

EFEITOS DO USO DE BIOFILMES PROTETORES INCORPORADOS COM MICROALGAS NAS PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS, MICROBIOLÓGICAS E SENSORIAIS DO PESCADO

Mariana Estefanuto Costa, Guilherme Dilarri, Carolina Rosai Mendes, Bárbara Miranda Vilela, Beatriz de Oliveira da Fonseca, Jaqueline Ely, Márcio Vargas Ramella

INTRODUÇÃO

O plástico convencional derivado do petróleo, amplamente utilizado em embalagens de alimentos e outros produtos, pode levar de décadas a séculos para se decompor, contribuindo para a poluição ambiental, afetando a fauna e a flora e representando risco à saúde pública pela liberação de toxinas e microplásticos (Li et al., 2021; Rillig et al., 2021). Apesar disso, seu uso permanece expressivo em razão do baixo custo e da eficiência na preservação de alimentos altamente perecíveis (Verma et al., 2016), como o pescado. Biofilmes elaborados a partir de polímeros naturais, como quitosana e alginato, configuram alternativas biodegradáveis e ecologicamente sustentáveis (Krishnan et al., 2025; Nair et al., 2020). Quando enriquecidos com aditivos de microalgas, como *Arthrospira platensis* (Spirulina) e *Chlorella vulgaris* (Chlorella), biofilmes comestíveis podem oferecer benefícios adicionais devido à presença de compostos bioativos, com potencial para contribuir tanto na conservação dos alimentos quanto na promoção da saúde do consumidor (Shafiei & Mostaguim, 2022; Bagdat & Ilikkan, 2025). Nesse contexto, a primeira etapa deste projeto teve como objetivo avaliar as propriedades antimicrobianas e a presença de compostos bioativos em *A. platensis* e *C. vulgaris*, investigando seu potencial como alternativa sustentável para a conservação do pescado através da sua incorporação em biofilmes de quitosana e alginato. Os resultados obtidos serão aplicados em uma etapa subsequente, voltada ao desenvolvimento dos biofilmes comestíveis e sua interação com o pescado.

DESENVOLVIMENTO

Para avaliar a atividade antibacteriana das microalgas, foram preparados extratos metanólicos de *A. platensis* e *C. vulgaris*, posteriormente submetidos ao ensaio Resazurin Microtiter Assay (REMA) (Palomino et al., 2002) frente a oito cepas bacterianas: *Enterococcus faecium*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* e *Bacillus subtilis* (Gram-positivas), além de *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas putida*, *Escherichia coli* e *Salmonella enterica* serovar Typhi (Gram-negativas). A viabilidade celular foi avaliada por mudanças colorimétricas da resazurina e por contagem de células em leitor multimodal PerkinElmer VICTOR Nivo. A Concentração Inibitória Mínima (MIC) foi estabelecida conforme o método de Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2012). Paralelamente, análises de espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) foram realizadas com base na metodologia para microrganismos de Naumann (2000) para caracterizar os grupos funcionais das microalgas (*A. platensis* e *C. vulgaris*), buscando aqueles associados à atividade antimicrobiana (Sukhikh et al., 2022).

RESULTADOS

Os espectros de FTIR de *A. platensis* e *C. vulgaris* indicam a presença de grupos funcionais associados à atividade antimicrobiana nessas microalgas (Sukhikh et al., 2022), entre eles complexos lipídicos (contendo grupos metileno, carbonila, fosfato, glicolipídicos, fosfolipídios e ácidos graxos insaturados), complexos de carboidratos (com sacarídeos como celulose, amido

