

Composición fitoquímica y actividad antioxidante en tres variedades de albahaca por efecto de distintos solventes

Lilia Salas-Pérez¹

María del Rosario Moncayo-Lujan²

Victoria Jared Borroel-García²

Tania Lizzeth Guzmán-Silos²

Mercedes Georgina Ramírez-Aragón^{2§}

¹Facultad de Contaduría y Administración-Universidad Autónoma de Coahuila. Fco. Javier Mina 150, Luis Echeverría Álvarez, Sector Norte, Torreón, Coahuila, México. CP. 27085. Tel. 871 7161587. (lilint@hotmail.com). ²Universidad Politécnica de Gómez Palacio. Carretera la Torreña-localidad el Vergel km 0.820, Gómez Palacio, Durango. Tel. 871 1922700. (tanializguzman@hotmail.com; vjbg@gmail.com; rmoncayo@upgop.edu.mx).

§Autora para correspondencia: ginaaragon13@hotmail.com.

Resumen

La albahaca (*Ocimum basilicum*) es un cultivo muy importante en el mundo y en México para las especialidades conocidas de gastronomía mediterránea. Existe una creciente demanda de albahaca en Estados Unidos de Norteamérica y Europa debido a su contenido de antioxidantes. Hoy en día, es tendencia en la industria alimentaria el cambiar los antioxidantes sintéticos por los naturales. Se ha incrementado el interés por analizar productos naturales, no tóxicos y saludables que funcionen como antioxidantes. La albahaca contiene altos niveles de metabolitos secundarios. Con el objetivo de determinar el potencial de extracción de distintos solventes (hexano, metanol, éter de petróleo y etanol) en tres variedades de albahaca (Lemon, Cinnamon y Red Rubin). En el presente estudio se realizaron análisis de cuantificación de compuestos fenólicos totales con valores entre 0.5 y 17.9 mg en base a ácido gálico por cada gramo de muestra en peso seco, flavonoides totales obteniendo valores que oscilaron entre 2.4 y 10.8 mg de quercetina por gramo de muestra en peso seco y determinación de la actividad antioxidante con resultados entre 57.4-409.4 μmol Trolox por gramo de muestra en peso seco de las tres variedades de albahaca (Lemon, Cinnamon y Red Rubin) y los distintos solventes como medios de extracción (metanol, hexano, éter de petróleo y etanol). Se obtuvieron resultados de mayor eficiencia para las distintas variables medidas cuando el solvente utilizado fue metanol en las variedades Lemon y Cinnamon y etanol en la variedad Red Rubin sin encontrar diferencia significativa a la extracción con metanol.

Palabras clave: compuestos fenólicos, extracción, flavonoides, metabolitos secundarios.

Recibido: enero de 2022

Aceptado: marzo de 2022

Introducción

La albahaca (*Ocimum basilicum* L.) es una planta aromática utilizada directamente como especie, medicina, alimento, ornamental y también como materia prima para diferentes industrias. La albahaca es la más cultivada debido a su alto valor económico, popularidad y demanda para la producción de aceites esenciales en muchos continentes del mundo por sus numerosos valores económicos, medicinales y aromáticos (Egata, 2021). Actualmente se ha intensificado la búsqueda de nuevos antioxidantes naturales, en particular en las especies vegetales cultivadas (Thakur y Vasudevan, 2019).

Las plantas han sido una fuente inagotable de medicamentos y recientemente se ha puesto mucho énfasis en encontrar nuevos agentes terapéuticos a base de plantas medicinales (Barbouchi *et al.*, 2020). Cuando se habla de la composición fitoquímica y la concentración en las plantas cultivadas se ven muy afectadas por algunos factores, como la genética, las condiciones ambientales de crecimiento, la cosecha y el tratamiento poscosecha.

La extracción de metabolitos utilizando un método diferente y el tipo de solvente utilizado también juegan un papel esencial en el nivel de metabolitos extraídos (Rafi *et al.*, 2020). La consistencia en la composición y el nivel de concentración de los compuestos bioactivos darán una actividad biológica distinta para las distintas muestras estudiadas las cuales pueden ser ricas en compuestos fenólicos como ácido fenólico, flavonoides y taninos y esos compuestos son conocidos por su potencia como antioxidante (Pereira *et al.*, 2019).

Las plantas son ricas fuentes de compuestos bioquímicos como fenoles, ácidos grasos, saponinas, aceites esenciales o alcaloides que tienen propiedades terapéuticas comprobadas pero que son menos estudiados y valorados (Fajemiroye *et al.*, 2016). Las especies *Ocimum* son plantas que tampoco han sido valoradas en el pasado, pero hay un aumento en el interés por estas especies de plantas en los últimos años (Rezzoug *et al.*, 2019; Egan *et al.*, 2020). La especie *Ocimum* también se caracteriza por una abundancia de compuestos como ácidos fenólicos y aceites volátiles (Antonescu *et al.*, 2021).

