

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

**AVALIAÇÃO ANTIBACTERIANA *in vitro* DE EXTRATOS ETANÓLICOS DE  
AÇAFRÃO-DA-TERRA (*Curcuma longa* L.)  
FRENTE A MICROORGANISMOS TRANSMISSÍVEIS POR ALIMENTOS**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**MARCELO PINTO PAIM**

**Porto Alegre,RS  
2010**

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

**AVALIAÇÃO ANTIBACTERIANA *in vitro* DE EXTRATOS ETANÓLICOS DE  
AÇAFRÃO-DA-TERRA (*Curcuma longa* L.)  
FRENTE A MICROORGANISMOS TRANSMISSÍVEIS POR ALIMENTOS**

**Marcelo Pinto Paim**

**Dissertação apresentada como requisito  
para obtenção do título de Mestre em  
Ciências Veterinárias, área: Medicina  
Veterinária Preventiva, Especialidade:  
Inspeção e Tecnologia de Produtos de  
Origem Animal.**

**Orientador: Prof. Dr. José Maria Wiest**

**Porto Alegre,RS  
2010**

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

MARCELO PINTO PAIM

AVALIAÇÃO ANTIBACTERIANA *in vitro* DE EXTRATOS ETANÓLICOS DE  
AÇAFRÃO-DA-TERRA (*Curcuma longa* L.)  
FRENTE A MICROORGANISMOS TRANSMISSÍVEIS POR ALIMENTOS

APROVADA POR:

---

Prof. Dr. César Augusto Marchionatti Avancini  
Membro da Banca

---

Prof. Dr<sup>a</sup>. Heloisa Helena Chaves Carvalho  
Membro da Banca

---

Prof. Dr<sup>a</sup>. Ingrid Bergman Inchausti de Barros  
Membro da Banca

*Aos meus pais Salatiel e Tânia  
verdadeiros motivadores  
desta caminhada  
A toda a minha família,  
A Camila pelo companheirismo,  
apoio e carinho  
A todos que de alguma forma  
auxiliaram neste trabalho.*

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus por ter permitido que eu chegasse até o fim desta caminhada, me dando força e sabedoria para enfrentar os problemas e prosseguir em busca do meu objetivo.

Aos meus pais que estiveram sempre ao meu lado, apoiando minhas decisões e fazendo planos para o futuro.

A minha noiva Camila que desde o princípio foi peça fundamental e contribuiu imensamente com a minha chegada até aqui.

Ao Prof. Dr. Cesar Avancini e a Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Ingrid de Barros pela amizade, pelo auxílio e pela oportunidade de reciclar conhecimentos.

Aos meus amigos e colegas de trabalho do Laboratório de Higiene de Alimentos: Cláudia, Felícia, Simone, Mônica, Giovani, Elisio José, Camila, Gêssica, Mariana e Mirela pelos momentos de companheirismo e diversão.

À Dr<sup>ª</sup>. Heloisa Carvalho pelos conhecimentos compartilhados, pelos conselhos e pela convivência ao longo deste trabalho.

Ao Professor orientador José Maria Wiest pelo incentivo incondicional em todos os momentos, por oportunizar meu crescimento profissional e pessoal, pela amizade, os meus sinceros agradecimentos.

A todos, o meu muito obrigado.

*“Se, na verdade, não estou no mundo para simplesmente a ele me adaptar, mas para transformá-lo; se não é possível mudá-lo sem certo sonho ou projeto de mundo, devo usar toda possibilidade que tenha para não apenas falar de minha utopia, mas participar de práticas com ela coerentes”*

*Paulo Freire*

## RESUMO

Através de Testes de Diluição em Sistema de Tubos Múltiplos determinou-se *in vitro* a Intensidade de Atividade de Inibição Bacteriana (IINIB/bacteriostasia) e a Intensidade de Atividade de Inativação Bacteriana (IINAB/bactericidia) de soluções contendo extratos etanólicos a 50% de diferentes acessos *in natura* de rizomas (alcoholaturas), bem como diferentes amostras comerciais de pó de rizomas (hidroalcoholaturas) de açafrão-da-terra (*Curcuma longa* L.), sobre inóculos bacterianos padrões de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Salmonella* Enteritidis (ATCC 11076), *Enterococcus faecalis* (ATCC 19433) e *Escherichia coli* (ATCC 11229). Os extratos hidroalcoólicos apresentaram baixa atividade de inibição/inativação entre as quatro bactérias testadas, enquanto que a forma de extração alcoólica sem reidratação (extrato bruto) apresentou atividade antibacteriana seletiva e significativamente mais intensa. *Salmonella* Enteritidis e *Enterococcus faecalis* foram às bactérias mais sensíveis, frente a ambos os extratos (hidroalcoólico e alcoólico), enquanto que *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* apresentaram a menor sensibilidade. Houve diferença positiva significativa para os extratos não reconstituídos (bruto) quando comparados aos reconstituídos.

**Palavras-chave:** atividade antibacteriana, inibição bacteriana, inativação bacteriana, açafrão-da-terra (*Curcuma longa* L.); extratos reconstituídos e não reconstituídos.

## ABSTRACT

*Through Test Dilution System in Multiple Tubes were determined in vitro the intensity bacterial inhibition activity (IINIB/bacteriostasis) and the Intensity of bacterial inactivation activity (IINAB/bactericidie) solutions containing 50% ethanol extracts of different accessions fresh root (alcoholic preparations) as well as commercial samples of powdered root (hidroalcoholaturas) from ground-saffron (*Curcuma longa* L.). patterns of bacterial inocula of *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Salmonella Enteritidis* (ATCC 11076), *Enterococcus faecalis* (ATCC 19433) and *Escherichia coli* (ATCC 11229). The hydroalcoholic extracts showed low activity inhibition/inactivation among the four tested bacteria, while the form of alcohol extraction without rehydration (crude extract) showed selective antibacterial activity and significantly more intense. *Salmonella enteritidis* and *Enterococcus faecalis* bacteria were more sensitive, compared to both extracts (hydroalcoholic and alcohol), while *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* *Stahphylococox* showed the least sensitivity. There was a significant positive difference to the extracts not rehydrated (raw) when compared to rehydrated.*

**Key words:** antibacterial activity, bacterial inhibition, bacterial inactivation, ground-saffron (*Curcuma longa* L.) extracts rehydrated and not rehydrated.

## SUMÁRIO

<b>Capítulo 1</b> .....	10
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	11
<b>1.1 Considerações iniciais</b> .....	11
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	12
<b>2.1 Plantas Medicinais, condimentares e aromáticas</b> .....	12
<b>2.2 Emprego do açafrão-da-terra (<i>Curcuma longa</i> L.)</b> .....	12
<b>2.3 Microrganismos</b> .....	15
2.3.1 <i>Escherichia coli</i> .....	15
2.3.2 <i>Enterococcus</i> .....	16
2.3.3 <i>Staphylococcus</i> .....	17
2.3.4 <i>Salmonella</i> .....	17
<b>2.4 Exposição do problema</b> .....	18
<b>2.5 Hipóteses</b> .....	18
<b>2.6 Objetivos</b> .....	19
2.6.1 Objetivo geral.....	19
2.6.2 Objetivos específicos.....	19
<b>3 Metodologia</b> .....	20
<b>Capítulo 2</b> .....	21
<b>4. Artigo</b> .....	22
<b>5. Discussão geral</b> .....	39
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	41
<i>Curriculum vitae</i> .....	45
ANEXOS.....	46
<b>Anexo 1 - Laudo de Identificação Botânica de <i>curcuma cf. longa</i> L. (ZINGIBERACEAE)</b> .....	47

## Capítulo 1

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 Considerações iniciais

As dificuldades enfrentadas pela segurança alimentar baseiam-se na diversificação dos consumidores com diferentes graus de sensibilidade e estilos de vida. Além disso, alimentos com altos níveis de conservantes para redução da carga microbiana são indesejáveis. A pressão dos consumidores se volta para uma produção maior de alimentos frescos, que possuam conservantes naturais e com uma garantia de segurança absoluta (FORSYTHE, 2002).

A Portaria nº 540/97 da Secretaria de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde, define aditivo alimentar como qualquer ingrediente adicionado intencionalmente aos alimentos, sem propósito de nutrir, com o objetivo de modificar as características físicas, químicas, biológicas ou sensoriais, durante a fabricação, processamento, preparação, tratamento, embalagem, acondicionamento, armazenagem, transporte ou manipulação, dentre eles os condimentos (BRASIL, 1997).

Os condimentos naturais são utilizados com a finalidade de realçar ou repor características, como a cor e o sabor, que com o processamento podem ser perdidas. Existem vários condimentos diferentes, cultivados e utilizados em todo o mundo. Vários estudos (LIMA, 2002; SANTUÁRIO *et al.*, 2007; AQUINO, 2010) sobre os condimentos têm demonstrado que eles apresentam propriedades antimicrobianas, antioxidantes e medicinais e existem evidências de que o aumento do consumo de condimentos pode levar a uma mudança na microbiota intestinal, reduzindo a incidência de câncer. Sabe-se do efeito inibidor de determinados condimentos no crescimento de microrganismos deteriorantes e patogênicos veiculados por alimentos (MAIA *et al.*, 2004).

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1 Plantas Medicinais, condimentares e aromáticas**

Segundo Lima (2008), a revalorização de plantas medicinais, condimentares e aromáticas é uma reação lógica ao abuso indiscriminado de produtos químicos e substâncias sintéticas. O mesmo autor afirma que com a criação da Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, por meio do Decreto Presidencial Nº 5.813, de 22 de junho de 2006, o Brasil, torna-se um produtor em potencial, dono da maior diversidade genética do mundo, com 55 mil espécies vegetais conhecidas e um patrimônio imaterial relacionado às plantas medicinais dos mais abrangentes pela confluência de vários sistemas etnofarmacológicos, está se preparando para assumir papel de destaque no cenário mundial.

A planta medicinal como todo vegetal contém em um ou em vários de seus órgãos substâncias que podem ser empregadas para fins terapêuticos. Medicinal é a parte usada do vegetal na qual essas substâncias ocorrem em quantidades maiores e, por esta razão, são empregadas como matéria-prima de medicamento. Sendo a droga vegetal a planta, ou suas partes, que após sofrerem processo de coleta, preparo e conservação (secagem) justifiquem sua utilização na preparação de medicamentos (OLIVEIRA, 1997).

Na epidemiologia e profilaxia de doenças transmissíveis, a pesquisa de fatores de proteção sustentáveis, mormente entre recursos naturais renováveis como plantas com indicativo medicinal, condimentar ou aromático, constitui prioridade segundo a orientação da Organização Mundial da Saúde/ Conferências Mundiais de Saúde, com ênfase aos aspectos culturais tradicionais envolvidos e sua relação com a atenção básica em saúde (AKERELE, 1993, 1988; ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD, 1984, 1985, 1990).

