



## Constituintes químicos voláteis e não-voláteis de *Moringa oleifera* Lam., Moringaceae

Milena B. Barreto,<sup>1</sup> João Vito B. de Freitas,<sup>1</sup> Edilberto R. Silveira,<sup>1</sup>  
Antônio Marcos E. Bezerra,<sup>2</sup> Edson P. Nunes,<sup>3</sup> Nilce V. Gramosa\*<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Fitoquímica de Plantas Mediciniais, Departamento de Química Orgânica e Inorgânica, Centro de Ciências, Universidade Federal do Ceará, Caixa Postal 6021, 60455-760 Fortaleza-CE, Brasil

<sup>2</sup>Departamento de Fitotecnica, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará, Caixa Postal 12168, 60356-001 Fortaleza-CE, Brasil

<sup>3</sup>Departamento de Biologia, Centro de Ciências, Universidade Federal do Ceará, Caixa Postal 6021, 60455-760 Fortaleza-CE, Brasil

**RESUMO:** O estudo fitoquímico do extrato etanólico das folhas de *Moringa oleifera* Lam., Moringaceae, resultou no isolamento dos derivados benznitrilas niazirina, niazirinina e 4-hidroxifenil-acetonitrila, enquanto que das cascas dos frutos somente o octacosano foi obtido. Os óleos essenciais das folhas, flores e frutos foram analisados por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa. Os constituintes principais identificados foram: fitol (21,6%) e timol (9,6%) nas folhas, octadecano (27,4%) e ácido hexadecanoico (18,4%) nas flores e docosano (32,7%) e tetracosano (24,0%) nos frutos. As estruturas dos compostos isolados foram identificadas a partir de técnicas espectroscópicas (RMN, IV e EM). A 4-hidroxifenil-acetonitrila está sendo citada pela primeira vez para o gênero *Moringa* e os óleos essenciais das flores e frutos estão sendo citados pela primeira vez para a espécie *M. oleifera*.

**Unitermos:** *Moringa oleifera*, Moringaceae, óleos essenciais, nitrilas, niazirina, niazirinina.

**ABSTRACT:** “Volatile and non-volatile chemical constituents of *Moringa oleifera* Lam., Moringaceae”. Phytochemical analysis of the ethanol extract from leaves of *Moringa oleifera* Lam., Moringaceae, yield the benznitriles: niazirine, niazirinine and 4-hydroxyphenylacetone nitrile, while of fruit shells only octacosane was isolated. The essential oils from leaves, flowers and fruits were examined by gas chromatography-mass spectrometry. The major constituents identified were: phytol (21.6%) and thymol (9.6%) in the leaves oil, octadecane (27.4%) and hexadecanoic acid (18.4%) in the flowers oil, docosane (32.7%) and tetracosane (24.0%) in the fruits oil. The structures of all compounds were identified by spectroscopic analyses (NMR, IR and MS). 4-hydroxyphenylacetone nitrile is reported for the first time to the *Moringa* genus and the essential oils of flowers and fruits are reported for the first time to the species *M. oleifera*.

**Keywords:** *Moringa oleifera*, Moringaceae, essential oils, nitriles, niazirine, niazirinine.

### INTRODUÇÃO

O gênero *Moringa*, único representante da família Moringaceae, é constituído por quatorze espécies amplamente distribuídas nas regiões tropicais do planeta (Anwar et al., 2007; Gassenschmidt et al., 1995; Abdulkarim et al., 2004). Dentre as espécies descritas para o gênero, destaca-se a *Moringa oleifera* Lam., Moringaceae conhecida popularmente por “moringa”, “quiabo-de-quina” ou “lírio” (Matos, 2002). Originária do noroeste da Índia, é amplamente distribuída nos países da Ásia e da África (Makkar & Becker, 1996; Matos, 2002; Bezerra et al., 2004).

No Brasil, a moringa foi introduzida como planta

ornamental por volta de 1950 (Matos, 2002) e desde então, tem sido amplamente cultivada devido ao seu alto valor alimentício, principalmente das folhas, ricas em caroteno, ácido ascórbico e ferro (Makkar & Becker, 1996; Bezerra et al., 2004). Os cotilédones e tegumentos das sementes de *M. oleifera* contêm proteínas com alta capacidade de coagulação e, portanto, são usados na purificação e clarificação de águas naturais (Gassenschmidt et al., 1995; Okuda et al., 2001; Bennett et al., 2003; Bezerra et al., 2004; Ghebremichael et al., 2005). Variadas propriedades terapêuticas são atribuídas à moringa, das quais incluem o uso como estimulante cardíaco e circulatório (Anwar et al., 2007; Faizi et al., 1994), antitumoral, antipirética, antiepileptica, antiespasmódica, diurética, hepatoprotetora

\*E-mail: nilce@dqoi.ufc.br; Fone +55-85-3366 9368, Fax +55-85-3366 9782.

