

Eficacia de la semilla de *Moringa oleífera* en el aclaramiento del agua

Santiago Hernández Bojorge, Zairie Niguelie Cawich,
Marisol Gómez Lejarza, Clara González Moncada.

Laboratorio de Microbiología y Parasitología,
Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, Managua (UNAN-Managua)

RESUMEN

El proyecto investigativo fue llevado a cabo en el Laboratorio de Microbiología y Parasitología de la UNAN-Managua y en el Laboratorio Nacional de Residuos Biológicos del MAGFOR con el objetivo de determinar la eficacia de la semilla del árbol *M. oleífera* para el aclaramiento del agua por medio de la comparación de los aspectos microbiológicos y fisicoquímicos del agua del Lago de Nicaragua (obtenida en la comarca de El Menco, Rivas), antes y después del tratamiento con una dosis de 1000 mg/Lt de la semilla de *M. oleífera*. El examen fisicoquímico no demostró variaciones entre las concentraciones de iones presentes en el agua pre y post tratamiento con la semilla. Los exámenes microbiológicos revelaron que *M. oleífera* es capaz de inhibir el crecimiento de *Salmonella choleraeruis* del grupo C₁ en Mac Conkey agar y *Staphylococcus Spp.* en agar sangre, así como *Escherichia coli enteropatógena* en Sorbitol Mac Conkey agar. La observación al fresco del agua pre-tratamiento y post-tratamiento con la semilla mostró una remoción total de microorganismos. La dosis ideal para clarificar las aguas de Lago Cocibolca fue de 1000 mg/Lt con un tiempo de exposición a la semilla de media hora. Se recomendó la aplicación del método de filtración por grava en la comarca de El Menco para maximizar el efecto de la semilla de *M. oleífera* y producir agua potable a partir de agua impura.

Palabras clave: *Moringa oleífera*, coagulación-floculación, purificación, coagulante natural.

ABSTRACT

This study was done at the Microbiology and Parasitology laboratory of UNAN-Managua and at the National laboratory of Biological Residues (MAGFOR). The main objective was to determine the efficiency of the seed as a natural coagulant by making a comparison between the microbiological and physicochemical properties of water samples taken from the Lake of Nicaragua (El Menco, Rivas) before and after the treatment with 1000 mg/Lt of the seed. The results of the physicochemical test did not showed any relevant variations of the ion concentration, before and after the treatment with the seed. The results of the microbiological test showed that *M. oleífera* inhibits the growth of Group C *Salmonella choleraous*, *Staphylococcus Spp.* and *enteropatogenic Escherichia coli* in Mac Conkey agar, blood agar and Sorbitol Mac Conkey agar, respectively. The optimum dosage of *M. oleífera* used to clarify the water from the Lake of Nicaragua was 1000mg/ml. Each solution was allowed to stand for thirty minutes so that any remaining solid could settle. The use of biosand filters was recommended at El Menco, Rivas, to improve the performance of *M. oleífera* alone.



INTRODUCCIÓN

En el presente siglo se estima que 1.1 billón de personas no tienen acceso a agua potable. Un gran porcentaje de este número habita las regiones rurales de países en vías de desarrollo (WHO, 2007). Son las pequeñas comunidades que se enfrentan con dificultades de este tipo, debido al manejo inadecuado de las reservas de agua. Este problema pone en riesgo a los consumidores de padecer de infecciones transmitidas por aguas contaminadas. En países en desarrollo con problemas en el abastecimiento de agua potable para consumo humano se pueden prevenir las infecciones entéricas por medio del tratamiento de agua con coagulantes, métodos físicos y químicos para la purificación del agua. Son muchos los coagulantes usados de forma rutinaria para la producción de agua purificada. Una sal inorgánica, el sulfato de aluminio, es el coagulante más utilizado en el tratamiento de agua debido a su alta eficacia y bajo costo.

