

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**  
**FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

**Atividade antibacteriana *in vitro* e *in situ* de *Allium tuberosum* - Rottler  
ex Sprengl (alho “nirá” ou alho “japonês”, “jiucaí” ou alho “chinês”) –  
Liliaceae - sobre agentes de toxinfecções alimentares.**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**Cristina Dias Araújo**

**PORTO ALEGRE**  
**2007**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**  
**FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

**Atividade antibacteriana *in vitro* e *in sito* de *Allium tuberosum* - Rottler  
ex Sprengl ( alho “nirá” ou alho “japonês, “jiucaí” ou alho “chinês”) –  
Liliaceae - sobre agentes de toxinfecções alimentares**

**Cristina Dias Araújo**

Dissertação apresentada como  
requisito parcial para obtenção de  
grau de mestre em Ciências  
Veterinárias na sub-área de  
Medicina Veterinária Preventiva  
Orientador: Prof. José Maria Wiest

Porto Alegre  
2007

APROVADO POR:

---

**PROF. DR. CLAUDIOMAR SOARES BROD**

Membro da Banca

---

**PROF<sup>a</sup>. DR<sup>a</sup>. INGRID BERGMAN INCHAUSTI DE BARROS**

Membro da Banca

---

**PROF. DR. GUIOMAR PEDRO BERGMANN**

Membro da Banca

## **AGRADECIMENTOS**

Aos Professores César Avancini e Heloisa Carvalho pelo incentivo e colaboração neste trabalho.

Ao Médico Veterinário Ydérzio Vianna, pela análise estatística.

Ao meu orientador Prof. José Maria Wiest , pelo carinho e oportunidade de convivência e aprendizado, e por sua paixão pelos saberes e sabores populares.

Aos meus colegas Ângela e Giovani pelo apoio e estímulo nas horas difíceis.

A Viviane Bermudez, uma grande amiga, que infelizmente nos deixou muito cedo e faz uma falta imensa.

Às Bolsistas da equipe pela ajuda e companheirismo.

Ao Roberval e Mariângela pelas horas divertidas e empréstimos de materiais do Laboratório de Bromatologia.

Ao Instituto de Ciências e Tecnologia de Alimentos da UFRGS.

À Faculdade de Veterinária da UFRGS

À minha Família pela compreensão e apoio.

Ao meu amor André pelo apoio e companheirismo e ao nosso Gabriel que está a caminho.

## SUMÁRIO

	Páginas
LISTA DE TABELAS .....	06
RESUMO.....	08
ABSTRACT .....	09
<b>CAPÍTULO I</b> .....	10
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	11
1.1 Considerações iniciais .....	11
1.2 O problema.....	12
1.3 As hipóteses .....	12
1.4 Justificativa .....	12
<b>2 REVISÃO BIBLIOGRAFICA</b> .....	14
2.1 Sistema antimicrobianos naturais.....	14
2.2 Condimentos ou especiarias – Atividade antimicrobiana.....	15
2.3 Atividade antimicrobiana do alho nirá.....	18
2.4 Produtos lácteos e inóculos .....	20
2.5 Produtos lácteos .....	21
2.6 Microrganismos e alimentos .....	22
2.7 Doenças transmitidas por alimentos.....	22
2.7.1 <i>Escherichia coli</i> .....	23
2.7.2 <i>Salmonella Enteritidis</i> .....	23
2.7.3 <i>Staphylococcus aureus</i> .....	24
2.7.4 <i>Enterococcus faecalis</i> .....	24
<b>CAPÍTULO II</b> .....	25
<b>ARTIGO:</b> Atividade antibacteriana <i>in vitro</i> e <i>in sito</i> de <i>Allium tuberosum</i> - Rottler ex Sprengl ( alho “nirá” ou alho “japonês, “jiucaí” ou alho “chinês”) – Liliaceae - sobre agentes de toxinfecções alimentares .....	26
<b>APÊNDICE A:</b> Análise Estatística .....	43
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS</b> .....	70

## LISTA DE TABELAS

**TABELA 1** – Representações das variáveis Intensidade da Atividade de Inibição Bacteriana (IINIB) e Intensidade de Atividade de Inativação Bacteriana (IINAB) e suas correspondentes diluições e doses infectantes dos inóculos bacterianos.....

**TABELA 2** – Intensidade da Atividade de Inibição Bacteriana (IINIB) e Intensidade de Atividade de Inativação Bacteriana (IINAB) de extrato alcoólico a 50% de diferentes acessos de *Allium tuberosum* - Rottler ex Sprengl ( alho “nirá”ou alho “japonês”, “jiucaí” ou alho “chinês”) – Liliaceae - sobre *Escherichia coli* (ATCC 11.229), determinadas em diferentes meios de cultivo bacteriano, segundo tempo de exposição.

**TABELA 3** – Intensidade da Atividade de Inibição Antibacteriana de extrato alcoólico a 50% de diferentes acessos de *Allium tuberosum* - Rottler ex Sprengl ( alho “nirá”ou alho “japonês”, “jiucaí” ou alho “chinês”) – Liliaceae - sobre *Escherichia coli* (ATCC 11.229), determinadas em diferentes tempos de exposição:

**TABELA 4:** Intensidade da Atividade de Inibição Bacteriana (IINIB) e Intensidade da Atividade de Inativação Bacteriana (IINAB) de extrato hidroalcoólico a 50% do acesso Eldorado do Sul de *Allium tuberosum* - Rottler ex Sprengl - Liliaceae - (alho “nirá” ou alho japonês, “jiucaí” ou alho “chinês”) sobre bactérias toxinfecivas alimentares, segundo diferentes tempos de exposição

**TABELA 5** : Intensidade de Atividade de Inativação Bacteriana (IINAB) de *Allium tuberosum* - Rottler ex Sprengl ( alho “nirá” ou alho “japonês”, “jiucaí” ou alho “chinês”) – Liliaceae - sobre *Escherichia coli* (ATCC 11.229) e *Salmonella* Enteritidis (ATCC 11.076) determinada através de Teste de Suspensão em simulação de preparação alimentar da gastronomia chinesa (50% de alho nirá em 50% de caldo de carne/BHI), segundo concentração do inóculo bacteriano e tempo de exposição.

**TABELA 6:** Intensidade de Atividade de Inativação Bacteriana (IINAB) de extrato alcoólico do acesso “Lami” de *Allium tuberosum* - Rottler ex Sprengl ( alho “nirá” ou alho “japonês”, “jiucaí” ou alho “chinês”) - Liliaceae - reidratado à condição original da planta verde, sobre *Escherichia coli* (ATCC 11.229 ) determinada através de Teste de Suspensão em simulações de preparação alimentar( requieijão cremoso)

condimentado com diferentes concentrações do extrato, segundo diferentes concentrações bacterianas finais no alimento a partir da contaminação inicial de  $10^6$  U.F.C/g, em quatro tempos de confrontação.

## RESUMO

Buscou-se identificar e comparar a atividade antibacteriana do extrato alcoólico de três acessos de *Allium tuberosum* - Rottler ex Sprengl – Liliaceae - originários da região metropolitana de Porto Alegre/RS frente a agentes de toxinfecções alimentares, especificamente: *Staphylococcus aureus* (ATCC 25.923), *Enterococcus faecalis* (ATCC 19.433), *Salmonella* Enteritidis (ATCC 11.076) *Escherichia coli* (ATCC 11.229). Inicialmente, *in vitro*, através de Teste de Diluição, por meio de Sistema de Tubos Múltiplos e o emprego de desinibidores bacterianos, determinou-se a Intensidade da Atividade de Inibição Bacteriana (IINIB) e a Intensidade de Atividade de Inativação Bacteriana (IINAB), revelando-se capacidades seletivas sobre os diferentes inóculos Gram-negativos, que atingiram inibição e inativação máximas e permanentes para *Salmonella* às 48 horas de confrontação inóculo/extrato, e às 72 horas de confrontação para *Escherichia coli*, respectivamente. As bactérias Gram-positivas (*Staphylococcus* e *Enterococcus*) apresentaram resistência total nas diferentes confrontações. Não houve diferença significativa na atividade antibacteriana das três amostras de alho em estudo. Em um segundo momento, para um dos acessos de alho, através de Teste de Suspensão, determinou-se IINAB em duas simulações de preparação alimentar, requeijão cremoso e caldo de carne, condimentados com alho nirá, respectivamente. No modelo requeijão, *E.coli* mostrou-se completamente resistente em concentrações finais de  $10^3$ ,  $10^4$  e  $10^5$  U.F.C./mL, estas imediatamente acima da concentração máxima tolerada pela legislação brasileira, em três tempos de confrontação (24, 48, 72 horas), nas concentrações finais do extrato alcoólico de 10, 20 e 30 %, atendendo à legislação quanto à padrão de identificação e qualidade deste alimento. No caldo de carne, na concentração constante de 50 % de planta originalmente verde, *Salmonella* foi inativada totalmente na concentração de  $10^5$  U.F.C./mL já às 24 horas de confrontação, enquanto *Escherichia* atingiu este patamar às 48 horas de confrontação. Comenta-se, outrossim, o significado da inibição bacteriana demonstrada, relacionada à preditividade dos resultados de diagnóstico bacteriológico em protocolos de investigação de surtos toxinfecivos alimentares.

Palavras-chaves: *Allium tuberosum*, condimentos vegetais, atividade antibacteriana.



## ABSTRACT

It was looked for to identify and to compare the antibacterial activity of the alcoholic extract of three accesses of *Allium tuberosum* - Rottler ex Sprengl - Liliaceae - original from Porto Alegre (RS/BR) metropolitan area, confronted to alimentary toxic infections agents, specifically: *Staphylococcus aureus* (ATCC 25.923), *Enterococcus faecalis* (ATCC 19.433), *Salmonella Enteritidis* (ATCC 11.076) *Escherichia coli* (ATCC 11.229). Initially, *in vitro*, through Test of Dilution, System of Multiple Tubes and the use of bacterial uninhibitors, was determined the Intensity of the Activity of Bacterial Inhibition (IINIB) and the Intensity of Activity of Bacterial Inactivation (IINAB), being revealed selective capacities on the different Gram-negative inoculums, that reached inhibition and maximum and permanent inactivation for *Salmonella* at 48 hours of confrontation inoculum/extract, and 72 hours of confrontation for *Escherichia coli*. The Gram-positive bacteria (*Staphylococcus* and *Enterococcus*) presented total resistance in the different confrontations. There was not significant difference in the antibacterial activity of the three accesses of garlic in study. Subsequently, for one of the samples of garlic, through Test of Suspension, was determined IINAB in alimentary simulation of creamy cheese seasoned with alcoholic extract in final concentration of 10, 20 and 30%, assisting to the legislation as for to identification pattern and quality of this food; as well as in simulation of alimentary preparation of bouillon, with the plant recently picked, in the final concentration of 50%. In the model creamy cheese, *E.coli* was shown completely resistant in final concentrations of  $10^3$ ,  $10^4$  and  $10^5$  U.F.C./mL, these immediately above the maximum concentration tolerated by the Brazilian legislation, in three times of confrontation (24, 48, 72 hours), in all of the final concentrations of the alcoholic extract. In the conditions of the simulated bouillon, *Salmonella* was totally inactivated in the concentration of  $10^5$  U.F.C./mL already at 24 hours of confrontation, while *Escherichia* reached this point at 48 hours of confrontation. Is commented, likewise, the meaning of the demonstrated bacterial inhibition, related to the prediction of the results of bacteriological diagnosis in protocols of alimentary toxic infective outbreaks investigation.

Keywords; *Allium tuberosum*, vegetal condiments, antibacterial activity,

## **CAPÍTULO I**

## INTRODUÇÃO

### 1.1 Considerações Iniciais

Por definição, condimentos e especiarias são produtos aromáticos de origem vegetal empregados principalmente para conferir sabor aos alimentos. Além desta utilidade possuem também propriedades antimicrobianas, antioxidantes e medicinais e aproximadamente 70 condimentos diferentes são largamente cultivados e utilizados em todo mundo, relacionados à gastronomia étnica e cultural e disseminados através dos movimentos migratórios e mesmo turísticos (SHELEF,1983). Para o autor, porém, as concentrações da maioria dos condimentos empregadas para realçar o aroma e sabor dos alimentos variam entre 0,5% a 1,0% , na qual não inibiriam o desenvolvimento microbiano, o que dependeria de concentrações superiores a 1,0%.

Por sua vez, Ozcan & Erkmen (2001) destacam o interesse generalizado em descobrir novos agentes antimicrobianos, devido ao alarmante aumento de microorganismos resistentes aos antibióticos disponíveis.

Deans & Richtie (1987), bem como Bara (1992), ressaltam a demanda de substituição dos aditivos sintéticos por produtos naturais existentes no diferentes condimentos, na dependência fundamental da determinação de suas concentrações ideais nos alimentos.

Na indústria alimentícia, sabe-se que a conservação química limita a condição de “alimento natural”, embora se apresente, por vezes, como condição imprescindível e fundamental na questão de segurança alimentar (BEDIN, *et al* 1999).

Segundo Kyung *et al.* (1996), a utilização de condimentos naturais, de origem vegetal, torna o alimento mais atrativo ao consumidor, por não apresentarem efeito tóxico, mesmo quando empregadas em concentrações relativamente elevadas. Além dos benefícios proporcionados à saúde, diversos estudos têm demonstrado o efeito inibidor de condimentos no desenvolvimento de microrganismos deterioradores e mesmo patogênicos, veiculados por alimentos. As diferentes civilizações, através de complexas manifestações de arte e cultura, mormente gastronômicas, apropriam-se dos diferentes recursos naturais renováveis, disponíveis localmente, para agregar palatabilidade e qualidade sanitária aos seus alimentos.

O presente estudo propõe avaliar *in vitro* a atividade antibacteriana de amostras de três acessos de *Allium tuberosum* - Rottler ex. Sprengl– Liliaceae - procedentes da região metropolitana de Porto Alegre/RS/BR, frente a agentes toxinfetivos alimentares padrões, bem como testar sua eficácia em duas simulações de preparações alimentares, relacionando-a, outrossim, à preditividade diagnóstica dos resultados observados.

## 1.2 O problema

O *Allium tuberosum* Rottler ex Sprengl – Liliaceae -, utilizado como condimento *in natura*, em diferentes condições de extração, possui atividade antibacteriana seletiva em alimentos?

## 1.3 A hipótese

Como hipótese principal neste projeto, espera-se que o alho nirá (*Allium tuberosum* Rottler ex Sprengl - Liliaceae) apresente atividade antibacteriana seletiva sobre contaminantes, em preparações alimentares condimentadas.

