

Curso de Tecnologia em Biocombustíveis

EXTRATO DE *Hibiscus sabdariffa* NO DESENVOLVIMENTO DE PRODUTOS PARA CONTROLE MICROBIOLÓGICO

ANA CAROLINA AMARAL LIMA

**Orientadora: Profa. Dra. Mariana Carina Frigieri
Salaro**

**Coorientadora: Profa Dra. Nádia Figueiredo de
Paula**

Coorientadora: Prof. Dr. Celso Antonio Jardim

**Trabalho apresentado a Faculdade de Tecnologia
Nilo De Stéfani - Jaboticabal, para obtenção do
título de Tecnóloga em Biocombustíveis.**

**Jaboticabal – SP
1º Semestre/2024**

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Lima, Ana Carolina Amaral

xxxx Extrato de *Hibiscus sabdariffa* no desenvolvimento de produtos para controle microbiológico. / Ana Carolina Amaral Lima. — Jaboticabal: Fatec Nilo De Stéfani, 2024.

13p.

Orientadora: Profa. Dra. Mariana Carina Frigieri Salaro

Co-orientadora: Profa. Dra. Nádia Figueiredo de Paula

Co-orientadora: Prof. Dr. Celso Antonio Jardim

Trabalho (graduação) – Apresentado ao Curso de Tecnologia em Biocombustíveis, Faculdade de Tecnologia Nilo De Stéfani - Jaboticabal, 2024.

1. Antimicrobiano. 2. Biocombustíveis. 3. Contaminantes. 4. Fermentação. I. Salaro, M. C. F. II. Extrato de *Hibiscus sabdariffa* no desenvolvimento de produtos para controle microbiológico.

Faculdade de Tecnologia Nilo De Stéfani

Curso de Tecnologia em Biocombustíveis

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: EXTRATO DE *Hibiscus sabdariffa* NO DESENVOLVIMENTO DE PRODUTOS PARA CONTROLE MICROBIOLÓGICO.

AUTOR: ANA CAROLINA AMARAL LIMA

ORIENTADORA: PROFa. DRa. MARIANA CARINA FRIGIERI SALARO

COORIENTADORA: PROFa. DRa. NÁDIA FIGUEIREDO DE PAULA

COORIENTADOR: PROF. DR. CELSO ANTONIO JARDIM

Trabalho de Graduação aprovado pela Banca Examinadora como parte das exigências para conclusão do Curso Superior de Tecnologia em Biocombustíveis, apresentado à Fatec-JB para a obtenção do título de Tecnóloga.

MARIANA CARINA FRIGIERI SALARO
Docente Fatec Jaboticabal

JOSIANE SOARES SIQUEIRA
Mestranda Unesp Jaboticabal – PPG Microbiologia agropecuária

RITA DE CÁSSIA VIEIRA
Docente Fatec Jaboticabal

Data da apresentação: 05 de junho de 2024.

EXTRATO DE *Hibiscus sabdariffa* NO DESENVOLVIMENTO DE PRODUTOS PARA CONTROLE MICROBIOLÓGICO.

Hibiscus sabdariffa extract in the development of products for microbiological control.

Ana Carolina Amaral Lima ⁽¹⁾

Resumo

O grupo de pesquisa aplicada Controle Microbiológico Natural (COMINAT) da Fatec Jaboticabal estuda a ação de extratos vegetais no controle microbiológico para desenvolvimento de produtos. Neste sentido foram utilizados extratos vegetais padronizados, porém com a possibilidade de desenvolver um produto antibacteriano de baixo custo e solúvel, uma vez que o diferencial é o uso de extratos aquosos e não óleo essencial. O estudo da ação de produtos contendo extrato de hibisco (*Hibiscus sabdariffa*) foi realizado para microrganismos padrões e também para contaminantes bacterianos do processo fermentativo para obtenção do bioetanol. Os produtos desenvolvidos revelaram ação inibitória, tendo potencial antibacteriano, porém a confirmação da ação, características e estabilidade dos produtos ainda necessitam de verificação.

Palavras-chave: Antimicrobiano. Biocombustíveis. Contaminantes. Fermentação.

