

Fenoles totales y capacidad antioxidante del extracto de hojas de *Moringa oleifera* en tres estados fenológicos

Total phenol and antioxidant activity of *Moringa oleifera* leaves extract on three phenological states

Lina Marcela Amaya Barragán ^{1,2}, Rómulo Campos Gaona ^{1,3}, Harlen Torres Castañeda ^{1,4}.

¹Universidad Nacional de Colombia sede Palmira. Palmira, Colombia. ² ✉ lmamayab@unal.edu.co,

³ ✉ rcamposg@unal.edu.co, ⁴ ✉ hgtorresc@unal.edu.co



<https://doi.org/10.15446/acag.v71n2.98672>

2022 | 71-2 p 156-161 | ISSN 0120-2812 | e-ISSN 2323-0118 | Rec.: 2021-09-27 Acep.: 2022-12-20

Resumen

Moringa oleifera es una especie vegetal con múltiples aplicaciones y características importantes de uso medicinal y farmacológico, contiene compuestos que le confieren actividad antioxidante, anticancerígena y antiinflamatoria, entre otras propiedades. Las hojas son la estructura más utilizada y con mayor concentración de compuestos bioactivos que pueden ser parcialmente aislados en extractos para usos posteriores. Sin embargo, en Colombia los estudios relacionados con la especie son escasos, lo que generó la necesidad de evaluar los compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante de las hojas de esta planta en tres estados fenológicos (J: joven, M: madura, A: adulta). Los extractos fueron evaluados en términos del contenido total de fenoles (CTF), flavonoides (CTFL), catequinas (CTC) y la capacidad antioxidante (DPPH, FRAP y ABTS). Los resultados obtenidos en este estudio evidenciaron que entre la hoja joven y madura no hubo diferencia estadística en ninguno de los parámetros evaluados, mostrando concentraciones promedio de flavonoides totales de 7.48 mg ER/g MS y una capacidad antioxidante promedio de 39.51 $\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g MS}$ (FRAP) y de 12.03 $\mu\text{mol ET/g MS}$ (ABTS). Por otro lado, la hoja adulta presentó una disminución significativa en el contenido de flavonoides totales (4.83 ± 0.33 mg ER/g MS) y la capacidad antioxidante en los métodos FRAP (34.99 ± 0.5 $\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g MS}$) y ABTS (11.50 ± 0.2 $\mu\text{mol ET/g MS}$), por lo que se concluyó que, de los tres estados fenológico, el único que no tendría potencial como antioxidante es el estado adulto.

Palabras clave: antioxidante, extracto, fenoles, flavonoides, *Moringa oleifera*.

Abstract

Moringa oleifera is a species with multiple applications and characteristics for medicinal and pharmacological use, since its compounds have antioxidant, anticancer and anti-inflammatory properties, among others. Leaves are the most used structure with the highest concentration of bioactive compounds, which can be partially isolated in extracts for later uses. However, in Colombia, studies related to the species are scarce, which leads to the need to evaluate the phenolic compounds and the antioxidant capacity of the leaves of this plant in three phenological stages (J: young, M: mature, A: adult). The extracts were evaluated in terms of total phenols (CTF), flavonoids (CTFL), catechins (CTC), and antioxidant capacity (DPPH, FRAP and ABTS). The results obtained in this study showed that between the young and mature leaves there was no statistical difference in any of the parameters evaluated, showing an average concentration of total flavonoids of 7.48 mg ER/g DS, and antioxidant capacity of 39.51 $\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g DS}$ (FRAP) and 12.03 $\mu\text{mol ET/g DS}$ (ABTS). On the other hand, adult leaves presented a significant decrease in the content of total flavonoids (4.83 ± 0.33 mg ER/g DS), and the antioxidant capacity in the FRAP (34.99 ± 0.5 $\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g DS}$) and ABTS (11.50 ± 0.2 $\mu\text{mol ET/g DS}$) methods, so it was concluded that the only one of the three phenological states that would not have potential as an antioxidant is the adult state.

Keywords: antioxidant, extract, phenols, flavonoids, *Moringa oleifera*.