### **2.2 Emprego do açafrão-da-terra (*Curcuma longa* L.)**

O Açafrão-da-terra (*Curcuma longa* L.) representada na Figura 1, também conhecido como cúrcuma, tem como característica geral ser uma planta herbácea, anual,

aromática, de folhas grandes e longamente pecioladas da família *Zingiberaceae*. Flores amareladas, pequenas, dispostas em espigas compridas. A planta possui sistema radicular composto de um rizoma primário, o bulbo central ou pião e os rizomas secundários, os dedos. Estes medem cerca de 10 cm comprimento (central) e 4 - 6 cm (secundários), quando cortados mostram superfície de cor vermelha alaranjada. Tem cheiro forte e agradável e sabor aromático e picante. Originária da Índia é cultivada em todo o mundo tropical. O uso do açafrão-da-terra é milenar na medicina tradicional da Índia e da China. No Brasil estes rizomas vêm sendo utilizados como tempero de alimentos. Sendo incluído tanto na medicina popular como na fitoterapia científica, utilizada por ter propriedades anti-hepatotóxica, anti-hiperlipidêmica e antiinflamatória, todas reconhecidas internacionalmente. Os rizomas desta planta têm despertado grande interesse nas indústrias de alimentos e farmacêuticas (LORENZI e MATOS, 2008).



Figura 1. Açafrão-da-terra (*Curcuma longa* L.)

Fonte: <http://plantarecultivar.blogspot.com/2009/03/acafrao-curcuma-longa.html>

A utilização dos aditivos sintéticos na melhoria das características sensoriais dos alimentos, e na sua preservação, contribuindo para expansão das agroindústrias. Entretanto, nunca se deixou escapar às vistas de pesquisadores e da sociedade como um todo a necessidade da substituição progressiva parcial ou total desses sintéticos por substâncias naturais, com intuito, principalmente, de melhorar a qualidade do alimento a ser consumido. Nesse sentido, diferentes pesquisadores, entre eles Oliveira *et al.* (2010); Giraldi e Hanazaki (2010), têm estudado uma gama de espécies cultivadas e silvestres,

na tentativa de que, em curto espaço de tempo, possa-se dispor de uma variedade de substâncias com características tais que possam, economicamente, atender às exigências mercadológicas. Dentre várias espécies estudadas em nível mundial, tem-se o açafrão-da-terra (*Curcuma longa* L.) com grande potencial de emprego em vários segmentos da economia (CECÍLIO FILHO *et al.*, 2000).

O açafrão-da-terra, conhecido no mercado internacional como *turmeric*, tem sua importância econômica devida às peculiares características de seus rizomas. Com a busca por alternativas naturais, dentre as quais se vislumbra a possibilidade de sua participação neste atraente e crescente mercado de aditivos naturais de alimentos. Além de sua substância corante - a curcumina, contém óleos essenciais de excelentes qualidades técnicas e organolépticas, com características antioxidante e antimicrobiana, que juntos possibilitam estender sua utilização aos mercados de perfumaria, medicinal, têxtil, condimentar e alimentício. Neste último, crescente é a participação da cúrcuma, como por exemplo, amido para confecção de bolos, e, principalmente, como corante em macarrões, mostardas, molhos (*curry*), queijos, ovos, salgadinhos tipo “chips”, margarinas e carnes. Nestes dois últimos alimentos, além de conferir cor, a cúrcuma poderá, num futuro próximo, ser utilizada com finalidade antioxidante (VOLP *et al.*, 2009).

A sua aplicação na área medicinal ocorre principalmente na medicina tradicional da Índia, China e Japão, como aromático, analgésico e *Tsukeiyaku*, droga contra distúrbios microcirculatórios, tal como trombose (CECÍLIO FILHO *et al.*, 2000).

O mesmo autor descreve que outras propriedades medicinais da cúrcuma reconhecidas pela farmacopéia asiática são: estomáquico, estimulante, carminativa, expectorante, anti-helmíntico, antiinflamatório e dermatológico. O uso terapêutico da cúrcuma como tônico, aromático e estimulante de funções digestivas. No entanto, o consumo mundial de cúrcuma, não é conhecido. Acredita-se, contudo, que a Índia seja o país maior produtor e consumidor. A crescente utilização da cúrcuma na indústria de alimentos tem despertado interesse na expansão dessa cultura e obtenção de produto de melhor qualidade e mais competitivo no mercado.

Essa cultura tem sido conduzida por pequenos produtores e, normalmente, empregando mão-de-obra familiar, constituindo importante fonte de renda para população local (SILVA, 2004).

## 2.3 Microorganismos

As doenças transmitidas por alimentos (DTAs) constituem um dos problemas de saúde pública mais freqüentes do mundo contemporâneo. São causadas por agentes etiológicos, principalmente microorganismos, os quais penetram no organismo humano através da ingestão de água e alimentos contaminados (AMSON *et al.*, 2006). A grande maioria dos surtos de DTAs são causados por vírus e bactérias (JAY, 2005).

No Brasil os dados do Ministério da Saúde mostram que de 1999 a 2004 ocorreram 3.737 surtos com 73.517 casos (BRASIL, 2005), o que resultou em uma média de 623 surtos e 12.253 casos por ano no país.

De fato, o número de surtos notificados de DTAs representa apenas a ponta de um *iceberg*, se comparado com o total de ocorrências (FORSYTHE, 2002). O mesmo autor relata que a maioria dos casos de DTA, porém, não é notificada, pois muitos microrganismos patogênicos presentes nos alimentos causam sintomas brandos, fazendo com que a vítima não busque auxílio médico.

### 2.3.1 *Escherichia coli*

O nome dado a esta bactéria, no final do século XIX, foi *Bacterium Coli* devido ao fato de ser encontrada no colon (GERMANO e GERMANO, 2003).

A *Escherichia coli* encontra-se largamente difundida na natureza, tendo como habitat principal o trato intestinal de animais de sangue quente, integrando as bactérias do grupo coliforme, subdividindo-se em vários biótipos e sorotipos, alguns dos quais patogênicos em potencial para o homem, constituindo-se os alimentos e a água sua principal fonte de infecção (FRAZIER e WESTHOFF, 1993).

Todas as pessoas estão expostas ao risco de infecção, notadamente, as quem têm por hábito de consumir carnes cruas ou mal cozidas, principalmente, bovinas ou de aves (GERMANO e GERMANO, 2003).

A bactéria é referenciada ainda como indicador de contaminação fecal (coliforme fecal), em alimentos, pela facilidade de sua comprovação diagnóstica (FORSYTHE, 2002).

Na atualidade, dentre os agentes de doenças transmitidas por alimentos, diferentes sorotipos (enterohemorrágico, enterotoxígeno, enteroinvasor, enteropatógeno

e enteroagregativo) de *Escherichia coli* foram identificados e vem merecendo crescente atenção epidemiológica, considerando os riscos para os humanos expostos a esta zoonose considerada emergente (ACHA e SZYFRES, 2003).

Segundo Brasil (2005) cerca de 5,5% dos surtos de DTAs são causados por bactérias do grupo coliforme dentre elas o agente etiológico mais frequente é *Escherichia coli*, sendo o terceiro maior causador de surtos alimentares.

Segundo Germano e Germano (2003) os sinais e os sintomas das infecções causadas por *Escherichia coli* dependem da cepa e de suas patogenicidade e virulência, bem como da idade e do estado imune dos pacientes.

Possui uma incubação de 12 a 72 horas, com diarreia, vômito, febre, cólica, mal estar e calafrios (SILVA JR, 2005).

### 2.3.2 *Enterococcus*

Os enterococos são um grupo novo, antes um sub grupo do gênero *Streptococcus*, a partir de 1984 passaram a pertencer ao gênero *Enterococcus*, com 22 espécies reconhecidas atualmente (JAY, 2005).

Segundo Franco e Landgraf (2005) antes de 1984, os estreptococcus fecais eram chamados genericamente de enterococos, e consistiam de duas espécies: *Streptococcus faecalis* e *Streptococcus faecium*. São atualmente denominados *Enterococcus faecalis* e *Enterococcus faecium*. Os mesmos autores citam que são bactérias gram-positivas, comensais do aparelho digestivo (intestino) e urinário, sendo a transmissão de infecções causadas por essas bactérias de origem endógena, alimentar ou através da água.

Segundo Jay (2005) utilização dos enterococos como indicadores de contaminação fecal nos alimentos apresenta algumas restrições, pois também são encontrados em ambientes diferentes do trato gastrointestinal. Além disso, apresentam uma sobrevivência maior do que os patógenos no solo, vegetais e em alimentos, principalmente naqueles submetidos à desidratação, ação de desinfetantes e a flutuações de temperatura por serem mais resistentes. Apesar das limitações do uso desses microrganismos como indicadores de contaminação fecal, sua presença em números elevados em alimentos indica práticas sanitárias inadequadas ou exposição do alimento a condições que permitam a multiplicação de microrganismos indesejáveis.

### 2.3.3 *Staphylococcus*

No contexto das doenças transmissíveis em saúde coletiva, a importância do gênero *Staphylococcus* permanece em evidência, considerando que o portador humano constitui a sua principal fonte de infecção, estimando-se que 30 a 35 % das pessoas saudáveis albergam esta bactéria na nasofaringe ou na pele, destacando-se dentre elas o *S. aureus*. Por sua vez, boa parte dos suínos e aves podem albergar este agente zoonótico em sua pele ou trato respiratório superior. Sob o olhar epidemiológico, seu envolvimento na mastite bovina sub-clínica constitui outra preocupação constante, podendo os animais produtores de carne e de leite contribuir, significativamente, na contaminação das diferentes cadeias alimentares (ACHA e SZYFRES, 2003).

Os estafilococos existem no ar, na poeira, no esgoto, na água, no leite e nos alimentos ou nos equipamentos de processamento de alimentos, nas superfícies expostas aos ambientes, nos seres humanos e nos animais, sendo estes dois últimos os principais reservatórios do agente (FORSYTHE, 2002).

Segundo Germano e Germano (2008), em saúde pública, “em particular na área de vigilância sanitária de alimentos, *Staphylococcus aureus* é considerado como um dos mais frequentes causadores de surtos de toxinfecção, devido ao importante papel desempenhado pelos manipuladores”, ainda cita que durante etapas de processamento dos alimentos, somado aos riscos de contaminação das matérias-primas desde sua origem e às temperaturas inadequadas de conservação pós-cozimento.

Segundo Brasil (2005) cerca de 11,7% dos surtos de DTAs são causados por *Staphylococcus aureus*, demonstrando ser o segundo agente etiológico mais frequentes.

Os sintomas variam com o grau de suscetibilidade, concentração de enterotoxina no alimento e na quantidade ingerida. O período de incubação de 1 a 6 horas, predominando vômitos e náuseas, raríssimas diarreias e sem febre na maioria dos casos relatados (FRANCO e LANDGRAF, 2005).

### 2.3.4 *Salmonella*

A importância do gênero *Salmonella* em saúde coletiva permanece em evidência, considerando sua resistência no meio externo, mais especificamente em resíduos, dejetos, alimentos para consumo humano e animal, solo e águas de

abastecimento, manifestando-se tanto individualmente como em centenas de indivíduos por meio de surtos. Sua verdadeira incidência é difícil de ser avaliada, considerando as deficiências da vigilância epidemiológica e de sua relação com a notificação, o que não impede o aumento significativo do número de focos constatados (ACHA e SZYFRES, 2003). O mesmo autor relata que o reservatório das salmonelas zoonóticas são os animais. Praticamente qualquer alimento de origem animal pode ser fonte de infecção para o homem. Os veículos mais comuns são as carnes contaminadas de aves, bovinas, ovos, leite e seus derivados. Às vezes também são indicados alimentos de origem vegetal como veículos de salmonelas humanas, por transferência da contaminação de produtos de origem animal, falta de higiene nas plantas processadoras ou na cozinha (por contaminação pro fezes humanas e o uso de utensílios contaminados).

