



Instituto Federal de Brasília
Campus Gama
Licenciatura em Química

GEOVANA HENRIQUE PASSOS

**MORINGA OLEIFERA LAM: PERFIL QUÍMICO EM CG/EM DE EXTRATOS
ORGÂNICOS E ESTUDO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE**

Brasília
2023

GEOVANA HENRIQUE PASSOS

**MORINGA OLEIFERA LAM: PERFIL QUÍMICO EM CG/EM DE EXTRATOS
ORGÂNICOS E ESTUDO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE**

Trabalho apresentado ao Curso de Licenciatura em Química do *Campus* Gama do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Brasília como requisito parcial para obtenção de título de Licenciado em Química.

Orientador(a): Prof. Dr. Marley Garcia Silva

Brasília
2023

Passos, Geovana Henrique.

Moringa Oleifera Lam: perfil químico em CG/EM de extratos orgânicos e estudo da atividade oxidante. / Geovana Henrique Passos ; orientação Marley Garcia Silva. — Gama, DF: 2023.

49 f. : 30 cm.

Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciatura em Química) — Instituto Federal de Brasília, Campus Gama, Gama, DF, 2023.

Orientador(a): Marley Garcia Silva.

1. Moringa. 2. Química de produtos naturais. 3. DPPH. I. Silva, Marley Garcia, orient. II. Instituto Federal de Brasília. III. Título.

GEOVANA HENRIQUE PASSOS

**MORINGA OLEIFERA LAM: PERFIL QUÍMICO EM CG/EM DE EXTRATOS
ORGÂNICOS E ESTUDO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE**

Trabalho apresentado ao Curso de Licenciatura em Química do *Campus* Gama do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Brasília como requisito parcial para obtenção de título de Licenciado em Química.

Aprovado em 25 de Janeiro de 2023.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Marley Garcia Silva
Instituto Federal de Brasília - *Campus* Gama
Orientador

Prof. Dra. Adriana de Oliveira dos Santos
Instituto Federal de Brasília – *Campus* Gama
Membro externo

Prof. Dr. Rodrigo Alves da Silva
Instituto Federal de Brasília - *Campus* Gama
Membro interno

Brasília
2023

Aos meus pais, minha inspiração e meu amor maior, sem vocês eu nada seria.

Ao meu irmão pelo companheirismo e amizade.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por em momentos difíceis me fazer acreditar que em tudo há um propósito e me encorajar a seguir afim de alcançar os objetivos por Ele estabelecidos. Sei que nada aconteceu sem que Ele permitisse e sem que fosse necessário.

À minha família, em especial meus pais Edvaldo e Liliane, pelo apoio e incentivo incondicionais em todos os momentos da minha vida, vocês são meu maior exemplo de força e meu amor mais profundo.

Ao meu companheiro de vida, João Victor, pela oportunidade de estar ao seu lado nos momentos mais felizes e especiais e por sempre acreditar em mim com sua total confiança e amor. Te amo hoje, amanhã e sempre.

Ao meu orientador e amigo, Marley, por ser tão presente e solícito neste processo de conclusão e por compartilhar conhecimentos e experiências profissionais e de vida que muito me incentivaram, agradeço ainda pela amizade, acolhimento e apoio oferecidos de forma absoluta.

Agradeço aos amigos que tive o prazer de conhecer ao longo da graduação, Vítor, Rafael, Iury, Ayla e Lorena que me proporcionaram em nosso convívio muitas risadas e aprendizado e, em particular Pâmela, que esteve ao meu lado desde o início perpassando alegrias e tristezas e me ensinando com carinho sobre fé e cuidado. Além destes, agradeço aos amigos de vida que compreenderam ao longo dos anos meus maus e bons momentos no processo da graduação e estiveram sempre presentes.

Por fim, agradeço aos meus professores e aos profissionais do IFB que de alguma forma participaram e contribuíram diretamente para minha formação e ao Jardim Botânico de Brasília.

Muito obrigada.

RESUMO

A espécie *Moringa oleífera* Lam. (Moringaceae) é uma planta muito usada em terapias médicas e está cada vez mais reconhecida em publicações científicas. Esta planta tem chamado a atenção pois é uma espécie rica em substâncias bioativas e apresenta poucos efeitos adversos. Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi avaliar o perfil químico dos extratos orgânicos obtidos de folhas de *Moringa oleífera* e analisar o potencial antioxidante. Além disto, buscou-se neste trabalho correlacionar a importância do tema química de produtos naturais ao contexto de estudantes do ensino médio. A obtenção dos extratos orgânicos foi realizada por meio de maceração e percolação. Realizadas as extrações, procedeu-se a análise química por meio de cromatografia gasosa acoplada a espectro de massas (CG/EM). A análise de atividade antioxidante foi realizada pelo método DPPH, por meio do valor da concentração do agente antioxidante e comparação com a absorbância em 517 nm. De acordo com os dados obtidos da CG/EM, considerando os parâmetros de grau de similaridade, IK e literatura, foi possível sugerir 11 substâncias presentes no extrato etanólico das folhas de moringa, sendo: Ácido tetradecanoico, Neoftadieno, 2-hexadec-1-ol, Ácido hexadecanoico, Ácido 9,12-octadecadienoico, Triacotano, Dotriacotano, γ -tocoferol e α -tocoferol- β -D-manosídeo representando, no total, 43,95% das substâncias detectadas no cromatograma. Os resultados da atividade antioxidante mostraram que os valores da EC50 para o extrato etanólico e hexânico foram $1,874 \pm 0,009$ e $1,874 \pm 0,009$ mg/mL, respectivamente. Este resultado confirma a característica antioxidante dos metabólitos secundários da espécie e os dados apresentados neste trabalho podem servir de parâmetros para futuros processos de fracionamento, identificação de substâncias e atividades biológicas diversas.

Palavras-chave: Moringa; Química de Produtos Naturais; DPPH.

ABSTRACT

The species *Moringa oleifera* Lam. (Moringaceae) is a plant widely used in medical therapies and is increasingly recognized in scientific publications. This plant has drawn attention because it is a species rich in bioactive substances and has few adverse effects. In this sense, the objective of this work was to evaluate the chemical profile of the organic extractions obtained from *Moringa oleifera* leaves and to analyze the antioxidant potential. In addition, this work sought to correlate the importance of the subject chemistry of natural products to the context of high school students. The organic extractions were obtained through maceration and percolation. After the extractions were carried out, chemical analysis was carried out using gas chromatography coupled to mass spectrum (GC/MS). The analysis of antioxidant activity was performed using the DPPH method, using the concentration of the antioxidant agent and comparing it with the absorbance at 517 nm. According to the data obtained from GC/MS, considering the parameters of degrees of similarity, IK and literature, it was possible to suggest 11 substances present in the ethanolic extraction of moringa leaves, namely: Tetradecanoic acid, Neophthadiene, 2-hexadecene-1-ol, Hexadecanoic acid, 9,12-octadecadienoic acid, Tricontane, Dotriacontane, γ -tocopherol and α -tocopherol- β -D-mannoside representing, in total, 43.95% of the substances detected in the chromatogram. The results of the antioxidant activity showed that the EC₅₀ values for the ethanolic and hexane extraction were 1.874 ± 0.009 and 1.874 ± 0.009 mg/mL, respectively. This result confirms the antioxidant characteristic of the secondary metabolites of the species and the data presented in this work can serve as parameters for future fractionation processes, identification of substances and diverse biological activities.

Keywords: Moringa; Chemistry of Natural Products; DPPH.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1** – Rotas biossintéticas de alguns metabólitos secundários majoritários em plantas..... 14
- Figura 2** – Mapa com distribuição da ocorrência da espécie *Moringa oleifera* Lam..... 17
- Figura 3** – Composição da árvore da *Moringa oleifera* Lam. (A) Aspecto geral, (B) Sementes, (C) Folhas, (D) Flores. 17
- Figura 4** – Estruturas químicas dos flavonoides Quercetina (A) e Kaempferol (B): substâncias comumente encontradas em espécies de *Moringa oleifera*..... 18
- Figura 5** – Divisão das espécies reativas. Os grupos são divididos conforme a presença de elementos como oxigênio e nitrogênio e correlacionam-se com a ocorrência de espécies que possuem elétrons desemparelhados, os radicais livres..... 21
- Figura 6** – Desequilíbrio entre oxidantes e antioxidantes e possíveis consequências à biologia celular. 22
- Figura 7** – Estrutura química DPPH. 23
- Figura 8** – Estratégias gerais adotadas para condução dos experimentos e obtenção dos resultados. 26
- Figura 9** – Apresentação da coleta e processamento do material vegetal. (A) árvore em que foram coletadas as folhas de moringa, (B): aspecto da planta após processo de lavagem e secagem à temperatura ambiente..... 27
- Figura 10** – Procedimento aplicado para obtenção do extrato hexânico (ExH). (A) Aspecto das folhas trituradas, (B) Mistura de hexano com as folhas de moringa, (C) Filtração à vácuo para separação do solvente, (D) Rotaevaporador a baixa pressão para eliminar o solvente. 27
- Figura 11** – Etapas do processo de obtenção do extrato em etanol (ExEtOH). (A) Percolador com extração em etanol (ExEtOH), (B) Aspecto da extração com etanol, (C) Rotaevaporador a baixa pressão para eliminar o solvente..... 28
- Figura 12** – Cromatograma com os tempos de retenção dos padrões de hidrocarbonetos. O resultado foi obtido por meio de CG/EM, coluna EN5MS (30m x 0,25mm x 0,25µm) SGE Analytical Science. 32
- Figura 13** – Cromatograma do extrato hexânico (ExH) obtido por meio de maceração de folhas de *M. oleifera*. 33
- Figura 14** – Cromatograma do extrato etanólico (ExEtOH) obtido por meio de maceração de folhas de *M. oleifera*. 33

Figura 15 – Espectro da substância com tempo de retenção em 25,130 min (A) e comparação com banco de dados WILEY para o ácido tetradecanoico (B)..... **37**

Figura 16 – Curva padrão que correlaciona a concentração de ácido ascórbico e a porcentagem de redução. **38**

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Exemplos da atividade biológica de compostos derivados do metabolismo de plantas.	15
Tabela 2 – Usos medicinais de partes da <i>Moringa oleifera</i> Lam.....	19
Tabela 3 – Volume das soluções e do solvente orgânico (MeOH) usado para padronização do método.	30
Tabela 4 – Volume das amostras e controle utilizado para análise da atividade antioxidante da moringa.	31
Tabela 5 – Massas obtidas dos extratos e o rendimento percentual correspondente.	31
Tabela 6 – Tempos de retenção detectados no cromatograma do extrato ExH.....	34
Tabela 7 – Tempos de retenção detectados no cromatograma do extrato ExEtOH	34
Tabela 8 – Perfil químico do extrato etanólico (ExEtOH) obtido de folhas de <i>M. oleífera</i> . Resultados do índice de retenção de Kovats (IK) e comparação com dados de literatura (Adams, 2017).....	35
Tabela 9 – Valores da leitura realizada em UV-VIS para as amostras de moringa.	38
Tabela 10 – Capacidade antioxidante dos extratos ExH, ExEtOH e padrão de ácido ascórbico obtidos.	39

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CEMMO	Central de Espectrometria de Massas e Micromoléculas Orgânicas
CG/EM	Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas
DPPH	<i>1,1-difenil-2-picrilhidrazil</i>
FFNSC	<i>Flavors and Fragrances of Natural and Synthetic Compounds</i>
ExEtOH	Extrato Etanólico
ExH	Extrato Hexânico
IK	Índice de Retenção de <i>Kovats</i>
JBB	Jardim Botânico de Brasília
MeOH	Metanol
NIST	<i>National Institute of Standards and Technology</i>

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
1.1	Química e atividade biológica de plantas medicinais	13
1.2	Moringa oleífera Lam: ocorrência, perfil químico e atividades vinculadas	16
1.3	Atividade antioxidante e o método DPPH	20
1.4	Inserção de atividades de pesquisa no contexto educacional	23
2	OBJETIVOS	25
2.1	Objetivo geral	25
2.2	Objetivos específicos	25
3	MATERIAL E MÉTODOS	26
3.1	Estratégias experimentais	26
3.2	Coleta e identificação do material vegetal	26
3.3	Processamento das folhas e obtenção dos extratos hexânico e etanólico	27
3.3.1	Maceração	27
3.3.2	Percolação	28
3.4	Cromatografia em Fase Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas	28
3.5	Determinação da atividade antioxidante por meio do método DPPH	29
4	RESULTADOS	31
4.1	Rendimento dos extratos em hexano (ExH) e em etanol (ExEtOH)	31
4.2	Perfil químico dos extratos ExH e ExEtOH: análise por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas	32
4.3	Investigação da atividade antioxidante dos extratos ExH e ExEtOH pelo método DPPH	37
5	DISCUSSÃO	39
6	CONCLUSÃO	43
	REFERÊNCIAS	44

1 INTRODUÇÃO

1.1 Química e atividade biológica de plantas medicinais

Durante séculos na história da humanidade, as plantas têm sido utilizadas como alternativa para o tratamento de doenças, produção de alimentos e para o desenvolvimento de produtos para a indústria farmacêutica e cosmética. Isto foi possível em virtude da variedade de compostos produzidos por meio do metabolismo secundário destes organismos (EKIERT; SZOPA, 2020; VIEGAS, BOLZANI, BARREIRO, 2006).