## 1.4 Justificativa

A Atenção Primária em Saúde é definida pela utilização de tecnologias práticas, cientificamente asseguradas, socialmente aceitáveis, economicamente viáveis e que possam ser postas ao alcance de toda a comunidade. Neste sentido, a valorização do potencial da medicina tradicional e o conseqüente uso das plantas medicinais vêm sendo enfatizados como suportes que a fundamentam. Este fato é reforçado pelas diferentes resoluções das Assembléias Mundiais de Saúde, da Organização Mundial de Saúde, sintetizadas por "*save plants that save lifes*", a súmula da declaração de Chiang-Mai, em 1988 na Tailândia ( AKERLE, 1988 ).

Almeida Meirelles *et al.* (1996) exploram a existência de espaços no processo de produção e escoamento de produtos agrícolas visualizando, no cooperativismo e na industrialização, a viabilidade das unidades de produção familiar-industrialização, pois o processo tangencia formas e procedimentos de aproveitamento de nichos de mercado

para adquirir uma parcela de valor agregado aos produtos agrícolas. Os autores acrescentam que, do ponto de vista do mercado, é necessário destacar que a procura atual por produtos diferenciados vem abrindo mercados que viabilizam a produção para demandas específicas. As agroindústrias familiares, dentro desta perspectiva, necessitam atender a estes requisitos e desenvolver linhas de produtos diversificados que possam atrair consumidores, bem como concorrer com um setor oligopolista no qual os preços são fixados unilateralmente.

No Brasil, destacam-se as análises pioneira e clássicas de Josué de Castro - um dos fundadores da FAO - sobre o fenômeno da fome, ainda na década de 1930. A agricultura camponesa familiar já figurava como componente estratégico num modelo de desenvolvimento com ênfase no mercado interno, sem subestimar a diversificação das exportações e valorizando a integração regional. A instalação do CONSEA (Conselho Nacional de Segurança Alimentar) em 1993 contribuiu para a definitiva introdução da questão agroalimentar e da fome como temas prioritários na agenda política nacional. Um de seus méritos foi dar notoriedade ao quadro dramático da existência de 32 milhões de miseráveis no campo e nas cidades. “A fome não pode esperar” foi o lema que inspirou os fundamentos da Segurança Alimentar / Nutricional sustentável quais sejam, a garantia de sua qualidade biológica, sanitária, nutricional e tecnológica, bem como a garantia de acesso à informação, educação, alimentar, nutricional (Maluf *et. al.*, 1996).

A Segurança Alimentar deve assegurar que toda a população disponha de acesso físico e econômico a alimentos inócuos e nutritivos, que permitam manter uma vida sadia, ativa e produtiva. (OPAS/OMS, 2001). O conceito brasileiro de Segurança Alimentar, elaborado na I Conferência Nacional de Segurança Alimentar, em 1994, refere que devem ser garantidos alimentos para todas as pessoas em quantidades de macro e de micronutrientes suficientes e com baixo custo.

O programa de Agroindústria Familiar implantado no Estado do Rio Grande do Sul, em 1999, busca estimular a organização solidária dos agricultores familiares, em agroindústrias, valorizando a identidade cultural, proporcionando a elaboração de produtos diferenciados e de qualidade para o mercado local e regional. Um modelo alternativo baseado na sustentabilidade, na preservação do meio ambiente e no

desenvolvimento regional (Governo do Estado do Rio Grande do Sul/ Secretaria da Agricultura e Abastecimentos,1999).

## **2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1 Sistemas antimicrobianos naturais**

A indústria de alimentos necessita eficiência nas respostas às mudanças constantes dos requisitos exigidos pelos consumidores. A tendência recente inclui o desejo por alimentos de alta qualidade, preferencialmente que não estejam extremamente processados e o mais naturais e possível (GOULD,1995).

Há uma pressão da indústria de alimentos para que sejam removidos completamente conservantes químicos ou que se adotem alternativas naturais para a preservação do tempo de vida dos produtos alimentícios. Entre muitas alternativas encontram-se os Sistemas Antimicrobianos Naturais, que poderiam ser usados no lugar de outras substâncias consideradas como não naturais (Tassou *et al.* 1995). Seguindo esta tendência e tomando como base a toxicidade ou suspeita de toxicidade de alguns aditivos químicos aos consumidores e o abuso da utilização de compostos químicos, os aspectos legislativos da produção de alimentos têm demandado uma diminuição dos índices e utilização de aditivos químicos na indústria de alimento (COOTE, BRULL 1999).

A concepção química de alimentos consiste não só em proteger o alimento por uma substância química determinada, mas sim em promover um ambiente hostil aos microorganismos nocivos, utilizando os fatores possíveis (MULTON, 1988).

Com a difusão das modernas técnicas de preservação, as pesquisas sobre a atividade antimicrobiana das plantas se haviam tornado esporádicas, mas nesta última década, porém, pôde-se observar um interesse renovado pela atividade antimicrobiana dos condimentos. Admite-se agora que os condimentos e ervas podem ter mais que uma função em alimentos nos quais são adicionados. Em adição à propriedade aromatizante, certos condimentos prolongam a vida útil de estocagem de alimentos por sua atividade bacteriostática e bactericida, prevenindo o começo da deterioração e o crescimento de microorganismos indesejáveis (SHELEF, 1983).

Avancini (1995) verificou a atividade antibacteriana do decocto de *Baccharis trimera* (Less) D. C. – Compositae (carqueja), através de testes de padrões internacionais (desinfetograma), em bactérias Gram-positivas (*Staphylococcus aureus* e *Streptococcus uberis*) e Gram-negativas (*Salmonella pullorum* e *Escherichia coli*), de importância em saúde e produção animal, demonstrando que, embora houvesse ação antibacteriana nas Gram-negativas, as Gram-positivas apresentaram maior sensibilidade ao extrato da planta, indicando seletividade. Esse estudo confirmou o atributo antisséptico conferido popularmente à carqueja.

Bedin (1998), estudando bactérias de interesse em alimentos, demonstrou que o decocto de *Origanum applii* (Domin.) Boros –Labiatae- (orégano) apresentava atividade antibacteriana sobre *Salmonella* Enteritidis, *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, abrindo novas possibilidades para o processamento e conservação de alimentos com uso de condimentos antimicrobianos. Em suas conclusões, sugere que a determinação da atividade antibacteriana de plantas permite subsidiar novas pesquisas reproduzindo tecnologias de processamento de alimentos. Os sistemas antimicrobianos naturais, com o uso de condimentos antimicrobianos associados a processos tecnológicos de conservação de alimentos, constituem um conceito novo e promissor nos programas de segurança alimentar.

## **2.2 Condimentos ou especiarias - Atividade antimicrobiana**

As especiarias e os condimentos têm sido usados desde os tempos pré-históricos. No antigo Egito, determinadas especiarias foram empregadas para embalsamar e, em muitos países, elas são usadas para fins medicinais, bem como em locais de clima quente onde falta refrigeração, têm servido para mascarar o sabor e odor de carnes em início de decomposição. O interesse da microbiologia por esses condimentos se dá por quatro razões fundamentais: os alimentos podem mofoar, se mantidos à umidade e a temperaturas inadequadas, podendo também conter quantidades de microorganismos que, ao serem introduzidos nos alimentos, podem provocar alterações e ocasionar enfermidades a quem os ingere. Em certos casos, podem ainda estimular o metabolismo microbiano e exercer certa ação antimicrobiana, ajudando na conservação de alimentos (ICMSF,1980).

Os sistemas de alimentação humana têm sofrido radicais modificações nos grandes centros urbanos, que requerem alimentos industrializados, quase sempre de alto valor nutritivo, porém carentes de cor e sabor que, no entanto, são acrescentados por corantes e condimentos naturais, processados ou sintéticos. Os condimentos, além de melhorar o sabor dos alimentos, exercem função reguladora ponderal sobre o organismo, estimulando a digestão através da salivação e da secreção do suco digestivo. As bases químicas destes produtos naturais presentes nas ervas condimentares e especiarias são responsáveis pelo efeito fisiológico benéfico à saúde e ao bem estar humanos (GIACOMETTI, 1989).

Especiarias e ervas são usadas diariamente em alimentos, principalmente por seus sabores e aromas. Suas concentrações nos alimentos são determinadas pela preferência de sabores e normalmente se encontram entre 0,5 a 1% no produto final. Os componentes dos sabores consistem em compostos como alcoóis, aldeídos, ésteres, terpenos, fenóis, ácidos orgânicos e outros, muitos dos quais ainda não foram totalmente identificados. Estima-se que uma grande quantidade de especiarias são consumidas anualmente nos Estados Unidos, sendo que 20% destas são usadas na indústria de carnes (SHELEF *et al.*, 1980).

Consideram-se especiarias as substâncias aromáticas ou picantes de origem tropical, usadas para dar sabor e odores aos alimentos, tais como a pimenta, a canela, o gengibre e o cravo. Recentemente têm sido incluídas nesta classificação as folhas de algumas plantas de clima temperado como o orégano, a alfavaca, a manjerona, o louro e outras sementes de plantas que, em alguns casos, são tropicais como a mostarda e o anis. Atualmente a Associação de Comércio define estes produtos como “aqueles de origem vegetal que basicamente são usados para temperar os alimentos” (ICMSF, *op cit.*).

Os condimentos são plantas aromáticas secas, usadas para aromatizar alimentos e bebidas, incluindo folhas como as do alecrim e da sálvia, flores e botões florais como cravo-da-índia, bulbos como alho e a cebola, rizomas como asafétida, frutos como a pimenta, cardamomo, bem como outras partes da planta (SHELEF, *et al.*, *op.cit.*).

O Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (Brasil, Ministério da Agricultura, Abastecimento e Reforma Agrária, 1997) entende por condimento o produto contendo substâncias aromáticas, sápidas, com ou



sem valor alimentício, empregado com o fim de temperar alimentos, dando-lhes melhor aroma e sabor. Permite 28 diferentes corantes e condimentos vegetais, fornece os nomes científicos e prevê que esteja a cargo do DIPOA a avaliação de origem animal.

Quanto à contaminação de condimentos, Shelef *et al.* (*op.cit.*) referem que poucos microorganismos estão presentes em condimentos com alta atividade antimicrobiana como orégano, sálvia e cravo-da-índia. Porém, em locais onde as condições de higiene são precárias, podem-se encontrar contaminações por várias bactérias e fungos nos condimentos. A sobrevivência e a multiplicação dos microorganismos são limitadas nas ervas secas, mas a contaminação de condimentos tem sido reportada como veículo de deteriorantes e contaminantes em alimentos.

Segundo Kunz & Grohs, (2000), a intensidade de ação inibitória destes compostos depende da natureza da especiaria, tipo de microorganismo, e de fatores relacionados ao armazenamento de alimentos (temperatura, umidade etc...).

Ozcelic *et al.* ,(2002) estudaram a ação de extratos aquosos de *Cuminum cyminum* L. (cominho), *Laurus nobilis* L. (louro), *Origanum vulgare* L. (orégano), *Salvia fruticosa* subs. *Hirtum* (Sálvia) frente a *E. coli* 0157:H7, observando que o orégano apresentou uma atividade inibitória de crescimento muito satisfatória quando comparado com as demais especiarias.

Outros autores observaram ação do óleo de orégano e menta sobre o crescimento de *Aspergillus ochraceus* e produção de ocratoxina, onde os condimentos apresentaram total efeito inibitório sobre os dois aspectos (BASÍLICO & BASÍLICO, 1999).

A adição de misturas de especiarias em carnes frescas provocaram uma redução de 86% no conteúdo de bactérias, quando comparadas com os resultados de carnes frescas sem nenhuma condimentação ( KUNZ *op.cit.*2000).

A ação antibacteriana e antifúngica do extrato aquoso de *Allium sativum* (alho) e da *Eugenia caryophyllata* (cravo-da-índia) observou-se uma inibição do extrato de alho sob bactérias e leveduras superiores aos antibióticos convencionais ( KAUR & ARORA,1999).

### 2.3 Atividade antimicrobiana do alho nirá

Diferentes espécies de *Allium ssp.*, dentre as cerca de 500 descritas, entre elas os diferentes bulbos, cebolas e o alho propriamente dito, os tipos foliares como o “nirá”, são empregados largamente como alimentos, como condimentos ou especiarias, ou mesmo como medicamentos, mormente no hemisfério norte. Estas plantas constituem uma fonte abundante de saponinas esteroidais, de alcalóides, bem como de compostos sulfurosos.

O alho “nirá”, constitui-se em alimento diário consumido geralmente verde, recém colhido, para a grande maioria da população chinesa, distribuindo-se em todo o continente, sendo utilizado não somente como alimento, mas como medicamento, constituindo-se este país seu maior produtor mundial. Além do uso como alimento, tanto as porções foliares, mas, principalmente, as sementes, possuem reputada indicação na medicina tradicional chinesa como tratamento da impotência masculina e das emissões noturnas. Segundo o Dicionário das Drogas Chinesas, a parte foliar deste alho é utilizada para o tratamento de dores abdominais, diarreia, hematemese, agressões de ofídios e para tratamento da asma, enquanto que as sementes se destinam, prioritariamente, na medicina popular, como tônico e afrodisíaco. No ano de 2001, o governo chinês reconheceu oficialmente e passou a indicar o consumo desta espécie de alho, tanto como alimento bem como medicamento em todo o país (Hu *et al.*, 2006).

Sang *et al* (2003) remetem a estudos fitoquímicos de “jiucaí” ou alho “chinês”, indicando que as saponinas esteroidais referidas são glicosídeos que ocorrem espontaneamente, com propriedades de formação de espuma, com acentuada atividade hemolítica, toxicidade para peixes e formação de complexos com a colesterolina. Nos anos recentes, segundo os autores, os glicosídeos esteroidais vem merecendo crescente interesse pelo largo espectro de sua ação biológica em seres vivos, incluindo ação antidiabética, antitumoral, antitussígena, bem como de inibição de agregação de plaquetas.

No Brasil, segundo Lima *et al.* (2005), *Allium tuberosum*, com sinonímia de *A. odorum*, é conhecido como cebolinha chinesa, sendo largamente utilizado como condimento, cultivado pelos japoneses e seus descendentes nas regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste.

Carvalho (2005), na região metropolitana de Porto Alegre, RS/BR, pesquisando atividade antibacteriana em 32 plantas com indicativo etnográfico condimentar, demonstraram em 12 delas (em várias espécies de *Capsicum* e de *Allium*, em *Artemisia*, *Origanum*, *Salvia*, *Thymus*) ação biológica *in vitro*, intensa e seletiva, sobre diferentes inóculos bacterianos, entre eles *Salmonella* e *Staphylococcus*. Especificamente em relação ao *Allium tuberosum* - Rottler ex Sprengl (*Liliaceae*) observou-se uma inibição média ( $10^3$  U.F.C/mL) bem como nenhuma inativação frente a *S. aureus* e *E. faecalis*, apresentando, outrossim, inibição e inativação máximas ( $10^7$  UFC/mL) frente a *Salmonella* Enteritidis e *Escherichia. coli*.

