



POTENCIAL ANTIMICROBIANO DE DUAS DIATOMÁCEAS DA COSTA GAÚCHA APLICADAS EM ÁGUAS POLUÍDAS DO LAGO GUAÍBA- RIO GRANDE DO SUL

Rafaela O. Martins¹; Ana S. B. Cardoso¹ (Orientadora); Renata O. Farias (coorientadora).

¹ Fundação Escola Técnica Liberato Salzano Vieira da Cunha.

rafaelaolmartins@gmail.com

Palavras-Chave: Microalgas, extratos, bioatividade.

Introdução

A água é um recurso essencial à manutenção da vida e ao equilíbrio dos ecossistemas. Entretanto, os ambientes aquáticos podem atuar como veículos para a disseminação de microrganismos potencialmente patogênicos, tornando a contaminação microbiológica um importante problema ambiental e de saúde pública (DANTAS *et al.*, 2010). Mesmo quando apresenta características físicas aparentemente adequadas, a água pode estar contaminada e imprópria para determinados usos (PEREIRA *et al.*, 2009). A deficiência dos serviços de saneamento e o lançamento de efluentes insuficientemente tratados contribuem para a contaminação dos corpos hídricos e para a disseminação de doenças de veiculação hídrica (SOUTO *et al.*, 2015).

Além disso, a presença de bactérias resistentes a antimicrobianos em ambientes aquáticos tem se tornado uma preocupação crescente. Esses microrganismos podem apresentar perfis de multirresistência, aumentando os riscos à saúde pública e dificultando o controle microbiológico da água (SANTOS, 2024; ABDELGALEl *et al.*, 2025). Esse cenário reforça a necessidade de investigar novas estratégias de controle microbiológico.

A desinfecção constitui uma etapa fundamental para a inativação de microrganismos potencialmente patogênicos presentes na água (MEYER, 1994). Entre os métodos utilizados estão a cloração, a ozonização, a radiação ultravioleta e a filtração por membranas. A cloração destaca-se por sua eficiência e ampla utilização, porém o cloro pode reagir com a matéria orgânica presente na água e favorecer a formação de subprodutos indesejáveis, como os trihalometanos (SANTOS, 1987). Dessa forma, torna-se relevante investigar alternativas que possam contribuir para o controle microbiológico de maneira mais sustentável.

Nesse contexto, compostos naturais com propriedades antimicrobianas têm despertado interesse devido ao seu potencial biotecnológico. Entre os organismos estudados encontram-se as microalgas, organismos fotossintetizantes capazes de produzir diferentes substâncias bioativas (OLAIZOLA, 2003). Sua biomassa pode apresentar carboidratos, lipídeos, proteínas, pigmentos, vitaminas, minerais e compostos antioxidantes (NUNES *et al.*, 2024). Além disso, extratos de microalgas apresentam diferentes atividades biológicas, demonstrando o potencial



desses organismos para aplicações sustentáveis e inovadoras (FORNASIER *et al.*, 2018; NUNES, 2022).

Entre as microalgas destacam-se as diatomáceas, organismos caracterizados pela presença de uma parede celular composta por sílica hidratada, denominada frústula (ROUND *et al.*, 1990). Além de desempenharem importante função nos ecossistemas aquáticos, esses organismos apresentam interesse biotecnológico devido à capacidade de produzir metabólitos bioativos. Microalgas podem produzir compostos fenólicos, ácidos graxos, terpenos e peptídeos que apresentam atividade contra diferentes microrganismos (OLAIZOLA, 2003; GRESSLER *et al.*, 2011).

As diatomáceas também podem sintetizar compostos derivados de ácidos graxos poli-insaturados, incluindo os aldeídos poli-insaturados (PUAs), associados a diferentes atividades biológicas (OLAIZOLA, 2003). Esses compostos podem estar relacionados aos mecanismos de defesa e interação desses organismos com o ambiente, tornando as diatomáceas fontes de interesse para a investigação de substâncias com possível atividade antimicrobiana.

Dentre as espécies estudadas encontram-se *Asterionellopsis glacialis* e *Skeletonema costatum*, diatomáceas presentes em ambientes marinhos e costeiros (FRANCO, 2015). *A. glacialis* apresenta ocorrência significativa na costa Sul brasileira e pode formar grandes acumulações de biomassa na zona de arrebentação (RÖRIG; GARCIA, 2003). Já *S. costatum* apresenta ampla distribuição geográfica e capacidade de adaptação a diferentes condições de salinidade, temperatura e luminosidade (ROUND *et al.*, 1990; NAYAR; GOH; CHOU, 2005). Essas características, associadas à capacidade de produção de compostos bioativos, tornam ambas as espécies relevantes para investigações experimentais.