O metabolismo observado em plantas (e outros organismos) pode ser descrito como uma série de reações químicas e tem como objetivo a degradação ou a síntese de substâncias. As plantas possuem dois tipos de metabolismo: o primário, responsável pela estrutura e reserva de energia vegetal, e o secundário, cujos produtos variam conforme as condições do meio e é particularmente interessante pela produção de substâncias com potencial biológico (MENDONZA, SILVA, 2018).

Os metabólitos secundários são, portanto, oriundos do processo de adaptação da planta a diferentes ambientes. Estes são capazes de desempenhar funções específicas como a necessidade de sobrevivência das plantas a predadores ou a mudanças climáticas e ambientais que porventura estão sujeitas. Há estudos ainda que correlacionam a produção destes metabólitos à coloração de frutos e folhas e à atração de insetos polinizadores. Como resultado, obtêm-se compostos bioquímicos que apresentam alta complexidade e que variam de acordo com o ambiente de cultivo, crescimento e fatores nutricionais do solo. Cabe ressaltar ainda que a resposta das plantas à variabilidade de estímulos externos gera substâncias que podem ser restritas a uma área ou a um grupo de espécies expostas a condições similares (ROCKENBACH et al, 2018; DHAKAD et al, 2019).

Neste sentido, as plantas são importantes fontes de substâncias com potencial biológico ou terapêutico, apresentando benefícios e uma alta aplicabilidade nos cuidados com a saúde. Estas substâncias podem ainda servir para o design de novos medicamentos, produtos de aplicação biotecnológica ou até mesmo como precursores químicos em rotas biossintéticas para sínteses de novas substâncias (JAIN, KHATANA, VIJAYVERGIA, 2019).

Tabela 1 - Exemplos da atividade biológica de compostos derivados do metabolismo de plantas.

Princípio ativo	Classe	Atividade	Origem vegetal	Referência
Taxol	Alcaloide	Anticâncer (Antineoplásico)	<i>Taxus</i> spp.	CROTEAU et al 2006
Artemisina	Sesquiterpeno	Antimalárico, Antineoplásico	<i>Artemisia annua</i>	WEATHERS et al 2011
Digitoxina, Digoxina	Esteróide	Cardiotônico	<i>Nerium oleander</i>	CALDERÓN- MONTAÑO et al 2013
Pilocarpina	Alcaloide	Colinérgico	<i>Pilocarpus spp.</i>	SANTOS e MORENO 2013
Gossipol	Sesquiterpeno	Contraceptivo	<i>Gossypium spp.</i>	TALAPATRA e TALAPATRA 2015
Capsaicina	Composto fenólico	Antidiabético	<i>Capsicum frutescens</i>	CHAIYASIT et al 2009

Fonte: Elaborada pelo autor.

Estas substâncias são classificadas como fitoquímicos e desempenham atividades biológicas importantes no controle e prevenção de doenças. Para estas substâncias, há relatos de ação antiinflamatória, antihipertensiva, antimicrobiana, antiparasitária, anticancerígena, antidiabética e antioxidante. (MORTAZA, ARASH, 2017; DHAKAD et al, 2019; JAIN, KHATANA, VIJAYVERGIA, 2019, BOURGAUD, 2004).

A fitoquímica, área da química responsável por estudar os compostos obtidos de plantas, contribui para a identificação de novas substâncias com atividades biológicas desde o planejamento racional de estruturas bioativas a estudos das interações com os sistemas biológicos, passando pelas fases de produção de extratos e obtenção de frações, isolamento da substância pura e elucidação estrutural (MIKOVISK et al, 2018). Em razão da crescente busca por novos produtos naturais, principalmente para fins medicinais e terapêuticos, diferentes técnicas analíticas e bioquímicas foram desenvolvidas e aperfeiçoadas permitindo, deste modo, a

descoberta e identificação de moléculas derivadas do metabolismo secundário que contribuíram para o crescimento da biologia molecular. (MENDONZA, SILVA, 2018, BOURGAUD, 2004).

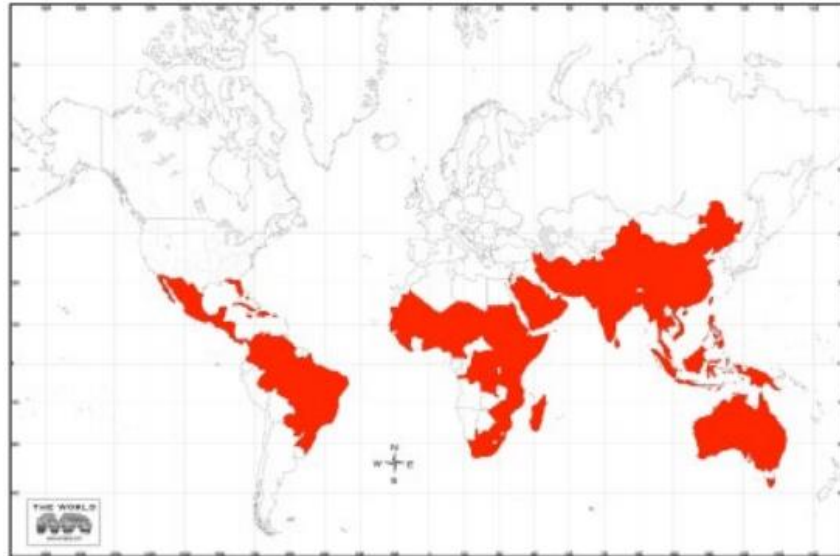
A extração e produção de frações orgânicas pode ser realizada por diferentes técnicas como maceração, percolação, infusão e digestão, por exemplo. A principal função de tais técnicas consiste na separação, a partir do uso de um solvente, de compostos solúveis e insolúveis por meio da diferença de polaridade (WHO, 2018).

A seleção do método de extração é fundamentada principalmente nas propriedades químicas dos componentes como estabilidade, solubilidade, complexidade estrutural e o rendimento. Da mesma forma, deve-se considerar a reprodutibilidade do método, a viabilidade econômica e a praticidade experimental. Na rotina dos laboratórios de química de produtos naturais é comum a utilização da maceração e da percolação. O processo de maceração consiste em misturar o material vegetal previamente triturado com o solvente e manter à temperatura ambiente e em repouso por um período de tempo. Na percolação o solvente perpassa pela amostra com um fluxo constante com o auxílio de um percolador. Em ambos os métodos o excesso de solvente é rotaevaporado em baixa pressão (WHO, 2018, WILSON, SIMPSON, SPELMAN, 2022).

1.2 Moringa oleífera Lam: ocorrência, perfil químico e atividades vinculadas

A espécie *Moringa oleífera* Lam. (Moringaceae) é uma planta muito usada em terapias médicas e está cada vez mais reconhecida em publicações científicas. A espécie é nativa de diferentes regiões como África tropical, Índia, Paquistão, Bangladesh e Afeganistão, sendo descrita pela primeira vez como erva medicinal por volta de 2000 a.C. (MATIC et al, 2018). A figura 2, obtida de Gandj et al, 2018, mostra a distribuição geográfica da espécie como planta nativa ou naturalizada.

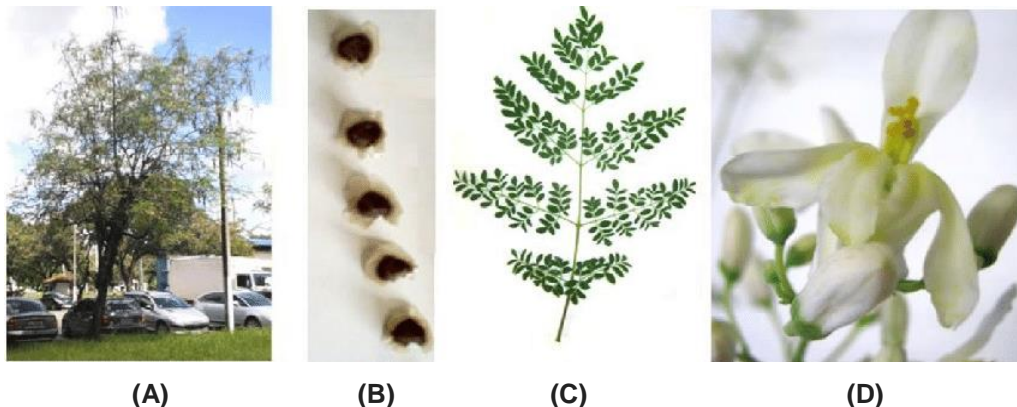
Figura 2 - Mapa com distribuição da ocorrência da espécie *Moringa oleifera* Lam.



Fonte: *Status and Utilisation of Moringa oleifera Lam: A review*, GANDJI, K. et al. 2018.

A moringa é altamente resistente e cultivada em várias regiões do planeta, inclusive no Brasil. No nosso país é encontrada principalmente nos Estados do Maranhão, Piauí e Ceará (DHAKAD et al., 2019). Segundo estudo de Verma, Nigam (2014), a moringa é de rápido crescimento, muito utilizada pelos antigos gregos, romanos e egípcios para fins ornamentais e medicinais. Como principais características da espécie destaca-se sua altura entre 10 a 12 metros, tronco com diâmetro aproximado de 45 cm, frutos de coloração marrom semelhante a uma cápsula contendo as sementes e flores apresentando pétalas esbranquiçadas. (NOVA et al., 2020, RODE, DADMAL, SALANKAR, 2022). O aspecto geral das partes que compõem a moringa é apresentado na figura 3 obtida de Araújo et al, 2012.

Figura 3 - Composição da árvore da *Moringa oleifera* Lam. (A) Aspecto geral, (B) Sementes, (C) Folhas, (D) Flores.



Fonte: *Potencialidades da Moringa oleifera Lam volume*, ARAÚJO, A. et al 2012.

agro-alimentar, como *Penicillium expansum*, *Penicillium aurantiogriseum*, *Penicillium citrinum*, *Penicillium digitatum* e *Aspergillus niger* (MARRUFO et al, 2013). Matic et al, 2018 demonstraram ainda que extratos de sementes desta planta mostraram-se eficientes como agentes antimicrobianos, principalmente aqueles associados a doenças transmitidas pela água contaminada.

Folhas de moringa são as partes comumente utilizadas com propósitos medicinais, pelo fato destas reunirem diversos compostos bioativos (LEONE et al, 2015). Por outro lado, extratos aquosos, hidroalcoólicos, alcoólicos e de outros solventes orgânicos de diferentes partes da planta também se mostraram igualmente importantes, uma vez que estudos recentes comprovaram atividades antitumoral, antiinflamatória, antioxidante, antimicrobiana, cardioprotetora, hepatoprotetora e neuroprotetora destes extratos (DHAKAD et al, 2019, RODE, DADMAL, SALANKAR, 2022, SANDEEP et al, 2019). A tabela 2 apresenta alguns usos medicinais de partes da *Moringa oleifera* Lam.

Tabela 2 - Usos medicinais de partes da *Moringa oleifera* Lam.

Parte da planta	Usos	Referência
Folhas	Antioxidante, Antihipertensivo, Antitumoral, Anticâncer, Antimicrobiano, Antiinflamatório, Anticonvulsivo	ANWAR, 2007; LUNGU, AFOLAYAN, IDAMOLORO, 2022; RAZIS, IBRAHIM, KNTAYYA, 2014; PAIKRA, DHONGADE, GIDWANI, 2017.
Tronco	Antifúngico, Antimicrobiano, Antiinflamatório	KOU et al, 2018; PAIKRA, DHONGADE, GIDWANI, 2017.
Raízes	Antimicrobiano, Antiinflamatório	RODE, DADMAL, SALANKAR, 2022; RUCKMANI, 1998.
Sementes	Antitumoral, Antioxidante, Antimicrobiano	PAIKRA, DHONGADE, GIDWANI, 2017; DHAKAD et al, 2019.
Flor	Antiinflamatória, Função cardiovascular, gastrointestinal e hematológica	ANWAR, 2007; GANDJI, 2018.

