



**ANÁLISE FITOQUÍMICA E ACTIVIDADE ANTIBACTERIANA *IN VITRO* DOS
EXTRACTOS DA *CURCUMA LONGA* FRENTE A *ESCHERICHIA COLI* E *VIBRIO
CHOLERA*E**

**PHYTOCHEMICAL ANALYSIS AND *IN VITRO* ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF
EXTRACTS FROM *CURCUMA LONGA* AGAINST *ESCHERICHIA COLI* AND *VIBRIO
CHOLERA*E**

*Chabuca Sunza António
Victor Rodrigues Nicobue
Clemência Félix Odala Niconte
Ezequias Zefanias Siteo
Universidade Lúrio – Moçambique*

RESUMO

A resistência antibacteriana constitui uma ameaça a saúde pública global. Nesse contexto, a presente pesquisa laboratorial de natureza experimental, quantitativo com amostragem não probabilística por conveniência, tem por objectivo analisar a composição química e a actividade antibacteriana dos extractos do rizoma da *Curcuma longa* (Açafrão-da-terra) frente a *E. coli* e *Vibrio cholerae*. Os extractos dos rizomas foram obtidos através do método de maceração com etanol a 90% e pela técnica de esmagamento para obtenção do extracto. Os metabólitos secundários foram identificados usando reagentes específicos para cada classe. A análise da actividade antibacteriana foi realizada através do método de disco difusão descrito por Kirby-Bauer. Na análise fitoquímica, foram identificadas Saponinas, alcaloides e flavonóides. Os diâmetros dos halos de inibição para extractos etanólicos variou entre 6mm a 12mm e a forma *in natural* entre 6mm a 13mm. O teste U de Mann-Whitney teve $P=0,050$ indicando que não há diferença estatisticamente significativa entre os halos de inibição e as concentrações testadas



para *E. coli* e *V. cholerae*. Conclui-se que os metabolitos secundários encontrados são precursores da actividade antibacteriana.

Palavras-Chave: Actividade antibacteriana, análise fitoquímica, *Curcuma longa L.*

ABSTRACT

Antibacterial resistance poses a threat to global public health. In this context, this experimental laboratory research, quantitative with non-probabilistic convenience sampling, aims to analyze the chemical composition and antibacterial activity of extracts of the rhizome of *Curcuma longa* (Turmeric) against *E. coli* and *Vibrio cholerae*. The rhizome extracts were obtained through the maceration method with 90% ethanol and the crushing technique to obtain the extract. Secondary metabolites were identified using specific reagents for each class. Analysis of antibacterial activity was performed using the disk diffusion method described by Kirby-Bauer. In the phytochemical analysis, Saponins, alkaloids and flavonoids were identified. The diameters of the inhibition halos for ethanolic extracts ranged from 6mm to 12mm and the unnatural form from 6mm to 13mm. The Mann-Whitney U test had $P=0.050$ indicating that there is no statistically significant difference between the inhibition zones and the concentrations tested for *Escherichia coli* and *Vibrio cholerae*. It is concluded that the secondary metabolites found are precursors of antibacterial activity.

Key words: Antibacterial activity, phytochemical analysis, *Curcuma longa L.*

INTRODUÇÃO

A resistência microbiana aos antibióticos é considerada como um conjunto de mecanismos de adaptação que faz com que o microrganismo resista a acção dos fármacos aos quais estão sendo



expostos (Bertoncheli et al., 2008; Nogueira et al., 2017). A resistência antibacteriana constitui uma das grandes ameaças que a saúde pública mundial tem enfrentado. Esta, tem sido crescente problema de saúde pública na actualidade, pois tem-se verificado infecções por bactérias resistentes muito comuns que se revelam graves e difíceis de tratar (Mahaluça 2019). Essa resistência trás consigo algumas implicações económicas, políticas e sociais bem como implicações nos cuidados hospitalares dos pacientes que se manifestam pelo aumento do índice de morbidade e mortalidade, do tempo de hospitalização e os custos associados, e o desgaste dos sistemas de saúde, (Méndez Álvarez, Angulo Ortíz, and Contreras Martínez 2016). Estimativas europeias indicam que o aumento da mortalidade causada por infecções bacterianas hospitalares resistentes ultrapassa 25 000 mortes por ano e julga-se que até 2050, a resistência microbiana pode causar uma morte a cada 3 segundos se até lá não for solucionada. Em Tailândia as infecções resistentes aos antibióticos afectam mais de 140.000 pessoas e reivindicam mais de 30 mil vidas por ano (Departamento *Farmacêutico*, 2017). A resistência ocorre quando microrganismos desenvolvem resistência aos antimicrobianos a que estão expostos (OECD, 2016)

A Organização Mundial da Saúde (OMS), numa das suas intervenções nos casos relacionados a resistência microbiana, recomendou e encorajou a colaboração entre os governos, as indústrias farmacêuticas e as instituições académicas (Universidades) para a pesquisa e desenvolvimento de novos medicamentos e vacinas (World Health Organization 2012).