Recientemente se están utilizando una cantidad considerable de polímeros orgánicos sintéticos debido a su eficacia y bajo costo. Sin embargo, se ha reportado que el aluminio que es el mayor componente de alum y de cloruro de poli aluminio, podría inducir a la enfermedad de Alzheimer (Dalton, 1973). También se reportó que monómeros de polímeros orgánicos sintéticos como la acrilamida tienen efectos neurotóxicos y fuertes propiedades carcinogénicas (Mccollister D. D., 1964). Los coagulantes naturales son biodegradables y presuntamente son seguros para la salud humana. Varios estudios han sido realizados con el extracto de *M. oleífera* como alternativa de purificación de aguas. *M. oleífera* conocida comúnmente como “marango” es una arbustiva oleaginosa originada de la India y tradicionalmente utilizada en países asiáticos y africanos como alimento humano y animal, con propiedades especiales para la recuperación de las personas desnutridas y prevención de la ceguera. Las propiedades nutritivas de *M. oleífera* le han cobrado una gran importancia en la producción de biodiesel, etanol, aceite, biomasa y fertilizante orgánico (Duke, 1983). Estudios recientes también comprobaron que el extracto de la semilla de esta planta tiene propiedades anti-cianobacterianas (Lurling, 2010).

El extracto de la semilla de *M. oleífera* posee una propiedad coagulante natural que le confiere la capacidad de purificar aguas turbias (Mkandawire, 2009). La mezcla del coagulante, cargado positivamente, con agua impura comprime la bicapa de las partículas coloidales flotando en ella y produce la neutralización del potencial electrostático de superficie de las partículas. Estas

partículas desestabilizadas se unen unas con otras para formar estructuras solidas conocidas como flóculos que descienden hasta el fondo del recipiente por la fuerza de la gravedad. Los microorganismos patógenos adheridos a estas partículas coloidales descienden con los flóculos y de esta manera se aclara el agua de suciedad y de microbios (Bache, 2007). En el presente estudio no solamente se cuantifica la capacidad purificante de microorganismos patógenos que tiene el extracto de la semilla de *M. oleífera* sobre aguas impuras, sino que también se pone en práctica para producir aguas aclaradas en las áreas rurales de Nicaragua.

MATERIAL Y MÉTODOS

Preparación del polvo y pasta con la semilla de *M. oleífera*

Las semillas de *M. oleífera* fueron descascaradas a mano y maceradas en un crisol estéril hasta conseguir un polvo fino (*fig. 1*) que fue mezclado con agua hasta obtener una pasta homogénea, para utilizarla se mescló con 10cc de agua y la solución fue agitada por 10 min a través de rotadores especiales para mezclar líquidos (RotoMix Type 48200 Johns Scientific Inc.), quedando lista para utilizarlo.



Fig. 1. *Moringa oleífera* (árbol, vaina y semilla antes de descascarar, semilla después de descascarar y maceradas, polvo)



Toma de muestra de agua

Para valorar los diferentes parámetros en el agua se analizaron diferentes tipos de muestras. Con el propósito de comprobar la capacidad floculante de la semilla de *M. oleífera* se obtuvieron 3 Lts de agua de la pileta del Departamento de Biología de la UNAN-Managua. Se recolectaron 3 galones de agua de la zona costera de El Menco-Buenos Aires, Rivas en tres puntos estratégicos y en tres ocasiones diferentes. Para llevar a cabo la toma de muestra se siguieron las normas establecidas por la Organización Panamericana de la Salud (Vera, 1996).

Floculación

Se ha reportado que el grado de floculación de las aguas impuras tratadas con la semilla de *M. oleífera* aumenta a medida que incrementa la turbidez y la temperatura del agua (M. Pritchard T. C., 2010). La muestra de agua tomada de la pileta fue distribuida en cinco frascos de Erlenmeyer. Cada frasco fue llenado con 1500 ml de agua pre tratamiento y tratado con dosis distintas de semilla de *M. oleífera* (500 mg/Lt, 1000 mg/Lt, 1500 mg/Lt, 2000 mg/Lt y 2500 mg/Lt). La muestra de agua tomada del Lago Cocibolca fue expuesta a 3 dosis de semilla (500 mg/Lt, 1000 mg/Lt y 1500 mg/Lt). Después de haber posado por 30 minutos se observó la formación de flóculos y se registraron las características de los flóculos en relación al tiempo de exposición a la semilla a través del índice de Willcomb (Valencia, 1992).

Análisis Físicoquímico

En el Laboratorio Nacional de Residuos Biológicos del MAGFOR se determinó la concentración iónica del agua pre y post tratamiento con la semilla de *M. oleífera* a través de espectrofotometría de absorbencia atómica de rápida secuencia. También se determinó la dureza, concentración de cloruros y de sólidos totales a través de métodos de laboratorio específicos para su detección.

