

VINAGRE DE MEL ORGÂNICO: ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

I Simpósio Brasileiro de Bebidas Fermentadas e Destiladas., 1ª edição, de 13/04/2021 a 16/04/2021
ISBN dos Anais: 978-65-86861-97-6

ANDRADE; Tayara Narumi¹, **RESSUTTE; Jéssica Barrionuevo**², **HATA; Natália Norika Yassunaka**³, **COSTA; Viviane Lopes Leite da Costa**⁴, **CANCIAN; Mariana Assis de Queiroz**⁵, **SPINOSA; Wilma Aparecida**⁶

RESUMO

Introdução O mel é considerado uma excelente matéria-prima para a produção de fermentados acéticos, pois os vinagres provenientes de produtos naturais com valor nutricional agregado são considerados mais nutritivos por manter solúveis as substâncias existentes na matéria-prima, tais como vitaminas, ácidos orgânicos, proteínas e aminoácidos (VANIN, 2012). As principais populações microbianas do vinagre são as bactérias do ácido acético e os três principais gêneros responsáveis pela fermentação do vinagre são *Acetobacter*, *Gluconacetobacter* e *Komagataeibacter* (YETIMAN & KESMEN, 2015). A diversidade microbiana depende diretamente da matéria-prima utilizada e estudos relataram que o metabolismo de microrganismos pode afetar consideravelmente as propriedades químicas do vinagre (LI et al. 2015). Diante da resistência aos antibióticos que está se tornando um grande problema mundial, o vinagre se destaca como alternativa devido ao potencial antimicrobiano natural que possui. Além do impacto contra bactérias, o vinagre pode também diminuir a liberação de moléculas inflamatórias e aumentar a capacidade de células de defesa, pois destroem proteínas patogênicas estruturais e enzimas metabólicas microbianas (YAGNIK, 2018). Diante disso, o objetivo desse estudo foi desenvolver um vinagre de mel, e avaliar a sua atividade antimicrobiana. **Materiais e métodos** *Materiais e condições de processamento* O mel orgânico de *Apis mellifera* utilizado no preparo dos fermentados alcoólicos foi adquirido de entreposto apícola, situado no município de Içara - SC/Brasil. Utilizou-se para produção do vinagre, vinho de mel silvestre orgânico. No processo de fermentação alcoólica por batelada a levedura usada foi *Saccharomyces cerevisiae* liofilizada (Y904 - Fleischmann). A relação de microrganismo por substrato de mel com concentração de açúcar redutor expresso em glicose de 20% foi de 1 g de levedura liofilizada por litro. A temperatura das fermentações não foi controlada e variou de 23 a 29, 26 a 34 e 25 a 30 °C nas três repetições do processo. O fermentado alcoólico foi convertido em vinagre pelo processo rápido, também conhecido como alemão. A fermentação acética por fermentador rápido foi conduzida pelo método de batelada alimentada através de um Delineamento Inteiramente Casualizado. O volume inicial das fermentações foi de 300 litros e as trocas de calda foram de 30 litros cada. Não houve adição de inóculo, pois o fermentador estava em operação e o material de suporte (bambu) se encontrava coberto por zoogleia de bactérias do ácido acético - BAA. Quando o teor alcoólico se aproximava de 0,5% era retirado 10% do volume de vinagre

