

POTENCIAL ANTIMICROBIANO DA MICROALGA *Spirulina platensis* FRENTE AOS MICRORGANISMOS *E. coli* E *S. aureus*

Aline S. Parisi¹, Salua Younes¹, Luciane M. Colla²

¹Curso de Farmácia, Universidade de Passo Fundo, ²Curso de Engenharia de Alimentos,
Universidade de Passo Fundo

²Email: lmcolla@upf.br

RESUMO

A *Spirulina platensis*, reconhecida pelas suas propriedades nutricionais, possui alta quantidade de compostos que podem ser concentrados na biomassa pela otimização e enriquecimento do meio de cultura. Dentre estes compostos encontram-se os compostos fenólicos, os quais podem apresentar também propriedades antimicrobianas. Objetivou-se avaliar a produção de antimicrobianos (compostos fenólicos) pela microalga e caracterizar sua atividade antimicrobiana frente a microrganismos como a *Escherichia coli* ATCC 25922 e o *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P. Os resultados demonstram que a alta concentração de nitrogênio (4g/L) não aumentou significativamente a produção de compostos fenólicos, metabólicos estes que apresentaram boa atividade antibacteriana contra o *S. aureus*, bactéria Gram-positiva. Desta maneira pode-se cultivar a microalga em cultivo de 2g/L, obtendo-se considerável quantidade de compostos fenólicos e boa ação antimicrobiana, sem elevar os custos de produção.

Palavras-chave: cultivo, compostos fenólicos, bactérias.

1 INTRODUÇÃO

A microalga *Spirulina* tem sido utilizada como alimento pelo homem devido sua composição química, que apresenta elevada qualidade e quantidade protéica (60-70 % de seu peso), aminoácidos essenciais (62 %), minerais (Ca, Mg, Fe, Cu, Na, Zn, P, K), ácidos graxos poliinsaturados (ω -3 e ω -6) e vitaminas. Possui grande quantidade de compostos fenólicos (ácidos caféico, clorogênico, salicílico, sináptico e trans-cinâmico), tocoferol e pigmentos como carotenóides, ficocianina e clorofila (COLLA et al, 2007; SPOLAORE et al, 2006;

DESMORIEUX; DECAEN, 2005; DANESI et al, 2004; BELAY, 2002; ESTRADA; BESCÓS; FRESNO, 2001; MIRANDA et al, 1998).

A utilização da *Spirulina* na alimentação teve início na pré-história, com as tribos de caçadores que coletavam massas gelatinosas de algas verde-azuladas e as consumiam cruas ou cozidas. O cultivo da *Spirulina* começou no Lago Texcoco, no México, pelos povos astecas, e no Lago Chad, na África, pela tribo Kanembu, que retiravam a alga do Lago, secavam e utilizavam-na para a confecção de bolos e pães. (AMBROSI et al, 2008; COLLA et al, 2007; SANCHÉZ et al, 2003; BELAY, 2002).

A *Spirulina* melhora aspectos fisiológicos, tendo efeitos de promoção à saúde, como diminuição da hiperlipidemia, diminuição da pressão arterial, proteção a danos renais, promoção do crescimento de *Lactobacillus*, diminuição dos níveis séricos de glicose, aumento da fertilidade e da resposta imunológica, ajuda a controlar o peso, tem ação antimutagênica, anti-viral, antiinflamatória e anti-tumoral. Atualmente têm se dada grande atenção as suas propriedades antioxidantes, atribuídas aos compostos fenólicos e a ficocianina (COLLA et al, 2007; SPOLAORE et al, 2006; DESMORIEUX; DECAEN, 2005; DANESI et al, 2004; BELAY, 2002; MIRANDA et al, 1998).

Alguns microrganismos possuem a capacidade de produzirem compostos com ação antimicrobiana podendo ser usados pelo homem a fim de evitar doenças causadas por microrganismos patogênicos, os quais podem causar contaminações de diversas formas, entre elas, através dos alimentos. A pesquisa por novos compostos com atividade antimicrobiana é preemente, dado o fato da ocorrência da resistência dos patógenos aos antibióticos já existentes, decorrente de vários fatores, dentre eles o uso inadequado destes medicamentos pela população.

A produção de compostos antimicrobianos, os quais possam ser adicionados em alimentos a fim de evitar a contaminação destes por microrganismos patogênicos, evitando doenças de origem alimentar, é uma técnica conhecida como biopreservação.