Segundo Brasil (2005), 34,7% dos surtos de DTAs identificados, são causados por *Salmonella spp.* Caracterizando este agente etiológico como o de maior destaque epidemiológico em surtos toxinfetivos alimentares notificados nos últimos anos.

## 2.4 Exposição do problema

Considerando o crescente emprego da Açafrão-da-terra (*Curcuma longa* L.) como parte de formulações alimentares como coadjuvantes de cor, aliada a sua relativa atividade antibacteriana relatada pela literatura, pergunta-se:

Qual é a atividade antibacteriana de diferentes amostras comerciais de pó do rizoma de açafrão-da-terra frente à bactérias causadoras de surtos através de alimentos?

Qual é a atividade antibacteriana de diferentes acessos de rizoma *in natura*, de açafrão-da-terra, frente à bactérias causadoras de surtos através de alimentos?

Existe diferença entre as técnicas de obtenção dos extratos brutos, especificamente, partindo de rizomas recém colhidos e de pó comercial de rizomas de açafrão-da-terra?

## 2.5 Hipóteses

Parte-se da hipótese de que as diferentes amostras comerciais e os diferentes acessos de açafrão-da-terra (*Curcuma longa* L.) apresentarão diferentes atividades

antibacterianas. Por sua vez, os diferentes extratos de rizomas recém colhidos e de pó comercial de rizomas apresentarão, outrossim, atividade antibacteriana seletiva sobre as bactérias testadas, com indicativos quantitativos e qualitativos de inibição e ou inativação de determinadas dose infectante em determinados tempos de exposição.

## 2.6 Objetivos

### 2.6.1 Objetivo geral

O presente trabalho teve como objetivo a avaliação da atividade antibacteriana do extrato hidroalcoólico e do extrato alcoólico, reidratados, bem como de extrato alcoólico não reidratado, de açafrão-da-terra (*Curcuma longa* L.) obtido de diferentes origens.

### 2.6.2 Objetivos específicos

Avaliar a atividade bacteriostática/inibição e bactericida/inativação *in vitro* de extratos hidroalcoólicos de amostras comerciais de pó de rizomas de açafrão-da-terra, através de testes de diluição em sistema de tubos múltiplos, sobre os seguintes microrganismos: *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella* Enteritidis.

Avaliar a atividade bacteriostática/inibição e bactericida/inativação “*in vitro*” de extratos hidroalcoólicos com reidratação final e de extratos alcoólicos com ou sem reidratação final de acessos de rizomas (*in natura*) de açafrão-da-terra recém colhidos; através de testes de diluição em sistema de tubos múltiplos, destes diferentes extratos, sobre os seguintes microrganismos: *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella* Enteritidis.

### 3. Metodologia

Foram feitas, inicialmente, hidroalcoólaturas do pó de rizomas de açafrão-da-terra (*Curcuma longa* L.) de diferentes amostras comerciais, as quais em sua quase totalidade apresentaram contaminações, provavelmente provenientes do processo de industrialização, impossibilitando a seqüência dos estudos. Testou-se então outras duas hidroalcoólaturas do pó de açafrão-da-terra de uma mesma amostra comercial, nacional proveniente de dois Lotes diferentes, sendo estes tratamentos denominados de T1 e T2, respectivamente.

Foi observado que, quanto maior o tempo de repouso das hidroalcoólaturas, os extratos se tornavam menos contaminados. Considerando ser necessário, segundo a metodologia seguida, um tempo superior a 15 dias de repouso, para então se extrair os compostos antibacterianos, utilizou-se esta estratégia com o objetivo de diminuir ou mesmo inativar a contaminação prevalente nestas hidroalcoólaturas.

Após a análise da atividade antibacteriana do pó comercial e tendo em vista a utilização popular de amostras agro-ecológicas, dos rizomas de açafrão-da-terra, não industrializados, decidiu-se então trabalhar com o rizoma da planta em seu estado natural. Para tal foram coletadas e adquiridas, respectivamente, rizomas frescos de açafrão-da-terra constituindo-se dois diferentes acessos, a saber: um deles em propriedade agro-ecológica particular em Porto Alegre,RS, outro na Feira de Agricultores Ecologistas (FAE/POA), cultivada através de agricultura familiar em Canela,RS. Estas foram manipulados experimentalmente na forma de extratos alcoólicos reconstituídos a 50% (Avancini, 2002). Estes tratamentos foram chamados de tratamentos T3 e T4.

Após a análise antibacteriana dos extratos reconstituídos (T3 e T4) e comparando-se com a atividade antibacteriana descrita segundo Farmacopéia Brasileira (1987), Cruz e Pereira (2010), Gonçalves (2005) e Louguercio *et al* (2005), que utilizaram extratos alcoólicos não reconstituídos (brutos) a 50%, resolveu-se então, considerando a disponibilidade de material para pesquisa, testar a atividade antibacteriana diretamente no rizoma recém colhido de açafrão-da-terra, novamente oriundo da Feira de Agricultores Ecologistas (FAE/POA), cultivado através de agricultura familiar em Canela/RS, utilizando-se extrato não reconstituídos (bruto) a 50%, chamado de T5.

## Capítulo 2

Artigo submetido à Revista Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia  
Brazilian Journal of Veterinary and Animal Sciences

Caixa Postal 567

30123-970 Belo Horizonte MG Brasil

Tel: +55 31 3499-2042 / Fax: +55 31 3499-2041

Enviado em 20 de maio de 2011.

#### 4. Artigo

### **Avaliação antibacteriana *in vitro* de extratos etanólicos de rizomas de açafão-da-terra (*Curcuma longa* L.) frente a microorganismos transmissíveis por alimentos**

**PAIM, M. P.<sup>1</sup>; MACIEL, M.J.<sup>2</sup> CARVALHO, H. H. C. <sup>3</sup>; WIEST, J. M.<sup>1,3\*</sup>**

<sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal do Rio Grande do Sul; <sup>2</sup>Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Instituto de Ciências e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil; <sup>3</sup>Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos da UFRGS, Caixa Postal 15090, CEP-91501-970, Porto Alegre,RS; [\\*00002497@ufrgs.br](mailto:*00002497@ufrgs.br)

#### **RESUMO**

Através de Testes de Diluição em Sistema de Tubos Múltiplos determinou-se *in vitro* a Intensidade de Atividade de Inibição Bacteriana (IINIB/bacteriostasia) e a Intensidade de Atividade de Inativação Bacteriana (IINAB/bactericidia) de soluções contendo extratos etanólicos a 50% de diferentes acessos *in natura* de rizomas (alcoholaturas), bem como diferentes amostras comerciais de pó de rizomas (hidroalcoholaturas) de açafão-da-terra (*Curcuma longa* L.), sobre inóculos bacterianos padrões de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Salmonella* Enteritidis (ATCC 11076), *Enterococcus faecalis* (ATCC 19433) e *Escherichia coli* (ATCC 11229). Os extratos hidroalcoólicos apresentaram baixa atividade de inibição/inativação entre as quatro bactérias testadas, enquanto que a forma de extração alcoólica sem reidratação (extrato bruto) apresentou atividade antibacteriana seletiva e significativamente mais intensa. *Salmonella* Enteritidis e *Enterococcus faecalis* foram às bactérias mais sensíveis, frente a ambos os extratos (hidroalcoólico e alcoólico), enquanto que *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* apresentaram a menor sensibilidade. Houve diferença positiva significativa para os extratos não reconstituídos (bruto) quando comparados aos reconstituídos.

**Palavras-chave:** atividade antibacteriana, inibição bacteriana, inativação bacteriana, açafão-da-terra (*Curcuma longa* L.); extratos reconstituídos e não reconstituídos.

#### **ABSTRACT**

*Through Test Dilution System in Multiple Tubes were determined in vitro the intensity bacterial inhibition activity (IINIB/bacteriostasis) and the Intensity of bacterial inactivation activity (IINAB/bactericidie) solutions containing 50% ethanol extracts of different accessions fresh root (alcoholic preparations) as well as commercial samples of powdered root (hidroalcoholaturas) from ground-saffron (Curcuma longa L.). patterns of bacterial inocula of Staphylococcus aureus (ATCC 25923), Salmonella Enteritidis (ATCC 11076), Enterococcus faecalis (ATCC 19433) and Escherichia coli*

(ATCC 11229). The hydroalcoholic extracts showed low activity inhibition/inactivation among the four tested bacteria, while the form of alcohol extraction without rehydration (crude extract) showed selective antibacterial activity and significantly more intense. *Salmonella enteritidis* and *Enterococcus faecalis* bacteria were more sensitive, compared to both extracts (hydroalcoholic and alcohol), while *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* *Staphylococcus* showed the least sensitivity. There was a significant positive difference to the extracts not rehydrated (raw) when compared to rehydrated.

**Key words:** antibacterial activity, bacterial inhibition, bacterial inactivation, ground-saffron (*Curcuma longa* L.) extracts rehydrated and not rehydrated.

## INTRODUÇÃO

As dificuldades enfrentadas pela segurança alimentar baseiam-se na diversificação dos consumidores com diferentes graus de sensibilidade e estilos de vida. Além disso, alimentos com altos níveis de conservantes para redução da carga microbiana são indesejáveis. A pressão dos consumidores se volta para uma produção de alimentos frescos, que possuam conservantes naturais (FORSYTHE, 2002).

O Açafrão-da-terra (*Curcuma longa* L) tem como característica geral ser uma planta herbácea anual aromática, de folhas grandes e longamente pecioladas da família das *Zingiberaceae*. Flores amareladas, pequenas, dispostas em espigas compridas. Tem cheiro forte, agradável e sabor aromático e picante. O uso do açafrão-da-terra é milenar na medicina tradicional da Índia, de onde é originária, como também na china sendo cultivada em todo mundo tropical. No Brasil, esta planta vem sendo utilizada como tempero de alimentos (finalidade de realçar ou repor características, como a cor e o sabor). Sendo incluído tanto na medicina popular como na fitoterapia científica, utilizada por ter propriedades anti-hepatotóxica, anti-hiperlipidêmica e antitumoral, todas reconhecidas internacionalmente. Os rizomas desta planta têm despertado grande interesse na indústria de alimentos abrindo novas perspectivas de uso, devido também ao seu potencial como pigmento natural, pois o principal componente extraído do açafrão-da-terra é a curcumina substância corante utilizada em substituição a pigmentos sintéticos (LORENZI e MATOS, 2008).

Além do corante, a curcumina é um potente antioxidante, antiinflamatório e possui atividade antimicrobiana contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas patogênicas (LORENZI e MATOS, 2002).

O uso medicinal do açafreão-da-terra, e à sua atividade antibacteriana, vem sendo documentado por diferentes autores, entre eles Volp *et al.*, (2009), afirmando o efeito positivo do óleo essencial de *Curcuma longa*, *in vitro* suprimindo bactérias como *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus*.