Um estudo feito em Moçambique, no distrito da Manhica, sobre a resistência observou altas taxas de resistência das enterobactérias ao cloranfenicol (14-53%) e ampicilina (23-91%-96%) e cotrimoxazol (23-94%) excepto quinolonas e cefalosporinas de 3ª geração (Mabunda et al., 2015)



Em 2018 Mohapatra e seus colaboradores fizeram um estudo com o objectivo de mostrar algumas interacções medicamentosas com antibióticos cujos resultados revelaram altas taxas de resistência de *Enterococcus* spp a penicilina, gentamicina e ciprofloxacina o que constitui um grande problema, pois a combinação destes antibióticos tem um grande efeito sinérgico no tratamento das infecções agudas causadas por este microorganismo.(Mohapatra, Kafle, and Reddy n.d. 2018)

Esses estudos revelam que há falta de antibióticos eficientes para tratar as infecções que facilmente eram tratadas. Vários outros estudos feitos em diversos lugares do mundo tendem a associar a evolução da resistência microbiana a escassez de novos antibióticos o que deixa um alerta para se traçar novas estratégias para aliviar a escassez de novos antibióticos.

Propriedades farmacológicas das moléculas terpênicas e aromáticas da Cúrcuma

No mundo, vários estudos tem sido feitos utilizando plantas medicinais para se descobrir novos compostos ou princípios activos com propriedades antimicrobianas sendo que plantas medicinais actualmente conhecidas já faziam parte da prática medicinal das civilizações passadas. O homem antes da medicina convencional tinha as plantas como única alternativa para tratar as suas diversas enfermidades. As plantas não só eram utilizadas para tratamento de enfermidades que assolavam o homem.(Ribeiro *et al.*, 2018)

Moçambique dispõem de uma reserva significativa de plantas medicinais que constituem um valioso instrumento da medicina tradicional, utilizadas nas zonas rurais como principal fonte de medicamentos para os cuidados de saúde primários. A diversidade de plantas medicinais é usada por cerca de 90% da população do país, maioritariamente das zonas rurais para satisfazer as suas necessidades básicas como habitacionais, alimentares, energéticas e de saúde.(Senkoro *et al.*, 2013 e de Oliveira *et al.*, 2015)



A *Curcuma longa* (açafão-da-terra) é uma planta herbácea da família Zingiberácea, originária do sul da Índia e cultivada em todo mundo tropical e subtropical sendo encontrada também em países como Moçambique, em Brasil, Inglaterra, Europa, Ásia e algumas regiões da África oriental e ocidental. O pó dos rizomas desta espécie é utilizado na culinária como tempero, como corante natural de cor amarela-brilhante de alimentos, e no preparo de medicamentos. Também têm sido utilizados como repelente de insetos na Índia e no Paquistão e o pó é comumente misturada ao arroz para protegê-lo contra insetos nestes países. Em sua composição química, o principal constituinte é a curcumina, possuindo também óleo essencial de excelente qualidade técnica e organoléptica, (Pereira & Stringheta, 1998 e Monografia da espécie *Curcuma longa* L. 2015).

Em Moçambique e para os povos da região da África Oriental tem sido comercializado o açafão da Índia ou *Curcuma* (*Curcuma longa*, sin. *C. domestica* - *Zingiberaceae*) para fins de conferir cor amarelo vivo e o sabor picante aos apreciados pratos de caril ou para uso medicinal (Trindade, 2018). A parte mais usada em Moçambique tem sido o seu rizoma, e pode ser encontrado sendo comercializado nos principais mercados de Moçambique, juntamente com outros alimentos. O principal mercado de importação de açafão em Moçambique tem sido na Índia, em forma de pó (Trindade, 2018).

AC. longa tem sido amplamente utilizada para várias finalidades medicinais devido a seus efeitos Antioxidante, Anti-câncer, Antibacteriana, Antimicrobiana, Antifúngica, Inibição enzimática, Antiinflamatória, Anti-obesidade, Citotóxica, Tratamento da esquistossomose, Tratamento de Alzheimer, Anti-HIV, Antimutagênica, Anti-helmíntica, Anti-hipertensiva, Anti-psoríase, Imunoestimulante, Quimiopreventiva, Tratamento da fibrose hepática e Tratamento doenças de pele. (Saiz de Cos et al., 2015)



Estudo realizado em Brasil com objectivo de avaliar a actividade antimicrobiana da cúrcuma em pó disponível no comércio, dos pigmentos curcuminóides purificados e dos óleos essenciais da cúrcuma utilizando extractos Metanólicos e extractos de clorofórmio da *C. longa* verificou-se que o diâmetro de inibição dos extractos de clorofórmio variou entre 7-34 mm, enquanto o extracto de metanol variou entre 3-13 mm chegando a conclusão de que o rizoma de *Curcuma longa* pode ser utilizado para o tratamento de doenças causadas por *Staphylococcus sppas*, bem como *Streptococcus salivarius*. (Mbah-Omeje et al., 2019)

Fez-se um estudo em Paquistão com o objectivo de elucidar o perfil fenólico da *Curcuma longa* e determinar as actividades antioxidante e antidiabética *in vitro* do extracto etanólico e identificaram-se 15 compostos fenólicos chegando assim a conclusão de que o extracto etanólico de *Curcuma longa* é uma rica fonte de curcumina e contém várias substâncias fenólicas importantes. (Sabir et al. 2021). Publicou-se um estudo na *International Journal of Integrative Biology* cujo objectivo era de examinar a actividade antibacteriana da extracção sequenciada do hexano, diclorometano, acetato etílico, etanol, metanol e extracto aquoso do fruto de *Emblica officinalis*, *Punica granatum* e rizomas da *Curcuma longa* em varias concentrações contra *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* usando o método de agar disco difusão. No extracto etanólico observou-se presença de taninos, alcaloides, flavonoides e terpenoides e os máximos halos de inibição foram encontrados nos extractos etanólicos da *C. longa* e *E. officinalis*. (Uthayarasa et al., 2010)

