

USO DE EXTRATO DE SEMENTES DE MORINGA, *Moringa oleifera*, NA REDUÇÃO DE COLIFORMES TERMOTOLERANTES EM CAMARÃO-SETE-BARBAS, *Xiphopenaeus kroyeri*

Seed extract of *Moringa oleifera* used for reducing the numbers of thermotolerant coliforms on seabob shrimp, *Xiphopenaeus kroyeri*

Regine Helena Silva dos Fernandes Vieira¹, Cláudia Brandão Vieira², Oscarina Viana de Sousa³, Gustavo Hitzschky Fernandes Vieira⁴, Antonio Adauto Fonteles-Filho⁵

RESUMO

O presente trabalho pesquisou a ação redutora do extrato salino de moringa, *Moringa oleifera*, sobre coliformes termotolerantes (CT) em camarão-sete-barbas, *Xiphopenaeus kroyeri*, na Feira de Pescado do Mucuripe, Fortaleza-CE. Foram testados diferentes tempos de imersão (5, 10, 15 e 20 min.) do camarão em extrato de moringa. Cada amostra foi dividida em três lotes: CST – camarão sem tratamento; CTM - camarão tratado com moringa; CTS – camarão tratado com salina. Foram realizadas análises sensoriais com CTM e CTS para verificar a influência do extrato no sabor do camarão. O NMP de CT /g dos camarões apresentou valores de <3,0 a 1.000 nos 14 experimentos. Das quatorze coletas, doze (85,71%) apresentaram decréscimo de CT após a imersão em extrato de moringa. De 61 cepas isoladas nas amostras de camarão antes e após a imersão no extrato e na salina, foram identificadas: 27 cepas de *E. coli* I, 21 de *Klebsiella* spp., nove de *Enterobacter* spp. e quatro de *Citrobacter* spp. Foi escolhido o tempo de cinco minutos para um segundo experimento. De acordo com os resultados o extrato salino de moringa tem efeito deletério sobre a concentração de CT no camarão comercializado na Feira do Mucuripe, Fortaleza-CE.

Palavras-chaves: *Moringa oleifera*, extratos, atividade antibacteriana, coliformes, *Xiphopenaeus kroyeri*.

ABSTRACT

The present paper has addressed the reductive action of the saline extract of "moringa" (*Moringa oleifera*) on thermotolerant coliforms (TC) found in seabob shrimp (*Xiphopenaeus kroyeri*) sold on the Mucuripe fish market, Fortaleza, Ceará State, under the immersion time periods of 5, 10, 15 and 20 min. Each sample was broken down into three groups, namely SCS – shrimp control sample, MTS – moringa-treated shrimp, and STS – saline-treated shrimp. Sensorial analyses were carried out with SCS e STS in order to ascertain the extract influence on shrimp-food flavor. The Most Probable Number (MPN) of TC per gram of shrimps had values varying from < 3.0 to 1,000 encompassing the fourteen experiments, out of which twelve (85.71%) showed a decrease in TC after immersion in "moringa" extract. From a total of 61 strains isolated from shrimp samples before and after treatment with "moringa" extract, were identified 27 ones of *E. coli* I, 21 of *Klebsiella* spp, nine of *Enterobacter* spp and four of *Citrobacter* spp. The 5-min immersion time period was chosen for a second batch of experiments to be conducted, and according to their results, the saline "moringa" extract was found to have a reducing effect on the biomass of thermotolerant coliforms in the shrimp sold at the Mucuripe fish market, Fortaleza, Ceará State.

Key words: *Moringa oleifera*, plant extract, antibacterial activity, coliforms, *Xiphopenaeus kroyeri*.

¹ Professora e pesquisadora do Departamento de Engenharia de Pesca e do Instituto de Ciências do Mar, e bolsista do CNPq.

² Mestre em Ciências Marinhas Tropicais.

³ Doutora pela Universidade Federal do Rio de Janeiro.

⁴ Professor Titular da Universidade Vale do Acaraú.

⁵ Pesquisador do Instituto de Ciências do Mar, Universidade Federal do Ceará.

INTRODUÇÃO

O pescado é um alimento rico em nutrientes, fato que o torna susceptível ao ataque microbiano. Fatores tais como: capturas em águas poluídas, não observação das condições ideais de refrigeração, manuseio e transporte aumentam esse potencial degradador (Vieira, 2004). Dentre os alimentos de origem animal aquática, os camarões são os mais fáceis de sofrer alterações oxidativas, hidrolíticas e/ou microbiológicas devido à sua elevada atividade de água (aw), composição química, alto teor de gordura insaturada e pH próximo à neutralidade (Lancette & Bennett, 2001).