Los compuestos antioxidantes dentro de extractos de plantas tienen diferentes estructuras moleculares y polaridades. En base a su estructura molecular, los compuestos antioxidantes con sus características químicas y polaridades pueden o no ser solubles en un solvente específico (Rafi *et al.*, 2020). Los solventes polares se usan con frecuencia para la extracción de polifenoles de matrices vegetales (Altemimi *et al.*, 2017). Normalmente, la recuperación de compuestos antioxidantes se combina con diferentes métodos de extracción, según su química y distribución en la matriz (Ameer *et al.*, 2017). Para el aislamiento de polifenoles y otros compuestos de fuentes vegetales, se han aplicado muchos enfoques diferentes.

Entre ellos, la extracción por solvente sigue siendo el procedimiento de extracción más utilizado, principalmente debido a su bajo costo de procesamiento, facilidad de uso y amplio rango de aplicabilidad (Brglez *et al.*, 2016). La elección del solvente es crítica y a menudo, determinante en los rendimientos de extracción y las subsiguientes actividades antioxidantes de los extractos de plantas, debido a la influencia del solvente en la solubilización de compuestos antioxidantes con diferentes estructuras químicas y polaridad (Do *et al.*, 2014).

Para la recuperación de polifenoles, a menudo se adoptan solventes polares, especialmente mezclas acuosas que contienen metanol, etanol, acetona o acetato de etilo (Monteiro *et al.*, 2020). El metanol y el etanol se han utilizado para extraer compuestos antioxidantes de varias plantas, incluidas las plantas utilizadas con fines medicinales (Do *et al.*, 2014; Aboshora *et al.*, 2015; Dhawan y Gupta 2016). Por ello el objetivo de este estudio fue determinar el solvente con mayor potencial de extracción de compuestos antioxidantes presentes en tres variedades de albahaca.

Materiales y métodos

Localización del experimento

Los cultivares de albahaca se establecieron el mes de marzo del año 2020 en un invernadero con cubiertas corredizas de plástico y malla anti-áfidos de control semiautomático ubicado en la Universidad Politécnica de Gómez Palacio, Durango 25° 38' 19.83'' latitud norte, 103° 31' 52.12'' longitud oeste. Los valores de temperatura y humedad relativa del invernadero se mantuvieron entre 25 a 30 °C y 70-80%, respectivamente.

Establecimiento de los cultivares

Se sembraron tres cultivares de albahaca cuya semilla fue proveniente de donaciones de siembras de albahaca orgánica de Baja California Sur (Lemon, Cinnamon y Red Rubin). La siembra se realizó en bandejas de germinación de poliestireno de 250 cavidades y se utilizó peat moss como sustrato. Las bandejas se regaron dos veces al día con agua hasta el día del trasplante. Cuando las plántulas presentaron tres a cuatro hojas verdaderas y una altura de 10 a 15 cm se trasladaron en macetas de plástico negro de un galón de capacidad, las cuales contenían una mezcla de arena:perlita (80:20).

Preparación de las muestras y obtención de extractos

A 35 días después trasplante se tomaron muestras de hoja de las tres variedades de albahaca hasta obtener muestras de todas las plantas del experimento. Todas las muestras fueron lavadas con agua destilada y se retiró el exceso sobre papel canela. El proceso de secado se realizó a temperatura ambiente (25 ± 2 °C) durante 15 días. Después de la deshidratación las muestras pasaron a proceso de molienda hasta obtención de polvo. Este proceso se realizó en licuadora (Hamilton Beach).

Después de ello, las muestras pulverizadas fueron almacenadas a 5 °C para la posterior obtención de extractos (Abkhoo y Jhani, 2016). La obtención de extractos se llevó a cabo mediante la técnica de extracción sólido-líquido mediante la adición de 1 g de cada una de las muestras pulverizadas colocadas en tubos de ensayo. Se añadieron 10 ml de cada uno de los solventes utilizados (hexano, metanol, éter de petróleo, etanol marca Jalmek®). Se utilizó un agitador automatizado durante 24 h (Stuart®) para mantener la mezcla bajo agitación a temperatura ambiente (25 ± 2 °C).

