

---

**Faculdade de Tecnologia Nilo De Stéfani**

**Trabalho de Graduação**

**CENTRO ESTADUAL DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA “PAULA SOUZA”**

**FACULDADE NILO DE STÉFANI DE JABOTICABAL - SP (Fatec-JB)**

**CURSO SUPERIOR DE TECNOLOGIA EM BIOCOMBUSTÍVEIS**

**Avaliação de ação microbiológica do extrato de agrião, *Nasturtium officinale***

**EDUARDO MENDES PAULINO**

**ORIENTADORA: PROFA. DRA. MARIANA CARINA FRIGERI SALARO**

**JABOTICABAL, S.P.**

**2022**

**EDUARDO MENDES PAULINO**

**AVALIAÇÃO DE AÇÃO MICROBIOLÓGICA DO EXTRATO DE AGRIÃO,  
*Nasturtium officinale***

Trabalho de graduação (TG) apresentado à Faculdade de  
Tecnologia Nilo De Stéfani de Jaboticabal (Fatec-JB), como  
parte dos requisitos para a obtenção do título de Tecnólogo em  
**Biocombustíveis**

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

**JABOTICABAL, S.P.**

**2022**

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.

Paulino, Eduardo Mendes

Avaliação de ação microbiológica do extrato de agrião, *Nasturtium officinale*/ Eduardo Mendes Paulino. — Jaboticabal: Fatec Nilo de Stéfani, 2022.

17p.

Orientadora: Profa. Dra. Mariana Carina Frigeri Salaro

Trabalho (graduação) – Apresentado ao Curso de Tecnologia em Biocombustíveis, Faculdade de Tecnologia Nilo de Stéfani - Jaboticabal, 2022.

1. Agrião. 2. *Nasturtium officinale*. 3. Antibacteriano. I. Salaro, M. C. F..  
II. Avaliação de ação microbiológica do extrato de *Nasturtium officinale*.

EDUARDO MENDES PAULINO

**AVALIAÇÃO DE AÇÃO MICROBIOLÓGICA DO EXTRATO DE *Nasturtium*  
*officinale* (AGRIÃO)**

Trabalho de Graduação (TG) apresentado à Faculdade de Tecnologia Nilo de Stéfani de Jaboticabal (Fatec-JB), como parte dos requisitos para a obtenção do título de Tecnólogo em **Biocombustível**

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

**Data da apresentação e aprovação:** \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_.

**MEMBROS COMPONENTES DA BANCA EXAMINADORA**

**Presidente e Orientador:** Profa. Dra. Mariana Carina Frigeri Salaro  
Faculdade de Tecnologia Nilo de Stéfani de Jaboticabal (Fatec-JB)