Fonte: Elaborada pelo autor.

Saleem, Saleem, Akhtar (2020) avaliaram o potencial antioxidante, antiinflamatório e antiartrítico de extratos em água, metanol, hexano, acetato de etila e butanol de folhas de *Moringa oleífera* obtidas no sudoeste do Paquistão. Os resultados deste estudo mostraram significativa atividade antioxidante (método DPPH) das frações polares (como aquosa, metanólica e em acetato de etila). Ademais, os extratos testados foram eficientes no controle de inflamação, nas condições experimentais utilizadas. Foi demonstrado também que o óleo de sementes de moringa apresentou atividade anti-inflamatória relacionada a infecções de pele em modelos experimentais para análise de dermatite e inflamação crônica de pele (CRETELLA et al, 2020).

O Brasil é um país que apresenta uma rica biodiversidade, considerando os vários biomas distribuídos ao longo de seu território. Trata-se de um importante fator que estimula a busca de substâncias químicas, especialmente aquelas que podem ser utilizadas como um tratamento alternativo à medicina tradicional ou que possam constituir moléculas com propriedades biológicas diversas, como antimicrobianos, antiparasitários, antioxidantes e tantas outras propriedades (VALLI, RUSSO, BOLZANI, 2018).

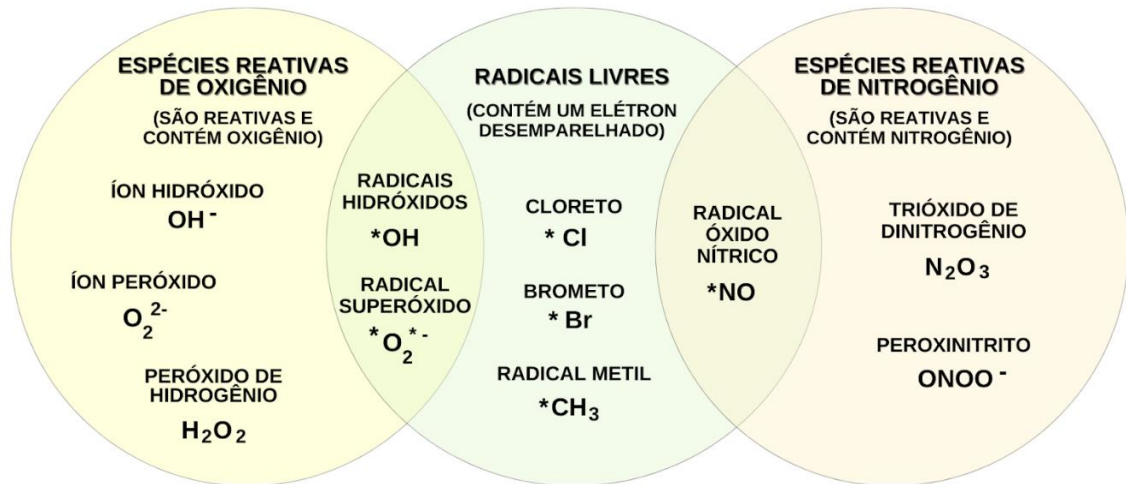
1.3 Atividade antioxidante e o método DPPH

Outro aspecto importante relacionado à química de produtos naturais é a investigação do potencial antioxidante de metabólitos secundários de plantas e de microrganismos. A produção desregulada de espécies químicas reativas, como os radicais livres, podem significar danos irreparáveis à saúde das pessoas ou significar danos aos alimentos, quando consideramos os processos de auto-oxidação que podem ocorrer nestes produtos (OLIVEIRA, BARBOSA, FLORES, 2021).

As espécies químicas reativas são caracterizadas pela presença de oxigênio, nitrogênio ou, no caso dos radicais livres, um elétron desemparelhado (Figura 5). Estas espécies, quando em equilíbrio e em concentrações moderadas, são responsáveis diretamente pela manutenção da homeostase celular pois atuam como agentes reguladores e mensageiros facilitando a transdução celular, além de

contribuírem para alterações mutagênicas em diversos aspectos da citologia e seus componentes. (DAENEN et al, 2019, CHECA, ARAN, 2020)

Figura 5 - Divisão das espécies reativas. Os grupos são divididos conforme a presença de elementos como oxigênio e nitrogênio e correlacionam-se com a ocorrência de espécies que possuem elétrons desemparelhados, os radicais livres.



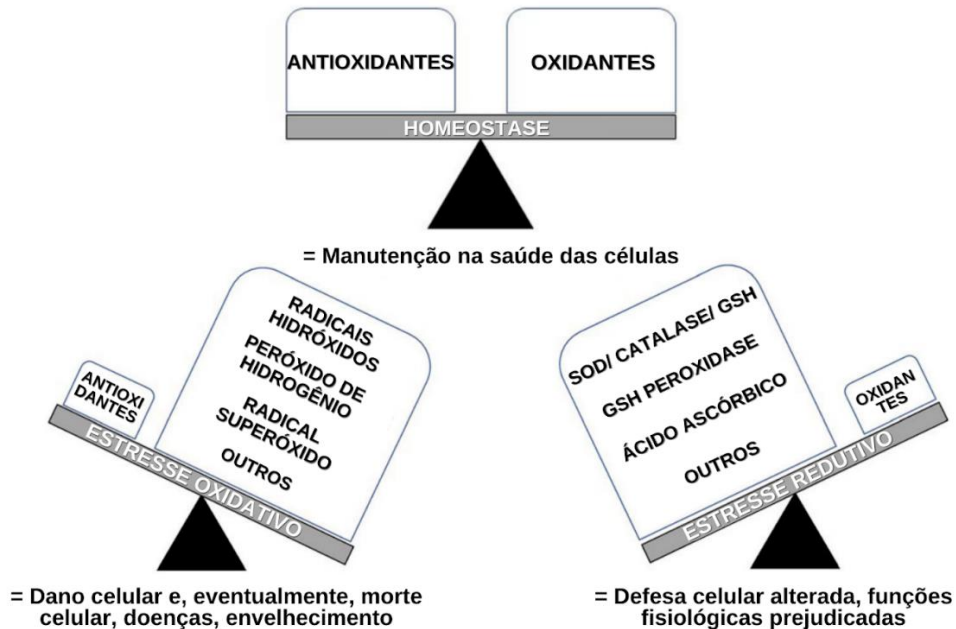
Fonte: Adaptado de *Detecting free radicals post viral infections*, DAMLE, V.G. et al, 2022.

Neste sentido, o estresse oxidativo é caracterizado pelo desequilíbrio entre a presença de espécies reativas e a de espécies antioxidantes que atuam na proteção do organismo (FORMAN, ZHANG, 2021). Os radicais livres são moléculas altamente instáveis e reativas devido à presença de elétrons desemparelhados. O excesso destes radicais prejudica a ação dos antioxidantes protetores resultando em danos nas funções celulares. Por outro lado, um aumento exacerbado na produção de antioxidantes promove um desequilíbrio no mecanismo de defesa e o comprometimento da homeostase celular (FLIEGER, FLIEGER, 2020, NAKAI, TSURUTA, 2021). A figura 6, adaptada de Daenen et al, 2019, ilustra o desequilíbrio homeostático e as possíveis consequências às células do organismo.

O uso crescente de medicamentos, o descuido com os hábitos alimentares, a falta da prática de esportes e o modo de vida negligente das pessoas têm contribuído para o surgimento precoce de doenças crônicas como câncer, aterosclerose, artrite reumática, hipertrofia muscular, doenças cardiovasculares e neurodegenerativas. Além disto, problemas de saúde podem estar diretamente ligados com a alta concentração de radicais livres pelo organismo (OLIVEIRA, 2015). Estes radicais,

buscando a estabilidade, reagem com biomoléculas que são importantes para o bom funcionamento do nosso organismo. (MUNTEANU, APETREI, 2021).

Figura 6 - Desequilíbrio entre oxidantes e antioxidantes e possíveis consequências à biologia celular.

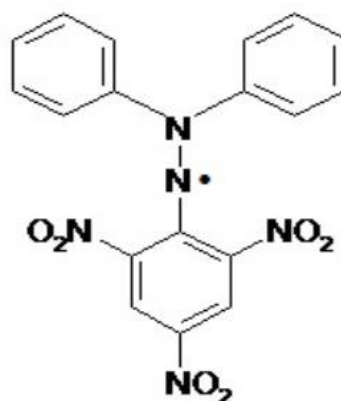


Fonte: Adaptado de *Oxidative stress in chronic kidney disease*, DAENEN, K. et al, 2019.

Portanto, a química de produtos naturais pode contribuir para a identificação e busca de substâncias que sejam capazes de eliminar radicais livres em excesso e assim ter um papel protetor. Estas substâncias, denominadas antioxidantes, apresentam benefícios à saúde humana ou podem ter aplicação em outros campos, como na indústria alimentícia (FLIEGER, FLIEGER, 2020, OLIVEIRA, 2015).

Atualmente, o principal método utilizado para detectar substâncias antioxidantes baseia-se na eliminação do radical livre estável 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH·). O teste de DPPH· é facilmente aplicável devido às características deste radical livre específico que possui estabilidade em ausência de luz e possibilita a realização de experimentos rápidos, simples e econômicos. A estabilidade do radical DPPH· deve-se à presença de três anéis aromáticos que produzem o efeito da ressonância além da presença do elétron livre deslocalizado entre os grupos de dióxido de nitrogênio e os átomos de nitrogênio. A figura 7 que se segue apresenta a estrutura desta espécie reativa.

Figura 7 - Estrutura química DPPH.



Fonte: *Determinação da capacidade antioxidante de produtos naturais in vitro pelo método do DPPH: estudo de revisão*, Oliveira, G.L.S., 2015.

Estudos químicos e pesquisas recentes sobre a moringa revelaram que a espécie é rica em carotenoides, polifenóis, ácidos fenólicos, flavonoides, alcaloides, quercetina, kaempferol e catequina. A presença de tais substâncias é um indicativo interessante para investigação da atividade antioxidante. Inclusive já há relatos na literatura desta ação em extratos aquosos e orgânicos de folhas de moringa (SALEEM, SALEEM, AKHTAR, 2020).

1.4 Inserção de atividades de pesquisa no contexto educacional

A química enquanto ciência estuda a matéria e suas propriedades e abrange desde a composição e estrutura até as mudanças provocadas por reações químicas e trocas de calor. Essa ciência é subdividida em cinco principais áreas de conhecimento responsáveis pelo estudo de diferentes características e comportamentos da matéria: orgânica, inorgânica, físico-química, analítica e bioquímica (ZUCCO, 2011).

Neste âmbito, a química de produtos naturais é uma das variadas linhas de pesquisa da química e é responsável pelo estudo de diferentes compostos e substâncias provenientes de origem vegetal. Esta área possibilita, quanto ao ensino de química, a ampliação e aprofundamento do conhecimento em processos metabólicos, obtenção e isolamento de substâncias, reações químicas em cadeia e o uso comum de plantas medicinais para fins alimentícios e terapêuticos, além de ser

uma alternativa de fácil acesso e de baixo custo (ALMEIDA, YAMAGUCHI, SOUZA, 2020, LIMA et al, 2022).

O aprendizado de química pelos alunos do ensino médio tem como objetivo promover a compreensão e conseqüente formação de um pensamento crítico e autônomo quanto às transformações químicas que ocorrem no mundo físico. (BRASIL, 2000) Uma das principais dificuldades apresentadas por estudantes do nível médio é a dificuldade de memorização e construção de um conhecimento coeso, além da falta de contextualidade com situações do cotidiano que contribuem para um distanciamento e desinteresse por parte dos alunos em relação a química (SILVA et al, 2021).

Dessa forma, a química de produtos naturais, presente na indústria farmacêutica, alimentícia, de produtos de higiene e beleza mostra-se uma parte importante para o ensino de química a alunos do ensino médio com vistas a promover um conhecimento contextualizado e dinâmico que permita ao aluno a elucidação dos fenômenos químicos e a aplicação na resolução de situações problema. (LIMA et al, 2022).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Determinar o perfil químico de extratos obtidos de folhas de *Moringa oleifera* Lam (Moringaceae), bem como avaliar a atividade antioxidante.