Na epidemiologia e profilaxia de doenças transmissíveis, a pesquisa de fatores de proteção sustentáveis, alternativos, dirigida a recursos naturais renováveis como plantas com indicativo medicinal, condimentar ou aromático, constitui prioridade segundo a orientação da Organização Mundial da Saúde/Conferências Mundiais de Saúde, com ênfase aos aspectos culturais tradicionais envolvidos e sua relação com a atenção básica em saúde (ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD, 1990).

Além da propriedade aromatizante, os condimentos vegetais poderiam aumentar a vida útil dos alimentos por sua atividade bacteriostática e bactericida, retardando o começo da deterioração e o crescimento de microrganismos indesejáveis, interferindo significativamente na epidemiologia e profilaxia de surtos toxinfecivos alimentares (SOUZA, 2003).

As doenças transmitidas por alimentos (DTAs) constituem um dos problemas de saúde pública mais frequentes do mundo contemporâneo. São causadas por agentes etiológicos, principalmente microrganismos, os quais penetram no organismo humano através da ingestão de água e alimentos contaminados (AMSON *et al.*, 2006). A grande maioria dos surtos de DTAs são causados por vírus e bactérias (JAY, 2005).

No Brasil os dados do Ministério da Saúde mostram que de 1999 a 2004 ocorreram 3.737 surtos com 73.517 casos (BRASIL, 2005), o que resultou em uma média de 623 surtos e 12.253 casos por ano no país.

A *Escherichia coli* encontra-se largamente difundida na natureza, tendo como habitat principal o trato intestinal de animais, integrando as bactérias do grupo coliforme, alguns dos quais patogênicos em potencial para o homem, constituindo-se os alimentos e a água sua principal fonte de infecção (FRAZIER e WESTHOFF, 1993). A bactéria é referenciada ainda como indicadora de contaminação fecal, normalmente em alimentos, pela facilidade de sua comprovação diagnóstica e por sua representatividade (FORSYTHE, 2002). No contexto das doenças transmissíveis em saúde coletiva, a importância do gênero *Staphylococcus* permanece em evidência, considerando que o portador humano constitui a sua principal fonte de infecção, estimando-se que 30 a 35 % das pessoas sadias albergam esta bactéria na nasofaringe ou na pele. Sob o olhar

epidemiológico, seu envolvimento em infecções alimentares constitui outra preocupação constante, podendo os animais produtores de carne e de leite contribuir, significativamente, na contaminação das diferentes cadeias alimentares (ACHA e SZYFRES, 2003). Os estafilococos existem no ambiente, nos alimentos e nos equipamentos processadores, nos seres humanos e animais, sendo estes os principais reservatórios do agente (FORSYTHE, 2002). O mesmo autor relata a importância do gênero *Salmonella* em toxinfecções alimentares é relevante, pois, considerando sua resistência no meio externo, mais especificamente em resíduos, dejetos, alimentos para consumo humano e animal, solo e águas de abastecimento, manifestando-se tanto individualmente como em centenas de indivíduos por meio de surtos. Segundo Brasil (2005), 34,7% dos surtos de DTAs identificados, são causados por *Salmonella spp.*, caracterizando este agente etiológico como o de maior importância em surtos alimentares.

Os enterococos são um grupo novo, antes um subgrupo do gênero *Streptococcus*, os quais, a partir de 1984 passaram a pertencer ao gênero *Enterococcus*, com 22 espécies reconhecidas atualmente (JAY, 2005).

Conforme Franco e Landgraf (2005) o uso desses microrganismos como indicadores de contaminação fecal, torna-se relevante, pois se observa a presença em números elevados nos alimentos indicando práticas sanitárias inadequadas ou exposição do alimento a condições que permitam a multiplicação de microrganismos indesejáveis.

Os veículos mais comuns dessas bactérias são as carnes contaminadas de aves, bovinas, ovos, leite e seus derivados, também por passagem da contaminação pela falta de higiene nas plantas processadoras ou na cozinha (pela contaminação de utensílios ou fezes humanas) (ACHA e SZFRES, 2003).

Este trabalho teve como objetivo avaliar a atividade bacteriostática/inibição e bactericida/inativação *in vitro* de extratos hidroetanólicos (pó comercial do rizoma) e etanólicos (rizoma recém colhido) reconstituídos ou não, obtidos de diferentes acessos de açafrão-da-terra (*Curcuma longa* L.), frente à inóculos bacterianos padrões internacionais de interesse em alimentos: *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Salmonella* Enteritidis (ATCC 11076), *Enterococcus faecalis* (ATCC 19433) e *Escherichia coli* (ATCC 11229), atividade esta, expressa como Intensidade de Atividade de Inibição Bacteriana (IINIB/bacteriostasia) e a Intensidade de Atividade de Inativação Bacteriana (IINAB/bacteriocidia). Em síntese, manipularam-se as variáveis: bactérias; diferentes tipos de extração, diferentes amostras e acessos do condimento;

presença ou ausência de desinibidores bacterianos; reidratação ou não do extrato; permanecendo constante a 50% a concentração final do uso dos diferentes extratos nas denominadas soluções conservantes; dentro de linha de pesquisa do Grupo “Alimentos de Origem Animal”, Diretório de Grupos de Pesquisa de CNPq/UFRGS.

## MATERIAL E MÉTODO

### Caracterização das amostras vegetais

O material de estudo constitui-se de:

Amostra 1 - Pó do rizoma seco, de origem comercial - Lote: F3L-BOIV); Amostra 2 - Pó do rizoma seco, de origem comercial nacional (Lote: F4L-B9GS); Acesso 1 - Rizomas frescos colhidos em propriedade agro-ecológica particular localizada na região metropolitana de Porto Alegre,RS (coordenadas 30° 01' 58" S 51° 13' 48" O). Acesso 2 - Rizomas frescos, adquiridos na Feira de Agricultores Ecologistas (FAE) Porto Alegre, RS (coordenadas 29° 21' 57" S 50° 48' 57" O), cultivados sob sistema orgânico, no contexto da agricultura familiar em Canela,RS;

A planta em estudo (Acesso 1-Porto Alegre,RS) incluindo rizomas, folhas e flor foi herborizada segundo Ming (1996) e posteriormente identificada botanicamente (ANEXO 1), sendo encaminhada para registro e depósito junto ao herbário do Departamento de Botânica, Instituto de Biociência, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, recebendo o número de registro ICN 165037.

### Extrato vegetal

Os rizomas secos e frescos de açafrão-da-terra (*Curcuma longa* L.) foram submetidos aos processos de extração alcoólica (rizomas *in natura*), extração hidroalcoólica (pó de rizoma seco) para obtenção das soluções conservantes ou antibacterianas, de acordo com Farmacopéia (1987), Lorenzi e Matos (2002), Avancini (2002), Souza e Wiest (2007) e Avancini e Wiest (2008).

A planta verde recém colhida foi colocada em álcool etílico, de cereais (da FARMAQUÍMICA S.A.<sup>®</sup>, Lote: 085-01-10) a 96°GL, na proporção de 400g de rizoma

*in natura* para 1000mL de álcool, para a extração alcoólica. Para a extração hidroalcoólica, o pó comercial do rizoma foi colocado em álcool etílico, de cereais, a 70°GL, utilizando-se na proporção de 100g para 1000mL de álcool.

Após o período de quinze dias, os macerados foram filtrados e submetidos à destilação fracionada sob pressão reduzida em sistema rota vapor (da Fisaton 802D<sup>®</sup>), desprezando-se a porção alcoólica.

Para avaliação antibacteriana estes extratos foram divididos em extrato reconstituído, onde o volume alcoólico desprezado foi substituído por igual volume com água destilada estéril (AVANCINI, 2002), bem como em extrato não reconstituído (bruto), no qual não houve reposição com água destilada estéril da parte alcoólica desprezada anteriormente segundo Farmacopéia Brasileira (1987); Cechinel *et al.* (1998); Balbi-peña *et al.* (2006) e Pansera *et al.* (2003).

Para o controle permanente da assepsia destes procedimentos de extração e reconstituição, foi determinada a esterilidade de todos os extratos, retirando-se alíquota de 5 mL, semeada em tubos de Caldo BHI (*Brain Heart Infusion*, HIMEDIA<sup>®</sup>, Lote:WA187), incubados aerobicamente à 37 °C por até 48 horas, confirmando-se, por plaqueamento em Agar Nutriente (*Nutrient Agar*, ACUMEDIA<sup>®</sup>, Lote: 0310-148), a esterilidade.

### **Avaliação da atividade antibacteriana *in vitro***

Os inóculos bacterianos testados foram os padrões *American Type Culture Collection* (ATCC), *Enterococcus faecalis* (19433), *Escherichia coli* (11229), *Salmonella* Enteritidis (11076) e *Staphylococcus aureus* (25923) da coleção-bacterioteca do Laboratório de Higiene do ICTA/UFRGS. Os inóculos foram reativados em meio de cultura BHI a 37°C por um período de 18 a 24 horas de incubação aeróbica, com o objetivo de atingir uma concentração  $\geq 1,0 \times 10^8$  UFC/mL para confrontação com os diferentes extratos a 50% de açafraão-da-terra (*Curcuma longa* L.), através de diluições seriais logarítmicas (AVANCINI, 2002).

A avaliação da concentração inicial foi realizada através da técnica da microgota segundo Romeiro (2007) e a contagem de microrganismos viáveis concretizou-se em placas de Petri contendo meio de cultura BHI. Foram realizadas diluições seriadas, a partir do inóculo inicial, transferindo-se 1 mL deste para tubos de ensaio contendo 9 mL

de água peptonada 0,1% (da HIMEDIA<sup>®</sup>, Lote: 40379) para obter a diluição  $10^{-1}$ , e assim sucessivamente até a diluição  $10^{-12}$ . De cada diluição foram transferidas três gotas para placas de Petri utilizando micropipetas de 15  $\mu$ L e a leitura realizada em 24 horas de incubação aeróbia a 37°C. O valor final considerado constituiu-se da média das contagens das gotas triplicadas, avaliadas biometricamente segundo Cavalli-Sforza (1974).

Para a determinação da atividade antibacteriana dos extratos de açafrão-da-terra (*Curcuma longa* L.), os resultados foram lidos como Intensidade de Atividade de Inibição Bacteriana/bacteriostasia (IINIB) e Intensidade de Atividade de Inativação Bacteriana/bactericidia (IINAB), através de leituras por plaqueamentos, em intervalos de 24, 48, 72 e 144 horas de incubação aeróbica a 36°C. Foi utilizado o Teste de Diluição segundo Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft/Sociedade Alemã de Medicina Veterinária (DVG, 1981) com base na técnica do sistema de tubos múltiplos, modificada por Avancini (2002), retomada por Souza & Wiest (2007), Avancini & Wiest (2008), Wiest *et al.*, (2009), Carvalho *et al.*, 2005, confrontando-se cinco diferentes tipos de extratos com 12 diluições seriais logarítmicas ( $10^{-1}$  a  $10^{-12}$  UFC/mL) com quatro inóculos bacterianos padrões.