Vários outros estudos realizados comprovaram a actividade que o extracto alcoólico dos rizomas de *C. longa* possui apresentando a sua eficácia como Antioxidante, Anticâncer, Antibacteriana Antimicrobiana, Antifúngica, Inibição enzimática, Anti-inflamatória que os rizomas actividade antimicrobiana dos extractos do rizoma da *C. longa* (Saiz de Cos et al., 2015), eficácia contra a *E. coli* e *A. Niger*, sendo que essa atividade aumentava em função do aumento da



concentração.(Rafael et al., 2015). Um estudo realizado por Jennings e Robin em 2020 mostrou que a curcumina pode actuar não apenas como um composto antifúngico e antibacteriano como referenciado acima, mas também como um composto antiviral, inibindo a replicação em uma ampla gama de vírus. Esse estudo aponta que a curcumina e seus análogos são capazes de inibir a replicação de um grupo diversificado de vírus RNA e DNA por meio de vários mecanismos. Dentre os vírus do tipo RNA que o açafrão tem actividade destaca-se: HIV, Zika, Chikungunya, Dengue, Estomatite Vesicular, Influenza A, Enterovirus 71, Vírus Sincicial Respiratório Humano e Nonovirus e vírus do tipo DNA: Vírus Herpes Simplex 2, Sarcoma de Kaposi associado a Herpesvírus e Adenovírus humano.

As principais características de Açafrão e classes de metabólitos secundários identificadas em espécies vegetais

Em algumas regiões de Moçambique, a espécie *C. longa* é denominada de *N'safrau*, Açafrão; em países da língua inglesa conhecida popularmente como "*turmeric*", em países orientais como China é conhecida como "*jiang huang*", em Paquistão como "haldi" e em Brasil é denominada "curcuma", "açafrão", "gengibre dourado" e açafrão da terra. A *C. longa* é uma planta herbácea cujo crescimento pode atingir até 1 m de altura e não exige tratamentos culturais especiais, desenvolvendo-se bem em diversas condições tropicais a temperaturas de 20 a 30°C. Seu ciclo vegetativo varia de sete a nove meses e propaga-se quando as suas raízes dividem-se gerando outras. As raízes são grossas e redondas compostas de um rizoma primário designado de bulbo central e os rizomas secundários designados por dedos. Tem flores amareladas e pequenas. Quando maduras as raízes, as folhas apresentam uma coloração amarelada (Pereira & Stringheta, 1998 e MonografiaCurcumaCPcorrigida.pdf n.d.)



As plantas representam uma fonte de bioativos para diversas patologias. Justifica-se essa fonte pelo facto das plantas serem capazes de sintetizar substâncias conhecidas como metabólitos secundários, com função de protecção contra predadores, atractores voláteis, fornecimento de cor às plantas e também desempenham actividades farmacológicas, como acção anti tumoral, anti-inflamatória, antioxidante, antibacteriana, antiparasitária e antiviral, (Bezerra et al., 2016). São esses metabólitos secundários responsáveis pela sobrevivência, adaptação e a propagação das espécies vegetais. As principais classes de metabolitos secundários identificadas em espécies vegetais são os compostos nitrogenados, compostos fenólicos e terpenóides, no qual são descritos abaixo (de Oliveira et al., 2015):

Flavonóides

Etimologicamente o termo flavonóides deriva do latino *flavus*, que significa amarelo. São compostos naturais que representam o maior grupo dos compostos fenólicos com mais de 2000 tipos conhecidos. A estrutura química é apresentada em C6-C3-C6. Ocorrem na natureza no estado livre ou como *O*-glicosídeos, embora exista um número considerável de *C*-glicosídeos. Terapeuticamente sua função não está ainda claramente esclarecida. O grupo é conhecido pelos seus efeitos anti-inflamatórios, antialérgicos e vaso-protectores, (Reyes, 2017).

Alcalóides

Os alcalóides são uma grande família de mais de 15.000 metabólitos secundários, que têm três características em comum: são solúveis em água, contêm pelo menos um átomo de nitrogénio na molécula e exibem actividade biológica. A maioria é heterocíclica, embora alguns sejam compostos nitrogenados alifáticos. Constituem um grupo heterogéneo de substâncias nitrogenadas, geralmente de origem vegetal, de carácter básico e que apresentam acentuada acção farmacológica em animais, (Nascimento et al, 2021).



Taninos

São metabolitos secundários frequentes em muitas espécies vegetais e com uma grande importância econômica. As plantas ricas em taninos são usadas para tratar diarreias, queimaduras, hipertensão, hemorragia, complicações gástricas e processos inflamatórios. Os taninos são responsáveis pela ação anti-inflamatórias e cicatrizantes, além de serem capaz de inibir o crescimento de alguns fungos, bactérias e vírus, (Wykowski, 2012).

Saponinas

Etimologicamente a palavra saponina deriva do latim *sapo* = sabão. São compostos não nitrogenados que se dissolvem em água diminuindo a tensão superficial da mesma. Os glicosídeos saponosídicos têm este nome devido ao facto de formarem espuma abundante quando agitados com água destilada. Têm gosto amargo e acre e os medicamentos que os contêm geralmente são irritantes para as mucosas. Apresentam ainda as propriedades de emulsionar óleos e de produzir hemólise, (Péret-Almeida et al, Araújo, 2008, 2015).

