



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**INSTITUTO DE CIÊNCIAS DO MAR**  
**CURSO DE CIÊNCIAS AMBIENTAIS**

HÊMILLY PRAXEDES SILVA

ESTUDO DO POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO DE PIGMENTOS EXTRAÍDOS DE  
BACTÉRIAS ISOLADAS DE AMBIENTES DA CAATINGA E COSTEIRO (CEARÁ,  
BRASIL)

FORTALEZA

2016

HÊMILLY PRAXEDES SILVA

ESTUDO DO POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO DE PIGMENTOS EXTRAÍDOS DE  
BACTÉRIAS ISOLADAS DE AMBIENTES DA CAATINGA E COSTEIRO (CEARÁ,  
BRASIL)

Monografia apresentada ao Curso de graduação em Ciências Ambientais do Instituto de Ciências do Mar (LABOMAR) da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Ciências Ambientais.

Orientadora: Profa. Dra. Oscarina Viana de Sousa.

Co-orientadora: Dra. Fátima Cristiane Teles de Carvalho

FORTALEZA

2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

- S58e Silva, Hêmilly Praxedes.  
Estudo do potencial biotecnológico de pigmentos extraídos de bactérias isoladas de ambientes da Caatinga e Costeiro (Ceará, Brasil) / Hêmilly Praxedes Silva. – 2016.  
45 f. : il. color.
- Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Instituto de Ciências do Mar, Curso de Oceanografia, Fortaleza, 2016.  
Orientação: Profa. Dra. Oscarina Viana de Sousa.  
Coorientação: Profa. Dra. Fátima Cristiane Teles de Carvalho.
1. Pigmentos. 2. Bactérias. 3. Caatinga. 4. Ambiente Costeiro. I. Título.

CDD 551.46

---

HÊMILLY PRAXEDES SILVA

ESTUDO DO POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO DE PIGMENTOS EXTRAÍDOS DE  
BACTÉRIAS ISOLADAS DE AMBIENTES DA CAATINGA E COSTEIRO (CEARÁ,  
BRASIL)

Monografia apresentada ao Curso de graduação em Ciências Ambientais do Instituto de Ciências do Mar (LABOMAR) da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Ciências Ambientais.

Aprovada em: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_\_\_.

BANCA EXAMINADORA

---

Prof. Dr<sup>a</sup>. Oscarina Viana de Sousa  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof. Dr. Márcia Barbosa de Sousa  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof. Dr. Francisca Gleire Rodrigues de Menezes  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

A Deus.

que me concedeu o dom da vida.

Minha Mãe e meu irmão que são meu porto  
seguro.

A meu avô (*In memoriam*) que sempre me  
amou verdadeiramente.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por me conceder o dom da vida, para que assim pudesse realizar esse trabalho.

A minha Mãe e amiga Zaide Praxedes, por acreditar no meu potencial e sempre me incentivar a ser melhor, muito obrigada mãe te amo!

A meu Irmão Jota Nogueira por todo amor que me dá e por sempre cuidar de mim. Te amo muito irmão!

A meu Avô Jonas Ribeiro Dantas(*In Memoriam*) por ter me amado e me ensinado o valor das coisas simples. Te amei, te amo e te amarei para sempre!

A Willame Gomes, meu noivo que com muito amor e companheirismo sempre me motivou a lutar pelos meus sonhos. Que sempre esteve comigo nos meus altos e baixos. E que sempre vê o lado mais bonito do meu ser. Muito obrigada meu amor, amo você!

Aos meus amigos de vida Bárbara Rocha e Amaurílio Oliveira por sempre torcerem por mim e ficarem felizes com todas as minhas conquistas.

Aos meus amigos de Jornada Anderson Tavares, Clara Bindá, Izabelle, Lucas Fontenelle, Marcelo Rebouças, Mariana Fernandes, Viviane Tomaz e Rubson Mateus, por toda amizade verdadeira durante minha graduação, a todos os momentos de alegrias, companheirismo, tristezas e vitórias que passamos juntos, vocês fazem parte da minha conquista também. Com cada um aprendi muito.

A Cristiane Teles, minha mãe de laboratório que me ensinou o máximo que pôde, sempre com paciência e muita dedicação, me deu muito carinho e soube me compreender sempre e me ajudou em todos os momentos que precisei. Agradeço a Deus por ter ganhado essa mãe tão maravilhosa!

A meu irmão de laboratório Daniel Rodrigues, pelos ensinamentos de laboratório, amizade e carinho.

A minha irmã de laboratório Jade Abreu que se mostrou irmã de verdade em vários momentos, que me ajudou quando precisei, dividiu suas comidinhas comigo e que sempre me fez sorrir, descobrimos juntas que temos muito mais coisa em comum do que pensávamos. Obrigada por tudo, irmã.

A minha irmã de laboratório Sandra Rebeca que foi indispensável para a conclusão do meu trabalho. Me ajudou na hora que fiquei insegura e me motivou a continuar, além de me ajudar com sua cabeça pensante. Muito obrigada Rebequinha!

A Rosa Helena e Marina Rodriguez e Gleire Menezes que como tias de laboratório sempre foram dispostas a me ajudar sempre que precisei. Obrigada rosinha, gleirinha e marinita!

A todos os amigos e integrantes do LAMAP, pois creio que todo integrante do laboratório tenha ajudado de alguma maneira na realização desse trabalho.

A minha orientadora mais cocota que existe Oscarina Viana, que acreditou em mim e me deu a oportunidade de poder viver uma nova experiência no mundo da microbiologia. Por acreditar e investir em mim e por me acolher e me fazer parte da família. Sempre dissestes que era madrastra, mas para mim seu coração é de uma verdadeira mãe, que ama, acolhe, repreende e ensina o caminho. Meu mais verdadeiro obrigada.

À Prof<sup>a</sup>. Regine Vieira, por me permitir fazer parte da família LAMAP e acolher todos nós como seus filhos, netos e bisnetos.

À Eunice Menezes, secretária do curso de Ciências Ambientais por sempre se mostrar disposta a ajudar e fazer o possível para resolver nossos problemas.

A CAPES pela concessão da bolsa para pesquisa.

Ao LABOMAR por ter permitido a pesquisa e todos os anos de estudo.

