

## **Inibição fúngica de compostos fenólicos de *Spirulina* sp. LEB-18 e farelo de arroz fermentado.**

**Anelise Christ Ribeiro<sup>1</sup>, Andressa Cunha Lemos<sup>2</sup>, Kelly Cristina Massarolo<sup>1</sup>, Carolina da Silva Graça<sup>1</sup> e Leonor Almeida de Souza Soares<sup>1</sup>.**

<sup>1</sup>Universidade Federal do Rio Grande – Escola de Química e Alimentos  
Caixa Postal 474 – CEP 96203-900 Rio Grande – RS - E-mail: [anelise.christ@hotmail.com](mailto:anelise.christ@hotmail.com)

<sup>2</sup>Universidade Federal do Rio Grande – Escola de Química e Alimentos  
Caixa Postal 474 – CEP 96203-900 Rio Grande – RS

### **RESUMO**

*Compostos fenólicos são alternativas interessantes para a inibição do desenvolvimento de micro-organismos deterioradores e patogênicos, através da inibição da síntese de componentes da parede celular. O objetivo do trabalho foi investigar extratos de compostos fenólicos extraídos da Spirulina sp. LEB-18 e de farelo de arroz fermentado por Rhizopus oryzae que apresentem ação inibidora e estudá-los quanto aos efeitos antifúngicos frente ao Penicillium verrucosum - CCT 7680. Os compostos fenólicos foram extraídos com metanol, da Spirulina sp. LEB-18 e da biomassa de farelo de arroz fermentado com Rhizopus oryzae e quantificados colorimetricamente com reagente de Folin-Ciocalteu. A inibição fúngica foi avaliada em cultivo em placas de Petri, onde foi adicionado o meio BDA em conjunto com os diferentes tratamentos. O crescimento fúngico foi avaliado no 2º, 3º, 5º, 7º e 9º dias através de análise visual. Os compostos fenólicos do farelo de arroz mostraram resultados promissores inibindo o crescimento fúngico.*

**Palavras-chave:** microalga, *Rhizopus oryzae* e *Penicillium verrucosum*.

### **INTRODUÇÃO**

O termo composto fenólico abrange um grupo de moléculas que possuem em comum um anel aromático substituído por uma ou mais hidroxilas (DOURADO, 2006). Compostos fenólicos compreendem substâncias diversas, entre elas estão os ácidos fenólicos, que possuem propriedades antioxidantes, os flavonóides e as antocianinas. Além disso, possuem comprovada ação antifúngica e esta pode ocorrer, entre outros mecanismos, pela inativação de sistemas enzimáticos do micro-organismo envolvidos na produção de energia e na síntese de componentes estruturais. Os ácidos fenólicos como o ferúlico, cinâmico e vanílico e seus derivados presentes em maior abundância nos cereais, são inibidores da multiplicação e esporulação fúngica. Porém a atividade inibitória depende não só da concentração, mas também da estrutura do composto fenólico (SOUZA et al., 2010).

Essas moléculas são consideradas produtos do metabolismo secundário que as plantas sintetizam durante seu desenvolvimento normal, e em resposta às condições de estresse como infecções, ferimentos, radiação ultravioleta, dentre outros. Esses compostos ocorrem em várias porções das plantas e são um grupo de fitoquímicos muito diversificado derivados da fenilalanina e tirosina (OLIVEIRA, 2011).

O objetivo do trabalho foi avaliar extratos de compostos fenólicos extraídos da *Spirulina* sp. LEB-18 e de farelo de arroz fermentado por *Rhizopus oryzae* e verificar sua ação inibidora quando aplicados no fungo *Penicillium verrucosum* - CCT 7680.

### MATERIAL E MÉTODOS

O farelo de arroz desengordurado foi utilizado neste estudo como fonte de compostos fenólicos, o mesmo foi fornecido por uma indústria de óleo vegetal, localizada na cidade de Pelotas, no sul do estado do Rio Grande do Sul, Brasil. Do mesmo modo, a microalga *Spirulina* sp. Leb-18 foi fornecida pelo Laboratório de Engenharia Bioquímica da FURG.

