



Análise do Alfa- e Beta-Ácidos e do Potencial Antimicrobiano de Extratos de Lúpulos Cultivados em Viçosa MG



Mayara S. V. Silva (PG)¹, Guilherme R. Pereira (PG)¹, Deborah da S. Pimentel (PG)¹, Jéssica N. Rosa (PQ)², Maria Eduarda L. de Assis (PQ)², Denise M. S. Bazzolli (PQ)², Marcelo A. de Moura (PQ)³, Patrícia F. Pinheiro (PQ)¹.

¹Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Química, Viçosa, Minas Gerais, Brasil; ²BIOAGRO, Universidade Federal de Viçosa Departamento de Microbiologia, Viçosa, Minas Gerais, Brasil; ³Empresa, Lúpulo Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, Brasil.

*e-mail: mayara.ventura@ufv.br

RESUMO

Os extratos etanólicos de lúpulo das variedades Cascade, Comet, Magnum e Zeus, cultivadas em Viçosa-MG, foram analisados quanto ao teor de α -ácidos e β -ácidos por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Além disso, os extratos foram submetidos a ensaios microbiológicos para avaliação de sua atividade antibacteriana e antifúngica. Os extratos de lúpulo das diferentes variedades apresentaram composição de α -ácidos e β -ácidos na faixa de valores encontrados na literatura e apresentaram potencial a serem utilizados como antimicrobianos, devido aos baixos valores de Concentração Inibitória Mínima (CIM) encontradas para *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enterica*, *Listeria monocytogenes* e *Aspergillus niger*.

Palavras-chave: Bactérias, Extratos, Fungos

Introdução

O lúpulo (*Humulus lupulus* L.) é uma planta trepadeira da família Cannabaceae, amplamente cultivada em regiões de clima temperado, cujas inflorescências femininas (cones) são ricas em compostos aromáticos essenciais à produção cervejeira. A importância econômica do lúpulo se dá, sobretudo, por seu papel como insumo fundamental na fabricação de cervejas, conferindo amargor, aroma e propriedades conservantes ao produto final, graças à presença dos α -ácidos e β -ácidos¹.

As principais estruturas dos α -ácidos (humulona, cohumulona e adhumulona) e dos β -ácidos correspondentes (lupulona, colupulona e adlupulona) estão ilustradas na Figura 1.

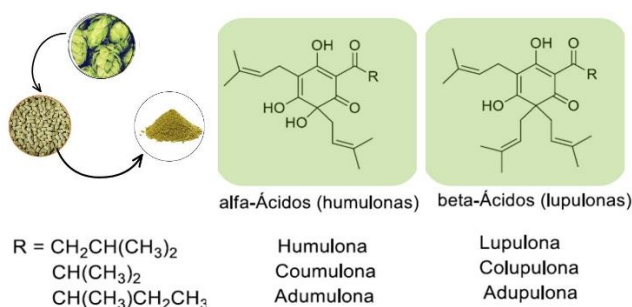


Figura 1. Estrutura dos α -ácidos e β -ácidos presentes em lúpulos.

O lúpulo utilizado pelas grandes cervejarias é, em sua maioria, importado. No entanto, nos últimos anos, iniciou-se o cultivo dessa planta no Brasil. Após diversas tentativas, alguns pequenos produtores brasileiros vêm obtendo sucesso no cultivo de lúpulo, especialmente voltado à produção de cervejas artesanais. Apesar dos avanços, a produção nacional ainda é de pequena escala e se encontra em fase experimental.

De forma inédita, um produtor local tem conseguido,

recentemente, cultivar lúpulo em Viçosa-MG, obtendo exemplares com elevada qualidade aromática. A partir disso, nosso grupo de pesquisa passou a utilizar esse lúpulo em estudos voltados à determinação de sua composição química, bem como à avaliação de seu potencial antimicrobiano. Assim, os objetivos deste trabalho foram: (i) obter extratos etanólicos dos lúpulos cultivados pelo produtor local, das variedades Cascade, Comet, Magnum e Zeus; (ii) quantificar os α -ácidos e β -ácidos por meio de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE, em inglês HPLC); e (iii) investigar a atividade antimicrobiana desses extratos. Este estudo contribui para o incentivo ao cultivo de lúpulo em Minas Gerais, destacando seu potencial de aplicação para além da indústria cervejeira.

Experimental

Extratos

As amostras em pellets de lúpulo foram macerados com auxílio de um pistilo, sendo 500 mg do macerado obtido homogeneizado com 25 mL de etanol 99%(v/v). A extração foi conduzida a 60°C por 24 h em banho maria. Os extratos foram resfriados à temperatura ambiente e então centrifugados. O sobrenadante obtido foi concentrado no rotaevaporador e armazenado sob -12°C até o momento das análises².

Determinação de α - e β -ácidos

As análises foram realizadas por CLAE/HPLC, utilizando um sistema Shimadzu com detector UV/visível e coluna C18. As condições cromatográficas incluíram fase móvel composta por 85% de metanol e 15% de água acidificada com ácido fórmico (0,025%), fluxo de 0,8 mL/min e detecção a 326 nm. A quantificação dos α - e β -ácidos foi feita com o padrão ICE-4, preparado em diferentes concentrações (0,187 a 6 mg/mL) em etanol acidificado. As soluções foram filtradas (0,22 μ m) e analisadas conforme protocolo adaptado da literatura.