(Anwar et al., 2007), no combate a inflamações, hipertensão arterial (Anwar et al., 2007; Faizi et al., 1994; Guevara et al., 1999) e diarreia (Faizi et al., 1994; Bennett et al., 2003). Algumas atividades biológicas foram descritas na literatura para *M. oleifera*, dentre estas, destacam-se: antimicrobiana (Faizi et al., 1994; Matos, 2002), antitumoral (Guevara et al., 1999), hepatoprotetora (Bennett et al., 2003), antiespasmódica, diurética (Cáceres et al., 1992) e antifúngica (Chuang et al., 2007). Os relatos sobre estudos químicos de *Moringa* descrevem que plantas deste gênero são ricas em  $\alpha$ - e  $\gamma$ -tocoferóis (Sánchez-Machado et al., 2006), glicosinolatos, nitrilas, glicosídeos (Guevara et al., 1999; Abdulkarim et al., 2004), quercetina, canferol (Anwar et al., 2007), ramnosídeos, isotiocianatos e esteróides (Eilert et al., 1981; Guevara et al., 1999). Chuang et al. (2007) relataram que os componentes principais do óleo essencial das folhas de *Moringa oleifera* eram: fitol (7,66%), pentacosano (17,41%) e hexacosano (11,20%).

O variado espectro de propriedades terapêuticas e nutricionais atribuídas a *M. oleifera* tem motivado vários grupos de pesquisa a estudar esta espécie. Neste trabalho são descritos os resultados obtidos na investigação química das folhas, frutos e flores de *M. oleifera* Lam.. O estudo do óleo essencial das flores e frutos está sendo relatado pela primeira vez para o gênero *Moringa*, bem como o isolamento da substância 4-hidroxifenil-acetonitrila.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### Instrumentação e procedimentos experimentais gerais

Os pontos de fusão foram determinados em aparelho de microdeterminação MQPAF - 301 (Microquímica) provido de placa aquecedora modelo FP 52 e unidade de controle FP-5. As cromatografias de adsorção em coluna foram realizadas em colunas de vidro de comprimentos e diâmetros variados, com gel de sílica 60 (0,063-0,200 mm; 70-230 mesh, VETEC) como fase estacionária. Para as cromatografias em camada delgada analítica (CCD) foram utilizadas lâminas de vidro contendo gel de sílica 60 GF<sub>254</sub> Fluka. A revelação das placas CCD foi feita pela exposição das mesmas à lâmpada de irradiação na faixa do ultravioleta (UV), com dois comprimentos de onda (254 e 365 nm), bem como, por aspersão das placas com solução de vanilina seguida de aquecimento por 5 min em placa aquecedora a aproximadamente 100 °C.

Os espectros na região do IV foram obtidos em Espectrômetro Perkin Elmer, modelo FT-IR Spectrum 1000 utilizando pastilhas de KBr. Os espectros de RMN <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C foram obtidos em espectrômetros Bruker Avance DPX-300 e DRX-500 operando na frequência de hidrogênio-1 a 300,13 MHz e a 500,13 MHz e na frequência do carbono a 75,47 MHz e a 125,75 MHz, respectivamente. Os experimentos unidimensionais de RMN <sup>13</sup>C foram efetuados sob desacoplamento total de

hidrogênios. As amostras foram dissolvidas em 0,5 mL de CDCl<sub>3</sub>. Os deslocamentos químicos ( $\delta$ ) foram expressos em partes por milhão (ppm) e referenciados para RMN <sup>1</sup>H pelo pico do hidrogênio pertencente a fração de clorofórmio não deuterada ( $\delta$  7,27) e para RMN <sup>13</sup>C pelo pico central do tripleto em  $\delta$  77,23 do clorofórmio deuterado. O padrão de hidrogenação dos carbonos em RMN <sup>13</sup>C foi determinado a partir da utilização da técnica DEPT com o ângulo de nutação ( $\theta$ ) de 135°.