e anéis piranósicos), além de componentes alcoólicos. No entanto, a banda C–O de ésteres não foi identificada em nenhuma das espécies. Essa banda, característica de lipídeos, é considerada relevante para a atividade antibacteriana de natureza lipídica, e sua ausência pode representar um fator potencialmente limitante (Sukhikh et al., 2022). Nos ensaios antimicrobianos via REMA, o MIC estabelecido foi de 78,60% para bactérias Gram-positivas e 55,25% para Gram-negativas. Para o grupo Gram-positivo, embora tenham sido observadas reduções no metabolismo bacteriano, principalmente em *B. subtilis*, os valores permaneceram abaixo do limiar de inibição, indicando ausência de MIC na faixa testada. De modo semelhante, para Gram-negativas não foram identificados efeitos inibitórios, com exceção de *P. aeruginosa* exposta a Spirulina, que em determinadas concentrações atingiu ou superou o ponto de corte, sugerindo inibição pontual. Esses achados contrastam com estudos prévios que reportam atividade inibitória de extratos de Spirulina e Chlorella contra *E. coli*, *S. aureus* e *P. aeruginosa* (Elshouny et al., 2017), Spirulina contra *B. subtilis* (Abedin & Taha, 2008), *P. putida* (Pradhan et al., 2012), *E. faecium* (Burduniuc et al., 2020) e *E. faecalis* (El-Baz et al., 2013). A ausência de efeito contra *S. Typhi* está em consonância com El-Baz et al. (2013), que também relataram baixa atividade para Spirulina. Chlorella, por sua vez, já demonstrou efeito contra *B. subtilis* (Alwathnani & Perveen, 2017), *S. Typhi* (Dineshkumar, 2017) e *E. faecalis* (Kamalnizat et al., 2015). Não foram encontrados relatos na literatura sobre a ação de *C. vulgaris* contra *P. putida* ou *E. faecium*. Uma hipótese para a discrepância está na sensibilidade do método, visto que o REMA, apesar de amplamente utilizado para a finalidade testada, detecta atividade metabólica celular e pode subestimar compostos bacteriostáticos ou requerer concentrações superiores às utilizadas (Elshouny et al., 2017). Outra explicação possível refere-se ao tipo de extrato: neste estudo foram usadas diluições aquosas, enquanto outros trabalhos aplicaram solventes orgânicos (etanol, metanol), mais eficientes na extração de pigmentos e lipídios bioativos (El-Baz et al., 2013).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os extratos de *Arthrospira platensis* e *Chlorella vulgaris* não apresentaram atividade antimicrobiana consistente frente às cepas testadas, exceto por inibição pontual em *Pseudomonas aeruginosa*. Apesar disso, a caracterização por FTIR confirmou a presença de grupos funcionais associados a compostos bioativos, sugerindo potencial para aplicações de interesse nutricional e antioxidante. Portanto, embora os objetivos antimicrobianos não tenham sido plenamente alcançados, as microalgas mantêm relevância biotecnológica. Para as próximas etapas, serão avaliados diferentes métodos de extração para explorar a atividade microbiológica e outras propriedades bioativas, visando ao desenvolvimento de biofilmes funcionais e sustentáveis para conservação do pescado com ação antimicrobiana.

Palavras-chave: spirulina (*Arthrospira platensis*); chlorella (*Chlorella vulgaris*); compostos bioativos; embalagens sustentáveis.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABEDIN, R. M. A.; TAHA, H. M. Antibacterial and Antifungal Activity of Cyanobacteria and Green Microalgae. Evaluation of Medium Components by Plackett-Burman Design for Antimicrobial Activity of *Spirulina platensis*. Global Journal of Biotechnology & Biochemistry, v. 3, n. 1, p. 22-31, 2008.

ALWATHNANI, H.; PERVEEN, K. **Antibacterial activity and morphological changes in human pathogenic bacteria caused by *Chlorella vulgaris* extracts**. [s.l: s.n.]. Disponível em: <www.biomedres.info>.

BAĞDAT, E. Ş.; KAHRAMAN ILIKKAN, Ö. Synergistic Effects of Microalgae and Probiotic Additives in Edible Coatings on Strawberry Storage Quality: Experimental and Molecular Docking Studies. **Probiotics and Antimicrobial Proteins**, 2025.

BURDUNIUC, O. S.; DJUR, S. V.; CHIRIAC, T. V.; RUDIC, V. F.; BALAN, G. G. In vitro evaluation of antimicrobial and biofilm inhibitory activity of *Spirulina platensis* extract. [S. l.], 2020. DOI: <https://doi.org/10.22141/2306-2436.9.3.2020.219242>

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically: Approved Standard – Ninth Edition. CLSI document M07-A9. Wayne, PA: CLSI, 2012.

