



**XXVIII SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UEFS**  
**SEMANA NACIONAL DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA - 2024**

**AUTO-FERMENTAÇÃO COMO ESTRATÉGIA PARA EXTRAÇÃO DE BIOATIVOS A PARTIR DO  
RESÍDUO DE AGAVE SISALANA**

**Louise Souza Santos<sup>1</sup>; Alexsandro Branco<sup>2</sup>**

1. Louise Souza Santos – PIBITI/CNPq, Graduando em Farmácia, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: louisesuefs@gmail.com
2. Alexsandro Branco, Departamento de Saúde, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: branco@uefs.br

**PALAVRAS-CHAVE:** *Agave sisalana*; resíduo agroindustrial; autofermentação; flavonoides.

## **INTRODUÇÃO**

O sisal (*Agave sisalana*) é uma espécie nativa do México, é utilizada como matéria prima na produção de fibras duras, sendo 70% da sua atividade comercial concentrada no Brasil (Santos, 2006), principalmente no território do sisal, região essa que enfrenta desafios sociais significativos, incluindo baixos índices de desenvolvimento humano (Silva, 2016). Investir em estudos utilizando plantas é uma possibilidade para adquirir novos insumos de interesse industrial e farmacológico, especialmente no Brasil, que detém 20-22% da biodiversidade global (Brasil, 2014). Pesquisas envolvendo resíduos agroindustriais provenientes do cultivo de larga escala, possibilitam a obtenção de insumos farmacêuticos utilizando novas tecnologias. O uso de resíduos do sisal—onde apenas 4% da folha é utilizada para fibras (Andrade et al., 2011)—pode beneficiar a economia regional e promover a bioeconomia através da busca de novas estratégias de purificação de bioativos.

Esta pesquisa visou inovar tecnologicamente ao aprimorar técnicas de fermentação espontânea para obter o aumento de flavonoides do resíduo líquido do sisal (RSL) e avaliar qualitativamente as substâncias orgânicas de interesse industrial e farmacológico presentes, utilizou-se resina macroporosa PAD 950 como método separação de substâncias por técnicas de desorção e adsorção, associada à cromatografia líquida de alta eficiência. A fermentação ocorreu a partir da microbiota natural visando a redução de açúcares, assim, favorecendo a separação e análise dos bioativos presentes na amostra. Ao decorrer dos dias de fermentação foram avaliados parâmetros físicos-químicos e farmacológicos do material fermentado.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Material Vegetal e Fermentação Espontânea do Resíduo de Sisal**

O resíduo líquido de sisal (RLS) foi coletado na zona rural de Valente, Bahia, após a Trituração das folhas de *A. sisalana*. Foi filtrado localmente e fermentado

espontaneamente em recipientes de polipropileno de 20 litros. O RLS foi filtrado em tecido de algodão para remover partículas sólidas. O experimento, realizado em duplicata por 10 dias, foi conduzido sob duas condições: aerobiose à temperatura ambiente e a 29°C ± 2. Amostras assépticas foram coletadas a cada 24 horas, com o primeiro dia como "Dia Zero", para análise de parâmetros físico-químicos (sólidos solúveis, pH e açúcares totais) e fitoquímicos (flavonoides totais e atividade antioxidante ABTS) por cromatografia em camada delgada (CCD) e Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE-DAD). Após 10 dias, a fermentação foi interrompida por congelamento dos recipientes e as amostras foram armazenadas para análises futuras.

#### **Determinação de sólidos solúveis (°Brix) e pH**

O teor de sólidos solúveis nas amostras foi determinado por refratometria, utilizando um refratômetro portátil previamente calibrado com água destilada. A leitura foi realizada transferindo aproximadamente 3 gotas do RLS para o prisma do refratômetro, e lida diretamente na escala °Brix. O pH foi determinado em potenciômetro de bancada previamente calibrado, a 25°C, introduzindo-se o eletrodo diretamente em amostras de 10 mL do RLS.

#### **Teor de Açúcares**

O teor de açúcares foi medido pela metodologia de Dubois *et al* (1956), adaptada para amostras fermentadas. A reação foi realizada em microplacas com RSL filtrado, ácido sulfúrico e solução de fenol. A leitura foi feita a 415 nm após incubação a 90°C por 50 minutos, e os resultados foram expressos em microgramas de sacarose por mililitro de amostra ( $\mu\text{g}/\text{ES}/\text{mL}$ ).

