



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE PESCA**

**USO DE MORINGA (*Moringa oleifera*) NA REDUÇÃO DE
COLIFORMES FECAIS EM CAMARÃO SETE-BÁRBAS
(*Xiphopenaeus Kroyeri*).**

CLÁUDIA BRANDÃO VIEIRA

**Monografia apresentada ao Departamento
de Engenharia de Pesca do Centro de
Ciências Agrárias da Universidade Federal
do Ceará, como parte das exigências para a
obtenção do título de Engenheiro de Pesca.**

**FORTALEZA - CEARÁ - BRASIL
FEVEREIRO/2006**



Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

V714u Vieira, Cláudia Brandão.

Uso de moringa (*Moringa oleifera*) na redução de coliformes fecais em camarão sete-barbas (*Xiphopenaeus Kroyeri*) / Cláudia Brandão Vieira. – 2006.
31 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Curso de Engenharia de Pesca, Fortaleza, 2006.

Orientação: Prof. Dr. Regine Helena Silva dos Fernandes Vieira.

1. Engenharia de pesca. I. Título.

CDD 639.2

COMISSÃO EXAMINADORA:

Profª. Regine Helena Silva dos Fernandes Vieira, PhD.
Orientador/Presidente

Francisca Gleire Rodrigues de Menezes, M. Sc.
Membro

Óscarina Viana de Sousa, D.Sc
Membro

VISTO:

Prof. Moisés Almeida de Oliveira, D.Sc
Chefe do Departamento de Engenharia de Pesca

Profª. Artamizia Maria Nogueira Montezuma, M.Sc
Coordenadora do Curso de Engenharia de Pesca

Ao meu amigo, irmão, companheiro e amado Sécio.
Agradeço todo o amor, carinho e apoio que me deste.
E principalmente o teu incentivo para o
meu ingresso na vida acadêmica.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Mais uma meta alcançada. Uma realização concretizada. Mas nada seria concluído senão por auxílio de Deus. A Ele, agradeço em primeiro lugar por ter sempre me guiado e me amparado nos momentos mais difíceis dessa jornada. MUITO OBRIGADA MEU DEUS.

Aos meus pais, em primeiro lugar pela minha vida e em segundo pelo eterno ensinamento do caminho do Bem. E em especial à minha mãe, por ter desempenhado tão bem o papel de pai e mãe ao mesmo tempo. Devo-te muito mãezinha querida.

Ao meu irmão, que sempre apostou em mim e torce pela minha felicidade.

À minha cunhada Adriana e aos meus sobrinhos, Tiago e Mateus, pela luz que trazem à nossa família.

Aos meus padrinhos, João Batista e Amélia, que mesmo estando longe, sempre me desejaram sucesso.

Aos meus primos Batista Jr., Jorge, Maiza, Suzana, Luciene, Liliane, Júnior, Luisiane e Ana Luisa por sempre me demonstrarem carinho.

Aos meus tios Coutinho e Terezinha, em especial a minha querida tia "Tetê", a qual é mais que uma mãe pra mim. Aliás, como ela mesma diz, acho que fomos mãe e filha em outra reencarnação. Se sou o que sou hoje, devo muito a ti, minha tia. Meu eterno agradecimento. MUITO OBRIGADA.

Aos meus amigos de faculdade, Alexandre, Ana Carolina, André, Andrezza, Amilton, Douglas, Edirsana, Eduardo, Eudismar, Fabiana, Flávio, Igor, Juca, Júnior, Lafaiete, Lílian, Kelma, Kely, Rafael, Rosângela e Tarcísio. A todos vocês só tenho a agradecer pelo que aprendi com cada um e pelos momentos de alegria que me ofertaram.

À minha amiga Carol, por sempre ter me dado tanto amor e carinho. Obrigada pela sua companhia e por estar sempre querendo a minha evolução pessoal. Você pra mim é a representação da maior fortuna que um homem pode ter: uma amizade sincera.

Às minhas colegas de laboratório: Anahy, Camila, Carol, Cristiane, Dannielle, Edirsana, Gardenny, Gleire, Norma, Oscarina, Rakel, Rosa, e ao meu colega Régis, quero dizer-lhes obrigada. E em especial a Susy, a qual com a sua paciência, me ensinou a dar os primeiros passos em Microbiologia.

À minha amiga Isabel, a qual eu tenho muita admiração e agradeço a Deus por tê-la conhecido. Obrigada por sempre se preocupar com os meus passos.

À minha Professora Regine, meu eterno agradecimento e admiração. Obrigada por sempre estar disposta a saciar a minha sede de saber. E também por deixar-me fazer parte do time das “Reginetes”.

Ao Professor Gustavo por ter sempre me fornecido tão gentilmente a “matéria-prima” (Moringa) desse trabalho.

Ao Instituto de Ciências do Mar (Labomar) pelo uso de suas depências.

Agradeço especialmente à professora Silvana por ter sido pra mim nesses anos de faculdade, mais do que uma simples professora. Por toda a sua atenção e carinho por mim, muito obrigada.

A todas as pessoas que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho. Muito Obrigada!

Canção de poder

Regine Limaverde

Sou usada para limpar,
flocular, arrastar sujeiras
das águas.

Poderiam me usar
para limpar lenços de criminosos?

Posso agir sobre bandidos
que adoecem crianças
que atacam o homem
tornando-os sofridos,
matando-os.

Usem-me para o bem
e eu lhes darei
uma recompensa.
Livrar-lhos-ei dos males.
Sou poderosa,
sou remédio,
sou mais limpa que a água.
Sou o batismo e a redenção
para a humanidade,
Sou a moringa
E vim para ocupar um lugar.



SUMÁRIO

Resumo	i
Lista de Figuras	ii
Lista de Tábéis	iii
1. INTRODUÇÃO	1
1.1 Revisão Bibliográfica	2
1.1.2 Moringa " <i>Moringa oleifera</i> Lam".	2
1.1.3 Camarão	4
1.1.4 Coliformes Fecais	4
2. MATERIAL E MÉTODOS	6
2.1 Procedimento das Análises	6
2.1.1 Preparação do Extrato	6
2.1.2 Preparação da Amostra de Camarão	6
2.1.3 Teste de Colimetria	8
2.1.4 Diluições das Amostras	8
2.1.5 Prova Presuntiva	8
2.1.6 Prova de confirmação dos coliformes fecais (CF)	9
2.2. Provas Bioquímicas	10
2.2.1 Prova de Produção de Indol	10
2.2.2 Prova de Utilização do Citrato de Simmons	10
2.2.3 Prova do Vermelho de Metila (VM)	10
2.2.4 Prova de Voges Proskauer (VP)	11
2.3 Análise Sensorial	11
2.4 Testes Estatísticos	13
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	14
4 CONCLUSÕES	19
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	20

