 1	1,4731	1,4735	± 0,0008
Metanol 2	1,4725		
Metanol 3	1,4745		
Metanol 4	1,4742		
Metanol 5	1,4734		
Agua 1	1,4276	1,4270	± 0,0016
Agua 2	1,4286		
Agua 3	1,4267		
Agua 4	1,4245		
Agua 5	1,4278		

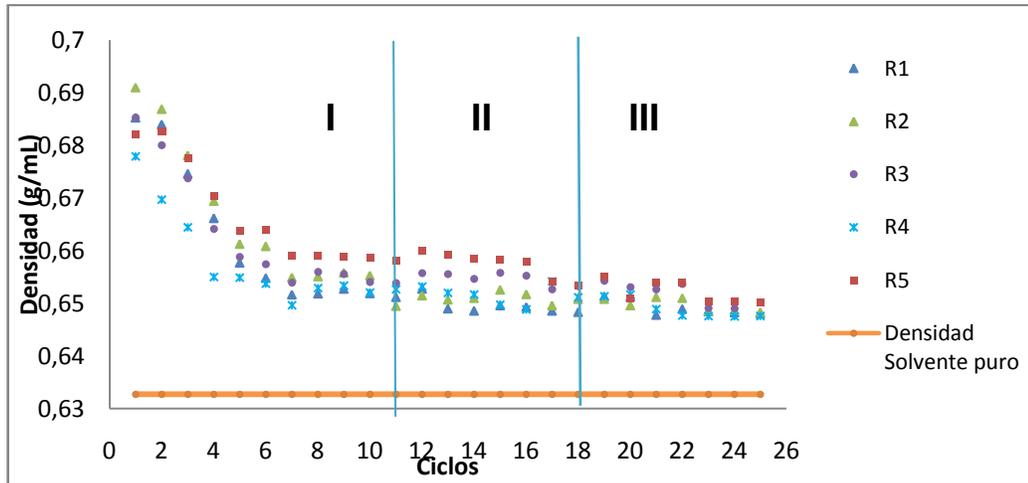
Fuente: elaboración propia.

Tabla XXIX. **Sólidos solubles de las fracciones extraíbles de la semilla de moringa (*Moringa oleífera* Lam.), obtenidas con los diferentes solventes**

Muestra	Sólidos solubles totales (g)	Media (g)	Desviación estándar (g)
Hexano 1	0,9671	0,9685	± 0,0086
Hexano 2	0,9634		
Hexano 3	0,9587		
Hexano 4	0,9812		
Hexano 5	0,9722		
Metanol 1	0,6505	0,6536	± 0,0072
Metanol 2	0,6434		
Metanol 3	0,6535		
Metanol 4	0,6618		
Metanol 5	0,6589		
Agua 1	0,6451	0,6426	± 0,0030
Agua 2	0,6432		
Agua 3	0,6456		
Agua 4	0,6401		
Agua 5	0,6390		

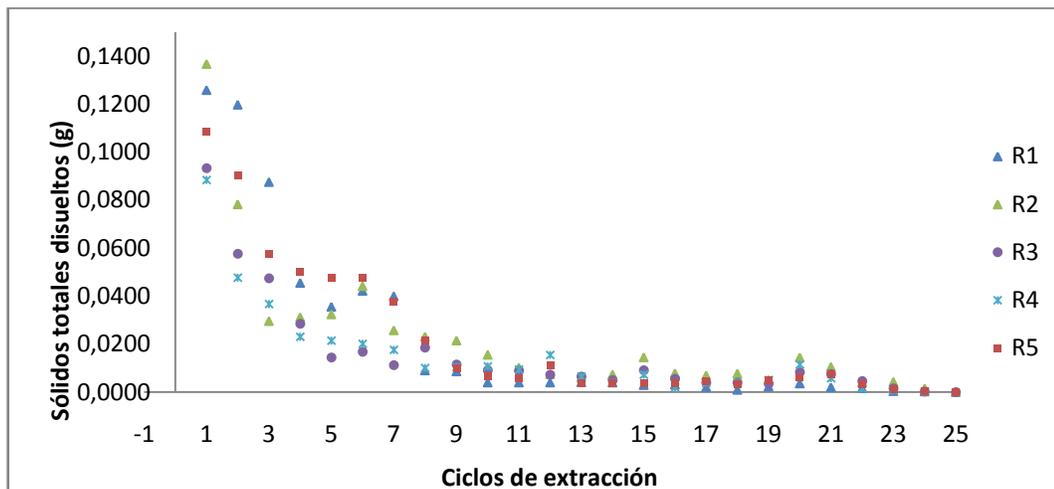
Fuente: elaboración propia.

Figura 34. **Monitoreo de la densidad del extracto de la semilla de moringa (*Moringa oleífera* Lam.), durante el proceso de decocción, utilizando la técnica Soxhlet y hexano como solvente**



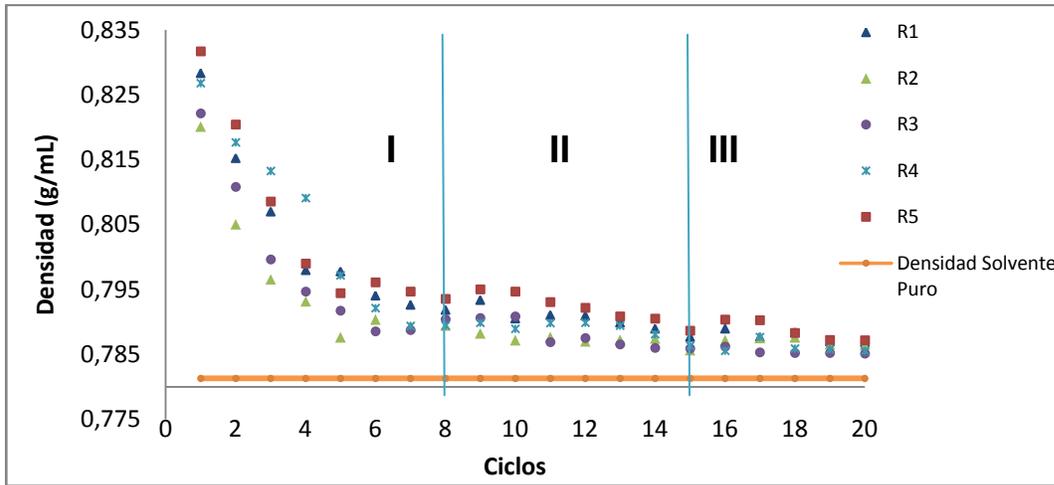
Fuente: elaboración propia.

Figura 35. **Monitoreo de los sólidos totales disueltos del extracto de la semilla de moringa (*Moringa oleífera* Lam.), durante el proceso de decocción, utilizando la técnica Soxhlet y hexano como solvente**



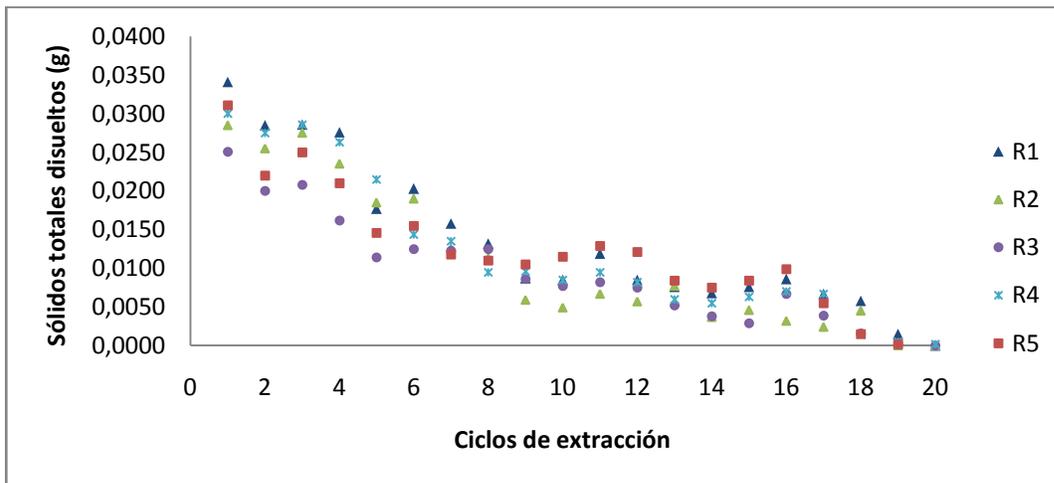
Fuente: elaboración propia.

Figura 36. **Monitoreo de la densidad del extracto de la semilla de moringa (*Moringa oleífera* Lam.), durante el proceso de decocción, utilizando la técnica Soxhlet y metanol como solvente**



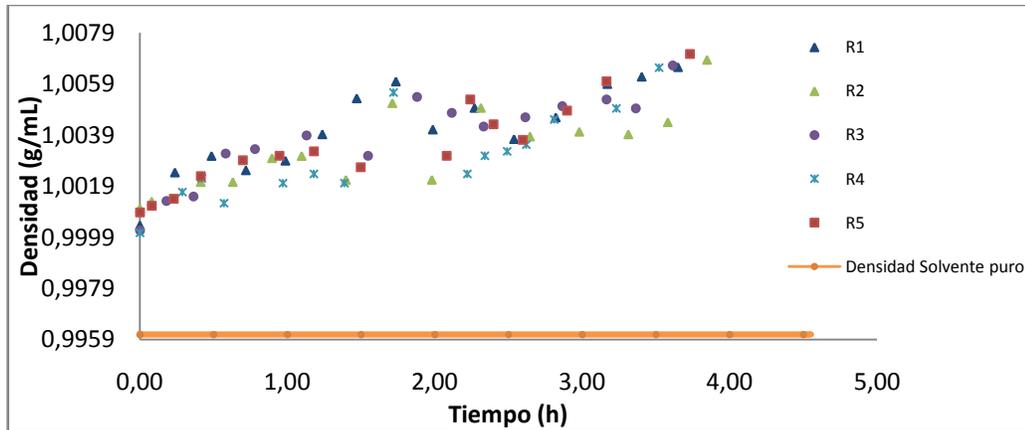
Fuente: elaboración propia.