O uso medicinal dos diferentes tipos de alho como antimicrobianos é destacado por Cellini et al (1996), atribuindo à alicina, um componente sulfuroso, a intensa atividade descrita. Ankri & Mirelmann (1999) reforçam estas observações, ressaltando a ação significativa sobre amostras de *Escherichia coli* enterotoxigênicas, multidroga-resistentes. Leuchner & Zamparini. (2002) relatam que a adição de 1% de bulbo de alho à maionese conseguiu reduzir a concentração de células viáveis de *Salmonella* Enteritidis durante três dias, por um fator logarítmico, mas aplicando-se o método de isolamento do agente em 25 gramas de amostra, constataram a presença constante da *Salmonella* nas amostras testadas durante 10 dias de estocagem à 25° C., comprovando o estado de bacteriostasia ou de latência do agente no alimento. Neste sentido a legislação brasileira (Brasil, 2001), segundo as normas vigentes, determina a ausência de *Salmonella spp.* em 25 gramas de alimento, embora Board (1988) afirme serem necessárias 10 UFC/g de *Salmonella spp.* no alimento ingerido para produzir uma enfermidade toxinfetiva em uma pessoa sensível.

Carvalho *et al.* (2006), em estudo sobre simulação de preparação alimentar condimentada por *Artemisia dracunculus* var. *inodora* (“estragão”), contaminada por *Salmonella* Enteritidis e o posterior diagnóstico bacteriológico segundo a legislação vigente, remetem à importância de dados epidemiológico-etnográficos relacionados com condimentação e outros procedimentos de gastronomia cultural quando da investigação de surtos toxinfetivos, no sentido de atender à preditividade dos resultados, mormente do resultado negativo representado pelo não isolamento (falso – negativo) em consequência da inibição/bacteriostasia demonstrada, provavelmente provocada pela ação dos componentes condimentares presentes no alimento. Para os autores, a condimentação dirigida, fundada em estudos culturais, poderia integrar-se às

demais ações de saúde indicadas na prevenção e no controle de surtos toxinfetivos alimentares, atendendo aos diferentes paradigmas de epidemiologia e profilaxia..

Cavallito e Bailey (1944), testaram a ação bactericida da alicina, com efeitos positivos na inibição do crescimento de varias bactérias tanto Gram-positivas quanto Gram- negativas.

Kyung *et. al.* (1996) revisaram pesquisas sobre a atividade antimicrobiana do extrato a vapor de alho (*Allium sativum*), reconhecida há muitos anos. Os trabalhos referem que 1 – 2 % do extrato inibe o crescimento bacteriano, enquanto, em altas concentrações, apresenta ação germicida. O extrato de alho a 1% inibiu *S. aureus*, a menos de 1% em meio de cultura inibiu fungos. Tanto o óleo quanto o extrato de alho inibiram o *B. cereus*, *C. botulinum*, *C. perfringens* e *Candida utilis*.

Kyung *et. al.* (*op.cit.*) isolaram bactérias que ocorrem naturalmente no alho comercializado, identificando-as como *Leuconostoc mesenteroides sbsp. Mesenteroides*. Estas bactérias apresentaram resistência à atividade antimicrobiana do alho e cresceram e sobreviveram em meio de cultura com ate 10% dessa planta.

## 2.4 Produtos lácteos e inóculos

A importância dos inóculos em laticínios vem merecendo atenção redobrada internacionalmente. Em alguns países com renomada tradição laticinista como a França e a Suíça, dispensa-se o uso de fermentos na fabricação de alguns tipos de queijos, devido à excelência de qualidade do leite como matéria prima, este mesmo considerado como fonte primária dos inóculos necessários para sua efetivação. Por outro lado, na maioria dos queijos fabricados industrialmente em todo o mundo, o fermento láctico é a peça básica do esquema de fabricação, com a finalidade de produzir acidez, formação de olhaduras, sabores e aromas (FURTADO, 1991).

Os microorganismos mais comuns nos fermentados lácticos são cocos Gram-positivos mesofílicos, como *Streptococcus cremosus*, *S. Lactis*, *S. lactis var. diacetylactis*, *Leuconostoc cremosus*, os termofílicos como *Streptococcus thermophilicus* e os bastões Gram positivos termofílicos como *Lactobacillus bulgaricus* e *L. helveticus*. Os diferentes tipos de fermentos estão divididos ainda em culturas puras e culturas

mistas. A presença, no leite, de bacteriófagos, antibióticos e de sanitizantes/desinfetantes, inibem o crescimento das culturas inoculantes e a consequente formação de ácido láctico, prejudicando olhadura, aromas e sabores (FURTADO, *op.cit.*)

## **2.5 Produtos lácteos**

A condimentação de produtos lácteos demonstra ampla importância em diferentes países, mormente na Europa, participando significativamente nas diferentes culturas alimentares historicamente construídas e repassadas de geração em geração, consequentes das relações do homem com a natureza, com o mundo natural, tendo o leite como matéria-prima. Esta tradição estende-se também ao Brasil, através dos diferentes movimentos migratórios e colonizadores, estimulada, inclusive, nos dias mais recentes, pela necessidade de competir e ocupar mercados consumidores internos e externos.

Na ótica da agroindustrialização familiar de produtos lácteos, Schmidt (1996) descreve e caracteriza grande número de produtos lácteos condimentados, ressaltando a utilização do coentro, do cominho, da alcarávia, das diferentes pimentas, do orégano, do tomilho, dos diferentes alhos, das salsas, dos manjericões, da alfavaca, do anis, da páprica, entre vários outros, como imprescindíveis tecnologicamente nesta linha de produção e de agregação de valor à matéria-prima leite.

A tecnologia dos queijos fundidos surgiu no século XX, como uma necessidade de se deter os processos microbianos e enzimáticos de queijos suíços e alemães, de forma a viabilizar a exportação para países de clima quente (VAN DENDER, 1992).

O Requeijão cremoso é um tipo de queijo fundido, que obtém-se da massa de coalhada dessorada e lavada obtida por coagulação ácida e ou enzimática do leite, com adição de creme de leite ou manteiga (BRASIL, 1997). A composição de um requeijão cremoso típico contém: 60% de água, 27% de gordura, 11% de proteína, 2% de carboidratos e 1,5% de NaCl (FOODBASE, 1996).

## 2.6 Microorganismos e alimentos

O armazenamento, o cozimento e as condições sanitárias deficientes durante a preparação e manipulação dos alimentos contribuem com o crescimento bacteriano causadores de desconforto intestinais e doenças graves. As intoxicações alimentares ocorrem após a ingestão de alimentos contaminados com toxinas produzidas por microrganismos. Entre as diferentes intoxicações alimentares temos a estafilocócica e o botulismo que são mais freqüentes. A intoxicação alimentar causada por *Staphylococcus aureus* é a do tipo mais comum.

Na epidemiologia dos surtos toxinfetivos alimentares no Rio Grande do Sul/BR, Pinto (1999), bem como Pinto & Bergmann (2000), analisando os registros entre 1988/97, constataram que 33,63% dos surtos foram causados por *Salmonella spp.*, seguida em importância por *Staphylococcus spp.*, relatando, outrossim, que a maioria dos surtos foram residenciais (28,64%) e no comércio de alimentos pré-preparados (26,73%). Por outro lado, em 38,22% dos surtos não foi possível identificar o agente causador, não constando na investigação epidemiológica nenhuma referência à possível condimentação, aromatização natural, procedimentos relacionados com gastronomia étnica ou outros possíveis fatores intervenientes.

Gottardi & Schmidt (2003) relatam a diminuição gradativa dos surtos por *Salmonella* no Município de Porto Alegre/RS e o incremento das intoxicações alimentares por *Staphylococcus* nesta capital, sendo que, especificamente em 2002, observou-se 0,0% de surtos por *Salmonella* e 17,0% de surtos por *Staphylococcus*.

## 2.7 Doenças Transmitidas por alimentos

Há duas grandes categorias de doenças microbianas transmitidas por alimento: A intoxicação alimentar e a infecção transmitida por alimento. Nas intoxicações alimentares, o agente bacteriano produz uma toxina no alimento, sendo ingerida a toxina surgem os sintomas da doença. Já nas Infecções transmitidas por alimentos, o patógeno é ingerido e se multiplica dentro do organismo. Nas infecções bacterianas transmitidas por água e alimentos, os microrganismos são veiculados ao organismo humano por meio do consumo de água e alimentos contaminados com fezes humanas ou de animais e afetam geralmente o trato gastrointestinal. A gastroenterite é acompanhada

freqüentemente por diarreia, que pode resultar em desidratação do organismo, aumento da acidez sangüínea. Nas infecções intestinais, a diarreia geralmente é causada por enterotoxinas microbianas, que estimulam a secreção de água e sais dentro do intestino, sendo o tratamento repor de dos fluidos perdidos.

### **2.7.1 *Escherichia coli***

É uma bactéria que apresenta bastonetes gram-negativos, cresce bem nos meios de cultura comuns, temperatura ótima para crescimento 37° C e o pH 7.0. Era considerada residente do tubo intestinal dos animais e do homem, colaborando no processo digestivo, mas sem ação patogênica. Foi então identificada nas fezes de crianças por Escherich, em 1885. Sabe-se que em condições favoráveis pode causar colibaciloses tanto em animais como no homem, e sua presença na água é uma indicação de contaminação fecal (GUERREIRO 1984<sup>a</sup>). O grupo dos coliformes totais e fecais colonizam o trato intestinal de animais de sangue quente, incluindo os humanos, e têm sido empregados como indicadores de qualidade higiênica há muitos anos (CALCI *et al.*,1998). A *Escherichia coli* e os enterococos têm merecido maior consideração (SHARF,1972).

### **2.7.2 *Salmonella Enteritidis***

O gênero *Salmonella* foi assim denominado por Lignières em 1900 em homenagem a Salmon, bacteriologista que caracterizou o agente do paratifo suíno em 1884 (*Salmonella cholerae-suis*). São bacilos Gram-negativos e fazem parte da família Enterobacteriaceae. As infecções bacterianas transmitidas por água e alimentos incluem a gastroenterite causada por *Salmonella* que tem interesse particular devido a freqüência que ocorre e sua variedade de contaminação e complexidade. O principal reservatório natural das salmonelas é o trato intestinal do homem e dos animais ( ROITMAN *et. al.*,1987).

Existe apenas uma única espécie de *Salmonella enterica* , mas existem mais de 2000 sorotipos , todos patogênicos ao homem e animais ( PELCZAR et al 1997).

### 2.7.3 *Staphylococcus aureus*

O *Staphylococcus* foi descrito pela primeira vez em 1878, por Roberto Koch em pus humano. ( GUERREIRO,1984<sup>b</sup> ).É uma bactéria em forma de cocos (células esféricas), com cerca de 1 micron de diâmetro, são gram-positivas, aeróbicas ou anaeróbicas facultativas, crescem bem a 37° C e em pH em torno de 7.0. A intoxicação causada por alimento contendo enterotoxinas de *Staphylococcus aureus* é um dos tipos mais comuns de doenças de origem alimentar em todo o mundo. São necessárias 10<sup>6</sup> células por grama de alimento para que a toxina seja acumulada em níveis capazes de provocar uma intoxicação. Os sintomas aparecem em 30 minutos até 8 horas após ingestão do alimento contaminado ( JABLONSKY & BOHACH, 1997 ).

### 2.7.4 *Enterococcus faecalis*

O termo *Enterococcus faecalis* foi utilizado em 1899 por Thiercelin para descrever diplococos Gram-positivos de origem intestinal, em 1909, foram classificados dentro do gênero *Streptococcus* como *Streptococcus faecalis* (PITA,2002). É um encontrado também na flora intestinal do homens e animais, podendo ser encontrado na mucosa oral, vaginal e na pele (TRABULSI & ALTERTHUM, 2004.). Ressaltam-se ainda algumas restrições em relação aos *Enterococcus faecalis* como indicador de contaminação fecal, sua presença em números elevados em alimentos indica práticas sanitárias inadequadas ou exposição do alimento a condições impróprias e favoráveis a multiplicação de microrganismos (FRANCO & LANDGRAF, 1996) .



## **CAPÍTULO II**

**Atividade antibacteriana *in vitro* e *in situ* de *Allium tuberosum* - Rottler ex Sprengl (alho “nirá” ou alho “japonês, “jiucaí” ou alho “chinês”) – Liliaceae - sobre agentes de toxinfecções alimentares.**

**Araújo, C. A.<sup>1</sup>; Carvalho, H.H.C.<sup>2</sup>; Avancini, C.A.M.<sup>1</sup>; Wiest, J. M.<sup>1,2,3,\*</sup>**

1 Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS/Brasil

2 Instituto de Ciência e Tecnologia dos Alimentos da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, idem

3 Orientador

\* Correspondência: José M.Wiest – ICTA/UFRGS, Campus do Vale, Av. Bento Gonçalves 9.500, Caixa Postal 15.090 CEP 91.505-970 Porto Alegre/RS/Brasil E-mail: [jmwiest@ufrgs.br](mailto:jmwiest@ufrgs.br)

## **RESUMO**

Buscou-se identificar e comparar a atividade antibacteriana do extrato alcoólico de três acessos de *Allium tuberosum* - Rottler ex Sprengl – Liliaceae - originários da região metropolitana de Porto Alegre, RS/BR, ante agentes de toxinfecções alimentares, especificamente: *Staphylococcus aureus* (ATCC 25.923), *Enterococcus faecalis* (ATCC 19.433), *Salmonella* Enteritidis (ATCC 11.076) *Escherichia coli* (ATCC 11.229). Inicialmente, *in vitro*, através de Teste de Diluição, por meio de Sistema de Tubos Múltiplos e emprego de desinibidores bacterianos, determinaram-se a Intensidade de Atividade de Inibição Bacteriana (IINIB) e a Intensidade de Atividade de Inativação Bacteriana (IINAB), revelando-se capacidades seletivas sobre os diferentes inóculos Gram-negativos, que atingiram inibição e inativação máximas e permanentes para *Salmonella* às 48 horas de confrontação inóculo/extrato, e às 72 horas de confrontação para *Escherichia coli*. As bactérias Gram-positivas (*Staphylococcus* e *Enterococcus*) apresentaram resistência total nas diferentes confrontações. Houve diferença significativa na atividade antibacteriana entre os três acessos de alho em estudo. Em um segundo momento, para uma das amostras de alho, através de Teste de Suspensão, determinou-se IINAB em simulação alimentar de requeijão cremoso condimentado com extrato alcoólico de alho em concentração final de 10, 20 e 30 %, atendendo à legislação quanto ao padrão de identificação e qualidade deste alimento, bem como em simulação de preparação alimentar de caldo de carne com a planta recém-colhida na concentração final de 50%. No modelo requeijão, *E.coli* mostrou-se completamente resistente em concentrações finais de  $10^3$ ,  $10^4$  e  $10^5$  U.F.C./ml, estas imediatamente acima da concentração máxima tolerada pela legislação brasileira, em três tempos de

confrontação (24, 48, 72 horas), em todas as concentrações finais do extrato alcoólico. Nas condições do caldo de carne simulado, *Salmonella* foi totalmente inativada na concentração de  $10^5$  U.F.C./ml já às 24 horas de confrontação, enquanto *Escherichia* atingiu este patamar às 48 horas de confrontação. Comenta-se, outrossim, o significado da inibição bacteriana demonstrada, relacionada à preditividade dos resultados de diagnóstico bacteriológico em protocolos de investigação de surtos toxinfetivos alimentares.