Introducción

Moringa oleifera es un árbol multipropósito perteneciente a la familia Moringaceae, originario de India y cultivado en diferentes lugares como Pakistán, México, Perú y Paraguay (Ribaudó, Povolo y Zagotto, 2019). Al ser una especie multipropósito con variedad de compuestos fitoquímicos, todas sus partes son utilizadas en diferentes campos como la medicina, la nutrición, la farmacología, la alimentación animal; igualmente, es usado como fuente de biodiesel, agente purificante de agua, fertilizante, y promotor de crecimiento. (Braham *et al.*, 2019; Nouman *et al.*, 2016).

Por otro lado, el estrés oxidativo es una de las principales causas de la presencia de enfermedades como el cáncer; frente a esto los antioxidantes de origen vegetal pueden mitigar la liberación de radicales libres asociados con esta condición. La capacidad antioxidante de *M. oleifera* se atribuye, principalmente, al contenido de fenoles que, además, contribuyen a la reducción de la peroxidación de lípidos y del daño en las células, ya que son capaces de neutralizar los radicales libres debido a su estructura química, la cual se caracteriza por tener grupos hidroxilo (Lin, Zhang y Chen, 2018) including flavonoids, which are secondary plant metabolites with health-promoting effects, such as prevention of damage to normal cell DNA and promotion of cancer cell apoptosis, thereby reducing the burden of non-communicable diseases (NCDs).

Las hojas de *M. oleifera* son la estructura con mayor contenido de componentes fitoquímicos (fenoles y flavonoides) y potencial antioxidante, además de nutrientes como vitaminas, minerales y ácidos grasos. Entre los compuestos fenólicos presentes en esta planta se encuentran el ácido gálico, kaempferol, quercetina y astragalina (Prabakaran, Kim, Sasireka, Chandrasekaran y Chung, 2018). Estos compuestos fitoquímicos también le confieren a *M. oleifera* actividad antiinflamatoria, antifúngica y antimicrobiana (Karageorgou, Grigorakis, Lalas y Makris, 2017) Springer-Verlag Berlin Heidelberg. In this study, the extraction of polyphenols from *Moringa oleifera* leaves was investigated, using a biomolecule-based low-transition temperature mixture (LTTM).

Un aspecto importante que se debe tener en cuenta es que el contenido de compuestos fitoquímicos en la planta depende de factores climáticos, genéticos y agronómicos (Nouman *et al.*, 2016; Rodríguez Pérez *et al.*, 2015) antioxidant activity and contents of selected nutrients in the leaves from seven cultivars of *Moringa oleifera* ('Tumu', 'Sunnyaw', 'Kumasi', 'Techiman', 'China', 'Pakistan Black', and 'Pakistan White'). Por lo que es necesario evaluar los componentes bioactivos de *M. oleifera* en las diferentes regiones donde se cultiva. En Colombia no se reportan análisis sobre el extracto de hojas de *M. oleifera*, por lo que se requiere evaluar el contenido

de fenoles totales y la capacidad antioxidante del extracto de las hojas en tres estados fenológicos para su posterior uso como antioxidante en procesos de biotecnologías reproductivas.

Materiales y métodos

Obtención del material vegetal

El material vegetal (hojas) se recolectó en un cultivo comercial ubicado en el municipio de Candelaria, Valle del Cauca, en tres estados fenológicos: hoja joven (J), madura (M) y adulta (A). El sitio de colecta está ubicado a una altura de 975 m s. n. m., con temperatura promedio de 27° C y precipitación de 978 mm anuales.

Las hojas se lavaron con agua destilada con el fin de eliminar residuos e impurezas. Posteriormente, se secaron en horno a 40° C durante 36 horas, por último, se maceraron y se almacenaron a temperatura ambiente hasta su uso. Este proceso se realizó según la metodología propuesta por Braham *et al.* (2019), con algunas modificaciones.