Figura 37. **Monitoreo de los sólidos totales disueltos del extracto de la semilla de moringa (*Moringa oleífera* Lam.), durante el proceso de decocción, utilizando la técnica Soxhlet y metanol como solvente**



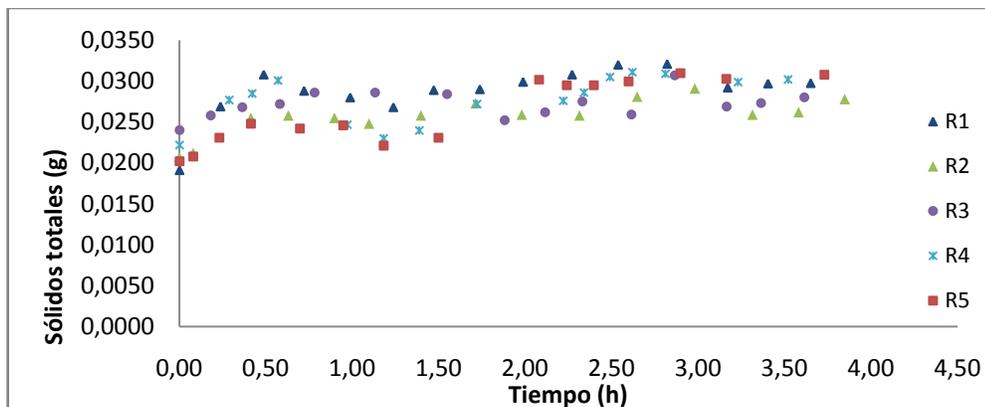
Fuente: elaboración propia.

Figura 38. **Monitoreo de la densidad del extracto de la semilla de moringa (*Moringa oleífera* Lam.), durante el proceso de decocción, utilizando la técnica de extracción sólido-líquido a reflujo y agua como solvente**



Fuente: elaboración propia.

Figura 39. **Monitoreo de los sólidos totales disueltos del extracto de la semilla de moringa (*Moringa oleífera* Lam.), durante el proceso de decocción, utilizando la técnica de extracción sólido-líquido a reflujo y agua como solvente**



Fuente: elaboración propia.

5. INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Mediante el presente trabajo de graduación se buscó obtener extractos de la semilla de moringa (*Moringa oleífera* Lam.), mediante extracciones sólido-líquido, a nivel laboratorio, bajo procedimiento de decocción, utilizando tres diferentes solventes. Posteriormente se evaluó el rendimiento de extracción obtenido con cada uno y se realizó el tamizaje fitoquímico y la cromatografía capilar de gases a las fracciones extraíbles, para conocer las familias de metabolitos secundarios contenidas en ellos. Así también se realizaron estudios complementarios a la semilla, para conocer sus componentes físicos y químicos, siendo estos el estudio histológico y el análisis proximal también llamado bromatológico.

5.1. Estudio histológico

Se realizó el corte histológico de la semilla de moringa (*Moringa oleífera* Lam.), con el objeto de estudiar las características morfológicas y moleculares de los tejidos. En la figura 25 se observa el tejido nutritivo que conforma los cotiledones de la semilla. Este fue teñido con el reactivo sudán IV. La imagen presenta coloraciones rojas, lo que indica la presencia de aceites; se observó que dichos aceites están contenidos dentro de eleoplastos, los cuales son abundantes.

La figura 26 detalla las células que contienen los eleoplastos, en el punto (a) se observan las células, en el (b) sus paredes celulares y en el (c) los eleoplastos. Los eleoplastos también fueron encontrados en el corte del área central del tejido de reserva, como se observa en la figura 27.

También se realizaron tinciones con el reactivo azul de cresilo, el cual reacciona con los mucílagos y los tiñe de color azul Francia. La figura 28 muestra el tejido nutritivo de los cotiledones de la semilla y se observó que existe mucílago pero es escaso, como se ve en la célula que está al centro de la fotografía.

La figura 29 presenta el corte longitudinal de los cotiledones teñidos con lugol. Al centro se observa la línea que separa los 2 cotiledones. El lugol tiñe los almidones de color rojizo a índigo o casi negro, por lo que se concluye que hay abundantes almidones.

También se realizó una tinción con el reactivo de Dragendorff, con el objetivo de detectar la presencia de alcaloides, ya que este los tiñe de color rojo ladrillo y se ve un precipitado oscuro. La figura 30, que muestra el tejido cotiledonar teñido con dicho reactivo, presentó estas características, por lo tanto, hay presencia de abundantes alcaloides en las semillas.

5.2. Análisis proximal

El análisis proximal midió el contenido de humedad, extracto etéreo, fibra cruda, proteína cruda, cenizas y extracto libre de nitrógeno. Este método es proximal porque no determina sustancias químicamente definibles, sino que asocia combinaciones orgánicas que responden a determinadas reacciones analíticas. Por ello se habla de grupos nutritivos.

La figura 31 es una gráfica que representa la composición total de la semilla de moringa, en donde se obtuvo que el 7,42% es agua y el restante 92,58% es materia seca total.

Evaluando este resultado se concluye que el porcentaje de humedad obtenido favorece el uso de la semilla de moringa como alimento, pues niveles superiores al 8% favorecen la presencia de insectos y arriba del 14% existe el riesgo de contaminación por hongos y bacterias.

El siguiente análisis se realizó tomando como base la materia seca. En la figura 32 se presenta una gráfica circular de la composición total de la semilla, el extracto etéreo, fibra cruda, proteína cruda, cenizas y extracto libre de nitrógeno.

El extracto etéreo no es más que el contenido de lípidos que se obtiene cuando la muestra es sometida a extracción con solventes como éter etílico. El porcentaje obtenido es del 34,15%, ligeramente menor al del maní crudo que tiene en promedio 44% de grasa; esto indica que el contenido de grasa en la semilla es muy alto; sin embargo es difícil evaluar con precisión esta cifra, porque a través de este método se obtienen además de los ésteres de los ácidos grasos con el glicerol, a los fosfolípidos, las lecitinas, los esteroides, las ceras, los ácidos grasos libres, los carotenos, las clorofilas y otros pigmentos.

El porcentaje de fibra cruda obtenido es 17,02% y es el contenido de fibra en la muestra después de ser digerida con soluciones de ácido sulfúrico e hidróxido de sodio y calcinado el residuo. Este dato también se vuelve importante en el valor nutricional, pues se recomienda ingerir alimentos con alto contenido de fibra porque genera un tránsito intestinal más rápido.

La proteína cruda fue el componente mayoritario porque tuvo un porcentaje del 44,56% y al ser este el factor más importante a considerar en la evaluación nutritiva de un alimento, se razona que la semilla de moringa tiene un alto contenido de nitrógeno total en la muestra.

El valor nutritivo de la semilla de moringa es alto al compararse esta cifra con el 37,5% que contiene el frijol de soya y el 22,0% del frijol negro.

Los últimos dos datos no fueron hallados significativos y no aportan mayor valor al contenido nutritivo de la semilla de moringa. El porcentaje de cenizas hallado es del 3,98% y este representa el residuo inorgánico remanente después de que la muestra fue destruida por combustión. Finalmente, el extracto libre de nitrógeno encontrado en la muestra es del 0,29%. Esta es una medida indirecta de los carbohidratos solubles o digeribles que están presentes en el alimento, principalmente azúcares libres, almidón y otros. Se obtuvo por la sumatoria de los valores porcentuales determinados para la humedad, proteína cruda, lípidos, fibra cruda y ceniza, y substrayendo el total de 100.

5.3. Rendimiento de extracción

Previo a realizar las extracciones se preparó la materia prima. Después de ser recolectada en el municipio de Villa Canales, se comprobó que su contenido de humedad no sobrepasara el 10% para evitar su descomposición, luego se molió utilizando un molino de cuchillas eléctrico y se tamizó hasta obtener un tamaño de partícula uniforme entre 2,00 y 1,70 micrones.

El objetivo era analizar el efecto del solvente utilizado para la extracción, en las características fisicoquímicas y en los componentes químicos encontrados en cada uno de los extractos. Para ello se seleccionaron tres solventes con diferentes constantes dieléctricas; el hexano, un solvente apolar, con constante dieléctrica de 1,89; el metanol, solvente polar, cuya constante dieléctrica es 33,6 y el agua, un solvente muy polar de constante dieléctrica 78,3.

Se realizaron extracciones sólido-líquido, con los solventes, a sus temperaturas de ebullición, utilizando la técnica de extracción Soxhlet para el hexano y metanol y la técnica de extracción a reflujo para el agua, llevando los sólidos hasta su agotamiento. Para verificar que esta condición fuera cumplida, se monitoreó cada una de las extracciones, tomando alícuotas con jeringas clínicas de la fracción extraíble y evaluando los sólidos totales disueltos y la densidad. El procedimiento de extracción se detuvo hasta que estas propiedades permanecieron constantes. Finalmente se concentraron los extractos obtenidos utilizando un rota evaporador.

Los porcentajes de recuperación obtenidos se representan en la figura 33, siendo todos valores significativamente altos; se observó que el mayor rendimiento de extracción fue con agua, al haber obtenido un promedio de 46,25% (ver tabla XXIII), luego se obtuvo un 27,15% con el hexano, detallado en la tabla XXI, y el menor porcentaje de rendimiento se obtuvo con el metanol (tabla XXII) al ser este de 22.10%.

Los porcentajes anteriormente presentados, revelan que el agua extrajo gran cantidad de componentes polares, sin embargo, hay una fracción de componentes no polares que pudo extraer el hexano, por lo tanto, los rendimientos obtenidos con los solventes agua y hexano aunque denotan componentes de afinidad opuesta están presentes en alto contenido.

Así también, se analiza que las fracciones solubles en agua fueron extraídas por fusión, ya que la alta temperatura de operación permitió que se fundieran las grasas presentes y estas migraran al solvente, no así las fracciones obtenidas con hexano que fueron producto de la solubilización de los componentes químicos en el solvente.