**Profa. Dra. Rose Maria Duda**  
Faculdade de Tecnologia Nilo de Stéfani de Jaboticabal (Fatec-JB)

**Prof. Dr. Claudenir Facincani Franco**  
Faculdade de Tecnologia Nilo de Stéfani de Jaboticabal (Fatec-JB)

**Local:** Faculdade de Tecnologia Nilo de Stéfani de Jaboticabal (Fatec-JB)  
Jaboticabal – SP – Brasil

## AVALIAÇÃO DE AÇÃO MICROBIOLÓGICA DO EXTRATO DE *Nasturtium officinale* (AGRIÃO)

Eduardo Mendes Paulino<sup>I</sup>  
Mariana Carina Frigeri Salaro)<sup>II</sup>

### RESUMO

Os processos fermentativos da indústria sucroenergéticas estão sujeitos a muitos tipos de contaminações por microrganismos em diferentes etapas do processo. Para o controle dos contágios o uso de antibióticos faz-se necessário, porém são substâncias custosas que com o uso contínuo pode levar a seleção de cepas resistentes dificultando o controle. Como alternativa para o tratamento vem se estudando o uso de vegetais. O *Nasturtium officinale*, o agrião é um vegetal que apresenta segundo estudos propriedades antimicrobianas. O presente estudo tem por objetivo avaliar a ação bactericida e fungicida do extrato de *Nasturtium officinale* em bactérias e leveduras presentes no processo de fermentação alcoólica. Para isso foi realizado a diluição do extrato de agrião, sendo sua ação biocida testado em bactérias padrões (American Type Collection Culture - ATCC) *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e *Escherichia coli* (ATCC 25922), e um combinado de leveduras e contaminantes microbianos do processo fermentativo obtidos da cuba de tratamento do fermento de três unidades sucroenergéticas diferentes da região de Jaboticabal. A atividade antimicrobiana foi avaliada segundo a técnica de difusão em ágar pelo método hole plate, os poços (4mm) foram preenchidos com 30 µL do extrato diluído na concentração 0,5g/mL. O extrato apresentou uma alta solubilidade 1:2. A ação da substância sobre os microrganismos apresentou efeito sobre as bactérias padrões *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* sendo formado um halo médio de inibição de 18,45 e 18,82mm, respectivamente. Não apresentou ação sobre os mixes de bactérias e de leveduras, não sendo recomendado para controlar infecções do processo fermentativo.

**Palavras-chave:** 1. Agrião. 2. *Nasturtium officinale*. 3. Antibacteriano.

### ABSTRACT

The fermentation processes of the sugar-energy industry are subject to many types of contamination by microorganisms in different stages of the process. For the control of contagions, the use of antibiotics is necessary, but they are costly substances that, with continuous use, can lead to the selection of resistant strains, making control difficult. As an alternative for treatment, the use of vegetables has been studied. *Nasturtium officinale*, watercress is a vegetable that according to studies has antimicrobial properties. The present

---

<sup>I</sup> Estudante do curso superior de Tecnologia em Biocombustíveis da Faculdade de Tecnologia Nilo de Stéfani de Jaboticabal (Fatec-JB) – São Paulo – Brasil. E-mail: edumpaulino12@gmail.com

<sup>II</sup> Profa. Dra. da Faculdade de Tecnologia Nilo de Stéfani de Jaboticabal (Fatec-JB) – São Paulo – Brasil. E-mail: mariana.salaro01@fatec.sp.gov.br

study aims to evaluate the bactericidal and fungicidal action of *Nasturtium officinale* extract on bacteria and yeasts present in the process of alcoholic fermentation. For this, the watercress extract was diluted, and its biocidal action was tested on standard bacteria (American Type Collection Culture - ATCC) *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) and *Escherichia coli* (ATCC 25922), and a combination of yeast and microbial contaminants from the fermentation process obtained from the yeast treatment vat of three different sugar-energetic units in the Jaboticabal region. The antimicrobial activity was evaluated using the agar diffusion technique using the hole plate method, the wells (4mm) were filled with 30  $\mu$ L of the diluted extract at a concentration of 0.5g/mL. The extract showed a high solubility 1:2. The action of the substance on the microorganisms influenced the standard bacteria *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*, forming a mean inhibition halo of 18.45 and 18.82mm, respectively. It did not show action on bacteria and yeast mixes and is not recommended for controlling infections in the fermentation process.

**Keywords:** 1. Agrião. 2. *Nasturtium officinale*. 3. Antibacteriano.

**Data de submissão:**

**Data de aprovação:**

## 1. INTRODUÇÃO

O Brasil é um dos grandes produtores de etanol do mundo, tendo produzido cerca de 30,26 bilhões de litros na safra 2020/2021 e espera-se o crescimento dessa produção nas próximas safras (CONAB, 2022).

A fabricação deste produto dá-se principalmente pelo processo de fermentação. A fermentação alcoólica é uma operação complexa e importante na fabricação do álcool, por utilizar organismos vivos e concentrar grande parte da eficiência da produção. O processo fermentativo das indústrias sucroenergéticas está sujeito a contaminação por bactérias, fungos e até por leveduras não *Saccharomyces* (Saccharomycetaceae). Esses contaminantes podem gerar problemas operacionais e econômicos. As contaminações ocorrem devido ao reciclo de células de levedura para aumentar a produtividade, com isso também pode-se reciclar as bactérias contaminantes. O contágio por microrganismos no processo pode-se originar durante as operações de transferência da cana-de-açúcar do campo até a indústria, envolvendo corte, carregamento, transporte, descarregamento e até armazenamento da matéria-prima (DIAS, 2018).

