
INFLUÊNCIA DO BINÔMIO TEMPO/TEMPERATURA NA ATIVIDADE BACTERICIDA DO EXTRATO AQUOSO DE *Moringa oleifera* LAM.

João Paulo Gomes de Sousa¹, Carolini Esmeriz da Rosa², Daiane Evelin dos Santos Assunção³, Ed Carlo Paiva Rosa⁴, Jupyracyara Jandyra de Carvalho Barros⁵

RESUMO

A estabilidade da atividade antimicrobiana do extrato aquoso da semente de *Moringa oleifera* Lam, em relação ao tempo/temperatura, foi testada a partir da técnica de difusão em disco nas espécies *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 e *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Os extratos foram colocados em quatro temperaturas diferentes (8 °C, 25 °C, 37 °C e 42 °C) e monitorados no tempo zero, três dias, sete dias e dez dias e a única bactéria susceptível a eles foi a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (halo de inibição > 13 mm). O aumento no volume do extrato não levou ao aumento da efetividade no controle de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. A partir de três dias, foi observado decréscimo na atividade do extrato, no que se refere à ação bactericida. A temperatura não influenciou o tamanho dos halos de inibição, porém os extratos mantidos a 8 °C tiveram seu efeito inibidor mantido por maior período de tempo. Os resultados deste estudo indicaram o potencial de aplicação do extrato da semente de *Moringa oleifera* Lam. como uma alternativa interessante na conservação de alimentos.

Palavras-chave: estabilidade térmica, conservação de alimentos, *Staphylococcus aureus*

ABSTRACT

BINOMIAL INFLUENCE TIME / TEMPERATURE ON THE BACTERICIDA ACTIVITY OF AQUEOUS EXTRACT OF *Moringa oleifera* LAM.

The stability of the antimicrobial activity of an aqueous extract of *Moringa oleifera* Lam. seed versus time / temperature was assayed from the disk diffusion method on the *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 species. The extracts were placed at four different temperatures (8 °C, 25 °C, 37 °C and 42 °C) and monitored at time zero three days, seven days and ten days. The single bacterium was susceptible *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (inhibition zone > 13 mm). The increase extract volume did not lead to increased effectiveness *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 control. From three-day decrease in the extract bactericidal activity was observed. The temperature does not influence the size of the (inhibition zone, though the extracts kept at 8 °C maintained their inhibitory effect longer. The results of this study indicate the potential application of the seed extract of *Moringa oleifera* Lam. as an interesting alternative to agriculture, such as in food preservation.

Keywords: thermal stability, food preservation, *Staphylococcus aureus*.

Recebido para publicação em 06/03/2015. Aprovado em 27/04/2016.

- 1 - Bacharel em Ciências Biológicas, UFG/Regional Catalão, jotapgomes_26@hotmail.com
- 2 - Bacharel em Ciências Biológicas, UFG/Regional Catalão, caroliniesmeriz@hotmail.com
- 3 - Bacharel em Ciências Biológicas, UFG/Regional Catalão, evelin_daiane@hotmail.com
- 4 - Engenheiro Civil, Professor da UFG/Regional Catalão, edcarlopaiva@yahoo.com.br
- 5 - Bióloga, Professora da UFG/Regional Catalão, jupyscarros@ufg.br

INTRODUÇÃO

A aplicação de espécies vegetais no controle de patógenos microbianos em detrimento de antimicrobianos convencionais é importante à saúde pública, pois tende a impedir a proliferação de patógenos resistentes (ONUOHA; ALISA, 2013; ONSARE; KAUR; ARORA, 2013).

Dentre os diversos cultivares com propriedade antimicrobiana destaca-se a *Moringa oleifera* Lam. (JABEEN et al., 2008; NWAIWU; LINGMU, 2011; ONUOHA; ALISA, 2013), capaz de suportar as diferenças edafo-climáticas do Brasil (LO MÔNACO et al., 2010, RAMOS et al., 2010; VIEIRA et al., 2010; PEIXOTO et al., 2011)

Pesquisadores têm investido na prospecção de sementes de *Moringa oleifera* Lam. como alternativa promissora e de baixo custo para reduzir e/ou eliminar micro-organismos indesejáveis sob o ponto de vista ambiental (Nwaiwu; Lingmu, 2011; ALO; ANYIM; ELON, 2012), alimentar (SHARAF et al., 2009; VIEIRA et al., 2010) e/ou clínico (RAHMAN et al., 2010; ABALAKA et al., 2012).