### Material vegetal

As partes aéreas de *M. oleifera* Lam., Moringaceae foram coletadas no Setor de Horticultura do Campus do Pici da Universidade Federal do Ceará. A identificação botânica foi realizada pelo Prof. Edson P. Nunes do Departamento de Biologia da mesma universidade. A exsicata da planta encontra-se depositada no Herbário Prisco Bezerra do Departamento de Biologia da UFC, registrada sob número 38.195.

### Obtenção e análise dos óleos essenciais

As folhas (2,1 kg), as flores (95 g) e os frutos frescos (805 g) foram moídos e submetidos ao processo de arraste com vapor utilizando um aparelho tipo Clevenger durante 3 h. Os óleos essenciais obtidos foram acondicionados em frascos de vidro e mantidos sob refrigeração até serem analisados. A análise dos óleos foi realizada utilizando cromatógrafo gasoso Shimadzu QP5050 equipado com coluna capilar de sílica fundida OV-5 (30 m; 0,25 mm; 0,25  $\mu$ m) acoplado a espectrômetro de massa. O espectro de massa foi obtido com a voltagem de ionização de 70 eV (temperatura da fonte 250 °C). A rampa de temperatura foi programada de 40-180 °C a 4 °C/min e de 180-280 °C a 20 °C/min e mantido um isoterma por 7 min. O gás de arraste utilizado foi o hélio num fluxo de 1,0 mL/min. Os constituintes foram identificados por comparação de seus espectros de massa com aqueles do banco de dados WILEY229 e confirmados por seus índices de retenção calculados em relação aos tempos de retenção de uma série homóloga de *n*-alcanos comparados com os dados relatados na literatura (Adams, 2001).

### Extração e isolamento dos constituintes químicos

As folhas (2,0 kg) após extração dos óleos essenciais foram secas ao ar e maceradas com etanol:água 9:1 por 7 dias. O extrato obtido foi concentrado em evaporador rotatório à pressão reduzida, resultando em 49,3 g (2,5%) de extrato (MOF-E). Uma alíquota de 44,3 g de MOF-E foi dissolvida em água destilada e extraída (3x 50 mL) com clorofórmio (195 mg) e em seguida com acetato de etila (920 mg). A fração clorofórmica foi cromatografada sobre gel de sílica e eluída com os solventes: éter de petróleo, acetona e metanol puros ou em

misturas binárias em ordem crescente de polaridade. As subfrações 1-7 e 24, eluídas com éter de petróleo e éter de petróleo:acetona 1:3, forneceram, respectivamente, as substâncias **1** (4,4 mg) e **3** (56,1 mg). Uma alíquota de 877,4 mg da fração acetato de etila foi submetida a cromatografia sobre gel de sílica e eluída com os solventes *n*-hexano, clorofórmio, acetato de etila e metanol, puros e em misturas binárias, em ordem crescente de polaridade. As frações obtidas foram analisadas por CCD e reunidas de acordo com suas semelhanças. A subfração 117-123 eluída com clorofórmio:acetato de etila 1:1 forneceu a substância **2** (38,0 mg).

As cascas dos frutos secas (130 g) foram moídas e maceradas com *n*-hexano, resultando no extrato MOV-H (1,7 g) após concentração em evaporador rotatório. Uma alíquota de 934,3 mg de MOV-H foi submetida a cromatografia sobre gel de sílica com éter de petróleo, clorofórmio, acetato de etila e metanol. A fração 6 (20,6 mg) eluída com éter de petróleo foi identificada como sendo a substância **4** após análise espectrométrica (IV, RMN, EM).

As substâncias isoladas **1-4** foram caracterizados através dos métodos espectrométricos IV, RMN e EM, bem como, por comparação com os dados descritos na literatura (Adams, 2001; Faizi et al., 1994; Sekhar et al., 2002; Silverstein et al., 2005).

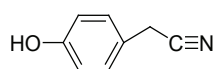
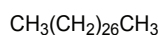
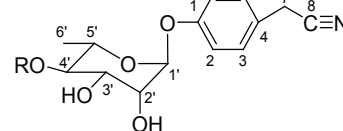
## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Fracionamentos cromatográficos sucessivos da fração clorofórmica do extrato etanólico das folhas de *M. oleifera* Lam., Moringaceae resultaram no isolamento das nitrilas **1** e **3** (Figura 1). A substância **2** foi isolada da fração acetato de etila do extrato etanólico das folhas e identificadas a partir da análise de seus dados espectrométricos, bem como, pela comparação dos dados descritos na literatura (Faizi et al., 1994).