Aos professores do LABOMAR, que contribuíram para a minha formação, Danielle Garcez, Kamila Mendonça, Sandra Santaella, Geraldo Ferreira, Caroline Feitosa, Eduardo Sávio, Juliana Barroso, Marcus Vinicius, Marcelo Soares e Oscarina Viana. E a todos os professores que passaram por minha vida e me ajudaram a trilhar a estrada do conhecimento.



“Uma mente que se abre a uma nova ideia  
Jamais voltará ao seu tamanho original.”  
(Albert Einstein).

## RESUMO

Os pigmentos são substâncias que absorvem a luz no espectro do visível, alguns podendo absorver até todos os comprimentos de onda de luz. Em células bacterianas, pigmentos conferem um efeito protetor frente à ação deletéria da radiação ultravioleta (UV). Essa característica em pigmentos bacterianos confere interesse como uma potencial alternativa as substâncias fotoprotetoras usadas em produtos cosméticos e que apresentam efeitos tóxicos no ambiente. Entre esses pigmentos produzidos, os carotenóides conferem às colônias bacterianas cores que vão desde o amarelo até o vermelho intenso. Porém, ainda existem poucas informações disponíveis sobre a diversidade e potencial biotecnológico desses pigmentos bacterianos. Este trabalho teve como objetivo avaliar o potencial efeito fotoprotetivo de pigmentos extraídos de bactérias isoladas de ambientes da caatinga e região costeira do estado do Ceará. Foram selecionadas dezenove (19) estirpes bacterianas pertencentes à bacterioteca do Laboratório de Microbiologia Ambiental e do Pescado (LAMAP). As cepas foram repicadas para tubos de ensaio contendo ágar Triptona Soy Agar (TSA) com adição de 3% de glicerol e incubadas por 24h\35°C para verificação da produção de pigmentos. Dentre as cepas selecionadas, as bactérias Gram-negativas (63%) se sobressaíram sobre as bactérias Gram-positivas (37%). Quando as cepas foram expostas a radiação ultravioleta por diferentes períodos de tempo, 15,8% dessas cepas mantiveram sua capacidade de crescimento por até 15 minutos de exposição. Os pigmentos foram extraídos usando o método de solventes orgânicos (Acetona/ Acetato de Etila) e logo em seguida usados para testar a atividade antimicrobiana usando as cepas bacterianas indicadoras: *E. coli* (ATCC25922), *Pseudomonas* sp.(ATCC27853), *S. aureus* (ATCC25923). Os pigmentos não apresentaram atividade inibidora de crescimento bacteriano frente às bactérias indicadoras. Também foi testado o efeito fotoprotetivo sobre uma terceira bactéria (*E. coli*) não produtora de pigmento. A maioria dos pigmentos foi capaz de proteger a *E. coli* contra os efeitos deletérios da exposição à radiação UV. Esse estudo é um passo inicial no conhecimento do potencial biotecnológico de pigmentos bacterianos originários da região nordeste caracterizado por elevado índice de insolação. Esse conhecimento contribui com o desenvolvimento de novas tecnologias e produtos fotoprotetivos com efeitos menos adversos para o ambiente.

**Palavras-chave:** radiação ultravioleta, carotenóides, efeito protetor.

## ABSTRACT

Pigments are substances which absorb the light on visible spectrum in one or more wavelengths. In bacterial cells, pigments confer a protective effect against ultraviolet radiation (UV) damages. This characteristic confer to pigments an alternative to substitute photoprotective substances used in cosmetic products which show environmental toxic effects. Among the pigments produced, the carotenoids confer to bacterial cell colors since yellow to deep red. However, there is little information about diversity and biotechnological potential of bacterial pigments. Thus, the aim of this research was to evaluate the potential of photoprotective effect of pigments extracted of bacterial strains isolated from caatinga biome and coastal zone of state of Ceará. In order to achieve this goal, nineteen bacterial strains were selected from bacterial collection of Fish and Environmental Microbiology Lab (LAMAP). Strains were inoculated on Tryptic Soy Agar (TSA) added by glicerol 3% e incubated at 35°C for 24 h to verify the pigment formation. Among the chosen strains, Gram -negative bacterial (63%) were more identified than Gram-positive bacteria (37%). When strains were exposed to ultraviolet radiation for different times, 15,8% of these strains showed growth capacity for 15 minutes of UV exposition. The pigments were extracted using the organic solvent method (Acetone / Ethyl Acetate) and then used to test antimicrobial activity using bacterial indicator strains: *E. coli* (ATCC25922), *Pseudomonas* sp. (ATCC27853), *S. aureus* (ATCC25923). There was no bacterial growth inhibitory activity by pigments against the bacterial indicators. Photoprotective effect on a third non-pigment-producing bacterium (*E. coli*) was also tested. Most pigments were able to protect *E. coli* against UV radiation damages. This research is an initial step in the knowledge of the biotechnological potential of bacterial pigments originating in the northeastern region characterized by high insolation index. This knowledge contributes to the development of new photoprotective technologies and products with less adverse effects on the environment.

Keywords: Ultraviolet radiation, carotenoids, protective effect

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	– Aspectos sobre os pigmentos bacterianos.....	18
Figura 2	–Estrutura dos principais carotenóides.....	19
Figura 3	–Teste in vitro para avaliar capacidade de proteção de pigmentos bacterianos contra ação da radiação UV.....	26
Figura 4	– Fluxograma do Processo de Extração de Pigmento.....	27
Figura 5	–Modelo de diluições de extratos de pigmentos na placa de petri com crescimento bacteriano.....	28
Figura 6	–Teste do efeito fotoprotetivo de pigmentos bacterianos em terceiros.....	29
Figura 7	–Resultado do teste de exposição a radiação UV das estirpes C6 E P8A.....	32
Figura 8	–Resultado do teste de difusão em ágar por meio de poços.....	34
Quadro1	– Classificação e principais características dos grupos de pigmentos carotenóides.....	22

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1	– Estirpes bacterianas utilizadas neste trabalho com suas respectivas numerações.....	24
Tabela 2	– Coloração dos pigmentos produzidos pelas cepas testadas.....	30
Tabela 3	– Resultado do crescimento microbiano após exposição a radiação ultravioleta em diferentes períodos de tempo.....	31
Tabela 4	– Resultado da atividade bactericida dos pigmentos oriundos dos isolados da praia do Meireles e solo da caatinga frente a cepas padrão.....	33
Tabela 5	–Resultado do efeito protetivo dos extratos de pigmentos bacterianos das estirpes oriundos dos isolados da praia do Meireles e solo da caatinga sobre a cepa padrão <i>E. coli</i> (ATCC25922).....	35