Coliformes totales y fecales

El agua del Lago Cocibolca pre tratamiento y post tratamiento (con dosis de 500mg/Lt, 1000mg/Lt y 1500mg/Lt) con la semilla de *M. oleífera* fue inoculada en agar Sangre, Mac Conkey agar, agar Salmonella/Shigella y Sorbitol Mac Conkey agar utilizando una asa calibrada (factor de 0.001) con el objetivo de determinar la cantidad, morfotipo e importancia epidemiológica de los microorganismos presentes en las muestras pre y post tratamiento con la semilla. Este mismo



procedimiento se llevó a cabo con el agua de la pileta a una dosis de 2000 mg/Lt con el objetivo de comparar la acción floculante de la semilla a distintas dosis en aguas de diferente turbidez. Ambas muestra de agua se analizaron antes y después de haber pasado por un proceso de filtración con papel filtro. Los platos petri inoculados con agua fueron incubados a 37°C por 24 hrs. Las Unidades Formadoras de Colonias (UFC), por 100 ml de agua destilada, que crecieron en los distintos medios de cultivo se cuantificaron a través de un estereoscopio (Bauch & Lome) y un contador manual de laboratorio.

Detección de microorganismos a través de microscopia

El sedimento del centrifugado del agua pre y post tratamiento con la semilla de *M. oleífera* fue analizada al fresco con el microscopio óptico. Las colonias bacterianas que crecieron en el agar sangre inoculado con agua pre y post tratamiento con la semilla fueron teñidas con la tinción de Gram y después fueron observadas al microscopio óptico.

Propiedad Antibacteriana de la semilla de *M. oleífera*

Tres soluciones de 100 ml de agua destilada con distintas concentraciones de *M. oleífera* (0.2g, 0.4g y 0.6g, respectivamente) fueron impregnadas en tres triángulos de papel filtro que fueron colocados sobre un plato petri inoculado con *E. coli*. Después de haber pasado un periodo de incubación de 24 hrs se observaron los halos de inhibición que se formaron alrededor de cada uno de los triangulo de papel filtro impregnados con distintas concentraciones de *M. oleífera*.

Dosis de la semilla y su tiempo de exposición al agua

El pH del agua pre tratamiento y del agua post tratamiento con distintas dosis fue detectado con un pHi metro (CRISON pH-Meter Basic 20+). Se reportó la concentración y el tiempo de exposición a la semilla más apropiado para que se lleve a cabo la coagulación de partículas coloidales.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Remoción de la turbidez y capacidad floculante

La observación macroscópica de los frascos con agua de la pileta del Departamento de Biología de la UNAN-Managua, tratados con 1500 mg/Lt de semilla de *M. oleífera*, mostraron un



aclareamiento gradual del agua en relación al tiempo de exposición a la semilla. (fig. 2). En el agua pre tratamiento se observó flóculos bien formados que se depositaron completamente en la base del frasco, dejando el agua sobrenadante totalmente cristalina; esto corresponde a un grado 10 de floculación según el índice de Willcomb. Estos resultados concuerdan con los de otras bibliografías ya publicadas (M. Pritchard T. M., 2009) en donde se demostró que la semilla de *M. oleífera* es capaz de flocular las impurezas de aguas turbias.



(a) Agua pre tratamiento



(b) Agua post tratamiento

Fig. 2. Remoción de turbidez del agua y formación de flóculos

Análisis fisicoquímico

El examen fisicoquímico no demostró variaciones considerables entre las concentraciones de iones presentes en el agua pre tratamiento y post tratamiento con la semilla. Los cloruros, sólidos totales y la dureza aumentaron ligeramente en el agua post-tratamiento en relación con el agua pre-tratamiento, probablemente por el aumento de contenido orgánico derivado del polvo de la semilla. La concentración de sodio, cobre, cadmio, plomo y de zinc disminuyeron en el agua post tratamiento. Todas estas variaciones entre las concentraciones iónicas del agua pre tratamiento y post tratamiento con la semilla de *Moringa oleífera* fueron mínimas o no detectables. El problema que implica el uso del extracto crudo en el tratamiento de agua es la liberación de materia orgánica y nutriente por la semilla hacia el agua, que alteran las propiedades organolépticas de esta. Se ha reportado que el extracto crudo aumenta el contenido orgánico, de nitrato y fósforo, que contiene



el agua, mientras que *Moringa oleifera* purificada no influye en la composición química del agua (Ndabigengesere A, 1998;Okuda T, 2001).