¹ Universidade Estadual de Londrina (UEL), tayaranarumi30@gmail.com

² Universidade Estadual de Londrina (UEL), jessicaressutte@gmail.com

³ Universidade Estadual de Londrina (UEL), naty_ea@hotmail.com

⁴ Universidade Estadual de Londrina (UEL), vivianel.l.costa@gmail.com

⁵ Universidade Estadual de Londrina (UEL), mariana.aqueiroz@outlook.com

⁶ Universidade Estadual de Londrina (UEL), wilma.spinosa@uel.br

do reator e adicionado o mesmo volume de vinho. O controle do processo foi realizado por meio de análises de acidez e teor alcoólico, sendo esse último o indicador do ponto de troca de calda. O Delineamento Inteiramente Casualizado foi realizado acompanhando cinco ciclos fermentativos em três repetições do vinho que foi corrigido com 1,5 g L de sais nutrientes, produzidos pela Frings Microdyn do Brasil. A temperatura de fermentação variou durante os cinco ciclos e estes valores foram de 26 a 32 °C, 29 a 36 °C e 25 a 34 °C, nas repetições respectivamente. *Atividade antimicrobiana* A concentração inibitória mínima (CIM) do crescimento bacteriano foi determinada por método de microdiluição em caldo, conforme metodologia preconizada pelo CLSI (M07-A10), 2015. O teste de CIM foi realizado em placas de 96 poços de poliestireno, de modo em que para cada uma das 3 repetições dos experimentos foi preparada 1 placa contendo 7 concentrações diferentes de ácido acético, variando de 4,8 a 0,07 g.100 mL⁻¹ para amostra 0218; 4,3 a 0,06 g.100 mL⁻¹ para a amostra 0218; e de 2,16 a 0,03 g.100 mL⁻¹ de ácido acético para a amostra 0217, em duplicata para cada concentração. Foram testados dois microrganismos por placa, sendo *Escherichia coli* ATCC 8739 e *Staphylococcus aureus* ATCC 29312. Os resultados foram avaliados pelo método visual, se houver alteração da cor do meio para vermelho, o resultado é positivo para crescimento bacteriano e negativo quando não houver alteração de cor. Para a determinação da Concentração Bactericida Mínima (CBM), após 24h de incubação dos microrganismos, os poços que não apresentaram turvação foram homogeneizados e inoculados em placas de Petri contendo Agar Mueller Hinton (MHA). As placas foram incubadas a 37 °C por 24 h para posterior avaliação. A menor concentração dos extratos que não apresentou nenhum crescimento microbiano foi considerada a CBM (VENANCIO, 2010). **Resultados e discussão** A Tabela 1, apresenta as concentrações inibitórias mínima (CIM) e bactericida mínima (CBM) obtidos para os vinagres de mel, lotes 0217, 0218 e 0118, de cada ciclo fermentativo. As duas linhagens *Escherichia Coli* e *Staphylococcus aureus* apresentaram sensibilidade aos vinagres. A concentração bactericida que causa a morte é maior em comparação a concentração inibitória mínima, pois é necessário um número maior de moléculas ativas para matar todas as células e não só interromper o crescimento e multiplicação das mesmas. O ácido acético que é o ácido orgânico fraco majoritário presente nas amostras de vinagre é um conservador comum de alimentos. Quando em solução este ácido está em equilíbrio dependendo do pH, nas formas dissociada e não dissociada. A atividade ótima de inibição ocorre em valores de pH baixo que neste caso é de 2,5. Isto ocorre em razão da maior concentração da forma do ácido não dissociada ser livremente permeável através da membrana plasmática. A dissociação do ácido ocorre dentro da célula em que o pH está próximo à neutralidade resultando em geração e acúmulo de ânions e cátions. Ocorre a inibição do crescimento bacteriano por supressão de reações metabólicas essenciais ou rompimento da função da membrana. Os valores de CIM e CBM encontrados neste trabalho foram menores aos encontrados na literatura. Os resultados de CBM dos vinagres comerciais de maçã, milho, arroz e cana-de-açúcar foram de 1,0%, já a CIM variou entre 0,5% e 1,0%, ambos para *S. aureus* (FERNANDES et al., 2017). Para *E. coli*, foram testados vinagres de álcool e vinagre de cereais, os valores de CIM e CBM foram, respectivamente, 0,25% e 1,5% de acidez titulável total, expressa em ácido acético (SOUZA et al., 2018). Yagnik et al. (2018) descreveu a atividade antimicrobiana e a expressão de citocinas e proteínas microbianas testando vinagre de maçã contra *Candida albicans*,

