

Avaliação da Atividade Antiincrustante de Glicerofosfolipídios Isolados de Organismos Marinhos da Região de Arraial do Cabo – RJ

Capitão-de-Corveta (EN) William Romão Batista¹ e Maria Helena Campos Baeta Neves²

¹Encarregado da Divisão de Química do IEAPM. Graduado em Engenharia Química e pós-graduado (M.Sc.) em Química Analítica pela Universidade Federal do Rio de Janeiro.

²Pesquisadora Titular do IEAPM. Graduada em Ciências Biológicas e pós-graduada (D.Sc.) em Oceanografia Biológica pela Université de Paris.

O presente trabalho foi motivado pela questão relacionada ao banimento, promulgado para 1º de janeiro de 2008, do composto conhecido como tributil estanho (TBT), principal e mais eficiente biocida utilizado em tintas marítimas antiincrustantes, acreditando que o uso de um biocida não-poluente é de fato a melhor resposta para a sua substituição no combate à bioincrustação marinha. O mesmo se justifica pela necessidade da existência comercial de produtos com ação biocida ou antiincrustante, não-agressivos ao meio ambiente, que possam ser utilizados na preparação de tintas marítimas antiincrustante.

O principal objetivo foi avaliar a eficácia antiincrustante de substâncias do grupo dos alquil-glicerofosfolipídios análogos ao composto denominado *Platelet Activating Factor* (PAF) ou Fator Ativador de Plaquetas, que reconhecidamente possui potente ação celular.

Supõe-se aqui que tais compostos,

ao alcançar os invólucros celulares dos microorganismos, possam:

a) devido à característica hidrofóbica de seu radical alquídic, ser facilmente adsorvido por camadas de peptidoglicanos, polissacarídeos, lipopolissacarídeos ou fosfolipídios presentes na membrana plasmática e, agindo como um surfactante, causar danos à célula atingida; e

b) devido a sua característica de PAF-análogo, desencadear uma reação antagônica, *p. ex.*, inflamação, inibição de síntese celular ou apoptose, ocasionando a repulsão ou morte do microorganismo.

A idéia da utilização de tais PAF-análogos como agente antiincrustante tem como princípio o que acontece em outros tipos de células amplamente utilizadas na área médica e farmacológica, baseando-se no possível desencadeamento de uma reação antagônica ou processo inflamatório nas células dos organismos incrustantes em contato com tais produtos.

Deste modo, espera-se que um composto

difundido no biofilme, que possa agir ocasionando o rompimento ou mau funcionamento desta estrutura, faça com que os organismos que iniciam e formam o biofilme, tais como bactérias, microalgas, protozoários, rotíferas, ovos e larvas, sejam repelidos ou mortos, implicando na consequente inibição do início do processo de incrustação.

O presente trabalho foi limitado a ensaios em laboratório, utilizando água do mar *in natura*, e visou a verificar o assentamento de microorganismos marinhos, tais como bactérias, cianobactérias e diatomáceas, em lâminas de microscopia devidamente preparadas contendo as substâncias a serem avaliadas.

Para isto, PAF-análogos disponíveis comercialmente e extraídos de organismos marinhos, tais como mexilhão e esponja marinha, induzidos ao estresse por meio de inoculação de substância química irritante, foram avaliados em testes de laboratório quanto à eficácia antiincrustante contra microorganismos