2.2 Objetivos específicos

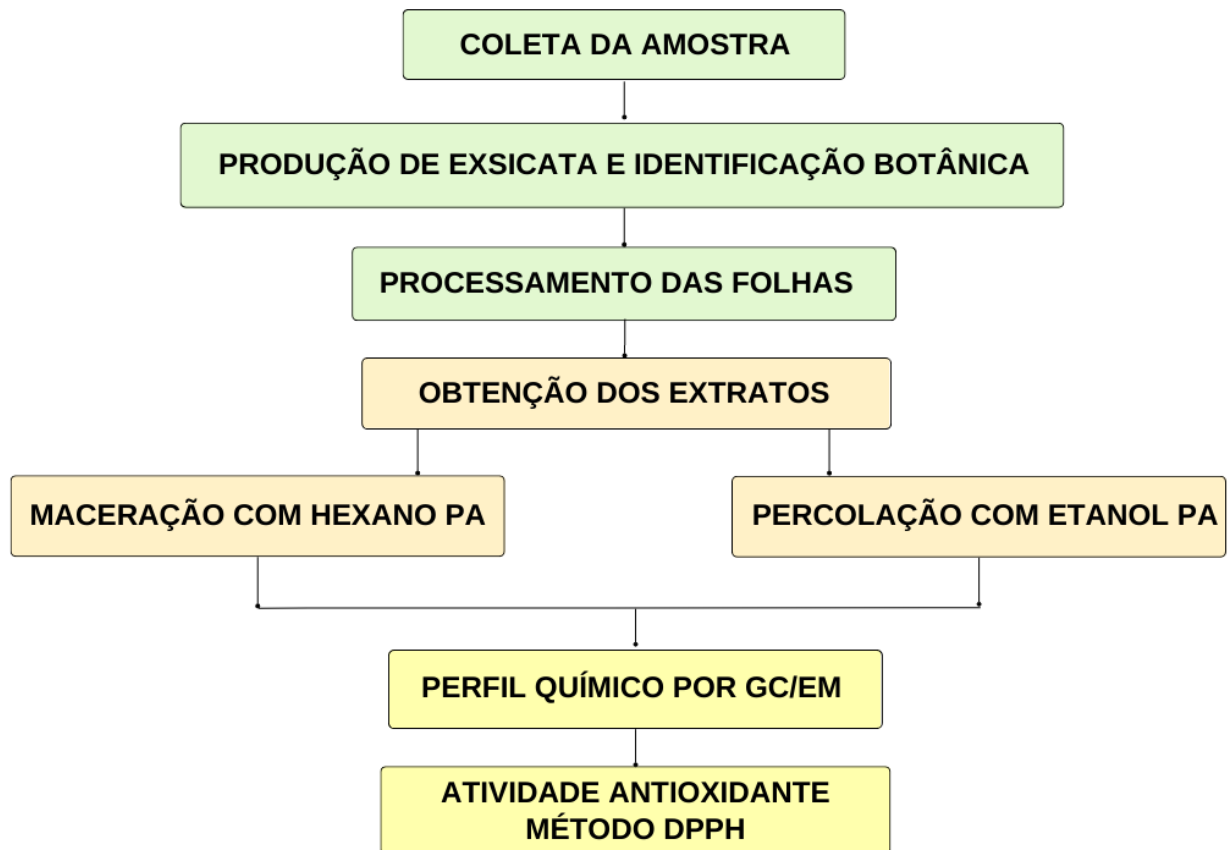
- a) Obter extratos de folhas de *Moringa oleifera* Lam utilizando dois tipos de solventes orgânicos.
- b) Traçar o perfil químico dos extratos por cromatografia gasosa acoplada a espectro de massas (CG/EM).
- c) Analisar o potencial antioxidante, por meio do método DPPH dos extratos orgânicos.
- d) Correlacionar a importância do tema química de produtos naturais ao contexto de estudantes do ensino médio.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Estratégias experimentais

A figura 8 que se segue apresenta um fluxograma com as principais estratégias adotadas para condução dos experimentos e obtenção dos resultados.

Figura 8 - Estratégias gerais adotadas para condução dos experimentos e obtenção dos resultados.

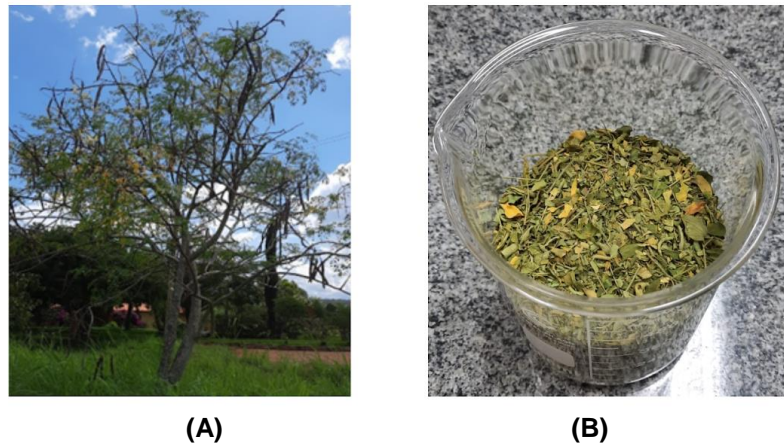


Fonte: Elaborado pelo autor.

3.2 Coleta e identificação do material vegetal

Amostras de moringa foram coletadas em abril de 2022 na Zona de Chácaras de Brasília (DF). Após produção da exsicata, a espécie coletada foi identificada e catalogada pelo Jardim Botânico de Brasília (JBB) sob o número HEPH 37655. Para o processamento do material vegetal, as folhas foram lavadas em água corrente e secas à temperatura ambiente pelo período de 7 dias. A figura 9 a seguir exibe o local da coleta do material vegetal (folhas de moringa) e o aspecto após o processamento.

Figura 9 - Apresentação da coleta e processamento do material vegetal. (A) árvore em que foram coletadas as folhas de moringa, (B): aspecto da planta após processo de lavagem e secagem à temperatura ambiente.



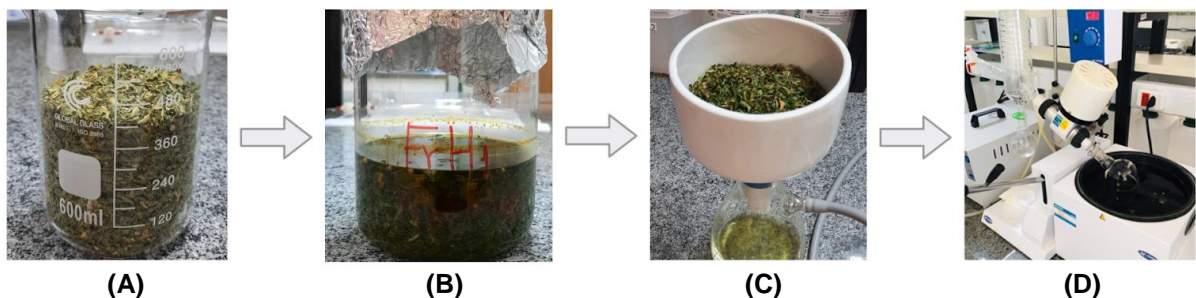
Fonte: Arquivo pessoal.

3.3 Processamento das folhas e obtenção dos extratos hexânico e etanólico

3.3.1 Maceração

Para a obtenção do extrato hexânico de *Moringa oleifera* Lam, utilizou-se 52,039 gramas das folhas previamente lavadas (item 3.2). As folhas foram submetidas ao processo de extração a frio com hexano, por meio do contato do material vegetal com 500 mL do solvente pelo período de 24 horas em temperatura ambiente. Em seguida, o material foi filtrado à vácuo e o solvente foi eliminado em rotavapor à pressão reduzida. O resíduo obtido, extrato hexânico (ExH), foi pesado e reservado para futura análise cromatográfica e antioxidante. A figura 10 que se segue apresenta parte da metodologia aplicada no preparo do extrato e obtenção do extrato ExH.

Figura 10 - Procedimento aplicado para obtenção do extrato hexânico (ExH). (A) Aspecto das folhas trituradas, (B) Mistura de hexano com as folhas de moringa, (C) Filtração à vácuo para separação do solvente, (D) Rotaevaporador a baixa pressão para eliminar o solvente.



Fonte: Arquivo pessoal.

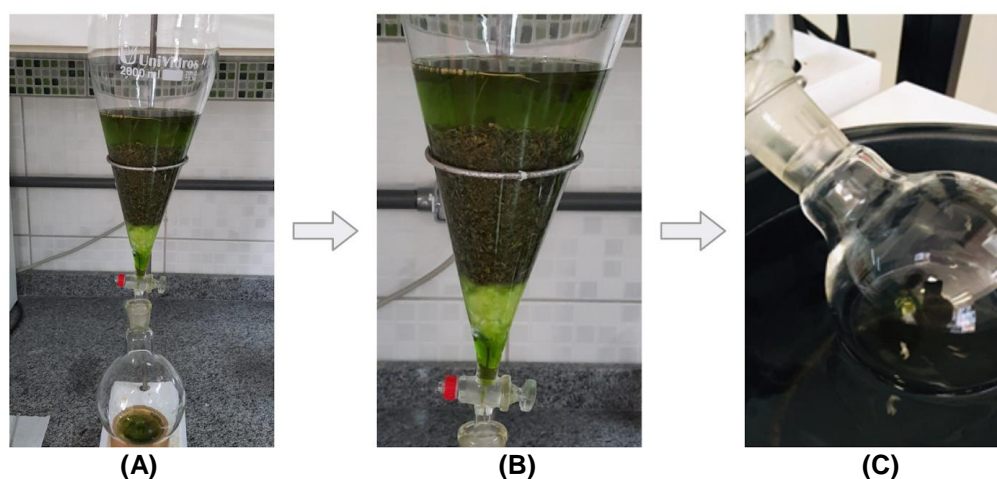
O rendimento da extração foi mensurado por meio da equação (1) que relaciona o peso do extrato obtido com a massa vegetal previamente pesada:

$$\text{Rendimento (\%)} = \frac{(\text{massa do extrato} \times 100)}{\text{massa vegetal de partida}} \quad (1)$$

3.3.2 Percolação

A massa vegetal remanescente da obtenção do extrato de hexano ExH (item 3.3.1) foi percolada com o solvente perpassando pelo material durante 8 horas com velocidade média de escoamento de 2 mL/min. O percolador utilizado foi forrado com uma fina camada de algodão para evitar a passagem de partículas junto ao extrato. Posteriormente a extração, o etanol foi recuperado em rotavapor a pressão reduzida na temperatura média de 45°C, sendo obtido o extrato em etanol (ExEtOH). A massa do extrato foi medida e este foi reservado para ensaios futuros. O rendimento foi calculado pela equação (1) disposta no item 3.3.1. A figura 11 abaixo ilustra o procedimento para obtenção do extrato ExEtOH.

Figura 11 - Etapas do processo de obtenção do extrato em etanol (ExEtOH). (A) Percolador com extração em etanol (ExEtOH), (B) Aspecto da extração com etanol, (C) Rotaevaporador a baixa pressão para eliminar o solvente.



Fonte: Arquivo pessoal.

3.4 Cromatografia em Fase Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas

A análise cromatográfica dos extratos hexânico (ExH) e etanólico (ExEtOH) obtidos de folhas de moringa foi realizada na Central de Espectrometria de Massas e Micromoléculas Orgânicas (CEMMO), do Departamento de Física e Química da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, por meio de cromatografia

gasosa acoplada a espectro de massas (CG/EM). Para tanto, utilizou-se aparelho Shimadzu CG – 17A, com detector seletivo de massa, modelo GCMS-QP 2010 Plus, sob as seguintes condições experimentais: coluna EN5MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm); programação do forno com gradiente de temperatura de 60 a 240° C, sendo acrescidos 3°C a cada minuto; arraste com gás hélio a um fluxo de 1,5 mL.min⁻¹. A injeção da amostra se deu pelo modo Split a uma temperatura de injeção de 260°C.

Os componentes químicos detectados em cada extrato foram identificados de acordo com o padrão de fragmentação obtido no espectro e base de dados Wiley7, FFNSC1.3, NIST11. Além disso, calculou-se o Índice de Retenção de Kovats (IK). Os resultados foram analisados e comparados com dados da literatura, de acordo com ADAMS, 2017. O cálculo do IK foi realizado aplicando a equação (2) a partir dos dados dos tempos de retenção do padrão de hidrocarbonetos utilizado (C10-C30) e do tempo de retenção da substância em análise.

$$IK = 100.n + 100 \left(\frac{\log \log t_a - \log \log t_n}{\log \log t_{n+1} - \log \log t_n} \right) \quad (2)$$

Onde: n é o número de carbonos do padrão menos retido;

$\log \log t_a$ é o tempo de retenção da substância;

$\log \log t_n$ é o tempo de retenção do padrão menos retido;

$\log \log t_{n+1}$ é o tempo de retenção do padrão mais retido.