A contaminação bacteriana pode diminuir o rendimento da produção do produto de interesse, devido a elas consumirem uma grande quantidade de sacarose ou até mesmo reduzir a viabilidade da levedura. A existência de certos índices de microrganismos indesejáveis pode ocasionar prejuízos ao processo industrial (PRADO, 2014). Em razão ao grande aumento da resistência de microrganismos patogênicos a múltiplas drogas, devido ao uso indiscriminado de antimicrobianos, surge a preocupação para a procura de novas alternativas de tratamentos (OLIVEIRA et al., 2007).

Entre as alternativas, as plantas estão dentre os produtos naturais de grande interesse científico devido à possibilidade de empregá-las como biocidas, devido a diversidade de seus constituintes (LIMA et al., 2006). O interesse dos pesquisadores na avaliação da atividade antimicrobiana e fungicidas de plantas tem sido despertado pela aceitação dessas espécies como alternativa no controle de microrganismos e pelo aumento de microrganismos resistentes aos antibióticos disponíveis (DAS K, TIWARI e SHRIVASTAVA, 2010). A eficácia antimicrobiana de extratos vegetais, óleos essenciais e compostos isolados, como alcaloides, flavonoides, lactonas e terpenos, tem sido relatada por estudos. (RÍOS E RECIO, 2005)

Tem sido reportado que o agrião (*Nasturtium officinale*) (Brassicaceae), (Figura 1) possui atividades antibacterianas, antiescorbútica, colagoga e propriedades expectorantes (BLUMENTHAL et al., 2000).

Figura 1. *Nasturtium officinale* – agrião.



Fonte: LIEWY, 2006.

As partes aéreas de *N. officinale* são consumidas em grande quantidade na alimentação humana, possuem odor característico, sabor levemente amargo e picante que a torna agradável. É rica em substâncias ativas e vitaminas sendo utilizadas no tratamento de infecções ou como expectorante para tratamento de bronquites, de acordo com Blumenthal et al. (2000).

O presente estudo tem por objetivo avaliar a ação bactericida e fungicida do extrato de *N. officinale* em bactérias e leveduras presentes no processo de fermentação alcoólica.

## 2. MATERIAIS E MÉTODO

O experimento foi realizado no Laboratório de Bioprocessos da Faculdade de Tecnologia Nilo de Stéfani de Jaboticabal (FATEC) Jaboticabal, SP.

Foi utilizado extrato seco solúvel de agrião, obtido a partir do método de secagem por Spray Drying Lote 001761 PAS, fabricado em 03/2022 e com validade em 03/2024. Comercializado por Engenharia das Essências CNPJ: 36.437.409/0001-17, engenheiro químico responsável CRQ: 04367032. (Figura 2)

Figura 2 – Extrato em pó de agrião.



Fonte: próprio autor.

A determinação da solubilidade em água foi realizada transferindo 1 grama (Tabela 1) do extrato para microtubo com volume de 2 mL onde foi adicionado o solvente e utilizado o agitador mecânico (vórtex) para realizar a completa homogeneização e solubilização da amostra (Figura 3 e 4).

Para a determinação da solubilidade foi utilizado a escala presente na Tabela 2 presente na Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2010) e realizado por Nascimento, (2008) e Carvalho et al. (2022).