Obtención del extracto

El proceso de extracción se realizó en el laboratorio de química, bioquímica y fitoquímica de la Universidad Nacional de Colombia - Sede Palmira, mediante la metodología usada por Torres, Colmenares e Isaza (2013) con algunas modificaciones. Se pesaron 200 mg de cada muestra seca (J: hoja joven; M: hoja madura; A: hoja adulta) en un tubo Eppendorf de 2 mL, se agregó a cada muestra una mezcla de cloroformo-metanol-agua (2:1:1), se agitaron y se sonicaron (Baño ultrasónico Branson[®]) durante 10 mins, posteriormente, fueron centrifugadas a 7000 rpm por 5 min y se recuperaron las fracciones metanol-agua. Este proceso se realizó tres veces en forma consecutiva.

La porción metanol-agua se sometió a fraccionamiento (Bajpai, Majumder y Park, 2016) y se recuperó la porción de metanol, posteriormente se rotaevaporó a 40° C y 130 mbar de presión. El extracto obtenido se almacenó a -4° C hasta su uso.

Análisis preliminar de compuestos fitoquímicos, determinación colorimétrica de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante

La estimación de la presencia de compuestos fitoquímicos en los extractos se realizó en tubos de ensayo con base en pruebas cualitativas (Torres *et al.*, 2013). Se estimó la presencia de esteroides, terpenoides, saponinas, fenoles totales, flavonoides, taninos condensados, taninos hidrolizables, alcaloides, cumarinas y glúcidos cardiotónicos.

Por otra parte, las metodologías utilizadas en la determinación de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante se adecuaron a la implementación de microplaca de 96 pozos (Wu, Li, Chen, Wang y Lin, 2020). Las lecturas se realizaron por espectrofotometría con un lector de microplacas (Biotek Lx800) y el software Gen 5™ (versión 3.02.1).

El contenido total de fenoles (CTF) se determinó de acuerdo con la metodología de Oboh, Olubode, Oyetomi y Adewuni (2018) modificada y empleando el reactivo Folin-Ciocalteu. La mezcla de 60 µL de muestra, 60 µL de reactivo Folin-Ciocalteu y 180 µL de disolución de carbonato de sodio se incubó a 60° C durante 45 min. La absorbancia fue leída a 750 nm y los resultados se expresaron como miligramos equivalentes de ácido gálico por gramo de muestra seca (mg EAG/g MS).

El contenido total de flavonoides (CTFI) se evaluó con base en la metodología de Braham *et al.* (2019). Se utilizaron 100 µL de muestra y 100 µL de solución de tricloruro de aluminio. La absorbancia fue leída a 405 nm y los resultados se expresaron como miligramos equivalentes de rutina por gramo de muestra seca (mg ER/g MS).

El contenido total de catequinas (CTC) se determinó de acuerdo con el método de vainillina (Cádiz-Gurrea, Fernández-Arroyo y Segura-Carretero, 2014) vegetables, spices, grains and herbs. For this reason, there has been increasing interest in identifying plant extract compounds. Polymeric tannins and monomeric flavonoids, such as catechin and epicatechin, in pine bark and green tea extracts could be responsible for the higher antioxidant activities of these extracts. The aim of the present study was to characterize the phenolic compounds in pine bark and green tea concentrated extracts using high-performance liquid chromatography coupled to electrospray ionization mass spectrometry (HPLC-ESI-QTOF-MS). Se utilizaron 100 µL de muestra, mezclada con 100 µL de vainillina y 100 µL de ácido sulfúrico. La mezcla se incubó a 30° C por 10 min y la lectura se realizó a 515 nm. Los resultados se expresaron como miligramos equivalentes de hidrato de catequina por gramo de muestra seca (mg EHC/g MS).

Por otro lado, la determinación de la capacidad antioxidante (CA) se realizó utilizando tres métodos:

Método radical libre DPPH (1.1-difenil-2-picril hidracilo)

Este método se realizó según Vázquez-León *et al.* (2017) con algunas modificaciones. Se utilizaron 60 µL de muestra, se le adicionaron 140 µL de dilución de DPPH a una concentración de 100 ppm, se incubó durante 30 min en la oscuridad y se leyó a 515 nm. El resultado se expresó como micromoles equivalentes de trolox por gramo de muestra seca (µmol ET/g MS) y como porcentaje de eliminación de radicales libres (% ERL) DPPH (ecuación 1).

