

designarabio



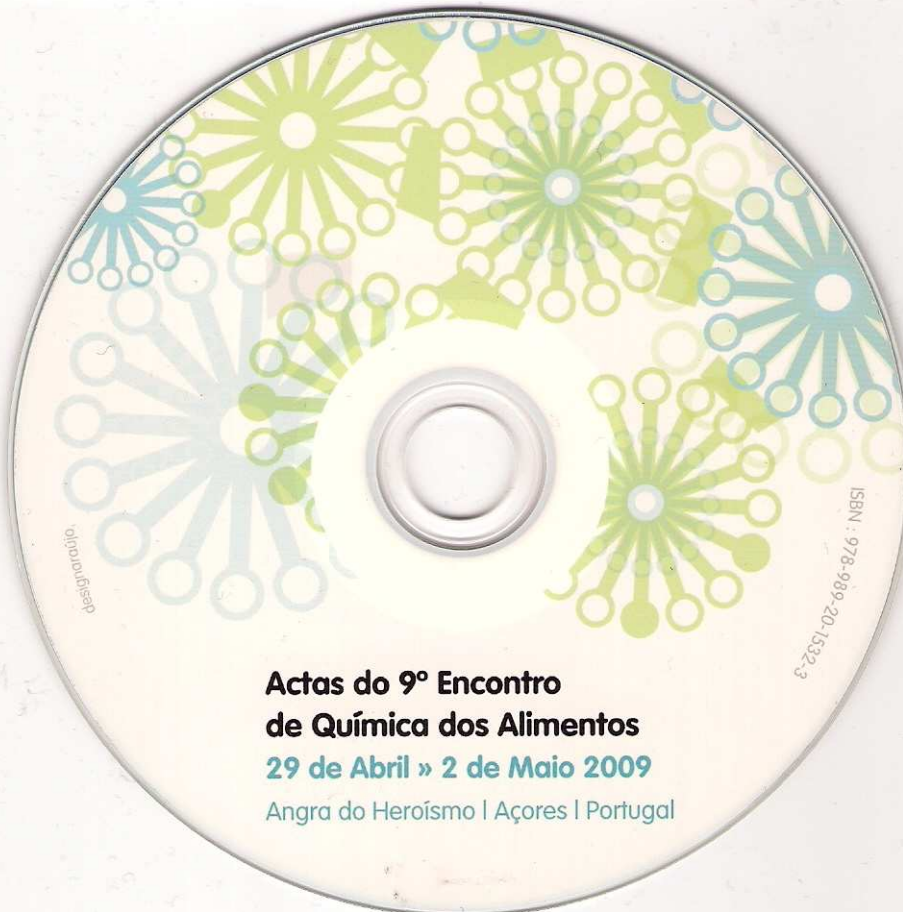
**ENCONTRO
QUÍMICA DOS
ALIMENTOS**

QUALIDADE E SUSTENTABILIDADE
UMA ABORDAGEM INTEGRADA

ISBN : 978-989-20-1532-3

**Actas do 9º Encontro
de Química dos Alimentos**
29 de Abril » 2 de Maio 2009
Angra do Heroísmo | Açores | Portugal

designarabio



ISBN : 978-989-20-1532-3

**Actas do 9º Encontro
de Química dos Alimentos**
29 de Abril » 2 de Maio 2009
Angra do Heroísmo | Açores | Portugal

INFLUÊNCIA DO PERÓXIDO DE HIDROGÉNIO NA ACTIVIDADE INIBITÓRIA DO MEL CONTRA LEVEDURAS PATOGENICAS

Pereira A. P., Moreira L., Morais M., Estevinho L. M.*

1CIMO – Centro de Investigação de Montanha do Instituto Politécnico de Bragança

Campus Santa Apolónia – Apartado 1172, 5301-855 Bragança
Tel. +351 273 303 200 Fax +351 273 325 405 e-mail: leticia@ipb.pt

Palavras-chave: mel; catalase; leveduras patogénicas; peróxido de hidrogénio

Resumo: O mel é um produto natural usado desde a antiguidade para o tratamento de doenças respiratórias e como cicatrizante. Estes efeitos estão relacionados com as suas características físicas e químicas. O principal agente antibacteriano no mel é o peróxido de hidrogénio, o qual é produzido enzimaticamente pela glucose oxidase. O nível de peróxido de hidrogénio no mel é determinado pelos níveis de glucose oxidase e catalase. Quanto maior o nível de glucose oxidase e quanto menor o nível de catalase, maior a quantidade de peróxido de hidrogénio. O objectivo deste trabalho foi estudar a influência de peróxido de hidrogénio de dois méis da região de Trás-os-Montes no crescimento e sobrevivência de leveduras patogénicas (*Candida albicans*, *Candida krusei* e *Cryptococcus neoformans*). Os resultados revelaram que os méis estudados, sem adição de catalase, inibiram o crescimento de *C. krusei* e *C. neoformans*, mas não afectaram o crescimento de *C. albicans* e *S. cerevisiae*, sugerindo que o peróxido de hidrogénio pode ser um dos factores responsáveis pelos efeitos terapêuticos do mel. No entanto, como o mel escuro evidenciou maior efeito inibitório que o mel claro, outros factores poderão estar envolvidos na actividade biológica deste produto, nomeadamente o teor em compostos fenólicos, que foi mais elevado no mel escuro.