Segundo Gallão et al. (2006), na massa interior das sementes de *Moringa oleifera* Lam., podem ser detectadas substâncias com perfil antimicrobiano, como glicosídeos moringina e 4-(α -L-ramnosilori)-isotiocianato de benzila e 4-(α -L-ramnosilori)-fenil-acetonitrila (EILERT; WOLTERS; NAHRSTEDT, 1981).

Nos ensaios de antagonismo *in vitro*, empregando extratos *Moringa oleifera* Lam., não há parâmetro mínimo para os halos de inibição (JABEEN et al., 2008; NEPOLEAN; ANITHA; RENITTA, 2009; BUKAR; UBA; OYEYI, 2010; THILZA et al., 2010; SAADABI; ZAID, 2011); a sensibilidade no micro-organismo teste é evidenciada apenas pela presença da zona inibitória. Estudos realizados por Bukar, Uba e Oyeyi (2010) revelaram a ação inibitória de extrato etanólico de sementes de *Moringa oleifera* Lam. em *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*, sendo observados halos de inibição iguais a 8 mm, 11 mm e 6 mm, respectivamente.

Vieira et al. (2010), ao analisarem as propriedades antimicrobianas do extrato aquoso e etanólico de sementes de *M. oleifera* Lam.,

consideraram halos de inibição com diâmetro superior a 13 mm ($\phi > 13$ mm) representativos da sensibilidade do patógeno ao extrato vegetal em questão. Neste estudo, zonas inibitórias iguais a 27 mm e 28 mm foram evidenciados para *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, nessa ordem.

Saadabi e Zaid (2011) observaram que extratos metanólicos e aquosos de sementes da *Moringa oleifera* Lam. foram capazes de inibir *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*. Para o extrato metanólico, foram obtidos halos de 12 mm, 17 mm e 13 mm, para *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*, respectivamente, e para o extrato aquoso os halos foram de 22 mm, 48 mm e 25 mm na mesma ordem.

A atividade antimicrobiana *in vitro* de sementes da *M. oleifera* também foi observada quando utilizado extrato aquoso (VIEIRA et al., 2010; SAADABI; ZAID, 2011). Vieira et al. (2010), ao avaliarem 50 μ L [10 mg da semente (0,05%)], 100 μ L [20 mg da semente (0,10%)], 150 μ L [30 mg da semente (0,15%)] e 200 μ L [10 mg da semente (0,20%)] a partir do extrato aquoso de *Moringa oleifera* Lam. [30 gramas da semente: 150 mL de água destilada; (1:5)], verificaram que a atividade antimicrobiana foi proporcional ao acréscimo do volume do extrato. Neste estudo, *Escherichia coli* foi sensível a todos os tratamentos; 0,05% ($\phi=16$ mm), 0,10% ($\phi=17$ mm), 0,15% ($\phi=20$ mm) e 0,20% ($\phi=23$ mm); o mesmo foi observado para *Staphylococcus aureus*; o menor halo de inibição foi observado para 0,05% ($\phi=19$ mm).

Os dados reportados acima demonstram a efetividade do extrato obtido da semente de *Moringa oleifera* Lam. na inibição de micro-organismos (ALO; ANYIM; ELOM, 2012), impedindo a formação de resíduos e surgimento de cepas resistentes. Todavia, é necessário certificar a termoestabilidade do caráter antimicrobiano durante o acondicionamento do extrato. Katayon et al. (2004) verificaram que o extrato aquoso de sementes da *Moringa oleifera* Lam. manteve-se estável à temperatura de 3 °C, ao longo dos cinco dias de armazenamento. Mesmo diante dessa afirmação, ainda são escassas informações sobre a estabilidade dos extratos de moringa, sendo essas informações essenciais para determinar

a viabilidade de sua aplicação. Desse modo, o presente estudo teve como objetivo verificar a estabilidade do extrato aquoso de *Moringa oleifera* Lam. em relação ao binômio tempo/temperatura.