Ecuación 1. Porcentaje de eliminación de radicales libres DPPH

$$\%ERL_{DPPH} = [(Ab - Am)/Ab] \times 100 \quad (\text{Ec.1})$$

Dónde: Ab= absorbancia de DPPH control, Am= absorbancia de DPPH con muestra.

Método potencial antioxidante reductor férrico (FRAP)

Este método se realizó con modificaciones al propuesto por Braham *et al.* (2019). Se utilizaron 60 µL de muestra, se agregaron 180 µL de agua destilada y 60 µL de reactivo FRAP, la mezcla se incubó a temperatura ambiente en la oscuridad por 30 min y se realizó la lectura a 630 nm. Los resultados se expresaron como micromoles de ion ferroso por gramo de muestra seca (µmolFe²⁺/g MS).

Método ABTS (ácido 2, 2-azinobis, 3-etil-benzotiazolin-6-sulfónico)

Para esta determinación se utilizó la metodología modificada a la reportada por Farooq y Koul (2019). Se utilizaron 60 µL de muestra y 240 µL de solución ABTS. La lectura se realizó a 750 nm y los resultados se expresaron en µmol ET/g MS y como porcentaje de la capacidad antioxidante (CA) (ecuación 2).

Ecuación 2. Cálculo del porcentaje de la capacidad antioxidante

$$\%CA = [(Ab - Am)/Ab] \times 100 \quad (\text{Ec.2})$$

Dónde: Ab= absorbancia del catión radical ABTS control, Am= absorbancia del catión radical ABTS con muestra.

Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó mediante un análisis de varianza (ANOVA) con el software estadístico InfoStat (versión 2018) (Grupo InfoStat, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina). Los datos que mostraron diferencias se sometieron a un análisis de comparación de medias mediante diferencia mínima significativa con un nivel de confianza del 95 %.

Resultados

Análisis preliminar de compuestos fitoquímicos

En el estudio preliminar de compuestos fitoquímicos se encontró que las hojas de *M. oleifera*, en los tres estados fenológicos, contenían terpenoides, esteroides, fenoles, flavonoides, cumarinas y glúcidos cardiotónicos (Tabla 1).

Determinación colorimétrica de compuestos fenólicos

Los resultados para la determinación colorimétrica de compuestos fenólicos no mostraron diferencia estadística para el contenido de fenoles totales, ni el contenido total de catequinas (Tabla 2). En contraste, el contenido de flavonoides totales presentó diferencia significativa, ya que la hoja joven y la madura fueron las de mayores contenidos.

Determinación de la capacidad antioxidante (CA)

La CA de *M. oleifera* presentó diferencia significativa ($p < 0.05$) para los ensayos FRAP y ABTS, en los que se obtuvieron valores más altos para las hojas jóvenes y maduras (Tabla 3).

Discusión

Los compuestos fenólicos derivados de plantas son metabolitos secundarios sintetizados a partir del aminoácido fenilalanina o tirosina. Algunos de estos compuestos son los flavonoides, taninos, cumarinas, quinonas y antocianinas. Estos compuestos tienen diversas estructuras, algunas simples, donde hay presencia de solo un anillo aromático y en otros se presentan formas poliméricas complejas (Mbemya, Vieira, Canafistula, Pessoa y Rodrigues, 2017). Estas moléculas mitigan la formación de radicales libres e inhiben los daños que estos generan, por ejemplo, la peroxidación lipídica y la oxidación de proteínas al donar electrones o átomos de hidrógeno e interrumpir la propagación de los radicales (Lin *et al.*, 2018) including flavonoids, which are secondary plant metabolites with health-promoting effects, such as prevention of damage to normal cell DNA and promotion of cancer cell apoptosis, thereby reducing the burden of non-communicable diseases (NCDs).

El tipo y cantidad de metabolitos presentes en las plantas es altamente variable y depende en gran medida de las condiciones ambientales donde se desarrolle el cultivo. Estas condiciones comprenden clima, tipo de suelo y manejo del cultivo, entre otras (Vats y Gupta, 2017). Además, las concentraciones de los compuestos también dependen de la edad de la planta y los métodos de extracción, conservación y análisis (Akorede *et al.*, 2020) given distilled water (2 ml/kg).