RESUMO

O presente trabalho pesquisou a ação redutora do extrato salino de moringa (*Moringa oleifera*) sobre coliformes fecais (CF) em camarão Sete-barbas (*Xiphopenaeus kroyeri*) da Feira de Pescado do Mucuripe, Fortaleza-CE. Foram testados diferentes tempos de imersão do camarão em extrato de moringa (5, 10, 15 e 20 minutos). Cada amostra era dividida em três lotes (CST – camarão sem tratamento, CTM - camarão tratado com moringa e 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 CF /g dos camarões apresentou valores de <3,0 a 1000 nos 12 experimentos. Todas as amostras de camarão sempre abrigavam CF. Das doze coletas, dez (83,33%) apresentaram decréscimo de CF após a imersão em extrato de moringa. De 62 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; quatro de *Citrobacter* spp; e uma de *E. coli* III. Não ocorreram diferenças estatisticamente significativas no NMP de CF/g nos camarões imersos em extrato de moringa nos diferentes tempos. A aceitação dos provadores após o cozimento dos camarões imersos nos extratos de moringa por 5 , 10 , 15 e 20 minutos foi de 79,3%. De acordo com os resultados o extrato salino de moringa tem efeito deletério sobre a biomassa de CF de camarão comercializado na Feira do Mucuripe, Fortaleza-CE.

LISTA DE FIGURAS;

- FIGURA 1 - Foto ilustrativa de moringa (*Moringa oleifera* Lam). 3
- FIGURA 2 - Fluxograma do preparo da amostra de camarão Sete-barbas (*Xiphopenaeus kroyeri*) proveniente da Feira de Pescado do Mucuripe, Fortaleza-CE. 10
- FIGURA 3 - Fluxograma da Determinação de coliformes fecais (testes presuntivos e confirmatórios) das amostras de camarão antes e depois de imersos em solução salina com moringa. 11
- FIGURA 4 - Fluxograma da amostra de camarão Sete-barbas (*Xiphopenaeus kroyeri*), destinada à análise sensorial. 13
- FIGURA 5 - Ficha para avaliação da amostra única segundo Moraes, 1988. 15
- FIGURA 6 - Comparação Percentual da Redução do NMP/g de CF das amostras de camarão Sete-barbas (*Xiphopenaeus kroyeri*) não tratados (CST), com tratamento de extrato de moringa (CTM) e imersos somente na salina (CTS), em diferentes tempos. 18
- FIGURA 7 - Percentual dos resultados do teste de análise sensorial realizado com camarão Sete-barbas (*Xiphopenaeus kroyeri*), submetido aos tratamentos em extrato salino de moringa (*Moringa oleifera*) e em solução salina estéril 0,85% (controle). 18

LISTA DE TABELAS,

TABELA 1-	Número Mais Provável (NMP) por grama de coliformes fecais obtido das amostras de camarão Sete-barbas (<i>Xiphopenaeus kroyeri</i>), submetido 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% (controle).	17
-----------	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

USO DE MORINGA *Moringa oleifera* NA REDUÇÃO DE COLIFORMES FECALIS EM CAMARÃO SETE-BARBAS *Xiphopenaeus kroyeri*.

Cláudia Brandão Vieira

1. INTRODUÇÃO

O pescado é considerado um alimento bastante rico em nutrientes. Porém, essa mesma característica o torna mais susceptível ao ataque microbiano. Principalmente se forem acrescidos fatores externos à degradação tais como: capturas em águas poluídas, inobservações nas condições ideais de refrigeração, manuseio e transporte (VIEIRA, 2004).

Dentre os alimentos de origem animal aquática, os camarões são os mais fáceis de sofrer alterações oxidativas, hidrolíticas e/ou microbiológicas devido a sua elevada atividade de água (aw), composição química, alto teor de gordura insaturada e pH próximo à neutralidade (LANCETTE; BENNETT, 2001).

Essas mesmas alterações que ocorrem em um pescado mal conservado, podem servir como reveladoras do nível de higiene e sanidade do produto.

Segundo Mollerke et al. (2002), os microrganismos indicadores de contaminação dos alimentos são geralmente utilizados para monitorar, detectar mudança de qualidade, classificar e restringir o seu uso. Sendo que os maiores riscos à saúde estão associados ao consumo de água ou alimento contaminados por origem fecal, os quais resultam na principal causa de doenças gastrointestinais.

A presença no alimento de coliformes fecais é uma indicadora segura da eventual presença de enteropatógenos e das condições higiênico-sanitárias em que o mesmo se encontra.

De amostras colhidas numa feira de pescado no Mucuripe, Fortaleza, CE, 62,5% das espécies marinhas estavam contaminadas por coliformes fecais, enquanto que nas de água doce esse índice foi de 58,3% (GASPAR Jr. et al., 1997).

O camarão, por ser considerado um produto de elevado consumo e com significativa importância econômica no Estado do Ceará, necessita de pesquisas que monitorem a sua qualidade e por ventura revelem possíveis fatores que ponham em risco a saúde pública.

É imprescindível, portanto, a utilização de meios que levem a uma boa qualidade final do produto. Principalmente quando se relacionam pré-requisitos essenciais como higiene e temperatura em toda a cadeia produtiva de pescado. Por isso, a realização de pesquisas que tenham como objetivo aumentar a vida de prateleira do pescado torna-se cada vez mais relevante.

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 mesmo como um agente preventivo. Novos fármacos também surgiram para substituir aqueles que se tornaram ineficientes, devido principalmente ao aumento do número de microrganismos resistentes a antimicrobianos (CÁCERES et al., 1993).

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 como a raiz, a casca e as sementes, possuem atividade antimicrobiana (EILERT et al., 1981).

Considerando o exposto, o projeto em pauta foi concebido visando estudar a ação do extrato salino de sementes de moringa sobre a biomassa do camarão comercializado na Feira do Mucuripe, Fortaleza, Ceará.

1.1. Revisão Bibliográfica

1.1.2. – Moringa "*Moringa oleifera* Lam".

A *Moringa oleifera* Lam. pertence à família Moringaceae, da ordem papaverales, e conta com apenas um gênero (*Moringa*). Das 14 espécies

conhecidas, nove são originárias da África, duas de Madagascar, duas da Índia e uma da Arábia.

As folhas, pelos teores de proteínas e vitamina A e C, são úteis para alimentação animal ou humana, sendo, portanto, aproveitáveis no programa da merenda escolar. As sementes contêm cerca de 30% de óleo rico em oleína, polissacarídeos complexos e duas substâncias antibióticas, a pterigospermina e o ramnosil-oxibenzil-isotiocianato. Os polissacarídeos têm forte poder aglutinante e são utilizados no tratamento da água por floculação e sedimentação, para eliminar a turvação, micropartículas, fungos, bactérias e vírus (MATOS, 2000).