Segundo Mollerke *et al.* (2002), os microrganismos indicadores de contaminação de alimentos estão associados ao consumo de água e/ou alimento contamina por origem fecal, e são as principais causas de doenças gastrintestinais. A presença de coliformes termotolerantes nos alimentos é uma indicação segura da eventual ocorrência de enteropatógenos e das condições higiênico-sanitárias em que os mesmos se encontram.

O camarão, por ser considerado um produto de elevado consumo e com significativa importância econômica no Estado do Ceará, necessita de pesquisas que monitorem sua qualidade a fim de não colocar em risco a saúde de seus consumidores.

O uso de produtos naturais com ação contra agentes biológicos nocivos ao homem e animais tem atraído a atenção de muitos pesquisadores como uma alternativa terapêutica no combate às doenças infecciosas, ou como agente preventivo (Cáceres *et al.*, 1993). Assim, nos países em desenvolvimento, a utilização de remédios extraídos de ervas, pela medicina popular, vem desempenhando um importante papel para cobrir as necessidades básicas da saúde pública (Awadh Ali *et al.*, 2001). No Brasil, o uso de compostos de plantas para fins farmacêuticos tem aumentado gradualmente nas últimas décadas (Nascimento *et al.*, 2000). A moringa vem sendo estudada por vários autores (Alkofahi & Atta, 1999; Cáceres *et al.*, 1991; Gilani *et al.*, 1994) quanto aos seus efeitos antimicrobianos. Recentes estudos farmacológicos revelaram que partes da planta, tais como raiz, casca e sementes possuem atividade antimicrobiana (Eilert *et al.*, 1981).

Considerando o exposto, o objetivo deste trabalho de pesquisa foi estudar o potencial redutor do extrato salino de sementes de moringa, *Moringa oleifera*, sobre coliformes termotolerantes (CT) na biomassa de camarão comercializado na Feira do Mucuripe, Fortaleza, Ceará.

MATERIAL E MÉTODOS

ETAPA I

Preparação do extrato

O extrato foi preparado utilizando-se 20 g de sementes pré-selecionadas, recém-retiradas das vagens, maceradas e adicionadas de 150 mL de solução salina a 0,85%. Logo em seguida, o extrato foi homogeneizado em um agitador magnético por três horas.

Preparação da amostra de camarão

Foram coletadas 12 amostras de camarão, cada uma pesando 300 g e perfazendo um total de 3.600 g no período de julho de 2004 a julho de 2005. De cada amostra, 250 g eram homogeneizadas e delas retiradas 3 subamostras de 25 g para as análises microbiológicas, e 50 g eram destinados às análises sensoriais. As 12 amostras eram testadas independentemente para os diferentes tempos de imersão, sendo que para cada tempo foram feitos três experimentos.

Cada amostra era dividida em três lotes destinados a tratamentos diferentes. O primeiro lote, denominado de camarão sem tratamento (CST), constituindo-se no lote controle. O segundo lote, denominado de Camarão com Tratamento de Moringa (CTM), constituiu-se na imersão de 50 g de camarão em 150 mL de extrato salino de moringa durante os tempos de 5, 10, 15 e 20 minutos. O terceiro lote, denominado de Camarão com Tratamento em Salina (CTS), correspondeu à imersão de 50 g de camarão em 150 mL de salina a 0,85%, pelo mesmo tempo do lote CTM. Dos camarões antes dos tratamentos (lote controle) e após os tratamentos, eram retirados 25 g para o procedimento das análises microbiológicas. Dos lotes CTM e do CTS eram retirados oito camarões (em torno de 25 g) que eram fervidos por 5 min. e submetidos a um teste de aceitabilidade, de amostra única, segundo Moraes (1998). Estes foram oferecidos, separadamente, a um grupo de quatro (4) provadores previamente treinados, no laboratório, a quem era feita a pergunta: "Você sente algum gosto estranho na amostra?" O teste sensorial foi repetido três vezes para cada para cada tempo de exposição (5, 10, 15 e 20 min.) do camarão ao extrato.

ETAPA II

Para observar a reprodutibilidade dos resultados obtidos nos diversos tratamentos, foram realizados dois últimos experimentos, com duas repetições, usando-se quantidades maiores de camarão, com

um tempo já definido através dos testes estatísticos (5 min.). Para cada tratamento, foram usados 300 g de camarão sendo imersos em 1,5 L de extrato de semente de moringa em solução salina a 0,85%. Para as análises microbiológicas foram usadas porções de 50 g de camarão com homogeneização em 450 mL de solução salina, constando da determinação do NMP de termotolerantes, como acima especificado.