Abstract

*The applied research group Natural Microbiological Control (COMINAT) studies the action of plant extracts in microbiological control for product development. In this sense, standardized plant extracts were used, but with the possibility of developing a low-cost and soluble antibacterial product, since the difference is the use of aqueous extracts and not essential oil. The study of the action of products containing hibiscus extract (*Hibiscus sabdariffa*) was carried out for standard microorganisms and also for bacterial contaminants in the fermentation process to obtain bioethanol. The developed products revealed inhibitory action, having antibacterial potential, but confirmation of the action, characteristics and stability of the products still require verification.*

Keywords: Antimicrobial. Biofuels. Contaminants. Fermentation.

¹Graduanda em Tecnologia em Biocombustíveis pela Fatec Nilo De Stéfani - Jaboticabal. Endereço eletrônico: ana.lima66@fatec.sp.gov.br

1 Introdução

O controle microbiológico é um tema muito importante do ponto de vista industrial, uma vez que pode ser decisivo na produção e consequentemente nos lucros.

Na indústria do bioetanol o controle deve ser feito para os microrganismos invasores porém esse controle não deve afetar a atividade do microrganismo produtor (CARVALHO *et al.*, 2021), representando um grande desafio (CECCATO-ANTONINI, 2022). O controle geralmente é realizado com a utilização de ácido sulfúrico e, em casos mais extremos pode ser necessário o uso de antibióticos (MUTHAIYAN; LIMAYEM; RICKE, 2011). Atualmente devido ao elevado custo do produto e diversas preocupações econômicas e ambientais como resíduos nas células de levedura, estímulo à resistência bacteriana e disposição no ambiente tem levado ao aumento por alternativas de controle (FREITAS; ROMANO, 2013; BREXÓ; SANT'ANA, 2017). Diversos pesquisadores estudam fontes menos agressivas e mais atraentes economicamente como é o caso dos extratos vegetais (CARVALHO *et al.*, 2021). Até o momento, o lúpulo (*Humulus lupulus*) tem sido o mais utilizado na indústria de bioetanol (CECCATO-ANTONINI, 2018).

Segundo Anand, *et al.* (2020) os produtos naturais derivados de vegetais são atrativos devido a facilidade e o custo de obtenção, além de possuírem diversos bioativos. Estudos com extratos vegetais na produção de bioetanol (MADALENO *et al.*, 2016; RICH *et al.*, 2018; CARVALHO *et al.*, 2022) apresentaram resultados promissores e com grande possibilidade de exploração (SALAM; QUAVE, 2018).

O grupo em Controle Microbiológico Natural (COMINAT) da Fatec Jaboticabal tem explorado o tema concentrando os estudos no emprego de extratos vegetais na obtenção de ativos antimicrobianos de interesse industrial (CARVALHO *et al.*, 2022; GONÇALVES, *et al.*, 2022) com o estudo de extratos comerciais, conciliando interesse econômico e ambiental que devem nortear o desenvolvimento industrial sustentável.

O objetivo do presente trabalho foi estudar a ação de extratos vegetais no controle microbiológico para o desenvolvimento de produtos comerciais.

Figura 1 – *Hibiscus sabdariffa*



Fonte: Mundo Agro 2024.

2 Materiais e Métodos

Os experimentos foram realizados na Fatec – Jaboticabal, no Laboratório de Bioprocessos.

Nesta proposta foram utilizados extratos vegetais padronizados disponíveis comercialmente (como na área de saúde, alimentícia, agropecuária etc), contudo, verificando uma nova possibilidade de aplicação.

O extrato seco utilizado neste trabalho foi do *Hibiscus sabdariffa*, uma planta subarbustiva que atinge até 3 metros de altura, sendo inteiramente comestível. Nativo da Índia, Sudão e Malásia, possui atributos medicinais, como poder antioxidante, diurético, e causa diminuição dos lipídios totais (BARBOSA *et al*,2017). O extrato foi obtido a partir do método de secagem por Spray Drying comercializado por Engenharia das Essências (Figura 2), Engenheiro Químico responsável CRQ: 04367032.

Figura 2- Extrato seco solúvel de *Hibiscus sabdariffa*



Fonte: Cominat, 2023.