Después del tiempo de agitación se dejaron reposar las muestras en gradilla para el desfase y precipitado de cada muestra. Al observarse la separación se obtuvo el extracto dejando en los tubos la muestra precipitada. Los extractos fueron concentrados para obtener los compuestos de interés con rotavapor (Buchí, modelo-210) y un baño de agua (RIOSA, México) a 35-40 °C. Los extractos obtenidos se almacenaron en ultracongelación a -20 °C hasta su análisis (Ramírez *et al.*, 2019).

Cuantificación de fenólicos totales (CFT)

La determinación de compuestos fenólicos totales se realizó por espectrofotometría (equipo Genesys USA 10 UV), basándose en la reacción colorimétrica de óxido-reducción según Zamora (2016) con algunas modificaciones. A 30 μl de extracto se le agregaron 2 ml de agua destilada, 250 μl de reactivo Folin-Ciocalteu (grado analítico, Sigma-Aldrich, St. Louis MO, USA), posteriormente se agregó 1 ml de Na_2CO_3 al 10% p/v y se aforó a 5 ml con agua destilada. Las muestras se leyeron a una longitud de onda de 765 nm después de permanecer 1 h a temperatura ambiente y ausencia de luz. Para el cálculo de fenólicos totales se realizó una curva de calibración con ácido gálico grado analítico (Sigma-Aldrich St. Louis MO, USA). El contenido de fenólicos se expresó en mg AGE g^{-1} de PS (mg equivalentes de ácido gálico por gramo de peso seco).

Cuantificación de flavonoides (FVT)

Los flavonoides se cuantificaron mediante un análisis espectrofotométrico (equipo Genesys USA 10 UV) basado en la formación de un complejo entre los iones de Al (III) y los grupos carbonilo e hidroxilo del flavonoide, según lo descrito por Zamora (2016) con algunas modificaciones. Se mezclaron 50 μl de extracto con 100 μl de AlCl_3 al 5% p/v en etanol, 100 μl de acetato de sodio 1M y se aforó a 5 ml con metanol grado analítico (JT Baker). Los compuestos flavonoides se midieron a una longitud de onda de 425 nm después de 30 minutos de permanecer en ausencia de luz. Previo a la lectura se realizó una curva de calibración con quercetina grado analítico (Sigma-Aldrich St. Louis MO, USA). El contenido de flavonoides se expresa en mg QE g^{-1} de PS (mg equivalentes de quercetina por gramo de peso seco).

Determinación de la capacidad antioxidante (AA)

La capacidad antioxidante se midió según la metodología propuesta por Chaves *et al.* (2016) con modificaciones. El radical ABTS (2,2'-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid se obtuvo mediante la reacción de ABTS (7 mM) con persulfato de potasio ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$) 2,45 mM, posteriormente se aforó con agua a un volumen de 10 ml y se incubó a temperatura ambiente ($\pm 25^\circ\text{C}$) y en la oscuridad durante 18 h. El radical ABTS se diluyó en etanol hasta obtener un valor de absorbancia comprendido entre 0.7 (± 0.1) a una longitud de onda de 754 nm.

Los extractos se disolvieron en etanol a una concentración de 200 mg L^{-1} . Después de ello se colocaron en un tubo de ensayo 50 μl de muestra y 1 950 μl de ABTS. Se agitaron durante 1 min y mantuvieron en obscuridad durante 10 min. Posterior a la reacción se leyó la absorbancia a 754 nm (espectrofotometro Genesys USA 10UV). Los resultados se expresan en porcentaje de inhibición en micromoles base Trolox por cada gramo de muestra en peso seco ($\mu\text{mol Trolox g}^{-1}$ PS).

Análisis estadístico

El análisis estadístico se llevó a cabo mediante un análisis de varianza utilizando el programa Statistical Release Software 7.0 y la comparación de medias se realizó usando la prueba de Tukey con un valor de significancia de $p \leq 0.05$. Se utilizó un arreglo factorial 3 x 4 en un diseño completamente al azar, donde los factores fueron: genotipo y solvente de extracción. Se realizaron tres repeticiones por tratamiento.

Resultados y discusión

El presente estudio mostró diferencias para los factores estudiados ($p \leq 0.05$) las cuales pueden observarse en el Cuadro 1. Para el factor genotipo, las tres variedades de albahaca mostraron resultados similares en cuanto a las variables analizadas obteniendo rangos entre 7.18-6.57 y 6.6-6.05 para CFT y FVT respectivamente. En la variable AA se muestra diferencia entre los genotipos siendo Cinamon la variedad con mayor AA seguida de Lemon y por último Red Rubin (12% y 17% mayor respectivamente).

Cuadro 1. Valores promedio FVT, CFT y AA de tres variedades de albahaca y cuatro solventes de extracción.