MATERIAL E MÉTODOS

Os ensaios *in vitro* da prospecção do extrato bruto de *Moringa oleifera* Lam., frente aos micro-organismos *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 e *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, seguiram as etapas apresentadas na Figura 1.

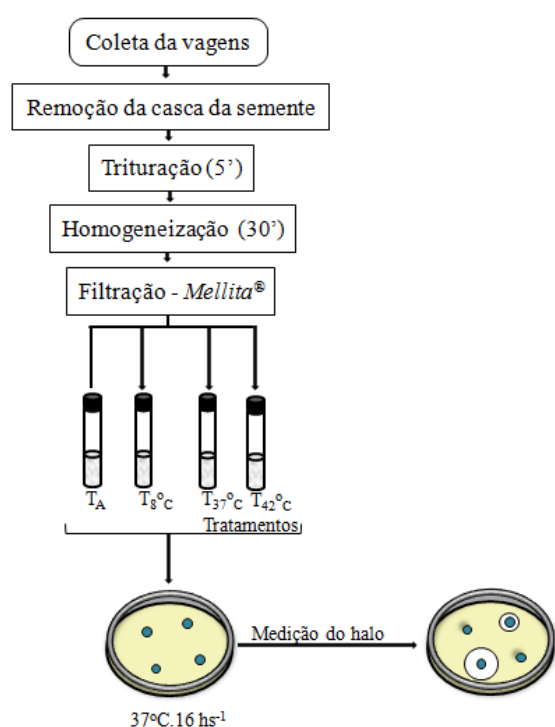


Figura 1. Fluxograma das etapas envolvidas nos ensaios *in vitro* da atividade antimicrobiana de *Moringa oleifera* em técnica de disco difusão ($T_A = 25\text{ }^\circ\text{C}$: Extrato *Moringa oleifera* Lam. mantido em temperatura ambiente; $T_{8\text{ }^\circ\text{C}}$: Extrato *Moringa oleifera* Lam. submetido ao tratamento térmico de $8\text{ }^\circ\text{C}$; $T_{37\text{ }^\circ\text{C}}$: Extrato *Moringa oleifera* Lam. submetido ao tratamento térmico de $37\text{ }^\circ\text{C}$; $T_{42\text{ }^\circ\text{C}}$: Extrato *Moringa oleifera* Lam. submetido ao tratamento térmico de $42\text{ }^\circ\text{C}$).

A espécie vegetal utilizada nesta pesquisa foi obtida na região do Cerrado goiano. Apenas as vagens devidamente preservadas foram recolhidas e transportadas em sacos plásticos ao Laboratório de Bioquímica e Microbiologia da Universidade Federal de Goiás, Regional Catalão (LABIM/UFG-CAC).

Sob uma bancada, descontaminada, as vagens foram cuidadosamente abertas e as sementes retiradas. A parte alada da semente foi removida e a massa branca acondicionada em frascos isentos de sujidades, para posterior trituração em liquidificador de uso doméstico.

Para o preparo do extrato de *Moringa oleifera* Lam., adotou-se o protocolo proposto por Vieira et al. (2010). Assim, em 150 mL de água destilada foram adicionadas 30 gramas da semente de *Moringa oleifera* Lam. (1:5), seguida da homogeneização constante durante 30 minutos em temperatura ambiente ($T_A = 25\text{ }^\circ\text{C}$). Em seguida, filtrou-se esse homogenato em papel filtro *Mellitta*[®] - n.º. 103. Posteriormente, esse filtrado foi dividido em tubos de ensaios e mantido em repouso em temperatura ambiente ($T_A = 25\text{ }^\circ\text{C}$), e também nas temperaturas de $8\text{ }^\circ\text{C}$ ($T_{8\text{ }^\circ\text{C}}$), $37\text{ }^\circ\text{C}$ ($T_{37\text{ }^\circ\text{C}}$) e $42\text{ }^\circ\text{C}$ ($T_{42\text{ }^\circ\text{C}}$), durante o período de 0, 3, 7 e 10 dias.

