



LETÍCIA ARTHUR PRADO

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DA PALHA DO ALHO

**INCONFIDENTES - MG
MAIO-2014**

LETÍCIA ARTHUR PRADO

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DA PALHA DO ALHO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como pré-requisito para a aprovação do curso de Licenciatura em Ciências Biológicas do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais - Câmpus Inconfidentes.

Orientador: Ms. Wallace Ribeiro Corrêa

**INCONFIDENTES - MG
MAIO-2014**

LETICIA ARTHUR PRADO

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DA PALHA DO
ALHO**

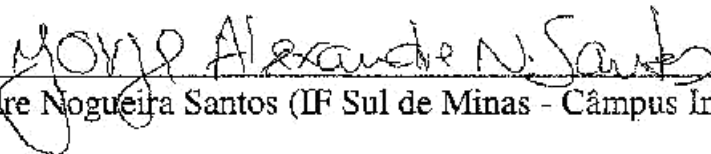
Data de aprovação: 21 de Maio de 2014



Wallace Ribeiro Corrêa (IF Sul de Minas - Câmpus Inconfidentes)



Jamil de Moraes Pereira (IF Sul de Minas - Câmpus Inconfidentes)



Jorge Alexandre Nogueira Santos (IF Sul de Minas - Câmpus Inconfidentes)

Dedico este trabalho aos meus pais, a todos os meus familiares e a todos que de alguma forma contribuíram para o meu crescimento acadêmico.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus que guia meus passos e minha vida.

Aos meus pais, ao meu irmão e aos demais familiares que estão sempre me apoiando nos momentos pelos quais mais preciso, pelo amor e exemplo de vida que eles representam para mim.

Ao professor e orientador, Wallace Ribeiro Corrêa pela atenção, paciência, dedicação e pelas oportunidades que ele me proporcionou para que eu pudesse crescer intelectualmente, sendo um amigo durante todo esse tempo acadêmico.

Ao professor Nilton Souto pela dedicação e preocupação em ajudar-me a realizar este trabalho da melhor maneira possível.

A todos os professores e colegas do curso de Licenciatura em Ciências Biológicas que contribuíram para que eu me tornasse uma pessoa melhor.

A Adrielle Frimaio da Silva, Sheila Cristina do Prado e a Rita Tassiana da Costa pela amizade, companheirismo e parceria durante toda essa caminhada e que a fizeram menos árdua, pois sempre pude contar com o apoio de vocês. Obrigada pela ajuda para a realização desse trabalho.

Ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais- Câmpus Inconfidentes, por proporcionar todas as condições necessárias para a realização desse trabalho e para o meu crescimento acadêmico.

Agradeço a Universidade de Campinas (UNICAMP) por apoiar e proporcionar as condições necessárias para a realização desse trabalho.

Agradeço a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) responsável pelo financiamento dos meus estudos através da concessão da bolsa de Iniciação Científica.

Aos membros da banca examinadora pela atenção dedicada a esse trabalho.

E por fim, agradeço a todos que diretamente ou indiretamente influenciaram para a concretização desse trabalho. Muito obrigada!

É um privilégio quando temos ao nosso lado pessoas tão maravilhosas como vocês. Nunca terei como agradecer-lhes pelo apoio que vocês me ofereceram em um momento em que eu tanto precisei. Os verdadeiros amigos são aqueles que aparecem nas horas mais difíceis de nossas vidas. Sinto que vocês surgiram como anjos iluminadores, para aliviar-me de um fardo tão pesado. Quero que vocês recebam em dobro tudo que vocês me deram e quero que saiba que eu desejo que a vida de vocês seja abençoada por vibrações de paz e amor. Jamais esquecerei as palavras confortadoras, e saiba que sempre poderão contar comigo.

“Sempre que houver alternativas tenha cuidado. Não opte pelo conveniente, pelo confortável, pelo respeitável, pelo socialmente aceitável, pelo honroso. Opte pelo que faz o seu coração vibrar. Opte pelo que gostaria de fazer, apesar de todas as consequências” Osho.

RESUMO

O alho (*Allium sativium*) é uma planta que apresenta ação antimicrobiana produzindo um metabólico: alicina que é responsável pelo odor característico do alho. A alicina inibe o desenvolvimento de bactérias e fungos. Mediante a grande produção e beneficiamento do alho no município de Inconfidentes, localizado no Sul de Minas Gerais, que descarta todos os dias em grande quantidade a palha, este trabalho apresentou como objetivo avaliar a ação antimicrobiana da palha de alho (*Allium sativium*), frente a varias linhagens bacterianas, desta forma buscando um reaproveitamento da mesma. O trabalho foi realizado no Laboratório de Biotecnologia do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais (IFSULDEMINAS- Câmpus Inconfidentes/ MG), onde foi feito o ensaio biológico in vitro frente a bactérias (gram-positivas e gram-negativas) que é determinado pelo método de microdiluição em placas de 96 poços e pelo método de difusão em ágar pela técnica de poço em camada dupla. O extrato metanólico da palha de alho (*Allium sativium L*), apresentou atividade antibacteriana com valores de CBM entre 0,5 e 1 mg/mL frente às indicadoras: *Bacillus subtilis* , *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Kocuria rhizophila*, *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis* e pelo método de difusão em ágar pela técnica de poço em camada dupla houve presença de halos de inibição do desenvolvimento bacteriano, frente às indicadoras: *Bacillus subtilis* , *Escherichia coli*, *Proteus Vulgaris* , *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis*. Portando é possível concluir que a palha do alho apresenta um grande potencial antimicrobiano contra várias bactérias potencialmente patogênicas. Recomenda-se um estudo fitoquímico mais detalhado para conhecermos o verdadeiro potencial da palha do alho.

Palavras-chave: Avaliação Antimicrobiana; Bactérias; Microdiluição; Difusão em ágar; Palha do Alho.

ABSTRACT

The garlic (*Allium sativum*) is a plant that presents antimicrobial action and produces the allicin: a metabolic product that is responsible for the characteristic garlic smell. The allicin inhibits bacterial growth and destroys fungus. Due to the massive garlic production and processing in the city of Inconfidentes, that disposes huge amounts of straw on a daily basis, this work aims to evaluate the antimicrobial action of garlic straw (*Allium sativum*), for a range of bacterial strains. The study was performed on the Biotechnology Laboratory on Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais (IFSULDEMINAS - Câmpus Inconfidentes/MG), where the in vitro biological testing for bacteria (gram-positive and gram-negative), which is made by using the microdilution method in plates containing 96 wells and by agar diffusion method by technique of double layer well. The methanolic extract of garlic straw (*Allium sativum*) presented antibacterial activity with CBM values from 0.5 to 1 mg/mL for the indicators: *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Kocuria rhizophila*, *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* and by agar diffusion method by technique of double layer well showed the presence of halos of inhibition of bacterial for the indicators: *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*. Thus, it is possible to understand that the garlic straw presents an increased antimicrobial potential against several potentially pathogenic bacteria. A more detailed study is incited so to know the real potential of the garlic straw.

Keywords: Antimicrobial; evaluation; Bacteria; Microdilution; Agar diffusion; Garlic Straw.

SUMÁRIO

Página

RESUMO.....	ii
ABSTRACT.....	iii
1- INTRODUÇÃO.....	1
2 - REVISÃO DE LITERATURA	2
2.1 - Características históricas	2
2.2 - Características botânicas.....	2
2.2.3- Classificação científica	4
2.3 - Produção e Consumo	4
2.3.1 - Produção	4
2.3.2 - Consumo	5
2.4 - Composição química	6
2.4.1 - Alho <i>in natura</i>	6
2.4.2 - Compostos aromáticos.....	7
2.4.3 - Odor	7
2.4.4 -Alicina	7
2.5 - Alho: hortaliça fitoterápica.....	8
2.6 - Radicais livres e ação dos antioxidantes.....	8
2.7 - Compostos sulfurados e suas funções	9
2.7- Compostos não sulfurados.....	9
2.7.2 - Selênio	9
2.7.3 - Ácidos Fenólicos.....	10
2.8 - Principais benefícios do alho	10
2.8.1 - Ação prebiótica.....	10
2.8.2 - Efeito antimicrobiano	10
2.8.3 - Redução de doenças cardiovasculares	11
2.8.4 - Efeito anticarcinogênico	12
3 – METODOLOGIA	13
3.1 - Coleta.....	13
3.1.1 - Preparação do extrato bruto	13
3.2 - Ensaio para a avaliação da atividade antimicrobiana	13
3.2.1 - Frente á bactérias.....	13
3.2.2- Método da difusão em ágar pela técnica de poço em camada dupla	13
3.2.3 - Método da microdiluição em placas de 96 poços	14
4 – RESULTADOS.....	15
4.1- Difusão em ágar pela técnica de poço em camada dupla	15
4.2 - Microdiluição em placas de 96 poços.....	20
5- DISSCUSSÃO.....	21
6- CONCLUSÃO.....	24
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	25

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1 – Planta do alho com folhas pontiagudas e achatadas	3
Figura 2 – Flor rosada do alho	3
Figura 3 – Bulbo e bulbilhos de alho	4
Figura 4 – Produção de alho no Brasil	5
Figura 5- Molécula de alicina	7
Figura 6 - método de difusão em ágar	15
Figura 7 - Local onde houve a maior inibição do crescimento da bactéria : <i>Bacillus subtilis</i>	17
Figura 8 - Local onde houve a maior inibição do crescimento da bactéria: <i>Escherichia coli</i>	18
Figura 9- Local onde houve a maior inibição do crescimento da bactéria: <i>Proteus vulgaris</i>	18
Figura 10 - Local onde houve a maior inibição do crescimento da bactéria: <i>Staphylococcus aureus</i>	19
Figura 11 - Local onde houve a maior inibição do crescimento da bactéria: <i>Staphylococcus epidermidis</i> (ATCC 12228)	19

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1- Composição química do alho <i>in natura</i>	6
Tabela 2- Compostos sulfúricos e suas atividades biológica.....	9
Tabela 3: Atividade antibacteriana de extratos metanólico da palha do <i>Allium Sativium</i> , pelo método de difusão em ágar pela técnica de poço em camada dupla	16
Tabela 4: Atividade antibacteriana de extratos metanólico pela técnica da microdiluição	20
Tabela 5: atividade antimicrobiana das plantas medicinais (CPQBA/UNICAMP)	23

1. INTRODUÇÃO.

O alho, *Allium sativum L.* é um membro da família Alliaceae, amplamente utilizado na medicina popular para o tratamento de várias doenças e distúrbios fisiológicos, sendo considerada uma bênção da natureza para a humanidade devido a sua ampla utilização (SINGH e SINGH, 2008).