## **LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

LAMAP	Laboratório de Microbiologia Ambiental e do Pescado
TSA	Ágar Triptona Soja
UV	Ultravioleta
Nacl	Cloreto de sódio
°C	Graus Celcius
BHI	Brain heart Infusion

## SUMÁRIO

1	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	14
2	<b>OBJETIVOS</b> .....	16
2.1	Objetivos específicos.....	16
3	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b>	
3.1	<b>Pigmentos Microbianos</b> .....	17
3.2	<b>Estrutura</b> .....	18
3.3	<b>Classificação</b> .....	19
3.3.1	<i>Carotenóides</i> .....	19
3.3.2	<i>Betacaroteno</i> .....	20
3.3.3	<i>Licopeno</i> .....	20
3.3.4	<i>Luteína e Zeaxantina</i> .....	20
3.4	<b>Funções Biológicas na célula</b> .....	21
3.4.1	<i>Atividade pro vitamínica</i> .....	21
3.4.2	<i>Fotoproteção</i> .....	21
3.5	<b>Aplicações</b> .....	22
3.5.1	<i>Indústria</i> .....	23
3.5.2	<i>Bioindicadores</i> .....	23
4	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b>	
4.1	<b>Origem dos isolados bacterianos</b> .....	24
4.2	<b>Caracterização dos isolados</b> .....	24
4.3	<b>Teste da produção de pigmento</b> .....	25
4.4	<b>Teste de Resistência à Radiação UV</b> .....	25
4.5	<b>Extração de Pigmentos Bacterianos</b> .....	26
4.6	<b>Teste de Atividade bactericida dos pigmentos bacterianos</b> .....	27
4.7	<b>Teste do efeito fotoprotetivo de pigmentos</b> .....	28
5	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	
5.1	<b>Teste de Resistência à Radiação UV</b> .....	30
5.2	<b>Teste de Atividade bactericida dos pigmentos bacterianos</b> .....	32
5.3	<b>Teste do efeito fotoprotetivo de pigmentos</b> .....	34
6	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	37
7	<b>CONCLUSÃO</b> .....	38
8	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	39

## 1 INTRODUÇÃO

Os pigmentos exercem um papel importante em vários processos moleculares e fisiológicos de microrganismos, como a fotossíntese, sobrevivência ao dano oxidativo e resistência à radiação. Em seres humanos, a radiação ultravioleta (UV) provoca queimaduras, bronzeamento, envelhecimento prematuro da pele e rugas e sua exposição exacerbada leva ao câncer de pele (NARAYANAN *et al.*, 2010). Por conta disso, existe uma busca por substâncias com potencial fotoprotetor como os pigmentos microbianos (CARDONA-CARDONA, *et al.*, 2010).

Existe uma grande variedade de pigmentos sintéticos e naturais disponíveis. O interesse nos pigmentos sintéticos vem reduzindo devido as suas propriedades tóxicas, carcinogênica e teratogênica são mesmo tempo em que maior atenção tem sido dada as fontes microbianas como uma alternativa mais segura. Os pigmentos naturais são representados principalmente pelos carotenóides e flavonóides. Já existe uma exploração comercial para pigmentos produzidos por espécies de algas, fungos e bactérias (VENIL *et al.*, 2014, KUMAR *et al.*, 2015).

Os corantes sintéticos além de encadear problemas à saúde dos consumidores, também acabam causando impactos no meio ambiente. Em ambientes marinhos podem interferir na absorção da luz pelos vegetais e animais do ambiente aquático, provocando modificações nas atividades fotossintetizantes da biota aquática (ZANONI; CARNEIRO, 2001).

A natureza não tóxica e não patogênica dos pigmentos microbianos tem proporcionado sua aplicação em diferentes áreas como corantes, suplementos alimentares e aplicações nutraceutica; eles também são usados com finalidades médicas, cosméticas e biotecnológicas (KIRTI *et al.*, 2014, CARDONA, 2010, WACKERBARTH *et al.*, 2009).

Estudos anteriores já identificaram uma série de pigmentos carotenoides produzidos por microrganismos como leveduras *Phaffia rhodozyma*, microalga *Dunaliella salina* e bactéria *Rhodotorula*, com destaque para a astaxantina,  $\beta$ -caroteno, cantaxantina, toruleno e licopeno (PARAJÓ; SANTOS.; VÁZQUEZ, 1998, HEJAZI; HOLWERDA; WIJFFELS, 2004, LIU; WU; HO, 2006, LI; YUAN; HU, 2008, MALISORN; SUNTORNSUK, 2008).

Outros pigmentos como a melanina também é encontrada em bactérias, fungos, plantas e animais. Nos organismos, esse pigmento age como um fotoprotetor natural, pois filtra a radiação UV e elimina espécies reativas de oxigênio, assim minimizando os danos



causados pela radiação UV (GENG *et al.*,2008).

Uma das aplicações interessantes desses pigmentos naturais é como alternativa as substâncias fotoprotetoras comercializadas que minimizam os danos causados pela radiação ultravioleta em humanos. Entretanto, esses produtos também podem acarretar impactos biológicos em ambientes aquáticos, como o estresse ecossistêmico, somado a outros fatores que já causam impactos nesses sistemas, como mudanças climáticas, eutrofização e sobrecarga pesqueira (GENG, *et al.*,2008, GAY;THOMAS;HUTCHINSON, 2014).

## **2 OBJETIVOS**

O objetivo foi estudar o potencial biotecnológico de pigmentos extraídos de bactérias isoladas em ambiente de Caatinga e Costeiro (CEARÁ/BRASIL).

### **2.1 Objetivos Específicos**

1. Extrair os pigmentos de bactérias de dois diferentes biomas: caatinga e região costeira
2. Determinar o efeito antimicrobiano dos pigmentos sobre bactérias
3. Avaliar o efeito de fotoprotetivo dos pigmentos extraídos sobre cepas bacterianas não produtoras.