Diante disso, a avaliação da atividade antimicrobiana dos extratos dessas diatomáceas pode contribuir para identificar substâncias capazes de interferir no crescimento de microrganismos. A determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) permite ainda verificar a menor concentração do extrato capaz de promover a inibição do crescimento microbiano.

Assim, o presente estudo busca avaliar o potencial antimicrobiano de extratos das diatomáceas *Asterionellopsis glacialis* e *Skeletonema costatum*, utilizando *Staphylococcus aureus* como microrganismo-teste, além de determinar a Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos extratos que apresentarem atividade. Os resultados poderão contribuir para estudos futuros sobre os compostos bioativos presentes nessas espécies e sua possível aplicação no controle microbiológico de águas poluídas do Lago Guaíba.

Material e Métodos

As diatomáceas *Asterionellopsis glacialis* e *Skeletonema costatum* foram cultivadas em condições controladas de laboratório, visando à obtenção de biomassa suficiente para a preparação dos extratos e realização dos ensaios microbiológicos. Durante o período experimental, foram realizados diferentes ciclos de cultivo, acompanhando-se o desenvolvimento das culturas até que apresentassem quantidade adequada de biomassa. Após



o cultivo, as microalgas foram separadas do meio por filtração em membranas previamente pesadas. A biomassa obtida foi determinada pela diferença entre a massa da membrana contendo o material retido e sua massa inicial, possibilitando estabelecer a quantidade de solução extratora necessária para cada amostra.

Os extratos foram preparados na concentração de 10% (m/v), utilizando-se a relação entre a massa de biomassa e o volume de solução extratora. O volume foi calculado pela equação $V = (m \times 100)/C$, em que V corresponde ao volume da solução extratora (mL), m à massa de biomassa (g) e C à concentração desejada (% m/v). Para a concentração de 10% (m/v), foi utilizada a proporção de 1 g de biomassa para 10 mL de solução extratora. Foram utilizadas soluções etanólicas nas concentrações de 10% e 20% (v/v), preparadas a partir de etanol 96% (v/v). Dessa forma, foram produzidos extratos de ambas as espécies nas duas condições de extração, possibilitando comparar posteriormente o comportamento das amostras.

Para a avaliação inicial do potencial antimicrobiano, foi utilizada *Staphylococcus aureus* como microrganismo teste. A cultura bacteriana, previamente armazenada no laboratório da instituição, foi recuperada em Ágar Mueller-Hinton pela técnica de estriamento, visando à obtenção de colônias isoladas e viáveis. Após o crescimento, colônias foram transferidas para Caldo Triptona de Soja (TSB). Para o preparo do inóculo, as células bacterianas foram suspensas em solução fisiológica estéril e a turbidez foi ajustada ao padrão 0,5 da escala de McFarland, buscando padronizar a concentração bacteriana utilizada nos diferentes ensaios.

A atividade antimicrobiana foi avaliada pelo método de difusão em disco de Kirby-Bauer, utilizando Ágar Mueller-Hinton. O inóculo bacteriano padronizado foi distribuído sobre a superfície do meio de cultura, e os discos contendo os diferentes extratos foram posicionados nas placas. Após o período de incubação, as placas foram avaliadas quanto à presença de regiões de inibição do crescimento bacteriano ao redor dos discos, considerando também o aspecto e a ocorrência de crescimento microbiano nessas regiões.

Foram avaliados os extratos de *A. glacialis* e *S. costatum* obtidos com soluções etanólicas de 10% e 20% (v/v), sendo realizadas três repetições para cada condição experimental. Foi utilizado um antimicrobiano de referência como controle positivo, permitindo verificar a resposta do microrganismo teste. Como controles negativos, foram utilizadas as respectivas soluções extratoras sem biomassa, possibilitando avaliar a influência do solvente sobre o crescimento bacteriano e diferenciar seu efeito daquele relacionado aos compostos presentes nos extratos. Os resultados das repetições foram comparados entre as espécies e entre as diferentes concentrações do solvente para fazer a extração.

Resultados e Discussão

Os cultivos das diatomáceas *Asterionellopsis glacialis* e *Skeletonema costatum* apresentaram desenvolvimento satisfatório em condições laboratoriais, possibilitando a obtenção de biomassa necessária para a preparação dos extratos e realização dos ensaios microbiológicos. Foram realizados três ciclos de cultivo, com duração aproximada de 10 a 17



dias cada, seguidos das etapas de filtração e recuperação da biomassa. A partir do material obtido, foram preparados extratos na concentração de 10% (m/v), utilizando soluções etanólicas de 10% e 20% (v/v).