Las fracciones extraíbles con el metanol son más afines a las extraídas con hexano, porque la constante dieléctrica del metanol es más similar a la del hexano que la del agua.

Las extracciones se realizaron a temperaturas de ebullición de los solventes, por lo que existió un mayor gradiente de temperatura en la extracción con agua que con los solventes metanol y hexano; esto también puede justificar el mayor rendimiento obtenido.

Se realizó un análisis estadístico con los datos de rendimiento obtenidos. Los diagramas de Schewart de las figuras 22-24 fueron realizados con un nivel de confianza del 99%, y al evaluar los límites de confianza, se comprobó la validez estadística de los datos. Así también se realizó el análisis de varianza aplicando la prueba de Fisher, para comprobar la hipótesis formulada; de esta manera se comprobó que sí existe diferencia significativa en el rendimiento de la fracción extractable de la semilla de moringa, obtenida con cada uno de los solventes de extracción (ver tabla XIII).

Se elaboraron gráficas del monitoreo realizado en cada una de las extracciones. Las figuras 34 y 36 presentan el monitoreo de la densidad del extracto con los solventes hexano y metanol, respectivamente. Estas presentaron tres etapas de extracción y las mismas tendencias en cada etapa. En la primera etapa, llamada etapa de imbibición, se notó un gran descenso en la densidad hasta que los valores se estabilizaron por varios ciclos. La segunda etapa extractiva se caracterizó por un aumento en la densidad seguida por un nuevo descenso. La tercera etapa extractiva se evidenció por un ligero aumento en la densidad y un descenso hasta que los valores permanecieron constantes, lo que indicó el agotamiento de la materia.

El monitoreo de los sólidos totales disueltos para el metanol y hexano también presentó las mismas tendencias, como se muestra en las figuras 35 y 37. Aquí se observó que al inicio del proceso es cuando se extraen más componentes afines a los solventes, y esta curva disminuyó en función del tiempo hasta que la cantidad que se estaba extrayendo de la semilla era insignificante.

En el caso del solvente agua se obtuvieron gráficas con comportamientos opuestos a los del hexano y metanol. La figura 38 muestra el comportamiento de la densidad en función del tiempo de extracción, en donde esta fue aumentando hasta permanecer estable.

En la figura 39 se realizaron las curvas de monitoreo de los sólidos totales contra el tiempo, en donde se observa que se empezaron a extraer los componentes químicos desde el inicio del proceso; esto por el proceso de peptización, mediante el cual se formaron suspensiones coloidales por la gran cantidad de almidones presentes en la semilla.

El aumento de estas propiedades se atribuye al tipo de técnica utilizada, ya que en la maceración con reflujo no existe una recirculación de solvente nuevo, cosa que sí sucede en la técnica Soxhlet y que permite aumentar el gradiente de concentración y por lo tanto la transferencia de masa entre el soluto y el solvente se vuelve más efectiva.

El agotamiento de la materia prima se obtuvo a los 26 ciclos extractivos con aparato Soxhlet para el hexano y 20 ciclos para el metanol; en el caso de la extracción con agua y técnica de maceración con reflujo, el agotamiento se obtuvo entre las 4.5 y 5 horas.

Se evaluaron las propiedades fisicoquímicas de los extractos resultantes, (densidad, sólidos totales e índice de refracción) presentadas en las tablas XXVII a XXIX. A estos datos también se les hizo el análisis estadístico correspondiente que se presenta en las figuras 14-21 y tablas XIII a XX. De igual forma se realizó el análisis de varianza con un nivel de confianza del 95% y al ser todos los valores de Fisher calculados mayores a los tabulados, se concluyó que el solvente sí influye en las propiedades fisicoquímicas obtenidas; por lo tanto se rechazó la hipótesis nula y se aceptó la hipótesis de investigación.

5.4. Identificación de familias de metabolitos secundarios

Una vez obtenidos los extractos, se les realizó el estudio fitoquímico mediante cromatografía en capa fina, como también se hizo una cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG-MS-DS). Esto con el fin de conocer la presencia de metabolitos secundarios en cada uno de los extractos y su variación con los diferentes solventes utilizados.

La tabla XXIV presenta en resumen los resultados obtenidos de la cromatografía en capa fina, en donde únicamente se encontraron saponinas y algunos aceites esenciales que pudieron ser extraídos por los tres solventes: hexano, metanol y agua.

Estos resultados pueden ser tomados como una base para analizar las familias de metabolitos secundarios que posee la muestra; sin embargo, con el fin de brindar más precisión, se realizó un análisis de cromatografía capilar de gases acoplada a espectrometría de masas con base de datos, en donde los resultados pasaron de ser solamente cualitativos a ser cuantificables y gráficos por los cromatogramas que proporciona el estudio.

La tabla XXV muestra los metabolitos secundarios revelados en cada uno de los extractos. El hexano, con la constante dieléctrica más baja, extrajo principalmente ésteres. El metanol, con la constante dieléctrica intermedia, extrajo además de ésteres ftálicos, algunos ácidos grasos como el ácido palmítico, ácido oleico y ácido 3 nitroftálico, así también otros componentes como el 5-hidroximetil-2-furancarbaldehido y el 4-hidroxibencenoacetoniitrilo, que también se encontró en el extracto acuoso. El más importante de los hallados en el extracto metanólico es el ácido oleico. Este es un ácido graso monoinsaturado de la serie omega 9, considerado muy importante porque no puede ser sintetizado por el cuerpo humano.

Finalmente los extractos acuosos, presentaron pocos metabolitos secundarios, en su mayoría ésteres y otros que no fueron identificados con precisión; probablemente porque durante el proceso extractivo se produjo una peptización y de esta manera se hayan extraído almidones, con estructuras no tan definidas.

La tabla XXVI presenta la clasificación de los metabolitos secundarios hallados en los extractos. Es importante mencionar que si bien los porcentajes de área de retención, (presentados en la tabla XXV) son bajos, se compensan con el alto nivel de confianza de identificación, al ser estos comparados con las bases de datos del programa.

En el estudio histológico se observó una gran cantidad de alcaloides presentes en la semilla, sin embargo al no ser detectados en los estudios realizados a los extractos, se concluye que los solventes no son capaces de extraer alcaloides en cantidades significativas, o bien, el procedimiento para extraer las fracciones solubles fue altamente influido por un pH neutro.

El pH influye altamente en la solubilidad de diversos compuestos, y generalmente para obtener alcaloides con solventes de baja polaridad se debe realizar un pretratamiento a la materia prima con soluciones alcalinas, buscando con esto liberar los alcaloides de sus sales y volverlos así solubles en el solvente orgánico. En el caso de extracción de alcaloides con soluciones acuosas es necesario un pH ácido, buscando con esto la conversión de los alcaloides en sus respectivas sales, solubles en agua.

El análisis bromatológico presentó gran cantidad de extracto etéreo, y el porcentaje obtenido es muy similar al que se obtuvo en la extracción con hexano; esto es por la gran afinidad del solvente éter con el hexano.

La gran cantidad de saponinas encontradas en los extractos propician la realización de jabones e incluso podrían ser utilizadas como medios naturales para purificación de agua.

Al utilizar agua caliente como solvente, se produjo un mayor rendimiento de extracción, mas esta, al igual que el hexano, realiza una extracción de metabolitos secundarios más limitada y selectiva. Por lo tanto, si se quiere enfocar la investigación en la calidad de metabolitos obtenidos, se recomienda utilizar el metanol, porque aunque tuvo el menor rendimiento de los tres en estudio, el porcentaje obtenido es suficientemente bueno para ser hacer del proceso uno muy efectivo.

Con este estudio se comprobó que la semilla de moringa ofrece un gran potencial para ser utilizada con fines industriales. Puede extraerse su aceite para fabricar productos comestibles, pues este tiene un alto contenido nutritivo, o bien puede utilizarse para la fabricación de aceites lubricantes, o de aceites cosméticos.

Asimismo, los extractos de la semilla de moringa contienen aceites esenciales que pueden ser usados con fines farmacológicos, y su alto contenido de saponinas indica que la semilla puede actuar como un coagulante natural para purificación de agua. Además los altos porcentajes de rendimiento, obtenidos en la experimentación, hacen que el proceso de extracción a nivel industrial, sea atractivo por su factibilidad y rentabilidad.

CONCLUSIONES

1. Se logró realizar el procedimiento de extracción a nivel laboratorio de forma efectiva así como el tamizaje fitoquímico de la fracción extraíble de la semilla de moringa (*Moringa oleífera* Lam.).
2. El estudio histológico demostró la presencia de aceites, almidones y alcaloides en la semilla de moringa (*Moringa oleífera* Lam.)
3. La semilla de moringa (*Moringa oleífera* Lam.) está compuesta primordialmente por proteína cruda (44,56%), extracto etéreo (34,15%), y fibra cruda (17,02%); lo que refleja un alto valor nutricional.
4. El mejor rendimiento extractivo se obtuvo con el agua, con la constante dieléctrica más alta; se redujo cerca de la mitad al utilizar hexano, con la constante dieléctrica más baja; el menor rendimiento se obtuvo con el metanol, de constante dieléctrica intermedia.
5. Los metabolitos secundarios identificados a través de la cromatografía en capa fina, al analizar la fracción extractable, son saponinas y aceites esenciales, independientes del solvente extractor.
6. Mediante la cromatografía capilar de gases acoplada a espectrometría de masas, se pudo determinar la presencia de diversos metabolitos secundarios, siendo los más importantes los ésteres extraídos con los tres solventes y los ácidos palmítico, oleico y 3-nitroftálico extraídos con metanol.