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 Pigmentos Microbianos

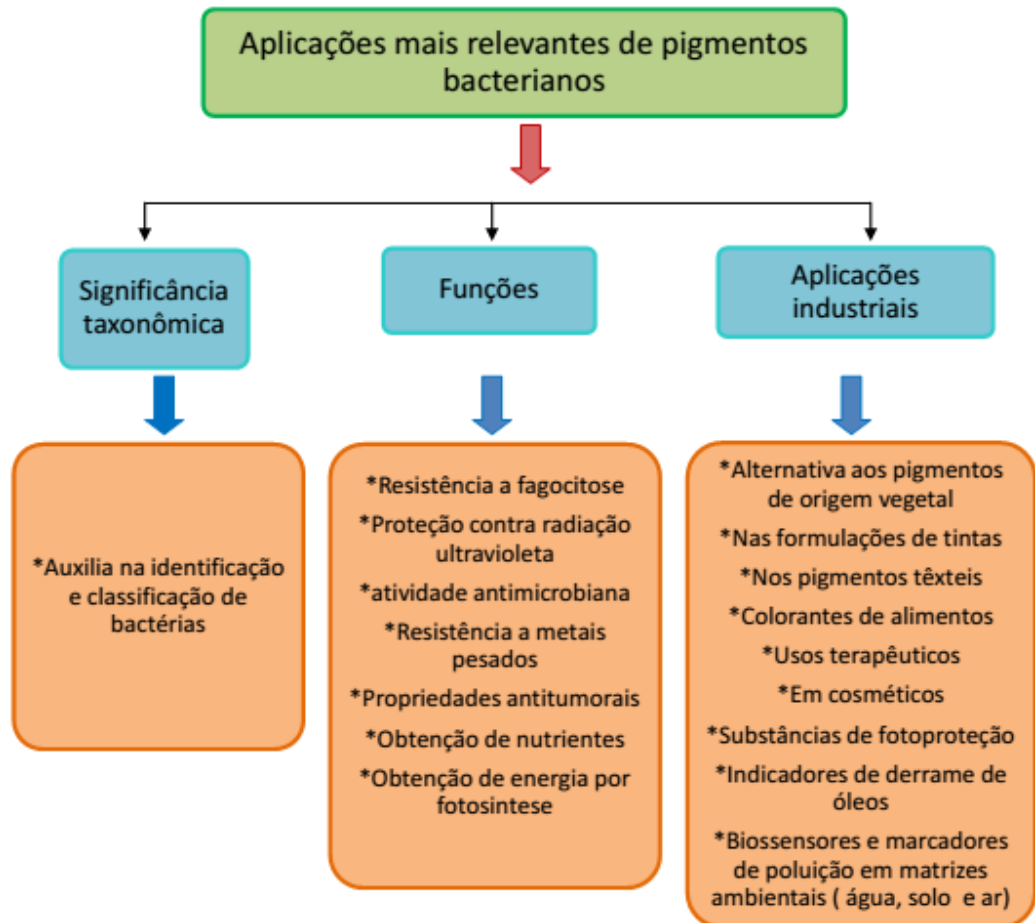
Os microrganismos são organismos de fácil análise, seleção, conservação, modificação genética, possuem elevada velocidade de crescimento e variadas funções (GÓMEZ-MARÍN *et al.*, 2007).

Alguns microrganismos específicos apresentam capacidade de produção de pigmentos, utilizados para os mais diversos fins. Devido ao crescimento do consumo de produtos naturais houve um aumento nas formas de produção biotecnológica de pigmentos microbianos (DA CRUZ FILHO; TEIXEIRA, 2006). Entre esses pigmentos produzidos, os carotenóides são os mais significativos e conferem às bactérias cores que vão desde o amarelo até o vermelho intenso (KHACHIK *et al.*, 1997). Esse tipo de pigmento desempenha um importante papel nos processos fotossintéticos pela proteção de dados pela radiação e conferindo resistência a danos oxidativos devido à produção de formas ativas de oxigênio. Tradicionalmente vem sendo utilizados como ferramenta taxonômica para identificação e classificação de algas, fungos e bactérias (KHACHIK *et al.*, 1997; HORST; MORENO, 2009).

Os pigmentos púrpuros (violaceína) e azuis (indigoidina) são menos comuns na natureza, mas também são produzidos por bactérias como espécies dos gêneros *Chromobacterium*, e *Iodobacter* produtoras de violaceína e *Erwinia*, *Arthrobacter*, *Corynebacterium* produtoras de indigoidine (MOSS, 2002).

O interesse da comunidade científica pelos pigmentos microbianos é baseado no seu papel em estudos taxonômicos e no potencial biotecnológico (Figura 1)

Figura 1. Aspectos sobre os pigmentos bacterianos. Venil *et al.* (2014) adaptado.



### 3.2 Estrutura

Os carotenoides representam o grupo de pigmentos naturais mais importantes devido principalmente a suas variadas funções e diversidade estrutural (RIBEIRO; SERAVALLI,2004). São formados por tetraterpenoides de 40 carbonos ligados por 8 unidades isoprenoides C5 opostas no centro da molécula (VALDUGA, 2009).

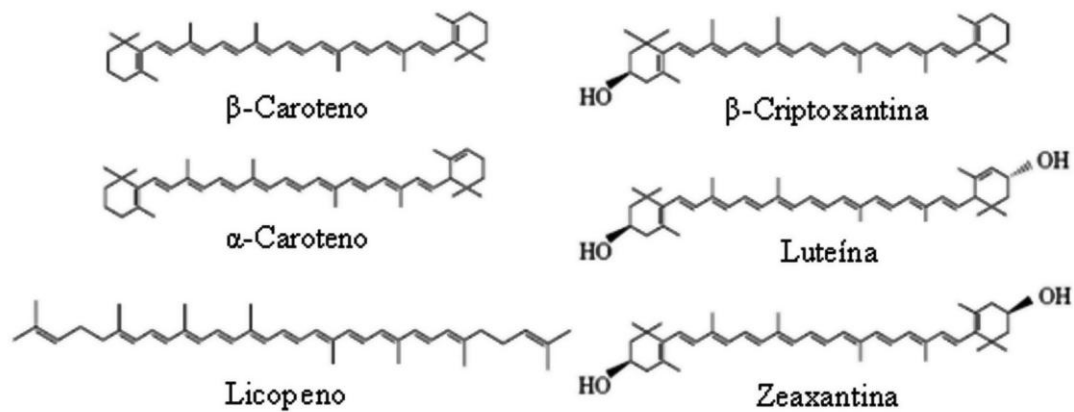
A estrutura dos carotenóides é apresentada por cadeias longas e com duplas ligações entre carbonos com simetria bilateral. O aparecimento de ligações duplas conjugadas propicia a isomerização da forma cis para a trans, sendo a última mais estável e mais comum em plantas (RIBEIRO; SERAVALLI,2004).

