

AVALIAÇÃO DA AÇÃO ANTIBACTERIANA DAS FOLHAS DE *Moringa oleifera* Lamark IN NATURA E PROCESSADA

EVALUATION OF ANTIBACTERIAL ACTION OF FRESH AND PROCESSED LEAVES OF *Moringa oleifera* Lamark

Gabriela de Melo Santos¹
Ana Carolina Urbano Alencar²
José Ramon Alcântara da Silva³
Maria Danielle Ramalho⁴
Mara de Fátima Saviano da Silva⁵
Maria Aparecida Muniz Farias⁶
Cícera Gabriela Viana da Silva⁷
Fabíola Fernandes Galvão Rodrigues⁸
Edna Mori⁹

RESUMO

A *Moringa oleifera* Lam. é uma árvore originária da Ásia, pertencente à família Moringaceae, comestível e com muitos usos atribuídos às suas cascas, folhas, sementes, flores, frutos e raízes, sendo vastamente cultivada em muitos países tropicais devido aos seus diversos usos. O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial microbiológico das folhas de *Moringa oleifera* Lamark na sua forma in natura e processada (pó). Trata-se de uma pesquisa descritiva, exploratória, de caráter experimental com abordagem qualitativa e quantitativa, em que os extratos da planta in natura e em pó foram submetidos a testes microbiológicos (método de microdiluição em caldo e modulação). A atividade antimicrobiana dos extratos não foi observada pelo método de microdiluição em caldo, entretanto, foi realizada modulação de dois antimicrobianos com os extratos, (Benzil penicilina procaína + Benzil penicilina potássica 300+100 UI e Gentamicina 40 mg/mL) utilizando *Streptococcus mutans* e *Escherichia coli*. Evidenciou-se, com maior precisão durante esse ensaio, que o extrato das folhas em pó de maneira geral se mostrou mais eficiente do que o extrato das folhas in natura.

Palavras-chave: Avaliação. *Moringa oleifera*. Antibacteriano.

ABSTRACT

Moringa oleifera Lam. is a tree originating in Asia, belonging to the Moringaceae family, edible and with many uses attributed to its bark, leaves, seeds, flowers, fruits and roots, being widely cultivated in many tropical countries due to its various uses. The objective of this study was to evaluate the microbiological potential of *Moringa oleifera* Lamark leaves in their fresh and processed form (powder). This

¹ Graduação em Farmácia Generalista pelo Centro Universitário de Juazeiro do Norte – UNIJUAZEIRO, Juazeiro do Norte-CE; E-mail: gabrieladmelo04@gmail.com

² Graduação em Farmácia Generalista pelo Centro Universitário de Juazeiro do Norte – UNIJUAZEIRO, Juazeiro do Norte-CE.

³ Graduação em Nutrição pelo Centro Universitário de Juazeiro do Norte – UNIJUAZEIRO, Juazeiro do Norte-CE.

⁴ Graduação em Tecnologia de Alimentos pela Faculdade de Tecnologia - FATEC Cariri-CE.

⁵ Graduação em tecnologia em Saneamento Ambiental pela Faculdade de Tecnologia - FATEC Cariri-CE.

⁶ Graduação em Farmácia Generalista pelo Centro Universitário de Juazeiro do Norte – UNIJUAZEIRO, Juazeiro do Norte-CE.

⁷ Graduação em Farmácia Generalista pelo Centro Universitário de Juazeiro do Norte – UNIJUAZEIRO, Juazeiro do Norte-CE.

⁸ Docente do Centro Universitário de Juazeiro do Norte – UNIJUAZEIRO; Graduação em Ciências Biológicas, pela Universidade Regional do Cariri - URCA-Crato-CE; mestrado em Ciência e Tecnologia de alimentos, pela Universidade Federal da Paraíba-UFPB-PB; doutorado em Biotecnologia pela Universidade Estadual do Ceará - UECE-CE.