Os cinco extratos foram delineados da seguinte maneira:

Tratamento 1 (T1) - Extrato hidroalcoólico do pó comercial de rizomas de açafrão-da-terra (*curcuma longa* L.) Lote comercial: F3L-BOIV;

Tratamento 2 (T2) - Extrato hidroalcoólico do pó comercial de rizomas de açafrão-da-terra Lote comercial: F4L-B9GS;

Tratamento 3 (T3) - Extrato Alcoólico reconstituído de rizomas *in natura* de açafrão-da-terra proveniente de propriedade agro-ecológica particular em Porto Alegre,RS.

Tratamento 4 (T4) - Extrato Alcoólico reconstituído de rizomas *in natura* de açafrão-da-terra adquirido da Feira de Agricultores Ecologistas (FAE/Porto Alegre,RS) produzido em propriedade agro-ecológica particular em Canela,RS;

Tratamento 5 (T5) - Extrato Alcoólico não reconstituído (bruto) de rizoma *in natura* de açafrão-da-terra proveniente da Feira de Agricultores Ecologistas (FAE/Porto Alegre,RS) cultivados sob sistema orgânico, no contexto da agricultura familiar em propriedade agro-ecológica particular em Canela,RS.

Foi denominado como IINIB/bacteriostasia, o resultado do confronto da bactéria com a solução antibacteriana em meio específico, o BHI, e por IINAB/ bactericidia, o

mesmo resultado, porém sob a influência de desinibidores (desestressantes) bacterianos, representados no presente trabalho por Tween 80 (da REAÇÃO QUÍMICA<sup>®</sup>, Lote: 21044/04), L-histidina (da SYNTH<sup>®</sup>, Lote: 18051) e Lecitina de soja (da NEON<sup>®</sup>, Lote: 716244R), acrescidos ao mesmo BHI segundo DVG (1981); Avancini (2002); Souza e Wiest (2007); Wiest, *et al.*,(2009) e Carvalho *et al.*(2005).

Segundo Andrade e Macêdo (1996) estes desinibidores (desestressantes) tem a função de inativar a solução antibacteriana em teste, além de fornecer substrato para as bactérias, facilitando seu crescimento. São atribuídos valores da atividade biológica inibitória/bacteriostasia ou inativadora/bactericidia de diferentes soluções antibacterianas sobre diferentes microrganismos, em testes de sensibilidade (AVANCINI, 2002).

Os resultados de Intensidade de Atividade de Inibição Bacteriana/bacteriostasia (IINIB) e Intensidade de Atividade de Inativação Bacteriana/bactericidia (IINAB) foram representados por variáveis ordinais arbitrárias, que assumiram valores de 12 a 0, sendo que o valor de 12 (doze) representa atividade máxima e 0 (zero) a não-atividade, como demonstra a Tabela 1 a seguir:

Tabela 1 - Representação dos valores ordinais arbitrários de intensidade de atividade atribuídos às variáveis de Intensidade da Atividade de Inibição Bacteriana/bacteriostasia (IINIB) e Intensidade de Atividade de Inativação Bacteriana/bactericidia (IINAB) e suas correspondentes diluições e doses infectantes dos inóculos.

12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0	Variáveis ordinárias de intensidade de atividade
$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-6}$	$10^{-7}$	$10^{-8}$	$10^{-9}$	$10^{-10}$	$10^{-11}$	$10^{-12}$	n.a	UFC/mL – diluições de inóculo inibidas ou inativadas
$10^7$	$10^6$	$10^5$	$10^4$	$10^3$	$10^2$	$10^1$	1	$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$	n.a	UFC/mL – doses infectantes inibidas ou inativadas

n.a: ausência de atividade antibacteriana;

UFC/mL: unidades formadoras de colônias por mL.

### **Análise Estatística da atividade antibacteriana**

Ao nível de significância de 5%, foram avaliados os resultados obtidos nas variáveis IINIB, IINAB segundo o acesso, tempo de confrontação e a condição de

extrato reconstituído ou bruto, através da Análise de Variância (ANOVA) e teste de Tukey.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Apartir da planta em estudo, verificou-se que não houve diferença significativa a nível de 5%, tanto entre as três repetições independentes praticadas para cada tratamento, quanto entre os tempos de incubação dos padrões bacterianos frente aos extratos vegetais de 24, 48, 72 e 144 horas, nas condições do experimento. Como os valores para os diferentes tempos foram repetitivos, as análises centraram-se então na média aritmética simples de todos os tempos.

Quando avaliados os tratamentos T1 e T2 atuando sobre os inóculos bacterianos padrões, levando-se em consideração a presença ou ausência de desinibidores ou desestressantes bacterianos (Tween 80, L-histidina e lecitina de soja), independentes das demais variáveis manipuladas, os resultados demonstram que há diferença significativa ( $p < 0,05$ ) na utilização ou não dos desestressantes, observado também por Girolometto *et al.* (2009) e Wiest *et al.*, (2009) testando outras plantas, enquanto que as bactérias *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* apresentaram-se menos sensíveis ao extrato no Tratamento 2, não diferindo significativamente ( $p > 0,05$ ), nas condições do experimento.

Na tabela 2 A Intensidade de Inibição Bacteriana (IINIB/bacteriostasia) apresenta resultado superior ao de Intensidade de Inativação Bacteriana (IINAB/bacteriocidia) para todas as espécies bacterianas com exceção da bactéria *Escherichia coli* da Amostra 1 do pó do rizoma comercial; que apresentou o mesmo valor para IINIB (bacteriostasia/inibição pela ausência de desinibidores) e para IINAB (bacteriocidia/inativação pela presença de desinibidores), ou seja, a ação bacteriostática de açafão-da-terra é superior a ação de bactericida. Passos *et al.* (2009), Souza & Wiest (2007) e Girolometto *et al.* (2009) testando outras plantas e aplicando metodologia semelhante também obtiveram resultados superiores para IINIB em relação ao IINAB.

Analisando diretamente os números absolutos arbitrários, os dois maiores valores de sensibilidade antibacteriana ao extrato em estudo são encontrados, em ordem decrescente *Salmonella* Enteritidis (valor arbitrário 7,16) e *Enterococcus faecalis* (valor arbitrário 2,66).

*Salmonella* Enteritidis, segundo Brasil (2005), apresenta-se como destaque epidemiológico dos surtos toxinfetivos alimentares notificados nos últimos anos.

Apesar de provenientes da mesma marca comercial, mas de Lotes diferentes, uma possível hipótese para estas diferenças entre atividade antibacteriana pode ser atribuída à obtenção a partir de matéria-prima de baixa qualidade ou outra possibilidade de explicação para este evento conforme cita Girolometto *et al.*(2009), perda de componentes antibacterianos fitoquímicos voláteis durante a sua industrialização e armazenamento.

Tabela 2 - Análise da sensibilidade em valores arbitrários\* (média de três repetições independentes entre si) de inóculos bacterianos padrões frente a diferentes extratos de pó comercial de rizomas de açafrão-da-terra (*curcuma longa* L.) na presença e ausência de desinibidores bacterianos, independente do tempo de confrontação.

Inóculos Bacterianos	Extratos de pó comercial					
	T1			T2		
	IINIB	IINAB	<i>p-value</i>	IINIB	IINAB	<i>p-value</i>
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923)	0,91	0	0,0010	1	0,08	0,1415
<i>Salmonella</i> Enteritidis (ATCC 11076)	7,16	4,41	0,0002	2,58	1	0,0016
<i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC 19433)	2,66	0	0,0001	1	0,25	0,0017
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 11229)	0	0	-	0,16	0	0,1327

\* 12 a 1= valores arbitrários que representam a intensidade da atividade antibacteriana (média de 3 repetições); 0= não atividade; *p-value* < 0,05 indica diferença significativa entre os valores de IINIB e IINAB pelo teste Anova, considerando espécies bacterianas e tratamentos;

IINIB = Intensidade de Atividade de Inibição/bacteriostasia; IINAB = Intensidade de Atividade de Inativação/bactericidia.

T1 - Extrato hidroalcoólico do pó comercial de rizoma de açafrão-da-terra pó comercial do rizoma de açafrão-da-terra (*curcuma longa* L.) Lote comercial: F3L-BOIV;

T2 - Extrato hidroalcoólico do pó comercial de rizoma de açafrão-da-terra pó comercial do rizoma de açafrão-da-terra (*curcuma longa* L.) Lote comercial: F4L-B9GS;

Quando analisada a sensibilidade das quatro espécies bacterianas desafiadas frente aos dois extratos, na concentração 50%, de pó dos rizomas de açafrão-da-terra, provenientes de diferentes amostras comerciais independentes dos fatores, tempo de

confrontação e presença ou ausência de desinibidores bacterianos, houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre as bactérias confrontadas, como mostra a Tabela 3. As bactérias que apresentaram maior sensibilidade à atividade antibacteriana foram *Salmonella* Enteritidis (valor arbitrário 7,57) e *Enterococcus faecalis* (valor arbitrário 1,95), respectivamente. Resultados semelhantes também foram encontrados por Péret-almeida *et. al.*, (2008) que testando o óleo essencial de *Curcuma longa* constataram atividade antibacteriana frente à *Salmonella* Enteritidis, não testando frente à *Enterococcus faecalis*. Por outro lado, Maia *et al.* (2004) observaram uma redução considerável do número de *Escherichia coli* em aproximadamente dois ciclos logarítmicos, testando o extrato alcoólico de açafrão-da-terra.

Tabela 3 - Análise da sensibilidade em valores arbitrários\* (média de três repetições independentes entre si) de inóculos bacterianos padrões frente a extratos de pó de rizomas de açafrão-da-terra (*curcuma longa* L.) independentes do lote de amostra, da presença e ausência de desinibidores bacterianos e do tempo de confrontação.

Inóculos Bacterianos	Valores Arbitrários*
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923)	0,99 <sup>a</sup>
<i>Salmonella</i> Enteritidis (ATCC 11076)	7,57 <sup>c</sup>
<i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC 19433)	1,95 <sup>b</sup>
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 11229)	0,08 <sup>d</sup>

\*12 a 1= valores arbitrários que representam a intensidade da atividade antibacteriana (média de 3 repetições); 0= não atividade; Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa a nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Analisando a Tabela 4 é possível destacar a seletividade de ação dos extratos alcoólicos reconstituídos e não reconstituídos (bruto), tanto em relação aos diferentes inóculos bacterianos quanto a presença ou ausência dos desinibidores, Loguercio *et al.* (2005); Cruz e Pereira (2010) trabalhando com outras plantas e com formas de extração semelhantes também constataram este fenômeno. Os resultados apontam uma maior atividade bactericida (IINAB/com desinibidores) e bacteriostática (IINIB/sem desinibidores) para o tratamento T5 quando comparado aos tratamentos T3 e T4, indicando que o grande diferencial negativo, no sentido de menor eficácia, tenha sido o processo de reidratação. Sugere-se que o tipo de extração influencia a eficácia

antibacteriana do extrato, pela possível perda de componentes bioativos na pré-secagem da planta antes da confecção da hidroalcolatura, o que parece não ser tão agravante na alcolatura sem reidratação (extrato bruto).