O alho possui um bulbo comestível e é largamente utilizado em diferentes culturas culinárias. Ao longo da história, conclui-se que o alho teve várias aplicações. Atualmente seu poder terapêutico é reconhecido pelo Ministério da Saúde bem como pelo Food and Drug Administration (FDA) que significa Administração de Comidas e Remédios (em português). Além de seu uso culinário nas mais variadas culturas, desde a Antiguidade é usado como medicamento para as mais variadas doenças. Estudos farmacológicos demonstraram que o alho apresenta ação antibacteriana, antiviral, antifúngica, antiprotozoária e antioxidante, mas também tem efeitos benéficos sobre os sistemas cardiovascular e imunológico, além de possuir propriedades anticancerígenas, sendo desta forma uma promessa, como potencial agente quimiopreventivo e quimioterápico (HARRIS *et al.*, 2001; SINGH e SINGH, 2008; OMAR e AL-WABEL, 2010). Tais atividades mencionadas podem ser atribuídas à presença de um ou de uma sinergia de componentes, tais como a alicina, alinina, o dissulfureto de alilo, alilo di-Pr, inulina entre outras substâncias presentes no alho (SINGH e SINGH, 2008).

O alho possui baixo teor de gordura e calorias e grande quantidade de carboidratos, fibras e micronutrientes. O alho contém sabor e odor marcantes devido à presença de compostos sulfurados, os quais são inodoros no alho intacto e só liberam o aroma após o alho ser cortado ou amassado, sendo a alicina, o principal componente responsável pelo odor. A alicina tem ação predominantemente bacteriostática, atuando tanto contra bactérias gram - positivas quanto contra as gram – negativas.

O alho (*Allium sativum*) apresenta uma ação antimicrobiana, todavia, sua palha é descartada, não sendo utilizada em nenhum processo de produção. Com base nesse conceito, a proposta desse trabalho foi avaliar a atividade antimicrobiana da palha do alho contra bactérias gram-positivas e gram- negativas.

2. REVISÃO DE LITERATURA.

2.1 CARACTERÍSTICAS HISTÓRICAS DO ALHO (*Allium sativum*).

O alho provavelmente se originou na Ásia Central, mas atualmente é cultivado em muitos países e cresce de maneira selvagem na Itália e no sul da Europa. Atualmente, o alho é cultivado em todo o mundo e, embora usado principalmente como fonte de alimento, o alho sendo muito utilizado como um potente, natural, remédio herbal (SOURCE, 2003).

Nenhuma outra planta na história do mundo foi atribuído tamanho poder. Já foram publicados mais de dois mil artigos em revistas científicas referentes às qualidades medicinais do alho. Acredita-se que o alho tenha chegado ao Brasil junto com as caravelas de Cabral, portanto, desde aquela época vem sendo cultivado em pequenas quantidades para ser usado como tempero e ingrediente de remédios caseiros, o alho, enfim, se tornou uma cultura capaz de gerar riquezas (Associação Nacional dos Produtores de Alho, 2009).

2.2 CARACTERÍSTICAS BOTÂNICAS DO ALHO (*Allium sativum*).

A figura 1 mostra uma planta herbácea, podendo atingir até 60 cm de altura; folhas pontiagudas, longas e achatadas; bulbo dividido em bulbilhos compridos e reunidos em um involúcro comum de várias túnicas esbranquiçadas que são facilmente destacáveis. Cada dente, com coloração variando de branco a violeta, é envolvido por uma túnica própria; já a figura 2 mostra as flores pequenas em cachos, que podem ser da cor rosada ou branca (Empresa Brasileira de Pesquisas Agropecuária, 2008).

Figura 1 – Planta do alho com folhas pontiagudas e achatadas.



Fonte: VIBRANS, 2008.

Figura 2 – Flor rosada do alho



Fonte: LAZZAROTO, 2008.

A parte utilizável de forma comestível da planta é um bulbo, que são compostos por bulbilhos, os quais são constituídos por uma estrutura rica em amido e substâncias aromáticas, de valor condimentar e nutricional (Figura 3). Cada bulbilho é capaz de originar uma nova planta após a brotação (FILGUEIRA, 2003).

Figura 3 – Bulbo e bulbilhos de alho (*Allium sativum*).



Fonte: EMBRAPA, 2006.

2.2.3 CLASSIFICAÇÃO CIENTÍFICA.

O alho possui a seguinte classificação científica: Reino: *Plantae*, divisão: *Magnoliophyta*, classe: *Liliopsida*, ordem: *Asparagales*, família: *Alliaceae*, subfamília: *Allioideae*, gênero: *Allium* e espécie *A. sativum* (EMBRAPA, 2006).

2.3. PRODUÇÃO E CONSUMO DO ALHO (*Allium sativum*).

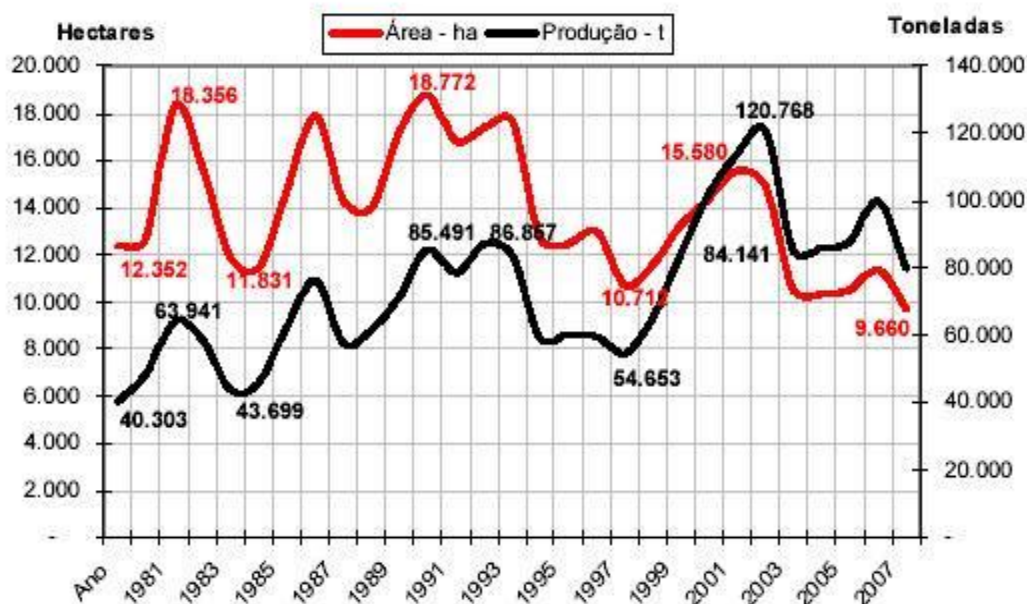
2.3.1 PRODUÇÃO.

A produção brasileira de alhos era localizada principalmente nos estados de Minas Gerais e Goiás, durante as décadas de 60 e 70, onde se cultivavam alhos comuns, brancos, de baixo valor comercial. O crescimento da produção de alhos nobres e roxo no Brasil aumentou significativamente na década de 80. O Brasil cultivou alho na faixa dos 18 mil hectares no final dos anos 80 e no início dos anos 90 (Figura 4), apresentando uma redução muito grande na produção no fim dessa mesma década (LUCINI, 2008).

De acordo com a ANAPA (Associação Nacional dos Produtores de Alho), as áreas de plantio voltaram a crescer no início de 2000 e recuaram novamente em 2004, estabilizando-se até 2008 (Figura 4), quando houve uma nova redução. A área de plantio no Brasil em 2008, foi a menor dos últimos 20 anos.

A participação do alho nacional no abastecimento está ao redor dos 30%, tendo uma área total de plantio de 9,6 mil hectares, sendo 8 mil com alho nobre roxo (LUCINI, 2008).

Figura 4 – Produção de alho no Brasil.



Fonte: ANAPA, 2009.

O alho é uma cultura geradora de empregos de alta capacidade econômica, pois para cada hectare plantado criam-se quatro empregos. Durante muitos anos a cultura do alho foi a principal atividade agrícola de inverno/primavera de Santa Catarina, assim como da Serra Gaúcha, mas infelizmente, isso se extinguiu (ANAPA,2009).