EL-BAZ, F. K.; EL-SENOUSY, W. M.; EL-SAYED, A. B.; KAMEL, M. M.; MOHAMED, A. A. In vitro antiviral and antimicrobial activities of algal extract of *Spirulina platensis*. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, v. 3, n. 12, p. 052-056, dez. 2013. Disponível em: <http://www.japsonline.com>. DOI: 10.7324/JAPS.2013.31209.

ELSHOUNY, W. A. E. F. et al. Antimicrobial activity of *Spirulina platensis* against aquatic bacterial isolates. **Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences**, v. 6, n. 5, p. 1203–1208, 2017.

KAMALNIZAT, I.; RAMLIZA, R.; ABDUL HALIM, A. R.; YASMIN ANUM, M. Y. Antimicrobial property of water and ethanol extract *Chlorella vulgaris*: a value-added advantage for a new wound dressing material. **International Medical Journal**, v. 22, n. 5, p. 399-401, 2015.

KRISHNAN, R. R. et al. **Edible biopolymers with functional additives coatings for postharvest quality preservation in horticultural crops: a review**. **Frontiers in Sustainable Food Systems**Frontiers Media SA, , 2025.

KUMAR P, S. et al. Cultivation and Chemical Composition of Microalgae *Chlorella vulgaris* and its Antibacterial Activity against Human Pathogens. **Journal of Aquaculture & Marine Biology**, v. 5, n. 3, 7 mar. 2017.

LI, P. et al. **Characteristics of Plastic Pollution in the Environment: A Review**. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**Springer, , 1 out. 2021.

NAIR, M. S. et al. **Enhancing the functionality of chitosan- and alginate-based active edible coatings/films for the preservation of fruits and vegetables: A review**. **International Journal of Biological Macromolecules**Elsevier B.V., , 1 dez. 2020.

NAUMANN, D. Infrared Spectroscopy in Microbiology. In: *Encyclopedia of Analytical Chemistry*. [s.l.] Wiley, 2000.

PALOMINO, J.-C. et al. Resazurin microtiter assay plate: simple and inexpensive method for detection of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, [S. l.], v. 46, n. 8, p. 2720–2722, ago. 2002.

PRADHAN, J. et al. Traditional antibacterial activity of freshwater microalga *Spirulina platensis* to aquatic pathogens. **Aquaculture Research**, v. 43, n. 9, p. 1287–1295, ago. 2012.

RILLIG, M. C. et al. **The global plastic toxicity debt**. **Environmental Science and Technology**. American Chemical Society, , 2 mar. 2021.

SHAFIEI, R.; MOSTAGHIM, T. Improving shelf life of calf fillet in refrigerated storage using edible coating based on chitosan/natamycin containing *Spirulina platensis* and *Chlorella vulgaris* microalgae. **Journal of Food Measurement and Characterization**, v. 16, n. 1, p. 145–161, 1 fev. 2022.

SUKHIKH, S. et al. Identification of Metabolites with Antibacterial Activities by Analyzing the FTIR Spectra of Microalgae. **Life**, v. 12, n. 9, 1 set. 2022.

VERMA, R. et al. Toxic Pollutants from Plastic Waste- A Review. **Procedia Environmental Sciences**, v. 35, p. 701–708, 2016.

DADOS CADASTRAIS

BOLSISTA: Mariana Estefanuto Costa

MODALIDADE DE BOLSA: : PROIP / UDESC (IP)

VIGÊNCIA: Setembro/2024 a Agosto/2025 – Total: 12 meses

ORIENTADOR(A): Márcio Vargas Ramella

CENTRO DE ENSINO: CERES

DEPARTAMENTO: Departamento de Ciências Biológicas

ÁREAS DE CONHECIMENTO: Ciências Agrárias/Ciência e Tecnologia de Alimentos

TÍTULO DO PROJETO DE PESQUISA: Efeito do uso de biofilmes protetores incorporados com microalgas, extratos vegetais e óleos essenciais nas propriedades físico-químicas, microbiológicas e sensoriais do pescado.

Nº PROTOCOLO DO PROJETO DE PESQUISA: PVES127-2024