Atividade Antimicrobiana

Ao testar a Concentração Inibitória Mínima (CIM) para



Aspergillus niger foi utilizado o protocolo M27-A3 do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). A suspensão de *A. niger* (10^4 conídios/mL) foi preparada em meio RPMI 1640 com 2% de glicose. Os extratos foram testados em concentrações de 4 mg/mL a 0,12 mg/mL. As placas foram incubadas a 28 °C por 48 h, e a CIM foi determinada visualmente, com confirmação por resazurina (0,01%) como indicador de viabilidade³.

Para as bactérias (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 29853; *Salmonella enterica* serovar Enteritidis ATCC 13076; *Escherichia coli* ATCC 25922; *Listeria monocytogenes* ATCC 7644 e *Staphylococcus aureus* ATCC 6538) a CIM foi determinada de acordo com as diretrizes do CLSI. A faixa de diluição utilizada variou de 57 mg/mL a 0,056 mg/mL. As bactérias foram cultivadas em caldo Mueller-Hinton até atingirem uma OD600 de 0,5. Em seguida, foram transferidas (10^5 UFC/mL) para microplacas de 96 poços contendo o antimicrobiano testado. As microplacas foram incubadas a 37°C por 24 horas. O valor da CIM foi considerado como a menor concentração do antimicrobiano que não houve crescimento visível³ e confirmada com resazurina 0,01%.

Resultados e Discussão

Os teores totais de α -ácidos nos extratos etanólicos de lúpulo das variedades Cascade, Comet, Magnum e Zeus variaram entre 2,20% e 8,01%, conforme apresentado na Tabela 1. Esses valores estão em conformidade com os intervalos geralmente reportados na literatura (2 a 17% m/m), segundo Krofta; Mikyska (2014) e Olsovska et al. (2016)⁴⁻⁵. Quanto aos β -ácidos, os teores observados oscilaram entre 3,22% e 14,67% (Tabela 2). As amostras das variedades Cascade, Comet e Magnum apresentaram valores dentro da faixa esperada (2 a 10% m/m)⁴⁻⁵, enquanto a variedade Zeus apresentou um teor acima do limite superior normalmente descrito.

Tabela 1. Porcentagens de α -ácidos nos extratos etanólicos de lúpulo das diferentes variedades

α -Ácidos			
Amostra	Cohumulona (%)	n+adhumulona (%)	α -Ácidos Totais (%)
Cascade	1,91	1,34	3,25
Comet	0,77	1,43	2,20
Magnum	3,54	4,47	8,01
Zeus	4,31	1,99	6,30

Tabela 2. Porcentagens de β -ácidos nos extratos etanólicos de lúpulo de diferentes variedades

β -Ácidos			
Amostra	Colupulona (%)	n+adlupulona (%)	α -Ácidos Totais (%)
Cascade	1,37	1,85	3,22
Comet	2,27	1,32	3,59
Magnum	3,24	5,22	8,46
Zeus	9,51	5,16	14,67

Os extratos lúpulo Magnum, Cascade, Comet e Zeus demonstraram atividade antimicrobiana contra todos os microrganismos testados, com destaque para sua alta eficácia frente às bactérias Gram positivas *S. aureus* e *L. Monocytogenes* (Tabela 3), especialmente o extrato Magnum (CIM de 0,056 mg/mL). Para o fungo *A. niger*, todos os extratos apresentaram CIM de 1,00 mg/mL. Esses resultados reforçam o potencial dos extratos especialmente Magnum e Comet, como fontes promissoras de compostos bioativos com ação antimicrobiana.

Tabela 3. Valores de CIM encontrados para diferentes microorganismos usando extratos etanólicos de lúpulo

Microorganismos	Cascade (mg/mL)	Comet (mg/mL)	Magnum (mg/mL)	Zeus (mg/mL)
<i>A. niger</i>	1,00	1,00	1,00	1,00
<i>E. coli</i>	28,60	9,35	7,20	27,40
<i>S. enterica</i>	28,60	9,35	7,20	27,40
<i>S. aureus</i>	0,22	0,073	0,056	0,21
<i>P. aeruginosa</i>	0,22	0,073	0,056	0,21
<i>L. monocytogenes</i>	0,22	0,073	0,056	0,21

Conclusões

Os extratos etanólicos das flores de lúpulo apresentaram teores de α -ácidos e β -ácidos compatíveis dados da literatura. Esses extratos apresentaram atividade antimicrobiana significativa, especialmente contra bactérias Gram-positivas e apresetrnaram potencial inibitório contra *A. niger*. Dessa forma, podem ser explorados como fontes promissoras de agentes antimicrobianos naturais.

Referências

- ARRUDA, T. R. et al. Food Science and Technology, v. 141, p. 110905, 2021.
- ABRAM, V. et al. Industrial Crops and Products, 64, 124–134, 2015.
- CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. 12th ed. Wayne, PA: CLSI, 2024. (CLSI document M07-A12).
- KROFTA, K. ; MIKYŠKA, Kvasný průmysl, v. 60, n. 4, p. 96–105, 2014.
- OLSOVSKA, J. Kvasný průmysl, v. 70, n. 4, p. 919–926, 2024.

Agradecimentos