**Tabela 1- Quantidade de amostra e de solventes utilizados para avaliação da solubilidade**

| Amostra (g) | Adição cumulativa de solvente (mL) | Volume de solvente (mL) | Partes de solventes para 1g de amostra |
|-------------|------------------------------------|-------------------------|----------------------------------------|
| 1,0         | -                                  | 1                       | 1                                      |
|             | 9                                  | 10                      | 10                                     |
|             | 20                                 | 30                      | 30                                     |
|             | -                                  | 1                       | 100                                    |
| 0,01        | 9                                  | 10                      | 1000                                   |
|             | 90                                 | 100                     | 10000                                  |

**Fonte: NASCIMENTO, (2008).**

**Tabela 2- Termos descritivos para expressar a solubilidade**

| Termo descritivo       | Quantidade de solvente   |
|------------------------|--------------------------|
| Muito solúvel          | Menos de 1 parte         |
| Facilmente solúvel     | De 1 a 10 partes         |
| Solúvel                | De 10 a 30 partes        |
| Ligeiramente solúvel   | De 30 a 100 partes       |
| Pouco solúvel          | De 100 a 1.000 partes    |
| Muito pouco solúvel    | De 1.000 a 10.000 partes |
| Praticamente insolúvel | Mais de 10.000 partes    |

**Fonte: ANVISA (2010).**

**Figura 3 – Pesando a amostra para a solubilização.**



Fonte: próprio autor.

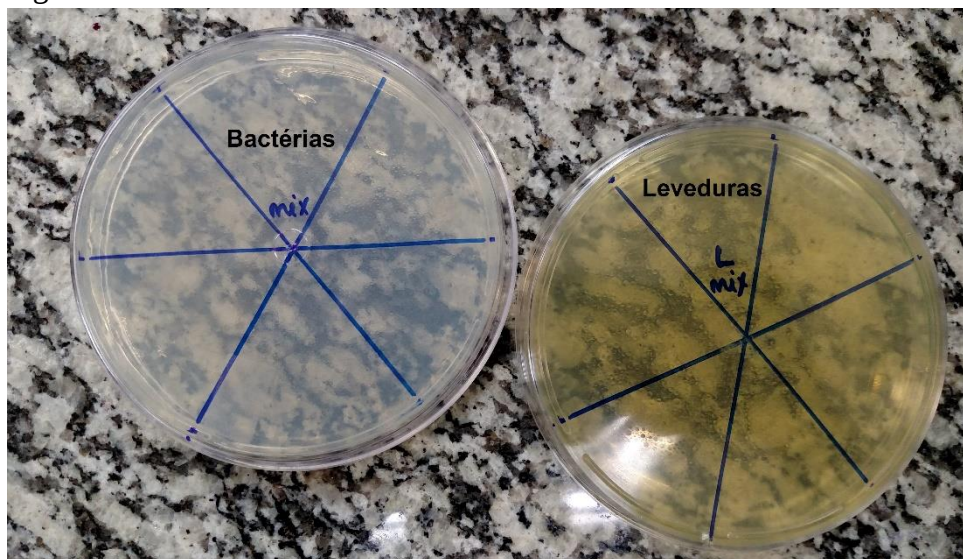
**Figura 4 – homogeneização com uso do vórtex.**



Fonte: próprio autor.

Para realização do presente trabalho foram utilizadas uma mistura de bactérias (Mix bacteriano) e de levedura (Mix de levedura) (Figura 5).

Figura 5 – Placas contendo uma variedade de bactérias e leveduras



Fonte: próprio autor.

Os microrganismos padrões utilizados foram (American Type Collection Culture - ATCC) *Staphylococcus aureus* (Staphylococcaceae) (ATCC 25923) e *Escherichia coli* (Enterobacteriaceae) (ATCC 25922), e também um combinado de leveduras e contaminantes microbianos do processo fermentativo. O combinado de microrganismos fora obtido a partir da simulação de um processo fermentativo realizado na FATEC Jaboticabal e do material da cuba de tratamento do fermento de três unidades sucroenergéticas diferentes da região de Jaboticabal (Usinas A, B e C) como descrito em Carvalho *et al.*, 2022.