## INTRODUÇÃO

Por definição, condimentos e especiarias são produtos aromáticos de origem vegetal empregados principalmente para conferir sabor aos alimentos. Além desta utilidade, possuem também propriedades antimicrobianas, antioxidantes e medicinais e aproximadamente 70 condimentos diferentes são largamente cultivados e utilizados em todo mundo, relacionados à gastronomia étnica e cultural e disseminados através dos movimentos migratórios e mesmo turísticos (SHELEF, 1983). Para o autor, porém, as concentrações da maioria dos condimentos empregadas para realçar o aroma e sabor dos alimentos variam entre 0,5% a 1,0% , nas quais não inibiriam o desenvolvimento microbiano, o que dependeria de concentrações superiores a 1,0%. Neste sentido, Tassou *et al.* (1995) ponderam que as especiarias e seus produtos derivados podem agir potencializando outros agentes antimicrobianos, ou mesmo agirem como conservantes alimentares. Por sua vez, Ozcan & Erkmen (2001) destacam o interesse generalizado em descobrir novos agentes antimicrobianos, devido ao alarmante aumento de microorganismos resistentes aos antibióticos disponíveis, enquanto Deans & Richtie (1987), bem como Bara (1992), ressaltam a demanda de substituição dos aditivos sintéticos por produtos naturais existentes no diferentes condimentos, na dependência fundamental da determinação de suas concentrações ideais nos alimentos. Na indústria alimentícia, sabe-se que a conservação química limita a condição de “alimento natural”, embora se apresente, por vezes, como condição imprescindível e fundamental na questão de segurança alimentar (BEDIN, *et al* 1999).

Segundo Kyung *et al.* (1996), a utilização de condimentos naturais, de origem vegetal, torna o alimento mais palatável ao consumidor, por não apresentarem efeito tóxico, mesmo quando empregadas em concentrações relativamente elevadas. Além dos benefícios proporcionados à saúde, diversos estudos têm demonstrado o efeito inibidor

de condimentos no desenvolvimento de microrganismos deterioradores, e mesmo patogênicos, veiculados por alimentos. As diferentes civilizações, através de complexas manifestações de arte e cultura, mormente gastronômicas, apropriam-se dos diferentes recursos naturais renováveis, disponíveis localmente, para agregar palatabilidade e qualidade sanitária aos seus alimentos.

Diferentes espécies de *Allium ssp.*, dentre as cerca de 500 descritas, entre elas os diferentes bulbos de cebolas e o alho propriamente dito, bem como os tipos foliares como o “nirá” japonês ou o “jiucaí” chinês, são empregadas largamente como alimento, como condimentos ou especiarias, ou mesmo como medicamentos, mormente no hemisfério norte. Estas plantas constituem uma fonte abundante de saponinas esteroidais, de alcalóides, bem como de compostos sulfurosos. O alho “nirá” ou “jiucaí”, *Allium tuberosum* Rottler ex Sprengl. – Liliaceae – constitui-se em alimento diário consumido geralmente verde, recém-colhido, pela grande maioria da população chinesa, distribui-se por todo o continente, sendo utilizado não somente como alimento, mas como medicamento, sendo esse país seu maior produtor mundial. Além do uso como alimento, tanto as porções foliares, mas principalmente as sementes, possuem reputada indicação na medicina tradicional chinesa como tratamento da impotência masculina e das emissões noturnas. Segundo o Dicionário das Drogas Chinesas, a parte foliar desse alho é utilizada para o tratamento de dores abdominais, diarreia, hematemese, agressões de ofídios, bem como para tratamento da asma, ao passo que as sementes, na medicina popular, são usadas prioritariamente, como tônicos e afrodisíacos. No ano de 2001, o governo chinês reconheceu oficialmente - e passou a indicar - o consumo desta espécie de alho, tanto como alimento quanto como medicamento, em todo o país (Hu et al., 2006). Sang *et al.* (2003) remetem a estudos fitoquímicos de “jiucaí” ou alho chinês, indicando que as saponinas esteroidais referidas são glicosídeos que ocorrem espontaneamente, com propriedades de formação de espuma, com acentuada atividade hemolítica, toxicidade para peixes e formação de complexos com a colesterina. Nos anos recentes, segundo os autores, os glicosídeos esteroidais vêm despertando crescente interesse pelo largo espectro de sua ação biológica em seres vivos, incluindo ação antidiabética, antitumoral, antitussígena, bem como de inibição de agregação de plaquetas.

No Brasil, segundo Lima *et al.* (2005), *Allium tuberosum*, com sinonímia de *A. odorum*, é conhecido como cebolinha chinesa, sendo largamente utilizado como

condimento, cultivado pelos japoneses e seus descendentes nas regiões Sul, Sudeste e Centro –Oeste.

Carvalho *et al.* (2005), na região metropolitana de Porto Alegre, RS/BR, pesquisando atividade antibacteriana em 32 plantas com indicativo etnográfico condimentar, demonstraram em 12 delas (em várias espécies de *Capsicum* e de *Allium*, em *Artemísia*, *Origanum*, *Salvia*, *Thymus*) ação biológica *in vitro*, intensa e seletiva, sobre diferentes inóculos bacterianos, entre eles, *Salmonella* e *Staphylococcus*. Especificamente em relação ao *Allium tuberosum* - Rottler ex Sprengel (*Liliaceae*) observou-se uma inibição média ( $10^3$  U.F.C/ml) bem como nenhuma inativação ante a *S. aureus* e *E. faecalis*, apresentando, outrossim, inibição e inativação máximas ( $10^7$  UFC/ml) ante a *Salmonella* Enteritidis e *Escherichia. coli*.

O uso medicinal dos diferentes tipos de alho como antimicrobianos é destacado por Cellini *et al.* (1996), atribuindo à alicina, um componente sulfuroso, a intensa atividade descrita. Ankri *et al.* (1999) reforçam estas observações, ressaltando a ação significativa sobre amostras de *Escherichia coli* enterotoxigênicas, multidroga-resistentes. Leuchner *et al.* (2002) relatam que a adição de 1% de bulbo de alho à maionese conseguiu reduzir a concentração de células viáveis de *Salmonella* Enteritidis durante três dias, por um fator logarítmico, mas aplicando-se o método de isolamento do agente em 25 gramas de amostra, constatou-se a presença constante da *Salmonella* nas amostras testadas durante 10 dias de estocagem, a 25° C., comprovando o estado de bacteriostasia ou de latência do agente no alimento. Neste sentido, a legislação brasileira (Brasil, 2001), segundo as normas vigentes, determina a ausência de *Salmonella spp.* em 25 gramas de alimento, embora Board (1988) afirme serem necessárias 10 UFC/g de *Salmonella spp.* no alimento ingerido, para produzir uma enfermidade toxinfetiva em uma pessoa sensível.

Na epidemiologia dos surtos toxinfetivos alimentares no Rio Grande do Sul/BR, Pinto (1999), Pinto e Bergmann (2000), analisando os registros entre 1988/97, constataram que 33,63% dos surtos foram causados por *Salmonella spp.*, seguida em importância por *Staphylococcus spp.*, relatando, outrossim, que a maioria dos surtos foram residenciais (28,64%) e no comércio de alimentos pré-preparados (26,73%). Por outro lado, em 38,22%, dos surtos não foi possível identificar o agente causador, não constando na investigação epidemiológica nenhuma referência à possível condimentação, aromatização natural, procedimentos relacionados com gastronomia étnica ou outros possíveis fatores intervenientes. Gottardi *et al.* (2003), relatam a

diminuição gradativa dos surtos por *Salmonella* no município de Porto Alegre/RS e o incremento das intoxicações alimentares por *Staphylococcus* nesta capital, sendo que, especificamente em 2002, observou-se 0,0% de surtos por *Salmonella* e 17,0% de surtos por *Staphylococcus*.

Carvalho *et al.* (2006), em estudo sobre simulação de preparação alimentar condimentada por *Artemisia dracunculoides* var. *inodora* (“estragão”), contaminada por *Salmonella* Enteritidis e o posterior diagnóstico bacteriológico segundo a legislação vigente, remetem à importância de dados epidemiológico-etnográficos relacionados com condimentação e outros procedimentos de gastronomia cultural quando da investigação de surtos toxinfetivos, no sentido de atender à preditividade dos resultados, mormente do resultado negativo representado pelo não isolamento (falso – negativo) em consequência da inibição/bacteriostasia demonstrada, provavelmente provocada pela ação dos componentes condimentares presentes no alimento. Para os autores, a condimentação dirigida, fundada em estudos culturais, poderia integrar-se às demais ações de saúde indicadas na prevenção e no controle de surtos toxinfetivos alimentares, atendendo aos diferentes paradigmas de epidemiologia e profilaxia..

O presente estudo propõe avaliar *in vitro* a atividade antibacteriana de três acessos de *Allium tuberosum* - Rottler ex. Sprengl (“alho nirá” ou “alho japonês”, “jiucaí ou alho chinês”) – Liliaceae- originárias da região metropolitana de Porto Alegre/RS/BR, ante agentes toxinfetivos alimentares padrões, bem como testar sua eficácia em duas simulações de preparações alimentares, relacionando-a, outrossim, à preditividade diagnóstica dos resultados observados.

## MATERIAL E MÉTODOS

### 1 Amostras Vegetais

Foram feitas coletas de *Allium tuberosum* – Rottler ex Sprengl ( alho “nirá” ou alho “japonês”, “jiucaí” ou alho “chinês”) – *Liliaceae* – em três diferentes locais na região metropolitana de Porto Alegre , em Viamão, Eldorado do Sul e Lami, respectivamente . A coleta foi realizada junto a propriedades de agricultura familiar, em cultivos agroecológicos, no período entre junho/2005 e novembro/2006.

As plantas foram caracterizadas e identificadas botanicamente, a partir de exsiccatas segundo Ming (1996), pela botânica .Silvia Marodin, tendo sido posteriormente encaminhadas para registro e depósito junto ao Herbário do Instituto de Biociências/Departamento de Botânica da UFRGS, Porto Alegre/RS, Brasil.

## 2 Preparo do Extrato Vegetal

Para a obtenção do extrato alcoólico, folhas e talos verdes das diferentes acessos de alho em estudo foram cortados grosseiramente e colocados em álcool etílico de cereais a 96° GL, segundo Farmacopéia Brasileira (1959), na proporção de 400 g de planta verde para 1000 ml de álcool. Em um prazo não inferior a 15 dias, este extrato foi submetido à destilação fracionada sob pressão reduzida em rota-vapor, desprezando-se a porção alcoólica com posterior reidratação asséptica do concentrado final, reestabelecendo-se assim as concentrações iniciais da planta verde no extrato vegetal a ser confrontado neste estudo. O controle permanente da assepsia destes procedimentos realizou-se por plaqueamento e avaliação de alíquotas em meios de cultivo bacteriológico.

## 3 Os Inóculos Bacterianos

Para avaliação da atividade antibacteriana do *Allium tuberosum* - Rottler ex Sprengl. – *Liliaceae* - foram utilizadas amostras de bactérias padrões da American Type Culture Collection (ATCC), sendo duas gram-positivas: *Staphylococcus aureus* (ATCC 25.923); e *Enterococcus faecalis* (ATCC 19.433), e duas gram-negativas: *Escherichia coli* (ATCC 11.229) e *Salmonella* Enteritidis (ATCC 11.076), provenientes da coleção-bacterioteca do Laboratório de Higiene do Instituto de Ciências e Tecnologia dos Alimentos/UFRGS, mantidas em meios nutrientes (*Nutrient Agar*, OXOID e *BHI-Agar*, OXOID), reativadas em infusão de cérebro e coração (BHI, OXOID) a 36°C por 18 a 24 horas de incubação, atingindo, no mínimo,  $1,0 \times 10^8$  UFC/ml, para posterior confrontação com os extratos vegetais, fracionadas através de diluições seriais logarítmicas/concentrações bacterianas, controladas biometricamente segundo Cavalli-Sforza (1974)

## 4 Avaliação da atividade antibacteriana através dos Testes de Diluição e de Suspensão

Para avaliação da atividade antibacteriana dos extratos de *Allium tuberosum*, lida como Intensidade de Atividade de Inibição Bacteriana (IINIB) e Intensidade de Atividade de Inativação Bacteriana (IINAB), utilizaram-se os Testes de Diluição e de Suspensão, segundo Deutsche Veterinaermedizinische Gesellschaft (DVG, 1980), com base na Técnica do Sistema de Tubos Múltiplos, modificada por Avancini (2002,

confrontando os extratos alcoólicos com oito ou mesmo nove diluições seriais logarítmicas ( $10^1$  a  $10^8$  ou  $10^9$  Unidades Formadoras de Colônias por Mililitro – UFC/ml) dos inóculos bacterianos, na dependência da concentração atingida às 24 horas de incubação, durante sua ativação a partir da bacterioteca. Foram montadas duas linhas de tubos para cada bactéria contendo, na primeira linha, tubos com o inóculo bacteriano, meio de cultivo BHI (Brain Heart Infusion OXOID®) e o extrato vegetal e, na segunda, os mesmos itens acrescidos de três desinibidores bacterianos, lecitina, Tween 80 e histidina. O crescimento bacteriano foi verificado através da presença ou ausência de microorganismos viáveis nas placas de Petry, contendo agar nutriente sólido, sendo que o controle era realizado através da inoculação de alíquotas dos diferentes tubos múltiplos, após 24, 48, 72 e 144 horas de incubação à 37° C.