A difusão da *Moringa oleifera* está ligada aos impérios colonialistas do século XIX. Os funcionários ingleses levaram a semente da Índia para a África do leste, principalmente para o Sudão. Inicialmente, o uso dessa árvore era principalmente ornamental. A descoberta das propriedades do óleo contido nas sementes deu um valor comercial a essa planta e, conseqüentemente uma difusão mais ativa por parte dos ingleses, mas também dos franceses e holandeses. No final do século XIX, foi introduzida na América Central (Guatemala) a partir do Haiti. No Brasil, a introdução da árvore foi tímida e limitou-se a objetivos de ornamentação nos parques públicos (BRANDÃO, 1975).



Figura 1- Foto ilustrativa de moringa (*Moringa oleifera* Lam).

O uso farmacêutico de várias partes da árvore foi trabalhado pelo Center for Mesoamerican Studies on Appropriate Technology (CEMAT), na Guatemala, como anti-inflamatório e anti-espasmódico. Foi testada também a ação de suas substâncias antibióticas (CÁCERES et al., 1993).

Os seus compostos antimicrobianos, a pterigospermina e o ramnosil-oxibenzil-isotiocianato, agem principalmente contra *Bacillus subtilis*, *Mycobacterium phlei*, *Serratia marcescens* e ainda sobre *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella* e *Streptococcus*, o que justifica seu emprego na preparação de pomadas antibióticas. Os médicos da Índia, de onde a planta é originária, prescrevem a raiz nas febres intermitentes, epilepsia, histeria, paralisia, reumatismo, hidropisia, hipertrofias do fígado e do baço e como emenagogo (MATOS, 2000).

Segundo Jahn (1981;1986), com uma dosagem de semente adequada, é possível reduzir de 98 a 100% o número de coliformes fecais de águas brutas fortemente túrbidas, após a coagulação. Assim, diversos artigos relatam a atividade *in vitro* de extratos aquosos de moringa quanto à ação de microrganismos Gram-positivos e negativos patogênicos ao homem (CÁCERES et al., 1991).

1.1.3. Camarão

Os camarões pertencem ao mais numeroso filo existente no reino animal, o artrópoda. Eles são classificados no sub-filo Crustacea, que conta com mais de 38.000 representantes. A ordem Decapoda, maior ordem dos crustáceos, abriga também os familiares lagostins, lagostas e caranguejos. A maioria dos decápodos é marinha, mas os lagostins e alguns camarões e caranguejos invadiram a água doce (SOUSA, 2004).

O camarão Sete-barbas (*Xiphopenaeus kroyeri*) mostra uma ampla distribuição geográfica, no Atlântico Oeste, sendo uma espécie de grande importância para a pesca no Brasil (VALENTINI et al., 1991).

1.1.4. Coliformes Fecais

São caracterizados como bastonetes Gram-negativos, não esporulados, de metabolismo aeróbio ou facultativamente anaeróbio, pertencentes à família das Enterobacteriaceae. As bactérias que compõem esse grupo são capazes

de fermentar a lactose, com produção de gás dentro de 48 horas, em temperaturas entre 44,5 e 45,5 °C, comumente em caldo EC (VIEIRA, 2004).

O grupo coliforme fecal é restrito aos organismos que crescem no trato digestório do homem e de animais de sangue quente. Fazem parte deste grupo quatro gêneros da família das Enterobacteriaceae: *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter* e *Citrobacter* (JAY, 1992), mas apenas *E. coli* tem como habitat primário o intestino humano e de certos animais de sangue quente, enquanto *Klebsiella* e *Enterobacter* podem estar presentes em vegetais e solo (FRANCO; LANDGRAF, 1996).

A bactéria *Escherichia coli* é um exemplo clássico de agentes causadores de infecções entéricas, sendo a principal enterobactéria representante do grupo dos coliformes fecais. É considerada a indicadora mais específica de contaminação fecal recente e da eventual presença de organismos patogênicos (BRASIL, 2000), já que a mesma não faz parte da microbiota do pescado marinho.

Embora *E. coli* seja uma bactéria comum em indivíduos saudáveis, certas cepas podem causar infecções intestinais e extra-intestinais em pessoas comprometidas e não comprometidas imunologicamente. Infecções no trato urinário, bacteremia, meningites e doenças diarréicas são as doenças clínicas mais comuns causadas primariamente por um número limitado de cepas patogênicas de *E. coli* (BOPP et al., 1999).

Segundo Evangelista (1998), uma das principais causas de mortalidade infantil é a diarreia, que se dissemina pela ingestão de águas e alimentos contaminados por microrganismos patogênicos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Procedimento das Análises

2.1.1. Preparação do Extrato

O extrato foi preparado utilizando-se 20 g de sementes pré-selecionadas que foram maceradas e logo após, adicionadas em 150 mL de solução salina a 0,85%. Logo em seguida, o extrato era então homogeneizado em um agitador magnético por três horas.

2.1.2. Preparação da Amostra de Camarão

As amostras de camarão Sete-barbas (*Xiphopenaeus kroyeri*) foram adquiridas na feira do Mucuripe, Fortaleza, CE e transportadas ao laboratório em caixa isotérmica, onde foram realizadas as análises microbiológicas

Foram feitas doze coletas de camarão e de cada vez foram adquiridas 300g. Essa quantidade era sempre superior à utilizada para a determinação do Número Mais Provável (NMP) de coliformes fecais (CF), já que era necessário matéria-prima (camarão) também para a elaboração da análise sensorial.

Cada amostra de 125g (75g para as análises microbiológicas e 50g para as análises sensoriais) de camarão era dividida em um lote de 25g e outros dois lotes de 50g cada (Figura 2).