El presente estudio preliminar de compuestos fitoquímicos arrojó la presencia de fenoles, flavonoides y otras estructuras como terpenoides, esteroides y cumarinas. Este resultado concuerda con otras investigaciones realizadas en la misma especie y en especies del mismo género en otros países, las cuales además reportan la presencia de otros compuestos como saponinas y alcaloides (Oladeji, Odelade y Oloke, 2019; Al-Owaisi, Al-Hadiwi y Khan, 2014).

Una vez se corroboró la presencia de compuestos fenólicos en el extracto de *M. oleifera* se procedió a realizar las evaluaciones complementarias con el objetivo de conocer las concentraciones totales de fenoles, flavonoides, catequinas y la capacidad antioxidante. En este estudio se encontró que entre la hoja joven y madura no hubo diferencias significativas en ninguno de los parámetros evaluados. En contraste, la hoja adulta presentó concentraciones significativamente menores de flavonoides totales y catequinas totales, además mostró una CA menor en los métodos FRAP y ABTS. Estos resultados concuerdan parcialmente con los estudios realizados por Sreelatha y Padma (2009), quienes evaluaron la capacidad antioxidante y el contenido total de fenoles de las hojas de *M. oleifera* y obtuvieron mayor

Tabla 1. Análisis preliminar de compuestos fitoquímicos presentes en el extracto de hojas de *Moringa oleifera* en tres estados fenológicos

Compuesto	Prueba	J	M	A
Terpenoides y esteroides	Salkowski	-	-	+/-
	Lieberman-Bouchard	+	+	+
Saponinas	Espuma	-	-	-
	Cloruro férrico	++	++	++
Fenoles totales	Folin-Ciocalteu	++	++	++
	Shinoda	++	++	++
Flavonoides	Taninos condensados	-	-	-
	Taninos hidrolizables	-	-	-
Cumarinas		+	+	+
	Glúcidos cardiotónicos	+/-	+/-	+/-

++ Francamente positivo, + Positivo, +/- Dudoso, - Negativo. J: Hoja joven, M: Hoja madura, A: Hoja adulta

Tabla 2. Determinación colorimétrica de CTF, CTFL, CTC presentes en los extractos de hojas de *Moringa oleifera*

	CTF mg EAG/g MS	CTFL mg ER/g MS	CTC mg EHCg MS
J	4.26±0.2 ^a	7.83±0.23 ^a	0.67±0.02 ^a
M	4.15±0.3 ^a	7.13±0.004 ^a	0.76±0.19 ^a
A	3.41±0.2 ^a	4.83±0.33 ^b	0.45±0.09 ^a

J: Hoja joven, M: Hoja madura, A: Hoja adulta. Los resultados están expresados como media ± DE. Diferente letra indica diferencia significativa entre las muestras.

Tabla 3. Capacidad antioxidante (DPPH, FRAP, ABTS) del extracto de *Moringa oleifera* en tres estados fenológicos

Muestra	DPPH		FRAP		ABTS	
	($\mu\text{mol ET/g MS}$)	%	($\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g MS}$)	($\mu\text{mol ET/g MS}$)	%	
J	15.99±0.5 ^a	57.92	39.37±0.2 ^a	11.94±0.2 ^a	89.74	
M	16.23±1.9 ^a	58.50	39.65±0.003 ^a	12.13±0.02 ^a	90.53	
A	13.44±0.7 ^a	47.44	34.99±0.5 ^b	11.50±0.2 ^b	86.85	

J: Hoja joven, M: Hoja madura, A: Hoja adulta, %: porcentaje de eliminación de radicales. Los resultados están expresados como media ± DE. Diferente letra indica diferencia significativa entre las muestras.

contenido de fenoles totales en la hoja madura (45.81 ± 0.02 mg EAG/g MS). Sin embargo, en este estudio sí se obtuvieron diferencias significativas con respecto a la hoja joven.