7. Los mayores porcentajes de rendimiento se obtuvieron con los solventes agua y hexano; sin embargo, el análisis por cromatografía capilar de gases acoplado a espectrometría de masas, demostró que estos realizan una extracción más selectiva; el metanol obtuvo el menor porcentaje de rendimiento pero extrajo la mayor cantidad y mayor variedad de metabolitos secundarios.
8. El monitorear la densidad y los sólidos totales durante el proceso extractivo en la semilla de moringa (*Moringa oleífera* Lam.), permite la identificación de etapas extractivas del proceso hasta el agotamiento efectivo.
9. Existe diferencia significativa en el rendimiento porcentual extraído de la semilla de moringa (*Moringa oleífera* Lam.), en función de cada uno de los solventes utilizados.
10. Existe diferencia significativa en las propiedades fisicoquímicas de las fracciones extraíbles de la semilla de moringa (*Moringa oleífera* Lam.), en función de cada uno de los solventes utilizados.

RECOMENDACIONES

1. Hacer un estudio del monitoreo del proceso de extracción de la semilla de moringa (*Moringa oleífera* Lam.) y realizar un tamizaje fitoquímico en cada etapa extractiva identificada.
2. Realizar el perfil de ácidos grasos a las fracciones extractables de la semilla de moringa (*Moringa oleífera* Lam.) y cuantificar el ácido oleico presente, por su alto valor nutricional y su importancia en la dieta humana.
3. Evaluar el rendimiento de la fracción extractable de la semilla de moringa (*Moringa oleífera* Lam.), utilizando distintos solventes, a nivel planta piloto.
4. Realizar la extracción sólido-líquido de la semilla de moringa (*Moringa oleífera* Lam.), a nivel laboratorio, utilizando la misma técnica extractiva para comparar los rendimientos obtenidos.
5. Utilizar la técnica de maceración dinámica con reflujo con mezclas de solventes, por ejemplo metanol-agua y metanol-hexano, para obtener fracciones extractables de la semilla de moringa (*Moringa oleífera* Lam.) y realizar el tamizaje fitoquímico para comparar los metabolitos presentes en cada extracto.

BIBLIOGRAFÍA

1. BALBIR, Matur. *Trees for Life: Moringa Book*. [en línea]. St Louis, EUA, 2005. <<http://www.treesforlife.org/ourwork/ourinitiatives/moringa/moringa-book>>. [Consulta: julio de 2010].
2. Biorgamix. *Moringa como nutrácetico*. [en línea]. 2008. <<http://www.biorgamix.com/infomoringa.html>>. [Consulta: enero de 2011].
3. CÁCERES, Armando, et al. *Actividad antiinflamatoria de plantas medicinales de uso popular en Guatemala (I)*. Guatemala: DIGI, USAC, 1993. 61 p.
4. _____. *Plantas de uso medicinal en Guatemala*. Guatemala: Editorial Universitaria, USAC, 1996. 402 p.
5. CABRERA MANCIO, Ofyluz. *Efecto antimicrobiano in vitro de extractos acuosos de semillas y hojas de moringa oleífera Lam sobre cinco bacterias patógenas al hombre y Cándida albicans*. Trabajo de graduación de Lic. en Química Farmacéutica. Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, 1989. 48 p.
6. CHINMOY, K., Bose. *Possible role of Moringa oleífera Lam. root in epithelial ovarian cancer: relevant medicinal value*. [en línea].

<<http://www.medscape.com/viewarticle/55116>>. [Consulta: enero de 2011].

7. CUMES SANTIZO, Vilma Eunice. *Contribución al estudio fitoquímico y farmacológico de la semilla de Moringa oleífera Lam (paraíso blanco) como antiespasmódico*. Trabajo de graduación de Lic. en Química Farmacéutica. Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, 1990. 56 p.
8. DE LEÓN LEMUS, Edy Elizabeth A. *Determinación de la acción diurética de las infusiones de las semillas, tallos, raíces y hojas de Moringa oleífera Lam (paraíso blanco)*. Trabajo de graduación de Lic. en Química Farmacéutica, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, 1990. 47 p.
9. FAROOQ, Anwar, S; NAHID, Zafar; U, Rashid. "Caracterización del aceite de semillas de "Moringa oleífera" procedente de regiones de secano y de regadío del Punjab paquistaní." *Grasas y Aceites*. [en línea]. vol. 57, num. 2, 2006. ISSN 0017-3495. <<http://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=2096>>. [Consulta: octubre de 2010].
10. Fuente de Permacultura. *Moringa oleífera* [en línea]. <<http://foro.fuentepermacultura.org/index.php?topic=866>>. [Consulta: julio de 2010].
11. GUTIÉRREZ, M. Droguet. "La cromatografía de gases y la espectrometría de masas: identificación de compuestos causantes

de mal olor” *Boletín Intexter* (U.P.C). [en línea]. 2002, num. 122. <<http://Upcommons.Upc.Edu/Revistes/Bitstream/2099/2733/1/5cro mgases.Pdf>> [Consulta: febrero de 2011].

12. MCCABE, Warren L.; SMITH, Julian C.; HARRIOT, Peter. *Operaciones unitarias en ingeniería química*. 4a ed. México: McGraw-Hill, 2007. 1189 p. ISBN: 139789701061749.
13. REYNOSO REVOLORIO, David Alejandro. *Desarrollo de un sistema tutorial inteligente –STI- utilizando Visual Basic 6.0 para la fundamentación teórica de la operación unitaria de lixiviación inducida (extracción sólido-líquido), orientado a materiales biológicos (metabolitos)*. Trabajo de graduación de Ing. Químico. Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ingeniería, 2009. 129 p.
14. REYNOSO REVOLORIO, David Alejandro. *Módulo de estudiante para el estudio comprensivo de la Lixiviación*. [CD-ROM]. Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ingeniería, 2009. 827 p.
15. RIZZO JUÁREZ, Ingrid Sofía. *Determinación de la acción antiespasmódica in vitro de las infusiones de las flores, hojas, raíces, semillas y tallos de Moringa oleífera Lam*. Trabajo de graduación de Lic. en Química Farmacéutica. Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, 1989. 48 p.
16. SANCHINELLI PEZZAROSSO, Karol Beatriz. *Contenido de proteína y aminoácidos, y generación de descriptores sensoriales de los*

tallos, hojas y flores de Moringa oleífera Lamark (Moringaceae) cultivada en Guatemala. Trabajo de graduación de Lic. en Nutrición. Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, 2004. 69 p.

17. Trees for Life International. *Moringa oleífera Lam.* [en línea]. <<http://www.treesforlife.org/our-work/our-initiatives/moringa>>. [Consulta: julio de 2010].
18. TREYBAL, Robert E. *Operaciones de transferencia de masa.* 3a ed. México D. F: McGraw-Hill, 1988. 858 p. ISBN: 968 6046 34 8.
19. VILLELA RODAS, César Ariel. *Tamizaje fitoquímico del fruto del árbol de la Sapindus saponaria (jaboncillo), identificando las principales familias de metabolitos secundarios, en muestras provenientes de Cunén, departamento del Quiché, Guatemala.* Trabajo de graduación de Ing. Químico, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ingeniería, 2005. 142 p.

APÉNDICES

Apéndice 1. Preparación de materia prima para extracciones sólido-líquido bajo procedimiento de decocción



Fuente: LIEXVE, Facultad de Ingeniería, USAC.

Apéndice 2. Extracciones sólido-líquido de la semilla de moringa (*Moringa oleífera* Lam.), utilizando el equipo de extracción Soxhlet con hexano



Fuente: LIEXVE, Facultad de Ingeniería, USAC.

Apéndice 3. **Extracciones sólido-líquido de la semilla de moringa (*Moringa oleífera* Lam.), utilizando el equipo de extracción Soxhlet con metanol**



Fuente: LIEXVE, Facultad de Ingeniería, USAC.

Apéndice 4. **Extracciones sólido-líquido de la semilla de moringa (*Moringa oleífera* Lam.), utilizando el equipo de extracción sólido-líquido a reflujo**



Fuente: LIEXVE, Facultad de Ingeniería, USAC.

Apéndice 5. **Monitoreo de procedimiento de decocción y obtención de propiedades fisicoquímicas**



Fuente: LIEXVE, Facultad de Ingeniería, USAC.

Apéndice 6. Muestra de cálculo

Cálculo de la densidad de extractos:

La densidad de los extractos se obtuvo a partir de la siguiente ecuación:

$$\rho = \frac{\text{masa} - \text{tara}}{\text{volumen}} \text{ [Ecuación 1]}$$

Donde:

ρ = densidad (g/mL)

masa = masa total del extracto (g)

tara = masa del picnómetro (g)

volumen = volumen del picnómetro (mL)

Ejemplo:

La densidad del extracto hexánico obtenido por el método de decocción con el equipo de extracción Soxhlet se calculó de la siguiente manera:

Datos:

masa = 4,156 g

tara = 3,204 (g)

volumen = 1,067 (mL)

$$\rho = \frac{4,156 \text{ g} - 3,204 \text{ g}}{1,067 \text{ mL}} = 4,156 \text{ g/mL}$$

Cálculo del porcentaje de rendimiento de la fracción extraíble:

El porcentaje de rendimiento de la fracción extraíble se obtuvo a partir de la siguiente ecuación:

$$\% \text{rendimiento} = \frac{\text{masa materia prima} - \text{masa fracción extraíble}}{\text{masa materia prima}} \times 100 \text{ [Ecuación 2]}$$

Continuación apéndice 6.

Donde:

%rendimiento = porcentaje de rendimiento de la fracción extraíble (%)

Masa materia prima = masa de materia prima utilizada para el proceso extractivo (g)

Masa fracción extraíble= masa de la fracción extraíble recuperada (g)

Ejemplo:

El porcentaje de rendimiento de la fracción extraíble con hexano se calculó de la siguiente manera:

Datos:

Masa materia prima = 20,03

Masa fracción extraíble= 5,42 (g)

$$\%Rendimiento = \frac{20,03 \text{ g} - 5,42 \text{ g}}{20,03 \text{ g}} \times 100 = 27,05 \%$$

Fuente: elaboración propia.