MÉTODOS

Amostragem

Utilizou-se uma amostragem não probabilística por conveniência para a obtenção da amostra vegetal e dos microorganismos. Os agentes infecciosos primários da diarreia em Moçambique incluem *E. coli*, *Salmonella* não-tifóide, *Shigella spp.*, e *V. cholerae*, sendo a *Salmonella* não-tifóide altamente prevalente em crianças e apresentando-se com bacteriemia, (Brown et al, 2015). Nesta pesquisa foram usadas as bactérias do género *Vibrio*: o *Vibrio cholerae* e bactéria da família das enterobactérias: a *Escherichia coli*.

Os microorganismos foram selecionados baseando-se na acessibilidade. A origem dos microorganismos foi de amostras clínicas. Os microorganismos selecionados foram: *Escherichia*



coli e *Vibrio cholerae* como dito anteriormente. Foram usadas como critérios de inclusão da planta: rizomas maduros, rizomas cujas folhas apresentavam-se amareladas, e rizomas frescos e os critérios de exclusão consideradas foram: plantações próximas aos esgotos, plantações próximas a zonas industriais e plantações próximas as estradas.

Matéria Vegetal

Os rizomas de *Curcuma longa* foram colhidos num dos campos agrícolas do distrito de Rapale na província de Nampula no mês de Março de 2020 no período da manhã. Rapale é um distrito que é delimitado ao oeste pelo distrito de Ribaué, a norte pelos distritos de Muecate e Mecubúri, a sul pelo distrito de Mogovolas, a sudoeste pelo distrito de Murrupula, e a leste pelo distrito de Meconta. Por se tratar de uma planta conhecida e única nas suas características, a identificação foi feita através de uma observação directa e pelas suas características como: ramificações laterais compridas; rizomas acinzentados externamente e amareladas internamente; entre outras características descritas na sua monografia (MonografiaCurcumaCPcorrigida.pdf n.d.). Depois transportou-se o material vegetal para o Laboratório de Etnobotânica e fitoquímica da Universidade Lúrio para o tratamento primário pela técnica de triagem e monda, que consistiu na remoção de todas as impurezas e separação das partes inúteis das úteis. As partes úteis foram de seguida lavadas com água destilada, cortadas em rodela e submetidas a secagem na estufa de circulação forçada de ar durante 48h numa de $65 \pm 2^\circ\text{C}$ no Centro de Estudos Interdisciplinares da Lúrio. (Pereira and Stringheta 1998) E posteriormente foram trituradas as fatias dos rizomas submetidos a secagem. O material resultante (pó decurcuma) foi peneirado em peneira de 35 mesh e acondicionado em frascos de vidro hermeticamente fechados e posteriormente armazenado em um lugar fresco e seco no laboratório de Etnobotânica e fitoquímica (Silva Filho et al. 2009)



Obtenção do Extracto e das concentrações

A preparação do extracto vegetal foi realizada no laboratório de etnobotânica e fitoquímica da Faculdade de ciências de saúde no campus da Universidade Lúrio, localizada no bairro de Marrere, cidade de Nampula. Através do método de maceração e esmagamento do rizoma *in natural*. Na obtenção do extracto etanólico, 100 mg do pó dos rizomas de *C. longa* foram deixados em contacto com 600 mL de etanol a 90% na proporção de 1:6. Depois de 14 dias o macerado foi filtrado com auxílio de um papel de filtro e concentrado num evaporador rotatório a pressão reduzida a temperatura de 45°C. Assim obteve-se o extracto etanólico. (Pereira and Stringheta 1998). As concentrações 20mg/ml, 30mg/ml e 40mg foram obtidas a partir da diluição fraccionada das concentrações de 80mg, 120mg e 160mg respectivamente em um recipiente contendo 4ml do solvente extractor.

Este método foi utilizado para a obtenção da forma *in natural* do rizoma de açafrão-da-terra. Cortaram-se os rizomas do açafrão ainda frescos numa quantidade de 40g e foram submetidos a esmagamento com auxílio de um liquidificador (Modelo: EM-BL-1356) com 20ml de água destilada adicionados. Espremeu-se o líquido resultante, com auxílio de um papel de filtro, para num recipiente que posteriormente foi conservado a 8°C e distante do abrigo da luz solar.

Análise Fitoquímica

O extracto seco dos rizomas da *C. longa* foram submetidas às análises fitoquímicas, para a identificação dos metabólitos secundários tais como: saponinas, alcalóides, flavonóides e taninos. Os metabólitos foram identificados utilizando-se os reagentes específicos disponíveis no laboratório.

Para a identificação de saponinas: utilizou-se a técnica de formação de espuma a partir da adição de 2ml de extracto etanólico em seguida adicionou-se 5ml de água destilada e agitou-se



vigorosamente por 3 minutos e deixou-se em repouso por 20 minutos. A presença de saponinas foi indicada pela existência de espuma persistente e abundante que durou mais de 15 min. (Zucula., 2011 e Cuamba, 2014)

Para a identificação de tanino usou-se o método de reacção com metais pesados. Adicionou-se, Adicionou-se em um tubo de ensaio 1ml de extracto bruto na proporção de 1:2 em seguida adicionou-se 2 gotas de acetato de chumbo à 10%. Para a presença de taninos e fenóis no extracto esperou-se a formação de um precipitado castanho avermelhado e denso. (Zucula., 2011 e Cuamba, 2014)