#### **Determinação do Teor de Flavonoides Totais**

O RLS foi centrifugado e filtrado para análise de flavonoides, conforme o método adaptado de Rebaya *et al* (2014). Utilizou-se uma curva de calibração com quer cetina. A reação envolveu misturar as amostras com nitrito de sódio, cloreto de alumínio, hidróxido de sódio e água. A leitura foi feita a 420 nm, e os resultados foram expressos em microgramas de quer cetina equivalente por mililitro de amostra ( $\mu\text{g}/\text{EQ}/\text{mL}$ ).

#### **Determinação da Capacidade de Sequestro de Radicais Livres (ABTS)**

A capacidade antioxidante foi avaliada com o radical ABTS e o Trolox, seguindo a metodologia de Yin *et al.* (2019). As amostras de RSL foram centrifugadas, filtradas e diluídas 20 vezes. As leituras no espectrofotômetro foram feitas a 720 nm.

#### **Separação por resina macroporosa e análise das frações obtidas por CLAE-DAD**

A purificação dos flavonoides foi realizada com base na metodologia de Sun *et al.* (1990). A resina PAD 950 foi umedecida com etanol 50% por 8 horas. A adsorção foi feita com 150 mL do extrato bruto fermentado diluído em 150 mL de água, e a coluna foi lavada com 2 litros de água destilada. A dessorção utilizou gradientes de etanol e água. As frações foram liofilizadas e analisadas por CLAE-DAD. A análise foi realizada usando CLAE-DAD com uma fase móvel composta por metanol (B) e água (A), com gradientes específicos. A corrida foi feita a uma vazão de 1,0 mL/min, e as frações foram selecionadas com base na cromatografia em camada delgada.

#### **Análise Estatística**

Os resultados foram organizados em planilhas no Microsoft Excel. Gráficos de dispersão foram utilizados para os dados de flavonoides, açúcares e ABTS, enquanto °Brix e pH foram analisados e apresentados em gráficos com médias e desvio padrão dos resultados obtidos.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

A fermentação espontânea de material vegetal é uma técnica econômica e ambientalmente amigável, comprovada para aumentar o teor de compostos fenólicos e flavonoides, conforme estudos de Ajila *et al.* (2011) e Yan *et al.* (2020). Esse processo

utiliza microrganismos para digerir açúcares e aumentar os bioativos na forma de aglicona.

Os resultados mostraram que o teor de flavonoides aumentou continuamente durante os 10 dias, atingindo o máximo no nono dia para ambas as condições. A fermentação a temperatura controlada apresentou variações menores, enquanto a fermentação em temperatura ambiente teve maiores flutuações, especialmente nos primeiros cinco dias. Assim, os ensaios subsequentes foram realizados apenas com a fermentação a temperatura controlada.

Os resultados da determinação do teor de açúcares pelo método do fenol para a auto-fermentação do RLS mostraram uma redução significativa, isso demonstra a eficácia da fermentação em promover a diminuição de açúcares do fermentado.

Em relação ao pH, houve o aumento da acidez nos primeiros 3 dias de fermentação, processo justificado pela presença de ácido lático residual do processo fermentativo (Aldrete-Tappia *et al.* 2020), posteriormente foi possível observar que o pH se manteve em um padrão sem muitos desvios, comportamento esperado uma vez que a presença de oxigênio interfere na presença de bactérias anaeróbicas responsáveis pela produção do ácido lático (Lopes, 2008).

O °Brix apresentou um aumento significativo ao longo dos dias. Esse fenômeno ocorre porque, apesar de a técnica ser amplamente utilizada para medir o teor de açúcares, ela também avalia a quantidade de sólidos solúveis presentes na amostra. Dessa forma, o °Brix pode refletir a presença de sais, pectinas, ácidos orgânicos e compostos fenólicos (Chitarra, M.I.F; Chitarra, A.B., 2000).

A atividade antioxidante aumentou significativamente no nono dia de fermentação, possivelmente devido ao aumento dos flavonoides totais, conhecidos por sua alta atividade antioxidante (Tian *et al.*, 2021). Essa variação reflete a presença de substâncias antioxidantes em *A. sisalana*, como o canferol, um flavonoide importante industrialmente encontrado em plantas do gênero *Agave sp* (Santos *et al.*, 2015). Isso sugere que a degradação dos glicosídeos durante a fermentação pode enriquecer os flavonoides em sua forma aglicona, aumentando a absorção espectrofotométrica, similar ao observado na fermentação de resíduos de maçã (Gulsunoglu *et al.*, 2020).