A atividade antimicrobiana foi avaliada segundo a técnica de difusão em ágar pelo método “hole plate” ou técnica do poço. Para isso, 100  $\mu$ L de uma suspensão contendo os microrganismos desejados fora espalhado com alça de Drigalsky em placas de Petri contendo ágar Mueller Hinton (Himedia®). Os poços foram confeccionados com um dispositivo cilíndrico plástico esterilizado de 4,0 mm de diâmetro (Figura 6 e 7). A seguir, os poços foram completamente preenchidos com 30  $\mu$ L da substância a ser testada (extrato de agrião diluído em água destilada na concentração 0,5g/mL) (Figura 8). Halos de inibição maiores que 7 mm foram considerados como resultados positivos (NASCIMENTO *et al.*, 2000). Os testes foram realizados em triplicata.

Figura 6 – Perfuração do poço na placa de Petri.



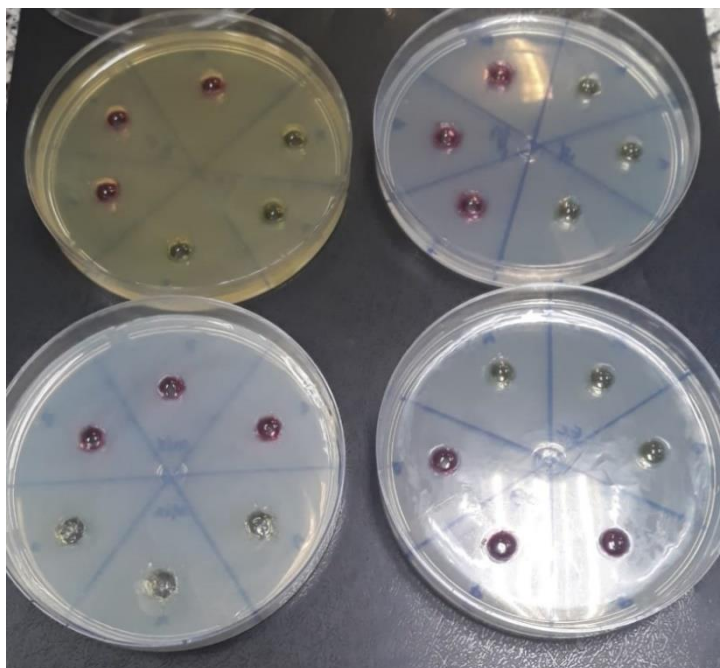
Fonte: próprio autor.

Figura 7 – Retirada do ágar para formação do poço.



Fonte: próprio autor.

**Figura 8** – placa com poços preenchidos de extrato diluído, em verde na foto.



Fonte: próprio autor.

### 3- RESULTADOS E DISCUSSÃO

O extrato de agrião em pó segundo a tabela de solubilidade disponibilizada pela ANVISA (2010) classificou-se como facilmente solúvel (Tabela 3).

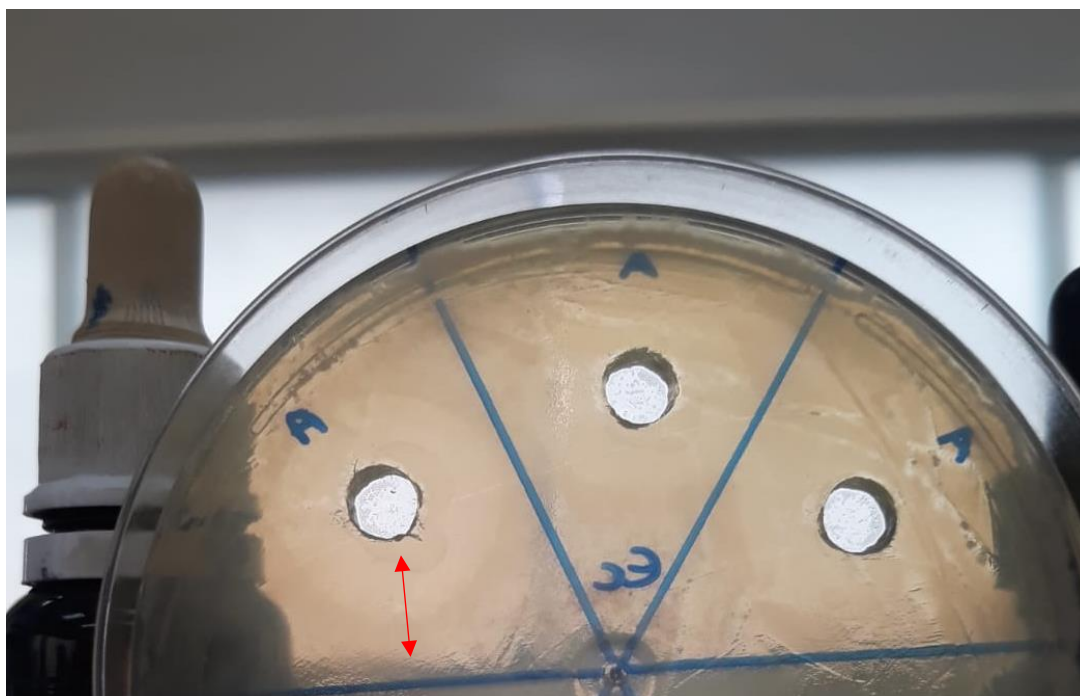
**Tabela 3- Solubilidade do extrato vegetal em termos descritivos**