¹ Universidade Estadual de Londrina (UEL), tayaranarumi30@gmail.com

² Universidade Estadual de Londrina (UEL), jessicaressutte@gmail.com

³ Universidade Estadual de Londrina (UEL), naty_ea@hotmail.com

⁴ Universidade Estadual de Londrina (UEL), vivianel.l.costa@gmail.com

⁵ Universidade Estadual de Londrina (UEL), mariana.aqueiroz@outlook.com

⁶ Universidade Estadual de Londrina (UEL), wilma.spinosa@uel.br

S. aureus e *E. coli*. A dose mínima necessária para restringir o crescimento (CIM) obtido pelo autor de foi de 5,0%, 2,5% e 0,1% de acidez total, respectivamente. As análises proteômicas dos microrganismos demonstraram que o vinagre de maçã prejudicou a integridade celular, organelas e a expressão de proteínas. O autor afirma que os resultados demonstram que o vinagre tem potencial antimicrobiano múltiplo com implicações terapêuticas clínicas. No estudo em tela os mecanismos responsáveis pela atividade antimicrobiana dos vinagres de mel podem estar relacionados à sua composição. Algumas substâncias que constituem o mel e o vinagre possuem seus mecanismos de ação descritos, dentre elas, os compostos fenólicos que rompem a membrana plasmática e desnaturam enzimas dos microrganismos; peróxidos de hidrogênio controlam o crescimento microbiano a partir da oxidação; ácidos orgânicos inibem o metabolismo e sua ação não está relacionada à acidez, o que pode explicar o vinagre 0217 possuir menor concentração de ácido acético e mesmo assim apresentar valores de MIB e MIC iguais ou menores em comparação aos outros extratos; aldeídos possuem como mecanismo de ação a desnaturação de proteínas dos microrganismos (TORTORA, 2012). **Conclusão** Foi possível a produção de um vinagre de mel pelo método rápido ou alemão, conduzido em um acetificador de polipropileno. O produto obtido apresentou atividade antimicrobiana frente a *E. coli* e *S. aureus*, podendo ser utilizado como um potente agente antimicrobiano contra cepas de interesse a saúde. **Referências** FERNANDES, A. L., NIGUMA, N. H., OLIVEIRA, T. C. Determinação da concentração bacteriostática e bactericida mínima de vinagres provenientes de diferentes matérias-primas. **EAIC, Londrina-UEL**, 2017. LI, S., LI, P., FENG, F., LUO L.X. Microbial diversity and their roles in the vinegar fermentation process. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 99, p. 4997, 2015. SOUZA, G.C., SPINOSA, W.A., OLIVEIRA, T. Sanitizing action of triple-strength vinegar against *Escherichia coli* on lettuce. **Horticultura Brasileira**, v. 36, n. 3, p. 414-418, 2018. TORTORA, G. J., FUNKE, B. R., CASE, C. L. **Controle do crescimento microbiano**. Microbiologia. 10. Ed. Porto Alegre: Artmed, 2012. VANIN, A.M. Atividade antioxidante e perfil fenólico de diferentes tipos de vinagres comercializados na região Sul do Brasil. **Alimentos e Nutrição**, v. 23, n. 2, p. 251-257, 2013. VENANCIO, P.C. **Composição química e atividade antimicrobiana de extratos à base de alho (*Allium sativum* e *Allium tuberosum*) sobre a infecção estafilocócica**. Tese (doutorado em Odontologia, área de farmacologia, anestologia e terapêutica). Jornal da Unicamp - Universidade Estadual de Campinas, 2010. YAGNIK, D., SERAFIN, V., SHAH, A.J. Antimicrobial activity of apple cider vinegar against *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*; downregulating cytokine and microbial protein expression. **Scientific reports**, v. 8, n. 1, p. 1732, 2018. YETIMAN A.E., KESMEN Z. Identification of acetic acid bacteria in traditionally produced vinegar and mother of vinegar by using different molecular techniques. **International Journal of Food Microbiology**, v. 204, p. 9-16, 2015.

PALAVRAS-CHAVE: Vinagre orgânico, Antimicrobiano, Apis mellifera

¹ Universidade Estadual de Londrina (UEL), tayaranarumi30@gmail.com
² Universidade Estadual de Londrina (UEL), jessicaessutte@gmail.com
³ Universidade Estadual de Londrina (UEL), naty_ea@hotmail.com
⁴ Universidade Estadual de Londrina (UEL), vivianel.l.costa@gmail.com
⁵ Universidade Estadual de Londrina (UEL), mariana.aqueiroz@outlook.com
⁶ Universidade Estadual de Londrina (UEL), wilma.spinosa@uel.br