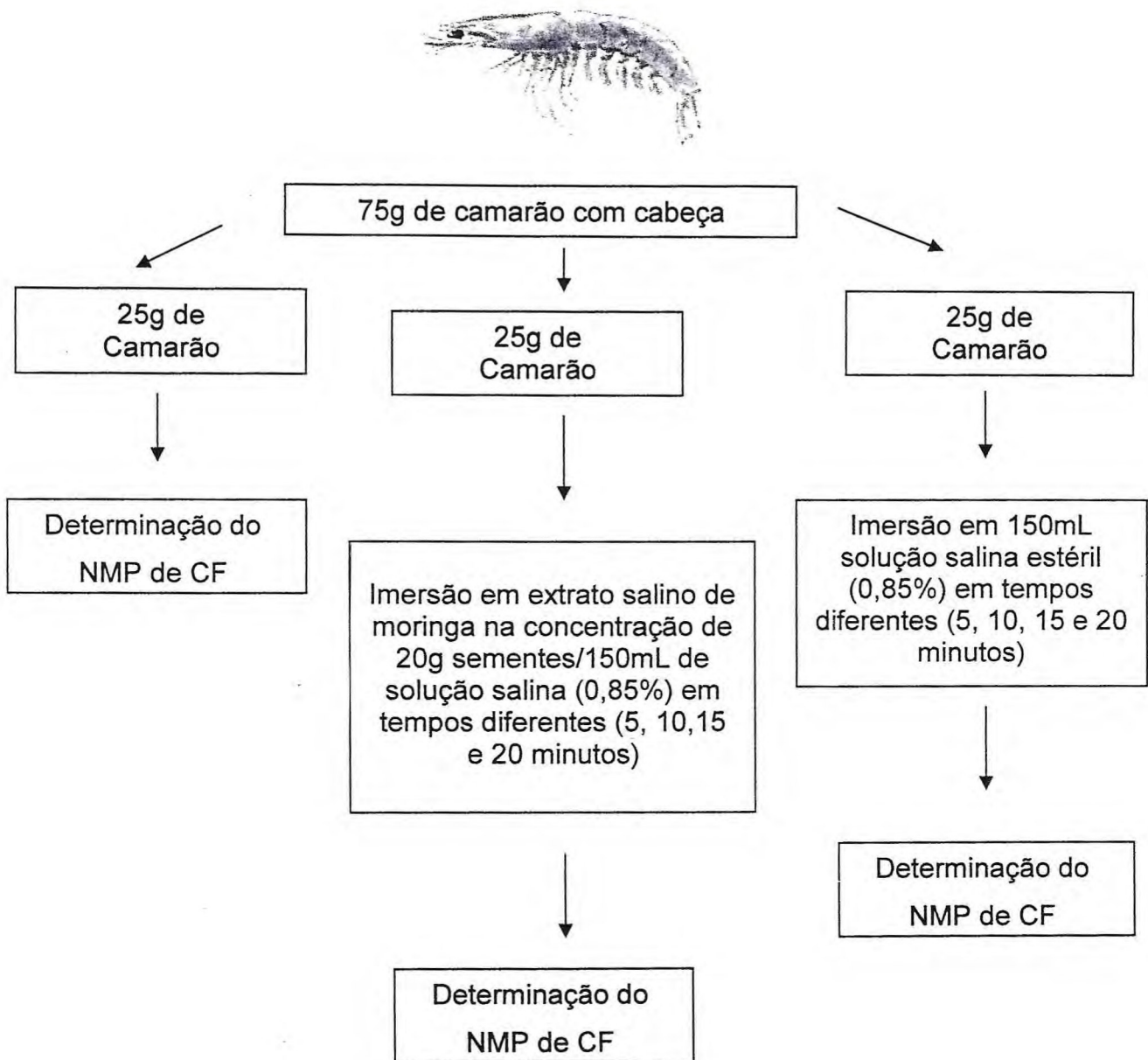


Figura 2 – Fluxograma do preparo da amostra de camarão Sete-barbas (*Xiphopenaeus kroyeri*) proveniente da Feira de Pescado do Mucuripe, Fortaleza-CE.

O primeiro lote foi denominado de Camarão sem Tratamento (CST), e nele era determinado diretamente o NMP de CF. O segundo foi denominado de Camarão com Tratamento em Moringa (CTM), e era imerso em extrato salino de moringa por 5, 10, 15, e 20 minutos em cada ensaio, separadamente. E o terceiro, chamado de Camarão com Tratamento em Salina (CTS), foi imerso em solução salina a 0,85% estéril, pelo mesmo tempo do CTM, para servir de controle ao experimento. Todos os ensaios foram feitos com o camarão inteiro.

Ao término das imersões (em salina e em moringa), eram imediatamente determinados, nas amostras, o NMP de coliformes fecais pela metodologia do MELHMAN et al. (1984).

Após os tratamentos com salina e moringa, as amostras eram fervidas por 5 minutos e logo em seguida, eram submetidos a um teste de análise de aceitabilidade por um grupo previamente treinado do laboratório.

2.1.3. Teste de Colimetria

As três amostras de camarão (25g) eram homogeneizadas, uma de cada vez, (a primeira sem imersão em extrato salino de moringa, a segunda após a imersão no extrato salino de moringa e a terceira após a imersão em solução salina 0,85% esterilizada) em Gral esterilizado e depois eram retiradas 25 g, as quais foram homogeneizadas com 225 mL de solução salina 0,85% esterilizada em um agitador magnético por 10 minutos cada.

Estes homogenatos foram utilizados para os testes de colimetria, após o procedimento das diluições abaixo.

2.1.4. Diluições das Amostras

Para as diluições das amostras: 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} foi usada solução salina esterilizada 0,85% (Figura 2).

2.1.5. Prova Presuntiva

O meio utilizado foi o Caldo Lauril Sulfato-CLS - Difco, reidratado e distribuído em tubos (10 mL) contendo tubos de Durhan invertidos. Os tubos, esterilizados, em série de três, foram, inoculados com hum mL da amostra, na primeira série (diluição de 1:1), hum mL na segunda série de três e hum mL

das demais diluições (10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3}), nas séries subsequentes. Os tubos foram então incubados a $35^{\circ}\text{C}/48\text{h}$. O resultado positivo da prova foi confirmado através da formação de gás nos tubos de Durham e turvação do meio (Figura 3).

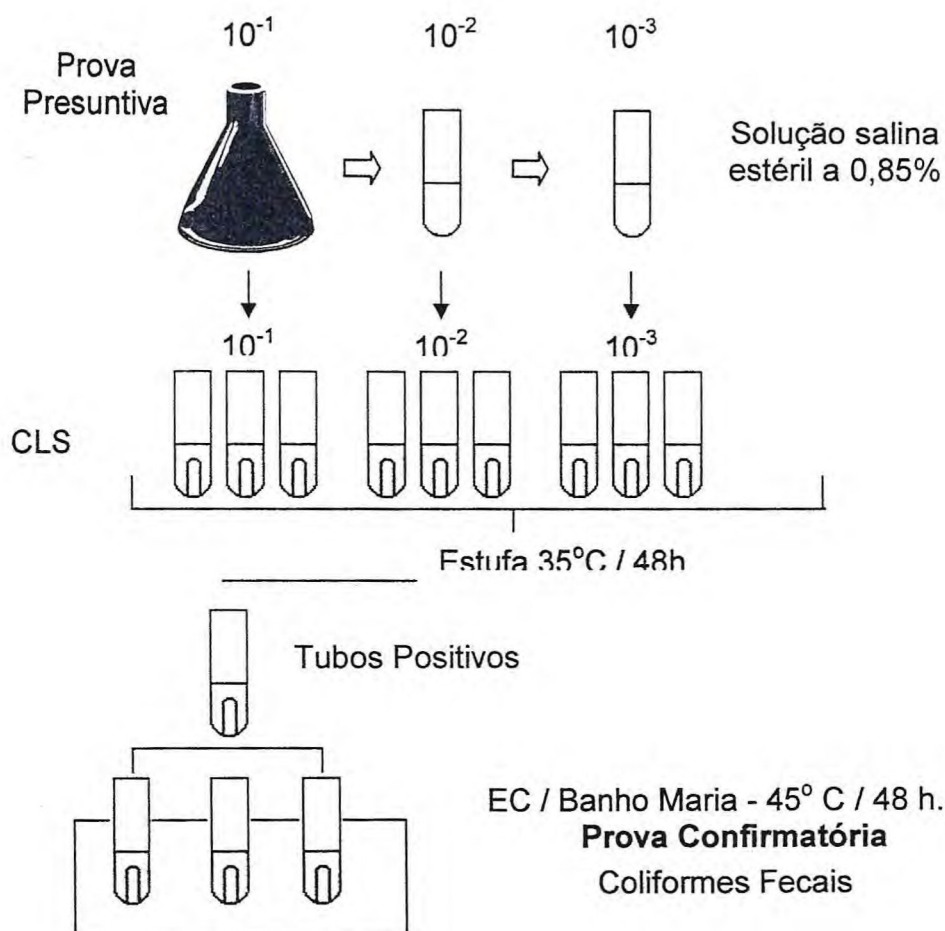


Figura 3- Fluxograma da Determinação de coliformes fecais (testes presuntivos e confirmatórios) das amostras de camarão antes e depois de imersos em solução salina com moringa.