Os discos de aproximadamente 6 mm de diâmetro para o teste de sensibilidade microbiana foram obtidos a partir do filtro *Whatman*[®] - n.º. 1 (BUKAR; UBA; OYEYI, 2010), com auxílio de um perfurador de papel, seguida da esterilização em autoclave e secagem a $70\text{ }^\circ\text{C}$. Estes foram impregnados com $50\text{ }\mu\text{L}$ [10mg da semente (0,05%)], $100\text{ }\mu\text{L}$ [20mg da semente (0,10%)], $150\text{ }\mu\text{L}$ [30mg da semente (0,15%)] e $200\text{ }\mu\text{L}$ [40mg da semente (0,20%)] do extrato bruto da *Moringa oleifera* Lam. (VIEIRA et al., 2010). Para a secagem dos discos, estes foram mantidos em temperatura ambiente ($T_A = 25\text{ }^\circ\text{C}$) por um período de 24 horas. Metade dos discos expostos à luz UV e a outra parte isenta desse tratamento.

As culturas *overnight* de *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 e *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 foram padronizadas pela escala 0,5 de *McFarland* - 10^8 células viáveis (BUKAR; UBA; OYEYI, 2010). Após, as culturas foram individualmente semeadas em placas de Petri contendo ágar *Müller Hinton*,

submetidas previamente ao teste de esterilidade. Em condições assépticas e com auxílio de uma pinça, os discos foram depositados na superfície do ágar. A medição do diâmetro do halo foi realizada após 18 a 24 horas de incubação a 37 °C. Foram considerados representativos halos maiores que 13 mm.

Os resultados obtidos foram organizados em tabelas e submetidos à análise estatística descritiva. Índices divulgados em literaturas especializadas, referentes aos testes de sensibilidade das bactérias testadas frente ao extrato de sementes de *Moringa oleifera* Lam. foram utilizados para comparar os dados obtidos nesta pesquisa.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os ensaios com extrato aquoso das sementes de *Moringa oleifera* Lam. apresentaram resultados diferenciados frente às cepas teste *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 25923 e *P. aeruginosa* ATCC 27853.

Nas repetições realizadas para todos os tratamentos, o extrato aquoso da semente não inibiu *E. coli* e *P. aeruginosa*. Tais informações diferem dos dados obtidos por Saadabi e Zaid (2011), pois esses estudiosos encontraram halo de inibição variando entre 18 e 22 mm para *E. coli* e 20 e 25 mm para *P. aeruginosa*, empregando extratos aquosos de 5%, 10%, 20% e 40%. Esses estudiosos utilizaram extratos submetidos à prévia liofilização; provavelmente, a remoção da parte líquida do extrato, aliada ao elevado volume do mesmo tenha potencializado a ação das substâncias antimicrobianas.

Vieira et al. (2010) ao utilizarem os mesmos volumes desta pesquisa, 50 µL [10mg da semente (0,05%)], 100 µL [20mg da semente (0,10%)], 150 µL [30mg da semente (0,15%)] e 200 µL [40mg da semente (0,20%)] de extrato aquoso de sementes da *Moringa oleifera* Lam., registraram a efetividade do mesmo para todas os tratamentos em cepas de *E. coli* isoladas de camarão. Os autores destacaram que a inibição foi proporcional ao acréscimo do volume; 0,05% ($\phi=16$ mm), 0,10% ($\phi=17$ mm),

0,15% ($\phi=20$ mm) e 0,20% ($\phi=23$ mm). Esse dado é interessante, pois, como esses próprios autores ressaltam, *E. coli* é um importante bioindicador da qualidade sanitária de alimentos e comumente associada a casos de toxinoses alimentares.

Nesta pesquisa, a inibição para *E. coli* não foi registrada em nenhuma repetição, contrapondo os dados de Saadabi e Zaid (2011) e Vieira et al. (2010). Provavelmente, este dado seja devido o uso de estirpes diferentes (CARDOSO et al., 2002) a alteração dos compostos fitoquímicos das plantas resultantes das condições edafo-climáticas (FAROOQ et al., 2007).

S. aureus ATCC 25923 foi o único micro-organismo susceptível neste estudo para todos os tratamentos em ao menos um dos períodos de incubação. De modo geral, os maiores halos de inibição foram encontrados no tempo zero, para todas as concentrações/temperatura (Quadro 1). Os discos tratados com UV apresentaram diâmetros de halos de inibição semelhantes àqueles que não foram submetidos a esse tratamento. Vieira et al. (2010), testando o mesmo extrato com a mesma ATCC, obtiveram halos de 19 a 25 mm, corroborando os resultados mostrados no Quadro 1.