O consumo de alho no Brasil cresce a passos largos. De 1961 á 2012, saltou de 500 gramas por habitante/ano para um quilo. Entretanto, a cultura corre um sério risco de deixar de ser produzida no país, pois a importação indiscriminada da China e a falta de políticas nacionais para incentivar a produção interna tem dificultado e, em alguns casos, inviabilizado o investimento dos produtores (LUIZ;AGUILHAR;LIMA,2012).

2.3.2 CONSUMO.

A quantidade de hortaliças consumidas pela população brasileira está muito abaixo do mínimo recomendado pela OMS - Organização Mundial da Saúde (MELO, 2008). Em relação às outras hortaliças, o consumo de alho é maior, isso é devido principalmente ao seu uso como condimento.

No Brasil consome-se 20 milhões de caixas de alho *in natura* por ano e 1 milhão de caixas do industrializado, chegando aproximadamente a 1,10 quilos por habitante ao ano (LUCINI, 2008).

2.4.COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ALHO (*Allium sativium*).

2.4.1 ALHO *IN NATURA*.

A composição química do alho varia consideravelmente devido à época de plantio, condições climáticas entre outros fatores. A tabela 1 mostra a composição química do alho *in natura*.

Tabela 1 – Composição química do alho *in natura*

	Porção de 100 gramas
Calorias	134 Kcal
Glicídios	29,30 g
Proteínas	5,30 g
Lípídeos	0,20 g
Fibras	1,66 g
Vitamina B1	0,20 mg
Vitamina B6	3,33 mg
Vitamina C	31,1 mg
Ácido Fólico	3,10 mg
Sódio	69,9 mg
Cálcio	38,0 mg
Fósforo	134,0 mg
Ferro	1,04 mg
Potássio	607,6 mg
Enxofre	450,0 mg
Cobre	0,17 mg
Zinco	8,83 mg
Selênio	24,9 mg
Iodo	9,0 mcg

Fonte: FRANCO, 2001; QUINTAES, 2001.

O alho possui baixa quantidade de gordura e calorias, pouca proteína, mas bastante carboidratos e fibras e possui muitos micronutrientes, como é o caso das altas concentrações de zinco e selênio, os quais possui funções antioxidantes (QUINTAES, 2001; MARCHIORI, 2009).

2.4.2 COMPOSTOS AROMÁTICOS.

O alho contém derivados de enxofre, que são responsáveis pelo seu aroma e sabor. É importante evidenciar que na célula intacta, não danificada, são totalmente inativos, somente quando ocorre a quebra das paredes celulares e a enzima alinase tem contato com o seu substrato é quando seu aroma se torne evidente. (COENDERS, 1996; SOUZA, 2002; COULTATE, 2004; MENDONÇA, 2008 apud COULTATE, 1984).

O alho apresenta vários sulfetos e dissulfetos, assim como ácido sulfídrico em quantidades significativas, decorrentes da decomposição química e enzimática, dos derivados da alicina (MENDONÇA, 2008 apud COULTATE, 1984).

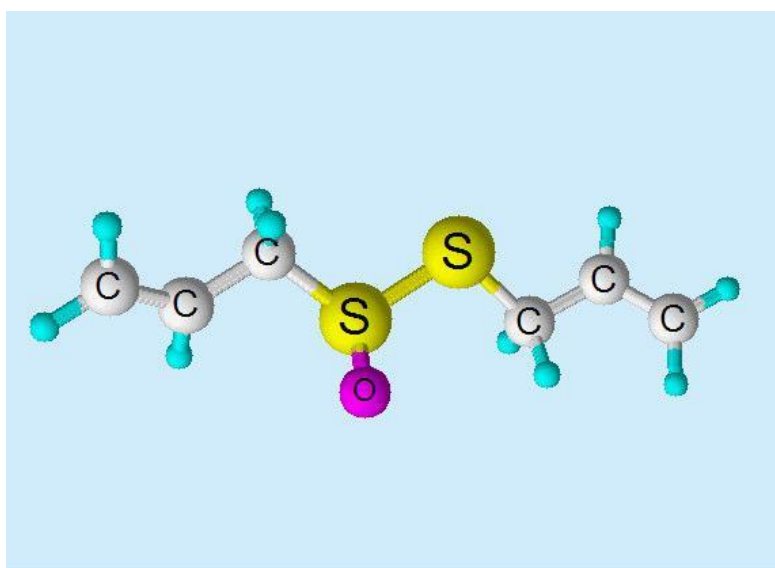
2.4.3 ODOR.

Grande parte do odor do alho é perdido após seu processamento, isso acontece pelo fato dos compostos serem muito voláteis. Por esta razão torna-se necessário, a utilização da matéria-prima muito odorífera, para que após o processamento o odor residual do alho ainda possua suficiente concentração exalando um aroma característico, que é muito importante para que ocorra o devido comercio e utilização do alho. (FREITAS, 2005).

2.4.4 ALICINA.

A aliina é um aminoácido sulfurado, que sofre reação enzimática em alicina, pela ação da enzima alinase. A alicina (Figura 5) é um líquido de coloração amarela que só se manifesta, quando o alho é esmagado ou cortado, sendo assim, essa substância é uma das mais importantes, responsável pelo odor característico do alho (LAMARÃO, 2007).

Figura 5 – Molécula da alicina.



Fonte: ATKINS, 2001.

A alicina se decompõe espontaneamente, formando numerosos compostos que contêm enxofre, como por exemplo, ajoene, garlicina e trissulfureto de alilo, dentre outros (CAMPOS, 2004).

2.5. ALHO- HORTALIÇA FITOTERÁPICA.

O alho é um alimento funcional, pois contém em sua composição substâncias biologicamente ativas, que lhe conferem cor, sabor, odor e ainda apresentam funções metabólicas e fisiológicas. Essas substâncias chamadas de fitoquímicos são compostos sulfúricos e não sulfúricos, os quais, atuam como antioxidantes protegendo as células e órgãos da ação destrutiva dos radicais livres (ANJO, 2004; FRANCO, 2006; QUEIROZ, 2006).

Os efeitos e benefícios à saúde ocasionados pelo alho são investigados há anos e após várias pesquisas e análises químicas chegou-se a concluir que o alho apresenta vários compostos que têm função fitoterápica. Já foram reconhecidos mais de trinta compostos com ação benéfica. Os benefícios do alho de maior destaque são: Ações prebióticas, efeito antibacteriano, redução de doenças cardiovasculares e efeito anticancerígeno (LAMARÃO, 2007).

2.6. RADICAIS LIVRES E AÇÃO DOS ANTIOXIDANTES.

Os radicais livres (RLs) são substâncias formadas por moléculas oxigenadas tóxicas responsáveis pelo processo de oxidação que atuam em vários processos como ruptura das artérias, transformação das células em células cancerosas, problemas nas articulações e mau funcionamento do sistema nervoso, e estes fatores estão associados ao envelhecimento (CARVALHO *et al.*, 2006; LEITE, 2003).

Os radicais livres são ocasionados por diversos fatores, como: consumo de cigarro, exposição a raios X, luz solar, poluentes do ar, exercícios físicos em excesso, oxidação de lipídios e por alguns alimentos, entre outros fatores. A formação dos radicais livres é frequente através das funções normais do organismo, por isso não pode ser evitado (FERREIRA, 1997; LEITE, 2003).

A atividade destrutiva dos radicais livres ocorre principalmente, porque os compostos possuem um ou mais elétrons não emparelhados, o que os torna instáveis e muito reativos (CARVALHO *et al.*, 2006; FERREIRA, 1997, LEITE, 2003).

Os antioxidantes são compostos que atuam retardando ou inibindo o início e a propagação das reações que levam ao dano celular, ou seja, reagem com os radicais livres nas etapas iniciais da oxidação, formando produtos intermediários estáveis (ARAÚJO, 2009).

2.7 COMPOSTOS SULFURADOS E SUAS FUNÇÕES.

O alho possui muitos compostos com ação funcional ao organismo, e esses compostos na maioria das vezes são derivados de enxofre. O alho possui três vezes mais esses compostos sulfurados do que qualquer outro alimento, como por exemplo, a cebola e o brócolis (MARCHIORI, 2009). É importante evidenciar que as substâncias bioativas presentes no alho não são todas antioxidantes (CARVALHO *et al.*, 2006).

A tabela 2 mostra alguns compostos sulfúricos presentes no alho e suas respectivas funções no organismo.

Tabela 2 – Compostos sulfúricos e suas atividade biológicas

Composto sulfurado	Atividade biológica
Aliina	Hipotensor, hipoglicemiante e antioxidante.
Ajoeno	Prevenção de coágulos, anti-inflamatório, vasodilatador, hipotensor, antibiótico e antioxidante.
Alicina e tiosulfatos	Antioxidante, antibiótico, antifúngico e antiviral.
S-alil-cisteína e compostos glutâmicos	Hipocolesterolemiante, antioxidante e quimioprotetor frente ao câncer.
Sulfeto dialil	Hipocolesterolemiante

Fonte: MARCHIORI, 2009.

2.7.1 COMPOSTOS NÃO SULFURADOS.

Os derivados de enxofre apresentam muitos efeitos benéficos ao organismo, o alho também contém compostos não sulfurados, como por exemplo, o selênio e os ácidos fenólicos, os quais são substâncias de alto poder funcional e importantes para o funcionamento do metabolismo (MARCHIORI, 2009).