2.1.6. Prova de confirmação dos coliformes fecais (CF)

Alíquotas dos tubos positivos resultantes da prova de presunção foram inoculadas no Meio E.C. - Difco (10 mL em cada tubo) esterilizado, contendo tubos de Durham invertidos. Os tubos foram incubados em banho-maria a $45^{\circ}\text{C}/48\text{h}$ (Figura 3). A positividade desta prova foi verificada através da

turvação do meio e formação de gás nos tubos de Durhan. Os resultados positivos dos tubos de cada série foram anotados, para posterior consulta à tabela do NMP de coliformes fecais (BLODEGETT, 2001).

2.2. Provas Bioquímicas

Foi realizado o teste do IMVIC: Indol, Vermelho de Metila, Voges-Proskauer e teste do Citrato.

2.2.1. Prova de Produção de Indol

A partir do crescimento de cepas no meio Triptona Soja Agar - TSA (Difco), foi retirada uma alíquota com uma agulha previamente flambada e esfriada e então, foi perfurado o meio ágar SIM-Difco, o qual foi mantido em estufa por 24 horas a 35°C. Uma turvação uniforme a partir dessa picada no meio SIM indicava motilidade de amostra.

A produção de indol pela bactéria presente no meio, indica que a prova é positiva quando houver a formação de um anel róseo após a adição de 0,2 mL do reativo 4-dimetilaminobenzaldeído (KOVACS), (COSTA, 1979).

2.2.2. Prova de Utilização do Citrato de Simmons

Da cepa crescida em TSA, foi retirada uma alíquota com uma alça de níquel cromo previamente flambada e então realizado um estriamento no meio inclinado de ágar Citrato de Simmons-Difco. Após 24 horas em estufa a 35°C, algumas bactérias utilizam o citrato como única fonte de carbono. Se houver crescimento, o meio se torna azul intenso indicando a positividade da prova (SIQUEIRA, 1995).

2.2.3. Prova do Vermelho de Metila (VM)

Para a realização desta prova, será retirada uma alíquota da cepa crescida em TSA com alça de níquel cromo que foi adicionada ao caldo VM-VP-Difco e incubado por 24 horas a 35°C.

Esta prova testa a habilidade de certos microrganismos em produzir e manter estáveis produtos ácidos finais da fermentação da glicose (SIQUEIRA, 1995).

Após o período de incubação, foram adicionados 5 gotas do reagente Vermelho de Metila indicando o resultado da prova. A viragem de cor vermelha, resulta em prova positiva.

2.2.4. Prova de Voges Proskauer (VP)

Esta prova testa a habilidade de certos microrganismos em produzir acetilmetilcarbinol, durante a fermentação da glicose (SIQUEIRA, 1995).

Da mesma cepa obtida no TSA, foi retirada uma alíquota com a alça de níquel cromo e adicionado ao caldo VM-VP, sendo incubado por 24 horas a 35°C. Após o período de incubação, foram adicionados para cada mL do meio, 0,6 mL de uma solução de α -naftol (Barrit I) e 0,2 mL de uma solução de KOH a 40% (Barrit II). O desenvolvimento de uma coloração rósea a vermelho rubro, indica prova positiva.

2.3. Análise Sensorial

Foi feito um teste de análise sensorial dos camarões imersos no extrato aquoso de moringa e em solução salina a 0,85% estéril (Figura 4).