A determinação da solubilidade em água destilada foi realizada transferindo determinada quantidade dos extratos para tubo de ensaio ou erlenmeyer onde foram adicionados volumes sucessivos de solvente, exatamente medidos, utilizando o agitador mecânico (vórtex) para completa homogeneização e solubilização das amostras. A solubilidade será expressa conforme os termos descritivos definidos pela ANVISA.

As leveduras e os contaminantes microbianos isolados à partir do material da cuba de tratamento do fermento de processos fermentativos industriais armazenados em ultrafreezer na Fatec Jaboticabal (CARVALHO et al., 2022) e outros contaminantes de interesse foram descongelados e mantidos em meio YPD (extrato de levedura 10g/L, Dextrose 20g/L e Peptona 20 g/L) para leveduras e, em caldo nutriente (extrato de carne 3g/L e peptona 5g/L) para bactérias, acrescidos de 2% de ágar para obtenção do meio no estado sólido. Como padrões para testes de atividade antibacteriana foram utilizados *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e *Escherichia coli* (ATCC 25922). Os micro-organismos foram crescidos a 32 °C. Após o crescimento foram mantidos sob refrigeração (4°C) até novo repique (mensal).

A atividade antimicrobiana dos extratos vegetais foi avaliada pelo método hole plate de difusão em ágar ou técnica do poço (SILVA, 2012; BONA et al., 2014), essencialmente como

descrito em Carvalho *et al.*, (2022). As avaliações foram realizadas em triplicata. Após 24h de incubação à 32°C os halos obtidos foram observados, sendo considerado positivo halos maiores que 7mm.

Foram desenvolvidos o etanol gel 70% com 0,1 e 1% de extrato e sabonete em barra e líquido com 0,5% de extrato.

3 Resultados e Discussão

A solubilidade (mg/mL) total do extrato foi observada na proporção 1:3 (Figura 3), sendo o extrato classificado em termos descritivos como facilmente solúvel.

Figura 3- Verificação da solubilidade



Fonte: Cominat, 2023

O extrato vegetal foi então testado quanto ao potencial antimicrobiano para os isolados do processo fermentativo em conjunto e para os microrganismos padrões. Foi possível observar que não houve desenvolvimento de halo de inibição sobre o Mix de levedura (Figura 4), sendo esse resultado fundamental para o prosseguir os experimentos, porém foi observado inibição para o Mix de bactérias (Figura 5). Nas figuras abaixo, os números correspondem a verificação da ação sob a levedura *Saccharomyces cerevisiae*: 2) Água destilada, 5) *Hibiscus sabdariffa*; Os outros números indicados correspondem a outros extratos testados conjuntamente que não fazem parte do presente trabalho.

Figura 4- Verificação da ação sob a levedura.



Fonte: Cominat, 2023

Figura 5 - Verificação da ação antibacteriana.



Fonte: Cominat, 2023

O produtos desenvolvidos podem ser verificados na Figura 6 e a ação antibacteriana pode ser observada na Figura 7.

Figura 6 – Produtos desenvolvidos com o extrato de hibisco.



Fonte: Cominat, 2023

Figura 7- Atividade antibacteriana do etanol gel com o extrato de hibisco.



Fonte: Cominat, 2023

4 Conclusão

Os produtos desenvolvidos com extrato de *Hibiscus sabdariffa*. revelaram ação inibitória, tendo potencial antibacteriano, porém a confirmação da ação, características e estabilidade dos produtos ainda necessitam de verificação.

6 Agradecimentos

Agradeço a Deus por ter me sustentado neste caminho que é a vida acadêmica, aos meus amigos e familiares pelo apoio durante o curso.

E aos meus professores, que me ensinaram tanto em tão pouco tempo.

Em especial prof.a, Dra. Mariana, minha orientadora que tanto admiro. Obrigada por toda a dedicação e paciência, por ensinar com tanto amor e humildade, que faz os olhos dos seus alunos brilharem e se inspirarem em você.

Agradeço aos demais coorientadores e minha banca.

E também ao Centro Paula Souza (CPS), CESU e Fatec Jaboticabal.