A atividade antimicrobiana foi inicialmente avaliada frente a *Staphylococcus aureus*, utilizado como microrganismo teste. Nos ensaios realizados pelo método de difusão em disco de Kirby-Bauer, foram observadas regiões de aparente inibição do crescimento bacteriano ao redor de alguns discos contendo os extratos. Entretanto, verificou-se crescimento bacteriano no interior dessas regiões. Dessa forma, as áreas observadas não puderam ser consideradas halos de inibição completos e, conseqüentemente, os resultados obtidos até o momento não permitem confirmar atividade antimicrobiana dos extratos nas condições experimentais avaliadas.

Também foram observadas diferenças visuais entre as duas espécies. Nos ensaios realizados com *Asterionellopsis glacialis*, as regiões de aparente inibição apresentaram crescimento bacteriano perceptível em seu interior. Nos extratos de *Skeletonema costatum*, essas regiões mostraram-se menos evidentes. Entretanto, considerando a presença de crescimento bacteriano e a ausência de halos de inibição claramente definidos, não é possível estabelecer, nesta etapa, que uma das espécies apresente maior atividade antimicrobiana que a outra.

Esses resultados podem estar relacionados, entre outros fatores, às características do método utilizado. A difusão em disco é frequentemente empregada como método inicial de triagem de atividade antimicrobiana; entretanto, sua interpretação depende da capacidade dos compostos presentes no extrato de se difundirem no ágar. Extratos brutos de microalgas apresentam composição complexa, contendo substâncias com diferentes características físico-químicas, que podem apresentar comportamentos distintos no meio sólido. Stirk e Van Staden (2022) destacam que ensaios de difusão em disco são amplamente utilizados na avaliação de microalgas, porém podem produzir resultados falso-positivos e falso-negativos. Os autores recomendam a determinação quantitativa da Concentração Inibitória Mínima (CIM), especialmente por microdiluição em caldo, para uma avaliação mais reprodutível da atividade antimicrobiana.

A influência do método de avaliação também foi demonstrada em estudos recentes com extratos de microalgas. Ensaios baseados em difusão podem apresentar respostas diferentes daquelas obtidas por microdiluição, principalmente devido às características de solubilidade, tamanho molecular e capacidade de difusão dos componentes presentes nos extratos. Dessa forma, a ausência de um halo completamente definido não é suficiente, isoladamente, para descartar a existência de compostos bioativos. Da mesma maneira, uma região aparentemente livre de crescimento não pode ser considerada evidência conclusiva de atividade antimicrobiana quando são observadas colônias em seu interior.

Outro fator relevante é a natureza do solvente utilizado na extração. Diferentes solventes podem extrair grupos distintos de compostos da biomassa das microalgas, modificando a composição química e, conseqüentemente, a resposta biológica do extrato. Além disso, fatores como espécie, cepa, condições de cultivo e fase de crescimento podem interferir na produção



de metabólitos bioativos. Stirk e Van Staden (2022), ao revisarem estudos sobre atividade antimicrobiana de microalgas, identificaram o solvente de extração, a taxonomia da microalga e a fase de crescimento no momento da coleta da biomassa entre os fatores que podem influenciar os resultados.

Para *Asterionellopsis glacialis*, resultados encontrados na literatura demonstram que a ausência de atividade antimicrobiana também pode ocorrer. Franco *et al.* (2016), ao estudarem cepas de *A. glacialis* provenientes do litoral de Santa Catarina, avaliaram extratos de biomassa contra diferentes microrganismos, incluindo *Staphylococcus aureus*. Os autores não observaram efeito inibitório nos microrganismos testados. O estudo também demonstrou variações na composição lipídica e no perfil de ácidos graxos conforme a cepa e as condições de cultivo. Esses resultados reforçam que o potencial biológico de uma diatomácea pode variar conforme as condições experimentais e que a ausência de um halo definido no presente trabalho não deve ser interpretada isoladamente.