Características	FVT (mg QE g ⁻¹ de PS)	CFT (mg AGE g ⁻¹ de PS)	AA (μmol Trolox g ⁻¹ PS)
Variedad			
Lemon	6.60 ±0.88 a	7.18 ±1.85 a	220.79 ±32.08 b
Cinnamon	6.25 ±0.77 a	6.57 ±1.86 a	249.5 ±36.38 a
Red Rubin	6.05 ±1.05 a	6.80 ±2.07 a	207.22 ±38.12 b
Solventes de extracción			
Hexano	3.48 ±0.19 c	7.62 ±0.68 b	61.79 ±3.3 c
Metanol	10.64 ±0.13 a	16.82 ±0.34 a	309.22 ±34.29 a
Éter de petróleo	7.26 ±0.27 b	0.72 ±0.18 d	215.06 ±10.13 b
Etanol	3.81 ±0.46 c	2.24 ±0.37 c	317.28 ±23.47 a
Interacción			
Variedad*solvente	**	**	**

FVT= flavonoides totales; CFT= compuestos fenólicos totales; AA= actividad antioxidante; **= altamente significativo. Letras distintas en columna indican diferencia altamente significativa al $p \leq 0.05$.

Para el factor solvente de extracción, puede observarse que para las variables FVT y CFT el mejor solvente es metanol con una diferencia de porcentaje de extracción de 68% para extracción de flavonoides comparado con el solvente hexano y 95% de eficiencia para la extracción de compuestos fenolicos comparado con el solvente éter de petróleo. En cuanto a la variable AA en el factor solvente de extracción se obtuvo que el más eficiente fue el etanol, pero sin diferencia significativa comparada con el solvente metanol.

Flavonoides totales

Los resultados del contenido de FVT, se muestran en la Figura 1. El contenido de flavonoides en este experimento osciló entre 2.4 y 10.8 mg QE g⁻¹ PS obteniendo que el solvente con mayor eficiencia para la extracción de estos compuestos fue el metanol para los tres cultivares de albahaca utilizadas, seguido por el solvente éter de petróleo y registrando los solventes etanol y hexano con los menores porcentajes de extracción (38 y 22% respectivamente) con respecto al valor mayor de FVT. Este estudio coincide con los resultados obtenidos por Do *et al.* (2014) quienes reportaron que la extracción de flavonoides de plantas estuvo fuertemente influenciada por los distintos solventes utilizados.

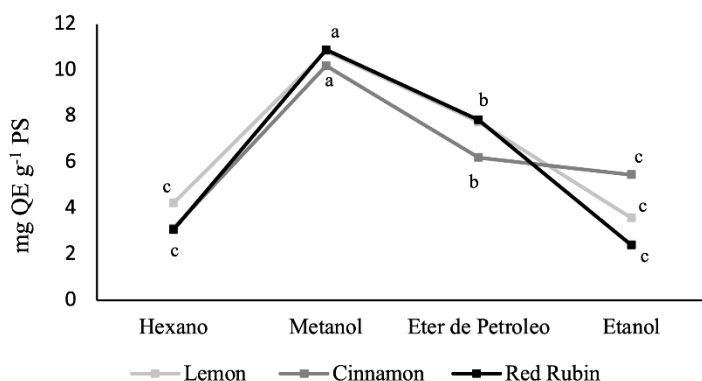


Figura 1. Concentración de flavonoides totales en extractos obtenidos por cuatro diferentes solventes de tres variedades de albahaca. Las laterales indican la diferencia significativa entre los distintos solventes de extracción para cada variedad de albahaca estudiada.

El contenido de FVT en extractos acuosos de flor de *M. acuminata* (159 45 mg QE 100 g⁻¹) y *P. tetragonolobus* (172 44 mg QE 100 g⁻¹) fue consistente con lo reportado por Ng y See (2019) (196 3 mg QE 100 g⁻¹) y Gan *et al.* (2017) (185 mg QE 100 g⁻¹). En comparación con los extractos de agua, el metanol aumentó significativamente el rendimiento de FVT de la flor de *M. acuminata* (24%) y *P. tetragonolobus* (73%), mientras que el n-hexano proporcionó el contenido de FVT más bajo en ambas plantas. Los resultados son similares a los obtenidos en este experimento donde el solvente con mayor capacidad de extracción fue el metanol y el de menor eficiencia el hexano.

Los flavonoides son los polifenoles más abundantes con varios grupos hidroxilo fenólicos reactivos en los anillos de benceno (Altemimi *et al.*, 2017), pero también se hace referencia a que las diferencias obtenidas en las diferentes extracciones por cada solvente podrían atribuirse a la variación en la composición bioquímica de la planta donde los fenólicos; en particular, los flavonoides son los principales fitoquímicos extraíbles (Joseph *et al.*, 2014). Haciendo referencia al solvente con mayor capacidad de extracción (metanol) se conoce que tanto en los complejos tanino-proteína, la mayoría de los flavonoides existen en los glucósidos y el metanol favorece la extracción de estos complejos polares de azúcar-flavonoides (Ng *et al.*, 2020).