O problema da resistência microbiana, associado à necessidade da demanda por produtos saudáveis, tem aumentado o interesse pela descoberta de produtos naturais que apresentem atividade antimicrobiana. Desta forma, objetivou-se otimizar as condições de cultivo da microalga *Spirulina platensis*, avaliar o potencial antimicrobiano dos compostos fenólicos produzidos pela microalga e caracterizar sua atividade antimicrobiana frente a microrganismos como a *Escherichia coli* ATCC 25922 e o *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P, microrganismos estes causadores de toxinfecções alimentares.

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 Material e Métodos

2.1.1 Microrganismos

Os microrganismos utilizados foram:

- a) Microalga *Spirulina platensis*: obtida do Laboratório de Fermentações do curso de Engenharia de Alimentos da UPF;
- b) microrganismos como: *Escherichia coli* ATCC 25922 e *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P, obtidos do banco de cepas do Laboratório de Microbiologia do curso de Farmácia da UPF.

2.1.2 Produção da microalga *Spirulina platensis* e acompanhamento da cinética de crescimento do microrganismo

A produção de biomassa foi realizada utilizando-se o meio Zarrouk (ZARROUK, 1966), padrão para o cultivo da microalga, com variações nas concentrações de nitrato de sódio utilizadas (2 e 4 g.L⁻¹). Os cultivos foram realizados em erlenmeyers de 2 L, com um volume inicial de 1,8 L de meio e concentração inicial de biomassa de 0,15 g.L⁻¹. A aeração dos cultivos foi realizada através de bombas de diafragma e a iluminação de 1800 lux, fornecida através de lâmpadas fluorescentes em uma estufa termostatizada não estéril, com fotoperíodo de 12 horas e temperatura de 30°C. Os cultivos foram realizados durante 23 d. Ao final dos mesmos, a biomassa foi filtrada. A secagem foi realizada em estufa a 50°C por 24 h e a biomassa foi estocada a - 20°C até a realização dos ensaios de quantificação de compostos fenólicos.

2.1.3 Extração e quantificação dos compostos fenólicos

Os compostos fenólicos foram extraídos da biomassa com metanol pelo processo de maceração, sob agitação constante. Parte do extrato obtido foi purificado para a remoção da clorofila e então foi quantificado os compostos fenólicos. A outra parte do extrato foi

evaporado o metanol através de rota-evaporação e o extrato seco resultante foi utilizado para a determinação do potencial antimicrobiano.

Para a determinação dos compostos fenólicos foi utilizada a metodologia modificada por Colla, Furlong e Costa (2007), baseada no método de Folin-Ciocalteu.

2.1.4 Determinação da atividade antimicrobiana

O extrato metanólico foi concentrado e utilizado para a determinação da atividade antimicrobiana frente aos microrganismos *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P e *Escherichia coli* ATCC 25922 através dos métodos de difusão em discos.

2.1.5 Teste de difusão em discos

Os procedimentos para a execução do teste de difusão em disco foram realizados segundo a norma M₂ – A₈, aprovada pelo CLSI (8^o edição).

2.2 Resultados e Discussão

A Tabela 1 apresenta a concentração de compostos fenólicos obtida a partir da biomassa produzida em meio Zarrouk contendo 2g/L e 4g/L de nitrato de sódio, verificando-se que o aumento da concentração de nitrogênio no meio de cultivo não ocasionou aumento na concentração de compostos fenólicos, o que não está de acordo com os resultados obtidos por Colla et al. (2007), que demonstraram que a otimização das condições de crescimento da *Spirulina*, como a adição de nitrogênio, pode levar a um aumento na produção de seus compostos químicos, como por exemplo, os compostos fenólicos (CF).

A Tabela 2 apresenta os resultados dos testes antimicrobianos dos extratos de *Spirulina* através do teste de difusão em disco, frente aos microrganismos *E. coli* e *S. aureus*.