2.7.2 SELÊNIO.

O selênio é essencial, ou seja, o organismo necessita dele em quantidades mínimas, podendo ser tóxico em altas concentrações. No alho, o selênio está presente em quantidade suficiente para ocasionar a proteção contra doenças crônicas associadas ao envelhecimento, como por exemplo, a

aterosclerose e o câncer. O selênio possui função antioxidante e sendo assim protege as células dos radicais livres (CARVALHO *et al.*, 2006).

2.7.3 ÁCIDOS FENÓLICOS.

Os ácidos fenólicos pertence ao grupo dos compostos fenólicos que se caracterizam por terem um anel benzênico, um grupamento carboxílico e um ou vários grupamentos de hidroxila e/ou metoxila na molécula. Essas substâncias, encontradas no alho, possuem funcionalidades antioxidantes para o organismo e atuam na prevenção de câncer, doenças cardiovasculares, além de possuírem propriedades antivirais e antibacterianos (ANJO, 2004; CARVALHO *et al.*, 2006).

Os antioxidantes fenólicos apresentam diversas funções, entre elas a de combater os radicais livres e algumas vezes os quelantes de metais (como por exemplo, chumbo e mercúrio), agindo tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo e conseqüentemente eliminando substancias toxicas do organismo (SOARES, 2002).

2.8 PRINCIPAIS BENEFICIOS DO

ALHO. 2.8.1 AÇÃO PREBIÓTICA.

Os prebióticos são substâncias alimentares que nutrem um grupo seletivo de microorganismos que povoam o intestino e assim favorecem mais a multiplicação das bactérias benéficas do que das prejudiciais ao organismo, portanto os prebióticos são carboidratos complexos, considerados fibras, resistentes à ação de enzimas salivares e intestinais. No cólon (parte do intestino grosso), as fibras possuem efeitos benéficos à microflora intestinal. O alho pode ter ação prebiótica porque contém inulina e frutooligossacarídeos (FOS), os quais são semelhantes às fibras fisiologicamente e estes compostos causam alteração no trânsito intestinal, prevenção da diarreia, por alterar a microflora, diminuição do risco de câncer, diminuição do colesterol e triglicérides (ANJO, 2004; CARVALHO *et al.*, 2006).

A inulina e os FOS são conhecidos por apresentarem efeito que estimulam o crescimento das bifidobactérias que aumentam várias funções imunes, entre elas a ativação de linfócitos, de macrófago e produção de anticorpos (ANJO, 2004).

2.8.2 EFEITO ANTIMICROBIANO.

A atividade antibacteriana do alho é objetivo de estudos à muitos anos e vem sendo confirmada desde meados do século XX por diversos autores (MELO, 2008).

Em laboratório mediante diluição em série, o extrato fresco de alho mostrou ser capaz de inibir o crescimento de 14 espécies de bactérias, como o *Stafilococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli*, que são bactérias potencialmente maléficas à saúde. O mais impressionante é que a inibição ainda ocorreu, quando se utilizou o extrato de alho diluído 128 vezes (QUINTAES, 2001; WILDMAN, 2001).

O alho é eficiente contra o *Helicobacter pylori*, no qual a mesma é uma bactéria que é a maior responsável pela causa de câncer gástrico e também o alho combate úlceras gástricas. Foi observado, que 2g por litro de extrato fresco de alho inibe completamente o crescimento do *H. pylori*, ou seja, isso indica que o alho apresenta um efeito bactericida que previne o câncer gástrico (QUINTAES, 2001). Certamente esse efeito apenas é possível graças aos antibióticos naturais presentes no alho, a alicina e a garlicina, sendo ambos de ação predominantemente bacteriostática, atuando tanto contra bactérias gram - positivas quanto contra gram - negativas (CARRIJO *et al.*, 2005).

2.8.3 REDUÇÃO DE DOENÇAS CARDIOVASCULARES.

Á décadas a literatura mundial confirma os efeitos do alho *in natura*, visando seus efeitos na prevenção das doenças cardiovasculares. Os estudos comprovam que o alho é capaz de reduzir a concentração sérica de LDL (lipoproteína de baixa densidade, chamada de colesterol ruim), triglicerídeos, pressão arterial, aumenta a atividade fibrinolítica (cicatrização) e inibi a agregação plaquetária (CARVALHAR, 2008; LAMARÃO, 2007; MARCHIORI, 2009; QUINTAES, 2001).

O alho *in natura* já foi objetivo de diversas pesquisas no Brasil, que procuraram observar sua real ação terapêutica. Na Universidade de Brasília (UnB) foi realizada uma pesquisa que teve como objetivo, comprovar a relevância do alho na prevenção de infarto do miocárdio e na prevenção de colesterol. Essa pesquisa concluiu provando que a atividade antioxidante do alho é bastante significativa sobre as doenças cardiovasculares (RODOVALHO, 2008).

Estudos efetuados com humanos em animais têm mostrado que a utilização de alho pode reduzir o colesterol e os triglicerídeos plasmáticos e assim diminuir as doenças cardiovasculares. Comprovando ainda, que o consumo de alho, pode aumentar a concentração do HDL (bom colesterol), que é uma lipoproteína de alta densidade (LAMARÃO, 2007; MARCHIORI, 2009; QUINTAES, 2001).

A ação antioxidante da aliina, alicina e ajoeno, justificam o efeito do alho sobre as LDL (mau colesterol), pois inibem a peroxidação lipídica através da inibição da enzima xantina-oxidase e de eicosanoides moléculas derivadas de ácidos graxos (MARCHIORI, 2009).

2.8.4 EFEITO ANTICARCINOGENICO.

Estudos comprovam que em populações com o hábito de consumir grandes quantidades de alho, apresentam baixa incidência de câncer, principalmente da região gástrica. Isso ocorre principalmente à presença dos compostos sulfurados (REINA, 2001 apud BLOCK, 1990).

Um importante estudo realizado na China indicou que houve redução dos casos de câncer de estômago, após o aumento da ingestão dessa hortaliça, ocasionando-se em uma redução de 50% no risco de câncer de cólon. E a alicina apresentou efeito protetor contra diferentes tipos de células tumorais (FRANCO, 2006).

Portanto acredita-se que o alho inibi o crescimento de células tumorais; inibi a incidência e/ou promoção da carcinogênese e possui respostas imunológica (QUINTAES, 2001).

3. METODOLOGIA.

3.1 - COLETA.

As palhas de alho foram obtidas diretamente nas fábricas de processamento, no município de Inconfidentes, sendo elas transportadas diretamente ao Laboratório de Biotecnologia, onde foram lavadas com água destilada e secas em estufa de ar circulante a 40°C. Após a secagem as palhas foram trituradas em um moinho de faca (Merse – A11basic) até a forma de pó.

3.1.2 - PREPARAÇÃO DO EXTRATO BRUTO

O pó das palhas foi pesado e acondicionado em Erlenmeyer e submetido ao processo de maceração com metanol, na proporção massa de pó/solvente 1:20 (massa/volume). O solvente da solução obtida foi removido em evaporador rotatório (Tecnal-TE-120), sob pressão reduzida, obtendo-se assim, o extrato bruto em metanol (EBM).

3.2 - ENSAIO PARA AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE

ANTIMICROBIANA 3.2.1 – FRENTE À BACTÉRIAS.

Para a execução dos ensaios foram utilizadas bactérias, cepas padrão e de campo fornecidas pela profas. Dra. Izabel Yoko Ito (Microbiologia da FCFRP/USP) e Dra. Regina Célia Candido (Microbiologia Clínica da FCFRP/USP) e MSc. Sonia Khouri da FCS/UNIVAP: gram-negativas: *Escherichia coli* ATCC10538, *Escherichia coli* ATCC10799, *Proteus vulgaris* ATCC, *Salmonella typhi* ATCC, *Enterobacter aerogenes* ATCC e *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853; gram-positivas *Micrococcus luteus* ATCC9341, *Staphylococcus aureus* ATCC6538, *Staphylococcus aureus* ATCC14458, *Staphylococcus epidermidis* ATCC12228, *Staphylococcus epidermidis* cepa de campo, *Bacillus subtilis* ATCC e *Enterococcus faecalis* ATCC10100.

3.2.2 – DIFUSÃO EM ÁGAR PELA TÉCNICA DE POÇO EM CAMADA DUPLA.

Ensaio biológico *in vitro* frente a bactérias (gram-positivas e gram-negativas), cepas padrão e de campo. A ação antibacteriana foi determinada pelo método de difusão em ágar pela técnica de poço

em camada dupla (ANVISA 2008; OKEKE *et al.*, 2001; ESPINEL-INGROFF *et al.*, 1995; GROVE & RANDALL, 1955).

No plaqueamento, a camada base foi obtida pela adição de 20,0 mL de Müller Hinton Medium (Difco)-MH em placas de 20 x 150 mm. Após a solidificação adicionou-se 5,0 mL de MH, inoculado com as cepas padrão e BHI com cepas de campo (5.10^6 ufc/mL), obtendo-se assim, a camada *seed*. A seguir foram confeccionados poços com 5,0 mm de diâmetro. Em cada poço foram aplicados 20 µL das soluções controle (positivo e negativo) e das drogas -teste preparadas em propilenoglicol (1:19) nas concentrações de 0,5 , 1,0 , 1,5 e 2,0 mg/mL. Como controle positivo foram utilizados bacitracina (0,20 UI/mL) e como controles negativos propilenoglicol/RPMI-1640 (1:19).

As placas-testes foram mantidas à temperatura ambiente por cerca de 2 horas e depois incubadas a 37°C por cerca de 24 horas. Decorrido o período de incubação, as zonas de inibição do desenvolvimento microbiano foram analisadas visivelmente em termos de diâmetro (halo) e aro da borda do poço a início do desenvolvimento. Os experimentos foram realizados em duplicata, para cada cepa indicadora utilizada.