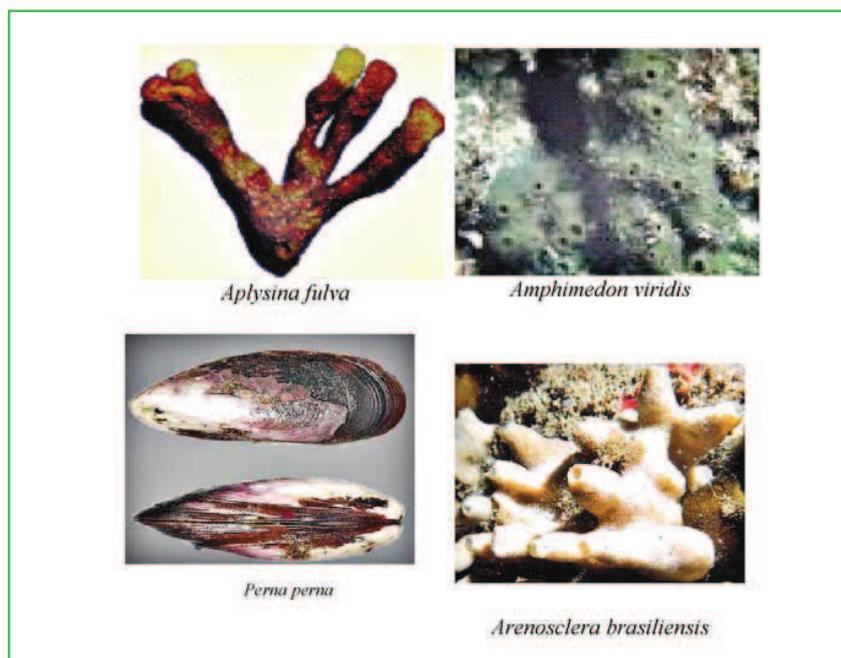


Figura 1 – Organismos marinhos objetos do estudo

presentes na formação do biofilme, etapa fundamental ao processo de bioincrustação marinha, sendo incorporados em lâminas para microscopia recobertas por gel ágar-ágar e dispostos em tanques contendo água bombeada diretamente do mar.

Os organismos marinhos utilizados, - uma espécie de mexilhão, *Perna perna*, e três espécies de esponjas marinhas, *Aplysina fulva*, *Amphimedon viridis* e *Arenosclera brasiliensis*, foram classificados e separados em dois grupos, dentro de cada espécie, para o processo de extração com solventes (Figura 1).

O primeiro grupo de cada espécie, o qual não sofreu nenhuma inoculação e serviu como referência, teve o seu processo de extração iniciado imediatamente. O segundo grupo foi transferido para recipientes contendo água do mar filtrada, tendo baixo teores de organismos

planctônicos e material orgânico particulado, mantida sob aeração forçada, permanecendo sob inanição por 36 horas para o início do processo de indução ao estresse, sendo em seguida inoculados com solvente dimetil-sulfóxido (DMSO). A Figura 2 mostra a seqüência e o diagrama empregados no estudo.

Os extratos lipídicos, obtidos após concentração, foram fracionados por extração em fase sólida usando uma coluna cromatográfica de 1 cm de diâmetro preenchida com 10 gramas de sílica (250 – 115 mesh), visando a separar a fração mais polar contendo os glicerosfolipídios de interesse.