No espectro de RMN <sup>13</sup>C de **2** foram observados quatorze sinais, dentre os quais, um sinal indicativo de carbono de nitrila em δ 120,0 ppm e seis sinais associados aos carbonos do anel heterocíclico da ramnose em δ 100,1 (C-1'); 72,4 (C-2'); 72,2 (C-3'); 74,0 (C-4'); 70,9 (C-5') e 18,2 (C-6') ppm. No mesmo espectro foram observados ainda sinais característicos de benzeno *p*-dissubstituído em δ 157,6 (C-1), 118,2 (C-2,6), 130,5 (C-3,5) e 126,0 (C-4) ppm. O sinal em δ 22,9 ppm foi atribuído ao carbono benzílico alfa à nitrila. No espectro de RMN <sup>1</sup>H de **2** foram observados dois dubletos em δ 7,08 (8,7 Hz) e 7,29 (8,7 Hz) ppm que foram inferidos a hidrogênios *orto*-acoplados num sistema AA'BB' de aromático *p*-dissubstituído. No mesmo espectro foi observado ainda um singlete em δ 3,82 (H-7) ppm do grupo metileno benzílico alfa à nitrila, bem como, sinais característicos dos hidrogênios da ramnose, permitindo a identificação de **2** como a niazirina (Faizi et al., 1994). Os sinais observados nos espectros de RMN da substância **3** apresentaram-se bastante semelhantes aos

observados nos espectros de **2**. No espectro de RMN <sup>1</sup>H de **3** foi observado um singlete largo indicativo de hidrogênio do carbono anomérico de carboidrato em δ 5,41 (H-1') ppm, bem como, os sinais dos hidrogênios dos carbonos oxigenados do sistema heterocíclico em δ 3,93 (*dd*; *J* 9,7; 3,5 Hz; H-3'), 3,99 (*dd*; *J* 3,5; 1,8 Hz; H-2'), 4,87 (*t*; *J* 9,7 Hz; H-4') e 3,73 (*qd*; *J* 9,7; 6,2 Hz; H-5') ppm. O singlete em δ 2,04 ppm foi atribuído a um grupo acetil ligado ao carbono 4'. A posição deste grupo foi proposta a partir dos dados de deslocamento químico e constantes de acoplamento do H-4' comparadas com os dados da literatura (Faizi et al., 1994). Os hidrogênios *orto*-acoplados em δ 7,17 (*d*; *J* 8,6 Hz) e 6,99 (*d*; *J* 8,6 Hz) ppm foram associados ao sistema AA'BB' de anel benzênico *p*-dissubstituído. No espectro de RMN <sup>13</sup>C foram observados sinais característicos de carbonos de carboidratos em δ 99,5 (C-1'); 75,8 (C-4'); 72,0 (C-2'); 71,0 (C-3') e 68,4 (C-5') ppm para os carbonos monohidrogenados e em δ 18,8 (C-6') ppm para o carbono metílico. A presença do grupo acetil neste composto foi justificada pelos sinais em δ 22,4 e 173,1 ppm, indicativos do carbono metílico e da carbonila, respectivamente. Os carbonos aromáticos monohidrogenados foram observados em δ 116,9 (C-2,6) e 129,3 (C-3,5) ppm, e os não-hidrogenados em δ 156,0 (C-1) e 131,7 (C-4) ppm. A presença da nitrila foi proposta a partir do sinal em δC 119,7 (C-8) ppm e confirmada pela absorção característica da deformação axial C≡N em 2260 cm<sup>-1</sup> no espectro no infravermelho. Os dados obtidos para a substância **3** são comparáveis aos dados descritos na literatura para 4-*O*-acetil-alfa-ramnosídeos (Faizi et al., 1994) e sugeriram que **3** trata-se da 4-[4'-*O*-acetil-α-*L*-ramnosiloxibenzil] nitrila denominada por niazirina.

A substância **1** foi identificada como a 4-hidroxifenil-acetonitrila após comparação de seus dados de RMN com os dados observados para **2** e **3**, bem como com os dados descritos na literatura (Faizi et al., 1994; Silverstein et al., 2005). No espectro de RMN <sup>1</sup>H em CDCl<sub>3</sub> de **1** foram observados dois dubletos em δ 7,07 (*J* 8,5 Hz) e 6,75 (*J* 8,5 Hz) ppm característicos dos hidrogênios *orto*-acoplados do sistema AA'BB' no anel aromático *p*-dissubstituído, e ainda, um singlete em δ 3,60 ppm indicativo do grupo metileno da acetonitrila alfa-substituída.