3.5 Determinação da atividade antioxidante por meio do método DPPH

Baseado na eliminação do radical livre estável 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH) provocada pela ação de substâncias antioxidantes, o método DPPH foi usado para avaliar a atividade dos extratos orgânicos de moringa. Para a análise foram estabelecidos os valores da absorbância por meio da leitura do padrão e das amostras de interesse em espectrofotômetro UV-VIS com densidade óptica de 517 nm.

Foram utilizadas soluções estoque com vistas a obter a curva padrão de absorção de duas concentrações do analito. A solução estoque de DPPH foi preparada dissolvendo 1,6 mg em 50 mL de metanol (MeOH), de modo a atingir uma concentração de 32 µg/L. Após a dissolução, homogeneizou-se em banho de ultrassom por 25 minutos. Para a solução de ácido ascórbico, composto que atua no combate a radicais livres e usado como controle positivo, dissolveu-se 1 mg em 2 mL

de MeOH produzindo uma solução a 0,5 mg/mL. Posterior aos procedimentos descritos acima, procedeu-se à preparação das soluções finais para análise espectrofotométrica e determinação da reta padrão de calibração.

A tabela 3 apresenta os volumes das soluções que foram pipetadas e misturadas visando obter as soluções finais para padronização da leitura do método DPPH em espectrofotômetro UV-VIS. Após a mistura, as soluções foram deixadas em local protegido da luz pelo período de 30 minutos para que a reação química ocorresse por completo.

Tabela 3 - Volume das soluções e do solvente orgânico (MeOH) usado para padronização do método.

	DPPH (μL)	Ácido ascórbico (0,1 mg/mL) / μL	MeOH (μL)	Volume final (μL)
Branco	0	0	3200	3200
Controle DPPH	1120	0	2080	3200
1,0	1120	12	2068	3200
1,5	1120	18	2062	3200

Fonte: Adaptado de PIRES, et al., 2017.

Decorrido o período de espera, realizou-se a leitura das amostras em contraste ao branco do metanol e os dados foram registrados para posterior análise e construção da curva de regressão linear relacionando a concentração do padrão com os valores da absorbância.

Para a avaliação da atividade antioxidante dos extratos ExH e ExEtOH de moringa em comparação com a ação do controle positivo, o ácido ascórbico, prosseguiu-se com o preparo das soluções estoque dos extratos orgânicos (ExH e ExEtOH) dissolvendo 1 mg do composto em 2 mL de MeOH para obter soluções com concentração igual 0,5 mg/mL. Preparou-se também 50 mL de uma nova solução estoque de DPPH a 32 $\mu\text{g/L}$ homogeneizada em banho de ultrassom por 25 minutos.

A tabela 4 exibe os volumes que foram utilizados e misturados para produzir as soluções das amostras, em triplicata, usadas para estimar a atividade antioxidante dos extratos de moringa em contato com o DPPH. Posterior ao preparo, as amostras foram

armazenadas em local protegido da luz pelo período de 30 minutos e, em seguida, foi realizada a leitura em espectrofotômetro UV-VIS nas mesmas condições experimentais da padronização. Os dados coletados foram armazenados para análise futura.

Tabela 4 - Volume das amostras e controle utilizado para análise da atividade antioxidante da moringa.

	DPPH (μL)	Amostra (0,1mg/mL) / μL	MeOH (μL)	Volume final (μL)
Branco	0	0	3200	3200
Controle DPPH	1120	0	2080	3200
Branco ExH	0	2080	1120	3200
Branco ExEtOH	0	2080	1120	3200
Amostra ExH	1120	2080	0	3200
Amostra ExEtOH	1120	2080	0	3200

Fonte: Adaptado de PIRES, et al., 2017.

4 RESULTADOS

4.1 Rendimento dos extratos em hexano (ExH) e em etanol (ExEtOH)

A tabela 5 a seguir apresenta as massas obtidas dos extratos em hexano (ExH) e em etanol (ExEtOH). Para cada extrato foi calculado o rendimento percentual, tendo como base a equação (1) expressa em 3.3.1.

Tabela 5 - Massas obtidas dos extratos e o rendimento percentual correspondente.

Extrato	Massa de partida/g	Massa obtida/g	Rendimento/%
ExH	52,039	8,3858	16,11
ExEtOH	8,385	0,8163	1,57

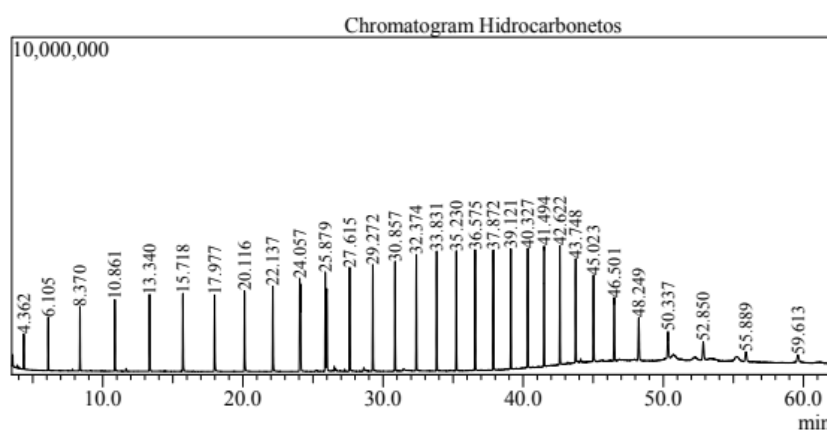
Fonte: Dados experimentais dos autores.

4.2 Perfil químico dos extratos ExH e ExEtOH: análise por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas

O perfil químico dos extratos foi obtido a partir da técnica de cromatografia em fase gasosa acoplada a espectrometria de massas. Análises desta natureza são baseadas nos padrões de fragmentação dos componentes químicos das amostras, comparação com espectros padrão do banco de dados do equipamento (WILEY7, NIST11 e FFNSC1.3) e cálculo do Índice de Retenção de Kovats (IK). Além disto, a análise destes resultados deve levar em consideração espectros padrão, conforme ADAMS, 2017.

A figura 12 abaixo apresenta os tempos de retenção dos padrões de hidrocarbonetos que foram utilizados para o cálculo dos Índices de Retenção de Kovats.

Figura 12 – Cromatograma com os tempos de retenção dos padrões de hidrocarbonetos. O resultado foi obtido por meio de CG/EM, coluna EN5MS (30m x 0,25mm x 0,25µm) SGE *Analytical Science*.



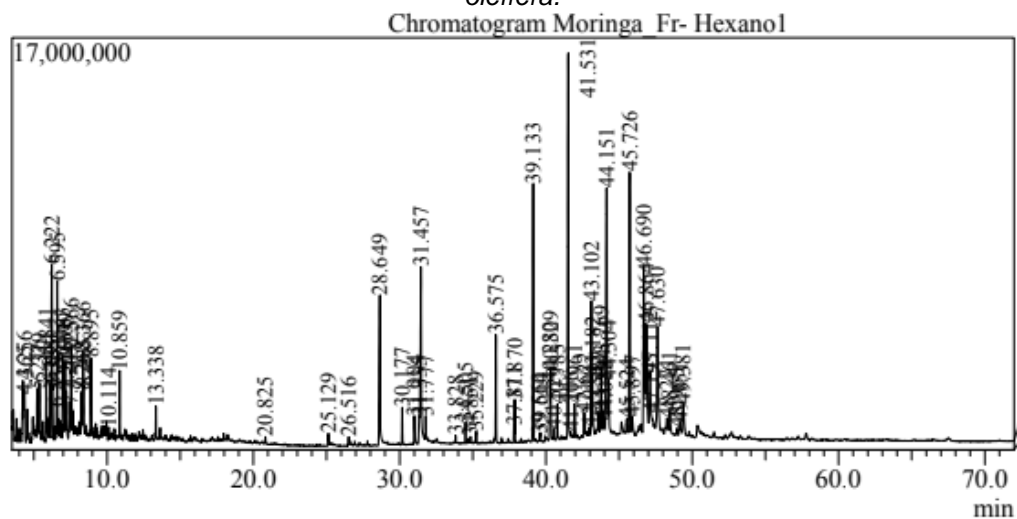
Fonte: Resultados experimentais dos autores, obtidos na Central de Espectrometria de Massas e Micromoléculas Orgânicas, USP/Ribeirão Preto.

Para este estudo, os hidrocarbonetos utilizados como padrão foram: octano (TR 4,362 min; nonano (TR 6,105 min); decano (TR 8,370 min); undecano (TR 10,861 min); dodecano (TR 13,340 min); tridecano (TR 15,718 min); tetradecano (TR 17,977 min); pentadecano (TR 20,116 min); hexadecano (TR 22,137 min); heptadecano (TR 24,057 min); octadecano (TR 25,879 min); nonadecano (TR 27,615 min); eicosano (TR 29,272 min); heneicosano (TR 30,857 min); docosano (TR 32,374min);tricosano (TR 33,831 min); tetracosano (TR 35,230 min); pentacosano (TR 36,575 min); hexacosano (TR 37,872 min); heptacosano (TR 39,121 min); octacosano (TR 40,327); nonacosano (TR 41,494 min); triacontano (TR 42,622 min); hentriacontano (TR 43,748

min); dotriacontano (TR 45, 023 min); tritriacontano (TR 46,501 min); tetratriacontano (TR 48,249 min); pentatriacontano (TR 50,337 min); hexatriacontano (TR 52,850 min); heptatriacontano (TR 55,889 min) e octatriacontano (TR 59,613 min).

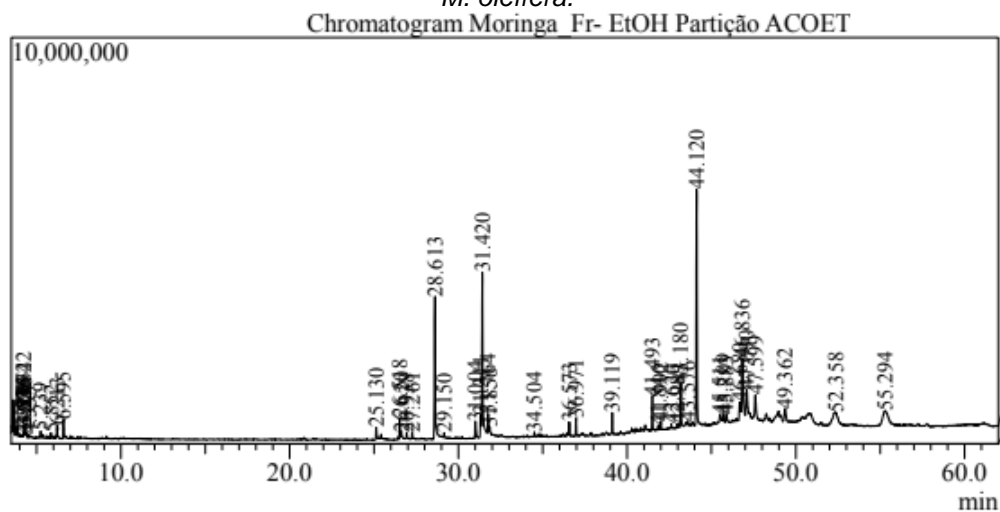
Os cromatogramas apresentados nas figuras 13 e 14 mostram os picos obtidos para os extratos ExH e ExEtOH, respectivamente. É importante ressaltar a complexidade dos extratos, especialmente a hexânica (ExH), composta por substâncias pouco polares.

Figura 13 – Cromatograma da extrato hexânico (ExH) obtido por meio de maceração de folhas de *M. oleifera*.



Fonte: Resultados experimentais dos autores, obtidos na Central de Espectrometria de Massas e Micromoléculas Orgânicas, USP/Ribeirão Preto.

Figura 14 – Cromatograma do extrato etanólico (ExEtOH) obtido por meio de maceração de folhas de *M. oleifera*.



Fonte: Resultados experimentais dos autores, obtidos na Central de Espectrometria de Massas e Micromoléculas Orgânicas, USP/Ribeirão Preto.

De acordo com os dados apresentados nos cromatogramas das figuras 13 e 14, as tabelas 6 e 7 mostram os tempos de retenção (TR/min) das substâncias detectadas nos extratos ExH e ExEtOH.