Identificação das cepas

As cepas do grupo dos coliformes isoladas dos 14 experimentos (doze da Etapa I e dois da Etapa II) foram identificadas segundo Siqueira (1995) e Costa (1979).

Cálculo da redução de coliformes

Para se avaliar a influência dos tratamentos na redução do NMP de CT, foram calculadas as razões CST/CTM e CST/CTS entre os valores do tratamento-controle e os valores dos tratamentos-testes com extrato de moringa e solução salina, respectivamente.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados de NMP de CT relativos à análise de todas as amostras de camarão-sete-barbas encontram-se na Tabela I, com valores variando de 3 a 1.000 (NMP/100 g). Dos doze experimentos, dez (83,3%) apresentaram decréscimo de CT após a imersão nos extratos de moringa, enquanto em três experimentos (25%), quando os camarões foram imersos em solução salina a 0,85%, houve aumento nos valores de CT.

Gourmelon *et al.* (1997) citam que o sal contido nas águas marinhas (3,6%) é deletério para CT. Na primeira, terceira e quarta coletas houve crescimento dos CT no CTS, com a solução salina a 0,85%, isotônica com a célula viva, razão por que é possível que, se alguma contaminação houvesse no camarão anterior às análises, não deveria ser inibida pela salinidade do meio. Na verdade, a solução salina foi usada como uma lavagem dos

crustáceos e a presença de um substrato rico, tal como o camarão, em temperatura de laboratório, pode ter favorecido a multiplicação de coliformes. Outro fator que deve ter influenciado nesse índice de CT no CTS foi o tempo de geração dos coliformes, pois a bactéria da espécie *Escherichia coli* pode multiplicar-se em apenas 15 minutos (Torres, 2005).

É preciso acrescentar que, após observações feitas no decorrer da pesquisa, foi constatado que o extrato de moringa só apresentava efeito deletério sobre os CT quando as sementes novas eram retiradas das vagens recém-colhidas, no momento da preparação do extrato. Este efeito não foi constatado quando elas chegavam soltas e/ou já retiradas das vagens.

Em todos os experimentos (Tabela I), observou-se que as amostras de camarão-sete-barbas sempre continham CT, indicando assim uma péssima condição higiênica da feira onde este pescado é vendido, fato já observado por Albuquerque *et al.* (2006). Segundo os autores, as estruturas danificadas das barracas da feira permitem que resíduos fiquem aderidos às suas superfícies transformando-as em potencial fonte de contaminação. Além do mais, a permanência dos camarões expostos a altas temperaturas é outro fator que favorece o aumento da microbiota mesófila dos camarões.

Outro fator a ser considerado é o da despreocupação dos manipuladores da feira de pescado do Mucuripe com relação a seus hábitos higiênicos, quase sempre incorretos. Em pesquisa recente, Vieira *et al.* (2006), face à elevada contaminação do pescado exposto nas bancadas de venda, recomendam que os vendedores de pescado sejam orientados quanto à importância de boas práticas de manipulação para a qualidade dos produtos para consumo.

Na análise do efeito dos tratamentos sobre a redução da concentração de coliformes termotolerantes em camarão sete barbas (Tabela II; Figura 1), foram obtidos os seguintes resultados: (a) o tratamento com extrato de moringa foi superior ao tratamento

Tabela I - Número Mais Provável (NMP) por grama de coliformes termotolerantes em amostras do camarão-sete-barbas, *Xiphopenaeus kroyeri*, submetidas aos seguintes tratamentos: CST (camarão sem tratamento); CTM (camarão submetido ao tratamento com moringa) e CTS (camarão submetido ao tratamento em salina estéril 0,85%).

Repetições	Tempo (min.)											
	5			10			15			20		
	CST	CTM	CTS	CST	CTM	CTS	CST	CTM	CTS	CST	CTM	CTS
1ª	9,2	3,6	93,0	9,2	3,6	3,6	15,0	23,0	93,0	93,0	43,0	1.000
2ª	23,0	<3,0	15,0	23,0	93,0	15,0	7,4	<3,0	3,6	7,4	<3,0	<3,0
3ª	23,0	9,2	7,4	21,0	3,6	9,2	36,0	<3,0	<3,0	3,6	<3,0	<3,0

com solução salina nos quatro tempos de imersão empregados; (b) os tempos de imersão de 15 min. e 5 min. propiciaram as maiores taxas de redução, para os dois tratamentos, com valores de CST/CTS = 5,04 e CST/CTM = 4,74; (c) o tempo de imersão de 5 min. foi também muito eficiente no tratamento com extrato de moringa, como mostra o valor de CST/CTM = 4,25; (d) nos tempos de imersão de 10 min. e 20 min. nenhum dos tratamentos foi muito eficiente como redutor do NMP de CT. Com base nesses dados, o tempo de 5 min. foi o escolhido para o tratamento das amostras de camarão destinadas à análise sensorial, tendo em vista a economia de tempo, melhor preservação do crustáceo e uma menor influência no seu sabor.