⁹ Docente do Centro Universitário de Juazeiro do Norte – UNIJUAZEIRO, Juazeiro do Norte-CE; graduação em Engenharia de Alimentos pela Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP, Campinas – SP; mestrado em Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal do Ceará – UFC, Fortaleza – CE.

is a descriptive, exploratory, experimental research with a qualitative and quantitative approach, where the extracts of the fresh and powdered plant were submitted to microbiological tests (broth microdilution method and modulation). The antimicrobial activity of the extracts was not observed by the broth microdilution method; however, two antimicrobials were modulated with the extracts, (Benzyl penicillin procaine + Benzyl penicillin 300 + 100 IU and Gentamicin 40 mg/mL) using *Streptococcus mutans* and *Escherichia coli*. It was evident, with greater accuracy during this trial, that the powdered leaves extract in general was more efficient than the fresh leaf extract.

Keywords: Evaluation. *Moringa oleifera*. Anti-bacterial.

INTRODUÇÃO

Os produtos de origem natural estão reconquistando seu espaço na indústria farmacêutica, e estudos que contenham alternativas de tratamentos naturais são considerados muito importantes para a sociedade¹. O estilo de vida do homem moderno somado a doenças causadas por vários patógenos cria a necessidade de procurar alternativas terapêuticas e retomar costumes ancestrais como o uso de plantas².

Vários estudos são realizados com finalidade de encontrar metabólitos secundários em plantas que contenham ação microbiológica, esta procura é motivada pelo aumento da resistência bacteriana. Os extratos vegetais possuem vantagens econômicas, melhor tolerância pelos pacientes, e menos efeitos colaterais^{3,4}.

A *Moringa oleifera* Lam. é uma planta perene, originária da Ásia de pequeno a médio porte, sendo também conhecida como *Moringa pterygosperma* Gaertn, e faz parte das 13 espécies da Família Moringaceae. É uma planta comestível e com muitos usos atribuídos as suas cascas, folhas, sementes, flores, frutos e raízes, geralmente inicia sua frutificação no primeiro ano após o cultivo em condições ideais, florando ao fim do período úmido e perdendo as folhas na estação seca^{5,6,7}.

É a espécie mais conhecida pertencente ao gênero *Moringa* que é o único da família Moringaceae. Desenvolve-se tanto em regiões com clima seco como úmido, exceto em solo alagado e tem rápido crescimento^{8,9}.

Muitos estudos mostram a aplicação biotecnológica de *M. oleifera*, como a atividade antimicrobiana presente nas sementes através das lectinas, e nas folhas que contém substâncias que obtiveram ação contra *Escherichia coli*, *Streptococcus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella*, entre outras¹⁰.

A busca por substâncias vegetais que auxiliem os tratamentos antibacterianos convencionais é constante, e a *Moringa* é vista como uma alternativa acessível e promissora sob diversos aspectos, e vem sendo bastante difundida em várias apresentações, principalmente suas folhas, na forma de pó seco, cápsulas e in natura, porém, pouco se sabe sobre a atividade antibacteriana deste insumo após processamento.

O pó seco das folhas tem a vantagem por proporcionar melhor extração das substâncias presentes, entretanto, fatores inerentes à sazonalidade, solo, e outros podem interferir no teor desses compostos.

Desta forma o objetivo do presente estudo foi avaliar a atividade antibacteriana das folhas de *Moringa oleifera* tanto in natura como na forma de pó seco.

MÉTODO

Este estudo tratou-se de uma pesquisa experimental, descritiva, de caráter exploratório, com abordagem qualitativa e quantitativa, realizada na Faculdade de Juazeiro do Norte (FJN) no município de Juazeiro do Norte-CE.

Preparo das amostras

Os materiais utilizados foram folhas in natura coletadas de *Moringa oleifera* da Empresa Brasileira de Pesquisa em Agropecuária (EMBRAPA) no município de Barbalha-CE, e

amostras comerciais de folhas de *M. oleifera* (pó) foram fornecidas pelo Instituto Novo Sol localizado na cidade de Juazeiro do Norte-CE. Para execução dos testes foram elaborados extratos de cada amostra, utilizando o método de extração a frio com etanol P.A durante 72 horas.