Os vários compostos são produzidos necessariamente por modificações em uma

estrutura básica, principalmente com formação de anéis nas margens e pela adição de átomos de oxigênio, que fornece as características de cor e capacidade antioxidante (RAO; RAO, 2007). Existem duas classes de carotenóides mais fáceis de se encontrar na natureza: os carotenos, altamente apolares, formados apenas por carbono e hidrogênio, hidrocarbonados como o  $\beta$ -caroteno e o licopeno, e as xantofilas, carotenóides oxigenados ou polares como a luteína e zeaxantina, que apresentam, além de carbono e hidrogênio, oxigênio em sua estrutura (VALDUGA, 2009).

Na figura 2 é possível observar a estrutura química dos principais carotenóides encontrados.

Figura 2. Estrutura química dos principais carotenóides.



Fonte: Krinsky e Johnson, 2005.

### 3.3 Classificação

#### 3.3.1 Carotenóides

Existem em torno de 750 tipos de carotenóides encontrados na natureza (GOMES, 2007). Os carotenóides conferem cores aos alimentos do amarelo ao vermelho. Esse tipo de pigmento pode ser dividido em classes: betacaroteno, licopeno, luteína e zeaxantina. (AMBROSIO *et al.* 2006).

### 3.3.2 *Betacaroteno*

O  $\beta$ -caroteno é um pigmento carotenóide amarelo também intitulado como pigmento pró-vitâmico A. Para a produção desse composto são utilizados alguns microrganismos, como *Blakeslea trispora*, *Mucor circinelloides*, *Phycomyces blakesleeanus* (KUMAR *et al.*, 2015). Em bactérias, esse tipo de pigmento pode ser produzido por grupos halofílicas, que conseguem sobreviver em ambientes com concentração salina extrema, como as Arqueas halófilas (ESQUERRE *et al.*, 2014). Esse tipo de pigmento é encontrado comumente em plantas, micro algas e macro algas (DERNER,2006).

Presente principalmente em vegetais (frutos e folhas) amarelos, alaranjados e vermelhos (AMBROSIO *et al.*, 2006). Na dieta humana, aumenta a resposta imunológica e reduz o risco de doenças crônicas não transmissíveis, como câncer e doença cardiovascular; prevenção da cegueira noturna e melhora da acuidade visual (DERNER,2006).

### 3.3.3 *Licopeno*

O licopeno é um pigmento carotenóide não oxigenado que apresenta estrutura acíclica e simétrica com 11 ligações duplas conjugadas (RAO, 2002). Atualmente apresenta atividade antioxidante, protege as moléculas contra a ação deletéria dos radicais livres e não possuem a capacidade pró-vitâmica A (SHAMI; MOREIRA, 2004). O licopeno é o pigmento responsável pela coloração avermelhada e se apresenta como um bom agente anticancerígeno e imunológico (RAO, 2002).

### 3.3.4 *Luteína e Zeaxantina*

São característicos de pigmentos amarelos e verde-escuros, possuem capacidade antioxidante que previne danos nos tecidos causados principalmente por radicais livres (STRINGHETA *et al.*,2009). Possuem a capacidade de proteção contra o desenvolvimento de doenças oftalmológicas (catarata e degeneração macular) porque absorvem a luz azul prejudicial que entra no olho, retinopatia diabética e câncer (KRINSKY; JOHNSON, 2005). Possuem uma estrutura química muito parecida, tornando difícil a diferenciação de cada uma analiticamente, possuem o mesmo número de ligações duplas na cadeia, entretanto há uma diferença na posição de uma dessas duplas ligações no anel. Essa diferença torna a zeaxantina um melhor antioxidante por apresentar uma dupla ligação conjugada a mais do que a luteína (STRINGHETA *et al.*,2009).

### 3.4 Funções Biológicas na célula

#### 3.4.1 Atividade pró-vitamínica A

Para que os pigmentos carotenóides apresentem características de atividade pró-vitamínica A, deve-se apresentar em sua estrutura ao menos um anel  $\beta$ -ionona não substituído e uma cadeia lateral poliênica ligada (OLSON, 1997). É uma vitamina importante nos processos metabólicos de crescimento, desenvolvimento, manutenção de tecidos epiteliais, reprodução, sistema imunológico e antioxidante (AMBROSIO, 2006; SILVA *et al.* 2007).

Os carotenóides possuem função pró-vitamínica e exercem um papel fundamental na manutenção, crescimento e diferenciação dos tecidos epiteliais. (ALEMZADEH; FEEHAN, 2004; SUSAN *et al.*, 2007). O carotenóide com a principal atividade pró-vitamínica é o  $\beta$ -caroteno, que apresentou 100% de eficiência na conversão, uma vez que sua clivagem resulta, em última instância, em 2 molécula de vitamina (HORST; MORENO, 2009). Esse carotenoide por consequência também atua na função de proteção da pele (AMBROSIO, 2006).

#### 3.4.2 Fotoproteção

Os pigmentos são substâncias que absorvem luz visível, alguns absorvem até todos os comprimentos de onda de luz. Em células bacterianas, esses pigmentos conferem um efeito protetor frente à ação deletéria da luz visível e ultravioleta (UV), que por consequência gera reações químicas e biológicas intituladas de estresse foto-oxidativo (STAHL; SIES, 2007). Várias moléculas podem ser afetadas por danos foto-oxidativos, como lipídios, proteínas e DNA, gerando o envelhecimento precoce da pele, eritema (vermelhidão) e câncer de pele (STAHL; SIES, 2007).

Os protetores têm como objetivo proteger contra as radiações, tornando a melhor forma de proteção contra o fotoenvelhecimento e o câncer de pele (DA SILVA CABRAL *et al.*, 2011). Agem como agentes que minimizam os efeitos deletérios dos raios UV através da absorção, da reflexão ou da difusão dos raios incidentes (NASCIMENTO; SANTOS; AGUIAR., 2013).