3.2.3 - MICRODILUIÇÃO EM PLACAS DE 96 POÇOS.

Na técnica de microdiluição seguindo a adequação de metodologia descrita por Salvador, 2005, as bactérias foram cultivadas em meio Müller Hinton em placas de 20 x 150 mm, 24 horas antes da inoculação nas placas. Para a montagem da placa utilizou-se 50 µL de meio TSB (Tryptone Soya Broth) em todos os poços, 50 µL da droga teste preparadas em propilenoglicol (1:19) nas concentrações de 0,5 , 1,0 e 2,0 mg/mL. Cada poço recebeu um inoculo de 10 µL de suspensão de microrganismos, numa concentração de (5.10^6 ufc/mL). Como controle positivo foi utilizado bacitracina 0,20 UI/mL e como controle negativo propilenoglicol/TSB (1:19). As placas-teste foram mantidas à temperatura ambiente por cerca de 2 horas e depois incubadas a 37° C por cerca de 24 horas. Decorrido o período de incubação cada poço recebeu um inoculo de 20 µL de tetrazólio.

Após um novo período de incubação a 37°C por cerca de 24 horas, a leitura foi feita visualmente comparando as amostras com os controles. Os experimentos foram realizados em duplicata, para cada cepa indicadora utilizada.

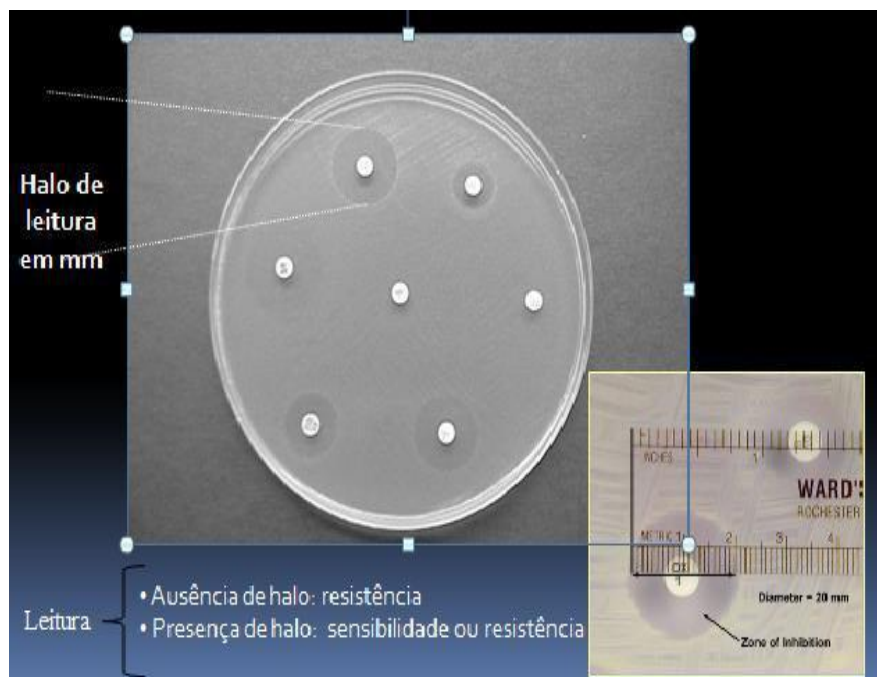
4. RESULTADOS.

4.1- DIFUSÃO EM ÁGAR PELA TÉCNICA DE POÇO EM CAMADA DUPLA.

O método de difusão em ágar pela técnica de poço em camada dupla contendo o extrato metanólico da palha do alho (*Allium sativium*), apresentou inibição do crescimento bacteriano (tabela3).

As zonas de inibição do desenvolvimento microbiano foram analisadas visivelmente, portanto de forma qualitativa, em termos de maior diâmetro (halo) e aro da borda do poço (figura 6). Estas análises foram feitas através de observação, dando relevância no aparecimento e na inibição dos halos e aro em cada poço no qual a droga-teste foi inserida. (ANVISA 2008; OKEKE *et al.*, 2001; ESPINEL-INGROFF *et al.*, 1995; GROVE & RANDALL, 1955).

Figura 6: Qualitativo, método de difusão em ágar.



Fonte: ANVISA, 2008.

Tabela 3: Atividade antibacteriana de extratos metanólico da palha do *Allium Sativum*, pelo método de difusão em ágar pela técnica de poço em camada dupla.

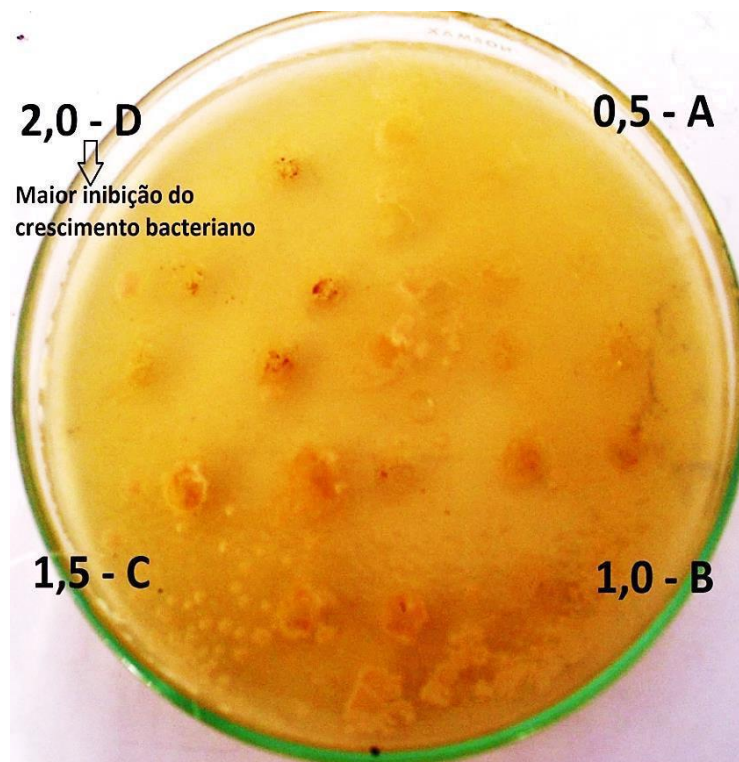
Microrganismo	Concentração do extrato (mg/ml) referente ao local de maior inibição do crescimento bacteriano.
<i>Bacillus subtilis</i> (Bs) ^b	2,0
<i>Enterobacter aerogenes</i> (Ea) ^b	-
<i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC 10100) ^a	-
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 10538) ^a	-
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 10799) ^a	1,0
<i>Kocuria. Rhizophila</i> (ATCC 9341) ^a	-
<i>Micrococcus luteus</i>	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 27853) ^a	-
<i>Proteus vulgaris</i> (Pv) ^b	1,0
<i>Salmonella typhi</i> (ST) ^b	**
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 14458) ^a	-
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 6538) ^a	1,0
<i>Staphylococcus aureus penicillinase</i> + ⁽⁷⁺⁾	**
<i>Staphylococcus aureus penicillinase</i> - ⁽⁸⁻⁾	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (6ep) ^b	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (ATCC 12228)	1,5

-: ausência de inibição; **: atividade ainda não avaliada.

Percebe-se que neste método houve ausência de inibição nas seguintes bactérias: gram-negativas *Escherichia coli* ATCC10538, *Salmonella typhi* ATCC, *Enterobacter aerogenes* ATCC

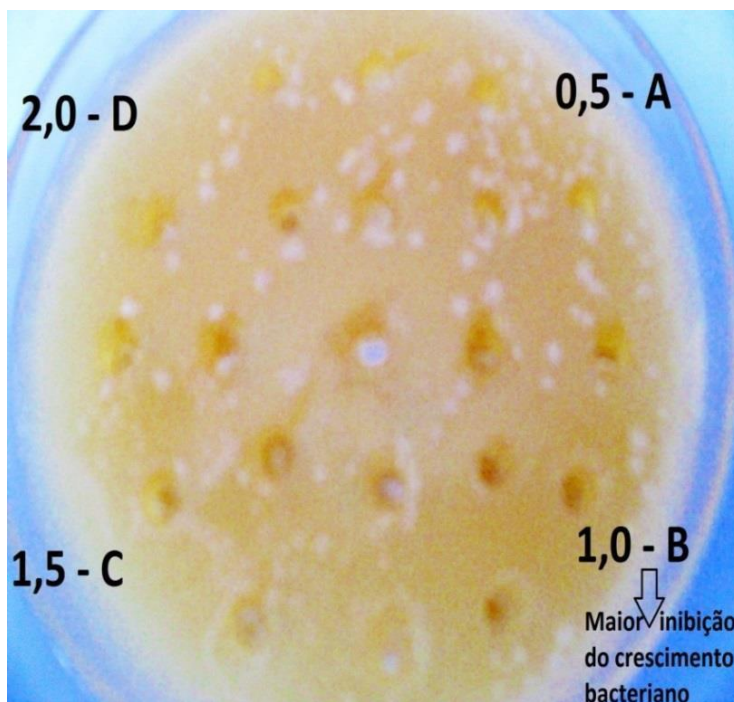
e *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853; gram-positivas *Micrococcus luteus* ATCC9341, *Staphylococcus aureus* ATCC6538, *Staphylococcus epidermidis* ATCC12228, *Staphylococcus epidermidis* cepa de campo, *Bacillus subtilis* ATCC e *Enterococcus faecalis* ATCC10100, esses resultados indicam portanto, que essas bactérias possuem resistência á droga– teste, entretanto, houve inibição do crescimento bacteriano e presença de um diâmetro (halo) e aro da borda do poço nas seguintes bacterias: a cepa de campo, *Bacillus subtilis* ATCC (figura7) gram-negativas *Escherichia coli* ATCC10799 (figura 8), *Proteus vulgaris* (figura 9) e gram – positivas *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 ^a (figura 10) e *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 (figura 11), estes dados por sua vez indicam sensibilidade á droga – teste, conclui-se, portanto, uma inibição do crescimento bacteriano.