Preparo do inóculo

Foram utilizadas as estirpes bacterianas ATCC e multirresistentes: *Staphylococcus aureus* (ATCC 6528), *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), que são Gram positivas, *Escherichia coli* (ATCC 2992) e *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 10031) bactérias Gram negativas.

Os experimentos foram conduzidos utilizando a metodologia de microdiluição em caldo, e modulação.¹¹ Foi preparado o inóculo padrão de cada bactéria em BHI a 3,8 %, de onde foi transferido 100 µL para BHI a 10% após 24 horas de incubação.

Método analítico

Foram adicionados 100 µl de cada suspensão em triplicata em placas de microdiluição contendo 96 poços, juntamente com diferentes concentrações (5120 µg/mL, 2560 µg/mL, 1280 µg/mL, 640 µg/mL, 320 µg/mL, 160 µg/mL e 80 µg/mL) dos extratos previamente diluídos em DMSO (dimetilsulfóxido) e água destilada em uma concentração de 10000 µg/ml, em seguida as placas foram incubadas em estufa bacteriológica Quimis a 37°C observando os resultados após 24h.

Para realizar a modulação, os extratos foram diluídos em concentração subinibitória (CIM+8) em DMSO e água destilada. Desta solução transferiu-se 625 µl para meio BHI a 10% contendo as bactérias estudadas e foram adicionados 100 µl da suspensão final aos poços da placa de microdiluição, acrescidos de diferentes concentrações dos antimicrobianos, em seguida as placas foram incubadas em estufa bacteriológica a 37 °C por 24h.

Para leitura dos resultados adicionou-se 25 µL da solução aquosa de resazurina sódica a 0,01% em cada poço, em que a coloração rosa indica que houve crescimento bacteriano e azul a eliminação destes micro-organismos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A atividade antimicrobiana dos extratos não foi observada pelo método de microdiluição em caldo, pois houve crescimento bacteriano em todas as sete concentrações testadas, indicando concentração inibitória mínima (CIM) ≥ 10000 µg/mL como mostrado na tabela 1.

Estudos enfatizam a atividade antimicrobiana dos tecidos de *M. oleifera*, sobre uma gama de micro-organismos, inclusive *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae*, também foram descritas substâncias antimicrobianas presentes na planta, como o benzil-isotiocianato, as saponinas niazirina e niaziridina, os polifenóis, e os alcaloides moringina e moringina¹².

Foi avaliada a ação microbiológica de extratos aquosos, cetônicos, etanólicos e metanólicos nas concentrações de 40% e 80% das folhas e sementes de *M.oleifera*, e da mistura das folhas e sementes, utilizando a técnica de disco difusão, sendo

observado que os extratos com solvents a 40% apresentaram maior eficácia frente aos micro-organismos testados, principalmente, dos extratos de folhas + sementes¹³.

Tabela 1: Atividade antimicrobiana dos extratos pelo teste de microdiluição em caldo.

Concentração	<i>Staphylococcus aureus</i>		<i>Staphylococcus Mutans</i>		<i>Escherichia coli</i>		<i>Klebsiella pneumoniae</i>	
	Pó	Folhas	Pó	Folhas	Pó	Folhas	Pó	Folhas
5120 µg/mL	-	-	-	-	-	-	-	-
2560 µg/mL	-	-	-	-	-	-	-	-
1280 µg/mL	-	-	-	-	-	-	-	-
640 µg/mL	-	-	-	-	-	-	-	-
320 µg/mL	-	-	-	-	-	-	-	-
160 µg/mL	-	-	-	-	-	-	-	-
80 µg/mL	-	-	-	-	-	-	-	-

CIM ≥ 10000 µg/ML (-)

Apesar de não haver inibição, foi realizada modulação de dois antimicrobianos com os extratos, (Benzil penicilina procaína + Benzil penicilina potássica 300 + 100 UI e Gentamicina 40mg/mL) utilizando *Streptococcus mutans* e

Escherichia coli, relatadas em literature como susceptíveis a substâncias nas folhas de *Moringa*.