**1****4**

**2** R = H  
**3** R = Ac

A substância **4** foi isolada a partir do fracionamento cromatográfico do extrato hexânico das cascas dos frutos de *M. oleifera*. No espectro de RMN <sup>13</sup>C de **4** foram observadas cinco linhas espectrais, dentre estas, uma em  $\delta$  14,1 ppm indicativa de carbono metílico e as outras quatro relativas a carbonos metilênicos em  $\delta$  22,7; 29,4; 29,7 e 32,9 ppm. No espectro de RMN <sup>1</sup>H de **4** foram observados dois sinais característicos de hidrocarboneto saturado não ramificado em  $\delta$  0,91 (t; *J* 6,4 Hz) e 1,28 (m) ppm. Os dados obtidos do espectro de massa (m/z 394, 379, 113, 99, 85, 71, 57, 43), acrescidos do p.f. 61,35 °C contribuíram substancialmente para a proposição da estrutura do composto **4** como sendo o octacosano (Adams, 2001; Sekhar et al., 2002).

O estudo da composição química dos óleos essenciais das folhas, flores e frutos de *M. oleifera*, obtidos por arraste com vapor, foi realizado a partir das análises dos seus respectivos dados de CG-EM, levando-se em consideração os índices de retenção e as percentagens relativas de cada pico do cromatograma, bem como por comparação com os dados descritos na literatura (Adams, 2001). Foram identificados 21 componentes nestes óleos, distribuídos entre compostos não-terpenóides (ácidos,

álcoois e hidrocarbonetos) e terpenóides oxigenados (monoterpenos, sesquiterpenos e diterpenos) (Tabela 1). O óleo essencial das folhas de *M. oleifera* mostrou ser rica em monoterpenos e sesquiterpenos oxigenados, dentre estes, o componente majoritário identificado foi o timol (9,7%). Os componentes majoritários do óleo essencial das folhas foram fitol (21,9%) e ácido hexadecanóico (13,8%). De acordo com Chuang et al. (2007), no óleo essencial das folhas de *M. oleifera* foram identificados 44 componentes, dentre os quais, os constituintes principais foram: pentacosano (17,41%), hexacosano (11,20%) e fitol (7,66%), já o ácido hexadecanóico (1,08%) foi descrito como constituinte minoritário. O óleo essencial das flores de *M. oleifera* em estudo mostrou ser rico em constituintes não-terpenóides, principalmente tetracosano (27,4%), acetato de hexadecila (21,0%) e ácido hexadecanóico (18,4%). Já no óleo dos frutos, predominaram os hidrocarbonetos não-terpenóides, destacando-se: docosano (32,7%), tetracosano (24,0%) e octacosano (19,1%). A presença do octacosano no óleo essencial dos frutos corrobora com a identificação deste composto no extrato hexânico das cascas dos frutos descrita anteriormente.

**Tabela 1.** Composição percentual (%) dos óleos essenciais das folhas, flores e frutos de *M. oleifera* Lam.

Componentes <sup>a</sup>	IR <sup>b</sup>	Folhas	Flores	Frutos
linalool	1103	2,9	-	-
$\alpha$ -terpineol	1190	2,4	-	-
geraniol	1260	1,7	-	-
timol	1300	9,7	-	-
metil-eugenol	1410	2,3	-	-
$\alpha$ -isoelemincina	1556	3,4	-	-
espatulenol	1570	2,5	-	-
óxido de cariofileno	1574	1,5	-	-
pentadecanol	1779	-	10,5	-
hexa-hidrofarnesilacetona	1789	8,5	-	-
octadecano	1803	3,1	-	13,1
ácido hexadecanóico	1822	13,8	18,4	-
nonadecano	1848	3,7	-	-
fitol	1850	21,9	-	-
acetato de hexadecila	1950	-	21,0	-
eicosano	1991	-	-	5,2
ácido 9,12-octadienóico	2078	7,8	12,2	-
docosano	2187	2,8	-	32,7
tetracosano	2433	-	27,4	24,0
octacosano	2786	-	-	19,1
nonacosano	2859	1,7	10,5	-
Total		89,7	100,0	94,1

<sup>a</sup> Componentes listados de acordo com a ordem de eluição em coluna OV-5.

<sup>b</sup> Índices de Kovat corrigidos.