Tabela II - Média das vezes de redução do Número Mais Provável de coliformes termotolerantes em amostras do camarão-sete-barbas, *Xiphopenaeus kroyeri*, tratadas com extrato de semente de moringa (CTM) e com solução salina a 0,85% (CTS), separadamente, em relação aos camarões sem tratamento (CST), ao longo das imersões.

Repetições	Tempo de tratamento (min.)							
	5		10		15		20	
	CTM	CTS	CTM	CTS	CTM	CTS	CTM	CTS
1	2,56	0,01	2,56	2,56	0,65	0,16	2,16	0,09
2	7,70	1,53	0,25	1,53	2,47	2,05	2,47	2,47
3	2,50	3,10	5,80	2,28	12,00	12,00	1,20	1,20
Média	4,25	1,58	2,88	2,12	5,04	4,74	1,94	1,23

De 62 cepas isoladas nas amostras de camarão, nos três tratamentos, foram identificadas: 27 cepas de *E. coli*, 21 de *Klebsiella* spp, nove de *Enterobacter* spp e quatro de *Citrobacter* spp. Das 27 cepas de *E.coli* identificadas, 11 (40,7%) foram isoladas do camarão sem tratamento, 10 (37%) de camarão tratado com solução salina a 0,85% e seis (22,2%) com moringa.

Isto confirma que o extrato de semente de moringa realmente promoveu uma depleção de coliformes termotolerantes inicialmente presentes nas amostras de camarão.

Nos testes de análise sensorial, em 93,75% das avaliações, os provadores não detectaram sabor e/ou aroma estranho nas amostras tratadas com extrato de semente de moringa ou com salina. Contudo, o fato de que em somente 6,25% das avaliações os provadores detectaram um sabor estranho, de fraca intensidade, não exclui as vantagens de se usar o extrato de semente de moringa para reduzir a população de coliformes termotolerantes (CT) em camarões comercializados sob as formas *in natura* e refrigerada (Figura 2). Quando foram analisadas maiores quantidades do produto, ficou evidente que a moringa reduziu de 1,21 vezes a 70 vezes o número de CT contaminante dos camarões (Tabela III).

Tabela III - Número Mais Provável de coliformes termotolerantes (CT) em camarão-sete-barbas, *Xiphopenaeus kroyeri*, sem tratamento (CST), camarões com tratamento de moringa (CTM) e camarões com tratamento de salina (CTS) e redução destes CT após tratamento com extrato de moringa

Experimento	NMP/g			Redução	
	CST	CTM	CTS	CST/CTM	CST/CTS
1º	140	2	93	70	1,5
2º	17	4,5	14	3,8	1,21

CONCLUSÃO

Pelos resultados obtidos verifica-se que se pode diminuir drasticamente a carga de coliformes termotolerantes em camarão-sete-barbas, *Xiphopenaeus kroyeri*, através da sua imersão, por 5 minutos,

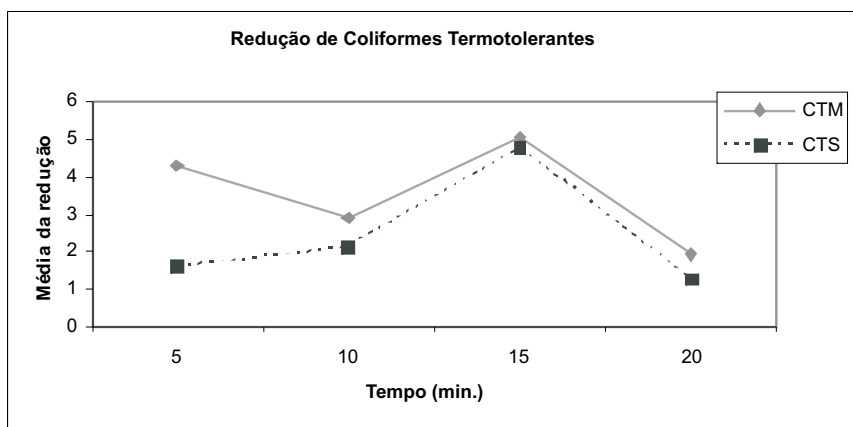


Figura 1 - Média da redução de coliformes termotolerantes em camarão-sete-barbas, *Xiphopenaeus kroyeri*, quando submetido a tratamento com solução de moringa, *Moringa oleifera*, por 5, 10, 15 e 20 minutos.