Os valores de concentração inibitória mínima (CIM) para a associação entre extratos e antimicrobianos estão representados nas tabelas 2 e 3.

Tabela 2: Valores de CIM para modulação entre extratos e Benzil penicilina procaína

Micro-organismo	CIM Benzil penicilina + Extrato folhas em pó		CIM Benzil penicilina + Extrato folhas in natura	
	Teste	Controle	Teste	Controle
<i>S. mutans</i>	640 µg/mL	2560 µg/mL	1280 µg/mL	1280 µg/mL
<i>E. coli</i>	160 µg/mL	320 µg/mL	640 µg/mL	640 µg/mL

Tabela 3: Valores de CIM para modulação entre extratos e Gentamicina

Micro-organismos	CIM Gentamicina + Extrato folhas em pó		CIM Gentamicina + Extrato folhas in natura	
	Teste	Controle	Teste	Controle
<i>S. mutans</i>	320 µg/mL	160 µg/mL	320 µg/mL	1280 µg/mL
<i>E. coli</i>	160 µg/mL	640 µg/mL	320 µg/mL	640 µg/mL

Pode-se observar que houve sinergismo na modulação entre o extrato das folhas em pó e benzil penicilina frente aos dois micro-organismos, já o extrato de folhas in natura não mostrou qualquer diferença quando associado ao antimicrobiano (TABELA 2). Quando associados à gentamicina, observou-se que houve antagonismo entre o extrato das folhas em pó e o antimicrobiano frente a *S. mutans*, e sinergismos para os demais (TABELA 3).

Em um ensaio microbiológico onde utilizou-se fitoconstituintes frente a bactérias cariogênicas, foram considerados valores iguais ou inferiores a 500 µg/mL como forte atividade antimicrobiana¹⁴.

Foram determinadas a concentração inibitória mínima, concentração bactericida mínima e a atividade inibidora de tripsina do extrato das folhas de *Moringa*, bem como duas das frações proteicas obtidas do extrato, frente às bactérias *S. enteritidis*, *S. aureus*, *E. coli*, e *E. faecalis*, em que se obtiveram diferentes valores de CIM e CBM, e inibição da atividade de tripsina sugerindo a partir disto que diferentes substâncias antimicrobianas estão presentes na planta e a inibição da tripsina pode estar relacionada a ação antimicrobiana¹⁵.

CONCLUSÃO

A ação antimicrobiana só foi evidenciada com maior precisão durante o ensaio de modulação, em que o extrato das folhas em pó de maneira geral se mostrou mais eficiente do que o extrato das folhas in natura frente aos micro-organismos e antimicrobianos utilizados. A segurança para consumo dos produtos analisados irá depender da dose e indicação adequada.

Também deve-se levar em consideração que o material analisado foi obtido utilizando um tipo de solvente, e duas amostras, o que não impede que mais estudos com mais variáveis sejam realizados.

REFERÊNCIAS

- Cardoso RC. Atividade antimicrobiana de plantas medicinais utilizadas como cicatrizantes: *Aloe vera* (babosa) e *Chamomilla recutita* (Camomila). (Monografia) Faculdade Assis Gurgacz; 2015
- Mori T, Ruiz E, Garcia M, Bardales J, Tresierra-Ayala A, Bendayán M, et al. Efecto antimicrobiano de *Myrciaria dubia* (camu camu) y *Cyperus luzulae* (piri piri) sobre microorganismos patógenos. Conocimiento amazónico. 2013; 4 (1): 49-57.