As análises realizadas após 3 dias de incubação demonstraram uma redução na efetividade do extrato (Quadro 2). Na terceira repetição desse mesmo tempo, somente o extrato mantido a 8 °C apresentou zonas de inibição, que variam de 14 mm a 20 mm. Esse resultado era esperado, pois Katayon et al. (2004) verificou decaimento dos princípios ativos do extrato aquoso de sementes da *Moringa oleifera* Lam. mantido em temperatura ambiente ($T_A = 25$ °C); o contrário foi verificado em 3 °C. Jabeen et al. (2008) ressaltam que a efetividade do extrato aquoso da semente é maior a 0 °C.

O menor halo de inibição foi detectado após sete dias de incubação ($\phi = 10$ mm), com extrato de 0,05% mantido a 8 °C (Quadro 3). Nesse tempo, as demais temperaturas não apresentaram efeito inibidor e o maior halo foi observado no disco tratado com UV ($\phi = 19$ mm) e apresentando extrato igual 0,15%.

Quadro 1. Atividade bactericida do extrato aquoso de *Moringa oleifera* Lam., incubado em diferentes temperaturas no tempo zero em *S. aureus* ATCC 25923.

REPETIÇÕES	TEMPERATURA	DIÂMETRO DO HALO DE INIBIÇÃO (mm)*							
		50 µL		100 µL		150 µL		200 µL	
		N _{-UV}	UV	N _{-UV}	UV	N _{-UV}	UV	N _{-UV}	UV
1 ^a	8 °C	20	22	21	21	19	20	21	22
	25 °C	20	21	22	20	21	22	20	20
	37 °C	19	21	21	19	22	21	26	18
	42 °C	20	19	21	19	19	22	19	20
2 ^a	8 °C	19	18	19	18	17	17	18	19
	25 °C	18	18	19	19	19	19	20	19
	37 °C	18	20	16	19	17	19	17	17
	42 °C	20	18	18	16	18	18	18	17
3 ^a	8 °C	16	16	20	20	17	18	21	20
	25 °C	18	15	18	21	20	20	20	20
	37 °C	20	16	20	19	20	20	20	20
	42 °C	21	18	19	20	15	22	19	20

* 50 µL [10mg da semente (0,05%)], 100 µL [20mg da semente (0,10%)], 150 µL [30mg da semente (0,15%)] e 200 µL [40mg da semente (0,20%)] de extrato aquoso de sementes da *Moringa oleifera* Lam.

Quadro 2. Atividade bactericida do extrato aquoso de *Moringa oleifera* Lam. em diferentes temperaturas durante três dias de estocagem em *S. aureus* ATCC 25923.

REPETIÇÕES	TEMPERATURA	DIÂMETRO DO HALO DE INIBIÇÃO (mm)*							
		50 µL		100 µL		150 µL		200 µL	
		N _{-UV}	UV	N _{-UV}	UV	N _{-UV}	UV	N _{-UV}	UV
1 ^a	8 °C	0	0	0	0	0	0	0	0
	25 °C	0	0	0	0	0	0	0	0
	37 °C	0	0	0	0	0	0	0	0
	42 °C	0	0	0	0	0	0	0	0
2 ^a	8 °C	16	16	17	17	18	15	16	17
	25 °C	17	18	17	19	17	18	15	18
	37 °C	14	14	13	14	15	14	14	14
	42 °C	16	16	15	18	17	13	19	14
3 ^a	8 °C	17	14	20	15	18	15	15	14
	25 °C	0	0	0	0	0	0	0	0
	37 °C	0	0	0	0	0	0	0	0
	42 °C	0	0	0	0	0	0	0	0

* 50 µL [10mg da semente (0,05%)], 100 µL [20mg da semente (0,10%)], 150 µL [30mg da semente (0,15%)] e 200 µL [40mg da semente (0,20%)] de extrato aquoso de sementes da *Moringa oleifera* Lam.