No Tratamento 5 nota-se a alta intensidade inibitória e inativadora (média 11,43) pela a ação do extrato não reconstituído (bruto) em relação a dose infectante aproximada de  $10^6$ UFC/mL. Passos *et al.* (2009) e Souza & Wiest (2007) testando outras plantas e aplicando metodologias parecidas, também obtiveram resultados de inativação *Salmonella* Enteritidis e *Enterococcus faecalis* e inibição sobre *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*.

Tabela 4 - Análise da sensibilidade em valores arbitrários (\*), de inóculos bacterianos padrões frente a diferentes tratamentos com rizomas de açafrão-da-terra (*curcuma longa* L.) na presença e ausência de desinibidores bacterianos, independente do tempo de confrontação.

Inóculos Bacterianos	T3			T4			T5		
	IINIB	IINAB	$\rho$ -value	IINIB	IINAB	$\rho$ -value	IINIB	IINAB	$\rho$ -value
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923)	0,25	0	0,609	0,8	0,16	>0,05	11,55	9,41	0,042
<i>Salmonella</i> Enteritidis (ATCC 11076)	1,41	1,33	0,154	4,42	4,22	0,22	12	11,93	0,24
<i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC 19433)	0,41	0,25	0,008	4,0	0,2	0,025	12	12	$p > 0,05$
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 11229)	0,16	0	0,578	1,33	0,75	0,005	11,16	11,41	$p > 0,05$

\*12 a 1 = valores arbitrários que representam a atividade antibacteriana (média de três repetições)

0 = não atividade;  $\rho < 0,05$  na linha indicam diferença significativa a nível de 5% de probabilidade para análise de variância (ANOVA); IINIB = Intensidade de Atividade de Inibição/bacteriostasia; IINAB = Intensidade de Atividade de Inativação/bactericidia;

T3 - Extrato Alcoólico reconstituído de rizomas *in natura* de açafrão-da-terra proveniente de propriedade agro-ecológica particular em Porto Alegre,RS;

T4 - Extrato Alcoólico reconstituído de rizomas *in natura* de açafrão-da-terra proveniente da Feira de Agricultores Ecologistas (FAE/Porto Alegre,RS) de propriedade agro-ecológica particular em Canela,RS;

T5 - Extrato Alcoólico não reconstituído (bruto) de rizomas *in natura* de açafrão-da-terra proveniente da Feira de Agricultores Ecologistas (FAE/Porto Alegre,RS) de propriedade agro-ecológica particular em Canela,RS.

Considerando os valores arbitrários absolutos observa-se novamente uma maior ação anti-salmonella nos tratamentos T3, T4 e T5, mostrada na Tabela 4, sendo que os

valores arbitrários atribuídos ao tratamento T5 o destacam quanto à eficácia frente a todos os inóculos confrontados.

Tabela 5 - Análise da sensibilidade em valores arbitrários(\*) das espécies padrões bacterianas frente aos tratamentos de rizomas de açafrão-da-terra (*curcuma longa* L.), oriunda da Feira de Agricultores Ecologistas (FAE) considerando o extrato reconstituído ou não, independente do tempo de confrontação e presença ou ausência de desinibidores bacterianos.

Inóculos Bacterianos	T4 Extrato com Reidratação	T5 Extrato sem Reidratação	$\rho$ -value
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923)	1,5 <sup>a</sup>	10,5 <sup>a</sup>	0,002
<i>Salmonella</i> Enteritidis (ATCC 11076)	4,3 <sup>b</sup>	12 <sup>b</sup>	0,0018
<i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC 19433)	2,0 <sup>c</sup>	12 <sup>c</sup>	0,0045
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 11229)	1,04 <sup>d</sup>	11,28 <sup>d</sup>	0,0028

\*12 a 1 = valores arbitrários que representam a atividade antibacteriana (média de três repetições) 0 = não atividade;  $\rho < 0,05$  na linha indicam diferença significativa a nível de 5% de probabilidade para análise de variância (ANOVA); Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa a nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey;

T4 - Extrato Alcoólico reconstituído de rizomas *in natura* de açafrão-da-terra proveniente da Feira de Agricultores Ecologistas (FAE/Porto Alegre,RS) de propriedade agro-ecológica particular em Canela,RS; T5 - Extrato Alcoólico não reconstituído (bruto) de rizomas *in natura* de açafrão-da-terra proveniente da Feira de Agricultores Ecologistas (FAE/Porto Alegre,RS) de propriedade agro-ecológica particular em Canela,RS.

Quando analisada a sensibilidade das espécies bacterianas desafiadas frente aos dois tratamentos de extrato de açafrão-da-terra a 50%, independentes do tempo de confrontação e presença ou ausência de desinibidores bacterianos, houve diferença significativa  $p < 0,05$  entre os dois tipos de extratos, como podem ser observados na Tabela 5. *Salmonella* Enteritidis, nas condições deste experimento, apresenta a maior sensibilidade antibacteriana em relação aos outros inóculos testados. Essas observações foram confirmadas por Souza *et al.* (2000) estudando *Tagetes minuta* L. - Compositae (“chinchilo”), excluindo *Escherichia coli*, esta praticamente resistente, e por Carvalho *et al.* (2005), estudando 12 diferentes plantas, entre elas: Alho nirá (*Allium tuberosum* R.), Mangerona preta (*oreganum x applii* D.), Pimenta dedo-de-moça (*Capsicum baccatum* L.) e sálvia (cultivada) (*Salvia officinalis* L.). Para estes autores *salmonella* Enteritidis

também demonstrou sempre a maior sensibilidade aos diferentes tipos de extratos, nas condições de seus experimentos.

O extrato reconstituído (T4) apresenta valores arbitrários inferiores indicando novamente que a diluição tem uma grande influência na atividade antibacteriana.

Em números absolutos, na forma de extração alcoólica (rizoma *in natura*) não reidratada (T5), *Salmonella* Enteritidis, *Enterococcus faecalis* e *Escherichia coli* apresentaram os maiores valores de sensibilidade antibacteriana, em ordem decrescente.

É recomendada a combinação do uso de açafrão-da-terra como aditivo natural na redução de bactérias causadoras de surtos alimentares, associada a outras técnicas com a finalidade de conservação de alimentos. Os resultados sugerem a continuidade de estudos objetivando a aplicação de diferentes métodos de obtenção dos extratos de pó de rizomas e de rizomas *in natura* de açafrão-da-terra (*Curcuma longa* L.), tanto para serem utilizados como soluções conservantes ou como condimentos, na perspectiva de qualidade, segurança e sensorialidade alimentar.

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo apoio e financiamento continuados.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACHA, P.N.; SZYFRES, B. **Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales**. 3ªed. V.1p. Washington, D.C.: OPAS, p. 248 - 249, 2003.

AMSON, G.V.; HARACEMIV, S.M.C.; MASSON, M.L. Levantamento de dados epidemiológicos relativos à ocorrências/surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTAs) no Estado do Paraná – Brasil, no período de 1978 a 2000. **Ciência e agrotecnologia**, Lavras, v.30, n.6, p.1139-1145, 2006.

ANDRADE, N. J. de; MACÊDO, J. A. B. de.; **Higienização na indústria de alimentos**. São Paulo: Liv. Varela, 1996. 182 p.

AVANCINI, C.A.M. **Saneamento aplicado em saúde e produção animal: etnografia, triagem da atividade antibacteriana de plantas nativas no sul do Brasil e testes de avaliação do decocto de *Hypericum caprifoliatum* Cham. e Schlecht. – Hypericaceae (Guttiferae) – (“escadinha”, “sinapismo”) para uso como desinfetante e antisséptico**. 2002. 309 p. Tese (Doutor em Ciência Veterinária), Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS).

AVANCINI, C.A.M.; WIEST, J.M. Atividade desinfetante do decocto de *Hypericum caprifoliatum* Cham. e Schlecht. - Guttiferae (escadinha, sinapismo), frente diferentes doses infectantes de *Staphylococcus aureus* (agente infeccioso em mastite bovina). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.10, n.1, p.64-9, 2008.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Boletim eletrônico epidemiológico – vigilância epidemiológica de doenças transmitidas por alimentos no Brasil, 1999-2004**, ano 5, n.06, 2005. Disponível em <<http://www.saude.gov.br/svs>>, acesso em 01/10/2010.

BALBI-PEÑA, M.I., BECKER, A., STANGARLIN, J.R., FRANZENER, G., LOPES, M.C. & SCHWAN-ESTRADA, K.R.F. **Controle de *Alternaria solani* em tomateiro por extratos de *Curcuma longa* e curcumina - II. Avaliação *in vivo***. Fitopatologia Brasileira; p. 401-404. 2006.

CARVALHO, H.H.C.; CRUZ, F.T.; WIEST, J.M. Atividade antibacteriana em plantas com indicativo etnográfico condimentar em Porto Alegre, RS/Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 7, n.3, p. 25-32, 2005.

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

CECHINEL F., V. e YUNES, R. A.. Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais: conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. **Quím. Nova** [online]., n.1,vol.21 , p. 99-105, 1999.

CRUZ, P. B. da; PEREIRA, C. A. M; Avaliação da Presença de Antimicrobianos naturais em condimentos industrializados. **Revista Simbio-Logias**, v.3, n.5, p. 125-131, 2010.

DVG (DEUTSCHE VETERINÄRMEDIZINISCHE GESELLSCHAFT). Richtlinien zur Prüfung chemischer Desinfektionsmittel für die Veterinärmedizin. In: SCHLISSER, T.; STRAUCH, D. **Desinfektion in Tierhaltung, Fleisch- und Milchwirtschaft**. Stuttgart: Enke v., p. 455, 1981.

FARMACOPÉIA BRASILEIRA. 3 ed. São Paulo: Organização Andrei Editora, p. 1218, 1987.

FORSYTHE, S. J., **Microbiologia da Segurança Alimentar**. Porto Alegre: Arthmed, 2002.

FRANCO, B. D. G.; LANDGRAF, M. **Microbiologia de alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2005. 182 p.

FRAZIER, W. C.; WESTHOFF, D. C. **Microbiologia de los alimentos**. Zaragoza: Acribia, 1993. 681 p.

GIROLOMETTO, G. *et al.* Avaliação da atividade antibacteriana de extratos de erva mate (*Ilex paraguariensis* A. St. Hill.) **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.11, n1, p. 49-55, 2009.

JAY, James M. **Microbiologia de Alimentos**. 6ed. Porto Alegre: Artmed, 2005, 711 p.

LOGUERCIO A. P. *et al.*, Atividade antibacteriana de extrato hidro-alcoólico de folhas de jambolão (*Syzygium cumini* (L.) Skells). **Ciência Rural**, v.35, n.2, mar/abr, 2005.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa SP: Instituto Plantarum, 2002. 544 p.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas cultivadas**, Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2008. 541 p.

MAIA, S. R., FERREIRA, A. C., ABREU L. R.; **Uso do Açafrão (*Curcuma longa* L.) na Redução da *Escherichia Coli*.**; **Ciênc. Agrotec**; Lavras: Ufla, v. 28, n. 2, p. 358-365, mar./abr., 2004.

Disponível em: <[www.editora.ufla.br/revista/28\\_2/art16.PDF](http://www.editora.ufla.br/revista/28_2/art16.PDF)>. Acesso em: 26 jun. 2009.