Compuestos fenólicos totales

Los compuestos fenólicos son ubicuos en la mayoría de las plantas medicinales y constituyen una parte esencial de la dieta humana debido a sus propiedades antioxidantes y muchas otras propiedades beneficiosas para la salud (Balasundram *et al.*, 2006). Los CFT varían entre los valores de 0.2 17.9 mg AGE g⁻¹ PS, mostrando el rango tan amplio de extracción entre los distintos solventes utilizados para las tres variedades de albahaca analizada. En la Figura 2 se muestra la eficiencia de extracción de cada solvente utilizado para cada variedad de albahaca analizada.

El solvente metanol fue el agente de extracción más eficiente para CFT; los valores de extracción con este solvente oscilaron entre 15.8, 16.7 y 17.9 mg AGE g⁻¹ PS para las variedades Lemon Cinnamon y Red Rubin respectivamente, seguido por hexano, etanol y éter de petróleo. De acuerdo con la estructura química del hexano se conoce que es un solvente con menor polaridad que el éter de petróleo (Nawaz *et al.*, 2020), lo cual explica porque funciona de manera más eficiente en la

extracción de CFT que en la extracción de FVT, ya que de acuerdo con la clasificación de compuestos fenólicos los Flavonoides son un subgrupo de fenoles que no siempre tienen afinidad con los solventes poco polares (Nawaz *et al.*, 2020).

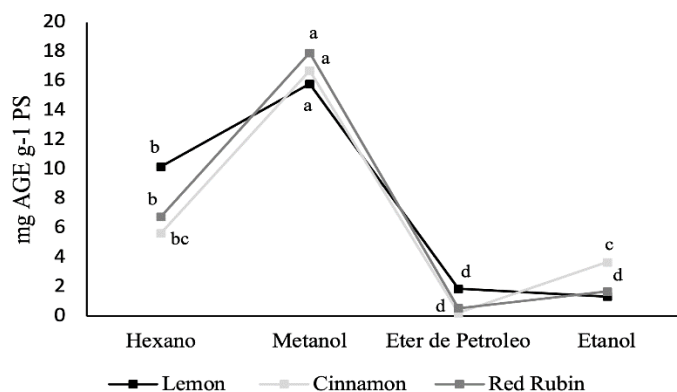


Figura 2. Concentración de compuestos fenólicos totales en extractos obtenidos por cuatro diferentes solventes de tres variedades de albahaca. Las laterales indican la diferencia significativa entre los distintos solventes de extracción para cada variedad de albahaca estudiada.

Autores como Orlando *et al.* (2019), indicaron que los rendimientos de extracción de polifenoles variaron considerablemente entre las diferentes variedades de planta. Salih *et al.* (2020) no obtuvieron una buena extracción de polifenoles a partir de muestras maceradas o cocidas al utilizar agua como extractante, en comparación con el uso de metanol y etanol. Sin embargo, el uso de otros solventes conlleva a una extracción óptima de compuestos bioactivos (Lezoul *et al.*, 2020).

En este sentido, la polaridad del metanol es mayor que la del etanol; por este motivo, los ácidos fenólicos muy polares, como el cinámico o el benzoico, podrían extraerse fácilmente, aumentando el contenido de polifenoles totales en los extractos obtenidos (Stalikas, 2007). Lo anterior explica los resultados del presente estudio, ya que cuando se utilizó metanol, la extracción de CFT fue mayor en comparación al resto de los solventes utilizados en las distintas variedades de albahaca.

Actividad antioxidante

En el presente estudio se mostraron propiedades de eliminación de radicales libres y los valores obtenidos mostraron indicadores de capacidades antioxidantes en base a la eliminación del radical libre utilizado en la técnica de ABTS. Se observó que los valores para la actividad de eliminación de radicales libres son mayores cuando el solvente utilizado fue metanol para las variedades de Lemon y Cinnamon, no fue el mismo caso para la variedad Red Rubin ya que estos extractos la mayor eficiencia de actividad antioxidante fue cuando el solvente utilizado fue etanol (Figura 3).