Detección de coliformes totales, fecales y otras bacterias

La presencia de coliformes totales, fecales en el agua pre y post tratamiento con la semilla de *M. oleifera* se refleja en la *tabla 1*. Por ejemplo, en el agar sangre inoculado con agua pre tratamiento se detectaron 161,000 UFC/100 ml mientras que en el agua post tratamiento con una dosis de 1000 mg/Lt se cuantificaron 70,000 UFC/100 ml. A esta concentración se cuantificó la menor cantidad de Unidades Formadoras de Colonia (UFC) en agar sangre, Mac Conkey agar, agar Salmonella/Shigella y SMAC agar (*Tabla 1 y 2*).

Tabla 1. Determinación de coliformes totales y otras bacterias en el agua del lago Cocibolca

Concentración de la semilla de <i>Moringa oleifera</i> en agua	UFC/100ml en agar sangre	UFC/100ml en Mac Conkey agar.
Agua pre-tratamiento	161,000	4,000
500 mg/Lt	73,000	4,000
1000 mg/Lt	70,000	0
1500 mg/Lt	>100,000,000	2,000

Nota: Reporte de laboratorio de Microbiología. Pre y post tratamiento con la semilla de *Moringa oleifera* durante el período de agosto a septiembre del 2012, El Menco.



Tabla 2 Identificación de coliformes fecales y ECEP en muestras de agua del Lago Cocibolca

Concentración de la semilla de <i>Moringa oleífera</i> en agua	UFC/100ml en agar Salmonella/Shigella	UFC/100ml en SMAC agar.
Agua pre-tratamiento	Positivo	9,000
500 mg/Lt	Negativo	0
1000 mg/Lt	Negativo	0
1500 mg/Lt	Positivo	0

Nota: Reporte de laboratorio de Microbiología. ECEP: *Escherichia coli* entero patógena. Pre y post tratamiento con la semilla de *Moringa oleífera* durante el período de agosto a septiembre del 2012, El Menco.

Tabla 3 Determinación de Coliformes totales y fecales y otras bacterias en agua de la pileta del Departamento de Biología de la UNAN-Managua,

Concentración de la semilla de <i>Moringa oleífera</i> en agua	UFC en agar sangre	UFC en Mac Conkey agar.	Presencia de salmonella y/o Shigella en agar Salmonella/Shigella	UFC en SMAC agar.E.E.P.
Agua pre-tratamiento	>100,000,000	7,000	Presencia	9000
2000 mg/Lt	124,000	1,000	Negativo	0

UFC (Unidades Formadoras de Colonias) Fuente: Reporte de laboratorio de Microbiología. Pre y post tratamiento con semilla del árbol *Moringa oleífera* durante el período de agosto a septiembre del 2012, El Menco.



La identificación de la especie de *Salmonella* que creció en agar Salmonella/Shigella se llevó a cabo por medio del Kit Wellcolex Colour Salmonella. Estos resultados indican que la semilla de *Moringa oleífera* inhibe el crecimiento de *Salmonella choleraeruis* y por ende tiene la capacidad de prevenir su transmisión por medio del agua en niños y ancianos. El agua del Lago Cocibolca pre tratamiento y el agua de la pileta pre tratamiento resultaron coagulasa positivos. Estos resultados sugieren que el agua del Lago Cocibolca, pre tratamiento con la semilla de *M. oleífera* posee una amplia variedad de bacterias del género *Staphylococcus aureus*, responsable de numerosas infecciones piógenas, como los forúnculos, carbuncos y abscesos. La dosis ideal para el agua del Lago Cocibolca (1000mg/Lt) disminuyó considerablemente la cantidad de este tipo de bacterias. El crecimiento bacteriano en Sorbitol-Mac Conkey agar sugiere la presencia de *Escherichia coli enteropatógena* en el agua pre-tratamiento con la semilla, responsable de cuadros diarreicos agudos en los consumidores de agua pre-tratamiento. Los resultados de las medidas espectrofotométricas reflejaron que una dosis de 1500mg/Lt en el agua de la pileta es la dosis ideal para remover su turbidez al máximo. El efecto coagulante de todas las concentraciones utilizadas mejoró después de filtrar el sobrenadante con papel filtro (figura 3).