Entendeu-se por IINIB o resultado do confronto da bactéria com a solução do extrato vegetal em meio específico, e IINAB, o mesmo resultado, porém sob influência dos desinibidores bacterianos (DVG, *op.cit*). Os resultados de IINIB e IINAB foram representados por variáveis ordinais arbitrárias, que assumiram valores de 9 a 0, indicando a intensidade da atividade antibacteriana, como demonstra a Tabela a seguir:

TABELA 1 – Representações das variáveis Intensidade da Atividade de Inibição Bacteriana (IINIB) e Intensidade de Atividade de Inativação Bacteriana (IINAB) e suas correspondentes diluições e doses infectantes dos inóculos bacterianos

9	8	7	6	5	4	3	2	1	0	Variáveis ordinais de intensidade de atividade
$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-6}$	$10^{-7}$	$10^{-8}$	$10^{-9}$		U.F.C/ml – diluições dos inóculos inibidas ou inativadas
$10^8$	$10^7$	$10^6$	$10^5$	$10^4$	$10^3$	$10^2$	$10^1$	1	n.a	U.F.C/ml – doses infectantes inibidas ou inativadas

n.a = ausência de atividade antibacteriana

U.F.C./ml= Unidades Formadoras de Colônias/ml

## 5 Simulação de preparações alimentares condimentadas

### 5.1 Alimento lácteo

O alimento lácteo utilizado no estudo foi processado em laboratório em condições de assepsia, constituindo um requeijão cremoso tipo Frescal. O



processamento do alimento ocorreu conforme Orsi (1996), utilizando-se leite tipo integral UHT(1000 ml), gordura animal (50 g de manteiga industrializada), ácido acético PA (30 ml) e NaCl (3 g). Nas amostras de requeijão cremoso foi inoculada *Escherichia coli* (ATCC 11.229), cultura ativada, durante 24 h em Caldo BHI com no mínimo  $10^8$  U.F.C./ml, rediluídas em cada uma de três amostras de 100 g. de requeijão a  $10^6$  U.F.C./ml. A seguir, em cada uma dessas amostras foi adicionado extrato de alho nírá, atingindo concentrações finais de 10, 20 e 30 %. Posteriormente, transferiram-se 10 g do alimento lácteo com extrato para uma solução de 90 ml de água peptonada a 0,1%, agitando-se as amostras por 10 minutos. Todos estes procedimentos ocorreram em condições de antissepsia. O controle de crescimento bacteriano posterior, às 24, 48 e 72 horas de incubação a 37° C, efetivou-se por plaqueamento de 0,1 ml em Meio Chromocult (Merckl®), determinando-se novamente, por linha de diluição logarítmica, concentrações finais de  $10^5$ ,  $10^4$  e  $10^3$  U.F.C./ml nas amostras, atribuindo-se aos resultados os valores arbitrários constantes da TABELA 1.

## 5.2. - Caldo de carne condimentado

Simulou-se preparação alimentar da gastronomia chinesa, orientada por Ming (2006), constituída de partes iguais de porções de folhaves verdes de *Allium tuberosum* cortadas grosseiramente, em concentração final de 50 % em caldo de carne /BHI com desinibidores, preparação esta posteriormente distribuída em sistema de tubos múltiplos com fator logarítmico, autoclavados para controle de assepsia. *E.coli* e *S.Enteritidis*, ativadas em Caldo BHI durante 24 horas a 37° C, foram acrescidos a estas diferentes alíquotas alimentares, constituindo concentrações finais entre  $10^9$  e  $10^1$ , bem como  $10^8$  a  $10^1$ , respectivamente para cada bactéria. Após confrontação por 24, 48, 72 e 144 horas a 37° C, avaliou-se o crescimento bacteriano por plaqueamento com alça calibrada de 0,05ml em meio PCA (OXOID®), atribuindo-se aos resultados os valores arbitrários constantes da TABELA 1.

## 6 Análise estatística

A avaliação dos resultados obtidos das variáveis de IINIB e de IINAB para os diferentes acessos de alho confrontados *in vitro* e *in sito* com os agentes toxinfetivos foi verificada através de análise estatística descritiva e análise de variância, com complementação pelo Teste de Tukey segundo Callegari-Jacques (2004).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

**Tabela 2** – Intensidade da Atividade de Inibição Bacteriana (IINIB) e Intensidade de Atividade de Inativação Bacteriana (IINAB) de extrato alcoólico a 50% de diferentes acessos de *Allium tuberosum* - Rottler ex Sprengl ( alho “nirá”ou alho “japonês”, “jiucaí” ou alho “chinês”) – Liliaceae - sobre *Escherichia coli* (ATCC 11.229)em dose desafio  $10^3$  UFC mL<sup>-1</sup>, determinadas em diferentes meios de cultivo bacteriano, segundo tempo de exposição:

<i>Escherichia coli</i> (ATCC) <sup>(1)</sup>				
Acesso / Tempo exposição	PCA <sup>(2)</sup>		Chromocult <sup>(3)</sup>	
	IINIB	IINAB	IINIB	IINAB
<b>Eldorado do Sul</b>				
24h	7	6	6	6
48h	8	7	7	7
72h	8	8	8	8
144h	8	8	8	8
<b>Média</b>	<b>7,38 (A)</b>			
<b>Lami</b>				
24h	4	3	4	5
48h	5	5	5	6
72h	5	6	5	6
144h	5	7	5	7
<b>Média</b>	<b>6,48 (A)</b>			
<b>Viamão</b>				
24h	5	6	6	5
48h	7	7	7	7
72h	7	8	7	8
144h	7	8	7	8
<b>Média</b>	<b>5,19 (B)</b>			

(1): Inóculo/concentração inicial de  $2,3 \cdot 10^8$  U.F.C/ml (valor médio de três repetições).

(2):PCA (Plat Count Agar);

(3): Chromocult ( Chromocult Coliform Agar);

8 a 0= Variáveis ordinais arbitrárias, indicando as diferentes concentrações/diluições do inóculo de *Escherichia coli* (ATCC 11.229) inibidos ou inativados pelo extrato vegetal na concentração constante de 50% (8=  $10^7$  ou  $10^{-1}$ ; 1= $10^1$  ou  $10^{-8}$ ; 0= não atividade);

O Teste de Tukey para comparar as três amostras de alho resultou em : amostra Eldorado (Média 7,38 A); amostra Viamão (média 6,48 A) e amostra Lami (média 5,19 B), sendo que médias com a mesma letra não diferem significativamente entre si ( $p=0,95$ ). A Análise de Variância, em relação aos dois meios de cultivo bacteriológico, não demonstrou diferença significativa entre eles, ( $p=0,95$ ). Especificamente, para cada um

dos acessos de alho, independente dos meios, porém, o teste não demonstrou diferença significativa entre a presença (IINAB) e ausência de desinibidores (IINIB) em  $p=0,95$ .

**Tabela 3** – Intensidade da Atividade de Inibição Antibacteriana de extrato alcoólico a 50% de diferentes acessos de *Allium tuberosum* - Rottler ex Sprengl (alho “nirá” ou alho “japonês”, “jiucaí” ou alho “chinês”) – Liliaceae - sobre *Escherichia coli* (ATCC 11.229) em dose desafio de  $10^3$  UFC mL<sup>-1</sup>, determinadas em diferentes tempos de exposição:

Acesso	Tratamentos			
	24 horas	48 horas	72 horas	144 horas
<b>Eldorado do Sul</b>	6,25 (A)	7,25 (A)	8,00 (A)	8,00 (A)
<b>Lami</b>	4,08 (B)	5,25 (AB)	5,50 (AB)	6,00 (A)
<b>Viamão</b>	5,50 (B)	7,00 (A)	7,50 (A)	7,50 (A)

\*Médias com a mesma letra não diferem significativamente.

Para cada acesso de alho, a diferença entre os quatro tempos de confrontação, independente dos meios e da presença ou ausência de desinibidores, demonstrou-se: para o acesso Eldorado ( $p=0,99$ ), nos tempos de 72 e 144 horas (média 8,00 A), em 48 horas (média 7,25 A) e em 24 horas (média 6,25 B); para o acesso Lami (0,95), nos tempos 144 horas (média 6,00 A), em 72 horas (média 5,50AB), em 48 horas (média 5,25 AB) e em 24 horas (média 4,00 B); para o acesso Viamão(0,99), nos tempos 72 e 144 horas (média 7,50 A), para 48 horas (média 7,00 A), para 24 horas (média 5,50 B).

**Tabela 4:** Intensidade da Atividade de Inibição Bacteriana (IINIB) e Intensidade da Atividade Inativação Bacteriana (IINAB) de extrato alcoólico a 50% do acesso Eldorado do Sul de *Allium tuberosum* - Rottler ex Sprengl (alho “nirá” ou alho japonês, “jiucaí” ou alho “chinês”) – Liliaceae - sobre bactérias toxinfecivas alimentares em doses desafio de  $10^3$  UFC mL<sup>-1</sup>, segundo diferentes tempos de exposição:

Tempo de Exposição	Bactérias ATCC							
	<i>S. aureus</i> (1)		<i>E. faecalis</i> (2)		<i>Salmonella</i> Enteritidis(3)		<i>Escherichia coli</i> (4)	
	IINIB	IINAB	IINIB	IINAB	IINIB	IINAB	IINIB	IINAB
<b>24h</b>	<b>0</b> <sup>(5)</sup>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>8</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>7</b>
<b>48h</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>8</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>8</b>
<b>72h</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>8</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>9</b>
<b>144h</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>8</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>9</b>

(1): inóculo /concentração inicial de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25.923) de  $6,75 \cdot 10^8$  U.F.C./ ml ( valor de uma repetição);

(2): inóculo /concentração inicial de *Enterococcus faecalis* ( ATTC 19.433) de  $4,20 \cdot 10^8$  U.F.C.ml ( valor de uma repetição);

(3): inóculo /concentração inicial de *Salmonella. Enteritidis* (ATCC 11.076) de  $6,6 \cdot 10^8$  U.F.C. ml ( valor médio de duas repetições);

(4): inóculo /concentração inicial de *Escherichia coli* (ATCC 11.229) de  $5,55 \cdot 10^9$  U.F.C./ ml ( valor médio de duas repetições);

(5)\*: Variáveis ordinais arbitrárias, com valores de 9 a 0, indicando as diferentes concentrações/diluições dos inóculos bacterianos inibidos ou inativados pelo extrato vegetal na concentração constante de 50% (9=  $10^8$ ; 8=  $10^7$ ; ...1= $10^1$ ; 0= não atividade);

Em relação a Tabela 4 as bactérias gram-positivas demonstraram-se completamente resistentes, valor arbitrário atribuído zero (o=não atividade), impedindo análise estatística. Comparando as duas bactérias Gram-negativas, independentemente do tempo e da presença ou ausência de desinibidores, não se observou diferença significativa entre elas (p=0,95).

Os resultados revelam capacidade seletiva do extrato de alho “nirá” sobre inóculos gram-negativos, que atingiram inibição e inativação máxima e permanente para *Salmonella* às 48 horas de confrontação e para *E.coli* somente às 72 horas, respectivamente, embora sem significância estatística.

As diferenças entre IINIB e IINAB, tanto para *Salmonella* às 24 horas, como para *E.coli* às 24 e 48 horas permitem questionar a preditividade dos resultados negativos no diagnóstico bacteriológico destes agentes, à luz das ponderações de Pinto (1999), Pinto e Bergmann (2000), bem como de Carvalho *et al.* (2006).

**Tabela 5** : Intensidade de Atividade de Inativação Bacteriana (IINAB) de *Allium tuberosum* - Rottler ex Sprengl ( alho “nirá” ou alho “japonês”, “jiucaí” ou alho “chinês”) – Liliaceae - sobre *Escherichia coli* (ATCC 11.229 ) e *Salmonella* Enteritidis (ATCC 11.076) em doses desafio de  $10^3$  UFC mL<sup>-1</sup>, determinada através de Teste de Suspensão em simulação de preparação alimentar da gastronomia chinesa (50% de alho nirá em 50% caldo de carne/BHI), segundo concentração do inóculo bacteriano e tempo de exposição.

Bactérias	Tempo de exposição	Concentração final do inóculo bacteriano no alimento								Nº arbitrários
		$10^8$	$10^7$	$10^6$	$10^5$	$10^4$	$10^3$	$10^2$	$10^1$	
<i>Salmonella</i> Enteritidis (2)	<b>24h</b>	*	+	+	-	-	-	-	-	6
	<b>48h</b>	*	+	+	-	-	-	-	-	6
	<b>72h</b>	*	+	+	-	-	-	-	-	6
	<b>144h</b>	*	+	+	-	-	-	-	-	6
<i>Escherichia coli</i> (3)	<b>24h</b>	+	+	+(82) <sup>(4)</sup>	+	+	-	-	-	4
	<b>48h</b>	+	+	(4)	(10) <sup>(4)</sup>	(1) <sup>(4)</sup>	-	-	-	7
	<b>72h</b>	+	+	-	-	-	-	-	-	7
	<b>144h</b>	+	+	-	-	-	-	-	-	7
				-	-	-				

1: Variáveis ordinárias, com valores 9 a 0, indicando as diferentes concentrações dos inóculos bacterianos inativadas no alimento simulado ( 9=  $10^9$ ;  $10^{1=1}$ ; 0= não atividade);

2: inóculo / concentração inicial de  $4,5 \text{ U.F.C } 10^8 / \text{ ml}$  ;

3 :inóculo /concentração inicial de  $3,4 \text{ U.F.C } 10^9 / \text{ ml}$  ;

4: U.F.C /ml em meio PCA, ao plaqueamento do alimento simulado por alça bacteriológica calibrada de 0,05 ml;

+: crescimento incontável em meio PCA, ao plaqueamento do alimento simulado por alça bacteriológica calibrada de 0,05 ml ;

- : não crescimento em meio PCA, ao plaqueamento do alimento simulado por alça bacteriológica calibrada de 0,05 ml;

\*: não testado, por insuficiente concentração inicial do inóculo.

Em relação às bactérias testadas (TABELA 5) na simulação de preparação alimentar da gastronomia chinesa, quando se comparou tempo de exposição, presença e ausência de desinibidores bacterianos independente entre si não houve diferença (p= 0,95).

Nesta simulação de preparação alimentar conforme gastronomia chinesa (Ming, 2006) ressalta a inativação permanente de  $10^5$  U.F.C./ml de *Salmonella* já às 24 horas

iniciais de exposição, nas condições do alimento, o que não se observou com *E.coli*, que atingiu esta inativação somente às 48 horas de exposição, apesar de, estatisticamente, não ter havido significância.

**Tabela 6:** Intensidade de Atividade de Inativação Bacteriana (IINAB) de extrato alcoólico do acesso “Lami” de *Allium tuberosum* - Rottler ex SprengL (alho “nirá” ou alho “japonês”, ‘jiucaí” ou alho “chinês”) - Liliaceae - reidratado à condição original da planta verde, sobre *Escherichia coli* (ATCC 11.229) determinada através de Teste de Suspensão em simulações de preparação alimentar (requeijão cremoso) condimentado com diferentes concentrações do extrato, segundo diferentes concentrações bacterianas finais no alimento, a partir da contaminação inicial de  $10^6$  U.F.C/g, em quatro tempos de confrontação.