1. INTRODUÇÃO

O mel é utilizado desde os primórdios da humanidade na medicina tradicional, tendo adquirido popularidade entre os Egípcios, Árabes, Gregos e outras civilizações. Este produto da colmeia, como quase todos os produtos naturais, dependendo da sua origem, pode ter uma grande diversidade de compostos terapêuticos. Com efeito, a fonte floral do mel desempenha um papel fundamental nas suas propriedades biológicas [1].

O mel é um produto alimentar rico tanto em antioxidantes enzimáticos (glucose oxidase e catalase) como não enzimáticos (ácido ascórbico, flavonóides, ácidos fenólicos, derivados de carotenóides, ácidos orgânicos, produtos das reacções de Maillard, aminoácidos e proteínas) [2, 3].

A actividade antimicrobiana do mel deve-se principalmente às suas propriedades físicas e químicas. A elevada osmolaridade e a acidez do mel, o peróxido de hidrogénio, os compostos voláteis, os ácidos orgânicos, os compostos fenólicos e a lisozima estão entre as substâncias que contribuem para a sua actividade [1]. O principal agente antibacteriano no mel é o peróxido de hidrogénio, o qual é produzido enzimaticamente no mel pela glucose oxidase que tem origem nas glândulas hipofaríngeas das abelhas [4], no entanto, a catalase que tem origem no pólen também aparece no mel [5]. O nível de peróxido de hidrogénio no mel é determinado pelos níveis de glucose oxidase e catalase [6]. Quanto maior o nível de glucose oxidase, maior o nível de peróxido e quanto menor o nível de catalase, maior o nível de peróxido de hidrogénio. A enzima glucose oxidase está virtualmente inactiva em mel com elevada densidade, mas torna-se

activa no mel diluído, produzindo peróxido de hidrogénio e ácido glucónico a partir da glucose [4].

Este trabalho teve como objectivo, avaliar a influência da presença de peróxido de hidrogénio de duas amostras de mel da região de Trás-os-Montes (claro e escuro) no crescimento e sobrevivência das leveduras patogénicas, *Candida albicans*, *Candida krusei* e *Cryptococcus neoformans*, utilizando como referência *Saccharomyces cerevisiae*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Microrganismos e condições de cultura

Testou-se a capacidade de crescimento e sobrevivência de quatro leveduras em meio de cultura contendo os méis testados. As estirpes de leveduras testadas foram *Candida albicans* CECT 1394, *Candida krusei* ESA 11, *Cryptococcus neoformans* ESA 3 e *Saccharomyces cerevisiae* ESA 1, como estirpe de referência. Os microrganismos CECT foram obtidos da colecção de culturas Espanhola da Universidade de Valência, enquanto os microrganismos ESA são isolados clínicos identificados no Laboratório de Microbiologia da Escola Superior Agrária de Bragança. Os microrganismos cresceram aerobicamente a 25°C em meio sólido YPD (2% glucose, 1% peptona, 0,5% extracto levedura e 2% agar). Antes de serem usadas como inóculo, as culturas foram transferidas do meio sólido para meio líquido YPD (2% glucose, 1% peptona e 0,5% extracto levedura) e cresceram a 25°C durante 24 horas.

2.2. Méis analisados

Foram analisados dois méis da região de Trás-os-Montes, um claro e outro escuro. Ambos os méis são monoflorais mas têm origens florais diferentes, enquanto o mel escuro é mel monofloral de urze (*Erica* sp.), o mel claro é mel monofloral de rosmaninho (*Lavandula* sp.). Os méis foram armazenados à temperatura ambiente até ao processamento.

2.4. Ensaio da actividade inibitória

A influência do peróxido de hidrogénio na actividade inibitória do mel contra leveduras foi avaliada de acordo com o método descrito por Taormina *et al.* (2001) [5]. Estudou-se a sobrevivência e o crescimento das estirpes de leveduras em soluções de 25% de mel com tampão fosfato de potássio 0,1 M (pH 7,0), com e sem catalase. Adicionou-se 5 mL de mel a 14,8 mL de tampão estéril (solução de mel sem catalase) e 5 mL de mel a 14,8 mL de tampão contendo 0,2% de catalase (solução de mel com catalase). Cada solução de mel foi inoculada, individualmente, com 0,2 mL da cultura das estirpes, crescidas durante 24 horas. As soluções de mel inoculadas foram incubadas a 25°C durante 48 horas. Determinou-se a população de leveduras na solução de mel, após inoculação e ao fim de 48 horas de incubação, através da contagem de unidades formadoras de colónias (UFC) em meio Sabouraud. Quando necessário, procedeu-se à diluição das amostras com água peptonada a 0,1%.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos para o estudo da sobrevivência e crescimento das estirpes de leveduras em soluções de mel claro e escuro, com e sem catalase, estão apresentados na Tabela 1 e 2, respectivamente.