O  $\beta$ -caroteno também é utilizado no tratamento de doenças causadas pela exposição aos raios UV, como reações alérgicas, urticária solar, erupções polimórficas, entre outras (BAYERL, 2008). Outro composto carotenóide que apresenta função fotoprotetora é o licopeno, que através das suas propriedades químicas e biológicas exercem também a função.

(HORST; MORENO, 2009).

Existem dois grupos estruturais mais conhecidos de pigmentos carotenóides são: carotenos e xantofilas, estes dois grupos podem ser subdivididos em sete subgrupos. No quadro 1 estão descritos esses grupos com suas características estruturais e principais pigmentos.

Quadro 1: Classificação e principais características dos grupos de pigmentos carotenoides.

Grupo	subgrupo	Característica estrutural	Pigmentos	Referencia
Caroteno	Hidrocarbonetos	Apresenta apenas átomos de carbono e hidrogênio em sua estrutura	Carotenos, licopenos	Moraes, 2006
	Álcoois	Apresenta grupo hidróxila (OH-) agrupados aos anéis iononas de cadeia.	Luteína zeaxantina	
	Cetonas	Apresenta grupo carbonilas ligados aos anéis iononas.	-	
	Epóxidos	Apresentam oxigênio entre carbonos formando ciclos.	-	
	Éteres	Apresenta oxigênio entre carbonos.	-	
	Ácidos	Apresenta grupo carboxila ligados na extremidade da cadeia carbônica.	-	
	Ésteres	Apresenta grupo carboxil entre carbonos.	-	

### 3.5 Aplicações

Os carotenóides são um grupo importante de pigmentos naturais com aplicações específicas como corantes, suplementos alimentares, fins biotecnológicos, produção de



cosméticos, entre outros (KIRTI *et al.*, 2014).

### **3.5.1 Indústria**

Nos últimos anos, a produção de pigmentos naturais teve um aumento significativo, devido principalmente aos problemas de toxicidade causados pelos pigmentos sintéticos. A produção de pigmentos sintéticos envolve muitos carcinogênicos, o que desvaloriza o investimento e o consumo desses produtos (KUMAR *et al.*, 2015).

Por conta desses fatores a indústria tem investido amplamente na produção de pigmentos naturais, derivados de plantas e microrganismos, entretanto a produção de pigmentos por plantas também apresentam algumas desvantagens, por não serem biodegradáveis, possuírem instabilidade contra a luz e calor, baixa solubilidade em água e não se encontram disponíveis durante todo o ano (KUMAR *et al.*, 2015). Por conta disso existe um maior interesse na produção de pigmentos microbianos baseado principalmente na estabilidade de produção e a grande disponibilidade de tecnologias para o cultivo.

A fermentação é o método mais rápido e produtivo em comparação aos outros utilizados pela indústria, tornando-se cada vez mais atraente devido a sua ampla gama de atividades, fácil propagação, alta versatilidade, por ser uma técnica simples e de baixo custo (VENIL; ZAKARIA; AHMAD, 2013).

Na Indústria alimentícia e farmacêutica, pigmentos derivados da fermentação como o  $\beta$ -caroteno estão sendo utilizados, apresentam bons valores nutricionais e medicinais, tais como antibióticos e antioxidantes (KUMAR *et al.*, 2015).

### **3.5.2 Biondicadores**

As bactérias pigmentadas têm sido bastante utilizadas como bioindicadores ambientais, algumas espécies de cores violetas como *Flexibacter* e *Sporocytophaga* são boas indicadoras de águas que apresentam poluição. Outras espécies de coloração azulada como *Vogesella indigofera* podem ser utilizadas como indicadores de locais contaminados por cromo. Essas bactérias em condições naturais apresentam o pigmento azul, no caso de condições de crescimento com o cromo, o pigmento azul é inibido, uma vez que esse é considerado como mecanismo de defesa da bactéria citada (KIRTI *et al.*, 2014).

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 Origem dos isolados bacterianos

Foram utilizadas 19 estirpes bacterianas nesta pesquisa pertencentes à bacterioteca do Laboratório de Microbiologia Ambiental e do Pescado (LAMAP). Para escolha das estirpes foi utilizado o critério de níveis de insolação ao qual essas estavam expostas. Com base nesse critério foram selecionadas bactérias oriundas de amostras de água, areia e musgo da praia do Meireles e do solo da Caatinga, Ceará, Brasil.

### 4.2 Caracterização dos isolados

A tabela 1 apresenta as características morfotintoriais e o local de origem dos isolados utilizados nesta pesquisa.

Tabela 1. Estirpes bacterianas utilizadas neste trabalho com suas respectivas numerações.

<b>Número</b>	<b>Origem</b>	<b>Matriz ambiental</b>	<b>Halofílica</b>	<b>Morfologia</b>
<b>C1</b>	Caatinga	solo	-	Bastonete Gram +
<b>C2</b>	Caatinga	solo	-	Bastonete Gram + esporogênico
<b>C3A</b>	Caatinga	solo	-	Bastonete Gram -
<b>C3B</b>	Caatinga	solo	-	Bastonete Gram -
<b>C3C</b>	Caatinga	solo	-	Bastonete Gram -
<b>C4</b>	Caatinga	solo	-	Bastonete Gram +
<b>C5</b>	Caatinga	solo	-	Bastonete Gram + esporogênico
<b>C6</b>	Caatinga	solo	-	Bastonete Gram + esporogênico
<b>C8</b>	Caatinga	solo	-	Bastonete Gram + esporogênico
<b>C8B</b>	Caatinga	solo	-	Bastonete Gram + esporogênico
<b>C9</b>	Caatinga	solo	-	Bastonete Gram + esporogênico
<b>C10</b>	Caatinga	solo	-	Bastonete Gram -
<b>P1</b>	Praia	água	+	Bastonete Gram -
<b>P2</b>	Praia	areia	+	Bastonete Gram +
<b>P7</b>	Praia	areia	+	Bastonete Gram + esporogênico
<b>P8A</b>	Praia	areia	+	Bastonete Gram +
<b>P8B</b>	Praia	areia	+	Bastonete Gram -
<b>P8C</b>	Praia	areia	+	Bastonete Gram + esporogênico
<b>P9</b>	Praia	musgo	+	Cocos +

A pureza dos isolados foi verificada pela técnica da coloração de Gram antes da realização de todos os testes (BARBOSA, BARBOSA,2010).