| Extrato vegetal              | Solubilidade observada (mg/ml) | Termo descritivo   |
|------------------------------|--------------------------------|--------------------|
| <i>Nasturtium officinale</i> | 1:2                            | Facilmente solúvel |

A concentração utilizada para verificar a inibição do crescimento microbiano foi de 0,5g/mL, por ser a mais concentrada possível verificada pelo teste de solubilidade (1:2).

A ação da substância sobre os microrganismos apresentou efeito sobre as bactérias padrões *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* (Tabela 4) sendo formado um halo médio de inibição de 18,45 e 18,82mm, respectivamente. Assim como encontrado por Buffon (2005) onde o extrato de *Nasturtium officinale* inibiu bactérias do gênero *Staphylococcus*.

Figura 9 – Halos na cultura padrão *E. coli*



Fonte: próprio autor.

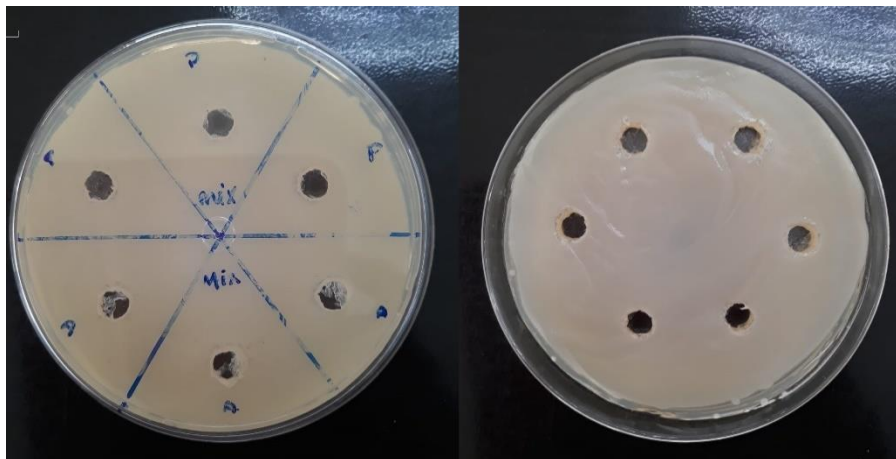
**Tabela 4.** Medida dos halos de inibição obtida para os microrganismos padrões.

|              | Diâmetro dos halos (mm) |                |
|--------------|-------------------------|----------------|
|              | <i>S. aureus</i>        | <i>E. coli</i> |
| 1            | 18,95                   | 18,23          |
| 2            | 17,58                   | 19,02          |
| 3            | 18,38                   | 19,20          |
| <b>Média</b> | <b>18,45</b>            | <b>18,82</b>   |
| Controle     | *                       | *              |

\*Medida do halo < 7mm. Fonte: Dados da pesquisa

No mix de bactérias isoladas dos processos industriais o extrato não apresentou nenhum efeito (Figura 10).