Quadro 3. Atividade bactericida do extrato aquoso de *Moringa oleifera* Lam. em diferentes temperaturas durante sete dias de estocagem em *S. aureus* ATCC 25923.

REPETIÇÕES	TEMPERATURA	DIÂMETRO DO HALO DE INIBIÇÃO (mm)*							
		50 µL		100 µL		150 µL		200 µL	
		N _{-UV}	UV	N _{-UV}	UV	N _{-UV}	UV	N _{-UV}	UV
1 ^a	8 °C	0	0	0	0	0	0	0	0
	25 °C	0	0	0	0	0	0	0	0
	37 °C	0	0	0	0	0	0	0	0
	42 °C	0	0	0	0	0	0	0	0
2 ^a	8 °C	16	17	18	18	16	19	16	18
	25 °C	0	0	0	0	0	0	0	0
	37 °C	0	0	0	0	0	0	0	0
	42 °C	0	0	0	0	0	0	0	0
3 ^a	8 °C	10	12	14	13	10	15	12	15
	25 °C	0	0	0	0	0	0	0	0
	37 °C	0	0	0	0	0	0	0	0
	42 °C	0	0	0	0	0	0	0	0

* 50 µL [10mg da semente (0,05%)], 100 µL [20mg da semente (0,10%)], 150 µL [30mg da semente (0,15%)] e 200 µL [40mg da semente (0,20%)] de extrato aquoso de sementes da *Moringa oleifera* Lam.

De modo geral, o aumento do volume do extrato não causou aumento de efetividade em *S. aureus* ATCC 25923.

Os resultados obtidos neste trabalho diferiram dos de Vieira et al. (2010), ao empregarem o mesmo tipo de extrato adotado nesta pesquisa. Possivelmente, esses dados estejam associados as características edafo-climáticas das regiões de onde foram retiradas as sementes de moringa.

A instabilidade do extrato é verificada a partir 72 horas de incubação, tal resultado pode ser justificado pelo acúmulo de resíduos orgânicos advindos das reações enzimáticas favorecidas às temperaturas 25 °C, 37 °C e 42 °C. Considerando a estabilidade do extrato incubado a 8 °C, há possibilidade de aplicação do extrato de sementes de *Moringa oleifera* Lam. em gêneros alimentícios, excessivamente manipulados e comercializados em temperatura de refrigeração.

CONCLUSÕES

- Os resultados obtidos neste estudo permitiram

inferir que o acondicionamento do extrato de sementes de *Moringa oleifera* Lam. sob baixas temperaturas possibilitou a preservação da sua atividade bactericida durante 7 dias de estocagem, sendo evidente a efetividade do extrato apenas para *S. aureus* ATCC 25923.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABALAKA, M.E.; DANILYAN, S.Y.; ADEYEMO, S.O. The antibacterial evaluation of *Moringa oleifera* leaf extracts on selected bacterial pathogens. **Journal of Microbiology Research**, v.2, n.2, p. 1-4, 2012.

ALO, M.N.; ANYIM, C.; ELOM, M. Coagulation and antimicrobial activities of *Moringa oleifera* seed storage at 3°C temperature in turbid water. **Pelagia Research Library**, v.3, n.2, p.887-894, 2012.

BUKAR, A.; UBA, A.; OYEYI, T.I. Antimicrobial profile of *Moringa Oleifera* lam. extracts against some food - borne microorganisms, **Bayero**

Journal of Pure and Applied Sciences, v.3, n.1, p.43-48, 2010.

CARDOSO, A.L.S.P.; TESSARI, E.N.S.P.; ZANATTA, G.F. Avaliação da susceptibilidade a antimicrobianos de cepas de *Escherichia coli* de origem aviária. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.69, n.2, p.1-5, 2002.

EILERT, U.; WOLTERS B.; NAHRSTEDT, P. The antibiotic principle of *Moringa Oleifera* and *Moringa Stenopetala*. **Planta Medica**, v.42, n.1, p.55-61, 1981.

FAROOQ, A. et al. *Moringa oleifera*: a food plant with multiple medicinal uses. **Phytotherapy Research**, v.21, n.1, p.17-25, 2007.

GALLÃO, M.I.; DAMASCENO, L.F.; BRITO, E.S. Avaliação química e estrutural da semente de moringa. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v.37, n.1, p.106-109, 2006.