#### **4.3 Teste da produção de pigmento**

As cepas selecionadas foram repicadas para tubos de ensaio contendo ágar Triptona Soy Agar (TSA) com adição de 3% de glicerol e incubadas por 24h\35°C. A partir desse crescimento, foi verificada a presença de pigmento produzido pela bactéria.

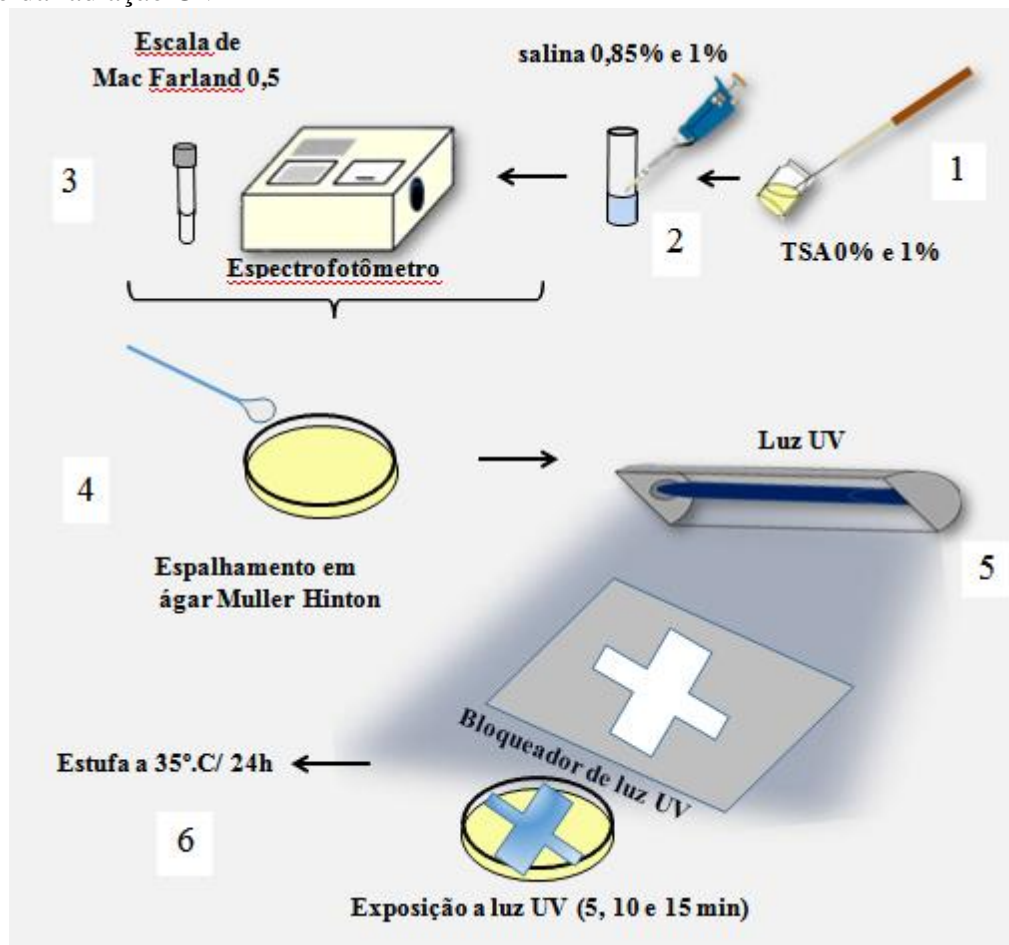
As cepas capazes de produzir pigmento foram selecionadas para o teste de resistência à ação da radiação ultravioleta (UV).

#### **4.4 Teste de Resistência à Radiação UV**

A partir do crescimento das estirpes em ágar TSA normal e com adição de 1% NaCl (24h/35°C), foram preparados inóculos com concentração de acordo com a escala de McFarland 0,5. Em seguida, com o auxílio de um swab estéril, foram inoculadas placas de Ágar Muller Hinton (0 e 1%NaCl). Na superfície do ágar foi colocado um molde vazado para bloquear a incidência de luz UV nas áreas cobertas. As placas contendo os inóculos e moldes vazados foram expostas a radiação UV em diferentes períodos de tempo (5, 10 e 15 minutos). Após a exposição, as placas foram incubadas em estufa às 24h/35°C. Foi usado como controle uma estirpe sem pigmentação (SÁBER, 2010 adaptado).

O protocolo do teste de resistência à radiação UV in vitro está exemplificado na Figura 3.

Figura 3. Teste in vitro para avaliar capacidade de proteção de pigmentos bacterianos contra ação da radiação UV



Fonte: Próprio Autor

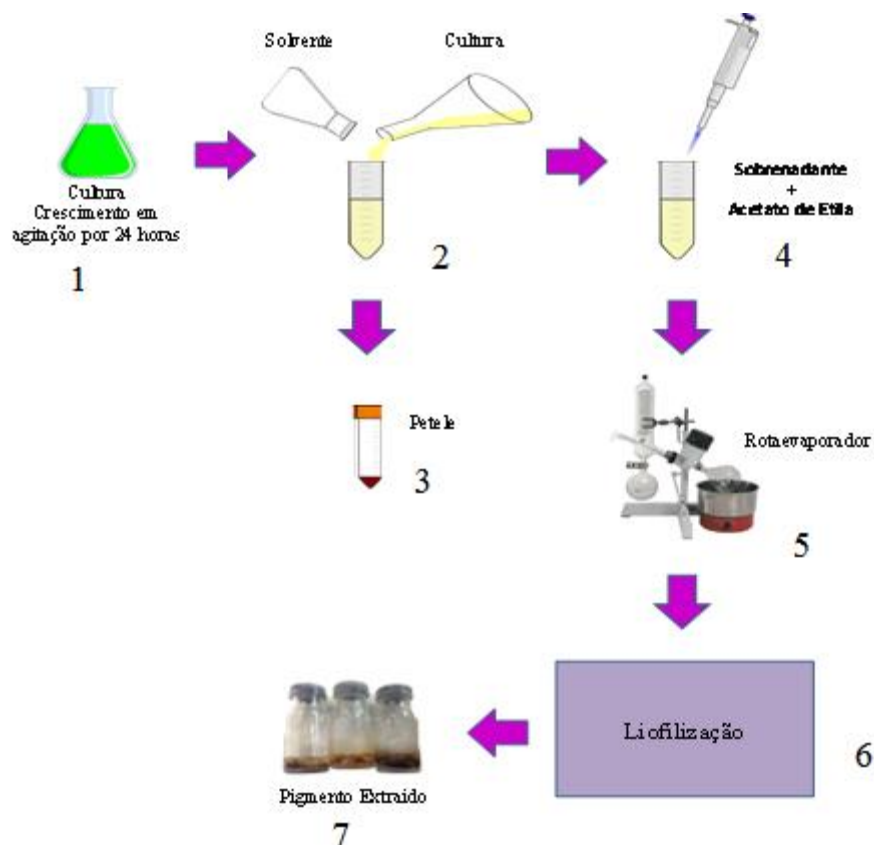
#### 4.5 Extração de Pigmentos Bacterianos