Apéndice 7. **Muestra de cálculo**

Apéndice 7a. **Densidad de los extractos obtenidos de la semilla de moringa (*Moringa oleífera* Lam.), de las extracciones sólido-líquido bajo procedimiento de decocción**

Muestra	Masa extracto (g)	Volumen picnómetro (mL)	Densidad extracto (g/mL)	Media (g/mL)	Desviación estándar (g/mL)
Hexano 1	0,9520	1,0670	0,8922	0,8968	±0,0030
Hexano 2	0,9591	1,0670	0,8989		
Hexano 3	0,9566	1,0670	0,8965		
Hexano 4	0,9563	1,0670	0,8963		
Hexano 5	0,9602	1,0670	0,8999		
Metanol 1	1,2668	1,0670	1,1873	1,1846	±0,0049
Metanol 2	1,2579	1,0670	1,1789		
Metanol 3	1,2675	1,0670	1,1879		
Metanol 4	1,2688	1,0670	1,1891		
Metanol 5	1,2588	1,0670	1,1798		
Agua 1	1,2703	1,0670	1,1905	1,1919	±0,0022
Agua 2	1,2699	1,0670	1,1902		
Agua 3	1,2757	1,0670	1,1956		
Agua 4	1,2716	1,0670	1,1918		
Agua 5	1,2715	1,0670	1,1917		

Fuente: elaboración propia.

Apéndice 7b. **Sólidos solubles totales obtenidos de la fracción extraíble de la semilla de moringa (*Moringa oleífera* Lam.), por procedimiento de decocción**

Muestra	Sólidos solubles totales (g)	Media (g)	Desviación estándar (g)
Hexano 1	0,9671	0,9685	±0,0086
Hexano 2	0,9634		
Hexano 3	0,9587		
Hexano 4	0,9812		
Hexano 5	0,9722		
Metanol 1	0,6505	0,6536	±0,0072
Metanol 2	0,6434		
Metanol 3	0,6535		
Metanol 4	0,6618		
Metanol 5	0,6589		
Agua 1	0,6451	0,6426	±0,0030
Agua 2	0,6432		
Agua 3	0,6456		
Agua 4	0,6401		
Agua 5	0,6390		

Fuente: elaboración propia.

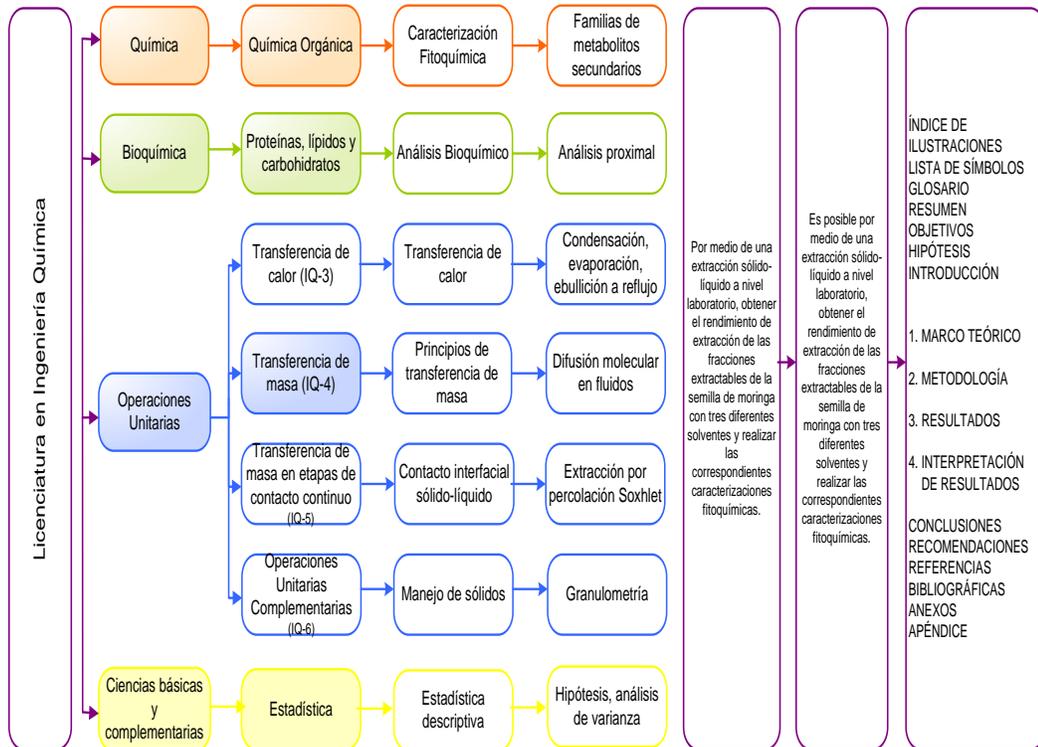
Apéndice 7c. Rendimiento porcentual de la fracción extraíble de la semilla de la semilla de moringa (*Moringa oleífera* Lam.), obtenido por procedimiento de decocción

Muestra	Materia prima (g)	Fracción extractable (g)	Rendimiento (%)	Media (%)	Desviación estándar
Hexano 1	20,03	5,4178	27,05	27,15	±0,5732
Hexano 2	20,06	5,4058	26,95		
Hexano 3	20,05	5,5989	27,92		
Hexano 4	20,02	5,2836	26,39		
Hexano 5	20,02	5,4948	27,45		
Metanol 1	20,01	4,5512	22,74	22,10	±0,8855
Metanol 2	20,04	4,4045	21,98		
Metanol 3	20,01	4,1536	20,76		
Metanol 4	20,01	4,3981	21,98		
Metanol 5	20,05	4,6202	23,04		
Agua 1	20,01	9,2001	45,98	46,25	±0,4889
Agua 2	20,15	9,3094	46,20		
Agua 3	20,04	9,4262	47,04		
Agua 4	20,02	9,2700	46,30		
Agua 5	20,03	9,1623	45,74		

Fuente: elaboración propia.

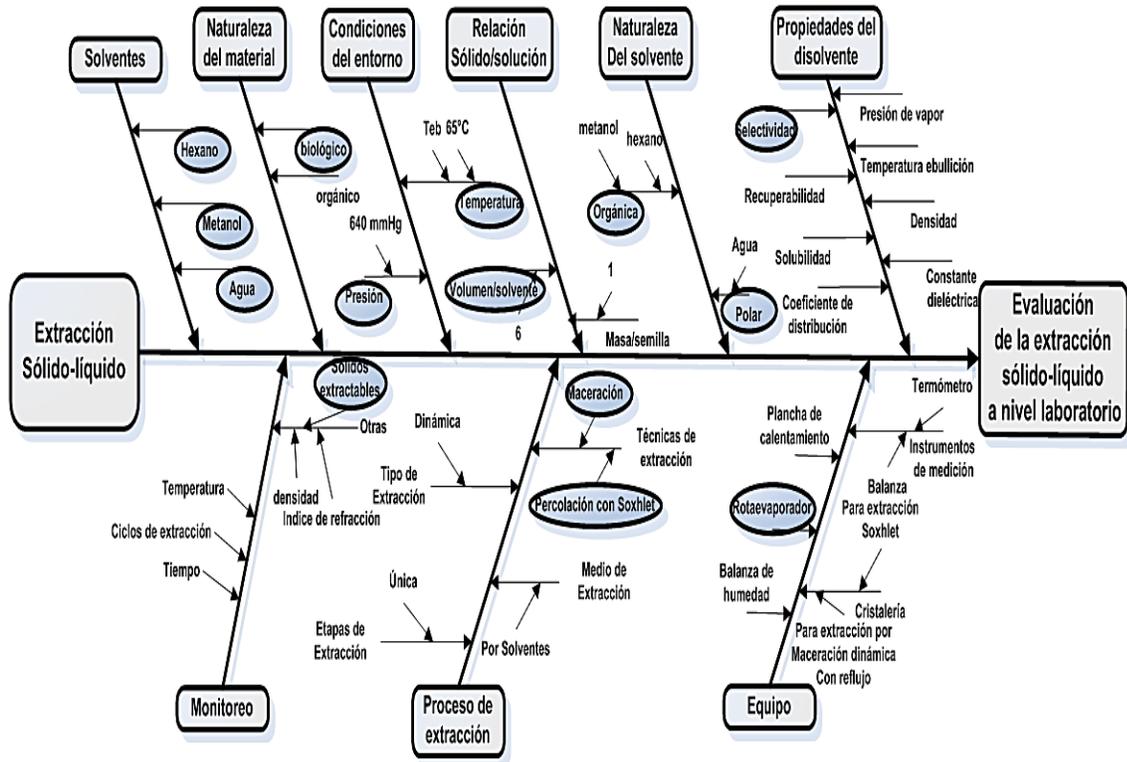
Apéndice 8. Tabla de requisitos académicos

1er paso	2do paso	3er paso	4to paso	5to paso	6to paso	7mo paso	8vo paso
Carrera	Área	Tema Genérico	Tema Específico	Especificación	Problema a resolver	Hipótesis	Temario Tentativo



Fuente: elaboración propia.

Apéndice 9. Diagrama de Ishikawa



Fuente: elaboración propia.

ANEXOS

Anexo 1. Identificación botánica del árbol d moringa



Fuente: Herbario AGUAT, Facultad de Agronomía, USAC.