Para a identificação de flavonóides utilizou-se a técnica de reacção com cloreto de alumínio. Adicionou-se 2ml de água destilada em um tubo de ensaio contendo 0,5ml do extracto etanólico eem seguida uma gota do cloreto férrico a 2% pela parede do tubo. O desenvolvimento de cor quevaria entre verde, amarelo-castanho e violeta evidenciaria a presença de flavonoides ou reacção positiva. (Zucula., 2011 e Cuamba, 2014)

Para a identificação de alcalóides utilizou-se o reactivo de *bouchardat* para a identificação de alcaloide. Adicionou-se 1ml do extrato etanólico em 1ml de solução de acido clorídrico (*HCl*) à 5%, e adicionou-se 3 a 5 gotas do reactivo de *bouchardat*. A presença de um Precipitado laranja avermelhado indicaria um resultado positivo. (Zucula., 2011 e Cuamba, 2014)

Análise da Atividade Antibacteriana

A análise da actividade antimicrobiana foi realizada no laboratório de microbiologia do Centro Médico da Universidade Lúrio. Inóculos bacterianos testados foram *Escherichia coli* e *Vibrio cholerae* obtidos das amostras clínicas do Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Central de Nampula.



A análise da actividade antibacteriana do extracto etanólico e a forma *in natural* dos rizomas da *C. longa* foi realizada através do método de disco difusão segundo Kirby-Bauer. (Alaa Kamal Omar 2020) As cepas utilizadas para o estudo foram obtidos das amostras clínicas de fezes e urina colhidas no HCN. Preparou-se a suspensão contendo as amostras de fezes e urina com NaCl a 0,9%, com densidade próxima a escala padrão nº 0,5 de Mac Farland. Depois pela técnica de estria de lençol fez-se a sementeira da suspensão em ágar Muller Hington. As placas foram encubadas durante 24h na estufa a temperatura de 37°C. (Méndez Álvarez, Angulo Ortíz, and Contreras Martínez 2016) Depois de encubadas as placas fez-se o teste de bioquímica para a identificação das bactérias. As bactérias foram transportadas para o laboratório de microbiologia na universidade Lúrio. Em seguida, fez-se a impregnação, em triplicata, dos discos de papel defiltro de 0,4cm de diâmetro nas concentrações de 20mg/ml, 30mg/ml, 40mg/ml e 90mg/ml do extracto etanólico e o extracto *in natural* dos rizomas da *Curcuma longa*. Para controlo positivo foram utilizados os antibióticos Gentamicina e Ceftriaxona por causa do seu uso no Sistema Nacional de Saúde (SNS) e pela disponibilidade no laboratório. Para teste controlo negativo, foram utilizados discos impregnados somente com o solvente etanol a 90% e a água destilada. A seguir, os discos foram colocados no ágar Muller Hington depois de inoculadas as bactérias em estudo, distanciados de 2cm entre eles, como recomendado pela Clinical and Laboratory Standards Institute – CLSI, e incubadas na estufa, durante 24 horas à 37°C. Após a incubação, fez-se a determinação dos diâmetros dos halos em milímetros com ajuda do parquímetro. (Majolo et al. 2014)

Análise de Dados

Os dados foram analisados nos programas SPSS v. 20 para análise da normalidade, cálculo e comparação das médias em função da actividade dos extractos e em função do halo de inibição dos microorganismos. Utilizou-se o teste de Shapiro-Wilk para verificar a distribuição normal



dos dados e o teste não paramétrico teste U de Mann-Whitney para verificar a existência de diferença entre os grupos independentes (Margotto, 2012).

RESULTADOS

Na análise fitoquímica, identificou-se alcalóides, flavonóides e saponinas. Porém teve-se um resultado negativo para os taninos (tabela 1).

Tabela 1: classes de metabólitos secundários identificados no extracto etanólico dos rizomas da *C. longa*.

Metabolitos	Técnica	Resultados	
		Extracto etanólico	Branco
Alcalóides	Reactivo de <i>bouchardat</i>	+	-
Flavonóides	Cloreto de alumínio	+	-
Saponinas	Formação de espuma	+	-
Taninos	Metais pesados	-	-

Notas: (-) ausente; e (+) presente

Majolo et al (2014), fez também um estudo fitoquímico voltado a identificação dos constituintes químicos do óleo essencial de *Curcuma longa* e pode observar vários outros constituintes químicos com importância científica. Sabir SM et al (2021), elaborou um estudo cujo objectivo de elucidar o perfil fenólico da *Curcuma longa* e determinar as actividades antioxidante e antidiabética *in vitro*. O estudo foi capaz de identificar 15 compostos fenólicos chegando assim a conclusão de que o extrato etanólico de *Curcuma longa* é uma rica fonte de curcumina e contém várias substâncias fenólicas importantes, (Uthayarasa et al 2010), realizaram análise fitoquímica



de vários extractos da *Curcuma longa*. No extracto etanólico observou-se presença de taninos, alcaloides, flavonoides e terpenoides.

Os resultados da análise antibacteriana do extracto *in natural*, mostraram diâmetros de halo de inibição que variaram entre 6,5 a 10 mm para as concentrações de 90 mg/mL e 40 mg/mL, respectivamente. (tabela 2).