## AGRADECIMENTOS

Ao CNPq e FUNCAP pelas bolsas concedidas e apoio financeiro (FUNCAP/CNPq/PPP). À Central analítica do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica pelas análises por IV e CG/EM. Ao CENAUREMN pelos espectros de RMN.

## REFERÊNCIAS

- Abdulkarim SM, Long K, Lai OM, Muhammad SKS, Ghazali HM 2004. Some physico-chemical properties of *Moringa oleifera* seed oil extracted using solvent and aqueous enzymatic methods. *J Food Chem* 93: 253-256.
- Adams RP 2001. *Identification of essential oil components by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy*. Illinois: Allured Pub Corp.
- Anwar F, Latif S, Ashraf M, Gilani AH 2007. *Moringa oleifera*: A food plant with multiple medicinal uses. *Phytoter Res* 21: 17-25.
- Bennett RN, Mellon FA, Foidl N, Pratt JH, Dupont MS, Perkins L, Kroon PA 2003. Profiling glucosinolates and phenolics in vegetative and reproductive tissues of the multi-purpose trees *Moringa oleifera* L. (*Horseradish Tree*) and *Moringa stenopetala* L. *J Agr Food Chem* 51: 3546-3553.
- Bezerra AME, Momenté VG, Medeiros Filho S 2004. Germinação de sementes e desenvolvimento de plântulas de moringa (*Moringa oleifera* Lam.) em função do peso da semente e do tipo de substrato. *Hort Bras* 22: 295-299.
- Cáceres A, Saraiva A, Rizzo S, Zabala L, De Leon E, Nave F 1992. Pharmacological properties of *Moringa oleifera*. 2: Screening for antispasmodic, antiinflammatory and diuretic activity. *J Ethnopharmacol* 36: 233-237.
- Chuang PH, Lee CW, Chou JY, Murugan M, Shien BJ, Chen HM 2007. Anti-fungal activity of crude extracts and essential oil of *Moringa oleifera* Lam. *Bioresource Technol* 98: 232-236.
- Eilert U, Wolters B, Nahrsted A 1981. The antibiotic principle of seeds of *Moringa oleifera* and *Moringa stenopetala*. *Planta Med* 42: 55-61.
- Faizi S, Siddiqui BS, Saleem R, Siddiqui S, Aftab K 1994. Isolation and structure elucidation of new nitrile and mustard oil glycosides from *Moringa oleifera* and their effect on blood pressure. *J Nat Prod* 57: 1256-1261.
- Gassenschmidt U, Jany KD, Tauscher B, Niebergall H 1995. Isolation and characterization of a flocculating protein from *Moringa oleifera* Lam. *Biochim Biophys Acta* 1243: 477-481.
- Ghebremichael KA, Gunaratna KR, Henriksson H, Brumer H, Dalhammar G 2005. A simple purification and activity assay of the coagulant protein from *Moringa oleifera* seed. *Water Res* 39: 2338-2344.
- Guevara AP, Vargas C, Sakurai H, Fujiwara Y, Hashimoto K, Maoka T, Kozuka M, Ito Y, Tokuda H, Nishino H 1999. An antitumor promoter from *Moringa oleifera* Lam. *Mutat Res* 440: 181-188.
- Makkar HPS, Becker K 1996. Nutritional value and antinutritional components of whole and ethanol extracted *Moringa oleifera* leaves. *Anim Feed Sci Tech* 63: 211-228.
- Matos FJA 2002. *Farmácias vivas: sistema de utilização de plantas medicinais projetado para pequenas comunidades*. 4ª ed. Fortaleza: UFC, SEBRAE/CE.
- Okuda T, Baes AU, Nishijima W, Okada M 2001. Isolation and characterization of coagulant extracted from *Moringa oleifera* seed by salt solution. *Water Res* 35: 405-410.
- Sánchez-Machado DI, López-Cervantes J, Vázquez NJR 2006. High-performance liquid chromatography method to measure  $\alpha$ - and  $\gamma$ -tocopherol in leaves, flowers and fresh beans from *Moringa oleifera*. *J Chromatogr A* 1105: 111-114.
- Sekhar GC, Venkatesu P, Hofman T, Rao MVP 2002. Solid-liquid equilibria of long chain *n*-alkanes (C18-C28) in *N,N*-dimethylacetamide. *Fluid Phase Equilib* 201: 219-231.
- Silverstein RM, Webster FX, Kiemle DJ 2005. *Spectrometric identification of organic compounds*. USA: John Wiley & Sons.