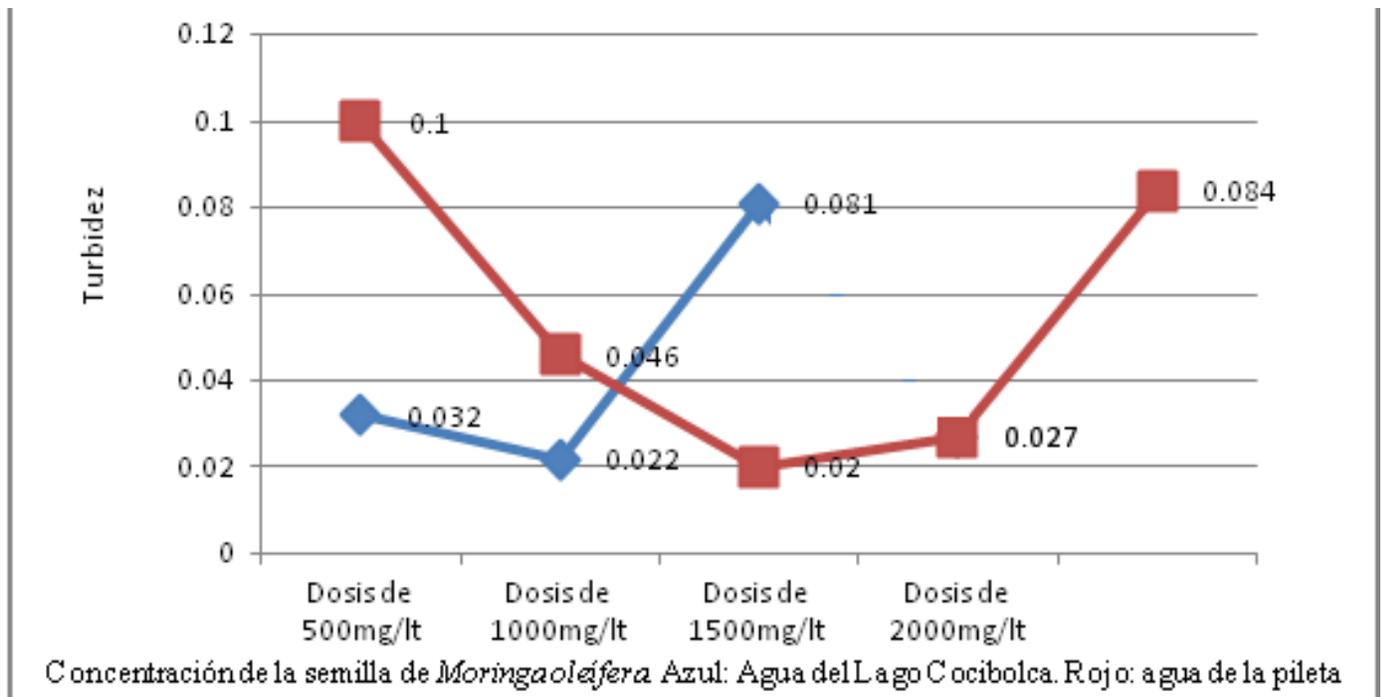


Fig. 3. Comparación de la turbidez del agua de la pileta del Departamento de Biología



Remoción de microorganismos patógenos

La observación directa al fresco del sedimento del agua pre-tratamiento con la semilla de *M. oleífera* demostró abundantes microorganismos como: *Rodiolarios Spp.*, *Clamidomonas Spp.*, *Paruroleptus Spp.*, *Giardia lamblia.*, *Acanthocystis turfatae*, *Westella Spp.*, *Huevos de erizos*, *Diatomeas Spp.*, *Navicula Spp.*, *Diatomeas Spp.*, *Huevos de Trichiuria trichuris*, *Westella Spp.*, *Merismopedia chroococcales*, *Synedra Spp.*, *Cyclotella-diatomea de agua dulce*, *Actinopodo Spp.*, *Euglena Spp.* En el sobrenadante del agua post tratamiento con la semilla, a distintas concentraciones, se observó abundante detritus y gotas de grasa, pero no se logró reconocer ningún microorganismo móvil o inmóvil, ya que hubo una remoción total de estos (figura 4).