Tabela 6 – Tempos de retenção detectados no cromatograma do extrato ExH.

Pico#	TR/min	Pico#	TR/min
1	4,456	41	39,133
2	4,365	42	39,560
3	5,216	43	39,614
9	6,535	44	40,280
11	6,963	45	40,329
13	7,139	46	40,529
14	7,216	47	40,783
16	7,525	48	41,531
18	8,262	50	41,961
19	8,366	51	42,622
20	8,405	52	42,990
22	10,114	53	43,102
23	10,859	54	43,182
24	13,338	56	43,769
25	20,825	59	44,151
26	25,129	60	44,304
27	26,516	61	45,524
28	28,649	62	45,726
30	31,004	63	45,897
31	31,335	64	46,690
32	31,457	65	46,864
33	31,777	66	47,112
34	33,828	67	47,195
35	34,505	68	47,630
36	34,851	69	48,271
37	35,229	70	48,461
38	36,575	72	49,151
39	37,811	73	49,381
40	37,870		

Fonte: Dados experimentais e análise do cromatograma da figura 13.

Tabela 7 – Tempos de retenção detectados no cromatograma do extrato ExEtOH. Continua.

Pico#	TR/min	Pico#	TR/min
1	3,535	25	31,856
2	3,574	26	34,504
3	3,622	27	36,573
4	3,670	28	36,971
5	3,839	29	39,119
6	3,900	30	41,493

Fonte: Dados experimentais e análise do cromatograma da figura 14.

Tabela 7 – Tempos de retenção detectados no cromatograma do extrato ExEtOH. Conclusão.

Pico#	TR/min	Pico#	TR/min
7	4,220	31	41,846
8	4,276	32	41,992
9	4,555	33	42,620
10	5,239	34	42,989
11	5,852	35	43,180
12	6,213	36	43,576
13	6,595	37	44,120
14	25,130	38	45,511
15	26,518	39	45,709
16	26,620	40	45,883
17	26,938	41	46,680
18	27,261	42	46,836
19	28,613	43	47,090
20	29,150	44	47,599
21	31,004	45	49,362
22	31,311	46	52,358
23	31,420	47	55,294
24	31,764		

Fonte: Dados experimentais e análise do cromatograma da figura 14.

O índice de retenção de Kovats (IK) foi calculado para as substâncias detectadas no extrato em etanol (ExEtOH). O resultado é apresentado na tabela 8 que se segue, bem como sugestão estrutural da substância, considerando os parâmetros de graus de similaridade, IK e literatura, conforme Adams, 2017.

Tabela 8 – Perfil químico do extrato etanólico (ExEtOH) obtido de folhas de *M. oleifera*. Resultados do índice de retenção de Kovats (IK) e comparação com dados de literatura (Adams, 2017). Continua.

TR	Área/%	IK _C	IK _{Lit}	Conclusão
3,535	0,30	NI	NI	NI
3,574	0,94	NI	NI	NI
3,622	1,30	NI	NI	NI
3,670	0,23	NI	NI	NI
3,839	0,32	NI	NI	NI
3,900	0,16	NI	NI	NI
4,220	0,07	NI	NI	NI
4,276	0,28	NI	NI	NI
4,555	0,12	813	NI	NI
5,239	0,29	854	NI	NI
5,852	0,23	887	NI	NI

TR: Tempo de retenção; Área: expressa em %; IK_C: Índice de Retenção de Kovats Calculado; IK_{Lit}: Índice de Retenção de Kovats conforme Literatura (Adams, 2017); Conclusão: substância identificada. NI: Não identificada. *Similaridade alta em comparação ao banco de dados Fonte: Resultados experimentais dos autores, obtidos na Central de Espectrometria de Massas e Micromoléculas Orgânicas, USP/Ribeirão Preto.

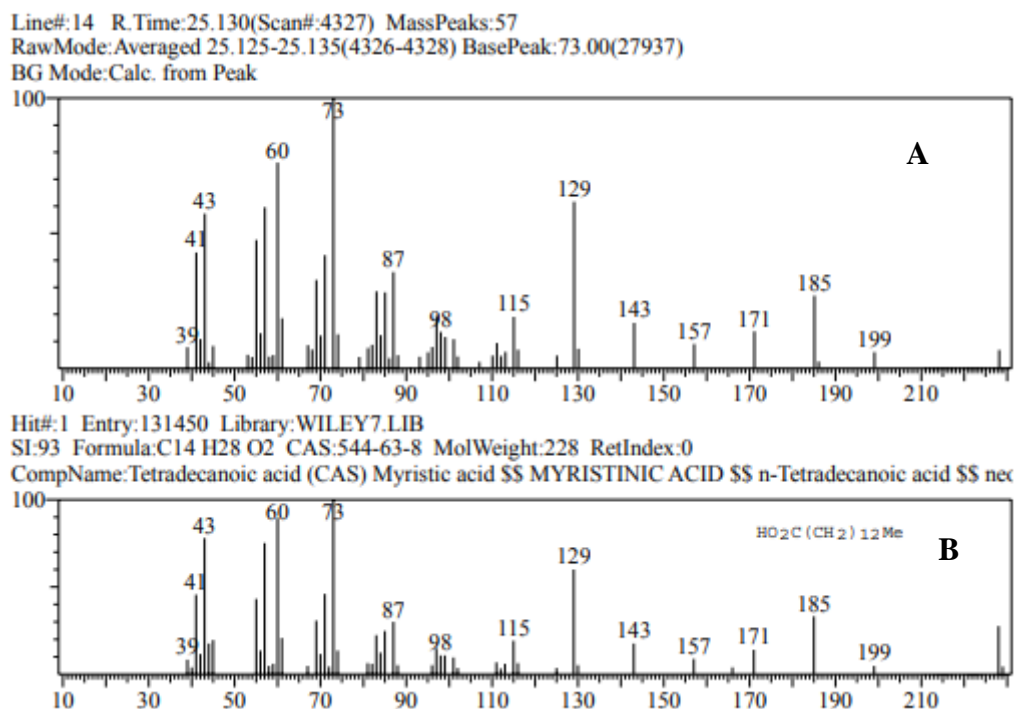
Tabela 8 – Perfil químico do extrato etanólico (ExEtOH) obtido de folhas de *M. oleífera*. Resultados do índice de retenção de Kovats (IK) e comparação com dados de literatura (Adams, 2017).
Conclusão.

TR	Área/%	IK _C	IK _{Lit}	Conclusão
6,213	0,72	906	NI	NI
6,595	1,11	924	1237	NI
25,130	0,82	1760	1723	Ácido tetradecanoico
26,518	1,34	1838	NI	*Neoftadieno (similaridade alta)
26,620	0,41	1846	NI	NI
26,938	0,27	1862	NI	NI
27,261	0,40	1880	NI	*2-hexadece-1-ol (similaridade alta)
28,613	11,30	1961	1960	Ácido hexadecanoico
29,150	0,20	1993	NI	NI
31,004	1,50	2110	2218	*2-hexadece-1-ol (similaridade alta)
31,311	1,73	2130	2085	Ácido 9,12-octadecadienoico
31,420	13,45	2138	NI	NI
31,764	1,29	2160	NI	NI
31,856	0,37	2166	NI	NI
34,504	0,27	2349	NI	NI
36,573	0,75	2492	NI	*Triacontano (similaridade alta)
36,971	0,97	2531	NI	NI
39,119	1,16	2700	NI	*Dotriacontano (similaridade alta)
41,493	1,90	2900	NI	*Tetrapentacosano (similaridade alta)
41,846	0,30	2931	NI	NI
41,992	0,54	2944	NI	NI
42,620	0,26	3000	NI	NI
42,989	0,23	3033	NI	NI
43,180	2,87	3050	NI	* γ -tocoferol (similaridade alta)
43,576	0,22	3085	NI	NI
44,120	20,18	3129	NI	* α -tocoferol- β -D-manosídeo (S.alta)
45,511	0,79	3233	NI	NI
45,709	0,55	3247	NI	NI
45,883	0,84	3259	NI	NI
46,680	2,38	3310	NI	NI
46,836	8,10	3319	NI	NI
47,090	3,06	3334	NI	NI
47,599	2,41	3363	NI	NI
49,362	1,67	3454	NI	NI
52,358	5,23	3581	NI	NI
55,294	6,18	3681	NI	NI

TR: Tempo de retenção; Área: expressa em %; IK_C: Índice de Retenção de Kovats Calculado; IK_{Lit}: Índice de Retenção de Kovats conforme Literatura (Adams, 2017); Conclusão: substância identificada. NI: Não identificada. *Similaridade alta em comparação ao banco de dados Fonte: Resultados experimentais dos autores, obtidos na Central de Espectrometria de Massas e Micromoléculas Orgânicas, USP/Ribeirão Preto.

A figura 15 apresenta o espectro obtido para a substância no tempo de retenção 25,130 minutos bem a comparação deste espectro padrão WILEY07.

Figura 15 – Espectro da substância com tempo de retenção em 25,130 min (A) e comparação com banco de dados WILEY para o ácido tetradecanoico (B).



Fonte: Resultados experimentais dos autores, obtidos na Central de Espectrometria de Massas e Micromoléculas Orgânicas, USP/Ribeirão Preto.

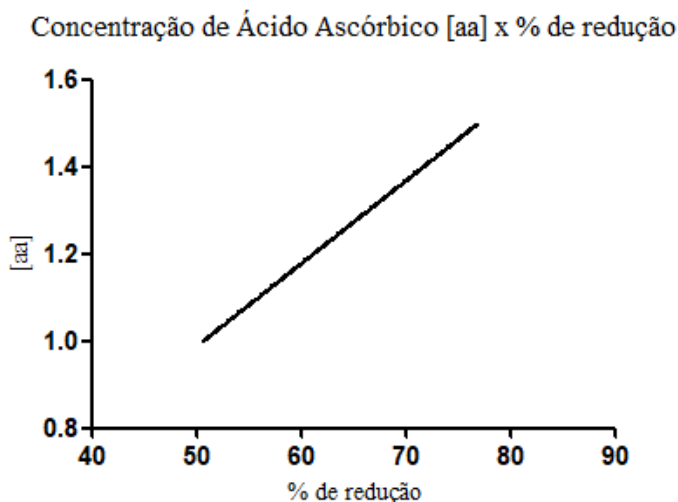
Análise semelhante foi aplicada para as substâncias nos tempos de retenção (em minutos): 26,518; 27,261; 28,613; 31,004; 31,311; 36,573; 39,119; 41,493; 43,180 e 44,120. Desta forma, pode-se sugerir algumas estruturas químicas que provavelmente estejam na ExEtOH.

4.3 Investigação da atividade antioxidante dos extratos ExH e ExEtOH pelo método DPPH

Os ensaios de atividade antioxidante foram realizados pelo método baseado na captura e eliminação do radical livre e estável 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH), pela presença de uma substância com potencial antioxidante. A análise foi realizada por meio do valor da concentração do agente antioxidante e comparação com a absorbância apresentada em espectrofotômetro UV-VIS com densidade óptica em 517 nm. Como padrão utilizou-se solução de ácido ascórbico nas concentrações de 1,0 e 1,5 mg/mL.

A figura 16 que se segue apresenta a calibração que correlaciona as duas concentrações de ácido ascórbico utilizadas e a porcentagem de redução observadas, por meio das leituras de absorvâncias.

Figura 16 - Curva padrão que correlaciona a concentração de ácido ascórbico e a porcentagem de redução.



Fonte: Dados experimentais dos autores. Gráfico: *GraphPad Prisma 5*.

Os valores das absorvâncias dos extratos ExH e ExEtOH estão expressas na tabela 9, assim como os valores do controle DPPH e o branco. A análise de cada extrato foi feita em triplicata.

Tabela 9 - Valores da leitura realizada em UV-VIS para as amostras de moringa.

	Absorbância, a 517 nm	
	ExH	ExEtOH
Controle DPPH	0,222	0,222
Branco	0,123	0,067
Replicata 1	0,125	0,074
Replicata 2	0,122	0,076
Replicata 3	0,127	0,074

Fonte: Resultados experimentais dos autores e dados obtidos no Laboratório de Análise Instrumental do *Campus Gama*.

Para o cálculo da capacidade antioxidante dos extratos, utilizaram-se os dados obtidos da tabela 9, bem como a integração destes com os valores obtidos para o padrão de ácido ascórbico. A tabela 10 apresenta o resultado, onde é possível fazer

a comparação entre os valores de capacidade antioxidante da ExH, ExEtOH e EC50 calculada para o ácido ascórbico.