Figura 7: Local onde houve a maior inibição do crescimento da bactéria: *Bacillus subtilis* (Bs) ^b



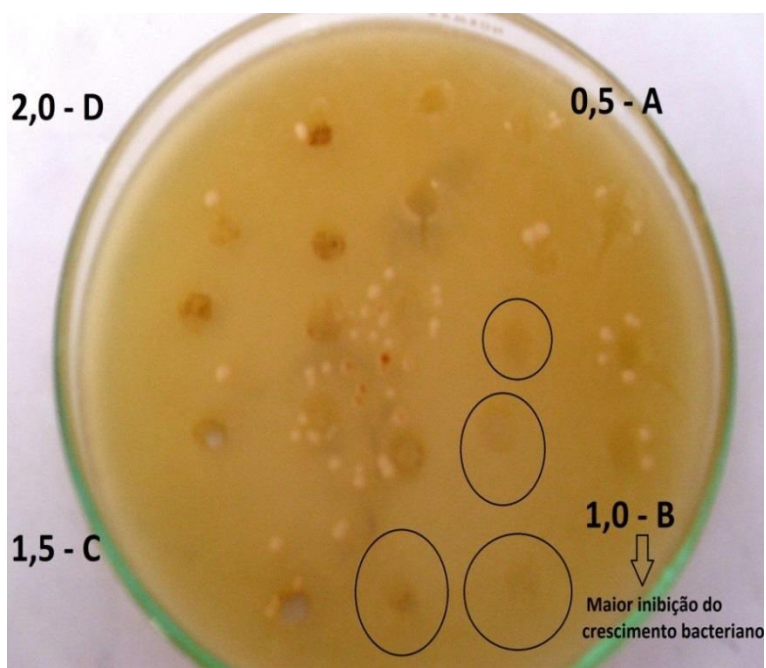
Fonte: da autora, 2014.

Figura 8: Local onde houve a maior inibição do crescimento da bactéria: *Escherichia coli* (ATCC 10799)^a



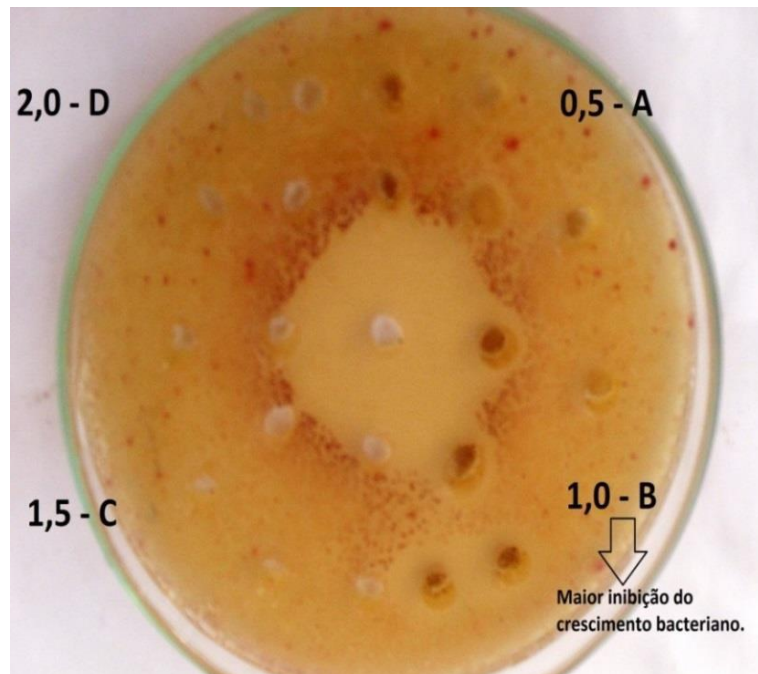
Fonte: da autora, 2014.

Figura 9: Local onde houve a maior inibição do crescimento da bactéria: *Proteus vulgaris*



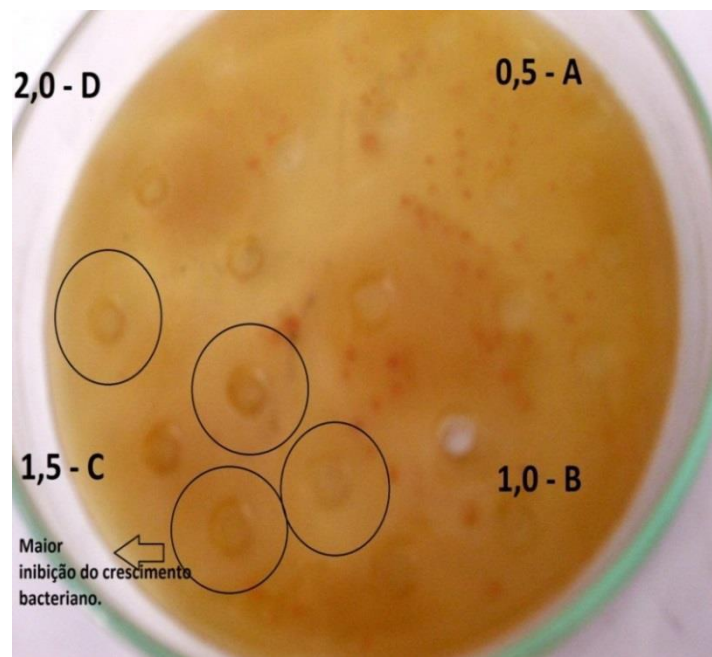
Fonte: da autora, 2014.

Figura10: Local onde houve a maior inibição do crescimento da bactéria: *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538)^a



Fonte: da autora, 2014.

Figura 11: Local onde houve a maior inibição do crescimento da bactéria: *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228)



Fonte: da autora, 2014.

4.2 - MICRODILUIÇÃO EM PLACAS DE 96 POÇOS.

O método de microdiluição em placas com 96 poços é um método quantitativo, pois determina a concentração biocida mínima (CBM). Este método contém o extrato metanólico da palha de alho (*Allium sativum L*) e apresentou atividade antibacteriana com valores de CBM entre 0,5 e 1 mg/mL frente às indicadoras: *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Kocuria rhizophila*, *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis* (Tabela 4).

Tabela 4: Atividade antibacteriana de extratos metanólico da palha do *Allium Sativum*, expressa em termos de concentração biocida mínima, CBM (mg/mL), determinada pela técnica da microdiluição.

Microrganismos	<i>Allium Sativum</i> CBM (mg/mL)
<i>Bacillus subtilis</i> (Bs) ^b	1,0
<i>Enterobacter aerogenes</i> (Ea) ^b	-
<i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC 10100) ^a	1,0
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 10538) ^a	1,0
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 10799) ^a	0,5
<i>Kocuria. Rhizophila</i> (ATCC 9341) ^a	0,5
<i>Micrococcus luteus</i>	-
<i>Proteus vulgaris</i> (Pv) ^b	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 27853) ^a	-
<i>Salmonela typhi</i> (ST) ^b	**
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 14458) ^a	-
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 6538) ^a	-
<i>Staphylococcus aureus penicillinase</i> + ⁽⁺⁾	1,0
<i>Staphylococcus aureus penicillinase</i> - ⁽⁻⁾	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (6ep) ^b	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (ATCC 12228)	0,5

-: ausência de inibição; **: atividade ainda não avaliada; CBM: concentração biocida mínima (mg/ml).

5. DISCUSSÃO.

Os resultados sugerem que a palha do alho deva apresentar em sua composição substâncias bioativas, que estão presentes também no bulbo, uma vez que são essas substâncias as responsáveis pela atividade antimicrobiana (REHMAN e SAMYA 2012; SINGH e SINGH 2008).

Neste presente estudo utilizaram-se dois métodos, sendo que ambos confirmam de maneira clara e eficaz a descoberta de um novo antimicrobiano derivados da palha do alho. O primeiro método é a difusão em ágar pela técnica de poço em camada dupla, este método é o mais utilizado, devido à simplicidade de execução e também porque possui baixos custos. Utilizando-se este método houve inibição do crescimento bacteriano e presença de um diâmetro (halo) e aro da borda do poço nas seguintes bactérias: gram-negativas *Escherichia coli* ATCC10799, *Proteus vulgaris*, gram – positivas *Staphylococcus aureus* ATCC14458, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 e a cepa de campo, *Bacillus subtilis* ATCC, estes dados por sua vez indicam que as mesmas possuem sensibilidade á droga – teste .

Conclui-se, portanto, que houve uma maior inibição do crescimento bacteriano em uma determinada concentração do extrato metanólico. Estes resultados apresentaram-se coerentes com os encontrados por Santos *et.al.* 2011, quando o mesmo alega que a maior sensibilidade da ação de antimicrobianos naturais através de extratos metanólicos é a do alho (*Allium sativum*) sobre as bactérias gram - negativas (*Escherichia coli* e *Salmonella*) e gram-positivas (*Staphylococcus aureus* e *Enterococcus sp*) e verificaram que os extratos metanólicos de alho (133mg/mL) apresentaram maior eficácia contra as bactérias gram-negativas estudadas. Esses resultados mostram o alto poder de sensibilidade da droga-teste, utilizando – se o método de difusão em ágar pela técnica de poço em camada dupla.