MING, L. C. Coleta de plantas medicinais. In: DI STASI, L. C. **Plantas medicinais arte e ciência: um guia de estudo interdisciplinar**. São Paulo: UNESP, 1996. p. 69-86.

ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD (OPAS). Cultura medica tradicional. **Boletín de la Oficina Sanitária Panamericana**, v. 108, n. 1, p. 77 - 80, 1990.

PANSERA, M.R. *et al.* Análise de taninos totais em plantas aromáticas e medicinais cultivadas no Nordeste do Rio Grande do Sul. **Rev. bras. farmacogn.**, vol.13, n.1, p. 17-22. Jan-jun.2003.

PASSOS, M.G. ; CARVALHO, H.; WIEST, J.M. Inibição e Inativação Bacterianas *in vitro* de diferentes formas de extração de *Ocimum gratissimum* L. (“Alfavacão”, “Alfavaca”, “Alfavaca-Cravo”) – Labiatae (Lamiaceae), frente a bactérias de interesse em alimentos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.11, n.1, p.71-78, 2009.

ROMEIRO, R.S. **Técnica de microgota para contagem de células bacterianas viáveis em uma suspensão**. Laboratório de Bacteriologia de Plantas, Disciplina FIP-640. Bactérias Fitopatogênicas, Roteiro das aulas práticas, Aula 08 Unidade 09 Técnica da microgota. 2007. Disponível em <<http://www.ufv.br/dfp/bac/uni9.pdf>>. Acesso em: 23 jun. 2009.

SOUZA, C.A.S., AVANCINI,C.A., WIEST,J.M. Atividade antimicrobiana de *Tagetes minuta* Linn. - Compositae - (chinchilo) frente à bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. **Brazilian journal of veterinary Research and Animal Science**, v.37, n.1/6. p.429-433, 2000.

SOUZA, E.L Especiárias: uma alternativa para o controle da qualidade sanitária e de vida útil de alimentos, frente às novas perspectivas da indústria alimentícia. **Higiene alimentar**, v.17, n. 113, p.38-42, 2003.

SOUZA, A.A.; WIEST, J.M. Atividade antibacteriana de *Aloysia gratissima* (Gill et Hook)Tronc. (garupá, erva-santa) usada na medicina tradicional no Rio Grande do Sul-Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.9, n.3, p.23-9, 2007.

VOLP, A. C. P.; RENHE, I. R. T.; STRINGUETA, P. C. Natural bioactives pigments. **Alim. Nutr.**, Araraquara, v. 20, n.1, p. 157-166, jan./mar. 2009.

WIEST, J. M.; CARVALHO, H. H.; AVANCINI, C. A. M.; GONÇALVES, A. R. Atividade anti-estafilócica em extratos de plantas com indicativo medicinal ou condimentar. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.11, n. 02, 2009.

## 5 Discussão geral

A segurança alimentar vem merecendo destaque nos meios científicos, pois tem influência direta sobre a saúde humana. A alimentação é fator primordial na rotina diária da humanidade, não apenas por ser necessidade básica, mas principalmente porque a sua obtenção tornou-se um problema de saúde pública, uma vez que a falta de alimentos ou ingestão de alimentos contaminados podem causar doenças.

Os condimentos também têm sua significação na história da alimentação humana. O homem primitivo, como o atual, desejava algo além do alimento em si; tendo sido o sabor que desenvolveu a arte de comer e a de beber.

Desta forma, estudam-se novos agentes que venham auxiliar na racional substituição dos conservantes químicos, constantemente utilizados no controle do crescimento bacteriano. A adição de condimentos naturais, em especial plantas condimentares e aromáticas e seus produtos derivados, aparecem com relevante importância no seu possível uso como potenciais agentes inibitórios do crescimento bacteriano. Assim, estes condimentos que antes apresentavam, principalmente, como agentes vetores de aromas, coloração e gostos característicos aos alimentos, apresentam agora uma nova perspectiva de uso.

Nas condições do experimento permite-se concluir que:

1) A atividade antibacteriana de extratos de rizomas de açafrão-da-terra (*Curcuma longa* L.) apresentou-se seletiva para bactérias, sendo as bactérias mais sensíveis *Salmonella* Enteritidis e *Enterococcus faecalis*, enquanto que *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* apresentaram a menor sensibilidade

2) Independente da forma de extração, das amostras e do acesso, inclusive da classificação bacteriana (Gram-positiva ou negativa), em princípio, a Intensidade de Inibição bacteriana/bacteriostasia (IINIB) prevalece sobre a Intensidade de Inativação bacteriana/bactericidia (IINAB) nos diferentes extratos de açafrão-da-terra a 50%. Em outras palavras os extratos de açafrão-da-terra mais inibem do que inativam as bactérias nas condições do estudo.

3) Diferentes amostras de pó de rizomas de açafrão-da-terra apresentam atividade antibacteriana “in vitro” distintas, provavelmente relacionadas à perda de componentes antibacterianos durante a sua industrialização, armazenamento ou obtenção a partir de matéria-prima de baixa qualidade. É possível, também, que a desidratação aplicada industrialmente aos condimentos não destrói, mas diminui a ação dos constituintes que exercem efeito antimicrobiano.

4) Pode-se observar que: diferentes rizomas *in natura* de açafrão-da-terra também apresentam atividade antibacteriana diferenciada, possivelmente devido às condições do solo, clima, disponibilidade de fitonutrientes, genética e seleção, influenciando os teores antimicrobianos da planta.

5) A forma de extração que utiliza a metodologia de reidratação da solução conservante pode estar interferindo na eficácia antibacteriana destas soluções, o que não diminui a importância estratégica da utilização dessas substâncias conservantes no controle de doenças de origem alimentar.

6) Apesar de se evidenciar uma redução nas concentrações do inóculos bacterianos padrões testados, o açafrão-da-terra (*Curcuma longa* L.) não deverá ser o único meio preservativo em alimentos, considerando certa ineficácia, de acordo com a forma de extração, principalmente frente à *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*.

A combinação do uso de açafrão-da-terra como aditivo natural na redução de bactérias causadoras de surtos alimentares, associada a outras técnicas com a finalidade de conservação de alimentos, é recomendada.

Os resultados sugerem a continuidade de estudos objetivando a aplicação de diferentes métodos de obtenção dos extratos de pó de rizomas e de rizomas *in natura* de açafrão-da-terra (*Curcuma longa* L.), tanto para serem utilizados como soluções conservantes ou como condimentos, na perspectiva de qualidade, segurança e sensorialidade alimentar.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACHA, P.N.; SZYFRES, B. **Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales**. 3ªed. V.1p. Washington, D.C.: OPAS, p. 248 - 249, 2003.

AQUINO, L. C. L. de; Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de erva-cidreira e manjeriço frente a bactérias de carnes bovinas. **Alim. Nutr.**, Araraquara, v. 21, n. 4, p. 529-535, out./dez. 2010.

AKERELE, O. Las plantas medicinales: un tesoro que no debemos desperdiciar. **Forum Mundial de la Salud**, n. 14, p. 390 - 395, 1993.

AKERELE, O. Medicinal plants and primary health care: a agend for action. **Fitoterapia**, v. LIX , n. 5, p. 355 - 363, 1988.

AMSON, G.V.; HARACEMIV, S.M.C.; MASSON, M.L. Levantamento de dados epidemiológicos relativos à ocorrências/surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTAs) no Estado do Paraná – Brasil, no período de 1978 a 2000. **Ciência e agrotecnologia**, Lavras, v.30, n.6, p.1139-1145, 2006.

ANDRADE, N. J. de; MACÊDO, J. A. B. de.; **Higienização na indústria de alimentos**. São Paulo: Liv. Varela, 1996. 182 p.

AVANCINI, C.A.M. **Saneamento aplicado em saúde e produção animal: etnografia, triagem da atividade antibacteriana de plantas nativas no sul do Brasil e testes de avaliação do decocto de *Hypericum caprifoliatum* Cham. e Schlecht. – Hypericaceae (Guttiferae) – (“escadinha”, “sinapismo”) para uso como desinfetante e antisséptico**. 2002. 309 p. Tese (Doutor em Ciência Veterinária), Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS).

AVANCINI, C.A.M.; WIEST, J.M. Atividade desinfetante do decocto de *Hypericum caprifoliatum* Cham. e Schlecht. - Guttiferae (escadinha, sinapismo), frente diferentes doses infectantes de *Staphylococcus aureus* (agente infeccioso em mastite bovina). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.10, n.1, p. 64-9, 2008.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Boletim eletrônico epidemiológico – vigilância epidemiológica de doenças transmitidas por alimentos no Brasil, 1999-2004**, ano 5, n.06, 2005. Disponível em <<http://www.saude.gov.br/svs>>, acesso em 01/10/2010.

BRASIL. Portaria nº 540, de 27 de outubro de 1997, da Secretaria de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília**, 28 de outubro de 1997. Disponível em <<http://www.saude.gov.br/svs>>, acesso em 23/08/2010.

CARVALHO, H.H.C.; CRUZ, F.T.; WIEST, J.M. Atividade antibacteriana em plantas com indicativo etnográfico condimentar em Porto Alegre, RS/Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 7, n.3, p. 25-32, 2005.

- CAVALLI-SFORZA, L. **Biometric**. Stuttgart: Gustav Fisher, p. 201 -204. 1974.
- CRUZ, P. B. da; PEREIRA, C. A. M; Avaliação da Presença de Antimicrobianos naturais em condimentos industrializados. **Revista Simbio-Logias**, v.3, n.5, p. 125-131, 2010.
- DVG (DEUTSCHE VETERINÄRMEDIZINISCHE GESELLSCHAFT). Richtlinien zur Prüfung chemischer Desinfektionsmittel für die Veterinärmedizin. In: SCHLIESSER, T.; STRAUCH, D. **Desinfektion in Tierhaltung, Fleisch - und Milchwirtschaft**. Stuttgart: Enke v., p. 455, 1981.
- FARMACOPÉIA BRASILEIRA. 3 ed. São Paulo: Organização Andrei Editora, 1987. 1218 p.
- CECÍLIO FILHO, A. B. , *et al.* Cúrcuma: Planta medicinal, Condimentar e de outros Potenciais. **Ciência Rural**, Santa Maria,RS, v. 30, n. 1, p.171-175, abr. 2000.
- FORSYTHE, S. J., **Microbiologia da Segurança Alimentar**. Porto Alegre: Arthmed, 2002.
- FRANCO, B. D. G.; LANDGRAF, M. **Microbiologia de alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2005. 182 p.
- FRAZIER, W. C.; WESTHOFF, D. C. **Microbiologia de los alimentos**. Zaragoza: Acribia, 1993. 681 p.
- GERMANO, P.M.L.; GERMANO, M.I.S. **Higiene e vigilância sanitária de alimentos: qualidade das matérias-primas; doenças transmitidas por alimentos; treinamento de recursos humanos**. 2<sup>a</sup>. ed. rev. e ampl. São Paulo: Livraria Varela, 2003. 655 p.
- GERMANO, P.M.L.; GERMANO, M.I.S. **Higiene e vigilância sanitária de alimentos: qualidade das matérias-primas; doenças transmitidas por alimentos; treinamento de recursos humanos**. 3<sup>a</sup>. ed. rev. e ampl. São Paulo: Livraria Manole, 2008. 986 p.
- GIRALDI, M. e HANAZAKI, N. Uso e conhecimento tradicional de plantas medicinais no Sertão do Ribeirão, Florianópolis, SC, Brasil, **Acta bot. bras.** 24(2): p. 395-406, 2010.
- GIROLOMETTO, G. *et al.* Avaliação da atividade antibacteriana de extratos de erva mate (*Ilex paraguariensis* A. St. Hill.) **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.11, n1, p. 49-55, 2009.
- GONÇALVES, A.L.; FILHO, A. A.; MENEZES, H.; Estudo comparativo da atividade antibacteriana de extratos de algumas árvores nativas; **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.72, n.3, p.353-358, jul./set., 2005.
- JAY, James M. **Microbiologia de Alimentos**. 6<sup>a</sup> ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

LIMA, E.O. **Plantas e suas propriedades antimicrobianas: uma breve análise histórica.** p. 501- 582. *In:* YUNES, R.A.; CALIXTO, J.B. Plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna. Chapecó: Argos, 2002, 500 p.

