

## AÇÃO ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS DE VEGETAIS EM ISOLADOS NA PRODUÇÃO DE BIOETANOL

Paulo Cláudio Claudino Júnior <sup>1</sup>;  
Amanda Namie Coga <sup>2</sup>;  
Prof. Dr. Leonardo Lucas Madaleno <sup>3</sup>;  
Profa. Dra. Mariana Carina Frigieri Salaro <sup>4</sup>

Aluno do CST em Biocombustíveis; email: pauloclaudiojr@gmail.com<sup>1</sup>  
Aluna do CST em Biocombustíveis; email: namiekpop@gmail.com<sup>2</sup>  
Professor da FATEC Nilo De Stéfani - Jaboticabal; leonardomadaleno@fatecjaboticabal.edu.br <sup>3</sup>  
Professora da FATEC Nilo De Stéfani - Jaboticabal; email:  
marifrigieri@fatecjaboticabal.edu.br<sup>4</sup>

**Área do Conhecimento:** Ciências Biológicas. Microbiologia Industrial e de Fermentação  
**Palavras-chave:** biocida; fermentação; contaminantes; *hole plate*; plantas.

### INTRODUÇÃO

Durante o processo de fermentação etanólica, há a presença de contaminantes invasores que encontram na fermentação condições ideais para se desenvolver. Podendo ser originários do solo, que é um local de maior concentração de micro-organismos, e chegam até a indústria, outro modo de entrada é pela água de diluição do mosto e também da própria contaminação interna, por meio de tubulações e equipamentos. Esses invasores acabam por prejudicar o rendimento do processo, de forma que reduzem a produção do etanol, causando perda de açúcares fermentescíveis e afetam de forma negativa a viabilidade das leveduras e o rendimento do processo. Procurando contribuir com esse problema significativo do setor sucroenergético foi elaborado o presente projeto, o qual encontrar soluções para esse problema com a redução do uso de antibióticos, os quais acarretam gastos excessivos e sérios problemas ambientais. Para isso, foi construída uma plataforma onde as plantas existentes na Fatec Jaboticabal ou nas proximidades estão sendo catalogadas e pesquisadas quanto ao potencial uso como antimicrobiano. Das plantas selecionadas estão sendo obtidos extratos para verificar a ação inibitória dos contaminantes e ausência de efeitos negativos sobre a levedura, além da possível otimização na produção de etanol. Assim, neste período foi verificada a ação antimicrobiana frente à bactérias comumente encontradas nas dornas de fermentação dos extratos hidroalcoólico e aquoso de *Punica granatum* pelo método de difusão em ágar. De acordo com os resultados obtidos foi possível verificar a solubilidade em água e a ação antibacteriana dos extratos, porém com mais efetividade para o extrato obtido através da extração hidroalcoólica.

### OBJETIVO

O objetivo geral deste projeto foi prospectar a ação antimicrobiana das plantas disponíveis na Fatec Jaboticabal e proximidades avaliando a possibilidade do controle de microorganismos contaminantes do processo fermentativo.

### METODOLOGIA

Os experimentos foram realizados nos Laboratórios da Fatec – Jaboticabal. Foi realizada uma busca na literatura da ação antimicrobiana dos vegetais cultivados na Fatec e proximidades. Os vegetais foram inseridos em plataforma digital desenvolvida, denominada Plants Fatec. Após a catalogação alguns vegetais foram selecionados para o teste de ação antimicrobiana, dentre esses *Punica granatum*, conhecida popularmente como romã. Os extratos foram obtidos pela maceração da casca do fruto, após secagem em estufa, na proporção 1:10 em etanol 70% por 5 dias ou em água por 3 dias. A determinação da solubilidade em água foi realizada, conforme descrito por Nascimento (2008) e expressa conforme os termos descritivos definidos pela ANVISA (2010).

Para as análises, os extratos foram solubilizados em água. A ação antimicrobiana dos vegetais selecionados foram realizadas pelo método *hole plate* de acordo com Nascimento (2008) utilizando os isolados bacterianos obtidos à partir da fermentação realizada nos laboratórios da Fatec e do material da cuba de tratamento do fermento de três unidades sucroenergéticas diferentes da região de Jaboticabal. As análises de suscetibilidade também foram realizadas utilizando as amostras de leveduras isoladas, porém ao invés dos extratos serem colocados em orifícios, foram aplicados em discos de papel absorvente (método disco-difusão), após as leveduras serem crescidas em meio YPD.