En un estudio realizado en Ecuador, se evaluó la variabilidad del contenido de flavonoides y fenoles del extracto de hojas de *M. oleifera* de acuerdo con la edad y altura de las hojas, encontrando concentraciones menores en las hojas con mayor edad (flavonoides: 13.99; fenoles: 9.10 mg/g, respectivamente) (Cabrera *et al.*, 2017). Estos resultados concuerdan con los obtenidos en el presente estudio. De igual forma, en aquel estudio se reportó el mismo comportamiento de las hojas más jóvenes e intermedias, las cuales no fueron diferentes significativamente y arrojaron concentraciones promedio de fenoles de 13.3 mg EAG/g MS (Cabrera *et al.*, 2017). Por otro lado, se reportan valores para flavonoides de 2.3 ± 0.09 mg ER/g MS (Vats y Gupta, 2017), valores menores a los encontrados en este estudio, cuyo valor más bajo fue 4.83 ± 0.33 mg ER/g MS. Para contenido total de catequinas no se encontraron estudios comparativos en la especie.

Con respecto a la CA, *M. oleifera* presentó mejores resultados con los extractos de hoja joven y madura, los cuales tuvieron diferencia significativa en los ensayos FRAP y ABTS. El método FRAP consiste en la reacción redox que ocurre entre la sustancia antioxidante y los iones Fe^{3+} a través de la transferencia de electrones en los que el ion se reduce a Fe^{2+} y se determina de acuerdo con el cambio de color (Martins *et al.*, 2013). Mientras que el método ABTS determina la actividad de reducción de los radicales ABTS a través de la transferencia de electrones o átomos de hidrógeno y se determina por decoloración (Mwamatope, Tembo, Chikowe, Kampira y Nyirenda, 2020). Es decir, que los compuestos del extracto de *M. oleifera* pueden actuar como mecanismos de transferencia de electrones (SET) y átomos de hidrogeno (HAT), además, pueden tener mayor afinidad por los iones hierro y radicales estructuralmente similares al catión ABTS (Wang *et al.*, 2020; Sreelatha y Padma, 2009). Así mismo, se reportan resultados para DPPH de $530 \mu\text{mol ET/g MS}$ (Braham *et al.*, 2019), para FRAP $643 \mu\text{mol FeSO}_4/\text{g MS}$ y para ABTS $330 \mu\text{mol ET/g MS}$, valores mayores a los encontrados por Rizi (2016).

De acuerdo con los resultados obtenidos, de los tres estados fenológicos evaluados, la hoja joven y madura de *M. oleifera* poseen mayores contenidos de compuestos que le brindan una capacidad antioxidante cercana al 90 %, por lo que podrían brindar estabilidad redox a las células y ofrecer beneficios en las nuevas biotecnologías reproductivas, por ejemplo, en la mitigación de especies reactivas de oxígeno (EROs) cuando se utiliza el extracto como suplemento en los medios de cultivo en la producción *in vitro* de embriones.

Conclusión

Las hojas de *M. oleifera* son estructuras que presentan alto contenido de compuestos con potencial antioxidante, sin embargo, este contenido puede verse afectado por las condiciones agronómicas, las zonas de cultivo y las técnicas de extracción. Según los resultados obtenidos en este estudio, entre la hoja joven y madura no existen diferencias significativas y además presentan los contenidos más altos de flavonoides y de capacidad antioxidante en los métodos FRAP y ABTS, por lo que el extracto obtenido de las hojas en estas etapas podría presentar un mayor potencial como antioxidante para uso como suplemento en los medios utilizados en la producción *in vitro* de embriones.

Agradecimientos

El proyecto fue financiado por la Universidad Nacional de Colombia con recursos de la convocatoria para el fortalecimiento de la investigación y creación artística de la Facultad de Ciencias Agropecuarias 2017-2018, bajo el proyecto con código 42246.