Tabela 1. População de leveduras na solução de 25% de mel claro, com e sem catalase, após 48 de incubação.

Levedura	População (log UFC/mL solução de mel)		
	Inicial	48 horas	
		Sem catalase	Com catalase
<i>C. albicans</i>	6,74	6,46	6,41
<i>C. krusei</i>	5,43	0,00	0,00
<i>C. neoformans</i>	5,93	4,46	5,88
<i>S. cerevisiae</i>	5,89	7,40	7,46

A população inicial de *C. albicans*, *C. krusei*, *C. neoformans* e *S. cerevisiae* inoculada na solução de mel claro foi 6,74, 5,43, 5,93 e 5,89 log UFC/mL, respectivamente. Verificou-se que a solução de mel claro, com e sem catalase, não afectou o crescimento de *S. cerevisiae*. No entanto, *C. krusei*, após 48 de incubação, não foi detectada na solução de mel claro sem catalase, nem na solução com catalase, sugerindo que o peróxido de hidrogénio não é o factor responsável pela inibição do crescimento desta levedura. Relativamente a *C. albicans*, a inibição do seu crescimento foi reduzida na presença e na ausência de catalase. Por outro lado, o crescimento de *C. neoformans* foi ligeiramente afectado na solução de mel sem catalase, indicando, que o peróxido de hidrogénio é o agente antimicrobiano responsável pelo decréscimo da taxa de crescimento.

Tabela 2. População de leveduras na solução de 25% de mel escuro, com e sem catalase, após 48 de incubação.

Microrganismo	População (log UFC/mL solução de mel)		
	Inicial	48 horas	
		Sem catalase	Com catalase
<i>C. albicans</i>	5,89	5,28	5,83
<i>C. krusei</i>	5,29	0,00	2,90
<i>C. neoformans</i>	5,55	0,00	3,60
<i>S. cerevisiae</i>	5,99	7,60	7,64

Na solução de mel escuro a população inicial de *C. albicans*, *C. krusei*, *C. neoformans* e *S. cerevisiae* foi 5,89, 5,29, 5,55 e 5,99 log UFC/mL, respectivamente. Tal como verificado para o mel claro, o crescimento de *S. cerevisiae* também não foi afectado pelo mel escuro, com e sem catalase. O crescimento de *C. albicans* praticamente não foi afectado pela ausência e presença de catalase. O peróxido de hidrogénio inibiu o crescimento de *C. krusei* e *C. neoformans*, pois estas leveduras não foram detectadas na solução de mel escuro sem catalase.

Resumindo, das três leveduras patogénicas testadas, as mais sensíveis foram *C. krusei* e *C. neoformans*, sendo a primeira mais sensível ao mel claro que ao mel escuro.

Estes resultados sugerem que o mel pode ser utilizado como agente terapêutico no tratamento de infecções fúngicas, sobretudo porque até ao momento não foram referenciados casos de resistência.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

[1] - C. Basualdo, V. Sgroy, M.S. Finola, J.M. Marioli - *Comparison of the antibacterial activity of honey from different provenance against bacteria usually isolated from skin wounds*, Veterinary Microbiology, **124** (2007), 375-381. [2] - A. Meda, C.E. Lamien, M. Romito, J. Millogo, O.G. Nacoulma - *Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity*, Food Chemistry, **91** (2005), 571-577. [3] - V. Baltrušaitytė, P.R. Venskutonis, V. Čeksterytė - *Radical scavenging activity of different floral origin honey and beebread phenolic extracts*, Food Chemistry, **101** (2007), 502-514. [4] - P.B. Olaitan, O.E. Adeleke, I.O. Ola - *Honey: a reservoir for microorganisms and an inhibitory agent for microbes*, African Health Sciences, **7** (2007), 159-165. [5] - P.J. Taormina, B.A. Niemira, L.R. Beuchat - *Inhibitory activity of honey against foodborne pathogens as influenced by the presence of hydrogen peroxide and level of antioxidant power*, International Journal of Food Microbiology, **69** (2001), 217-225. [6] - R.J. Weston - *The contribution of catalase and other natural products to the antibacterial activity of honey: a review*, Food Chemistry, **71** (200), 235-239.