Anexo 2. Análisis proximal de la semilla de moringa



Medicina Veterinaria y Zootecnia
Zootecnia
Alimentación Animal

Elaborado por: Aura Marina de Marroquín
Autorizado por: Lic. Miguel Ángel Rodenas



Edificio M5, 2° Nivel, Ciudad Uni
Ciudad de Guatemala
Telefax: 24188307 Teléfono: 2
E-mail: bromato2000@yahoo.es

FORMULARIO BROMATO 7

INFORME DE RESULTADO DE ANÁLISIS

Solicitado por: **KANDY PAOLA GOMEZ**

Dirección: **CIUDAD, GUATEMALA.**

No.248

Fecha de recibida la muestra: **12-06-2012.**

Fecha de realización: **DEL 18 AL 21-06-2012.**

Descripción de la muestra	BASE	Agua	M.S.T.	E.E.	F.C.	PROTEINA	Cenizas	E.L.N.	Calcio	Fósforo	F.A.D.	F.N.D.	Lignina	Dig.	Dig.	P.h.	E.B.
		%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%
MORINGA	SECA	7.42	92.58	34.15	17.02	44.56	3.98	0.29	----	----	----	----	----	----	----	----	----
	COMO ALIMENTO	---	---	31.62	15.76	41.26	3.69	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
-----	SECA	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
-----	COMO ALIMENTO	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
-----	SECA	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
-----	COMO ALIMENTO	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
-----	SECA	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
-----	COMO ALIMENTO	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

ACCIONES:
utilados fueron calculados en base materia seca total Y base fresca. Se prohíbe la reproducción parcial o total de este informe, para mayor información comunicarse al Tel. 24188307

TOTAL DE PUNTAJE REPORTADAS EN ESTA HOJA 1

Micado en enero de 2003

T.L. José A. Morales S.
Laboratorista

Lic. Miguel Ángel Rodenas
Jefe Laboratorio de Bromatología

Resultados 2012/248
21/06/12

PRUEBA	MÉTODO DE REFERENCIA	APLICABLE	UNIDADES	RANGO	INCERTIDUMBRE
Materia Seca	AOAC: 930.15	4,6,9	%	85 a 100	
Materia Seca	Bateman 6.111	1,2,5,6	%	1 a 85	
Materia Seca	AOAC: 925.04	3	%	20 a 85	
Proteína Cruda	AOAC: 976.05 Tecator: Manual del Kjeltec Auto 1030 Analyzer	1,2,3,4,5,6,9	%	1 a 300	
Fibra Cruda	Tecator: Manual del 1010/1021 Fibertec System I AOAC: 962.09 Bateman	1,2,3,4,5,6,7,8	%	1 a 60	
Fibra Acido Detergente	Tecator: Manual del 1010/1021 Fibertec System I	1,2,3,4	%	0 a 60	
Fibra Neutro Detergente	Tecator: Manual del 1010/1021 Fibertec System I	1,2,3,4	%	0 a 90	
Extracto Éterero	Bateman 9.110	1,2,3,4,5,6,8	%	0 a 100	
Cenizas	AOAC: 942.05	1,2,3,4,5,6,7,8,9,10	%	0 a 100	
Extracto Libre de Nitrogeno	Bateman: 10.200	1,2,3,5,6	%	0 a 100	

MATERIALES EN LOS QUE SE REALIZARON LOS ANÁLISIS:

1. Heno, rastrojos y cascarillas
2. Forrajes verdes
3. Ensilados
4. Alimentos concentrados (menos del 15% de humedad)
5. Frutas y verduras de consumo humano
6. Carnes y subproductos cárnicos
7. Leches y subproductos lácteos
8. Plantas con otros fines diferentes de la alimentación
9. Suelos
10. Fertilizantes orgánicos e inorgánicos

Fuente: Laboratorio de Bromatología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, USAC.

Anexo 3. Tamizaje fitoquímico de las fracciones extraíbles con diferentes solventes

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS
DE GUATEMALA



FACULTAD DE CC. QQ.
Y FARMACIA
EDIFICIO T-12
Ciudad Universitaria, zona 12
Guatemala, Centroamérica

Laboratorio de Investigación de
Productos Naturales (LIPRONAT)

Análisis: Tamizaje fitoquímico del extracto de Semilla de Moringa.

Solicitante: Kandy Paola Gómez Gómez

Fecha: 16 de Julio 2012 **No. L-20120701**

1. **Técnica:**
Cromatografía en capa fina.

2. **Resultado**

2.1. **Cromatografía en capa fina para la determinación de flavonoides.**

Muestra	Banda	Color	Rf
Metanol Moringa I	---	---	---
Agua tesis I Moringa	---	---	---
Hexano 2 Tesis Moringa	---	---	---
Estándar de Ácido Cafeico	---	---	---
Estándar de Rutina	1	Naranja	0.50
Estándar de Ácido Clorogénico	1	Azul – verdoso	0.62
Estándar de Quercetina	1	Naranja	0.91

Fuente: Datos Experimentales

Según lo investigado en la literatura, la Moringa contiene diversos metabolitos secundarios tales como los terpenos, lectinas, saponinas, alcaloides, fenoles y taninos. Según resultados reportados en la tabla superior, la planta no presentó contenido de flavonoides en su composición química.

2.2. **Cromatografía en capa fina para la determinación de antraquinonas.**

Muestra	Banda	Color	Rf
Metanol Moringa I	1	Azul	0.16
Agua tesis I Moringa	---	---	---
Hexano 2 Tesis Moringa	---	---	---
Estándar de Antraquinona	1	Amarillo	0.91

Fuente: Datos Experimentales

La Moringa no presentó antraquinonas características según la prueba realizada.

2.3. **Cromatografía en capa fina para la determinación de alcaloides.**

Muestra	Banda	Color	Rf
Metanol Moringa I	---	---	---
Agua tesis I Moringa	---	---	---
Hexano 2 Tesis Moringa	---	---	---
Estándar de Atropina	1	Naranja	0.41
Estándar de Papaverina	1	Naranja	0.61

Fuente: Datos Experimentales

Según los resultados experimentales, la Moringa no presentó ningún tipo de alcaloides en su composición química.

Continuación anexo 3.

2.4. Cromatografía en capa fina para la determinación de saponinas.

Muestra	Banda	Color	Rf
Metanol Moringa I	1	Azul	0.20
	2	Azul	0.46
	3	Azul	0.54
	4	Azul	0.68
	5	Azul	0.94
Agua tesis I Moringa	1	Azul	0.20
	2	Azul	0.94
Hexano 2 Tesis Moringa	1	Azul	0.23
	2	Azul	0.28
	3	Azul	0.57
	4	Azul	0.61
	5	Azul	0.80
	6	Azul	0.94
Estándar de Saponina 1%	1	Azul	0.04
Estándar de Diosgenina	1	Violeta	0.42

Fuente: Datos Experimentales

En la identificación de saponinas se obtuvieron resultados positivos para todas las muestras, pudiéndose detectar varios tipos de saponinas dentro de la composición química de la Moringa, concluyendo que coincide con lo reportado en la literatura. No obstante la muestra no presenta Diosgenina, que es un tipo de saponina que se utilizó como estándar de comparación en la Cromatografía en Capa Fina. Las muestras en que fueron mayormente identificables las saponinas fueron: los extractos metanólicos y hexánicos.

2.5. Cromatografía en capa fina para la determinación de cumarinas.

Muestra	Banda	Color	Rf
Metanol Moringa I	---	---	---
Agua tesis I Moringa	---	---	---
Hexano 2 Tesis Moringa	---	---	---
Estándar de Cumarina	1	Azul	0.55

Fuente: Datos Experimentales

Según los resultados experimentales, la Moringa no presentó ningún tipo de cumarinas en su composición química.

2.6. Cromatografía en capa fina para la determinación de aceites esenciales.

Muestra	Banda	Color	Rf
Metanol Moringa I	1	Azul	0.19
	2	Azul	0.24
	3	Azul	0.29
	4	Azul	0.33
	5	Azul	0.83
	6	Azul	0.90
Agua tesis I Moringa	1	Azul	0.93
Hexano 2 Tesis Moringa	1	Azul	0.94
Estándar Citronela	1	Café	0.83
Estándar de Limoneno	1	Azul	0.68

Continuación anexo 3.

Estándar de Mirceño	1	Rojo	0.30
	2	Rojo	0.95

Fuente: Datos Experimentales

Los aceites volátiles estuvieron presentes en todas las muestras, coincidiendo con el estándar de Citronela en la muestra metanólica, y Mirceño en el extracto hexánico. No obstante en ninguna muestra se detectó la presencia de Limoneno.

2.7. Determinación de taninos.

Muestra	Testigo	Estándar Gelatina 1%	Cloruro Férrico	Gelatina sal
Metanol Moringa I	Amarillo traslucido	Negativo (-)	Negativo (-)	Negativo (-)
Agua tesis I Moringa	Blanco turbio	Negativo (-)	Negativo (-)	Negativo (-)
Hexano 2 Tesis Moringa	Precipitado transparente a amarillo	Negativo (-)	Negativo (-)	Negativo (-)

Fuente: Datos Experimentales

Según la literatura consultada, la Moringa contiene aproximadamente 1% de taninos dentro de su composición química, sin embargo los datos obtenidos experimentalmente demuestran lo contrario, debido a que la presencia de taninos en todas las muestras de Moringa analizadas no se detectaron taninos en las diversas pruebas características llevadas a cabo en tubos de ensayo.

2.8. Determinación de terpenos.

Muestra	Testigo	Liebermann - Burchard	Acido Tricloroacético	Carr - Price
Metanol Moringa I	Amarillo traslucido	Negativo (-)	Negativo (-)	Negativo (-)
Agua tesis I Moringa	Blanco turbio	Negativo (-)	Negativo (-)	Negativo (-)
Hexano 2 Tesis Moringa	Precipitado transparente a amarillo	Negativo (-)	Negativo (-)	Negativo (-)

Fuente: Datos Experimentales

Según la literatura consultada, la Moringa contiene un alto porcentaje de terpenos dentro de su composición química, sin embargo los datos obtenidos experimentalmente demuestran lo contrario, ya que no fueron detectados en las pruebas realizadas.

3. Bibliografía

- LIPRONAT (2005). *PROCESO ESTANDAR DE OPERACIÓN Manual de tamizaje fitoquímico*. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Universidad San Carlos de Guatemala. Guatemala.
- Al momento .net, 2012, Moringa, efectos secundarios y uso popular. Disponible en: <http://www.almomento.net/articulo/113704/Moringa-efectos-secundarios-y-uso-popular>, consultada el 18/07/12.


Alejandra López
Auxiliar de Laboratorio


Licda. Sully Margot Cruz V.
Coordinadora de LIPRONAT



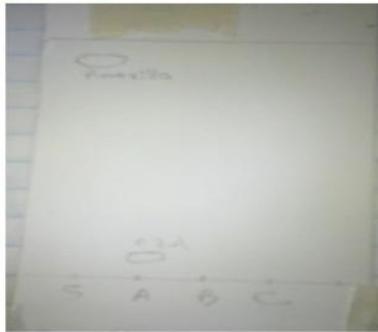
Continuación anexo 3.