En el Cuadro 1 se menciona que la variedad de albahaca con mayor actividad antioxidante de acuerdo con los promedios arrojados en el análisis estadístico señala que es Cinnamon ($249.5 \mu\text{mol Trolox g}^{-1} \text{PS}$); sin embargo, cuando se analizan los factores en la interacción se observó que la AA es mayor en la variedad de albahaca Red Rubin cuando el solvente utilizado es etanol con un valor de $409.4 \mu\text{mol TROLOX g}^{-1} \text{PS}$). Cabe destacar que la variedad de albahaca Red Rubin posee características distintas con relación a las otras dos variedades tales como su pigmentación, y la cantidad de metabolitos secundarios que posee (Ramírez *et al.*, 2019).

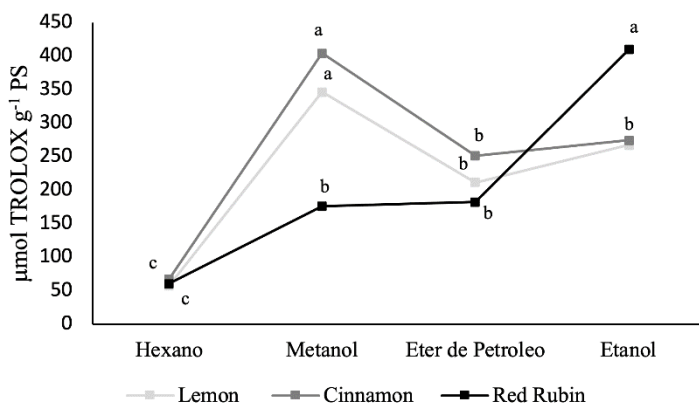


Figura 3. Concentración micromolar de actividad antioxidante por técnica de ABTS en extractos obtenidos por distintos solventes para tres variedades de albahaca. Las laterales indican la diferencia significativa entre los distintos solventes de extracción para cada variedad de albahaca estudiada.

En el estudio realizado por Dowlath *et al.* (2020) se reportó que no encontraron diferencias significativas entre los solventes de extracción éter de petróleo y cloroformo cuando analizaron los compuestos antioxidantes (CFT y AA) de *Cardiospermum halicacabum*: sin embargo, estos solventes tuvieron una diferencia significativa con respecto al solvente etanol en la medición de capacidad antioxidante por el método de DPPH. Los anteriores hallazgos coinciden con los obtenidos en este experimento ya que el solvente con mayor eficiencia para eliminación de radicales libres fue el etanol y metanol (Dowlath *et al.*, 2020).

Debido a que el solvente utilizado para la extracción presenta variaciones en la capacidad de eliminación de radicales de los extractos (Dhanani *et al.*, 2017) demuestra la influencia del solvente sobre la actividad antioxidante de los extractos crudos (Bhebe *et al.*, 2016). Lo que se encuentra respaldado en estudios sobre cáscaras de *Macademia tetraphylla*, infusiones de hierbas de *Limnophila aromatic* y *Withnaia somnifera* (L.), donde existe una fuerte influencia del solvente en la actividad antioxidante de los extractos de plantas (Do *et al.*, 2014; Dailey y Vuong, 2015). Esta variación de la actividad antioxidante posiblemente puede estar asociada con los compuestos de la planta como constituyentes fenólicos que son solubles en función de la polaridad de los solventes utilizados para la extracción u otros metabolitos secundarios presentes en cada una de las variedades estudiadas (Dowlath *et al.*, 2020).

Conclusiones

Este estudio mostró que los solventes con diferentes polaridades tienen efectos variables en la extracción de compuestos fitoquímicos y actividad antioxidante de las distintas variedades de albahaca. Las variedades de albahaca Lemon y Cinnamon mostraron mayor contenido de compuestos fitoquímicos y de actividad antioxidante en los extractos con el solvente metanol, mientras que el etanol tuvo la misma eficiencia de extracción que el metanol para la variedad Red Rubin. Los resultados obtenidos en este estudio podrían servir como una herramienta de clasificación para identificar los solventes de extracción ideales para diferentes plantas medicinales.

Teniendo en cuenta la amplia aplicación del sistema de extracción basado en solventes en las industrias alimentaria y manufacturera, es esencial una mayor investigación de los perfiles fitoquímicos de diferentes extractos de solventes vegetales a través de cromatografía líquida de alta resolución-espectrometría de masas para el aislamiento y la caracterización de los metabolitos secundarios de la planta y su estudio con diferentes solubilidades.