Tabela 2 – Concentrações do extrato *in natural* da *Curcuma longa* e os diâmetros dos halos de inibição frente a *V. cholerae* e *E. coli*

Concentração		Diâmetro dos halos de inibição em mm	
		<i>E. coli</i>	<i>V. cholerae</i>
EB	90mg/mL	8,33±2,05	6,50±0,50
C1	20mg/mL	7,00±0,0	6,66±0,47
C2	30mg/mL	7,66±0,467	7,00±0,816
C3	40mg/mL	10,00±2,44	9,50±0,50
CP	30µg	15,66±6,12	-
CN	4ml	-	-

Nota: (CP) controlo Positivo com Ceftriaxona; (CN) Controlo Negativo com o solvente; (-) sem halo de inibição; (±) desvio padrão;

Os resultados da análise antibacteriana para o extracto *in natural* exibiram diâmetros de halo de inibição que variaram entre 6,50mm a 10mm para as concentrações de 20mg/mL, 30mg/mL, 40mg/mL e 4mg do extracto bruto. Verificou-se que tanto para o *V. cholerae* e o *E. coli* o diâmetro do halo de inibição tende a aumentar com o aumento da concentração do extracto. O controlo (Ceftriaxona 30µg) usado para *E. coli* foi resistente e nem sensível, mas intermediário apresentando um halo de inibição de 15,66±6,12. (CLSI., 2016) Toda via o mesmo antibiótico



usado para controlo em *Vibrio cholerae* mostrou-se resistente sem nenhum halo de inibição detectável.

Os resultados da análise antibacteriana do extracto etanólico, mostraram diâmetros de halo de inibição que variaram entre 6,0 a 8,33 mm para as concentrações de 90 mg/mL e 40 mg/mL, respectivamente. (tabela 3).

Tabela 3 – Concentrações do extracto etanólico da *Curcuma longa* e os diâmetros dos halos de inibição frente a *Vibrio cholerae* e *E. coli*

Concentração		Diâmetro dos halos de inibição em mm	
		<i>E. coli</i>	<i>V. cholerae</i>
EB	90mg/mL	-	6,00±0,00
C1	20mg/mL	6,50±0,50	6,50±0,50
C2	30mg/mL	7,00±0,816	8,00±1,63
C3	40mg/mL	8,33±2,62	6,00±0,00
CP	10µg	-	-
CN	4ml	-	-

Nota: (CP) controlo Positivo com Gentamicina; (CN) Controlo Negativo com o solvente; (-) sem halo de inibição; (±) desvio padrão;

Os resultados da análise antibacteriana para o extracto etanólico exibiram diâmetros de halo de inibição que variaram entre 6 a 8mm. Verificou-se que para a *E. coli* o extracto bruto não teve nenhuma actividade. Verificou-se que a actividade inibitória aumentava com o aumento da concentração do extracto para a *E. coli* porem para o *V. cholerae* a actividade do extracto etanólico mantem-se quase constante. O controlo (Gentamicina 10µg) usado não apresentou halo de inibição detetável tanto para *E. coli* como para *V. cholerae* sendo assim resistido. Realizou-se o teste de Shapiro- Wilk para se verificar a distribuição normal das concentrações em função ao



halo formado e teve-se $P=0,024$ indicando que os dados não obedecem a distribuição normal. Assim sendo, realizou-se o teste não paramétrico teste U de Mann-Whitney para verificar a existência de diferença entre os grupos independentes e verificou-se que o valor do P foi de 0,50 um valor maior que 0,05 e significativo que leva a concluir-se que não existe relação entre as variáveis concentração e halo de inibição a um nível de significância de 5% aceitando-se assim a hipótese nula.

DISCUSSÃO

Como os resultados da análise antibacteriana para o extracto *in natural* exibiram diâmetros de halo de inibição que variaram entre 6,50mm a 10mm para as concentrações de 20mg/mL, 30mg/mL, 40mg/mL e 4mg do extracto bruto, sub ponto de vista de Albuquerque e colaboradores (2017) consideram como actividade inibitória os halos com diâmetro ≥ 7 mm para o teste de difusão em disco, pode-se afirmar que a *E. coli* foi sensível a todas as concentrações do extracto *in natural* e no extracto etanólico a sua sensibilidade parte da concentração 20mg/mL; ao passo que a sensibilidade do *V. cholerae* varia a partir da concentração 30mg/mL para o extracto *in natural*.

Ribeiro et al (2010) consideram como actividade inibitória os halos com diâmetro ≥ 8 mm e por outro lado, Araújo e os seus colaboradores (2015) classificam como resistente os extractos de uma planta quando o halo de inibição dos microorganismos for <8 mm e em sensível quando o diâmetro for ≥ 9 mm. Partindo dessa abordagem, pode-se dizer que as bactérias foram sensíveis ao extracto *in natural* apenas na concentração 40mg/mL e o restante das concentrações dos extractos se revelaram resistente.



Os resultados acima entram em contradição com os achados dos autores Rafael Gonçalves (2015) que fizeram estudos com a *Curcuma longa* utilizando cepas de *Escherichia coli* e *Staphylococcus simulans*. Estes autores não encontraram nenhum halo de inibição formado tendo assim, a conclusão que vários factores tais como a concentração usada no estudo, a composição química do óleo essencial do açafrão, a interação e concentração dos seus compostos podem ter influenciado no efeito antimicrobiano.