Referencias

- Akorede, G. J.; Ambali, S. F.; Hudu, M. G.; Suleiman, M. M.; Suleiman, K. Y.; Abdulrahim, H. A.; ... AbdulMajeed, I. (2020). Carbamazepine evoked reproductive toxicity in male Wistar rats: Protective properties of *Moringa oleifera* leaves methanolic extract. *Comparative Clinical Pathology*, 29(6), 1179–1187. <https://doi.org/10.1007/s00580-020-03169-x>
- Al-Owaisi, M.; Al-Hadiwi, N. y Khan, S. A. (2014). GC-MS analysis, determination of total phenolics, flavonoid content and free radical scavenging activities of various crude extracts of *Moringa peregrina* (Forssk.) Fiori leaves. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 4(12), 964–970. <https://doi.org/10.12980/apjtb.4.201414b295>
- Bajpai, V. K.; Majumder, R. y Park, J. G. (2016). Isolation and purification of plant secondary metabolites using column-chromatographic technique. *Bangladesh Journal of Pharmacology*, 11(4), 844–848. <https://doi.org/10.3329/bjp.v11i4.28185>
- Braham, F.; Carvalho, D. O.; Almeida, C. M. R.; Zaidi, F.; Magalhães, J. M. C. S.; Guido, L. F. y Gonçalves, M. P. (2019). Online HPLC-DPPH screening method for evaluation of radical scavenging phenols extracted from *Moringa oleifera* leaves. *South African Journal of Botany*, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.04.001>
- Cabrera, J. L.; Jaramillo, C.; Dután, F.; Cun, J.; García, P. A. y De Astudillo, L. R. (2017). Variación del contenido de alcaloides, fenoles, flavonoides y taninos en *Moringa oleifera* Lam. en función de su edad y altura. *Bioagro*, 29(1), 53–60. http://ve.scielo.org/scielo.php?pid=S1316-33612017000100006&script=sci_arttext&tlng=en
- Cádiz-Gurrea, M. de la L.; Fernández-Arroyo, S. y Segura-Carretero, A. (2014). Pine bark and green tea concentrated extracts: Antioxidant activity and comprehensive characterization of bioactive compounds by HPLC-ESI-QTOF-MS. *International Journal of Molecular Sciences*, 15(11), 20382–20402. <https://doi.org/10.3390/ijms151120382>