O segundo método utilizado é a microdiluição, no qual se determina a concentração biocida mínima (CBM), este método vem sendo bastante utilizado, principalmente devido à sua sensibilidade e quantidade mínima de reagentes, o que possibilita um maior número de réplicas, aumentando a confiabilidade dos resultados.

Nos presentes resultados é possível observar que houve uma inibição significativa em *Staphylococcus aureus*, portanto é indispensável discutir esse resultado com o estudo de Deresse e

Ushimaru *et al.* 2012, que mostraram uma atividade antibacteriana de alho em *S. aureus* eficiente, pois as soluções diluídas de alho inibem completamente o crescimento de *S. aureus* em concentrações superiores à 7,50 mg/ml, enquanto o extrato bruto metanólico o qual utilizei neste presente trabalho inibiu completamente o crescimento de *Staphylococcus aureus penicillinase +* (7+) em 1,0 mg/ml no método de microdiluição, isto provavelmente acontece através da ação do ativo biológico ingrediente de alicina que exibe sua atividade antimicrobiana principalmente por inibição imediata e total ação da síntese de RNA, embora a síntese de DNA e proteínas são também parcialmente inibida, o que sugere que o RNA é o primeiro alvo da ação da alicina no combate a bactérias gram-positivas e gram - negativas (FELDBER *et al.*, 1988).

É possível observar que segundo este mesmo estudo os autores afirmam que há uma ação inibitória em *Staphylococcus aureus* que devido às suas características estruturais os organismos desempenham um papel na susceptibilidade bacteriana do alho, pois particularmente a bactéria *Staphylococcus aureus* contém só 2 % de lípidos em suas membranas que tem um efeito sobre a permeabilidade da alicina e outros constituintes do alho, esses fenômenos podem favorecer a destruição da parede celular e dos materiais genéticos de *Staphylococcus aureus*.

O trabalho de Deresse e Ushimaru *et al.* 2012, afirma que o alho (*Allium sativum*) têm propriedades antimicrobianas contra *Staphylococcus aureus* em soluções brutas de extratos, portanto o alho pode ser usado com sucesso para tratamento de intoxicação alimentar por *Staphylococcus aureus*. O alho provavelmente também é eficaz *in vitro* em outras bactérias gram-positivas e gram-negativas.

As atividades antimicrobianas de extratos e óleos essenciais evidenciam o grande potencial de aplicação de plantas nativas de diversas regiões do mundo. No Brasil, estudos com a mesma finalidade são de grande importância, uma vez que plantas medicinais são utilizadas em várias áreas da saúde como forma alternativa de tratamento. Além disso, nosso país apresenta uma rica biodiversidade, devendo-se considerar o custo mais baixo destas formas terapêuticas em relação a medicamentos industrializados, portanto percebe-se que a Anvisa em 2010 destaca o alho (*Allium sativum*) como sendo a planta medicinal com o maior poder antisséptico e antimicrobiano comparando-se a outras plantas medicinais (DUARTE,*et.al.*, 2004).

O trabalho de Duarte, *et.al.* 2004 apresenta os resultados de rendimento e concentração biocida mínima (CBM) dos extratos com atividade antimicrobiana. O trabalho apresenta CBM de maior relevância até 0,5 mg/ml, conforme observou-se para *Achillea millefolium*, *Mikania laevigata*, *Solidago chilensis*, *Piper marginatum* contra *Staphylococcus aureus*; *Aloysia gratissima*, *P. marginatum*, *M. laevigata* contra *Bacillus subtilis* e *Mentha pullegium*, *Mikania glomerata*, *M. laevigata*, *Stachytarpetta cayenensis* e *Bacharis dracunculifolia* contra *Streptococcus faecium*.

A tabela 5 nos permite observar a atividade antimicrobiana das plantas medicinais da Coleção de Germoplasmas do CPQBA/UNICAMP e os receptivos microrganismos.

Tabela 5: Plantas medicinais da Coleção de Germoplasmas do CPQBA/UNICAMP com atividade antimicrobiana e os respectivos microrganismos.

Planta Medicinal	Numero Herbário	Rendimento Extrato(%p/p)	Microrganismo	CBM mg.ml-1
<i>Achyrocline satureoides</i> (DC.)Lam.	UEC 127.116	32,7	<i>B. subtilis</i>	1,6
<i>Achillea millefolium</i> L.	UEC 127.114	61,6	<i>S. aureus</i>	0,5
<i>A. millefolium</i> L.	UEC 127.114	61,6	<i>B. subtilis</i>	1,6
<i>Aloysia gratissima</i> (Gill & Hook)	UEC 121.393	20,8	<i>B. subtilis</i>	0,1
<i>Artemisia annua</i> L.	CPQBA1246	34,5	<i>B. subtilis</i>	1,7
<i>Baccharis dracunculifolia</i> DC.	CPQBA 622	46,4	<i>S. aureus</i>	1,6
<i>B. dracunculifolia</i> DC.	CPQBA 622	46,4	<i>S. faecium</i>	0,5
<i>Cordia curassavica</i> (Jacq.) Roem.	UEC112744	15,8	<i>B. subtilis</i>	0,6
<i>Hydrocotyle asiatica</i> L.	UEC 127.111	36,3	<i>B. subtilis</i>	1,5
<i>Mentha pulegium</i> L.	UEC 121.402	43,6	<i>S. faecium</i>	0,3
<i>P. aduncum</i> L.	UEC 127.118	32,63	<i>B. subtilis</i>	0,9
<i>P. marginatum</i> Jacq.	UEC 121.395	27,3	<i>S. aureus</i>	0,2
<i>P. marginatum</i> Jacq.	UEC 121.395	27,3	<i>B. subtilis</i>	0,2
<i>Solidago chilensis</i> Meyen	UEC 121.391	35,7	<i>S. aureus</i>	0,1
<i>S. chilensis</i> Meyen	UEC 121.391	35,7	<i>S. faecium</i>	1,6
<i>Stachys byzantina</i> C. Koch.	UEC 121.404	46,8	<i>B. subtilis</i>	1,9
<i>Stachytarpeta cayenensis</i> L.C.	UEC 121.394	40,3	<i>S. faecium</i>	0,2
<i>Vetiveria zizanoides</i> Stapf.	UEC 121.415	5,77	<i>S. aureus</i>	1,1
<i>V. zizanoides</i> Stapf.	UEC 121.415	5,77	<i>B. subtilis</i>	0,6

Pesquisas sobre antimicrobianos de origem natural tem grande relevância, sendo ponto crucial em vários setores do campo farmacêutico e cosmético. Desta forma, tais pesquisas podem contribuir positivamente no desenvolvimento do campo da saúde em nível mundial, encontrando substâncias mais eficazes e menos tóxicas na corrida contra a resistência e o surgimento de microrganismos patogênicos (OSTROSKY,2008).

Com base nessas reflexões é possível concluir, que os trabalhos mencionados, inclusive o trabalho apresentado neste estudo, apresentam CBM (concentração biocida mínima) que é definida como a menor concentração do extrato capaz de inibir o crescimento bacteriano, ou seja é a comprovação de um potente antibacteriano de origem natural.

6. CONCLUSÕES.

Com base nos resultados deste trabalho. Conclui-se que:

- A palha do alho apresenta atividade antimicrobiana frente á linhagens bacterianas gram– positivas e gram – negativas.
- A palha do alho, portanto pode ser utilizado como complemento na alimentação animal, visando a prevenção contra determinadas infecções.
- Ficou claro também que novas prospecções deverão ser feitas visando conhecer o verdadeiro potencial da palha do alho, enfatizando um estudo fitoquímico, para identificar os compostos orgânicos presentes na mesma.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

ANAPA. **Associação Nacional Dos Produtores de Alho**. Disponível em: <<http://www.anapa.com.br>> Acesso em: 19. Novembro. 2013.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA, 2008), **Manual Clinical And Laboratory Standards Institute – CLSI (antigo NCCLS)**. <WWW.anvisa.gov.br/servicosaude/manuais/clsi.as> Acesso em 15. Abril. 2014.

ANJO, Douglas Faria Corrêa. **Alimentos funcionais em angiologia e cirurgia vascular**. Jaguará do Sul, 2004.

ARAÚJO, Paula Ferreira de. **Atividade antioxidante de néctar de amora-preta (*Rubus spp.*) e sua influência sobre os lipídeos séricos, glicose sanguínea e peroxidação lipídica em hamsters (*Mesocricetus auratus*) hipercolesterolêmicos**. 2009. 122f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

ATKINS, Peter; JONES, Loreta; **Princípios de Química: questionando a vida moderna e o meio ambiente**, Porto Alegre: Bookman, 2001.

CAMPOS, Shirley de. **Alho, sempre um alimento polêmico**. 2004. Disponível em: <<http://www.drashirleydecampos.com.br/noticias/12167>>. Acesso em: 10 Dezembro. 2013.

CARRIJO, A.; MADEIRA, L.; SARTORI, J.; PEZZATO, A.; GONÇALVES, J.; CRUZ, V.; KUIBIDA, K.; PINHEIRO, D. **Alho em pó na alimentação alternativa na alimentação de frangos de corte**. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v.40, n.7, p.674, 2005.