Extrato: Concentração Tempo de confrontação	Inóculo bacteriano: concentrações de estudo (U.F.C./g)		
	$10^5$	$10^4$	$10^3$
10%			
24h	0 <sup>(**)</sup>	0	0
48h	0	0	0
72h	0	0	0
20%			
24h	0	0	0
48h	0	0	0
72h	0	0	0
30%			
24h	0	0	0
48h	0	0	0
72h	0	0	0

(\*\*) variáveis ordinais arbitrárias, com valores de 9 a 0, indicando as diferentes concentrações dos inóculos bacterianos inativadas no alimento simulado (9=  $10^9$ ; 1=  $10^1$ ; 0= não atividade).

Considerando os valores arbitrários atribuídos (0 = não atividade), tornou-se inaplicável análise estatística referente à simulação de preparação alimentar no modelo requeijão cremoso, contaminado por *E.coli*. Ressalte-se a utilização de extrato da amostra “Lami” nesta simulação alimentar, significativamente diferente das demais

amostras (TABELA 2), por indisponibilidade de matéria-prima. As concentrações do extrato, entre 10, 20 e 30%, atendem aos padrões máximos tolerados, relativos à identificação e qualidade de requeijão, inclusive a sensorialidade. As concentrações finais do inóculo bacteriano ( $10^3$ ,  $10^4$  e  $10^5$  U.F.C./ml) encontram-se imediatamente acima da concentração máxima bacteriana, tolerada pela legislação brasileira ( $10^2$  U.F.C./ml). Os resultados coincidem com Shelef (1983) ao afirmar que concentrações usuais entre 0,5 a 1%, não inibem o desenvolvimento bacteriano, apesar de contribuir sensivelmente para a sensorialidade dos alimentos.

## CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES

- *Allium tuberosum* Rottler ex Sprengl – (alho “nirá”, japonês, “jiucaí”, “cebolinha chinesa”) – Liliaceae – apresentou atividade antibacteriana seletiva, tanto em seu extrato alcoólico como “in natura”, em situações de estudo “in vitro” ou em simulações de preparações alimentares, confirmando resultados de literatura;
- Diferentes acessos de “nirá”, embora da mesma região metropolitana, apresentaram diferença significativa em sua atividade antibacteriana;
- Agentes bacterianos gram-positivos mostraram resistência total a diferentes concentrações do alho, enquanto gram-negativas, *Salmonella* e *E.coli* mostraram-se sensíveis, apresentando inibição e inativação significativas.
- A preditividade do diagnóstico em surtos toxinfetivos alimentares, principalmente dos resultados negativos, requer maior detalhamento quanto a fatores intervenientes na produção, preparação, armazenamento e utilização das diferentes preparações alimentares envolvidas, inclusive quanto a processamento e condimentações;
- dados epidemiológico-etnográficos relacionados com condimentação e outros procedimentos de gastronomia cultural, presente caso requeijão cremoso versus refogado de caldo de carne fundados em estudos culturais, poderiam integrar-se às demais ações de saúde indicadas na prevenção e no controle de surtos toxinfetivos alimentares, atendendo aos diferentes paradigmas de epidemiologia e profilaxia.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANKRI, S.;MIRELMAN, D.; Antimicrobial properties of allicin from garlic, *Microbes and Infection* 1999,125-129.

AVANCINI, C. A. M. **Saneamento aplicado em saúde e produção animal:** etnografia, triagem da atividade antibacteriana de plantas nativas do sul do Brasil e teses de avaliação do decocto de *Hypericum caprifoliatum* Cham e Schlecht – Hipericaceae (Guttiferae) – ("escadinha"/"sinapismo") para uso como desinfetante e antisséptico. 2002. 309f. Porto Alegre: Tese de Doutorado. PPGCV/UFRGS. 2002.

BARA , M. T. F. Avaliação do efeito inibidor de condimentos desenvolvimento de *Yersinia enterocolitica*.1992. 73 f. Dissertação (mestrado em Microbiologia Agrícola) – Universidade Federal de Viçosa, 1992.

BEDIN, C. GUTKOSKI, S.B.; WIEST, J.M.; Atividade antimicrobiana das especiarias, *Higiene Alimentar*. v.13, n.65, p.26-29, 1999.

BOARD, R.G.; **Introducción a la microbiologia Moderna de los Alimentos**. Zaragoza; Ed. Acriba,1988,272p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância sanitária.RDC nº 12 de 03 de janeiro de 2001.Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Disponível em: <[http:// www.anvisa.gov.br/legisl/resol/12\\_01rdchtm](http://www.anvisa.gov.br/legisl/resol/12_01rdchtm)> Acesso em: 12 dez.2006.

CALLEGARI - JACQUES, L. M.; **Bioestatística princípios e aplicações**, Ed. ARTMED, Porto Alegre/RS. 2004 p. 255.

CARVALHO. H.H.C; WIEST, J.M. GRECO, D.P.; Atividade antibacteriana em plantas com indicativo etnográfico condimentar em Porto Alegre, RS/ BR, 2005.



CARVALHO, H.H.C; WIEST, J.M. GRECO, D.P.; Atividade antibacteriana e a predividade do condimento *Artemisia dracunculus* Linn. (Asteraceae), variedade *inodora* – estragão –, frente à *Salmonella* sp. Ciênc. Tecnol. Aliment., vol. 26 nº. 1: 75-79-,Campinas jan.-mar.2006.

CAVALLI-SFORZA, L. **Biometric**. Stuttgart: Gustav Fisher V. p.201– 204, 1974.

CELLINI,L.;DI CAMPLI,E.;MASULLI,M.;DI BARTOLOMEO, S.; ALLOCATI,N.;Inhibition of helicobacter pylori by garlic extract (*Allium sativum*).Fems Immunology and medical Microbiology.Chienti,n.13,p.273-277,1996.

COOTE, P.; BRULL, S. Preservatives agents in food.: mode of action and microbial resistance mechanisms. **Internacional Journal of food microbiological**. v. 50 ,p.1-17, 1999.C

DEANS, S.G.; RITCHIE, G. Antibacterial properties of plant essencial oils. **Internacional Journal of Food Microbiology**, Amsterdam,n.5, p.165-180, 1987.

DVG (Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft/Sociedade Alemã de Medicina Veterinária)*Richtlinien zur Prüfung chemischer Desinfektionsmittel für die Veterinärmedizin/Normas para a testagem de desinfetantes químicos para a medicina veterinária*. Giessen, 1980. In: SCHLIESSER, Th.; Strauch, D. *Desinfektion in Tierhaltung, Fleisch- und Milchwirtschaft/Desinfecção na produção animal, em laticínios e em frigoríficos*. Stuttgart: Enke Verlag,1981. 455p.

**FARMACOPÉIA** dos Estados Unidos do Brasil. 2 ed. São Paulo: Siqueira, 1959.

GOTTARDI,C.P.T.; SCHMIDT, V.; Surtos de Toxinfecção Alimentar notificadas e investigadas no Município de Porto Alegre no período de 1995 a 2002.UFRGS -2003/2.

HU,G.;LU Y.;WEI,D.; Chemical characterization of Chinese chive seed (*Allium tuberosum* Rottl.) - **Food Chemistry** v.99 – 2006, 693-697.

KYUNG, K.H.; PARK, K.K.; KIM, Y.S. Isolation and characterization of bacteria resistant to the antimicrobial activity of garlic. **Journal of Food Science**, Chicago, v.61, n 1, p. 226-229, 1996.

LEUSCHNER, R.; ZAMPARINI, J.; Effects of spices on growthne Survival of *Escherichia coli* 0157 and *Salmonella* enterica sorovar Enteridis in borth model Systems and mayonnaise. **Food Control**,v.13,p.399-404,2002.

LIMA, Milton L. da Paz et al . *Allium tuberosum* como hospedeira de *Puccinia allii* no Brasil. **Fitopatol. bras.**, Brasília, v. 30, n. 6, 2005.

Disponível em: <<http://www.scielo.br/scielo>. Acesso em: 12 Dez 2006.

MING, L. C. Coleta de Plantas medicinais. In: DISTASI, L. C. **Plantas Mediciniais: Arte e Ciência**. Um guia para o estudo interdisciplinar. São Paulo: Ed. UNESP, 1996, p. 69 – 86.

MING, L. C. Composição Alimentar com Jiucai –Editor chefe da **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. São Paulo: Ed. UNESP, 2006.

ORSI,S.D.; **Produtos artesanais derivados do leite**. 3ª ed. Brasilia: EMATER-DF,1996.47p.

OZCAN,M. ;ERKMAN,O. Antimicrobial activity of the esencial oils of Turkinsh plant spices. **Eur.Food Res. Technol.**212,658-660.2001.

PINTO, A.; **Investigação de Enfermidades transmitidas por Alimentos**. Porto Alegre, RS. 180 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias/Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1999

PINTO,A.T.; BERGMANN,G.P.; Investigação de Enfermidades Transmitidas por Alimentos; **Higiene Alimentar**,v.14, n.74, jul.2000.

SANG,S.;MAO, S.;LAO,A.;ZHONGLIANG,C.;HO, CHI-TANG; New steroid saponinas from the seeds of *Allium tuberosum* L., **Food Chemistry**, v.83, 499-506, 2003.

SHELEF, L. A. Antimicrobial effects of spices. **Journal of Food Safety**. V. 6, p. 29-44, 1983.

TASSOU, C.C.; DROSINOS, E. H; NYCHAS, G, J. E. Inhibition of resident microbial flora and pathogen inocula on cold fresh fish fillets in olive oil, oregano and lemon juice under modified atmosphere or air. **Journal of Food Protection**, Iowa, v. 59, n.1, p. 31-34, 1995.

## APÊNDICE A

### ANÁLISE ESTATÍSTICA

INTENSIDADE DA ATIVIDADE DE INIBIÇÃO BACTERIANA (IINIB) E  
INTENSIDADE DA ATIVIDADE DA INATIVAÇÃO BACTERIANA (IINAB)

ALHO NIRÁ ACESSO ELDORADO DO SUL

	PCA			CHROMOCULT			TOTAL		
TEMPO (HORAS)	SD	CD	SOMA	SD	CD	SOMA	SD	CD	SOMA
24	7	6	13	6	6	12	13	12	25
48	8	7	15	7	7	14	15	14	29
72	8	8	16	8	8	16	16	16	32
144	8	8	16	8	8	16	16	16	32
$\Sigma X$	31	29	60	29	29	58	60	58	118
MÉDIA	7,75	7,25	7,50	7,25	7,25	7,25	7,50	7,25	7,38
$\Sigma X^2$	241	213	454	213	213	426	454	426	880
N	4	4	8	4	4	8	8	8	16
DESVIO PADRÃO	0,50	0,96	0,76	0,96	0,96	0,89	0,76	0,89	0,81
ERRO PADRÃO	0,25	0,48	0,27	0,48	0,48	0,31	0,27	0,31	0,20

## ALHO NIRÁ ACESSO LAMI

	PCA			CHROMOCULT			TOTAL		
<b>TEMPO (HORAS)</b>	SD	CD	SOMA	SD	CD	SOMA	SD	CD	SOMA
<b>24</b>	4	3	7	4	5	9	8	8	16
<b>48</b>	5	5	10	5	6	11	10	11	21
<b>72</b>	5	6	11	5	6	11	10	12	22
<b>144</b>	5	7	12	5	7	12	10	14	24
$\Sigma X$	19	21	40	19	24	43	38	45	83
<b>MÉDIA</b>	4,75	5,25	5,00	4,75	6,00	5,38	4,75	5,63	5,19
$\Sigma X^2$	91	119	210	91	146	237	182	265	447
<b>N</b>	4	4	8	4	4	8	8	8	16
<b>DESVIO PADRÃO</b>	0,50	1,70	1,20	0,50	0,82	0,92	0,46	1,30	1,05
<b>ERRO PADRÃO</b>	0,25	0,85	0,42	0,25	0,41	0,33	0,16	0,46	0,26

## ALHO NIRÁ ACESSO VIAMÃO

<b>TEMPO</b>		<b>PCA</b>		<b>CHROMOCULT</b>				<b>TOTAL</b>	
<b>(HORAS)</b>	<b>SD</b>	<b>CD</b>	<b>SOMA</b>	<b>SD</b>	<b>CD</b>	<b>SOMA</b>	<b>SD</b>	<b>CD</b>	<b>SOMA</b>
<b>24</b>	5	6	11	6	5	11	11	11	22
<b>48</b>	7	7	14	7	7	14	14	14	28
<b>72</b>	7	8	15	7	8	15	14	16	30
<b>144</b>	7	8	15	7	8	15	14	16	30
<b><math>\Sigma X</math></b>	26	29	55	27	28	55	53	57	110
<b>MÉDIA</b>	6,50	7,25	6,88	6,75	7,00	6,88	6,63	7,13	6,88
<b><math>\Sigma X^2</math></b>	172	213	385	183	202	385	355	415	770
<b>N</b>	4	4	8	4	4	8	8	8	16
<b>DESVIO PADRÃO</b>	1,00	0,96	0,99	0,50	1,41	0,99	0,74	1,13	0,96
<b>ERRO PADRÃO</b>	0,50	0,48	0,35	0,25	0,71	0,35	0,26	0,40	0,24

**TODAS OS ACESSOS DE ALHO NIRÁ**

<b>TEMPO (HORAS)</b>	<b>PCA</b>			<b>CHROMOCULT</b>			<b>TOTAL</b>		
	<b>SD</b>	<b>CD</b>	<b>SOMA</b>	<b>SD</b>	<b>CD</b>	<b>SOMA</b>	<b>SD</b>	<b>CD</b>	<b>SOMA</b>
<b>24</b>	16	15	31	16	16	32	32	31	63
<b>48</b>	20	19	39	19	20	39	39	39	78
<b>72</b>	20	22	42	20	22	42	40	44	84
<b>144</b>	20	23	43	20	23	43	40	46	86
<b><math>\Sigma X</math></b>	76	79	155	75	81	156	151	160	311
<b>MÉDIA</b>	6,33	6,58	6,46	6,25	6,75	6,50	6,29	6,67	6,48
<b><math>\Sigma X^2</math></b>	504	545	1049	487	561	1048	991	1106	2097
<b>N</b>	12	12	24	12	12	24	24	24	48
<b>DESVIO PADRÃO</b>	1,43	1,51	1,44	1,29	1,14	1,22	1,33	1,31	1,32
<b>ERRO PADRÃO</b>	0,41	0,43	0,29	0,37	0,33	0,25	0,27	0,27	0,19



**PERGUNTA Nº 1. EXISTE DIFERENÇA ENTRE OS TRÊS ACESSOS DE ALHO, INDEPENDENTE DOS MEIOS E DO TEMPO DE ATUAÇÃO?**

**COMPARAÇÃO DE TRES ACESSOS DE ALHO (IGNORANDO OS MEIOS E OS TEMPOS DE ATUAÇÃO).**

FONTES DE VARIACÃO TAB	GRAUS DE LIBERDADE	SOMA DE QUADRADOS	QUADRADO MÉDIO	F CALC.	F
	GL	SQ	QM		
AMOSTRAS DE ALHO	2	42,06	21,03	24,17**	3,21 5,12 (5%) (1%)
DESINIBIDOR	1	1,71	1,71	1,97 (NS)	
RESIDUO	44	38,23	0,87		
TOTAL	47	82,00			

**\*\* MUITO SIGNIFICATIVO (p= 0,99)**

**NS – NÃO SIGNIFICATIVO (p=0,95)**

**TESTE DE TUKEY – PARA COMPARAR OS TRES ACESSOS DE ALHO (p=0,95)**

AMOSTRAS	MÉDIAS
ELDORADO DO SUL	7,38 (A)
VIAMÃO	6,48 (A)
LAMI	5,19 (B)

**MÉDIAS COM MESMA A LETRA NÃO DIFEREM SIGNIFICATIVAMENTE**

**PERGUNTA Nº 2.** EXISTE DIFERENÇA ENTRE OS DOIS MEIOS DE CULTIVO, INDEPENDENTE DOS ACESSOS DE ALHO E DO TEMPO DE ATUAÇÃO?