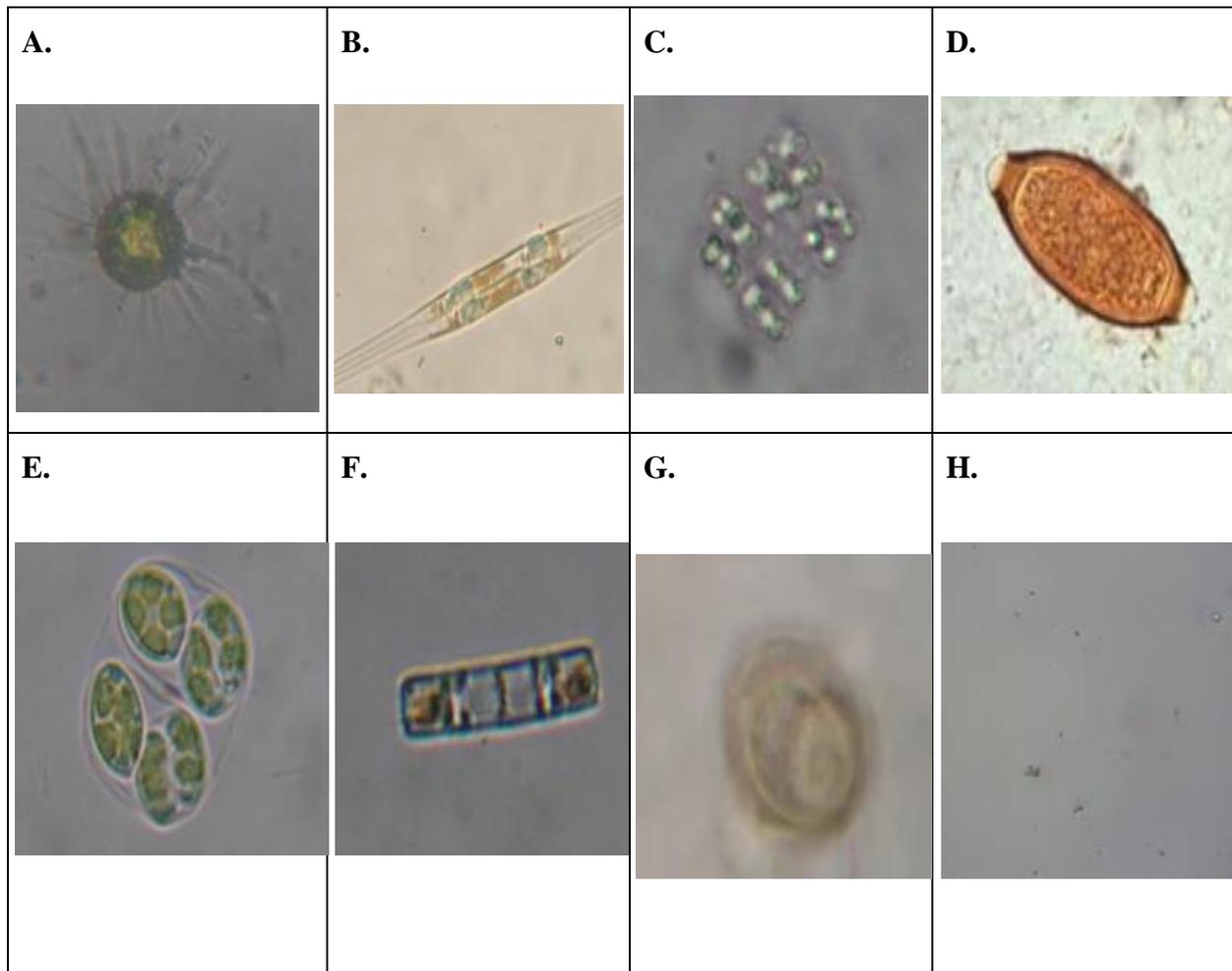




Fig. 4. Acanthocystis turfaceae (B) Synedra Spp. (C) Merismopedia chroococcales (D) Huevo de Trichiuria trichuris (E) Westella Spp. (F) Diatomeas Spp. (G) Huevo de Giardia lamblia (H) Observación al fresco de agua post-tratamiento con la semilla de Moringa oleífera (40x)