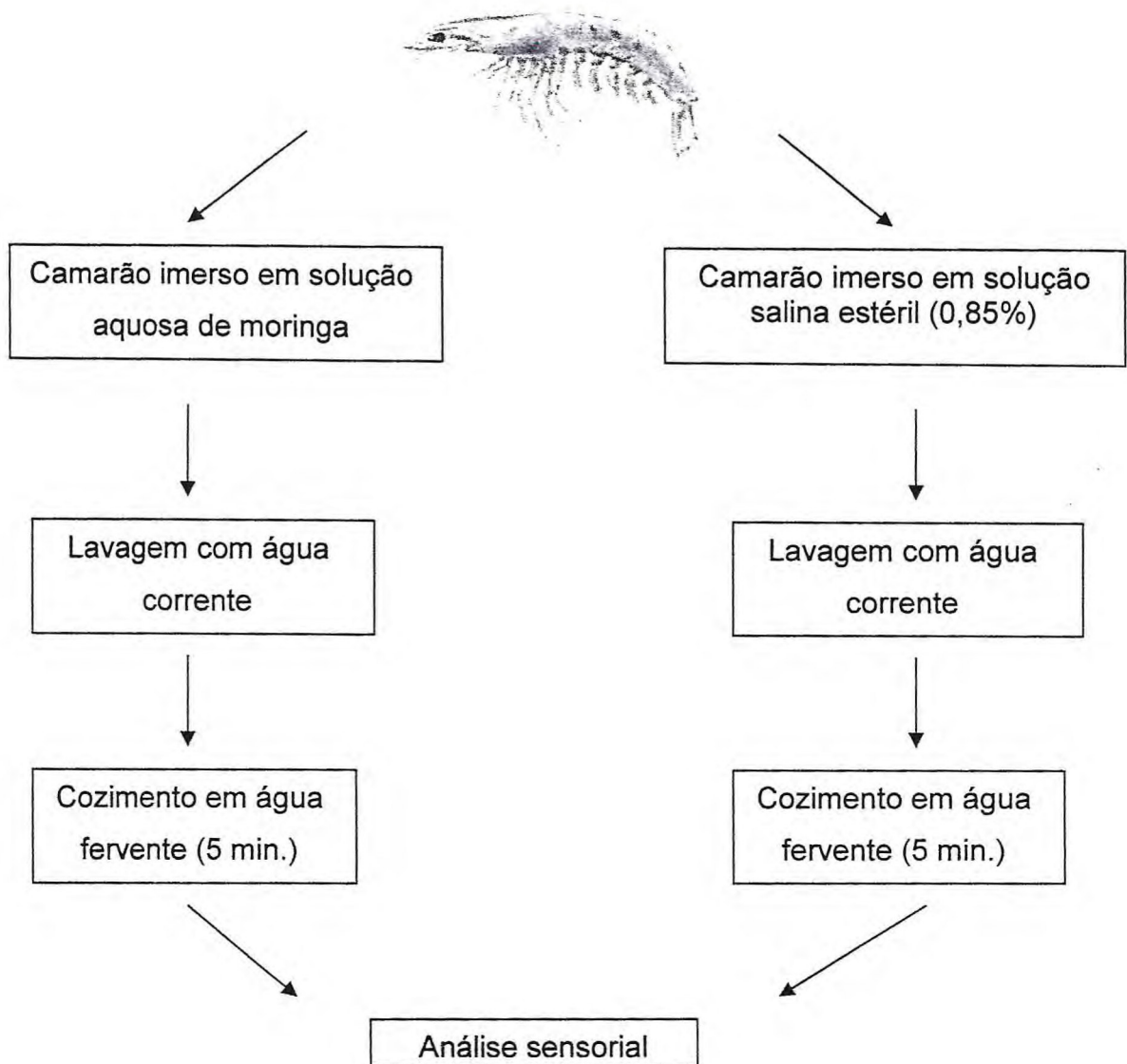


FIGURA 4 – Fluxograma da amostra de camarão Sete-barbas (*Xiphopenaeus kroyeri*) destinada à análise sensorial.

Os camarões logo depois da imersão em salina com e sem moringa eram fervidos e colocados, dois a dois (as amostras) para serem degustados. Os camarões eram etiquetados e só o líder do painel sabia qual era a amostra que havia sido imersa em moringa e em salina. Aos painelistas era apresentada uma ficha (Figura 5) que deveria ser respondida e apresentada ao líder do painel. O teste era de amostra única, segundo MORAES (1988).

Ficha para o Teste da amostra única

Nome: _____ data _____

Por favor, prove esta amostra cuidadosamente. Você pode detectar qualquer sabor estranho

Sim**Não**

Em caso positivo, descreva esse sabor estranho.

Comentários

Intensidade
Traço
Regular
Forte

Figura 5- Ficha para avaliação da amostra única segundo Moraes, 1988.

2.4. Testes Estatísticos

A metodologia estatística utilizada foi a Análise de Variância (ANOVA) bifatorial, considerando-se três tratamentos: camarão sem tratamento (CTS), camarão com tratamento em moringa e camarão com tratamento em salina; e quatro blocos: tempos de imersão com 5 min., 10 min., 15 min. e 20 min. Para se avaliar a possibilidade de haver interdependência tratamento x bloco, foi também determinada a interação entre esses dois grupos de fatores.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As amostras analisadas de camarão Sete-barbas, (*Xiphopenaeus kroyeri*), oriundas da feira de pescado do Mucuripe, Fortaleza-CE, apresentaram valores para o NMP de CF /g de <3,0 a 1.000 (Tabela 1).

Tabela 1 – Número Mais Provável (NMP) por grama de coliformes fecais obtido das amostras de camarão Sete-barbas (*Xiphopenaeus kroyeri*), submetido 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% (controle).

Coletas	Número Mais Provável (NMP)/g de Coliformes Fecais (CF)		Coletas	Número Mais Provável (NMP)/g de Coliformes Fecais (CF)	
1 ^a (5 min.)	CST	9,2	7 ^a (15 min.)	CST	7,4
	CTM	3,6		CTM	<3,0
	CTS	93		CTS	3,6
2 ^a (10 min.)	CST	9,2	8 ^a (20 min.)	CST	7,4
	CTM	3,6		CTM	<3,0
	CTS	3,6		CTS	<3,0
3 ^a (15 min.)	CST	15	9 ^a (5 min.)	CST	23
	CTM	23		CTM	9,2
	CTS	93		CTS	7,4
4 ^a (20 min.)	CST	93	10 ^a (10 min.)	CST	21
	CTM	43		CTM	3,6
	CTS	1000		CTS	9,2
5 ^a (5 min.)	CST	23	11 ^a (15 min.)	CST	36
	CTM	<3,0		CTM	<3,0
	CTS	15		CTS	<3,0
6 ^a (10 min.)	CST	23	12 ^a (20 min.)	CST	3,6
	CTM	93		CTM	<3,0
	CTS	15		CTS	<3,0

De doze coletas, dez (83,33%) apresentaram decréscimo de CF após a imersão em extrato de moringa (Tabela 1). Em três (25%) experimentos houve um aumento na população do NMP de CF quando o camarão foi imerso somente em solução salina 0,85%.

Para uma melhor interpretação dos dados obtidos, adotou-se o valor de 100% para o NMP de CF/g do primeiro lote (CST) em cada coleta. Então a partir desse valor, pôde-se verificar se os tratamentos do camarão com moringa reduziam a carga inicial de CF nas amostras de camarão e se estes valores eram diferentes do camarão tratado apenas com salina (controle).

É dito na literatura (GOUMERLON et al., 1997) que o sal é deletério para coliformes (no caso de águas marinhas) no entanto, na primeira, na terceira e na quarta coleta, é visível o crescimento dos CF no controle (CTS) (FIGURA 6).

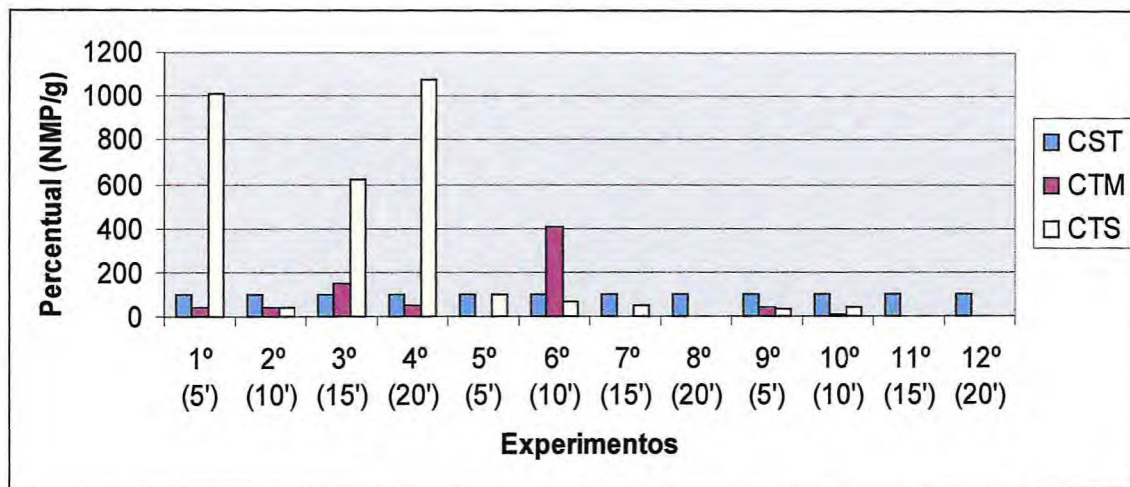


Figura 6- Comparação Percentual da Redução do NMP/g de CF das amostras de camarão Sete-barbas (*Xiphopenaeus kroyeri*) não tratados (CST), com tratamento de extrato de moringa (CTM) e imersos somente na salina (CTS), em diferentes tempos.