Em relação a *Skeletonema costatum*, existem relatos de atividade antibacteriana, embora os resultados também sejam dependentes das condições experimentais. Naviner *et al.* (1999) avaliaram compostos obtidos de *S. costatum* e observaram inibição do crescimento de bactérias relacionadas à aquicultura, especialmente *Listonella anguillarum* e espécies do gênero *Vibrio*. Revisões posteriores também reuniram estudos nos quais extratos aquosos e orgânicos de *S. costatum* apresentaram atividade frente a diferentes bactérias, incluindo *Staphylococcus aureus*. Esses resultados demonstram o potencial da espécie, mas não permitem assumir que qualquer extrato de *S. costatum* necessariamente apresentará atividade antimicrobiana, pois a composição e o método de obtenção do extrato exercem influência sobre o resultado.

Outro aspecto de interesse está relacionado à composição química das diatomáceas. Algumas espécies são capazes de produzir aldeídos poli-insaturados (PUAs), pertencentes ao grupo dos oxilipinos. Esses compostos são formados a partir do metabolismo de ácidos graxos poli-insaturados e estão associados a diferentes interações ecológicas e atividades biológicas. Estudos demonstraram que *Skeletonema costatum* possui vias metabólicas relacionadas à produção de aldeídos poli-insaturados, incluindo octadienal, octatrienal e heptadienal. Alguns PUAs produzidos por diatomáceas também apresentam atividade antibacteriana, embora essa propriedade varie conforme o composto e sua concentração.

A possível presença desses compostos nos extratos avaliados no presente trabalho ainda não foi determinada. Portanto, não é possível atribuir os padrões observados nos ensaios aos PUAs ou a qualquer outro metabólito específico. A caracterização química dos extratos será necessária para identificar os compostos presentes e avaliar uma possível relação entre sua composição e a resposta microbiológica.

Diante dos resultados obtidos, os ensaios realizados devem ser considerados preliminares. A observação de regiões de aparente inibição associada ao crescimento de *S. aureus* em seu interior impede a confirmação da atividade antimicrobiana pelo método utilizado. Entretanto, as limitações relacionadas à difusão dos componentes dos extratos e a variabilidade relatada na literatura justificam a realização de ensaios complementares. A



determinação da Concentração Inibitória Mínima por microdiluição em caldo permitirá avaliar quantitativamente diferentes concentrações dos extratos e verificar se existe uma concentração capaz de inibir o crescimento bacteriano. A caracterização química também poderá auxiliar na identificação de compostos potencialmente relacionados à atividade biológica.

Assim, os resultados obtidos até o momento não confirmam a hipótese de atividade antimicrobiana dos extratos de *A. glacialis* e *S. costatum*, mas também não permitem descartá-la definitivamente. A continuidade dos ensaios será fundamental para esclarecer os resultados observados e determinar o real potencial biotecnológico dessas diatomáceas.

Conclusões

O cultivo das microalgas *Asterionellopsis glacialis* e *Skeletonema costatum* apresentou crescimento satisfatório ao longo dos ciclos realizados, permitindo a obtenção e filtração de biomassa suficiente para a preparação dos extratos e realização dos ensaios microbiológicos. O crescimento observado demonstrou a viabilidade dessa etapa experimental e possibilitou a continuidade da pesquisa.

Nos ensaios de difusão em disco frente a *Staphylococcus aureus*, utilizado como microrganismo teste, foram observados halos aparentes ao redor de alguns discos contendo os extratos. Os maiores halos aparentes foram verificados nos ensaios com extratos de *Asterionellopsis glacialis* obtidos com etanol a 20%, indicando diferença em relação às demais condições avaliadas. Entretanto, foi observado crescimento de microrganismos no interior desses halos, demonstrando que não ocorreu inibição completa do crescimento bacteriano. Dessa forma, os resultados não podem ser considerados positivos ou conclusivos quanto à atividade antimicrobiana.

As diferenças observadas entre as espécies e condições de extração podem estar relacionadas à concentração, composição e capacidade de difusão dos compostos presentes nos extratos. Portanto, os resultados reforçam a necessidade de ensaios complementares. Como continuidade, serão realizados testes de microdiluição em caldo, com diferentes concentrações dos extratos, para verificar a atividade antimicrobiana e, caso confirmada, determinar a concentração inibitória mínima (CIM). Também será feito a caracterização química dos extratos utilizando nanoespectrofotometria UV visível para analisar compostos bioativos, como os aldeídos poli-insaturados (PUAs).

Conclui-se que o cultivo das duas espécies foi viável e que os ensaios realizados forneceram informações importantes para direcionar as próximas etapas da pesquisa. Caso a atividade antimicrobiana seja confirmada, os extratos serão avaliados frente a microrganismos presentes em águas poluídas do Lago Guaíba, buscando verificar sua possível aplicabilidade ambiental na região.