Os micro-organismos *Penicillium verrucosum* CCT 7680 e *Rhizopus oryzae* CCT 7560 foram adquiridos do Banco de Colônias da Fundação Tropical André Tosello, Campinas, SP.

Para a geração de biomassa foram adicionados ao farelo de arroz solução nutriente e a suspensão de esporos na concentração inicial de  $4 \times 10^6$  esporos/g de farelo. As amostras foram incubadas a 30 °C (OLIVEIRA et al., 2009). Os compostos fenólicos foram extraídos com metanol, da *Spirulina* sp. LEB-18 e da biomassa de farelo de arroz fermentado com *Rhizopus oryzae* e quantificados colorimetricamente com reagente de Folin-Ciocalteu (SOUZA et al., 2010). A inibição fúngica foi avaliada em cultivo em placas de Petri, onde foi adicionado o meio BDA (Batata Dextrose ágar) em conjunto com os diferentes tratamentos: controle - ágar BDA:água destilada (1:1 - v/v), extrato fenólico de *Spirulina* - ágar BDA:extrato fenólico de *Spirulina* (1:1- v/v) e extrato fenólico de farelo de arroz- ágar BDA:extrato fenólico de farelo de arroz fermentado (1:1 - v/v). Após solidificação, os meios foram inoculados com o fungo *Penicillium verrucosum*, no centro das placas, na concentração de  $4 \times 10^6$  esporos.mL<sup>-1</sup> e estas incubadas em câmara de fermentação a 25 °C (SOUZA et al., 2010). O crescimento fúngico foi avaliado no 3°, 5° e 7° dias, através da medida do halo do micélio e por análise visual (fotografada durante o crescimento fúngico). As triplicatas foram tratadas utilizando ANOVA two-way e teste de Tukey.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para a avaliação microbiológica foram calculadas e ajustadas às concentrações dos compostos fenólicos extraídos de ambas as fontes que corresponderam a 167 µg.mL<sup>-1</sup>. Um dos parâmetros analisados para a avaliação da inibição fúngica foi o diâmetro do micélio, que foi medido em 3 direções durante os 3°, 5° e 7° dias e comparadas com análise visual.

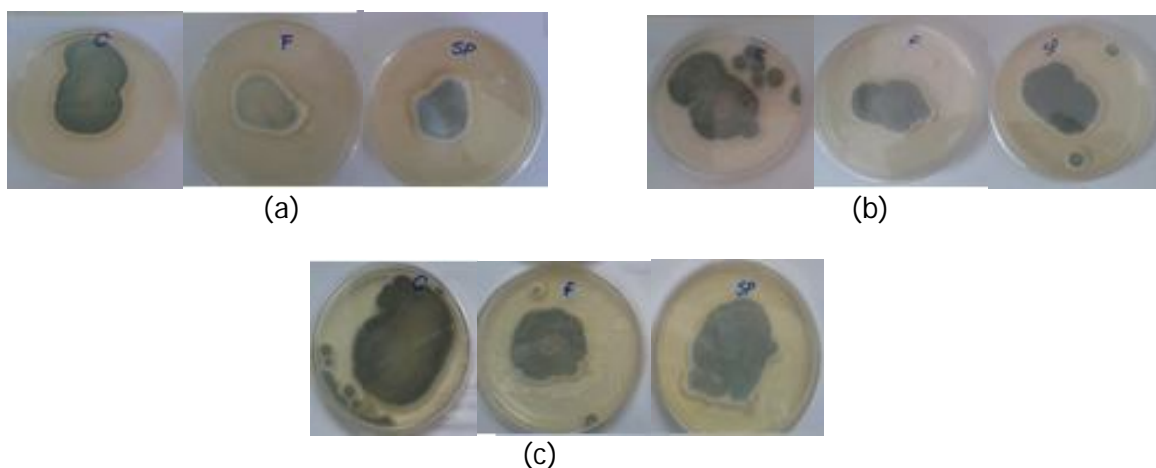
**Tabela 1** – Diâmetros dos micélios do fungo *Penicillium verrucosum* obtidos nos diferentes tratamentos durante 9 dias.