Contradizendo com os resultados obtidos por Rafael Gonçalves e os seus colaboradores, Péret-Almeida et al, realizou um estudo com os extractos etanólicos e o óleo essencial da *Curcuma longa* no qual constatou-se que os extractos etanólicos não apresentaram actividade frente as bactérias *Salmonella choleraesuis*, *E. coli*, *Candida albicans*; porém o óleo essencial da *Curcuma longa* apresentou actividade antimicrobiana para a *E. coli*, *A. Niger*, (etc), sendo que essa actividade aumentava em função do aumento da concentração. (Péret-Almeida et al. 2008)

Mbah-Omeje et al (2019) realizaram um estudo utilizando extractos Metanólicos e extractos de clorofórmio da *Curcuma longa* e verificaram que o diâmetro de inibição dos extractos de clorofórmio variou entre 7-34 mm, enquanto o extracto de metanol variou entre 3-13 mm chegando a conclusão de que o rizoma de *Curcuma longa* pode ser utilizado para o tratamento de doenças causadas por *Staphylococcus sppas*, bem como *Streptococcus salivarius*.

A fraca inibição do crescimento antimicrobiano verificado neste estudo pode estar relacionado a vários factores decisivos tais como o tempo de colheita, o pH do solo onde se obteve o rizoma; o solvente utilizado para a obtenção do extracto bem como as concentrações usadas.

CONCLUSÃO

Os extractos etanólico e *in natural* da *Curcuma longa L.* contem metabolitos secundários tais como



Saponinas, alcalóides e flavonóides, e apresentaram actividade antibacteriana quando testados contra *E. coli* e *V. cholerae*. Em relação aos dois extractos, o extracto etanólico apresentou mais actividade *in vitro* que o extracto *in natural*. Não se observou diferença estatisticamente significativa entre os halos de inibição e as concentrações testadas para *E. coli* e *V. cholerae*.

Limitações do estudo

- Falta de recurso financeiro;
- Falta de reagentes;
- Acesso limitado aos laboratórios;
- Limitação em encontrar estudos similares realizados em África;
- Material limitado para estudo microbiológico como discos de papel de filtro, meios de cultura.

Sugestões

- Realização estudo de utilização da *Curcuma longa* na comunidade;

REFERÊNCIAS

“Alaa Kamal Omar. STANDARD OPERATING PROCEDURE FOR ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY TESTING USING KIRBY-BAUER DISK DIFFUSION METHOD. High Institute of Public Health Department of Microbiology. Page:1 of 15. 2020.”

“BEZERRA, José Weverton Almeida, et al. POTENCIAL MEDICINAL DE Lantana Camara L. (VERBENACEAE): UMA REVISÃO. Cadernos de Cultura e Ciência, v.15, n.1, Out, 2016, (82-92). Disponível Em: [Http://Periodicos.Urca.Br/Ojs/Index.Php/Cadernos/Article/View/1079](http://Periodicos.Urca.Br/Ojs/Index.Php/Cadernos/Article/View/1079).”

“CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 26th Ed. CLSI Supplement M100S. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute: 2016.”



de Cos, Paula Saiz. “Cúrcuma I (Curcuma longa L.)” : 16.

“CUAMBA, Fernando Ângelo. Avaliação Da Actividade Antimicrobiana Dos Extractos Das Raízes e Folhas de Combretum Molle. Monografia (Licenciatura Em Química), Universidade Eduardo Mondlane, Maputo, 2014. Disponível Em: [Http://Monografias.Uem.Mz/Handle/123456789/894](http://Monografias.Uem.Mz/Handle/123456789/894). Acesso Em: 14/04/2021.”

“Departamento Farmacêutico . Workshop Sobre o Papel Das Universidades No Combate a Resistência Antimicrobiana. Maputo, Novembro de 2017.”

“Mabunda R, Garrine M, Vubil D, Nhampossa T, Acácio S, Monteiro L et al. Susceptibilidade Antimicrobiana de Enteropatógenos Bacterianos Isolados Em Crianças Menores de 5 Anos Com e Sem Diarreia No Distrito de Manhica Entre Dezembro-2007 e Novembro-2012. Centro de Investigação Em Saúde de Manhica (CISM). Livro de Resumos | XV Jornadas de Saúde. 2015.”

Mahaluça, Filipe. 2019. “PERFIL DA RESISTÊNCIA ANTIBACTERIANA NA UNIDADE DE CUIDADOS INTENSIVOS PEDIÁTRICOS E CUIDADOS INTERMÉDIOS DOS ADULTOS DO HOSPITAL CENTRAL DE MAPUTO.” <http://rgdoi.net/10.13140/RG.2.2.27710.95041> (September 15, 2022).

Majolo, C., V.P. Nascimento, E.C. Chagas, and F.C.M. Chaves. 2014. “Atividade antimicrobiana do óleo essencial de rizomas de açafrão (Curcuma longa L.) e gengibre (Zingiber officinale Roscoe) frente a salmonelas entéricas isoladas de frango resfriado.” *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais* 16(3): 505–12.

“Mbah-Omeje, Kelechi Nkechinyere. In Vitro Study on the Antimicrobial Activity of Curcuma Longa Rhizome on Some Microorganism. American Journal of Biomedical and Life Sciences. Vol. 7, No. 1, 2019, Pp. 1-5. Doi: 10.11648/j.Ajbls.20190701.11.”

Méndez Álvarez, Nelson, Alberto Angulo Ortiz, and Orfa Contreras Martínez. 2016. “Actividad antibacteriana in vitro de Curcuma longa (Zingiberaceae) frente a bacterias nosocomiales en Montería, Colombia.” *Revista de Biología Tropical* 64(3). <http://revistas.ucr.ac.cr/index.php/rbt/article/view/20848> (January 9, 2021).

Mohapatra, Sushree Sangita, Arjun Kafle, and Indrapal Reddy. “Drug Interactions with Antibiotics.” *International Journal of Chemical Studies*: 4.