Tabela 1: Resultados dos compostos fenólicos

NaNO ₃ (g/L)	Réplicas	Compostos fenólicos (mg/g)
2	1	2,12
	2	2,03
	3	2,14
4	1	2,24
	2	2,08
	3	2,18

Tabela 2: Resultados dos testes antimicrobianos dos extratos de *Spirulina* usando o método de difusão em disco

Extrato	Bactéria	Controle positivo	Zona de inibição (mm)		
			Teste 1	Teste 2	Teste 3
CF cultivo	<i>E. coli</i>	26 mm	-	-	-
2g/L	<i>S. aureus</i>	35 mm	21	22/25	20/23
CF cultivo	<i>E. coli</i>	26 mm	-	-	-
4g/L	<i>S. aureus</i>	35 mm	20	20	18

CF: compostos fenólicos

-: sem atividade

Controle positivo: Ampicilina (*S. aureus*); Cloranfenicol (*E. coli*)

Os compostos fenólicos presentes na *Spirulina* tiveram alta capacidade de inibição para o *S. aureus*, bactéria Gram-positiva, e nenhuma inibição para as bactérias Gram-negativas, como a *Escherichia coli*. A ausente atividade inibitória do extrato sobre as bactérias Gram-negativas pode estar relacionada com as diferenças estruturais que estas bactérias apresentam em relação às Gram-positivas, presença de uma membrana externa sobre uma camada delgada de peptidoglicano, presença de cápsula ou membrana interna, porinas (KONEMAN et al., 1999), que podem estar dificultando a ação dos componentes bioativos dos produtos vegetais investigados. Assim, supõe-se que ocorra uma inibição da síntese da parede celular do *S. aureus*, a qual é composta por uma espessa camada de peptidoglicano que protege a membrana citoplasmática da bactéria.

3 CONCLUSÃO

Os compostos fenólicos produzidos pela microalga *Spirulina* apresentaram atividade antimicrobiana frente ao microrganismo *S. aureus*. Em decorrência dos bons resultados obtidos, sugerem-se mais estudos para caracterização da ação antimicrobiana dos compostos fenólicos desta microalga.

REFERÊNCIAS

- AMBROSI, M. A.; REINEHR, C. O.; BERTOLIN, T. E.; COSTA, J. A. V.; COLLA, L. M. Propriedades de saúde da microalga *Spirulina*. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 29, n.2, p. 109-117, 2008.
- BELAY, A. The Potential Application of *Spirulina (Arthrospira)* as a Nutritional and Therapeutic Supplement in Health Management. **Journal of the American Nutraceutical Association**, v. 5, n.2, p.27-45, 2002.
- COLLA, L. M.; REINEHR, C. O.; REICHERT, C.; COSTA, J. A. V. Production of biomass and nutraceutical compounds by *Spirulina platensis* under different temperature and nitrogen regimes. **Bioresource Technology**, v.98, p.1489–1493, 2007.
- DANESI, E.D.G.; RANGEL-YAGUI, C.O.; CARVALHO, J.C.M.; SATO, S. Effect of reducing the light intensity on the growth and production of chlorophyll by *Spirulina platensis*. **Biomass and Bioenergy**, v. 26, p. 329-335, 2004.
- DESMORIEUX, H.; DECAEN, N. Convective drying of *Spirulina* in thin layer. **Journal of Food Engineering**, v.66, p.497-503, 2005.
- ESTRADA, J.E.P.; BESCÓS, P. B.; FRESNO, A.M.V.D. Antioxidant activity of different fractions of *Spirulina platensis* protean extract. **IL Farmaco**, v. 56, p. 497–500, 2001.
- KONEMAN E.W., ALLEN S.E., JANDA W.M., SCHRECKENBERGER P.D., WINN W.C. **Diagnóstico Microbiológico: Texto y Atlas Color**. 5. ed. Buenos Ayres: Panamericana. 1999
- MIRANDA, M. S.; CINTRA, R.G.; BARROS, S.B.M.; FILHO, J.M. Antioxidant activity of the microalga *Spirulina máxima*. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 31, p. 1075-1079, 1998.
- SANCHÉZ, M.; CASTILLO, J. B.; ROZO, C.; RODRÍGUEZ, I. *Spirulina (Arthrospira)*: Na Edible Microorganism. A Review. **Revista Universitas Scientiarum**, v. 8, n. 1, 2003.
- SPOLAORE, P.; CASSAN, C. J.; DURAN, E.; ISAMBERT, A. Commercial Applications of Microalgae. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 101, n.2, p. 87–96, 2006.
- TAIZ, Lincoln, ZEIGER, Eduardo. **Fisiologia vegetal** - 3ª Edição. Artmed. 2004.