A concentração usada de NaCl foi de 0,85%, isotônica com a célula viva, razão porque é possível que alguma contaminação que houvesse no camarão não deveria ser inibida em função de salinidade. Na verdade, a solução salina foi usada como uma lavagem do camarão e a presença de um substrato rico, tal como o camarão, em temperatura de laboratório, pode ter favorecido à multiplicação de coliformes no caldo.

Outro fator que deve ter influenciado nesse índice de CF no CTS é o tempo de geração dos coliformes. *Escherichia coli* pode se multiplicar em

apenas 15 minutos (TORRES, 2005). Em dois dos três experimentos quando o CTS apresentou valores elevados de CF, o tempo era ≥ 15 minutos (Figura 6).

É preciso acrescentar que após observações feitas no decorrer da pesquisa, foi visto que o extrato de moringa só apresentava efeito deletério sobre os CF quando eram novas, recém colhidas e ainda se encontravam nas vagens, com coloração marrons clara e rijas. Diferente de quando elas já chegavam ao laboratório soltas, e retiradas das vagens.

Em todos os experimentos, observou-se que as amostras de camarão Sete-barbas sempre abrigavam CF, indicando assim, uma péssima condição higiênica da feira onde este pescado é vendido, fato já observado por ALBUQUERQUE et al. (*in press*). 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 um outro fator que favorece o aumento da microbiota mesófila dos camarões.

As contaminações podem ser oriundas do modo de captura do pescado em questão, já que o mesmo tem como *habitat* o fundo lamoso da costa litorânea. Sua pesca é feita com o auxílio, na maioria das vezes, de redes de arrasto, as quais quando passam sobre o assoalho removem sedimentos e dejetos aumentando assim o índice de poluição.

Outro fator importante que deve ser ressaltado é o da conscientização dos manipuladores da feira de pescado do Mucuripe, com relação a seus hábitos higiênicos. Em pesquisa recente realizada na mesma feira, REBOUÇAS et al. (2005) recomenda que os vendedores de pescado devem ser orientados para a importância de hábitos higiênicos.

De 62 cepas isoladas nas amostras de camarão com tratamento e sem tratamento foram identificadas: 27 cepas de *E. coli* I, 21 de *Klebsiella* spp, nove de *Enterobacter* spp; quatro de *Citrobacter* spp; e uma de *E. coli* III.

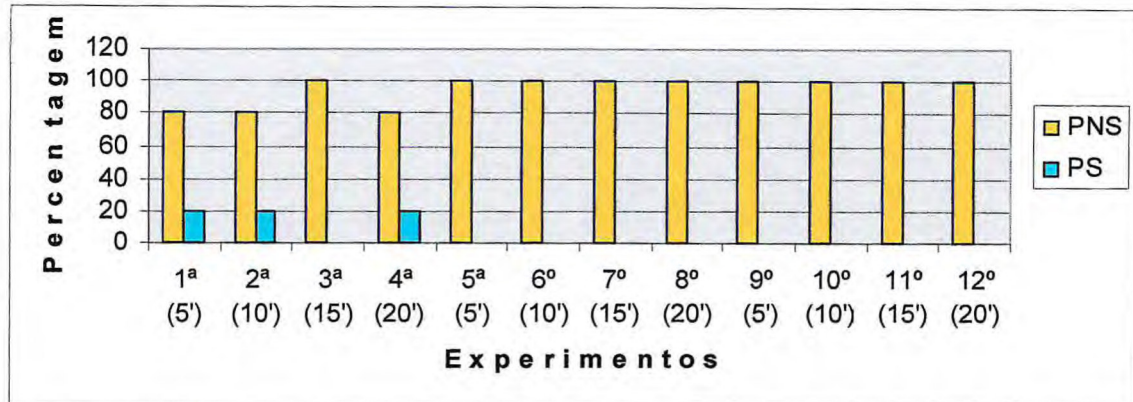
Das 27 cepas de *E.coli* isoladas e identificadas no camarão, com e sem tratamento, 11 foram isoladas do camarão sem tratamento, seis do camarão com tratamento de moringa e 10 do controle (só salina).

Depois da imersão em moringa ainda foram isoladas e identificadas dos camarões seis cepas de *E.coli*: duas da 3ª coleta; três da 6ª coleta e uma da 9ª coleta (os NMPs dos camarões nas 3ª e 6ª coletas não foram reduzidos)

(Tabela 1). Ainda que a moringa tenha efeito bactericida contra *E.coli* (MATOS, 2000) assim mesmo ainda foram isoladas cepas dessa bactéria do camarão que havia sido imerso no extrato salino com moringa.

Não ocorreram diferenças estatisticamente significativas no NMP de CF/g dos camarões submetidos aos diferentes tempos de imersão na moringa, adotados na pesquisa. Devido a esse fato, torna-se aconselhável utilizar o menor tempo de imersão (5 minutos) em extrato salino de moringa, pois o mesmo tende a influenciar menos na análise sensorial do camarão, já que o tempo de contato com o alimento será menor. Por não ser tóxica e sendo usada em certos países da África até como alimento, pois possui proteínas de alto valor digestivo (KALOGO et. al, 2000), a moringa é uma boa opção para ser usada na redução da carga de CF em camarões.

A aceitação dos provadores nos testes de análise sensorial, após o cozimento dos camarões imersos nos extratos de moringa em todos os tempos testados (5, 10, 15 e 20 minutos) foi de 79,3%, ou seja, somente 20,7% dos provadores detectaram algum sabor estranho, de intensidade fraca, nas amostras imersas em extrato salino de moringa. Nos experimentos 1, 2 e 4 um dos provadores sentiu um gosto estranho no camarão cozido (Figura 7), mas de acordo com as respostas dadas na Ficha de Avaliação, este sabor percebido foi de intensidade fraca o que não descarta a possibilidade do uso da moringa para redução do percentual de CF nas amostras cruas, refrigeradas, de camarão comercializado na feira do Mucuripe.



* PNS – Provadores que não sentiram sabor diferente

PS – Provadores que sentiram sabor diferente

Figura 7- Percentual dos resultados do teste de análise sensorial realizado com camarão Sete-barbas (*Xiphopenaeus kroyeri*), submetido aos tratamentos em extrato salino de moringa (*Moringa oleifera*), e em solução salina estéril 0,85% (controle).

4. CONCLUSÕES

Pelos resultados obtidos se conclui que o extrato de moringa tem efeito deletério sobre a população de coliformes fecais e pode ser uma alternativa barata para a redução dessas bactérias no camarão cru *in natura* .