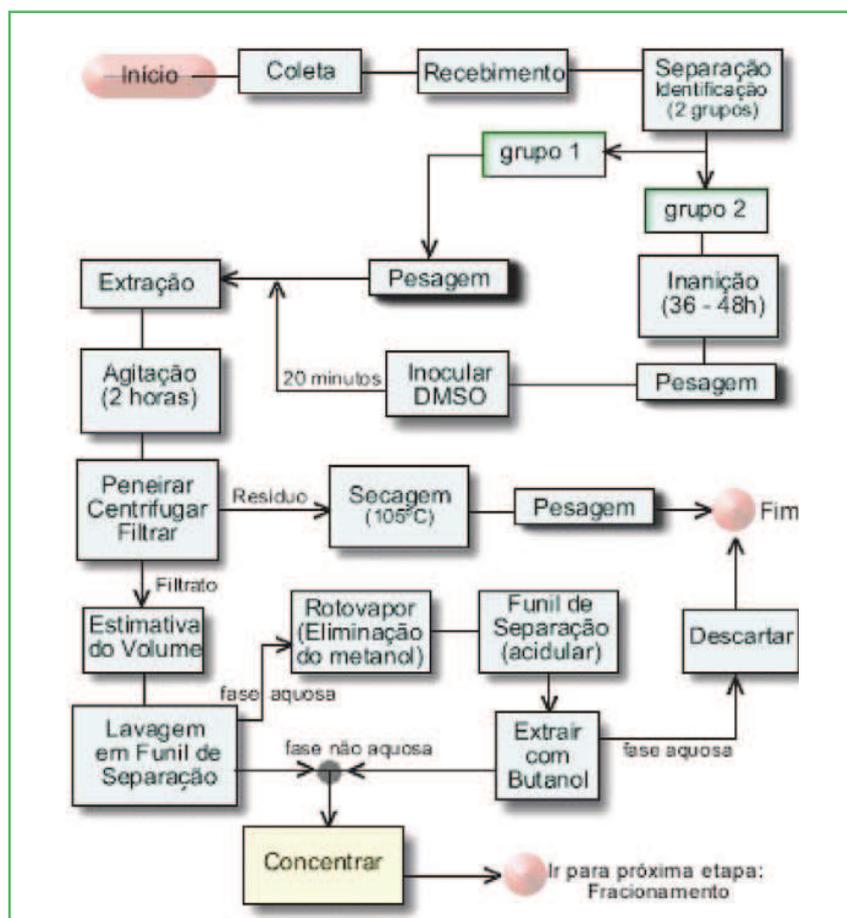


Figura 2 – Diagrama

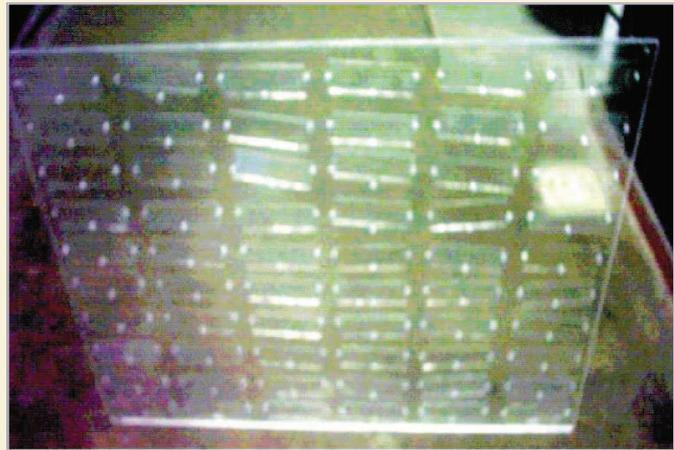


Figura 3 - Tanque e painel utilizado nos experimentos

As frações mais polares dos extratos iniciais, bem como uma solução do branco de reagentes e uma solução contendo um padrão de PAF-análogo foram incorporadas a gel de ágar-ágar e então, deste modo, usados para recobrir unilateralmente lâminas de microscopia. As lâminas assim preparadas foram fixadas em painéis de acrílico e então dispostos em um tanque contendo água do mar *in natura* (Figura 3).

Os painéis, quatro ao total, foram retirados individualmente a cada 48 horas, sendo as lâminas reservadas para posterior avaliação quanto ao grupo e quantidade de microorganismos aderidos por meio de microscopia de epifluorescência.

Na apresentação gráfica dos dados, foi correlacionado o número total de bactérias gram-

negativas aderidas por cm^2 de lâmina entre os extratos inoculados e o extrato de referência de cada espécie. Tendo por base de comparação os valores obtidos pelos

controles branco e padrão, podemos observar a dissimilaridade da resposta do padrão em relação ao branco de reagentes e aos demais extratos avaliados, indicando