Sem vocês nada seria possível.

Muito Obrigada!!

Referências

- ANAND, U.; NANDY, S.; MUNDHRA, A.; DAS, N.; PANDEY, D. K.; DEY. A review on antimicrobial botanicals, phytochemicals and natural resistance modifying agents from Apocynaceae family: Possible therapeutic approaches against multidrug resistance in pathogenic microorganisms. *Drug Resistance Updates: Reviews and Commentaries in Antimicrobial and Anticancer Chemotherapy*, v. 51, p. 100695-100695, 2020.
- BARBOSA, Samara Jéssica et al. Cerveja artesanal de alta fermentação adicionada de hibisco (*Hibiscus sabdariffa*). *Tópicos em Ciências e Tecnologia de Alimentos: Resultados de Pesquisas Acadêmicas*, v. 3, p. 259-278, 2017.
- BREXÓ, R. P.; SANT'ANA, A. S. Impact and significance of microbial contamination during fermentation for bioethanol production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v. 73, p. 423–434, 2017.
- BONA, E. A. M. D.; PINTO, F. G. D. S.; FRUET, T. K.; JORGE, T. C. M.; MOURA, A. C. Comparação de métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração inibitória mínima (cim) de extratos vegetais aquosos e etanólicos. *Arquivos do Instituto Biológico*, v. 81, n. 3, p. 218-225, 2014.
- CARVALHO, A. J. L.; FRIGIERI, M. C.; MADALENO, L. L.; LUSTRI, W. R.; FRAJÁCOMO, S. C. L.; FLUMIGNAN, D. L.; PAULA, A. V.; CARDOSO, C. R. P. Produção de bioetanol e controle microbiológico do processo, In: *Microbiologia: Clínica, Ambiental e Alimentos*. Atena Editora, 2021. p. 1-388–416.
- CECCATO-ANTONINI, S. R. (2022). Bactérias na Fermentação do Etanol. In: *Microbiologia da Fermentação do Etanol em Biocombustíveis de Cana-de-Açúcar*. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-031-12292-7_4
- CECCATO-ANTONINI, S. R. Conventional and nonconventional strategies for controlling bacterial contamination in fuel ethanol fermentations. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, v. 34, n. 6, p. 80, 2018.
- FREITAS, M. D.; ROMANO, F. P. Tipos de contaminações bacterianas presentes no processo de fermentação alcoólica. *Bioenergia em Revista*, v. 3, n. 2, p. 29–37, 2013.
- GONÇALVES, L. B.; CLAUDINO JÚNIOR, P. C.; MOREIRA, J. M.; PAULA, N. F.; MADALENO, L. L.; CARDOSO, C. R. P.; FRIGIERI, M. C. Isolates from industrial fermentative processes would be sensitive to extracts of myrcia bella?. *Journal of Agricultural Sciences Research (2764-0973)*, v. 2, p. 2-9, 2022.
- MADALENO, Leonardo Lucas et al. Use of antimicrobials for contamination control during ethanolic fermentation. *Científica*, v. 44, n. 2, p. 226-234, 2016.

MUNDO AGRO. Um guia sobre o hibisco. Disponível em <https://mundoagro.blog.br/um-guia-sobre-o-hibisco/>. Acesso em 23 mai 2024.

MUTHAIYAN, A.; LIMAYEM, A.; RICKE, S. C. Antimicrobial strategies for limiting bacterial contaminants in fuel bioethanol fermentations. *Progress in Energy and Combustion Science*, v. 37, n. 3, p. 351–370, 2011.

RICH, Joseph O. et al. Resolving bacterial contamination of fuel ethanol fermentations with beneficial bacteria—An alternative to antibiotic treatment. *Bioresource Technology*, v. 247, p. 357-362, 2018.

SALAM, A. M.; QUAVE, C. L. Opportunities for plant natural products in infection control. *Current opinion in microbiology*, v. 45, p. 189-194, 2018.

SILVA, D. M. Efeito de extratos vegetais e antibióticos sobre *Staphylococcus aureus* de origem bovina. 2012. 45p. Dissertação (Mestrado em Bioquímica Agrícola), Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 2012.