JABEEN, R.; SHAHID, M.; ASHRAF, M. Microscopic evaluation of the antimicrobial activity of seed extracts of *Moringa oleifera*. **Pakistan Journal of Botany**, v.40, n.4, p.1349-1358, 2008.

KATAYON, S.; NOOR, M.J.M.M.; ASMA, M.; THAMER, A.M.; ABDULLAH, A.G.L.; SULEYMAN, A.M.; AMINUDDIN, M.B.; JHOR, B.C. Effects of storage duration and temperature of *Moringa oleifera* stock solution on its performance in coagulation. **International Journal of Engineering and Technology**, v.1, n.2, p.146-151, 2004.

LOMONACO, P.A.V.L.; MATOS, A.T.; RIBEIRO, I.C.A.; NASCIMENTO, F.S.; SARMENTO, A.P. Utilização de extrato de sementes de moringa como agente coagulante no tratamento de água para abastecimento e águas residuárias. **Revista Ambiente e Água**, v.5, n.3, p.222-231, 2010.

NEPOLEAN, P.; ANITHA, J.; RENITTA, E.R. Isolation, analysis and identification of phytochemicals of antimicrobial activity of

Moringa oleifera Lam. **Current Biótica**, v.3, n.1, p.33-39, 2009.

NWAIWU N.E.; LINGMU B. Studies on the effect of settling time on coliform reduction using *Moringa Oleifera* seed powder. **Journal of Applied Sciences in Environmental Sanitation**, v.6, n.3, p.279-286, sep. 2011.

ONSARE, J.G.; KAUR, H.; ARORA, D.S. Antimicrobial activity of *Moringa oleifera* from different locations against some human pathogens. **Academia Journal of Medicinal Plants**, Índia, v.1, n.5, p.80-91, 2013.

ONUOHA, S.C.; ALISA, C.O. Antimicrobial potential of leaf juice and extracts of *Moringa oleifera* lam against some human pathogenic bacteria. **Journal of Pharmacy and Biological sciences**, v.5, n.4, p.37-42, 2013.

PEIXOTO, J.R.O.; SILVA, G.C.; COSTA, R.A.; FONTENELLE, J.L.S.; VIEIRA, G.H.F.; FILHO, A.A.F.; VIEIRA, R.H.S.F. *In vitro* antibacterial effect of aqueous and ethanolic moringa leaf extracts. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v.4, n.3, p.201-204, 2011.

RAHMAN, M.M. Control of coliform bacteria detected from diarrhea associated patients by extracts of *Moringa oleifera*. **Nepal Medicine College Journal**, v.12, n.1, p.12-19, 2010.

RAMOS, L.M.; COSTA, R.S.; MÔRO, F.V.; SILVA, R.C. Morfologia de frutos e sementes e morfofunção de plântulas de *Moringa oleifera* Lam.). **Comunicata Scientiae**, v.1, n.2, p.156-160, 2010.

SAADABI, A.M.; ZAID, I.E.A. An *in vitro* antimicrobial activity of *Moringa oleifera* L. seed extracts against different groups of microorganisms. **Australian Journal of Basic and Applied Sciences**, v.5, n.5, p.129-134, 2011.

SHARAF, A.M.; EBRAHIUM, M.E.; AMMAR, M.S.; EL-GHANY, M.E.A. Influence of using

moringa meal flour as meat extender on quality characteristics of beef burger patties during frozen storage. **World Journal of Dairy and Food Sciences**, v.4, n.1, p.32-40, 2009.

THILZA, I.B.; ISHA, Z.A.; SANI, F.S.; TALLE, M.; JOSEPH, M.B. *In vitro* antimicrobial activity of water extract of *Moringa oleifera* leaf stalk on bacteria normally implicated in eye diseases.

Academia Arena, Nigeria, v.2, n.6, p.80-82, 2010.

VIEIRA, G.H.F.; MOURÃO, J.A.; ÂNGELO, A.M.; COSTA, R.A.; VIEIRA, R.H.S.F. Antibacterial effect (*in vitro*) of *Moringa oleifera* and *Annona muricata* against Gram positive and Gram negative bacteria. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v.52, n.3, p.129-132, 2010.