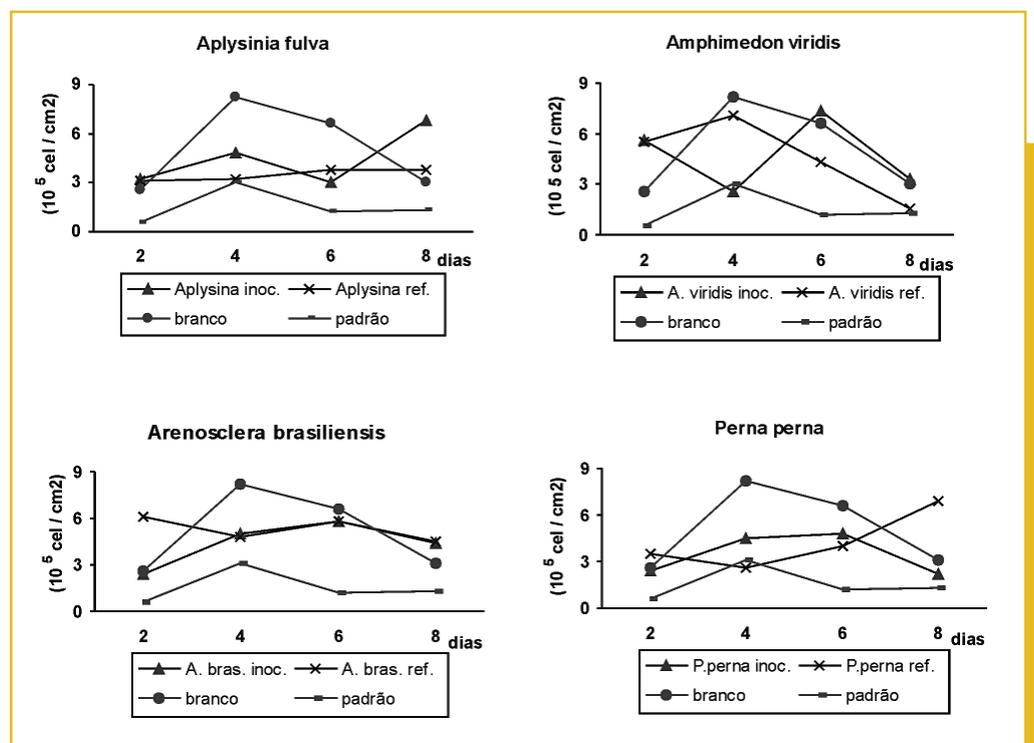


Figura 4 - Total de microorganismos aderidos nos extratos em comparação aos controles branco e padrão.



em todas as comparações uma menor adesão (Figura 4).

A avaliação dos dados estatísticos demonstrou que os extratos que possuíam indícios de PAF-análogos não apresentaram uma ação antiincrustante comparável ao controle do padrão, um PAF-análogo comercialmente disponível, porém acredita-se que a concentração de tais compostos no extrato tenha sido inicialmente superestimada, o que pode ter ocasionado um resultado não significativo. Porém, em relação ao padrão de PAF-análogo utilizado, o mesmo mostrou-se eficaz como um agente inibidor da adesão bacteriana, o qual apresentou, em

comparação ao branco de reagentes, uma menor adesão de bactérias gram-negativas. Contudo, nada se pode inferir sobre o mecanismo da ação inibidora, ou seja, se ela ocorreu por ação surfactante ou por sinalização celular. Por outro lado, devido à diminuta quantidade de adesão das cianobactérias e diatomáceas, não foi possível fazer qualquer avaliação relacionada a estes microorganismos. Para isto, devemos atentar para um maior tempo de imersão dos experimentos, permitindo que tal adesão venha a ocorrer, possibilitando assim obter uma maior quantidade de dados relacionados a estes microorganismos.

Por último, a utilização de um composto análogo ao PAF como um agente antiincrustante apresenta-se como uma promissora perspectiva na substituição do TBT, pois ao contrário de outros biocidas naturais já pesquisados, o mesmo apresenta uma molécula de fácil síntese e sua possível atuação como um mediador celular pode torná-lo mais eficaz em menores concentrações e permitir que o mesmo atue seletivamente na membrana citoplasmática dos microorganismos da bioincrustação, de modo que tal substância poderá apresentar-se como um produto antiincrustante economicamente viável e principalmente ambientalmente correto.

Estudos Oceanográficos

www.emgepron.com.br

Levantamentos Hidrográficos e Geofísicos

Oceanografia e Ciências Ambientais

Geo-informação

Auxílio à Navegação

EMGEPRON
EMPRESA GERENCIAL DE PROJETOS NAVAIS