Diâmetros (cm)	Dia	Tratamentos		
		CFS	CFFAF	Controle
	3°	3,58 <sup>a,b,c</sup>	3,27 <sup>a,b</sup>	4,16 <sup>b,c</sup>
	5°	4,58 <sup>c,d,e</sup>	4,08 <sup>b,c</sup>	5,25 <sup>d,e,f</sup>
	7°	5,54 <sup>e,f</sup>	4,28 <sup>b,c,d</sup>	5,96 <sup>f</sup>

Letras iguais significam que não há diferença entre os tratamentos e dias (linhas e colunas) utilizando o teste de Tukey.

Para todos os dias de cultivo, quando aplicados aos mesmos, seja do farelo de arroz ou *Spirulina*, houve uma inibição do desenvolvimento do micélio do fungo, quando comparado com o tratamento controle, mostrando que os compostos fenólicos agem como excelentes antifúngicos conforme a Tabela 1. O tratamento que obteve a maior inibição fúngica, tanto no 3º, como no 7º dia, foi o de compostos fenólicos de farelo de arroz. Estes resultados podem ser visualizados na Figura 1.

Figura 1 – Inibição do desenvolvimento de *Penicillium verrucosum* em diferentes condições.



Sendo que (a) 3º dia; (b) 5º dia e (c) 7º dia, o tratamento controle representado pela letra C, extrato fenólico de farelo de arroz fermentado pela F e extrato fenólico de *Spirulina* sp. LEB-18 por SP.

De acordo com Tantawy (2011) os extratos das algas (*Nostoc muscorum*, *Spirulina platensis* e *Anabaena flos-aquae*) apresentaram alta eficiência em inibir o crescimento do diâmetro micelial de fungos como *Fusarium oxysporum* e *Rhizoctonia solani*. Tian et al., (2012) evidenciou no estudo de inibição do crescimento micelial de *Aspergillus flavus* com a adição de óleo essencial de *Cinnamomum jensenianuma* eficácia deste óleo como barreira para o desenvolvimento fúngico.

### CONCLUSÕES

Os resultados indicam que os compostos fenólicos extraídos do farelo de arroz fermentado por *Rhizopus oryzae* apresentaram os melhores resultados em relação à inibição da atividade fúngica.

**Agências de Fomento:** CAPES, CNPq e FAPERGS.



## V SIMPÓSIO DE BIOQUÍMICA E BIOTECNOLOGIA

05 a 07 de agosto de 2015, Londrina – PR

### REFERÊNCIAS

- DOURADO, R. S. **Isolamento de compostos secundários em extratos de caules e folhas de *Hypericum cordatum* (Vell. Conc.) N. Robson (Clusiaceae)**. DISSERTAÇÃO. (Mestrado em biodiversidade vegetal e meio ambiente) - área de plantas vasculares em análises ambientais. São Paulo, 2006.
- OLIVEIRA, M. S.; KUPSKI, L.; FEDDERN, V.; CIPOLATTI, E. P.; BADIALE-FURLONG, E.; SOUZA-SOARES, L. A. de. Physico-chemical characterization of fermented rice bran biomass. **Food Science and Technology**, p. 7-11, 2009.
- OLIVEIRA, A. M. C. **Caracterização química, Avaliação da atividade antioxidante in vitro e atividade antifúngica de pimentas do gênero *Capsicum* spp.** Tese de mestrado em alimentos e nutrição. UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ – UFPI, 2011.
- SOUZA, M. M.; OLIVEIRA, M. S.; ROCHA, M.; FURLONG, E. B. Avaliação da atividade antifúngica de extratos fenólicos de cebola, farelo de arroz e microalga *Chlorella phyrenoidosa*. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v.30, n.3, p. 680-685, 2010.
- TANTAWY, S. T.A. Biological potential of cyanobacterial metabolites against some soil pathogenic fungi. **Journal of food, agriculture & environment**, V. 9, N. 1, P. 663- 666, 2011. SILVA, R. M.; ALVES, R. N.
- TIAN, J.; HUANG B.; LUO, X.; ZENG, H.; BAN, X.; HE, J.; WANG, Y. The control of *Aspergillus flavus* with *Cinnamomum jensenianum* Hand.-Mazz essential oil and its potential use as a food preservative. **Food Chemistry**, v. 130, n. 3, p. 520-527, 2012.