Estos resultados confirman la teoría de Ramachandran, Peter, V., & Gopalakrishan, 1980, la cual indica que el polvo de la semilla de *M. oleífera* actúa como un coagulante que une las partículas coloidales y a los microorganismos microorganismos para formar una aglomeración de partículas que forman un sedimento en la parte inferior del recipiente y que permite extraer el sobrenadante clarificado. La tinción de Gram realizada a partir de las colonias bacterianas que crecieron en los medios de cultivo demostró que hubo más morfotipos bacterianos en las colonias del agua pre-tratamiento que en las colonias del agua post-tratamiento. En el agua pre-tratamiento se detectaron *Staphylococcus*, *Streptococcus* y *Diplococcus* Gram positivos, así como bacilos gramnegativos; en el agua post-tratamiento con la semilla se detectaron solamente *Staphylococcus* spp. y *Streptococcus* spp.

Formación de halo de sensibilidad

El papel filtro impregnado con 0.04 mg de *M. oleífera* diluido en 100 ml formó un halo de inhibición de tres milímetros de diámetro frente a la bacteria *Escherichia coli*. Esto revela que el extracto de la semilla de *M. oleífera* tiene la capacidad de inhibir el crecimiento de coliformes fecales. El efecto antimicrobiano de los extractos de *M. oleífera* se debe a los isotiocinatos (compuestos principales de las semillas y las raíces), incluyendo al benzil isotiocinato y al 4-(α -L-rhamnosyloxy)benzil isotiacinato, a como demostró Horwath, 2011.

Tiempo de exposición al agua y dosis óptima

Una dosis de mil miligramos por litro de agua resultó muy eficaz para clarificar aguas impuras de fuentes naturales. Una dosis de 500mg/Lt resultó poco concentrada y eficaz en el tratamiento de agua del Lago Cocibolca; puede ser que esta dosis de semilla no fue suficientemente efectiva para flocular las partículas coloidales y las bacterias suspendidas en un litro de agua. Una dosis de 1500mg/Lt fue una dosis que revirtió la acción floculante de la semilla. Esta dosificación aumentó la turbidez el número de Unidades Formadoras de Colonias en agar sangre con relación



al agua pre-tratamiento con la semilla de *M. oleífera*. El tratamiento de aguas estancadas con la semilla de *M. oleífera* resultó especialmente eficaz (Tabla 3), ya que el agua de la pileta del Departamento de Biología de la UNAN-Managua, post-tratamiento con la semilla de *M. oleífera* desarrolló una mínima cantidad de UFC en comparación con el

agua pre tratamiento. La capacidad floculante de *M. oleífera* mejora a medida que aumenta la turbidez y la temperatura del agua tratada, aunque también se tenga que aumentar la dosis de semilla, a como afirma M. Pritchard, 2010. La capacidad coagulante de la semilla no era sensible a las fluctuaciones de pH, cuando todas las demás condiciones eran óptimas. El nivel de aclaramiento más alto, determinado a través de la medición de la turbidez del agua, fue a un pH de 7.74. Las condiciones alcalinas fueron más favorables que las acídicas y el tiempo de exposición al agua más adecuado fue de media hora. Mientras más alta fue la temperatura del agua, más efectiva fue la coagulación.

CONCLUSIONES

Se confirmó que la semilla de *M. oleífera* es un potente agente coagulante y floculante de partículas coloidales suspendidas en aguas impuras. Con una dosis óptima de 1,500 mg/Lt para el agua de la pileta y 1000mg/Lt para el agua del lago Cocibolca, hubo una excelente floculación según el índice de Willcomb.

El examen fisicoquímico no demostró variaciones entre las concentraciones de iones presentes en el agua pre y post tratamiento con la semilla.