em extrato salino de semente de moringa, sem que esse tratamento prejudique as propriedades sensoriais do crustáceo após seu cozimento.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Albuquerque, W.F.; Vieira, R.H.S.F. & Vieira, G.H.F. Isolamento de *Staphylococcus aureus* do gelo, água, bancadas e vendedores de pescado da feira do Mucuripe, Fortaleza, Ceará. *Ciê. Agron.*, Fortaleza, v.37, n.1,2, p.299-303, 2006.

Alkofahi, A. & Atta, A.H. Pharmacological screening of the anti-ulcerogenic effects of some Jordanian medicinal plants in rats. *J. Ethnopharmacol.*, v.67, n.3, p.341-345, 1999

Awadh Ali, N.A.; Julich, W-D.; Kusnick, C. & Lindequist, U. Screening of Yemeni medicinal plants for antibacterial and cytotoxic activities. *J. Ethnopharmacol.*, v.74, n.2, p.173-179, 2001.

Cáceres, A.; Cabrera, O.; Morales, O.; Mollinedo, P. & Mendia, P. Pharmacological properties of *Moringa oleifera*. 1: Preliminary screening for antimicrobial activity. *J. Ethnopharmacol.*, v.33, n.3, p.213-216, 1991.

Cáceres, A.; Fletes, L.; Aguilar, L.; Ramirez, O.; Figueroa, L.; Taracena, A.M. & Samayoa B. Plants used in Guatemala, for the treatment of gastrointestinal disorders. 3. Confirmation of activity against enterobacteria of 16 plants. *J. Ethnopharmacol.*, v. 38, n. 1, p.31-38, 1993.

Costa, L.J.P. *Análise bacteriológica da água*. Editora Universitária - UFPB, João Pessoa, cap. 15, p. 265 - 268, 1979.

Eilert, U.; Wolters, B. & Nahrstedt, A. The antibiotic principle of seeds of *Moringa oleifera* and *Moringa stenopetala*. *Planta Med.*, v.42, n.1, p.55-61, 1981.

Gilani, A.H.; Aftab, K. & Suria, A. Pharmacological studies on hypotensive and spasmolytic activities

of pure compounds from *Moringa oleifera*. *Phytother. Res.*, v.8, n.2, p.87-91, 1994.

Gourmelon, M.; Touati, D.; Pommepuy, M. & Cormier, M. Survival of *Escherichia coli* exposed to visible light in seawater: analysis of rpoS-dependent effects. *Can. J. Microbiol.*, v.43, n.11, p.1036-1043, 1997.

Lancette, G.A. & Bennett, R.W. *Staphylococcus aureus* and Staphylococcal Enterotoxins, p. 387-403, in Donnes, F.P. & Ito, K. (eds.), *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. American Public Health Association, 4th edition, Washington, 2001.

Mollerke, R.O.; Wiest, J.M. & Carvalho, H.H.C. Colimetria como indicadores de qualidades de pescado artesanal do lago Guaíba, em Porto Alegre-RS. *Hig. Alimen.*, v.16, n.99, p.102-106, 2002

Moraes, M.A.C. *Métodos para avaliação sensorial dos alimentos*. Editora da Universidade Estadual de Campinas, 6^a edição, Campinas, 1998.

Nascimento, G.G.F.; Locatelli, J.; Freitas, P.C. & Silva, G.L. Antibacterial activity of plant extracts and phytochemical on antibiotic-resistant bacteria. *Braz J. Microbiol.*, v.31, n.4, p.247-256, 2000

Siqueira, R.S. *Manual de Microbiologia de Alimentos*. Embrapa-Merck, Rio de Janeiro, 1995.

Torres, R.C.O. *Utilização de água de côco verde (Cocos nucifera L.) na composição de meios para cultura de Escherichia coli*. Tese de Doutorado, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005.

Vieira, R.H.S.F. *Microbiologia, higiene e qualidade do pescado*. Varela, 380 p., São Paulo, 2004.

Vieira, R.H.S.F.; Rebouças, R.H. & Albuquerque, W.F. *Staphylococcus coagulase positiva em camarão-sete-barbas, Xiphopenaeus kroyeri, comercializado na feira-livre de pescado do Mucuripe-Fortaleza-CE*. *Bol. Tec. Cient. CEPENE*, Tamandaré, v.14, p.11-22, 2006.