Tabela 10 - Capacidade antioxidante dos extratos ExH, ExEtOH e padrão de ácido ascórbico obtidas.

Amostra	Capacidade antioxidante, EC50/mg.mL ⁻¹
ExH	1,873 ± 0,037
ExEtOH	1,874 ± 0,009
Ácido Ascórbico	0,993 ± 0,216

Fonte: Resultados experimentais dos autores. Cálculo realizado em *Compusin*^R

5 DISCUSSÃO

A extração dos extratos orgânicos ExH e ExEtOH obtidos a partir de folhas da moringa permitiu a realização de um paralelo entre os métodos da maceração e da percolação. Considerando os resultados apresentados quanto ao rendimento e quantidade em massa dos extratos, pode-se inferir que o uso da percolação enquanto método demonstra resultados mais expressivos quando em comparação com a maceração.

Em estudos realizados por Wilson, Simpson e Spelman, 2022 ao equiparar o uso do método da maceração e da percolação para extração do canabidiol, uma substância química proveniente da *Cannabis*, há um maior rendimento para a percolação, com 80,1% do canabidiol extraído da biomassa em contraste com 63,5% proveniente da maceração. Cabe ressaltar ainda que a recuperação do solvente orgânico apresentou maior eficácia quando aplicada a percolação. Resultados semelhantes foram encontrados por Stanek et al 2021 para extração de ácidos clorogênicos, cafeína, trigonelina e lipídios a partir do grão de café.

Em outro estudo acerca da aplicabilidade da percolação para metodologia de extração, Paz et al., 2018 afirma que a umectação do material vegetal facilita a difusão dos compostos passíveis de extração visto que a porosidade das células é aumentada favorecendo assim a obtenção de compostos ativos proveniente do material vegetal. De maneira geral, para extração com solventes voláteis indica-se o uso da percolação (ABUBAKAR, HAQUE, 2020).

Para produzir extratos e frações com alta concentração de metabólitos e substâncias com atividade biológica significativa deve-se selecionar de forma

adequada a técnica de extração bem como o solvente a ser utilizado. Vale ressaltar ainda que o uso de solventes com diferentes polaridades pode originar múltiplas frações partindo de um material vegetal em comum. (WHO, 2018).

Após os processos extrativos, a determinação da composição química dos extratos orgânicos obtidos baseou-se na cromatografia gasosa acoplada a espectroscopia de massa (CG/EM) por apresentar uma alta seletividade, sensibilidade e rendimento em baixas concentrações (BECCARIA et al, 2021).

O resultado da análise cromatográfica dos extratos ExH e ExEtOH mostram a complexidade típica de materiais desta natureza. Entretanto, as informações decorrentes deste tipo de análise são fundamentais para nortear o processamento de amostras de origem vegetal, com vistas à identificação química de metabólitos secundários, inclusive para os processos de fracionamento mais refinados. O extrato ExH apresentou pelo menos 73 picos, muitos dos quais poucos resolvidos em função da alta quantidade de substâncias presentes. A utilização de solventes pouco polares no tratamento inicial de amostras vegetais é um importante fator para otimizar as etapas extrativas seguintes, embora extrações hexânicas podem conter substâncias de grande interesse farmacológico. Como exemplo da importância de extrações desta natureza, Adebayo, Arsad, Samian, 2017 identificaram potente a inibição de células cancerígenas tipo MCF7 a partir de testes com extrato hexânico de sementes de moringa. Estudo semelhante com o extrato hexânico também mostrou eficiente para inibir processos de apoptose em células cancerígenas (GAFFAR, APRIANI, HERLINA, 2019).

O cromatograma do extrato etanólico (ExEtOH) apresentou 47 picos, igualmente complexo quando comparado ao extrato ExH e com diversas atividades biológicas associadas já reportadas, tais como: anti-inflamatória e antioxidante (CHARDE et al, 2013), analgésica (SUTAR et al, 2008); hipotensiva (FAIZI et al, 1998) e anticancerígeno (MESAS et al, 2021). A presença de substâncias com diferentes características em extrações orgânicas dá a possibilidade de atividades biológicas em um amplo espectro e daí a importância de estudos tipo *screening* de produtos naturais.

O processo de identificação das substâncias foi direcionado para o extrato ExEtOH, uma vez que o extrato ExH, pelo alto grau de complexidade, não permitiu a identificação plena e individual dos picos. Em muitos dos casos o banco WILEY7,

NIST11 e FFNSC1.3 não gerou a correspondência dos espectros, o que dificultou a determinação do Índice de Kovats. Por outro lado, o extrato ExEtOH permitiu, ainda que não conclusivo, a proposta de 11 substâncias representando 43,95% das substâncias presentes no cromatograma, seja pelo grau de similaridade dos espectros ou pelo cálculo do Índice de Kovats. A similaridade está associada à comparação com o banco de dados utilizado e é uma maneira preliminar de avaliarmos o tipo de substância presente no extrato. Todavia, foi possível verificar a diversidade de compostos nos extratos ExH e ExEtOH o que abre a perspectiva para novos estudos e isolamento de substâncias. Saponinas, taninos, flavonoides, esteroides, terpenóides e glicosídeos figuram como substâncias já identificadas em amostras de moringa, inclusive com as atividades biológicas mapeadas (NEPOLEAN, ANITHA, RENITTA, 2009).

Teclegeorghish et al., 2021 avaliaram o extrato metanólico de *Moringa oleífera* e identificaram 19 substâncias, principalmente flavonoides. Esta identificação foi possível graças a utilização de técnicas instrumentais avançadas, como FTIR (espectrometria de infravermelho). Assim, avaliamos o potencial da espécie para o estudo químico e atividades biológicas associadas, uma vez que diversos trabalhos apontam para diversidade de compostos químicos relevantes em diferentes extratos ou frações de moringa.

A investigação de compostos de origem natural e que possuem atividade antioxidante tem contribuído de forma significativa no mapeamento destas substâncias. Os antioxidantes têm um papel fundamental como efeito protetor das células contra os radicais livres danosos.

Por meio do método DPPH e utilizando como padrão positivo o ácido ascórbico, investigou-se o potencial antioxidante dos extratos ExH e ExEtOH. O método foi escolhido pela simplicidade e aplicabilidade, destacando a estabilidade do radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil. A tabela 10 mostrou os resultados para estes extratos, o que confirmou esta característica dos metabólitos secundários da espécie. Com valores maiores quando se compara com o resultado do EC50 para o padrão é notório o potencial vinculado aos extratos.

A ação antioxidante relatada quanto aos extratos ExH e ExEtOH ocorre pela presença de substâncias antioxidantes em sua composição química que sejam

capazes de eliminar o DPPH livre em solução. Em estudos realizados por Ramarao et al. 2022, extratos aquosos de folhas de moringa apresentaram uma alta concentração de compostos fenólicos. Além dos compostos fenólicos, Ogundipe et al. 2022 identificou para extratos etanólicos a presença de flavonoides, saponinas e taninas. Estas substâncias, presentes na folhas da moringa são uma ótima fonte natural de antioxidantes.

Stohs e Hartman, 2000 em sua pesquisa demonstraram ainda que os extratos de folha de moringa, em comparação com as demais partes da planta, apresentam uma significativa ação antioxidante por possuir a maior concentração de compostos fenólicos, flavonoides e ácido ascórbico. Além destas, estudos anteriores identificaram uma variedade de substâncias capazes de auxiliar na eliminação de radicais livres como α -tocoferol, β -tocoferol, ácido hexadecanoico, fitol, quercetina, kaempferol, betacaroteno, ácido clorogênico e rutina (ANWAR, 2007, SANTOS et al, 2012, KOU et al, 2018, RAMARAO et al, 2022) Os dados disponíveis em literatura corroboram com os resultados relatados e reafirmam a aplicabilidade de produtos naturais derivados da moringa para a obtenção de antioxidantes exógenos que são indispensáveis para a manutenção da homeostase celular.

A contextualização ensino-pesquisa como prática pedagógica é uma importante ferramenta que pode contribuir para despertar o estudante pelo estudo da química. A abordagem investigativa no dia a dia da sala de aula é uma forma de incentivar o lado cientista do estudante, despertando o processo criativo neste. Além disto, quando se vincula aspectos do dia a dia na prática educacional, o processo de construção tende a ser significativo (FERREIRA, HARTWING, OLIVEIRA, 2010). Segundo Braathen (2014), o estudante ainda precisa perceber o sentido de determinado assunto, o que o incentiva a buscar o entendimento e aprofundamento.

O professor deve estimular e lançar desafios aos alunos, para que estes também figurem como autores no processo ensino-aprendizagem, visto que a metodologia tradicional muitas vezes adotada no ensino pode ser desestimulante. Desta forma, este projeto também poderá ser uma forma de contribuir para formação de estudantes, uma vez que se pode abordar a relevância da química de produtos naturais, seja no âmbito da química e aos processos a ela associados ou quando se correlaciona ao conhecimento tradicional, muitos dos quais já fazem parte do cotidiano do aluno.

6 CONCLUSÃO

O perfil químico dos extratos em hexano e etanol permitiu a detecção de variados picos sendo 73 e 47 respectivamente, dos quais, apenas 11 do extrato etanólico puderam ser sugeridos por meio da similaridade com os padrões estabelecidos. Os resultados indicam um alto nível de complexidade nos extratos obtidos de hexano e etanol. Desta forma, novos estudos poderão ser realizados com a aplicação de modalidades cromatográficas auxiliares e outros processos de isolamento para ampliar o espectro de identificação de substâncias provenientes de extratos de *Moringa oleifera*.

Quanto a análise da atividade antioxidante podemos concluir que os extratos orgânicos da moringa apresentam em sua composição substâncias com potencial ação antioxidante. Tal resultado é um indicativo da presença de compostos capazes de eliminar o radical livre DPPH e corroboram com os dados presentes na literatura definindo a moringa como uma importante fonte de antioxidantes.

No âmbito educacional foi possível discutir e atentar para a importância da química de produtos naturais relacionado ao contexto de estudantes do ensino médio mostrando-se uma alternativa eficaz e dinâmica para o ensino de química.

REFERÊNCIAS

- ABUBAKAR, A.R., HAQUE, M. Preparation of Medicinal Plants: Basic Extraction and Fractionation Procedures for Experimental Purposes. **J Pharm Bioallied Sci**, v. 12, n. 1, p. 1-10, 2020.
- ADAMS, R. P. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry, edição 4.1, p. 809, 2017.
- ADEBAYO, I.A.; ARSAD, H.; SAMIAN, M. R. Antiproliferative effect on breast cancer (MCF7) of *Moringa oleifera* seed extracts. **African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines**, v. 14, n.2, 2017.
- ALMEIDA, C.S., YAMAGUCHI, K.K.L., SOUZA, A.O. O uso de indicadores ácido-base naturais no ensino de Química: uma revisão. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 9, p. 1-20, 2020.
- ANWAR, F. *Moringa oleifera*: a food plant with multiple medicinal uses. **Phytother**, v. 21, p. 17-25, 2007.
- ARAÚJO, A. et al. Potencialidades da *Moringa oleifera* Lam volume. Sergipe: Universidade Federal de Sergipe, 2012.
- BECCARIA, M., et al. Advanced mono- and multi-dimensional gas chromatography–mass spectrometry techniques for oxygen-containing compound characterization in biomass and biofuel samples. **Sep Sci**, v. 44 n. 1, p. 115-134, 2021.
- BOURGAUD, F. et al. Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. **Plant Sci**, n. 161, p. 839–851, 2004.
- BRAATHEN, P. C. Professor: como ter sucesso no ensino superior: Didática e metodologias para ensino superior efetivo. Viçosa – MG: Aprenda Fácil Editora, p. 277, 2014.
- BRASIL, Parâmetros Curriculares Nacionais. Parte III - Ciências da Natureza, Matemática e suas Tecnologias. Brasília: MEC, p. 30-38, 2000.
- CALDERÓN-MONTAÑO, J. et al. The Cardiac Glycosides Digitoxin, Digoxin And Ouabain Induce A Potent Inhibition Of Glycolysis In Lung Cancer Cells. **WebmedCentral CANCER**, v. 4, n. 7, p. 2013.
- CHAIYASIT, K. et al. Pharmacokinetic and the effect of capsaicin in *Capsicum frutescens* on decreasing plasma glucose level. **Journal of the Medical Association of Thailand: Chotmaihet thangphaet**, v. 92, n. 1, p. 108–113, 2009.
- CHARDE, R. M. et al. Evaluation of ethanolic extract of *Moringa oleifera* for wound healing, anti-inflammatory and antioxidant activities on rats. **Research Journal of Pharmacy and Technology**, v. 4, n. 2, p. 254-258, 2011.