**COMPARAÇÃO ENTRE OS MEIOS DE CULTIVO (IGNORANDO OS ACESSOS DE ALHO E OS TEMPOS DE ATUAÇÃO).**

FONTES DE VARIÇÃO TAB	GRAUS DE LIBERDADE	SOMA DE QUADRADOS	QUADRADO		
	GL	SQ	MÉDIO QM	F CALC.	F
MEIO DE CULTIVO	1	0,02	0,02	0,01 (NS)	4,06 (5%)
DESINIBIDOR	1	1,90	1,90	1,07 (NS)	
RESIDUO	45	80,06	1,78		
TOTAL	47	81,98			

**NS – NÃO SIGNIFICATIVO (p=0,95)**

**PERGUNTA Nº 3 . PARA CADA ACESSO DE ALHO HÁ DIFERENÇA ENTRE A PRESENÇA E A AUSÊNCIA DE DESINIBIDOR, INDEPENDENTE DOS MEIOS?**

**ACESSO ELDORADO DO SUL**

FONTES DE VARIÇÃO TAB	GRAUS DE LIBERDADE	SOMA DE QUADRADOS	QUADRADO		
	GL	SQ	MÉDIO QM	F CALC.	F
DESINIBIDOR	1	0,25	0,25	0,37 (NS)	4,60
RESIDUO	14	9,50	0,68		
TOTAL	15	9,75			

**NS – NÃO SIGNIFICATIVO (p=0,95)**

**ACESSO LAMI**

FONTES DE VARIÇÃO TAB	GRAUS DE LIBERDADE	SOMA DE QUADRADOS	QUADRADO		
	GL	SQ	MÉDIO QM	F CALC.	F
DESINIBIDOR	1	3,07	3,07	3,20 (NS)	4,60
RESIDUO	14	13,37	0,96		
TOTAL	15	16,44			

**NS – NÃO SIGNIFICATIVO (p=0,95)**

**ACESSO VIAMÃO**

---

<b>FONTES DE VARIÇÃO TAB</b>	<b>GRAUS DE LIBERDADE</b>	<b>SOMA DE QUADRADOS</b>	<b>QUADRADO</b>		
	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>MÉDIO QM</b>	<b>F CALC.</b>	<b>F</b>
DESINIBIDOR	1	1,00	1,00	1,09 (NS)	4,60
RESIDUO	14	12,75	0,91		
TOTAL	15	13,75			

---

**NS – NÃO SIGNIFICATIVO (p=0,95)**

**PERGUNTA Nº 4. PARA CADA ACESSO DE ALHO HÁ DIFERENÇA ENTRE OS QUATRO TEMPOS INDEPENDENTE DOS MEIOS E DA PRESENÇA OU NÃO DOS DESINIBIDORES?**

**ACESSO ELDORADO DO SUL**

FONTES DE VARIÇÃO	GRAUS DE LIBERDADE GL	SOMA DE QUADRADOS SQ	QUADRADO		
			MÉDIO QM	F CALC.	F TAB
TEMPOS	3	8,25	2,75	22,00**	3,49 (5%)
RESIDUO	12	1,50	0,13		5,95 (1%)
TOTAL	15	9,75			

**\*\* MUITO SIGNIFICATIVO (p= 0,99)**

**TESTE DE TUKEY**

TRATAMENTO	MÉDIAS
72 E 144 HORAS	8,00 (A)
48 HORAS	7,25 (A)
24 HORAS	6,25 (B)

**MÉDIAS COM MESMA A LETRA NÃO DIFEREM SIGNIFICATIVAMENTE**

**ACESSO LAMI**

FONTES DE VARIÇÃO	GRAUS DE LIBERDADE GL	SOMA DE QUADRADOS SQ	QUADRADO			
			MÉDIO QM	F CALC.	F TAB	
TEMPOS	3	8,69	2,90	4,46*	3,49 (5%)	5,95 (1%)
RESIDUO	12	7,75	0,65			
TOTAL	15	16,44				

\* SIGNIFICATIVO (p= 0,95)

**TESTE DE TUKEY**

TRATAMENTO	MÉDIAS
144 HORAS	6,00 (A)
72 HORAS	5,50 (AB)
48 HORAS	5,25 (AB)
24 HORAS	4,00 (B)

**MÉDIAS COM MESMA A LETRA NÃO DIFEREM SIGNIFICATIVAMENTE**

### ACESSO VIAMÃO

FONTES DE VARIÇÃO	GRAUS DE LIBERDADE GL	SOMA DE QUADRADOS SQ	QUADRADO		
			MÉDIO QM	F CALC.	F TAB
TEMPOS	3	10,75	3,58	14,32**	3,49 5,95 (5%) (1%)
RESIDUO	12	3,00	0,25		
TOTAL	15	13,75			

\*\* MUITO SIGNIFICATIVO (p= 0,99)

### TESTE DE TUKEY

TRATAMENTO	MÉDIAS
72 E 144 HORAS	7,50 (A)
48 HORAS	7,00 (A)
24 HORAS	5,50 (B)

MÉDIAS COM MESMA A LETRA NÃO DIFEREM SIGNIFICATIVAMENTE

TABELA 3

**INTENSIDADE DA ATIVIDADE DE INIBIÇÃO BACTERIANA E  
INTENSIDADE DE INATIVAÇÃO BACTERIANA DO ACESSO ELDORADO  
DO SUL SOBRE BACTERIAS GRAM POSITIVAS E GRAM NEGATIVAS**

	<b>S. ENTERITIDIS</b>	<b>E. COLI</b>	<b>TOTAL</b>
--	-----------------------	----------------	--------------

<b>TEMPO (HORAS)</b>	<b>SD</b>	<b>CD</b>	<b>SOMA</b>	<b>SD</b>	<b>CD</b>	<b>SOMA</b>	<b>SD</b>	<b>CD</b>	<b>SOMA</b>
24	8	7	15	8	7	15	16	14	30
48	8	8	16	9	8	17	17	16	33
72	8	8	16	9	9	18	17	17	34
144	8	8	16	9	9	18	17	17	34
$\Sigma X$	32	31	63	35	33	68	67	64	131
MÉDIA	8,00	7,75	7,88	8,75	8,25	8,50	8,38	8,00	8,19
$\Sigma X^2$	256	241	497	307	275	582	563	516	1079



**PRIMEIRA PERGUNTA : HÁ DIFERENÇA ENTRE AS BACTÉRIAS, INDEPENDENTE DE TEMPO E DA PRESENÇA OU AUSÊNCIA DE DESINIBIDORES?**

**COMPARAÇÃO DE RESULTADOS ENTRE S. ENTERITIDIS E E.COLI IGNORANDO TEMPO E PRESENÇA OU AUSÊNCIA DE DESINIBIDORES**

FONTES DE VARIÇÃO	GRAUS DE LIBERDADE GL	SOMA DE QUADRADOS SQ	QUADRADO		
			MÉDIO QM	F CALC.	F TAB
BACTÉRIAS	1	1,57	1,57	4,49 (NS)	4,84
RESIDUO	14	4,87	0,35		
TOTAL	15	6,44			

**NS – NÃO SIGNIFICATIVO (p=0,95)**

**TERCEIRA PERGUNTA : INDEPENDENTE DA BACTERIA , HOUE INFLUÊNCIA DO TEMPO DE EXPOSIÇÃO?**

FONTES DE VARIÇÃO	GRAUS DE LIBERDADE GL	SOMA DE QUADRADOS SQ	QUADRADO		
			MÉDIO QM	F CALC.	F TAB
TEMPO	3	2,69	0,90	2,90 (NS)	3,49
RESIDUO	12	3,75	0,31		
TOTAL	15	6,44			

**NS – NÃO SIGNIFICATIVO (p=0,95)**

**QUARTA PERGUNTA: INDEPENDENTE DA BACTÉRIA, HOUE INFLUÊNCIA DA PRESENÇA OU NÃO DE DESINIBIDOR?**

<b>FONTES DE VARIÇÃO</b>	<b>GRAUS DE LIBERDADE GL</b>	<b>SOMA DE QUADRADOS SQ</b>	<b>QUADRADO MÉDIO QM</b>	<b>F CALC.</b>	<b>F TAB</b>
DESINIBIDOR	1	0,57	0,57	1,36 (NS)	4,60
RESIDUO	14	5,87	0,42		
TOTAL	15	6,44			

**NS – NÃO SIGNIFICATIVO (p=0,95)**

**QUINTA PERGUNTA: POR BACTÉRIA HOUVE INFLUÊNCIA DA PRESENÇA OU DA AUSÊNCIA DO DESINIBIDOR?**

**S. ENTERITIDIS**

FONTES DE VARIÇÃO	GRAUS DE LIBERDADE GL	SOMA DE QUADRADOS SQ	QUADRADO		
			MÉDIO QM	F CALC.	F TAB
DESINIBIDOR	1	0,12	0,12	0,96 (NS)	5,99
RESIDUO	6	0,75	0,13		
TOTAL	7	0,87			

**NS – NÃO SIGNIFICATIVO (p=0,95)**

**E. COLI**

FONTES DE VARIÇÃO	GRAUS DE LIBERDADE GL	SOMA DE QUADRADOS SQ	QUADRADO		
			MÉDIO QM	F CALC.	F TAB
DESINIBIDOR	1	0,50	0,50	0,86 (NS)	5,99
RESIDUO	6	3,50	0,58		
TOTAL	7	4,00			

**NS – NÃO SIGNIFICATIVO (p=0,95)**

**SEXTA PERGUNTA: POR BACTÉRIA SE HOUE INFLUÊNCIA OU NÃO DO TEMPO DE EXPOSIÇÃO**

**S. ENTERITIDIS**

FONTES DE VARIÇÃO	GRAUS DE LIBERDADE GL	SOMA DE QUADRADOS SQ	QUADRADO		
			MÉDIO QM	F CALC.	F TAB
TEMPO	3	0,37	0,12	0,92 (NS)	6,59
RESIDUO	4	0,51	0,13		
TOTAL	7	0,88			

**NS – NÃO SIGNIFICATIVO (p=0,95)**

**E. COLI**

FONTES DE VARIÇÃO	GRAUS DE LIBERDADE GL	SOMA DE QUADRADOS SQ	QUADRADO		
			MÉDIO QM	F CALC.	F TAB
TEMPO	3	3,00	1,00	4,00 (NS)	6,59
RESIDUO	4	1,00	0,25		
TOTAL	7	4,00			

**NS – NÃO SIGNIFICATIVO (p=0,95)**

TABELA Nº 4

**INTENSIDADE DE INATIVAÇÃO BACTERIANA DO ALHO JAPONES  
SOBRES. S. ENTERITIDIS E *ESCHERICHIA . COLI***

<b>TEMPO (HORAS)</b>	<b>S. ENTERITIDIS</b>	<b>ESCHERICHIA COLI</b>	<b>TOTAL</b>
24	6	4	10
48	6	7	13
72	6	7	13
144	6	7	13
<b>TOTAL</b>	24	25	49

**PRIMEIRA PERGUNTA :** INDEPENDENTE DE TEMPO, HÁ DIFERENÇA ENTRE AS BACTÉRIAS ( S. ENTERITIDIS E *E. COLI*).

<b>FONTES DE VARIÇÃO</b>	<b>GRAUS DE LIBERDADE GL</b>	<b>SOMA DE QUADRADOS SQ</b>	<b>QUADRADO</b>		
			<b>MÉDIO QM</b>	<b>F CALC.</b>	<b>F TAB</b>
BACTÉRIAS	1	0,12	0,12	0,11 (NS)	5,99
RESIDUO	6	6,75	1,13		
TOTAL	7	6,87			

**NS – NÃO SIGNIFICATIVO (p=0,95)**

**SEGUNDA PERGUNTA: INDEPENDENTE DE BACTÉRIAS, HOUVE DIFERENÇA ENTRE OS DIFERENTES TEMPOS DE EXPOSIÇÃO?**

FONTES DE VARIÇÃO	GRAUS DE LIBERDADE GL	SOMA DE QUADRADOS SQ	QUADRADO		
			MÉDIO QM	F CALC.	F TAB
TEMPO	3	3,25	1,08	1,11 (NS)	6,59
RESIDUO	4	3,88	0,97		
TOTAL	7	7,13			

**NS – NÃO SIGNIFICATIVO (p=0,95)**

**TERCEIRA PERGUNTA: EM CADA BACTÉRIA, HOUVE DIFERENÇA ENTRE OS DIFERENTES TEMPOS DE EXPOSIÇÃO?**

**S. ENTERITIDIS**

FONTES DE VARIÇÃO	GRAUS DE LIBERDADE GL	SOMA DE QUADRADOS SQ	QUADRADO		
			MÉDIO QM	F CALC.	F TAB
TEMPO	3	0,37	0,12	0,92 (NS)	6,59
RESIDUO	4	0,51	0,13		
TOTAL	7	0,88			

**NS – NÃO SIGNIFICATIVO (p=0,95)**

**ESCHERICHIA COLI**

FONTES DE VARIÇÃO	GRAUS DE LIBERDADE GL	SOMA DE QUADRADOS SQ	QUADRADO		
			MÉDIO QM	F CALC.	F TAB
BACTÉRIAS	1	0,12	0,12	0,11 (NS)	10,13
TEMPO	3	3,37	1,12	0,99 (NS)	9,28
RESIDUO	3	3,38	1,13		
TOTAL	7	6,87			

**NS – NÃO SIGNIFICATIVO (p=0,95)**



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKERELE, O. Medicinal plants and Primary Health Care: for action. **Fitoterapia**. Milano, v.LIX, n.5 , p.355-363., 1988 .