Agradecimentos

Agradeço ao Mateus Alves da Silva, Vanderlon Martins e Renata Farias, à professora Ana Sofia Belolli Cardoso e ao grupo de pesquisa pelo apoio e incentivo.

Referências

- ABDEL-RAOUF, N.; AL-HOMAIAN, A. A.; IBRAHEEM, I. B. M. *Microalgae and wastewater treatment*. Saudi Journal of Biological Sciences, v. 19, n. 3, p. 257–275, 2012.
- DANTAS, Amanda Katielle Dias *et al.* *Qualidade microbiológica da água de bebedouros destinada ao consumo humano*. Revista Biociências, Taubaté, v. 16, n. 2, 2010.
- FORNASIER, F. *et al.* Bioactive compounds from microalgae: potential applications. Algal Research, v. 32, p. 1–10, 2018
- FORNASIER, F.; SOUZA, M. P.; SCHNEIDER, R. C. S.; BENITEZ, L. B.; HOELTZ, M. Aplicação de diferentes métodos de secagem e avaliação do perfil dos ácidos graxos presentes na biomassa de microalgas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUÍMICA, 57., 2017. Anais [...]
- FRANCO, A. O. R. *et al.* Fatty acids of three strains of *Asterionellopsis glacialis* from the Southern Brazilian coast: differences in composition and antimicrobial activity. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, v. 33, n. 3, p. 533–545, 2016.
- FRANCO, Andréa de Oliveira da Rocha. Diatomáceas (*Asterionellopsis* Round) de zona de arrebentação em região tropical e subtropical do Brasil. 2015. Dissertação (Mestrado em Oceanografia Biológica) – Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2015.
- GRESSLER, V. *et al.* Lipid, fatty acid, protein and carbohydrate composition of microalgae. *Bioresource Technology*, v. 102, p. 9338–9344, 2011.
- MEYER, Sheila T. O uso de cloro na desinfecção de águas, a formação de trihalometanos e os riscos potenciais à saúde pública. *Cadernos de Saúde Pública*, Rio de Janeiro, v. 10, n. 1, p. 99–110, jan./mar. 1994.
- NAYAR, S.; GOH, B. P. L.; CHOU, L. M. Dynamics in the size structure of *Skeletonema costatum* (Greville) Cleve under conditions of reduced photosynthetically available radiation in a dredged tropical estuary. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, v. 318, n. 2, p. 163–182, 2005.
- NUNES, André Luiz Figueiredo. Rompimento celular, liofilização e extração de biomoléculas da biomassa da microalga *Tetrademus obliquus*: uma abordagem teórica. 2022. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2022.
- OLAIZOLA, M. Commercial development of microalgal biotechnology: from the test tube to the marketplace. *Biomolecular Engineering*, v. 20, p. 459–466, 2003.
- PEREIRA, Márcio Célio *et al.* *Estudo da potabilidade de água para consumo no bairro Triângulo e Vila Candelária, Porto Velho – Rondônia – Brasil*. Porto Velho, 2009.
- ROUND, F. E.; CRAWFORD, R. M. The lines of evolution of the Bacillariophyta. I. Origin. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, v. 211, n. 1183, p. 237–260, 1981.
- RÖRIG, L. R.; HONORATO, M. C.; ITOKAZU, A. G.; MACEDO, C. X.; DESCHAMPS, F.; LINS, J. V. H.; MARASCHIN, M.; RAMLOV, F.; GRESSLER, P. D.; PEREIRA FILHO, J. Ecophysiological and biochemical variation of the surf zone diatom *Asterionellopsis glacialis* sensu lato from Santa Catarina, Southern Brazil. *Brazilian Journal of Oceanography*, v. 65, n. 4, p. 695–708, 2017.



SANTOS, Carlos Lopes dos. Controle de trihalometanos (THM) nas águas de abastecimento público. 1989. Dissertação (Mestrado) — Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1989.

SANTOS, G. F. *et al.* Antifungal potential of extracts of the microalgae *Phaeodactylum tricornutum*. *Research, Society and Development*, v. 13, n. 3, p. 1-10, 2024.

SOUTO, Juliane Pena *et al.* *Poluição fecal da água: micro-organismos indicadores*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE GESTÃO AMBIENTAL, 6., 2015, Porto Alegre. Anais [...]. Porto Alegre: IBEAS, 2015.

STIRK, W. A.; VAN STADEN, J. Bioprospecting for antimicrobial compounds in microalgae: challenges and future prospects. *Marine Drugs*, v. 20, n. 5, 2022. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0734975022000738>