Mediante el análisis microbiológico del agua del lago se observó una variedad de diferentes especies de microorganismos como algas, hongos, bacterias, parásitos que la hacen no potable, entre ellos *Giardia lamblia*, *Trichuris trichiura*, *Rodolarios Spp.*, *Clamidomonas Spp.*, *Paruroleptus Spp.*, *Acanthocystis turfatae*, *Westella Spp.*, entre otros, para los cuales la semilla de *Moringa oleífera* logró una remoción completa posterior al tratamiento con dosis óptima de 1000mg/Lit. El mismo efecto se obtuvo con coliformes fecales al inhibir el crecimiento de *Salmonella choleraeruis* en agar Salmonella/Shigella y a *Escherichia coli enteropatógena (coliforme termoresistente)*. *M. oleífera* mostró actividad antibacteriana contra *Staphylococcus*



aureus, ya que se desarrollan menos Unidades Formadoras de colonias en agua post-tratamiento con la semilla que en el agua pre-tratamiento.

La dosis óptima requerida para tratar las aguas de Lago de Nicaragua es de mil miligramos del polvo de la semilla por litro de agua, ya que se observó una menor turbidez y menor crecimiento de Unidades Formadoras de Colonias bacterianas. La eficacia del extracto de la semilla de *M. oleífera* está determinada por el pH y temperatura del agua. Las condiciones alcalinas fueron más favorables que las ácidas y a mayor temperatura del agua, más efectiva fue la coagulación.

Recomendaciones

Continuar el presente estudio con un diseño experimental para validar los resultados y extrapolarlos.

La obtención del extracto de las semillas de *Moringa oleífera*, a través de métodos estandarizados para este tipo de procedimientos.

Se recomienda el uso del extracto de las semillas de *Moringa oleífera* para clarificar el agua de los pozos ubicados en frente del Lago de Nicaragua en El Menco o del agua obtenida en el lago para consumo domiciliario.

Se recomienda el uso doméstico del método secundario de clarificación-método de filtración por grava y la semilla de *Moringa oleífera*, para mejorar la calidad y la seguridad del agua potable en situaciones donde no exista una fuente de agua potable segura.

La concientización de los habitantes de El Menco acerca el uso de los dos métodos clarificadores de agua con programas de intervención comunitaria.

Agradecimientos

Agradecemos especialmente a la tutora del trabajo de investigación, Dra. Clara Isabel González Moncada, por el continuo apoyo brindado y por monitorear nuestro trabajo investigativo. Al Lic. Douglas Espinoza y Medardo Andino Jarquín por su contribución y apoyo técnico. Finalmente al responsable del Laboratorio de Microbiología y Parasitología de la UNAN-Managua, Lic. Mario Romero Vargas por brindarnos el espacio y materiales necesarios para la



realización del trabajo, al Dr. Manuel Gómez Guerrero por dar la aprobación de este proyecto en el Laboratorio de Microbiología.

REFERENCIAS

- Bache, D. G. (2007). *Flocs in Water Treatment* . IWA Publishing.
- Dalton, C. D. (1973). Brain aluminum distribution in Alzheimer's disease and experimental neurofibrillary degeneration. *Science* , 511-513.
- Lurling, M. (2010). Anti-cyanobacterial activity of *Moringa oleifera* seeds. *J Appl Phycol* , 503-510.
- Mccollister D. D., O. E. (1964). Toxicology of acrylamide. *Toxicol. Appl. Pharmacol* , 6, 172-181.
- Mkandawire, P. (2009). Potential of using plant extracts for purification of shallow well water in Malawi. *Physics and chemistry of the Earth Journal* , 799-805.
- NKurunziza, T. N. (2009). The effect of turbidity levels and *Moringa Oleifera* concentracion on the effectiveness of coagulation in water treatment. *Water Science and Technology*, 1551-1558 .
- Ndabigengesere A, N. K. (1998). Quality of water treated by coagulation using *Moringa oleifera* seeds. *Water Res* , 781-791.
- Okuda, T. B. (1999). Improvement of extraction method of coagulation active components from *Moringa oleifera* seed. *Water Research* , 3373-3378.
- Pritchard, M. M. (2009). Potencial of using plant extracts for purificacion of shallow well water in Malawi. *physics and Chemistry of the Earth Jornal*, 799-805.
- Valencia, J. A. (1992). Teoria de la coagulacion del agua. *Acobal* , 68-72.
- Vera, I. A. (1996). *Métodos de análisis para la evaluación de la calidad del agua*. Lima: OPS.
- WHO. (2007). *combating Waterborne Diseases at the Household Water Treatment and Safe Storage*. Geneva: World Health Organization.