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBUQUERQUE, W. F.; VIEIRA, R. H. S. F.; VIEIRA, G. H. F. Isolamento de *Staphylococcus aureus* na comercialização de camarões, *Xiphopenaeus kroyeri*. **Ciência Agrônômica**. *In press*.
- ALKOFAHI, A.; ATTA, A.H. Pharmacological screening of the anti-ulcerogenic effects of some Jordanian medicinal plants in rats. **Journal of Ethnopharmacology**. n.67, p.341-345, 1999.
- AWADH ALI, N.A.; JU" LICH, W.-D.; KUSNICK, C.; LINDEQUIST, U. Screening of Yemeni medicinal plants for antibacterial and cytotoxic activities. **Journal of Ethnopharmacology**. n.74, p.173–179, 2001.
- BLODEGETT, R. Appendix 2: most probable number from serial dilutions. In: Food and Drug Administration – FDA. **Bacteriological Analytical Manual** on line. FDA/CFSAM, 2001. Disponível em: <http://www.cfsan.fda.gov/~edam/bam-a2.html>. Acesso: 10 de out. 2005.
- BRANDÃO, J. A. Botânica. **Introdução à Taxonomia Vegetal** – C.E.N. 2ª edição, São Paulo, p. 348, 1975.
- BRASIL. Portaria do Ministério da Saúde, n.1469, de 29 de dezembro de 2000. Aprova a norma de qualidade da água para consumo humano. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 2 de janeiro de 2001**. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br/legis/portarias/1469-00htm>>. Acesso em 19 de set. 2005.
- BOPP, C.A. et al. Escherichia, Shigella and Salmonella. In: MURRAY, P.R., et al. (Ed.). **Manual of clinical microbiology**. 7 ed. Washington: ASM, p. 459-474, 1999.
- CÁCERES, A.; CABRERA, O.; MORALES, O.; MOLLINEDO, P.; MENDIA, P. Pharmacological properties of Moringa oleifera. 1: Preliminary screening for antimicrobial activity. **Journal of Ethnopharmacology**. n.33, p.213-216, 1991.
- CÁCERES, A. et al. Plants used in Guatemala, for the treatment of gastrointestinal disorders. 3. Confirmation of activity against enterobacteria of 16 plants. **Journal of Ethnopharmacology, Limerik**, v. 38, p. 31-38, 1993.
- COSTA, L. J. P. Análise bacteriológica da água. In: **Dicotomia dos coliformes em organismos fecais e não fecais**. Edit. 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 Medical**. cap.42, p.55-61, 1981.

EVANGELISTA, N.S.S. **Identificação de cepas de *E. coli* enteropatogênica nas praias de Fortaleza e fatores de virulência associados a elas.** Monografia (Conclusão do curso de graduação em Engenharia de Pesca) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza – Ceará. P. 37, 1998.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos.** São Paulo, Edit. Atheneu, p.182, 1996.

GASPAR JR, J.C.; VIEIRA, R.H.S.F.; TAPIA, M.S.R. Aspectos sanitários do pescado de origem de água doce e marinha, comercializado na feira da Gentilândia, Fortaleza – Ceará. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v.11, n. 51, p.20-23, set. /out. 1997.

GILANI, A.H.; AFTAB, K.; SURIA, A. Pharmacological Studies on Hypotensive and Spasmolytic Activities of Pure Compounds from *Moringa oleifera*. **Phytotherapy Research**, vol.8. p.87-91, 1994.

GOURMERLON, M., TOUATI, D., POMMEPUY, M & CORMIER, M. Survival of *Escherichia coli* exposed to visible light in seawater: analysis of *rpoS*-dependent effects. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 43, p.1036-1043, 1997.

JAHN, S. A. A. "Traditional water purification in tropical developing countries". **Existing Methods and Potential Application**. GTZ, p. 273, 1981.

JAHN, S. A. A. "Proper use of African natural coagulants for rural water supplies". **Research in the Sudan and a guide for new projects**. GTZ, p. 541, 1986.

JAY, J.M. **Modern Food Microbiology**. Ed. 4, p. 413-433, 1991.

KALOGO, Y.; ROSILLON F.; HAMMES F.; VERSTRAETE W. Effect of a water extract of *Moringa oleifera* seeds on the hydrolytic microbial species diversity of a UASB reactor treating domestic wastewater. **The Society for Applied Microbiology**, v. 31, p. 259-264, 2000.

LANCETTE, G. A.; BENNETT, R. W. *Staphylococcus aureus* and Staphylococcal Enterotoxins. In: DONNES, F. P.; ITO, K. (Ed). **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of foods**. 4th ed. Washington: American Public Health Association, cap. 39, p. 387-403, 2001.

MATOS, F.J. A. **Plantas Medicinais: guia de seleção e emprego de plantas usadas em fitoterapia no Nordeste do Brasil** 2^a edição. Fortaleza, IU, p. 258-259, 2000.

MELHMAN I. J., et al. Coliform Bacteria. In: BARNARD, R. J.; McCLURE, F. D. **Bacteriological Analytical Manual of the Division of Microbiology**. 6^a ed. Arlington: Association of Official Analytical Chemistry, p. 5.01-5.07. 1984.

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. **Higiene Alimentar**. São Paulo, v. 16, n. 99, p.102-106, agosto/2002.

MORAES, M.A. C. **Métodos para avaliação sensorial dos alimentos**. Editora da Universidade Estadual de Campinas, 6ª Edição, Campinas, p. 93,1998.

NASCIMENTO, G.G.F. et al. Antibacterial activity of plant extracts and phytochemical on antibiotic-resistant bacteria. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 31, p. 247-256, 2000.

REBOUÇAS, R. H.; VIEIRA, C. B.; VASCONCELOS, R. H.; VIEIRA, R. H. S. F. *Staphylococcus* coagulase positiva em camarão marinho *Sete-barbas* *Xiphopenaeus kroyeri* comercializado na feira livre de pescadao do Mucuripe, Fortaleza-CE. **Anais: XIV Congresso Brasileiro de Engenharia de Pesca – CONBEP**, Fortaleza, 18 a 22 de outubro de 2005.

SIQUEIRA, R. S. **Manual de Microbiologia de Alimentos**. Embrapa – Merck, Rio de Janeiro, p. 159, 1995.

SOUSA, D. B. R.; **Sobrevivência de *Vibrio parahaemolyticus* em camarão *Sete-barbas* *Xiphopenaeus kroyeri* estocado em temperaturas de resfriamento e congelamento**. Monografia (Conclusão do curso de graduação em Engenharia de Pesca) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza – Ceará. p.29, 2004.

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, p. 16, 2005.

VALENTINI, H, F D'INCAO, LF RODRIGUES, JE REBELO NETO &, LG DOMIT.. **Análise da pesca do camarão-sete-barbas (*Xiphopenaeus kroyeri*) nas regiões Sudeste e Sul do Brasil**. Atlântica, Rio Grande, 13 (1):143-157; 1991.

VIEIRA, R. H. S. F. **Microbiologia, higiene e qualidade do pescado**. Ed. VARELA, São Paulo, p. 59-299, 2004.