LIMA, A. Remédios da Floresta. Como utilizar? **Enfermagem Atual**, v.8, n.46, p.34-40, 2008.

LOGUERCIO A. P. *et al.*, Atividade antibacteriana de extrato hidro-alcoólico de folhas de jambolão (*Syzygium cumini* (L.) Skells). **Ciência Rural**, v.35, n.2, mar/abr, 2005.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas.** Nova Odessa SP: Instituto Plantarum, 2002. 544 p.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas cultivadas**, Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2008. 541p.

MAIA, S. R., FERREIRA, A. C., ABREU L. R.; **Uso do Açafrão (*Curcuma longa* L.) na Redução da *Escherichia Coli*.**; *Ciênc. Agrotec*; Lavras: Ufla, v. 28, n. 2, p.358-365, mar./abr., 2004. Disponível em: <[www.editora.ufla.br/revista/28\\_2/art16.PDF](http://www.editora.ufla.br/revista/28_2/art16.PDF)>. Acesso em: 26 jun. 2009.

MING, L. C. Coleta de plantas medicinais. *In:* DI STASI, L. C. **Plantas medicinais arte e ciência: um guia de estudo interdisciplinar.** São Paulo: UNESP, 1996. p. 69-86.

ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD (OPAS). Cultura medica tradicional. **Boletín de la Oficina Sanitária Panamericana**, v. 96, n. 2, p. 180 - 181, 1984.

ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD (OPAS). Cultura medica tradicional. **Boletín de la Oficina Sanitária Panamericana**, v. 98, n. 4, p. 373 - 377, 1985.

ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD (OPAS). Cultura medica tradicional. **Boletín de la Oficina Sanitária Panamericana**, v. 108, n. 1, p. 77 - 80, 1990.

OLIVEIRA, G. L. de; OLIVEIRA, A. F. M. de; ANDRADE, L. de H. C., Plantas medicinais utilizadas na comunidade urbana de Muribeca, Nordeste do Brasil. **Acta Bot. Bras.** [online]. vol.24, n.2, p. 571-577. 2010.

OLIVEIRA, J.E.Z. Variabilidade isozimática e do teor de óleo essencial em acessos de *Bidens pilosa* L. Viçosa, MG: UFV, 1997. 72p. Dissertação - Universidade Federal de Viçosa, 1997. Disponível em: <<http://www.cpsa.embrapa.br/catalogo/livrorg/medicinasmelhoramento.pdf>>. Acesso em: 11 jul. 2010.

PÉRET-ALMEIDA, L.; NAGHETINI, C. da C., NUNAN, E. de A. et al. Atividade antimicrobiana *in vitro* do rizoma em pó dos pigmentos curcuminóides e dos óleos essenciais da *Curcuma longa* L. **Ciênc. agrotec.**, Lavras, v. 32, n. 3, p. 875-881, maio/jun., 2008.

ROMEIRO, R.S. **Técnica de microgota para contagem de células bacterianas viáveis em uma suspensão.** Laboratório de Bacteriologia de Plantas, Disciplina FIP-640. Bactérias Fitopatogênicas, Roteiro das aulas práticas, Aula 08 Unidade 09 Técnica da microgota. 2007. Disponível em <<http://www.ufv.br/dfp/bac/uni9.pdf>>. Acesso em: 23 jun. 2009.

SANTUÁRIO, J. M. *et al.* Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de orégano, tomilho e canela frente a sorovares de *Salmonella enterica* de origem avícola. **Cienc. Rural**, v. 37, n. 3, p. 803-808, 2007.

PASSOS, M.G. ; CARVALHO, H.; WIEST, J.M. Inibição e Inativação Bacterianas *in vitro* de diferentes formas de extração de *Ocimum gratissimum* L. (“Alfavacão”, “Alfavaca”, “Alfavaca-Cravo”) – Labiatae (Lamiaceae), frente a bactérias de interesse em alimentos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.11, n.1, p.71-78, 2009.

SILVA, N.F.; SONNENBERG, P.E.; BORGES, J.D. Crescimento e produção de cúrcuma (*Curcuma longa* L.) em função de adubação mineral e densidade de plantio. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.22, n.1, p.61-65, 2004.

SILVA JR., E. A. da. **Manual de controle higiênico-sanitário em serviços de alimentação.** 6ª. ed. São Paulo: Varela, 2005, p. 623.

SOUZA, A.A.; WIEST, J.M. Atividade antibacteriana de *Aloysia gratissima* (Gill et Hook)Tronc. (garupá, erva-santa) usada na medicina tradicional no Rio Grande do Sul-Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.9, n.3, p. 23-9, 2007.

VOLP, A. C. P.; RENHE, I. R. T.; STRINGUETA, P. C. Natural bioactives pigments. **Alim. Nutr.**, Araraquara, v. 20, n.1, p. 157-166, jan./mar. 2009.

WIEST, J. M.; CARVALHO, H. H.; AVANCINI, C. A. M.; GONÇALVES, A. R. Atividade anti-estafilócica em extratos de plantas com indicativo medicinal ou condimentar. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.11, n. 02, 2009.

*Curriculum vitae***Marcelo Pinto Paim**

Possui graduação em Medicina Veterinária pela Universidade da Região da Campanha/RS (2005); Especialista em Produção, Tecnologia e Higiene de Alimentos de Origem Animal pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul/RS (2009); Atualmente é tutor do curso de graduação Tecnológica em Planejamento e Gestão para o Desenvolvimento Rural/PLAGEDER da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Professor horista da Universidade da Região da Campanha - Campus de Alegrete/RS. Atua na área de Medicina Veterinária, Produção, Tecnologia e Higiene de Alimentos de Origem Animal, com ênfase em higiene de alimentos e tecnologia de alimentos.

**FORMAÇÃO ACAÊMICA/TITULAÇÃO**

2009 - **Mestrado** em Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias UFRGS - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre,RS, Brasil.

2007 - 2009 - **Especialização** em Medicina Veterinária/UFRGS - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre,RS, Brasil.

2001 - 2005 - **Graduação** em Medicina Veterinária Universidade da Região da Campanha, Alegrete, RS, Brasil.

**FORMAÇÃO COMPLEMENTAR**

2010 - 2010 - **Interface para Professores e Tutores a distancia** (Carga horária: 45h) UFRGS - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil.

2010 - 2010 - **Steps-Melhorando o Bem-estar Animal Abate Bovino** (Carga horária: 8h) World Society for the Protection of Animal - WSPA.

2009 - 2009 - **Legislação e Garantia da Qualidade Orgânica** (Carga horária: 30h) Ministério da Agricultura , Pecuária e Abastecimento.

2009 - 2009 - **Fitoterapia Animal** (Carga horária: 32h) Associação Rio-grandense de Empreendimentos de Assist. Téc. e Extensão Rural.

2008 - 2008 - **1º Curso Sobre Qualidade de Carne Bovina** (Carga horária: 40h) UFRGS - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil.

**ATUAÇÃO PROFISSIONAL**

EAF/RS - Escola Agrotécnica Federal de Alegrete, RS, Brasil,2006/2006;

FAI - Faculdades de Itapiranga, SC, Brasil, 2009/2009;

UFRGS - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil,2010;

URCAMP - Universidade da Região da Campanha, Alegrete, RS, Brasil, 2010.

ANEXOS

## Anexo 1

### Laudo de Identificação Botânica de *Curcuma cf. longa* L. (ZINGIBERACEAE):

#### Identificação botânica de *Curcuma cf. longa* L. (ZINGIBERACEAE)

**Material e métodos:** as coletas do material botânico foram realizadas em três locais, com a obtenção das partes vegetativas e reprodutivas (Martin, 1995). Após, cada material foi herborizado, com o auxílio de prensa e jornal e catalogado conforme metodologia aplicada em taxonomia vegetal (Min, In: Di Stasi, 1996).

Para a identificação das espécies (Penso, 1980) foi utilizado um microscópio estereoscópico "Zeiss aus Jena" e consulta à literatura especializada: Parodi, L.R.(ed.) 1959 "Enciclopedia Argentina de Agricultura y Jardinería"; além de comparação com exsicatas do herbário do Departamento de Botânica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (ICN). Posteriormente, o material foi incorporado ao ICN.

**Características botânicas:** planta herbácea, rizomatosa e tuberosa. Folhas largamente pecioladas, lanceoladas, acuminadas eglabras. Flores amarelas, reunidas em espigas protegidas por brácteas, sendo as inferiores verdes e as superiores violáceas.

**Origem e distribuição geográfica:** espécie nativa da Ásia (Dimitri, 1959).

**Material examinado:** *Curcuma cf. longa*: BRASIL. RIO GRANDE DO SUL. Porto Alegre, bairro Boa Vista, rua 14 de Julho, III.2010, J.M.Wiest ICN (165037).

#### Referências bibliográficas:

- DIMITRI, M.J. 1959. Zingiberáceas. In: PARODI, L.R. (ed.) **Enciclopedia Argentina de Agricultura y Jardinería**. Buenos Aires: S.A.C.I. v.1.
- MARTIN, G.J. 1995. **Ethnobotany – 'a people and plants' conservation manual**. London: Chapman & Hall. 268p.
- MING, L.C. 1996. Coleta de Plantas Medicinais. In: DI STASI, L.C. (ed.) **Plantas medicinais: arte e ciência – um guia de estudo interdisciplinar**. São Paulo: Ed. da UNESP. p.69-86.
- PENSO, G. 1980. The role of WHO in the selection and characterization of medicinal plants (vegetables drugs). **Journal of Ethnopharmacology**, Limerick, v.2. p.183-188.

#### Observação:

A inclusão da sigla "cf." (*conferatum*) diz respeito ao fato de não me ter sido possível comparar esta exsicata com outras já incorporadas no herbário ICN. Deste modo, esta sigla indica que posteriormente, com a comparação com outras exsicatas do gênero *Curcuma*, será possível confirmar se a espécie é realmente a *Curcuma longa*.

Silvia Maria Perodin

Porto Alegre, 23 de setembro de 2010.