- “MonografiaCurcumaCPcorrigida.Pdf.” <https://www.gov.br/saude/pt-br/composicao/sctie/daf/pnmpf/ppnmpf/arquivos/2016/MonografiaCurcumaCPcorrigida.pdf> (September 15, 2022).
- “Organisation for Economic Co-Operation and Development. Antimicrobial Resistance. OECD 2016.”
- “Organização: Ministério Da Saúde e Anvisa. Monografia Da Especie Curcuma Longa L. (Curcuma). Brasilia 2015;158.”
- Pereira, Albano S, and Paulo C Stringheta. 1998. “Considerações Sobre a Cultura e Processamento Do Açafrão.” *Horticultura Brasileira* 16(2): 102–5.
- Péret-Almeida, Lúcia et al. 2008. “Atividade Antimicrobiana in Vitro Do Rizoma Em Pó, Dos Pigmentos Curcuminóides e Dos Óleos e Dos Essenciais Da Curcuma Longa L.” *Ciência e agrotecnologia* 32(3): 875–81.
- “Rafael Gonçalves Machado De Araújo, Dwight Assis, Susy Ricardo Lemes, Paulo Roberto De Melo-Reis, Lilhian Alves Dearáújo, Eduardo Silva De Paiva, Cláudio Braz Da Silva. Estudo De Caso: Avaliação Da Atividadeantimicrobiana do Óleo Essencialdo Açafrão (Curcuma Longa). Estudos, Goiânia, v. 42, n. 4, p. 425-431, out/Dez. 2015.”
- “Ribeiro A, Romeiras MM, Tavares J, Faria MT. Ethnobotanical Survey in Canhane Village, District of Massingir, Mozambique: Medicinal Plants and Traditional Knowledge. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine* 2010, 6:33. Disponível Em: <https://Ethnobiomed.Biomedcentral.Com/Track/Pdf/10.1186/1746-4269-6-33> Acess. 11-04-2018; 16:43.”
- Sabir, S.M. et al. 2021. “Phytochemical Analysis and Biological Activities of Ethanolic Extract of Curcuma Longa Rhizome.” *Brazilian Journal of Biology* 81(3): 737–40.
- “Senkoro A, Barbosa F, Da Silva AF, Manjate A, Vando M, Samuel S, et al. Estudo e Conservação de Plantas Medicinais Em Moçambique. Instituto de Investigação Científica Tropical, Lisboa, 2013.”
- Silva Filho, Carlos R. M. da et al. 2009. “Avaliação da bioatividade dos extratos de cúrcuma (Curcuma longa L., Zingiberaceae) em Artemia salina e Biomphalaria glabrata.” *Revista Brasileira de Farmacognosia* 19(4).



http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-695X2009000600022&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt (January 9, 2021).

“Uthayarasa K, Pathmanathan K, Jeyadevan JP, Jeyaseelan EC. Antibacterial Activity and Qualitative Phytochemical Analysis of Medicinal Plant Extracts Obtained by Sequential Extraction Method. *International Journal of Integrative Biology*. 2010; 10(2): 76-81.”

World Health Organization. 2012. “A Crescente Ameaça Da Resistência Antimicrobiana-Opções de Ação.” *Genebra: World Health Organization*.

“ZUCULA, Cremildo Vitorino. Avaliação in Vitro Da Actividade Antifúngica de Extractos de Plantas No Controlo de Fitopatógenos. Monografia (Licenciatura Em Química), Universidade Eduardo Mondlane, Maputo, 2011. Disponível Em: <Http://Monografias.Uem.Mz/Handle/123456789/829>.”

Reyes ER e Castro JMM (2017). Metabólitos secundários en plantas medicinales usadas para problemas gastrointestinales. Una revisión sobre medicina ancestral Ecuatoriana. *Revista Base de la ciência* Vol. 2, No 3 (1-16).

Nascimento IJR, de Jesus HS, de Oliveira Alvim HG (2021). Uso dos Taninos provenientes do Barbatimão para cicatrização de Ferimentos. *Rev JRG Estud Acadêmicos*, 4(8):201–12

Wykowski R. Saponinas (2012). Uma Promessa Da Ciência Contra O Câncer. *J Chem Inf Model*, 53(9):1689–99.

Péret-Almeida L, Naghetini C da C, Nunan E de A, Junqueira RG, Glória MBA (2008). Atividade antimicrobiana in vitro do rizoma em pó, dos pigmentos curcuminóides e dos óleos e dos essenciais da *Curcuma longa* L. *Ciênc E Agrotecnologia*, 32(3):875–81.

Departamento Farmacêutico (2017). Workshop sobre o papel das Universidades no combate a Resistência antimicrobiana. Maputo.

Antônio, et. al. (2023).



Araújo RGM, Assis D, Lemes SR, Reis PRM, Araújo LL, Paiva ES, Silva CB (2015). Estudo de caso: avaliação da atividade antimicrobiana do óleo essencial do açafrão (*curcuma longa*). Estudos, goiânia, v. 42, n. 4, p. 425-431, out/dez.

Trindade, PCM (2018). Estudo de viabilidade da criação de uma empresa de produção de Açafrão (*Crocus sativus L.*) em modo de produção biológico. Dissertação [Mestrado em Agricultura Sustentável]- Instituto Politécnico de Portalegre.

Jennings, Morgan R., and Robin J. Parks (2020). Curcumin as an Antiviral Agent: *Viruses* 12, no. 11: 1242. <https://doi.org/10.3390/v12111242>