O RLS fermentado por 10 dias foi tratado e submetido ao processo de adsorção e dessorção em resina macroporosa. As frações obtidas do processo de separação em resina macroporosa foram analisadas por Cromatografia em Camada Delgada (CCD) para determinar o perfil químico. As frações com perfis semelhantes foram unidas e, em seguida, analisadas por CLAE-DAD. Observou-se um perfil característico de frações enriquecidas em flavonoides e saponinas.

## **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

A fermentação espontânea do RSL demonstrou ser um método eficaz e viável para reduzir os açúcares associados aos metabólitos secundários. Esse processo acelera a degradação dos açúcares, podendo ser utilizado como uma etapa de *clean-up*, facilitando a purificação de compostos bioativos através de técnicas ambientalmente limpas, como resina macroporosa. O presente projeto mostrou o potencial do uso da resina macroporosa do RLS fermentado, como flavonoides e sisalinas, sendo necessário a aplicação de técnicas de purificação, como CLAE-semipreparativo. Após este processo para isolamento desses compostos bioativos, que possuem alto valor agregado no setor industrial, justifica a necessidade de um processo de obtenção otimizado, com menor custo e menor efeito tóxico ao ambiente.

## **REFERÊNCIAS**

Ajila CM, Brar, SK, Verma, M, Tyagi, RD, Valero, JR. 2011. Solid-state fermentation of apple pomace using *Phanerocheate chrysosporium* – Liberation and extraction of phenolic antioxidants. *Food Chemistry*. 126, 1071–1080.  
doi:10.1016/j.foodchem.2010.11.129

ANDRADE, R., *et al.* **A situação atual do sisal na Bahia e suas novas possibilidades de utilização e aproveitamento.** Salvador, Revista Bahia Agrícola, v. 9, n. 1, nov. 2011. Disponível em:<[http://www.seagri.ba.gov.br/sites/default/files/3\\_comunicacao01v9n1.pdf](http://www.seagri.ba.gov.br/sites/default/files/3_comunicacao01v9n1.pdf)>. Acesso em: 22 jul. 2024.

BRASIL, Sistema de Informação sobre a Biodiversidade Brasileira. 2024. Disponível em: <https://www.sibbr.gov.br/>. Acesso em: 07 maio de 2014.

Chitarra, M.I.F; Chitarra, A.B. Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio. 2Ed., Lavras: UFLA, 2005. 783p. Figueiredo, R.W. Qualidade e bioquímica de parede celular durante o desenvolvimento, maturação e armazenamento de pedúnculo de caju. 2000, 154p. Tese (doutorado), USP, São Paulo.

DUBOIS, K. A. M.; *et al.* Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. **Anal. Chem.**: 28 (3), 350– 356, 1956 DOI: 10.1021/ac60111a017.

Gulsunoglu, Z, Purves, R, Karbancioglu-Guler, F, Kilic-Akyilmaz, M. 2020. Enhancement of phenolic antioxidants in industrial apple waste by fermentation with *Aspergillus* spp. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 25, 101562. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101562>.

REBAYA, A.; *et. Al.* Total Phenolic, Total Flavonoid, Tannin Content, and Antioxidant Capacity of *Halimium halimifolium* (Cistaceae). **Journal of Applied Pharmaceutical Science**: Vol. 5 (01), pp. 052-057, Jan. de 2014.

SANTOS, J. D. **Produção e consumo/Production and consumption.** In: ANDRADE, Wilson (Org. e Coord.). *O Sisal do Brasil/ Brazilian Sisal*. Salvador: SINDIFIBRAS, 2006.

SILVA, Felipe. **O Território do sisal.** in: ORTEGA, Antônio; PIRES, Murilo. AS POLÍTICAS TERRITORIAIS RURAIS E A ARTICULAÇÃO GOVERNO FEDERAL E ESTADUAL: UM ESTUDO DE CASO NA BAHIA. Brasília: IPEA, 2016. p.151-177.

Yan, X, Corbin, KR, Burton, RA, Tan, DKY. 2020. Agave: A promising feedstock for biofuels in the water-energy-food environment (WEFE) nexus. *Journal of Cleaner Production*. 261, 121283. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.121283>.

YIN, Lujun; *et al.* Flavonoids analysis and antioxidant, antimicrobial, and anti-inflammatory activities of crude and purified extracts from *Veronicastrum latifolium*. **Industrial Crops and Products**. v. 137, p. 652-661, 2019.