Literatura citada

- Abkhoo, J. and Jahani, S. 2016. Antibacterial effects of aqueous and ethanolic extracts of medicinal plants against pathogenic strains. *Inter. J. Infection*. 4(2):42-624.
- Aboshora, W.; Lianfu, Z.; Dahir, M.; Qingran, M.; Qingrui, S.; Jing, L.; Haj, N. and Ammar, A. 2015. Effect of extraction method and solvent power on polyphenol and Flavonoid levels in *Hyphaene Thebaica* L. Mart (Arecaceae) (Doum) fruit, and its antioxidant and antibacterial activities. *Trop. J. Pharmaceutical Res.* 13(12):2057-2063.
- Altemimi, A.; Lakhssassi, N.; Baharlouei, A.; Watson, D. G. and Lightfoot, D. A. 2017. Phytochemicals: extraction, isolation, and identification of bioactive compounds from plant extracts. *Plants*. 6(4):42-65.
- Ameer, K.; Shahbaz, H. M. and Kwon, J. H. 2017. Green extraction methods for polyphenols from plant matrices and their byproducts: a review: polyphenols extraction by green methods. *Comprehensive Reviews in Food Science Food Safety*. 16(2):295-315.
- Antonescu, M. A. I.; Miere, F. G.; Fritea, L.; Ganea, M.; Zdrinca, M.; Dobjanschi, L.; Antonescu, A.; Vicas, S. I.; Bodog, F.; Sindhu, R. K. and Cavalu, S. 2021. Perspectives on the combined effects of *Ocimum basilicum* and *trifolium pratense* extracts in terms of phytochemical profile and pharmacological effects. *Plants*. 10(7):1390-1409.
- Balasundram, N.; Sundram, K. and Samman, S. 2006. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chem.* 99(1):191-203.
- Barbouchi, M.; Elamrani, K.; Idrissi, M. E. and Choukrad, M. 2020. A comparative study on phytochemical screening, quantification of phenolic contents and antioxidant properties of different solvent extracts from various parts of *Pistacia lentiscus* L. *J. King Saud University Sci.* 32(1):302-306.
- Bhebhe, M.; Fuller, T. N.; Chipurura, B. and Muchuweti, M. 2016. Effect of solvent type on total phenolic content and free radical scavenging activity of black tea and herbal infusions. *Food Analytical Methods*. 9(4):1060-1067. <https://doi.org/10.1007/s12161-015-0270-z>.
- Brglez, M. E.; Knez, H. M.; Škerget, M.; Knez, Ž. and Bren, U. 2016. Polyphenols: extraction methods, antioxidative action, bioavailability and anticarcinogenic effects. *Molecules*. 21(7):901-937.
- Chaves, N. Santiago, A. and Alías, J. C. 2016. Quantification of the antioxidant activity of plant extracts: analysis of sensitivity and hierarchization based on the method used. *Antioxidants*. 9(1):76-91.
- Dailey, A. and Vuong, Q. V. 2015. Effect of extraction solvents on recovery of bioactive compounds and antioxidant properties from macadamia (*Macadamia tetraphylla*) skin waste. *Cogent Food Agric.* 1(1):1115646-1115656.
- Dhanani, T.; Shah, S.; Gajbhiye, N. A. and Kumar, S. 2017. Effect of extraction methods on yield, phytochemical constituents, and antioxidant activity of *Withania somnifera*. *Arabian J. Chem.* 10(1):1193-1199.