CARVALHAR, Caroline L.; MORATO, Maria José F. **Capacidade funcional da cápsula de óleo de alho produzida no Brasil para reduzir os níveis plasmáticos de lipídeos**. Revista Interseção, Belo Horizonte, v.1, n.2, p.42-49, 2008.

CARVALHO, Patrícia G. B. de.; MACHADO, Cristina Maria M.; MORETTI, Celso Luis.; FONSECA, Maria Esther de N. **Hortaliças como alimentos funcionais**. Horticultura Brasileira, v.24, n.4, p.397-404, 2006.

COENDERS, A. **Química culinária: estudio de lo que les sucede a los alimentos antes, durante y después de cocinados**. 1.ed. Zaragoza: Acribia, S.A., 1996. 290p.

COULTATE, T.P. **Alimentos: a química de seus componentes**. 3.ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 368p.

DERESSE, D. **Antibacterial Effect of Garlic (*Allium sativum*) on *Staphylococcus aureus*: An *in vitro* Study.** Asian Journal of Medical Sciences. v. 2, p. 62-65, 2010.

DUARTE, M.C.T. ;FIGUEIRA, G.M. ; PEREIRA, B. ; MAGALHÃES, P.M.DELARMELINA, C. **Atividade antimicrobiana de extratos hidroalcolicos de espécies da coleção de plantas medicinais CPQBA/UNICAMP.** Rev. Bras. Farmacogn., v. 14, supl. 01, p. 06-08, 2004.

DUSI, André N. **Alho livre de vírus: um futuro tangível.** Revista Nosso Alho, Brasília, v.1, n.1, p.10-13, 2008.

EMBRAPA. **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária.** Disponível em: <http://www.cnph.embrapa.br/hortalicasnaweb/alho.html>. Acesso em 10. Dezembro. 2013.

ESPINEL-INGROFF, A.; DAWSON, K.; PFALLER, M.; ANAISSIE, E.; BRESLIN,B.; DIXON, D.; FOTHERGILL, A.; PAETZNICK, V.; PETER, J.; RINALDI, M.; WALSH, T. **Comparative and collaborative evaluation of standardization of antifungal susceptibility testing for filamentous fungi.** Antimicrob. Agents Chemother.,v. 39 p. 314-319, 1995.

FELDBERG, R.S., et al. 1988. **In vitro mechanism of inhibition of bacterial growth by allicina.** Antimicrob.Agent. Chemother., 32: 1763-1768.

FERREIRA, A.L.A.; MATSUBARA, L.S. **Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo.** Revista da Associação Médica Brasileira, São Paulo, v.43, n.1, 1997.

FILGUEIRA, Fernando Antonio Reis. **Novo Manual de Olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças.** 2.ed. Viçosa: UFV, 2003. 412p.

FRANCO, Guilherme. **Tabela de Composição dos alimentos.** 9.ed. São Paulo: Atheneu, 2001. 307p.

FRANCO, Roberta Calhes. **Análise comparativa de legislações referentes aos alimentos funcionais.** 2006. 167f. Dissertação (Mestrado em Nutrição Humana Aplicada) – Programa de Pós-graduação Interunidades em Nutrição Humana Aplicada, Universidade de São Paulo, São Paulo.

FREITAS, Gisele Dias de. **Alho (*Allium sativum*).** 2005. 19f. Trabalho acadêmico apresentado ao curso de Bacharelado em Química de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

FREIRE, Débora Alves de Carvalho; CAMPÊLO, Maria Carla da Silva; ABRANTES, Maria Rociene; SOUSA, Êlika Suzianny de; SILVA, Jean Berg Alves. **AVALIAÇÃO DE POTENCIAL ANTIMICROBIANO DE EXTRATO DA *Mimosa tenuiflora* (WILD) POIR. (JUREMA PRETA) EM *Staphylococcus aureus* ISOLADO DE ALIMENTOS.** Mossoró, 2012.

GROVE, D. C.; RANDALL, W. A. **Assay methods of antibiotics: a laboratory manual** (Antibiotics monographs, 2). New York: Medical Encyclopedia Inc., 1955.

HARRIS, J. C.; COTTRELL, S. L.; PLUMMER S.; LLOYD, D. **Antimicrobial properties of *Allium sativum* (garlic).** Appl Microbiol Biotechnol. v. 57, p. 282–286, 2001.

LAMARÃO, Renata da Costa.; NAVARRO, Francisco. **Aspectos Nutricionais promotores e protetores das doenças cardiovasculares**. Revista Brasileira de Obesidade, Nutrição e Emagrecimento, São Paulo, v.1, n.4, p.57-70, 2007.

LAZZAROTO, Luciano. **Flor do alho**. Disponível em: <<http://www.flickr.com/photos/23757499@N07/2262427737>>. Acesso em: 19 Novembro.2013

LEITE, H. P.; SARNI, R. S. **Radicais livres, antioxidantes e nutrição**. Revista Brasileira de Nutrição Clínica, São Paulo, v.18, n.2, p.60-65, 2003.

LUCINI, Marco Antônio. **Alho roxo no Brasil: um pouco da história dos números desse nobre**. Revista Nosso Alho, Brasília, v.1, n.1, p.16-21, 2008.

LUIZ, L;AGUILHAR,L;LIMA,V. **Concorrência desleal ameaça a produção de alho no Brasil**. São Paulo.2009

MARCHIOIRI, Vanderli Fátima. **Propriedades Funcionais do Alho (*Allium sativum* L.)**. Disponível em: <http://www.esalq.usp.br/siesalq/pm/alho_revisado.pdf>. Acesso em: 19.Novembro.2013.

MELO, Paulo César Tavares de. **Competitividade e desafios as cadeia de produção de hortaliças no Brasil**. Revista Nosso Alho, Brasília, v.1, n.1, p.36-37, 2008.

MENDONÇA, Carla. **Aroma de condimentos**. 2008. Apostila da disciplina de Química de Alimentos II do curso de Bacharelado em Química de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas.

OKEKE, M.J.; IROEGBU, C.U.; EZE, E.N.; OKOLI, A.S.; ESIMONE, C.O. **Evaluation of extracts of the root of *Landolphia owerrience* for antibacterial activity**.J. Ethnopharmacol., v. 78, p. 119-127, 2001.

OMAR, S.H.; Al-Wabel, N.A. **Organosulfur compounds and possible mechanism of garlic in câncer**. Saudi Pharmaceutical Journal. v. 18, p. 51–58, 2010.

OSTROSKY, Elissa A. et al.**Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da Concentração Mínima Inibitória (CMI) de plantas medicinais**. *Rev. bras. farmacogn.* [online]. 2008, vol.18, n.2, pp. 301-307.

QUEIROZ, Yara S. de.; BASTOS, Débora Helena M.; SAMPAIO, Geni R.; SOARES, Rosana A. M.; ISHIMOTO, Emília Y.; TORRES, Elizabeth A. F da Silva. **Influência dos aditivos alimentares na atividade antioxidante in vitro de produtos de alho**. Alimentos e Nutrição, Araraquara, v.17, n.3, p.287-293, 2006.

QUINTAES, Késia Diego. **Alho, Nutrição e Saúde**. 2001. Disponível em: <<http://www.nutriweb.org.br/indice.htm>> . Acesso em: 20. Novembro. 2013

REINA, Luisa del Carmen Barrett.; MONTANARI, Carlos Alberto.; DONNICI, Claudio Luis.; DIÓGENES, Izaura Cirino Nogueira.; MOREIRA, Ícaro de Sousa. **Interação de compostos**

organossulfurados derivados do alho com o citocromo-c: um estudo eletroquímico.

Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/qn/v25n1/10416.pdf>> Acesso em: 20 .Novembro. 2013.

RODOVALHO, Mariane. **Pesquisa brasileira indica benefícios do alho para saúde.** Revista Nosso Alho, Brasília, v.1, n.1, p.22, 2008.

SANTOS, Juliana Cantalino ;FILHO, Celso Duarte Carvalho ; BARROS, Tânia Fraga; GUIMARÃES, Alaíse Gil. **Atividade antimicrobiana in vitro dos óleos essenciais de orégano, alho, cravo e limão sobre bactérias patogênicas isoladas de vôngole.** Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v. 32, n. 4, p. 1557-1564, out./dez. 2011.

SALVADOR, M.J. **Estudo químico, biológico e biotecnológico de *Alternanthera maritima* e *Alternanthera tenella* (Gomphreneae, Amaranthaceae).** 2005. 410p. Doutorado (Doutorado em Ciências - Área Química), Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.

SINGH, V. K.; SINGH, D. K. **Pharmacological Effects of Garlic (*Allium sativum* L.).** ARBS Annual Review of Biomedical Sciences. v.10, p.6-26, 2008.

SOARES, Sérgio Eduardo. **Ácidos fenólicos como antioxidantes.** Revista de Nutrição, Campinas, v.15, n.1, 2002.

SOURCE; Mosby. **Handbook of Herbs and Supplements na Their Therapeutic .** St.Louis, Missouri,2003

SOUZA, Therezinha Coelho de. **Alimentos: propriedades físico-químicas.** 2.ed. Rio de Janeiro: Cultura Médica, 2002. 58p.

VIBRANS,A,C. **Apostila Dendrologia.** Fundação Universidade Regional de Blumenau. Brumenal, 2008.

WILDMAN, Robert E.C. **Garlic: The Mystical Food in Health Promotion.** In: Handbook of Nutraceuticals and Functional Foods. 2.ed. 2006. 541p.