4. Anexos

4.1. Cromatoplaça de flavonoides



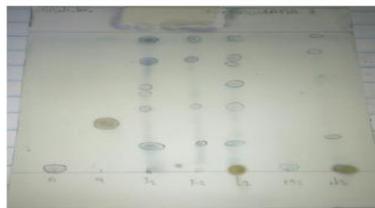
4.2. Cromatoplaça de antraquinona



4.3. Cromatoplaça de alcaloides



4.4. Cromatoplaça de saponinas

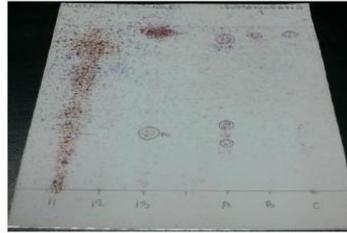


4.5. Cromatoplaça de cumarinas



Continuación anexo 3.

4.6. Cromatoplaqa de Aceites esenciales



4.7. Determinación de taninos



4.8. Determinación de terpenos

a. Liebermann – Burchard



b. Acido Tricloroacetico



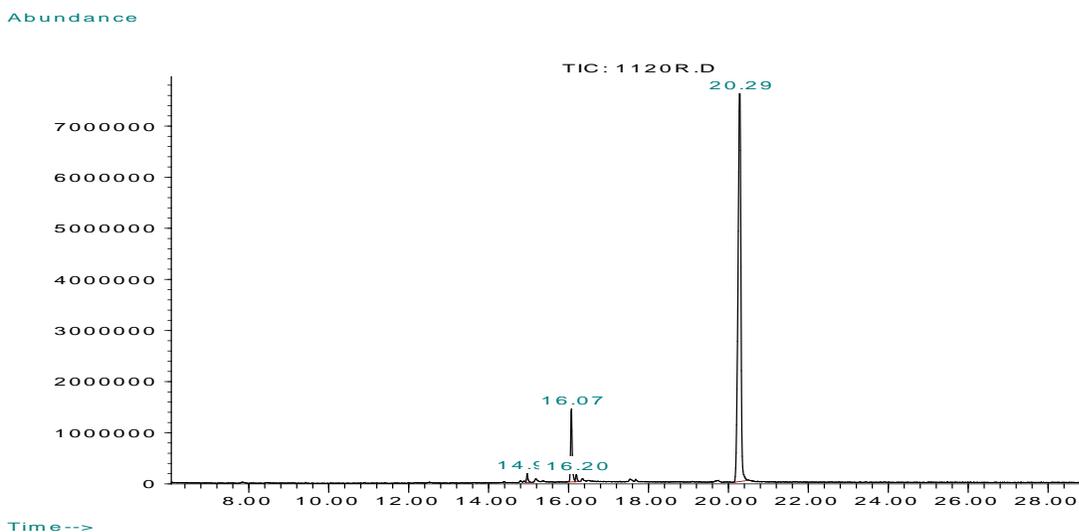
c. Carr – Price



Fuente: LIPRONAT, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, USAC.

Anexo 4. **Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CGC/MS/DS) de las fracciones extraíbles con diferentes solventes**

Cromatografía de la fracción extraíble con hexano



Information from Data File:

File: C:\HPCHEM\1\DATA\1120R.D
 Operator: mca
 Date Acquired: 4 Jul 12 14:17
 Method File: RAFAEL
 Sample Name: 1120r

Misc Info:

Vial Number: 1

Search Libraries: C:\DATABASE\WILEY275.L Minimum Quality: 0

Unknown Spectrum: Apex

Integration Events: Chemstation Integrator - autoint1.e

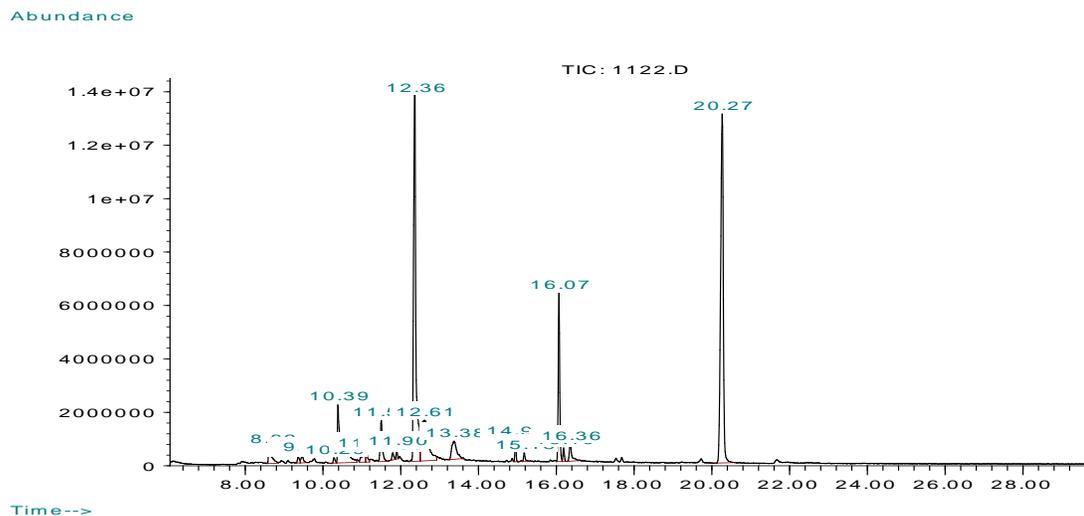
Pk#	RT	Area%	Library/ID	Ref#	CAS#	Qual
1	14.97	1.07	C:\DATABASE\WILEY275.L			
			Hexadecanoic acid, methyl ester (C 153627 000112-39-0 97			
			Hexadecanoic acid, methyl ester (C 153619 000112-39-0 95			

Continuación anexo 4.

- 2 16.07 9.11 C:\DATABASE\WILEY275.L
METHYL 9-OCTADECENOATE \$\$ METHYL O 175277 000000-00-0 99
9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl e 175228 000112-62-9 99
9-Octadecenoic acid, methylester 175229 002462-84-2 99
- 3 16.20 0.90 C:\DATABASE\WILEY275.L
Octadecanoicacid, methylester (C 176789 000112-61-8 90
Octadecanoicacid, methylester (C 176794 000112-61-8 90
Heptadecanoicacid, 16-methyl-, me 176821 005129-61-3 90
- 4 20.29 88.93 C:\DATABASE\WILEY275.L
1,2-Benzenedicarboxylic acid, bis(230978 000117-81-7 91
1,2-Benzenedicarboxylic acid, bis(230979 000117-81-7 83
1,2-Benzenedicarboxylic acid, dioc 230963 000117-84-0 72

Fri Jul 06 07:58:01 2012

Cromatografía de la fracción extraíble con metanol



Information from Data File:

File: C:\HPCHEM\1\DATA\1122.D

Operator: mca

Date Acquired: 2 Jul 12 14:48

Continuación anexo 4.

Method File: RAFAEL
 Sample Name: 1122
 Misc Info:
 Vial Number: 1

Search Libraries: C:\DATABASE\WILEY275.L Minimum Quality: 0

Unknown Spectrum: Apex
 Integration Events: Chemstation Integrator - autoint1.e

Pk#	RT	Area%	Library/ID	Ref#	CAS#	Qual
1	8.62	1.70	C:\DATABASE\WILEY275.L			
			1,2-Benzenediol, 3-fluoro- (CAS) \$	18918	000363-52-0	47
			Furan, 2-methyl-5-(methylthio)- (C	18924	013678-59-6	47
			Furan, 2-methyl-5-(methylthio)- (C	18925	013678-59-6	47
2	9.36	0.39	C:\DATABASE\WILEY275.L			
			Furfurylic alcohol	5569	000000-00-0	49
			2-Cyclopenten-1-one, 3-methyl- (CA	5150	002758-18-1	47
			3-FURANMETHANOL	5582	000000-00-0	47
3	9.46	0.56	C:\DATABASE\WILEY275.L			
			Tridecane, 6-methyl- (CAS) \$\$ 6-Me	83562	013287-21-3	38
			Nonane, 5-(1-methylpropyl)- (CAS)	69541	062185-54-0	35
			pentadecane	98338	000629-62-9	27
4	10.28	0.28	C:\DATABASE\WILEY275.L			
			1,4:3,6-Dianhydro-.alpha.-d-glucop	30634	000000-00-0	83
			Cyclobutanone, 2-(1,1-dimethylethy	17988	004579-31-1	49
			2-Hexene, 3-methyl-, (Z)- (CAS) \$\$	5981	010574-36-4	37
5	10.39	7.78	C:\DATABASE\WILEY275.L			
			2-Furancarboxaldehyde, 5-(hydroxym	17489	000067-47-0	72
			4-hydroxy-5-methoxypyrimidine \$\$ 4	17442	000695-87-4	72
			2-Furancarboxaldehyde, 5-(hydroxym	17492	000067-47-0	72
6	11.06	1.19	C:\DATABASE\WILEY275.L			

Continuación anexo 4.