- Dhawan, D.; and Gupta, J. 2016. Comparison of different solvents for phytochemical extraction potential from datura metal plant leaves. *Inter. J. Biol. Chem.* 11(1):17-22.
- Do, Q. D.; Angkawijaya, A. E.; Tran, N. P. L.; Huynh, L. H.; Soetaredjo, F. E.; Ismadji, S. and Ju, Y. H. 2014. Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. *J. Food Drug Analysis.* 22(3):296-302.
- Dowlath, M. J. H.; Karuppannan, S. K.; Gi, D. R.; Sb, M. K.; Subramanian, S. and Arunachalam, K. D. 2020. Effect of solvents on phytochemical composition and antioxidant activity of *Cardiospermum halicacabum* (L.) extracts. *Pharmacognosy J.* 12(6):1241-1251.
- Egata, D. F. 2021. Benefit and use of Sweet Basil (*Ocimum Basilicum* L.) In Ethiopia: a review. *J. Nutr. Food Proces.* 4(5):57-59.
- Fajemiroye, J. O.; Silva, D. M.; Oliveira, D. R. and Costa, E. A. 2016. Treatment of anxiety and depression: medicinal plants in retrospect. *Fundamental Clinical Pharmacol.* 30(3):198-215.
- Gan, R. Y.; Wang, M. F.; Lui, W. Y.; Wu, K. Dai, S. H.; Sui, Z. Q. and Corke, H. 2017. Diversity in antioxidant capacity, phenolic contents, and flavonoid contents of 42 edible beans from China. *Cereal Chem. J.* 94(2):291-297.
- Joseph, J. 2014. Preliminary phytochemical screening and in vitro antioxidant activity of banana flower (*Musa paradisiaca* AAB Nendran variety). *J. Pharmacy Res.* 2(5):144-147.
- Lezoul, N. E. H.; Belkadi, M.; Habibi, F. and Guillén, F. 2020. Extraction processes with several solvents on total bioactive compounds in different organs of three medicinal plants. *Molecules.* 25(20):4672-4687.
- Monteiro, M.; Santos, R. A.; Iglesias, P.; Couto, A.; Serra, C. R.; Gouvinhas, I.; Barros, A.; Oliva, T. A.; Enes, P. and Díaz, R. P. 2020. Effect of extraction method and solvent system on the phenolic content and antioxidant activity of selected macro and microalgae extracts. *J. Appl. Phycol.* 32(1):349-362.
- Nawaz, H.; Shad, M. A.; Rehman, N.; Andaleeb, H. and Ullah, N. 2020. Effect of solvent polarity on extraction yield and antioxidant properties of phytochemicals from bean (*Phaseolus vulgaris*) seeds. *Braz. J. Pharmaceutical Sci.* 56(1):17129-17138.
- Ng, Z. X.; Samsuri, S. N. and Yong, P. H. 2020. The antioxidant index and chemometric analysis of tannin, flavonoid, and total phenolic extracted from medicinal plant foods with the solvents of different polarities. *J. Food Processing Preserv.* 44(9):14680-14691.
- Ng, Z. X. and See, A. N. 2019. Effect of in vitro digestion on the total polyphenol and flavonoid, antioxidant activity and carbohydrate hydrolyzing enzymes inhibitory potential of selected functional plant-based foods. *Food Processing Preserv.* 43(4):13903-13916.
- Orlando, G.; Zengin, G.; Ferrante, C.; Ronci, M.; Recinella, L.; Senkardes, I.; Gevrenova, R.; Zheleva, D. D.; Chiavaroli, A.; Leone, S.; Di, S. S.; Brunetti, L.; Picot, A. C.; Mahomoodally, M. F.; Sinan, K. I. and Menghini, L. 2019. Comprehensive chemical profiling and multidirectional biological investigation of two wild anthemis species (*Anthemis tinctoria* var. *Pallida* and *A. cretica* subsp. *tenuiloba*): focus on neuroprotective effects. *Molecules.* 24(14):2582-2607.
- Pereira, G. A.; Peixoto, A. N. M.; Arruda, H. S.; Farias, D. P.; Molina, G. and Pastore, G. M. 2019. Phytochemicals and biological activities of mutamba (*Guazuma ulmifolia* Lam.): a review. *Food Res. Inter.* 126(1):108713-108732.
- Rafi, M.; Meitary, N.; Anggraini, S. D. and Bintang, M. 2020. Phytochemical profile and antioxidant activity of *Guazuma ulmifolia* leaves extracts using different solvent extraction. *Indonesian J. Pharmacy.* 31(3):171-180.

- Ramírez, A. M. G.; Borroel, G. V. J.; Salas, P. L.; López, M. J. D.; Gallegos, R. M. A. and Trejo, E. H. I. 2019. Ácido rosmarínico, fenólicos totales y capacidad antioxidante en tres variedades de *Ocimum basilicum* L. con diferentes dosis de potasio. *Polibotánica*. 47(7):89-98.
- Rezzoug, M.; Bakchiche, B.; Gherib, A.; Roberta, A.; Flamini, G.; Kiliñarslan, Ö.; Mammadov, R. and Bardaweel, S. K. 2019. Chemical composition and bioactivity of essential oils and ethanolic extracts of *Ocimum basilicum* L. and *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut. From the Algerian Saharan atlas. *BMC complementary and alternative medicine*. 19(1):146-156.
- Salih, E. Y. A.; Julkunen, T. R.; Luukkanen, O.; Sipi, M.; Fahmi, M. K. M. and Fyhrquist, P. J. 2020. Potential anti tuberculosis activity of the extracts and their active components of *Anogeissus leiocarpa* (DC.) Guill. and Perr. with special emphasis on polyphenols. *Antibiotics*. 9(7):364-389.
- Stalikas, C. D. 2007. Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. *J. Separation Sci*. 30(18):3268-3295.
- Thakur, N. and Vasudevan, S. N. 2019. Role of enzymatic antioxidants in seed science and technology: a review. *J. Pharmacogn. Phytochem*. 8(4):3503-3507.
- Zamora, M. A.; Lillo, A.; Carvajal, C. F.; Nuñez, D. and Balboa, N. 2016. Cuantificación espectrofotométrica de compuestos fenólicos y actividad antioxidante en distintos berries nativos del Cono Sur de América. 42(2):168-174.