CHECA, J., ARAN, J. M. Reactive Oxygen Species: Drivers of Physiological and Pathological Processes. **Journal of inflammation research**, v. 13, p. 1057–1073, 2020.

CRETELLA, A.B.M. et al. Expanding the antiinflammatory potential of *Moringa oleifera*: topical effect of seed oil on skin inflammation and hyperproliferation. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 254, 2020.

CROTEAU, R. et al. Taxol biosynthesis and molecular genetics. **Phytochem Rev.**, v. 5, n. 1, p. 75–97, 2006.

DAENEN, K. et al. Oxidative stress in chronic kidney disease. **Pediatric Nephrology: Journal of the International Pediatric Nephrology Association**, v. , n. , p. , 2019.

DAMLE, V.G. et al. Detecting free radicals post viral infections. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 191, p. 8-23, 2022.

DHAKAD, A. K. et al. Biological, nutritional, and therapeutic significance of *Moringa oleifera* Lam. **Phytotherapy Research**, v. 33, n. 11, p. 2870-2903, 2019.

EKIERT, H. M.; SPOZA, A. Biological Activities of Natural Products. **Molecules**, v. 25, n. 23, p. 5769, 2020.

FAIZI, S. et al. Hypotensive constituents from the pods of *Moringa oleifera*. **Planta medica**, v. 64, n. 03, p. 225-228, 1998.

FERREIRA, L.H, HARTWIG, D.R, OLIVEIRA, R.C. Ensino experimental de química: uma abordagem investigativa contextualizada. **Química Nova na Escola**, v.32, n. 2, p. 101- 106, 2010.

FITRI, A. et al. The Potential Use of Secondary Metabolites in *Moringa oleifera* as an Antioxidant Source. **Trop. Anim. Sci. J.**, v. 38, n. 3, 2015.

FLIEGER, J., FLIEGER, M. The [DPPH•/DPPH-H]-HPLC-DAD Method on Tracking the Antioxidant Activity of Pure Antioxidants and Goutweed (*Aegopodium podagraria* L.) Hydroalcoholic Extracts. **Molecules**, v. 25, n. 24, p. 6005, 2020.

FORMAN, H.J., ZHANG, H. Targeting oxidative stress in disease: promise and limitations of antioxidant therapy. **Nat Rev Drug Discov**, V. 20, N. 9, P. 689-709, 2021.

GAFFAR, Shabarni; APRIANI, Riza; HERLINA, Tati. n-Hexane fraction of *Moringa oleifera* Lam. leaves induces apoptosis and cell cycle arrest on T47D breast cancer cell line. **Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research**, v. 7, n. 3, p. 173-183, 2019.

GANDJI, K. et al. Status and Utilisation of *Moringa oleifera* Lam: A review. **African Crop Science Journal**, v. 26, n. 1, p. 137 - 156, 2018.

JAIN, C., KHATANA, S., VIJAYVERGIA, R. Bioactivity of secondary metabolites of various inplants: a review. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 10, n. 2, p. 494-504, 2019.

KOU, X. et al. Nutraceutical or Pharmacological Potential of *Moringa oleifera* Lam. **Nutrients.**, v.10, p. 343, 2018.

LEONE, A. et al. Cultivation, Genetic, Ethnopharmacology, Phytochemistry and Pharmacology of *Moringa oleifera* Leaves: An Overview. **Int J Mol Sci.**, v. 16, n. 6, 2015.

LIMA, L. P. et al. A utilização de produtos naturais como alternativa para o ensino de química: Uma revisão. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 7, 2022.

LUNGU, N. S., AFOLAYAN, A. J., IDAMOLORO, E. M. Warmed-over flavour profiles, microbial changes, shelf-life and check-all-that-apply sensory analysis of cooked minced pork treated with varying levels of *Moringa oleifera* leaf and root powder. **Heliyon**, v. 8, n. 9, 2022.

MARRUFO, T. et al. Chemical Composition and Biological Activity of the Essential Oil from Leaves of *Moringa oleifera* Lam. Cultivated in Mozambique. **Molecules**, v. 18, n. 9, p. 10989-11000, 2013.

MATIC, I. et al. Investigation of medicinal plants traditionally used as dietary supplements: A review on *Moringa oleifera*. **Journal of public health in Africa**, v. 9, 2018.

MENDONZA, N., SILVA, E.M.E. Introduction to phytochemicals: secondary metabolites from plants with active principles for pharmacological importance. *In*: Asao, T., Asaduzzaman, M. (orgs). **Phytochemicals: source of antioxidants and role in disease protection**. 2018.

MESAS, C. et al. Antioxidant and antiproliferative potential of ethanolic extracts from *Moringa oleifera*, *Tropaeolum tuberosum* and *Annona cherimola* in colorectal cancer cells. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 143, p. 112248, 2021.

MIKOVSKI, D. et al. Química Medicinal E A Sua Importância No Desenvolvimento De Novos Fármacos. **Revista Saúde e Desenvolvimento**, v.12, n.13, p.29-43, 2018.

MORTAZA, E., ARASH, M. Technology Engineering of Secondary Metabolites in Tissue and Cell Culture of Medicinal Plants: An Alternative to Produce Beneficial Compounds Using Bioreactor Technologies. **Abdullah, S.N.A., Chai-Ling, H., Wagstaff, C. (org)**. Crop Improvement: Sustainability Through LeadingEdge.

MUNTEANU, I.G., APETREI, C. Analytical Methods Used in Determining Antioxidant Activity: A Review. **Int J Mol Sci**, v. 22, n. 7, p. 3380, 2021.

NAKAI, K., TSURUTA, D. What Are Reactive Oxygen Species, Free Radicals, and Oxidative Stress in Skin Diseases? **Int J Mol Sci**, v. 22, n. 19, 2021.

NEPOLEAN, P.; ANITHA, J.; EMILIN, R. R. Isolation, analysis and identification of phytochemicals of antimicrobial activity of *Moringa oleifera* Lam. **Current biotica**, v. 3, n. 1, p. 33-37, 2009.

NOVA, E. et al. Potential of *Moringa oleifera* to Improve Glucose Control for the Prevention of Diabetes and Related Metabolic Alterations: A Systematic Review of Animal and Human Studies. **Nutrients**, v. 12, n. 7, p. 2050, 2020.

OGUNDIPE, A. et al. In Vitro Experimental Assessment of Ethanolic Extract of *Moringa oleifera* Leaves as an α -Amylase and α -Lipase Inhibitor. **Biochemistry Research International**, v. 2022, 2022.

OLIVEIRA, G.L.S. Determinação da capacidade antioxidante de produtos naturais in vitro pelo método do DPPH: estudo de revisão. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n,1, p. 36-44, 2015.

OLIVEIRA, M.C.C., BARBOSA, R.C.F., FLORES, D.C. Atividade antioxidante de frutas cítricas: adaptação do método do DPPH para experimentação em sala de aula. **Química Nova na Escola**, v. 43, n. 4, p. 401-405.

OMODANISI, E. I., ABOUA, Y. G., OGUNTIBEJU, O. O. Assessment of the Anti-Hyperglycaemic, Antinflammatory and Antioxidant Activities of the Methanol Extract of *Moringa Oleifera* in Diabetes-Induced Nephrotoxic Male Wistar Rats. **Molecules**, v. 22, n.4, 2017.

PAIKRA, B.K.; DHONGADE, H.K.J.; GIDWANI, B. Phytochemistry and Pharmacology of *Moringa oleifera* Lam. **Journal of Pharmacopuncture**, Índia, 2017.

PAZ, J.E.W. et al. Phenolic content and antibacterial activity of extracts of *Hamelia patens* obtained by different extraction methods. **Braz J Microbiol**, v. 49, n. 3, p. 656-661, 2018.

PIRES, J. et al. Ensaio em microplaca do potencial antioxidante através do método de sequestro do radical livre DPPH para extratos de algas. São Paulo, 2017.

RAMARAO, K. D. R. et al. The antioxidant properties and microbial load of *Moringa oleifera* leaves dried using a prototype convective air-dryer. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 29, 2022.

RAZIS, A.F.F, IBRAHIM, M.D., KNTAYYA, S.B. Health Benefits of *Moringa oleifera*. **Asian Pac J Cancer Prev**, v. 15 n. 20, p. 8571-8576, 2014.

ROCKENBACH, A. P. et al. Interference between weeds and crop: changes in secondary metabolism. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 17, n. 1, p. 59-70, 2018.

RODE, S.B., DADMAL, A., SALANKAR, H.V. Nature's Gold (*Moringa Oleifera*): Miracle Properties. **Cureus**, v. 7, n. 14, 2022.

RUCKMANI, K. et al. Effect of *Moringa oleifera* Lam. on paracetamol induced hepatotoxicity, **Indian Journal of Pharmaceutical Science**, v. 60, p. 33-35, 1998.

SALEEM, A., SALEEM, M., AKHTAR, M. F. Antioxidant, anti-inflammatory and antiarthritic potential of *Moringa oleifera* Lam: na ethnomedicinal plant of Morangaceae Family. **South African Journal of Botany**, v. 128, p.246-256, 2020.

SANDEEP, G. et al. *Moringa* for nutritional security (*Moringa oleifera* Lam.). **International Journal of Botany Studies**, v. 4, n. 1, p. 21-24, 2019.

SANTOS, A.F. et al. Antioxidant activity of *Moringa oleifera* tissue extracts. **Phytotherapy research : PTR**, v. 26, n. 9, 2012.

SANTOS, A.P., MORENO, P.R.H. Alkaloids derived from histidine: imidazole (Pilocarpine, pilosine). Ramawat KG, Merillon J-M (eds): **Handbook of natural products**, v. 6, 2013.

SILVA, F. C. et al. Relação entre as dificuldades e a percepção que os estudantes do ensino médio possuem sobre a função das representações visuais no ensino de Química. Bauru: **Ciênc. educ.**, n. 27, 2021.

STANEK, N. et al. Influence of coffee brewing methods on the chromatographic and spectroscopic profiles, antioxidant and sensory properties. **Sci Rep**, v. 11, n. 21377, 2021.

STOHS, S.J., HARTMAN, M. J. Review of the Safety and Efficacy of *Moringa oleifera*. **Phytother. Res**, v. 29, p. 796–804, 2015.

SUTAR, N. G. et al. Analgesic activity of seeds of *Moringa oleifera* Lam. **International Journal of Green Pharmacy**, v. 2, n. 2, 2008.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. Plant Physiology. 5ª edição. Sunderland: **Sinauer Associates Inc.**, Publishers, 2010.

TALAPATRA S.K., TALAPATRA, B. Chemistry of plant natural products: stereochemistry, conformation, synthesis, biology, and medicine. **Springer, Heidelberg**, 2015.

TECLEGEORGISH, Z. W. et al. Nutrients, secondary metabolites and anti-oxidant activity of *Moringa oleifera* leaves and *Moringa*-based commercial products. **South African Journal of Botany**, v. 142, p. 409-420, 2021.

VALLI, M.; RUSSO, H. M.; BOLZANI, V. S. The potential contribution of the natural products from Brazilian biodiversity to bioeconomy. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, 90 (1 Suppl 1), p. 763–778, 2018.

VERMA, K. S.; NIGAM, R. Nutritional Assessment of Different parts of *Moringa oleifera* Lamm collected from Central India. **J. Nat. Prod. Plant Resour**, v. 4, n.1, p. 81-88, 2014.

VIEGAS, C.; BOLZANI, V. S.; BARREIRO, E. J. Os Produtos Naturais e a Química Medicinal Moderna. **Química Nova**, Rio de Janeiro - RJ, v. 29, n. 2, p. 236-337, 2006.

WEATHERS, P.J.et al. Artemisinin production in *Artemisia annua*: studies in planta and results of a novel delivery method for treating malaria and other neglected diseases. **Phytochem Rev.**, v. 10, n. 2, p. 173–183, 2011.

WILSON, J., SIMPSON, T., SPELMAN, K. Total cannabidiol (CBD) concentrations and yields from traditional extraction methods: Percolation vs. maceration. **Frontiers in Pharmacology**, 2022.

WHO. Fifty-second report of the WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations. Geneva: **World Health Organization**, n. 1010, p. 104-110, 2018.

ZUCCO, C. Química para um mundo melhor. **Química Nova**, v. 34, n. 5, p. 733, 2011.