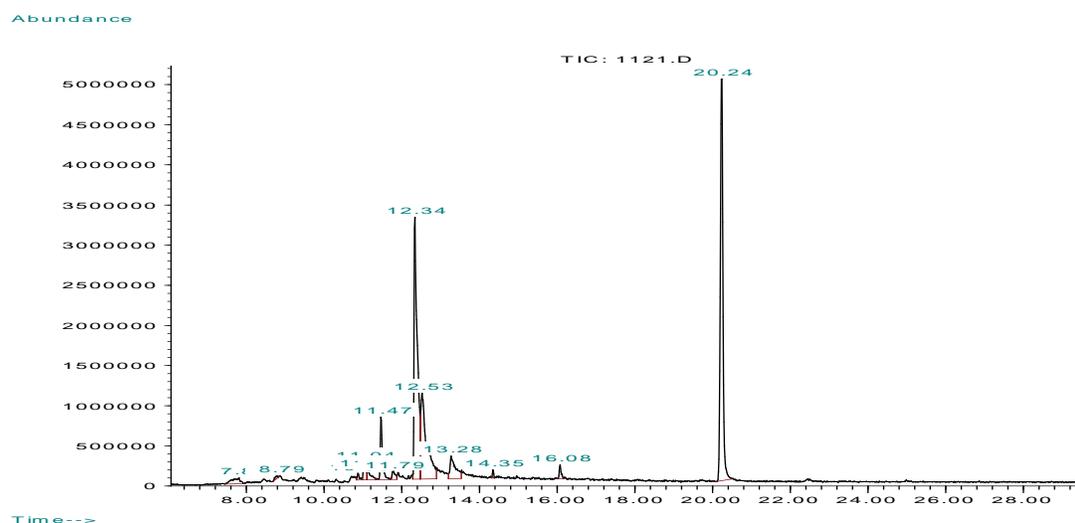
			beta-methoxyamino propionic acid m	22384	078191-05-6	43
			CYCLOPROPYL CARBINYL-D2-METHYL ETH	3527	018593-36-7	27
			3 METHYL PENTANOIC ACID \$\$ 3 METHY	13264	000105-43-1	27
7	11.13	0.66	C:\DATABASE\WILEY275.L			
			3-(Methoxymethyl)-2-methylbenzonit	46264	090369-78-1	17
			1-Cyano-4-(5-hexenyl)benzene	70120	000000-00-0	12
			1,3-Disilacyclobutane, 1,1,3,3-tet	30694	001627-98-1	10
8	11.50	2.89	C:\DATABASE\WILEY275.L			
			Methyl 2-O-methyl-.beta.-D-xylopyr	61833	007381-12-6	37
			vinyl butyl sulfide	13377	000000-00-0	30
			1-Propene, 3-[(1-methylethyl)thio]	13354	050996-72-0	22
9	11.80	0.44	C:\DATABASE\WILEY275.L			
			heptanoicacid	20922	000111-14-8	47
			1,6-ANHYDRO-BETA-D-GLUCOPYRANOSE (46650	000498-07-7	42
			Heptanoic acid (CAS) \$\$ Heptoicac	20660	000111-14-8	40
10	11.91	0.35	C:\DATABASE\WILEY275.L			
			Isoquinoline (CAS) \$\$ Leucoline \$\$	20268	000119-65-3	43
			Benzenamine, 2,5-difluoro- (CAS) \$	20001	000367-30-6	43
			2,3-Difluoroaniline \$\$ Benzenamine	20010	004519-40-8	43
11	12.37	28.40	C:\DATABASE\WILEY275.L			
			Benzeneacetonitrile, 4-hydroxy- (C	22462	014191-95-8	95
			Benzene, 1-isocyanato-4-methyl- \$\$	22455	000622-58-2	72
			Benzene, 1-isocyanato-3-methyl- \$\$	22452	000621-29-4	59
12	12.62	10.36	C:\DATABASE\WILEY275.L			
			Hexanoic acid (CAS) \$\$ n-Hexanoic	12956	000142-62-1	43
			Octanoic acid (CAS) \$\$ Caprylicac	30951	000124-07-2	43
			HEPTANOIC ACID	20964	000000-00-0	43
13	13.38	2.88	C:\DATABASE\WILEY275.L			
			D-Galactose \$\$ Galactose, D- \$\$ D-	63824	000059-23-4	38
			1,6-ANHYDRO-BETA-D-GLUCOFURANOSE \$	46652	007425-74-3	38
			ISOSORBIDE DINITRATE	120981	000000-00-0	25
14	14.95	0.84	C:\DATABASE\WILEY275.L			

Continuación anexo 4.

			Hexadecanoicacid, methylester (C 153607 000112-39-0 96
			Hexadecanoicacid, methylester (C 153627 000112-39-0 94
			Hexadecanoicacid, methylester (C 153628 000112-39-0 93
15	15.18	0.46	C:\DATABASE\WILEY275.L
			Hexadecanoicacid (CAS) \$\$ Palmiti 141010 000057-10-3 94
			Hexadecanoicacid (CAS) \$\$ Palmiti 141008 000057-10-3 94
			Hexadecanoicacid (CAS) \$\$ Palmiti 141005 000057-10-3 93
16	16.07	8.01	C:\DATABASE\WILEY275.L
			9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl e 175232 000112-62-9 99
			9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl e 175227 000112-62-9 99
			9-Octadecenoic acid, methylester, 175241 001937-62-8 99
17	16.19	0.63	C:\DATABASE\WILEY275.L
			Octadecanoicacid, methylester (C 176791 000112-61-8 99
			Octadecanoicacid, methylester (C 176790 000112-61-8 98
			Octadecanoicacid, methylester (C 176809 000112-61-8 98
18	16.36	1.39	C:\DATABASE\WILEY275.L
			9-Octadecenoic acid (Z)- (CAS) \$\$ 163703 000112-80-1 96
			9-Octadecenoic acid (Z)- (CAS) \$\$ 163702 000112-80-1 93
			Cyclohexadecane (CAS) 110868 000295-65-8 70
19	20.28	30.77	C:\DATABASE\WILEY275.L
			1,2-Benzenedicarboxylic acid, 3-ni 96361 000603-11-2 78
			1,2-Benzenedicarboxylic acid, mono 160110 004376-20-9 72
			1,2-Benzenedicarboxylic acid, bis(230978 000117-81-7 72
Fri Jul 06 08:04:50 2012			

Continuación anexo 4.

Cromatografía de la fracción extraíble con agua



Information from Data File:

File: C:\HPCHEM\1\DATA\1121.D moringaagua
 Operator: mca
 Date Acquired: 2 Jul 12 13:04
 Method File: RAFAEL
 Sample Name: 1121

Misc Info:

Vial Number: 1

Search Libraries: C:\DATABASE\WILEY275.L Minimum Quality: 0

Unknown Spectrum: Apex

Integration Events: Chemstation Integrator - autoint1.e

Pk#	RT	Area%	Library/ID	Ref#	CAS#	Qual
1	8.79	0.25	C:\DATABASE\WILEY275.L			
			3-fluoro-2,5-dimethyl-2,4-hexadien	19430	095887-29-9	80
			Furan, 2-methyl-5-(methylthio)- (C	18924	013678-59-6	43
			Thiophene, 2-methoxy-5-methyl- (CA	18923	031053-55-1	43

Continuación anexo 4.

2 10.88 0.48 C:\DATABASE\WILEY275.L
N-Formylnorisosalutaridine 206321 088996-27-4 47
2-Furancarboxaldehyde, 5-(hydroxym 17490 000067-47-0 38
5-HYDROXYMETHYLFURFURAL 17552 000000-00-0 38

3 11.03 1.56 C:\DATABASE\WILEY275.L
3 METHYL PENTANOIC ACID \$\$ 3 METHY 13264 000105-43-1 27
2-Deoxy-D-ribose \$\$ D-erythro-Pent 22719 000533-67-5 23
Hexanoyl chloride, 6-bromo- (CAS) 96936 022809-37-6 17

4 11.13 1.26 C:\DATABASE\WILEY275.L
Tetracyclo[4.3.2.0(2,9).0(3,5)]und 45720 057122-23-3 52
Tetracyclo[4.3.2.0(2,9).0(3,5)]und 45721 057122-23-3 40
2-Furancarboxaldehyde, 5-(hydroxym 17488 000067-47-0 18

5 11.47 4.73 C:\DATABASE\WILEY275.L
vinyl butyl sulfide 13377 000000-00-0 38
Methyl 3-O-methyl-.beta.-D-xylopyr 61832 007381-10-4 37
Thiirane, methyl- (CAS) \$\$ Propyle 1743 001072-43-1 37

6 11.79 0.94 C:\DATABASE\WILEY275.L
D-GLUCO-HEXO-DIALDOSE 61716 000000-00-0 35
Heptanoic acid (CAS) \$\$ Heptoicac 20664 000111-14-8 35
HEPTANOIC ACID 20964 000000-00-0 35

7 12.34 29.43 C:\DATABASE\WILEY275.L
Benzeneacetonitrile, 4-hydroxy- (C 22462 014191-95-8 94
Benzene, 1-isocyanato-3-methyl- \$\$ 22451 000621-29-4 72
Benzene, 1-isocyanato-4-methyl- \$\$ 22455 000622-58-2 72

8 12.52 18.14 C:\DATABASE\WILEY275.L
3-methylfuro[2,3-b]pyridine \$\$ Fur 22495 109274-90-0 49
Benzeneacetonitrile, 4-hydroxy- (C 22462 014191-95-8 30
Butanoic acid (CAS) \$\$ n-Butyric a 3794 000107-92-6 27

9 13.28 4.45 C:\DATABASE\WILEY275.L
D-GULOHEXOPYRANOSE 63827 000000-00-0 22
3-Octanol, 3-methyl- (CAS) \$\$ 3-Me 31444 005340-36-3 16
alpha.-D-Glucopyranoside, .alpha. 206573 000099-20-7 14

Continuación anexo 4.

10	14.35	0.34	C:\DATABASE\WILEY275.L				
			Isopropyl myristate	\$\$	Tetradecano	153651	000110-27-0 38
			Isopropyl myristate	\$\$	Tetradecano	153650	000110-27-0 27
			ISOPROPYL MYRISTATE			153673	000110-27-0 27
11	16.07	0.92	C:\DATABASE\WILEY275.L				
			8-Octadecenoic acid, methyl ester,			175221	026528-50-7 78
			9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl e			175237	000112-62-9 64
			10-Octadecenoic acid, methyl ester			175246	013481-95-3 58
12	20.24	37.51	C:\DATABASE\WILEY275.L				
			1,2-Benzenedicarboxylic acid, bis(230978	000117-81-7 83
			1,2-Benzenedicarboxylic acid, 3-ni			96361	000603-11-2 72
			1,2-Benzenedicarboxylic acid, bis(230976	000117-81-7 64
Fri Jul 06 08:02:35 2012							

Fuente: Departamento de Toxicología "Julio Valladares Márquez", Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, USAC.