- Farooq, B. y Koul, B. (2019). Comparative analysis of the antioxidant, antibacterial and plant growth promoting potential of five Indian varieties of *Moringa oleifera* L. *South African Journal of Botany*, 129, 47-55. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2018.12.014>
- Karageorgou, I.; Grigorakis, S.; Lalas, S. y Makris, D. P. (2017). Enhanced extraction of antioxidant polyphenols from *Moringa oleifera* Lam. leaves using a biomolecule-based low-transition temperature mixture. *European Food Research and Technology*, 243(10), 1839-1848. <https://doi.org/10.1007/s00217-017-2887-1>
- Lin, M.; Zhang, J. y Chen, X. (2018). Bioactive flavonoids in *Moringa oleifera* and their health-promoting properties. *Journal of Functional Foods*, 47, 469-479. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.06.011>
- Martins, A. C.; Bukman, L.; Vargas, A. M. M.; Barizão, É. O.; Moraes, J. C. G.; Visentainer, J. V. y Almeida, V. C. (2013). The antioxidant activity of teas measured by the FRAP method adapted to the FIA system: Optimising the conditions using the response surface methodology. *Food Chemistry*, 138(1), 574-580. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.10.143>
- Mbemya, G. T.; Vieira, L. A.; Canafistula, F. G.; Pessoa, O. D. L. y Rodrigues, A. P. R. (2017). Reports on *in vivo* and *in vitro* contribution of medicinal plants to improve the female reproductive function. *Reproducao e Climaterio*, 32(2), 109-119. <https://doi.org/10.1016/j.recli.2016.11.002>
- Mwamatope, B.; Tembo, D.; Chikowe, I.; Kampira, E. y Nyirenda, C. (2020). Total phenolic contents and antioxidant activity of *Senna singueana*, *Melia azedarach*, *Moringa oleifera* and *Lannea discolor* herbal plants. *Scientific African*, 9. <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2020.e00481>
- Nouman, W.; Anwar, F.; Gull, T.; Newton, A.; Rosa, E. y Domínguez-Perles, R. (2016). Profiling of polyphenolics, nutrients and antioxidant potential of germplasm's leaves from seven cultivars of *Moringa oleifera* Lam. *Industrial Crops and Products*, 83, 166-176. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.12.032>
- Oboh, G.; Olubode, A.; Oyetomi, O. y Adewuni, T. (2018). Influence of *Moringa (Moringa oleifera)* leaf extracts on the antioxidant and angiotensin - 1 converting enzyme inhibitory properties of lisinopril. *Oriental Pharmacy and Experimental Medicine*, 18(4), 317-324. <https://doi.org/10.1007/s13596-018-0317-y>
- Oladeji, O. S.; Odelade, K. A. y Oloke, J. K. (2019). Phytochemical screening and antimicrobial investigation of *Moringa oleifera* leaf extracts. *African Journal of Science, Technology, Innovation and Development*, 1-6. <https://doi.org/10.1080/20421338.2019.1589082>
- Prabakaran, M.; Kim, S. H.; Sasireka, A.; Chandrasekaran, M. y Chung, I. M. (2018). Polyphenol composition and antimicrobial activity of various solvent extracts from different plant parts of *Moringa oleifera*. *Food Bioscience*, 26, 23-29. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2018.09.003>
- Ribaudo, G.; Povolito, C. y Zagotto, G. (2019). *Moringa oleifera* Lam.: A rich source of phytoactives for the health of human being. *Studies in Natural Products Chemistry*, 62, 179-210. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64185-4.00005-8>
- Rizi, F. R. (2016). Otimização do processo de extração de compostos bioativos a partir das folhas de *Moringa oleifera*. Paraná: Universidade Tecnológica Federal do Paraná. http://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/15296/3/PB_DAQUI_2016_2_5.pdf
- Rodríguez Pérez, C.; Quirantes Piné, R.; Fernández Gutiérrez, A. y Segura Carretero, A. (2015). Optimization of extraction method to obtain a phenolic compounds-rich extract from *Moringa oleifera* Lam. leaves. *Industrial Crops and Products*, 66, 246-254. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.01.002>
- Sreelatha, S. y Padma, P. R. (2009). Antioxidant activity and total phenolic content of *Moringa oleifera* leaves in two stages of maturity. *Plant Foods for Human Nutrition*, 64(303). <https://link.springer.com/article/10.1007/s11130-009-0141-0>
- Torres, H.; Colmenares, A. J. y Isaza, J. H. (2013). Total phenolics antioxidant activity and phytochemical profile of some plants from the Yotoco National Protected Forest. *Revista de Ciencias*, 17, 35-44. <https://doi.org/DOI:10.25100/rc.v17i3.477>
- Vats, S. y Gupta, T. (2017). Evaluation of bioactive compounds and antioxidant potential of hydroethanolic extract of *Moringa oleifera* Lam. from Rajasthan, India. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 23(1), 239-248. <https://doi.org/10.1007/s12298-016-0407-6>
- Vázquez-León, L. A.; Páramo-Calderón, D. E.; Robles-Olvera, V. J.; Valdés-Rodríguez, O. A.; Pérez-Vázquez, A.; García-Alvarado, M. A. y Rodríguez-Jimenes, G. C. (2017). Variation in bioactive compounds and antiradical activity of *Moringa oleifera* leaves: Influence of climatic factors, tree age, and soil parameters. *European Food Research and Technology*, 243(9), 1593-1608. <https://doi.org/10.1007/s00217-017-2868-4>
- Wang, F.; Long, S.; Zhang, J.; Yu, J.; Xiong, Y.; Zhou, W.; ... Jiang, H. (2020). Antioxidant activities and anti-proliferative effects of *Moringa oleifera* L. extracts with head and neck cancer. *Food Bioscience*, 37, 100691. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100691>
- Wu, L.; Li, L.; Chen, S.; Wang, L. y Lin, X. (2020). Deep eutectic solvent-based ultrasonic-assisted extraction of phenolic compounds from *Moringa oleifera* L. leaves: Optimization, comparison and antioxidant activity. *Separation and Purification Technology*, 247. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2020.117014>