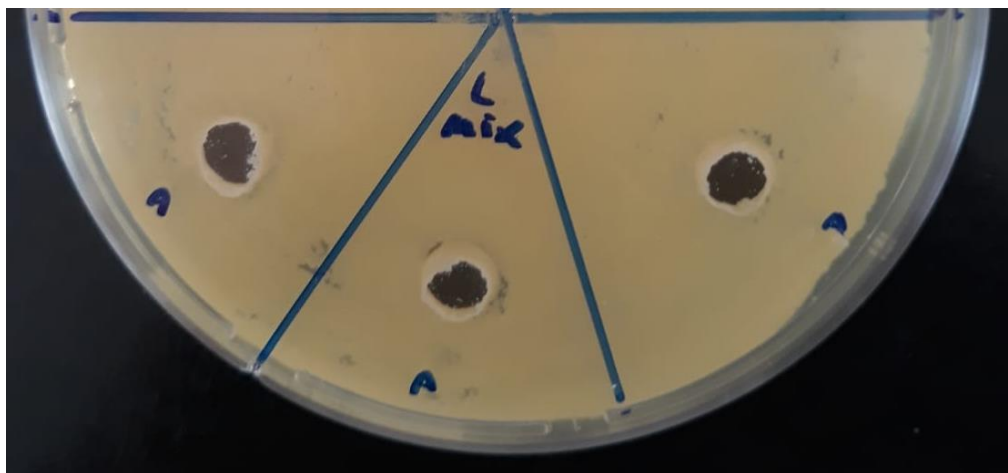
Figura 10 - Cultura desenvolvida do mix de bactérias.



Fonte: próprio autor.

Nas leveduras fermentativas o agrião não apresentou efeitos inibitórios (Figura 11) na dose aplicada, sendo um bom indicativo, pois na fermentação não se busca a inibição desses fungos.

Figura 11 – Placa com cultura de leveduras do Mix.



Fonte: próprio autor.

#### 4- CONCLUSÃO

O extrato de *Nasturtium officinale* apresenta o efeito inibitório na concentração de 0,5g/mL em bactérias *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* sendo necessário mais estudos sobre as melhores concentrações para sua ação.

Nesta concentração não apresentou ação sobre o mix de leveduras utilizadas no processo de fermentação alcoólica.

Não apresentou ação inibitória no mix de bactérias contaminantes da fermentação. Demonstrando que seu uso na concentração de 0,5g/mL não é viável para o controle de bactérias infectantes do processo fermentativo.

## REFERÊNCIAS

BLUMENTHAL, M.; GOLDBERG, A.; BRINCKMAANN, J. **Herbal medicine**, 1. ed., Integrative Medicine Communications, p. 404-407, 2000.

BUFFON, M. C. M.; LIMA, M. L. C.; LIMA, V. C. N.; GALARDA, I.; CARVALHO, J. L. S.; MIGUEL, O. G.; MIGUEL, M. D. ESTUDO DO EFEITO DO EXTRATO DE *Nasturtium officinale*, R. BR. NO CONTROLE DO CRESCIMENTO DE MICRORGANISMOS PRESENTES NA CAVIDADE BUCAL E PLACA DENTÁRIA IN VITRO. **EVALUATION OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF *Nasturtium officinale*, R. BR. IN ORAL MICROORGANISMS**. UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ, UFPR. Visão Acadêmica, Curitiba, v.6, n.1, Jan. - Jul./2005 - ISSN: 1518-5192.

CARVALHO, A. J. L.; FRIGIERI, M. C.; MADALENO, L. L.; SENA, I. A. LUSTRI, W. R.; FRAJÁCOMO, S. C. L.; FLUMIGNAN, D. L.; PAULA, A. V.; CARDOSO, C. R. P. Potential of *Byrsonima intermedia* in isolates from the industrial fermentation process, *International Journal of Biological and Natural Sciences*, v. 2, p. 1-10, 2022.

Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB). Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/ultimas-noticias/4592-clima-adverso-impacta-lavouras-de-cana-e-producao-chega-a-585-2-milhoes-de-toneladas-na-safra-2021-22>>. Acesso 28/11/2022

DAS K.; TIWARI R.K.S.; SHRIVASTAVA D.K. Techniques for evaluation of medicinal plant products as antimicrobial agent: Current methods and future trends. **Journal of Medicinal Plants Research**. 2010; 4(2) p.104-111. DOI: 10.5897/JMPR09.030

DIAS, K. S. USO DE JAMBOLÃO E PIMENTA ROSA NO CONTROLE DE CONTAMINAÇÃO MICROBIANA EM FERMENTAÇÃO INDUSTRIAL. TCC (Graduação em Biotecnologia)-Universidade Federal da Grande Dourados, 2018. Disponível em: <<https://portal.ufgd.edu.br/setor/biblioteca/repositorio>>. Acesso em: 26.11.2022

GROVE, D. C.; RANDALL, W. A.; Assay Methods of Antibiotic: a Laboratory Manual, **Medical Encyclopedia**, New York, 1955.

LIEWY, 2006. Disponível em: <<https://www.istockphoto.com/br/foto/agri%C3%A3o-gm106403763-2028927>>. Acesso em 28/11/2022.

LIMA, M. R. F.; XIMENES, C. P. A.; LUNA, J. S. Sant'Ana AEG 2006. The antibiotic activity of some Brazilian medicinal plants. **Revista Brasileira de Farmacologia**, v.16, p.300-306.

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.

OLIVEIRA G. F.; FURTADO N. A. J. C.; FILHO A. A. S.; MARTINS C. H. G.; BASTOS J. K.; CUNHA W. R.; SILVA M. L. A. Antimicrobial activity of syzygium cumini (myrtaceae) leaves extract. Brazilian Journal of Microbiology v.38 p.381-384, 2007. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S1517-83822007000200035>>. Acesso em 24/11/2022.

PRADO, J. L. Uso de antibióticos convencionais e antimicrobianos a base de lúpulo no controle da infecção bacteriana em fermentação alcoólica. UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”. FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS. CAMPUS DE BOTUCATU. Janeiro de 2014.

RÍOS J.L.; RECIO M.C. **Medicinal plants and antimicrobial activity**. J Ethnopharmacol. 2005;100(1-2), p.80-84. DOI: 10.1016/j.jep.2005.04.025

## APÊNDICE A – TERMO DE ORIGINALIDADE

### TERMO DE ORIGINALIDADE

Eu, Eduardo Mendes Paulino, RG [REDACTED], CPF [REDACTED], aluno regularmente matriculado no **Curso Superior de Tecnologia em Biocombustíveis**, da Faculdade de Tecnologia Nilo De Stéfani de Jaboticabal (Fatec-JB), declaro que meu trabalho de graduação intitulado **Avaliação de ação microbiológica do extrato de *Nasturtium officinale*** é **ORIGINAL**.

Declaro que recebi orientação sobre as normas da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), que tenho conhecimento sobre as Normas do Trabalho de Graduação da Fatec-JB e que fui orientado sobre a questão do plágio.

Portanto, estou ciente das consequências legais cabíveis em caso de detectado PLÁGIO (Lei Federal nº 9.610, de 19 de fevereiro de 1998, que altera, atualiza e consolida a legislação sobre direitos autorais, publicada no D.O.U. de 20 de fevereiro de 1998, Seção I, pág. 3) e assumo integralmente quaisquer tipos de consequências, em quaisquer âmbitos, oriundas de meu Trabalho de Graduação, objeto desse termo de originalidade.

Jaboticabal/SP, 04/11/2022.

Eduardo Mendes Paulino

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço à Fatec-JB, gestores, professores e funcionários que contribuíram de alguma maneira para a realização desse trabalho.

A professora Dra. Mariana Carina Frigeri Salaro pela paciência e pelas orientações e seus esforços em me ajudar

A Érica A. Taguti minha companheira pelo apoio e auxílio na revisão.