ALMEIDA MEIRELLES, A.J.; PAGNANI, E.M.; FRAZÃO SILVA, L.; FABRINI FILHO, L.C.; NEGRETE, V. Cooperativismo e industrialização: o papel de pequenas unidades versáteis de processamento de hortifrutícolas.In: **Cadernos de Debate**, NEPA/UNICAMP,v. IV, p.14-32, Campinas,1996.

ANKRI, S.; MIRELMAN, D.; Antimicrobial properties of allicin from garlic, *Microbes and Infection* 1999,125-129.

AVANCINI, C. A. Desinfecção em Saúde e Produção Animal: Bacteriostasia e Bactericidia de *Baccharis trimera* (Less.) – *Compositae* – (Carqueja) frente a Microrganismos Entéricos e Cutâneos. **Dissertação de Mestrado**. Programa de Pós-Graduação em ciências Veterinárias/Faculdade de Veterinária/Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Orientador, Prof. Dr. José Maria Wiest, Porto Alegre, RS/BR, 1995.101p.

BARA , M. T. F. Avaliação do efeito inibidor de condimentos desenvolvimento de *Yersinia enterocolitica*.1992. 73 f. Dissertação (mestrado em Microbiologia Agrícola) – Universidade Federal de Viçosa, 1992.

BASILICO, M. Z.; BASILICO, J. C. Inhibitory effects of some spices Essentials oils on *Aspergillus ochraceus* NRRL 3174 growth and ochratoxin A production. **Letters in Applied Microbiology**. V.29, n.4, p.238-241, 1999.

BEDIN, C. ; Atividade antibacteriana in vitro do decocto de *Origanum applii* (domin) – Boros – Labiatae ( orégano/manjerona sobre agentes de interesse em alimentos. **Dissertação de Mestrado**. Programa de Pós-Graduação em ciências Veterinárias/Faculdade de Veterinária/Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Orientador, Prof. Dr. José Maria Wiest, Porto Alegre, RS/BR, 1998.90p.

BEDIN, C.; GUTKOSKI, S. B.; WIEST, J. M. Atividade antimicrobiana das especiarias. **Higiene Alimentar**. v.13, n.65, p.26-29, 1999.

BRASIL . Ministério da Agricultura. **Regulamento técnicos de identificação e qualidade de leite e produtos lácteos**. Brasília, 1997. 77 p..

BOARD,R.G.; **Introducción a la microbiología Moderna de los Alimentos**.Zaragoza;:Ed. Acriba,1988,272p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância sanitária.RDC nº 12 de 03 de janeiro de 2001.Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Disponível em: <[http:// www.anvisa.gov.br/legisl/resol/12\\_01rdhtm](http://www.anvisa.gov.br/legisl/resol/12_01rdhtm)> Acesso em: 12 dez.2006.

BRASIL. Ministério da Agricultura. **Regulamentos técnicas de identificação e qualidade de leite e produtos lácteos**.BR,1997.77p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Abastecimento e Reforma Agrária. Secretaria de Defesa Agropecuária. Departamento de Inspeção de produtos de Origem Animal. **Regulamentos técnicos de identidade e qualidade de leite e produtos lácteos**. Brasília, DF. 1997. 129p.

CALCI, K. R., BURKHARDT III, W., WATKINS, W. D. et al Occurrence of male-specific bacteriophage in fecal and domestic animal wastes, human feces and human-associated wastewaters. **Applied and Envir Microbiol**,v.64,n. 12, p.5027-5029, dec,1998.

CALLEGARI - JACQUES, L. M.; **Bioestatística princípios e aplicações**, Ed. ARTMED, Porto Alegre/RS. 2004 p. 255.

CARVALHO.H.H.C.; **Avaliação da atividade antibacteriana de plantas com indicativo etnográfico condimentar. Dissertação de Doutorado**. Programa de Pós-Graduação em ciências Veterinárias/Faculdade de Veterinária/Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Orientador, Prof. Dr. José Maria Wiest, Porto Alegre, RS/BR, 2005.199p.

CARVALHO. H.H.C; WIEST, J.M. GRECO, D.P.; Atividade antibacteriana e a preditividade do condimento *Artemisia dracunculus* Linn. (Asteraceae), variedade *inodora* – estragão –, frente à *Salmonella* sp. Ciênc. Tecnol. Aliment., vol. 26 nº. 1: 75-79-,Campinas jan.-mar.2006.

CAVALLI-SFORZA, L. **Biometric**. Stuttgart: Gustav Fisher V. p. 201 – 204, 1974.

CAVALLITO.C.J., BAILEY. J.H.(1944) Allicin, the antibacterial principle of *Allium sativum*. Determination of the chemical structure. **J. Am. Chem. Soc.**66.1952-1954

CELLINI,L.;DICAMPLI,E.;MASULLI,M.;DIBARTOLOMEO,S.;  
ALLOCATI,N.;Inhibition of helicobacter pylori by garlic extract (*Allium sativum*).**Fems Immunology and medical Microbiology**.Chienti,n.13,p.273-277,1996.

COOTE. , P.; BRULL, S. Preservatives agents in food.: mode of action and microbial resistance mechanisms. **Internacional Journal of food microbiological**. v. 50 ,p.1-17, 1999.C

DEANS, S.G.;RITCHIE,G. Antibacterial properties of plant essencial oils. **Internacional Journal of Food Microbiology, Amsterdam**, n.5, p.165-180, 1987

DVG (Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft/Sociedade Alemã de Medicina Veterinária)*Richtlinien zur Prüfung chemischer Desinfektionsmittel für die Veterinärmedizin/Normas para a testagem de desinfetantes químicos para a medicina veterinária*. Giessen, 1980. In: SCHLIESSER, Th.; Strauch, D. *Desinfektion in Tierhaltung, Fleisch- und Milchwirtschaft/Desinfecção na produção animal, em laticínios e em frigoríficos*. Stuttgart: Enke Verlag,1981. 455p.

**FARMACOPÉIA** dos Estados Unidos do Brasil. 2 ed. São Paulo: Siqueira, 1959.

FOODBASE. **Base de dados em CD-ROM da Legislação Brasileira**. Associação Brasileira das Indústrias de Alimentos, 1996.

FRANCO, B. D. G. M. LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu,1996.182p..

FURTADO, M. M. **A arte e a ciência do queijo**. São Paulo, Editora Globo S.A.,1991

GIACOMETTI, D. C. **Ervas condimentares e especiarias**. São Paulo: Nobel,1989.158p. p. 76-78.

GOTTARDI, C. P .T.; SCHMIDT, V.; Surtos de Toxinfecção Alimentar notificadas e investigadas no Município de Porto Alegre no período de 1995 a 2002. Monografia UFRGS -2003/2.

GOVERNO DO ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL. Secretaria da Agricultura e Abastecimento. Departamento de Agroindústria, Cooperação e Comercialização, **Programa da agroindústria familiar**. 1999.

GOULD, G. W. Industry perspective on the use of natural antimicrobials and inhibitors for foods applications. **Journal of Food Protection**, Iowa, p. 82-86, 1995.

GUERREIRO, M. G. *Escherichia*. In: GUERREIRO, M. *et. al* **Bacteriologia especial - com interesse em saúde animal e saúde pública**. Porto Alegre: Sulina, 1984(a). p.178-183.

GUERREIRO, M. G. *Staphylococcus*. In: GUERREIRO, M. *et. al* **Bacteriologia especial - com interesse em saúde animal e saúde pública**. Porto Alegre: Sulina, 1984(b). p.135-144.

HU, G.; LU Y.; WEI, D.; Chemical characterization of Chinese chive seed (*Allium tuberosum* Rottl.) - **Food Chemistry** v.99 – 2006, 693-697.

ICMSF. INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATION FOR FOODS. **Ecologia Microbiana de los Alimentos**. Zaragoza: Acribia, 1980. V.2; Productos Alimentícios. p. 739-759.

JABLONSKY J.M.; BOHACH G.A. *Staphylococcus aureus*. In: DOYLE M.H.; BEUCHAT L.R.; MONTVILLE T.J. **Food microbiology. Fundamentals and frontiers**. Washington D.C.: ASM, 1997. Cap.19, p.353-375.

KAUR, J.; ARORA, D. S.; Antimicrobial activity of spices. **International Journal of Microbiology**. v.12, p. 257-262, 1999.

KUNZ, B.; GROHS, B. M. Use of spices mixtures for the stabilization of fresh portioned pork. **Food Control**. v.11, p.433-436, 2000.

KYUNG, K.H.; PARK, K.K.; KIM, Y.S. Isolation and characterization of bacteria resistant to the antimicrobial activity of garlic. **Journal of Food Science**, Chicago, v.61, n 1, p. 226-229, 1996.

LEUSCHNER,R.; ZAMPARINI,J.; Effects of spices on growthne Survival of *Escherichia coli* 0157 and *Salmonella* enterica sorovar Enteridis in borth model Systems and mayonnaise. **Food Control**,v.13,p.399-404,2002.

LIMA, Milton L. da Paz et al . *Allium tuberosum* como hospedeira de *Puccinia allii* no Brazil. **Fitopatol. bras.**, Brasília, v. 30, n. 6, 2005. Disponível em: <<http://www.scielo.br/scielo>. Acesso em: 12 Dez 2006.

MALUF, R. .S.; MENEZES, F.; VALENTE, F.L. Contribuição ao Tema Segurança Alimentar no Brasil, 66-89 p.In: Cadernos de Debate, NEPA/UNICAMP, v. IV, 14-32 p., Campinas, 66-89 p., 1996.

MING, L. C. Coleta de Plantas medicinais. In: DISTASI, L. C. **Plantas Mediciniais: Arte e Ciência**. Um guia para o estudo interdisciplinar. São Paulo: Ed. UNESP, 1996, p. 69 – 86.

MING, L. C. Composição Alimentar com Jiucai –Editor chefe da **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. São Paulo: 2006.

MULTON, J.L.; **Aditivos y Auxiliares de Fabricación en las Industrias Agroalimentares**. Zaragoza: Ed. Acribia, p. 129-138, 1988.

OPAS/OMS, **Estrategias para fomentar a promoção da proteção de alimentos através da participação comunitária**, In: REUNIAO INTERAMERICANA, A NIVEL MINISTERIAL, SOBRE A SAUDE E A AGRICULTURA,12, 2001, São Paulo. Anais... São Paulo: Organização Pan-Americana de Saúde, Organização Mundial da Saúde,2001.

PINTO, A.; **Investigação de Enfermidades transmitidas por Alimentos**. Porto Alegre, RS. 180 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias/Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1999

PINTO, A. T. ; BERGMANN, G. P. Investigação de Enfermidades transmitidas por Alimentos. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 14, n. 74, p.21 – 24, 2002.

ORSI, S.D. ; Produtos artesanais derivados do leite. 3ª ed. Brasília: EMATER-DF,1996. 47 p.

OZCAN, M. ;ERKMAN, O. Antimicrobial activity of the esencial oils of Turkinsh plant spices. **Eur.Food Res. Technol.** 212, 658-660, 2001.

OZCCELIK, S.; OZCAN, M.; KUSÇU, A.; SAGDIC, O.; Effects Turkish spice extracts at various concentrations on the frowth of *Escherichia coli* 0157:H7. **Food Microbiology**. v. 19, p.473-480, 2002..

PELCZAR, M.J. Jr.; CHAN, E.C.S.;KRIEG,N.R. **Microbiologia: conceitos e aplicações**. 2 ed. São Paulo: Pearson Education do Brasil,1997.517p.2 v.

PINTO, A.T.; BERGMANN,G.P.; Investigação de Enfermidades Transmitidas por Alimentos; **Higiene Alimentar**,v.14, n.74, jul.2000.

PITA, M. S. Tendencias atual del estreptococo como indicador de contaminación fecal. **Revista Cubana de Higiene y Epidemiologia** . Havana. v.40 n.138-43p.jan/abr.2002.

ROITMAM, I.; TRAVASSOS, L.R. ; AZEVEDO, J.L. **Tratado de microbiologia**. São Paulo: Malone, 1987.126p v.2.

SANG, S.; MAO, S.; LAO, A .;ZHONGLIANG, C .; HO, CHI-TANG; New steroid saponinas from the seeds of *Allium tuberosum* L., Food Chemistry, v.83, 499-506, 2003.

SHARF, J. M. **Exame microbiológico de alimentos**. São Paulo: Polígono, 1972. Cap.16:  ndices de sanidade: p.173-186.

SHELEF, L. A. Antimicrobial effects of spices. **Journal of Food Safety**. V. 6, p. 29-44, 1983.

SCHMIDT, K. F. **Kaese, Butter, Joghurt**.Prey Buchverlang Berlin, 1996.103p.

SHELEF, L.A.; NAGLIK, O.A.; BOGEN, D. W. Sensivity of some common foodborne bacteria to the spices sage, rosemary and allspice. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 45, p. 1042-1044, 1980.

SHELEF, L. A. Antimicrobial effects of spices. **Journal of Food Safety**. V. 6, p. 29-44, 1983.

SCHILLHORN VAN VEEN, R. W. S. Sense or Nonsense? Tradicional Methods of animal parasitic disease control. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam. V.71. p. 177-194, 1997.

TASSOU, C. C.; DROSINOS, E. H; NYCHAS, G, J. E. Inhibition of resident microbial flora and pathogen inocula on cold fresh fish filests in olive oil, oregano and lemon juice under modified atmosphere or air. **Journal of Food Protection**, Iowa, v. 59, n.1, p. 31-34, 1995.

TRABULSI; L.R. ALTERTHUM, F. **Microbiologia**, 4 ed. São Paulo: Atheneu 2004,718p.

VAN DENDER, A.G.F. Princípios básicos da fabricação de queijos fundidos de requeijão cremoso. **Leite e Derivados**, v.1, n3, p. 26, 1992.

**1- DADOS PESSOAIS**

Nome: Cristina Dias Araújo

Endereço Residencial: Rua Barbedo,687 apto.13 Bloco: B

Cidade: Porto Alegre Estado: RS CEP: 90110260

Telefone: 51-32333176

Estado Civil: Solteira Data de Nascimento: 22/09/1967 Idade: 37 anos

Naturalidade: Caçapava do Sul Estado: RS

Nome do Pai: Jose Ângelo Araújo

Nome da Mãe: Eroni Dias Araújo

Carteira de Identidade: 70412711391

Órgão Expedidor: SSP-RS Data de Emissão: 10/07/1998

C.P.F.: 425472450.00 CRN2: 5455

Correio eletrônico: [cristina\\_pl@yahoo.com.br](mailto:cristina_pl@yahoo.com.br); [plecris@terra.com.br](mailto:plecris@terra.com.br)

**2- FORMAÇÃO ACADÊMICA**

**Instituição: Universidade do Vale dos Sinos-UNISINOS**

Curso: Nutrição

Início 1995/2

Colação de grau: 2001/2

**Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS**

PPGCV - Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias

Mestrado: Saneamento Aplicado à Saúde e Produção Animal

Colação: Em andamento