- 3 Jesus RS, Piana M, Freitas RB, Brum TF, Alves CFS, Belke BV, et al. *In vitro* antimicrobial and antimycobacterial activity and HPLC–DAD screening of phenolics from *Chenopodium ambrosioides* L. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2018; 49: 296-302. doi.org/10.1016/j.bjm.2017.02.012
- 4 Tonelli M, Geromel MR, Fazio MLS. Ação antimicrobiana de óleos essenciais de sucupira branca (*Pterodon emarginatus*); folhas de pêssego (*Prunus persica*); bagas de junipero (*Juniperus communis*); rosa de damasco (*Rosa damascena*) e petitgrain mandarina (*Citrus deliciosa*). *Higiene alimentar*. Mar/Abr, 2018; 32: 278/279.
- 5 Rolim, JC, Nogueira MRS, Lima PRS, Bandeira FCV, Pordeus MAA, Castro AA, et al. Hiperplasia miointimal na artéria ilíaca em coelhos submetidos à angioplastia e tratados com *Moringa oleifera*. *Rev. Col. Bras. Cir.* 2016 43 (1) 28-34. 28 *Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgias*. 2016; 43(1): 028-034 DOI: 10.1590/0100-69912016001007
- 6 Souza IFAC. Bioprospecção de actinobactérias endofíticas de folhas de *Moringa oleifera* Lam. em três localidades do Estado de Pernambuco e avaliação dos metabólitos secundários produzidos por esses microorganismos. (Tese) Recife, Universidade Federal de Pernambuco; 2016
- 7 Almeida CBL, Sá CC, Carvalho RCD, Almeida ES. Estudo prospectivo da moringa na indústria de cosméticos. *Cadernos de Prospecção*, out/dez. 2017; 10 (4):905-918 D.O.I.:http://dx.doi.org/10.9771/cp.v10i4.23060.
- 8 Vasconcelos MC. *Moringa oleifera* Lam: Aspectos morfométricos, fisiológicos e cultivo em gradiente de espaçamento. (Dissertação) São Cristovão, Universidade Federal de Sergipe; 2013.
- 9 Vieira GF. Determinação de macro e micro nutrientes de frutos de *Moringa oleifera* Lamark (parede interna e externa da casca) e sementes. (Dissertação) Natal, Universidade Federal do Rio Grande do Norte; 2017.
- 10 Nogueira SEM, Andrade MJG, Moura GJB, Santos CAB. *Conservação dos recursos naturais*. 1 ed. Paulo Afonso: Oxente; 2016.
- 11 NCCLS. National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Metodologia dos Testes de Sensibilidade a Agentes Antimicrobianos por Diluição para Bactéria de Crescimento Aeróbico*. Pensilvânia; 2003.
- 12 Leonídio ARA, Almeida AMS, Filha LGF, Andrade MA. Atividade antimicrobiana de *Moringa oleifera* Lam. *Revista Gestão & Tecnologia Faculdade Delta*. Jan/Jun 2019; 1: 4-15
- 13 Feitosa, PRB, Santos TRJ, Santana LCLA. Potencial antimicrobiano de diferentes extratos das folhas Sementes de moringa (*moringa oleifera lam*). *ISTI/SIMTEC*. 2018; 9 (1): 116-123. D.O.I.: 10.7198/S2318-3403201800010014
- 14 Ferreira GLS, Bezerra LMD, Ribeiro ILA, Morais Junior RCD, Castro RD. Suscetibilidade de microrganismos cariogênicos a fitoconstituintes. *Revista Brasileira de Biologia*. Nov/2019; 79, (4): 697-702. DOI: https://doi.org/10.1590/1519-6984.189089
- 15 Moura MC, Mendonça RA, Paiva PMG, Coelho LCBB. Atividade antibacteriana de preparações de folhas de *Moringa oleifera* contendo inibidor de tripsina. *Revista do Jardim Botânico de Recife (Arrudea)*, 2015; 1, (1): 012- 018. DOI: http://dx.doi.org/10.2446/arrudea.v1i1.3.