Todos os testes foram realizados em triplicata. A sensibilidade ao extrato foi verificada pela formação de zonas (circunferências) sem crescimento, denominadas halos de inibição do crescimento microbiano.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Inicialmente foi determinada a solubilidade em água dos extratos vegetais (Tabela 1). Foi possível observar que os extratos apresentam uma ótima solubilidade, sendo uma característica importante a ser levada em conta pelo setor industrial.

Tabela 1 - Solubilidade dos extratos vegetais em termos descritivos

Espécie vegetal	Extrato vegetal	Solubilidade (mg/mL)	Termo descritivo
<i>Punica granatum</i>	Hidroalcoólico	1:1	Facilmente solúvel
	Aquoso	1:15	Solúvel
Controle	-	*	*

O interesse na utilização de água no preparo do extrato foi de obter um produto de baixo custo e com praticidade de utilização por ser facilmente solúvel, característica essa que foi confirmada pela avaliação de solubilidade como mostrado na Tabela 1. A utilização de água torna-se um atrativo na obtenção de compostos com características polares (ALTEMIMI *et al.*, 2017).

A seguir, foram realizados experimentos com extratos (150mg/mL) hidroalcoólico e aquoso utilizando água como solvente e avaliados quanto à ação antimicrobiana. Nos isolados de leveduras não foi observado a formação de halo de inibição para nenhum dos extratos avaliados (Figura 1). Esse resultado é muito promissor, pois o objetivo é utilizar o extrato durante o processo fermentativo e para isso é necessário que apenas os contaminantes apresentem sensibilidade e que a ação da levedura não sofra influência.

Figura 1 - Não observação de halo para levedura em extrato aquoso



Nos ensaios da avaliação do potencial antimicrobiano realizados frente aos microorganismos padrões (Tabela 2) e para os micro-organismos isolados do processo fermentativo realizados na Fatec e nas unidades sucroenergéticas da região de Jaboticabal (Usinas A, B e C), separadamente (Tabela 3), foi possível observar a presença de atividade em todos os testes, sendo a ação mais efetiva para o extrato hidroalcolico.

Tabela 2 - Medidas dos halos de inibição obtidos para micro-organismos padrões

Espécie vegetal	Extrato vegetal	Diâmetro dos halos (mm)	
		<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
<i>Punica granatum</i>	Hidroalcolico	13,0	12,3
	Aquoso	10,7	10,7
Controle	-	*	*

\*Medida do halo < 7mm.

Tabela 3 - Medida dos halos de inibição para micro-organismos isolados do processo de fermentação.

Espécie vegetal	Extrato vegetal	Diâmetro dos halos (mm)			
		Fatec	Usina A	Usina B	Usina C
<i>Punica granatum</i>	Hidroalcolico	12,3	10,6	12,3	13,6
	Aquoso	11	10,6	10,0	9,6
Controle	-	*	*	*	*

\*Medida do halo < 7mm.

Com a execução do presente trabalho verificou-se a solubilidade em água dos extratos e a reprodutibilidade dos resultados obtidos com os micro-organismos isolados das fermentações realizadas na Fatec em micro-organismos isolados das fermentações realizadas nas usinas sucroenergéticas de três unidades, porém com mais efetividade para o extrato obtido através da extração hidroalcolica.

Os métodos de difusão são a escolha inicial na seleção de novos agentes antimicrobianos provenientes de extratos de plantas e outros produtos naturais, devido principalmente à facilidade de execução e ao baixo custo (OSTROSKY et al., 2008). Bona et al., 2014 ressaltam a importância do método *Hole plate* ou teste de difusão por poço na avaliação preliminar dos extratos vegetais com potencial antimicrobiano.

## CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos foi possível verificar a solubilidade em água e a ação antibacteriana dos extratos, porém com mais efetividade para o extrato obtido através da extração hidroalcoólica.

## REFERENCIAS

ALTEMIMI, A.; LAKHSSASSI, N.; BAHARLOUEI, A.; WATSON, D. G.; LIGHTFOOT, D. A. Phytochemicals: Extraction, isolation, and identification of bioactive compounds from plant extracts. **Plants**, v. 6, n. 4, p. 42, 2017.

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Farmacopeia Brasileira, 5a edição**, v. 2, p. 1-523, 2010.

NASCIMENTO, A.M. **Avaliação da qualidade de extratos de Stryphnodendron adstringens (Martius) Coville**. 2008. 159p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2008.

OSTROSKY, E. A.; Mizumoto, M. K.; Lima, M. E.; Kaneko, T. M.; Nishikawa, S. O.;