Os isolados foram crescidos em Caldo BHI a 0 e 1% de NaCl em incubadora shaker por 24 h/35°C com rotação de 100rpm. Em seguida, ao crescimento foi adicionada acetona para a dissolução dos pigmentos na proporção de 1:5. Procedeu-se centrifugação por 20 minutos a 7500rpm em temperatura ambiente. O sobrenadante foi retirado e transferido para novo tubo tipo falcon onde foi adicionado Acetato de Etila na proporção 1:5. A volatilização dos solventes foi realizada em rotaevaporador por 2h/50°C. O extrato foi concentrado por liofilização e desidratado em estufa por 3 dias/60°C.

Este teste foi baseado no protocolo de extração de pigmentos de (AHMAD,2012 Adaptado).

A Figura 4 demonstra o fluxograma do processo de extração do pigmento.

Figura 4. Fluxograma do Processo de Extração de Pigmento



Fonte: Próprio autor.

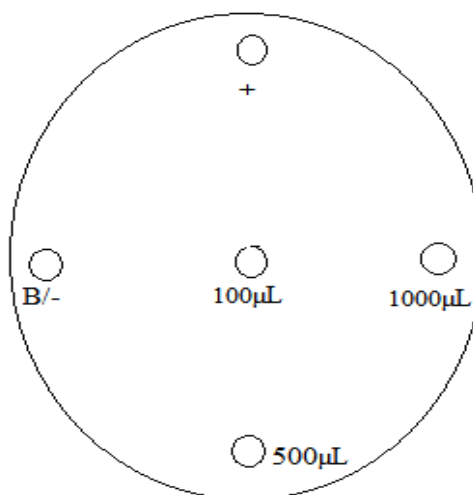
#### 4.6 Teste de Atividade bactericida dos pigmentos bacterianos

Os pigmentos extraídos foram testados para atividade antibacteriana contra três estirpes bacterianas padrões, sendo elas: *E.coli* (ATCC25922), *Pseudomonas* sp (ATCC27853), *S. aureus* (ATCC25923). As estirpes foram repicadas para um ágar TSA e incubadas 24h/35°C. A partir do crescimento, foram preparados inóculos em tubos de ensaio contendo solução salina 0,85% e 1% de NaCl até obter uma concentração de células semelhante à 0,5 na Escala de McFarland. Em seguida, com o auxílio de um *swab* estéril foram inoculadas placas contendo Ágar Peptona para a formação de um crescimento em forma de tapete.

As placas foram deixadas em repouso em temperatura ambiente por aproximadamente três minutos. Em seguida, foram feitos cinco poços com aproximadamente

6mm de diâmetro. Cada poço foi devidamente identificado e adicionado 50µL de extrato de pigmento nas concentrações de 100ppm, 500ppm e 1000ppm (Figura 5). Como controle negativo foi utilizado água destilada estéril e como controle positivo foi utilizado o antibiótico cloranfenicol em disco. Em seguida, as placas foram colocadas na estufa bacteriológica por 24h e 48h/35°C. Todo o procedimento foi realizado em duplicata. O resultado positivo no teste seria a formação de halo nos respectivos poços, mostrando que o pigmento possui atividade antimicrobiana.

Figura 5. Modelo de diluições de extratos de pigmentos na placa de petri com crescimento bacteriano.



+ = disco de cloranfenicol; B/- = controle negativo (água destilada)

#### 4.7 Teste do efeito fotoprotetivo de pigmentos

Os pigmentos foram extraídos usando solventes orgânicos (Acetona/ Acetato de Etila) (AHMAD,2012). Para realização deste teste, houve a necessidade da utilização de uma estirpe indicadora que naturalmente não produz pigmento. Sendo escolhida como indicadora para o teste uma cepa padrão de *Escherichia coli* (ATCC25922).

A *E. coli* foi crescida em caldo Peptona 24h/35°C, em seguida foi retirada uma alíquota de 200µL e transferida para um tubo contendo 600µL de solução salina 0,85%. A este tubo foi adicionado 200µL do extrato de pigmento totalizando um volume de 1000µL. O procedimento foi repetido para cada pigmento separadamente. A partir desta diluição, 200µL

foram espalhados na superfície do ágar Eosina Azul de Metilino (EMB) com o auxílio de uma alça de *drigalski*. Em seguida, as placas inoculadas foram expostas à luz UV durante 10min sem a tampa e depois desse período de exposição, elas foram incubadas por 24h/35°C. O crescimento bacteriano foi observado pela presença de colônias na superfície do ágar, sendo utilizada uma cepa de *E. coli* padrão sem adição do extrato de pigmento como controle negativo.

O protocolo do efeito protetivo dos pigmentos em terceiros está representado pela Figura 6.

Figura 6. Teste do efeito fotoprotetivo de pigmentos bacterianos em terceiros.



## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Teste Resistência a radiação UV

Quanto à origem, as cepas C1 e C6 foram isoladas de solo da Caatinga e P8A da praia. Todos apresentaram morfologia característica de bastonetes Gram positivos e a cepa C6 se mostrou esporogênica. Os pigmentos produzidos pelas cepas também eram distintos: C1 (violeta), C6 (bege) e P8A (amarelo). Stankovic *et al.* (2014) afirmaram que cepas produtoras de pigmentos, como por exemplo, a *Serratia* possuem uma predisposição maior para a resistência e radiação UV. A tabela 2 apresenta a coloração produzida pelas cepas bacterianas testadas.

Tabela 2. Cor dos pigmentos produzidos pelas cepas bacterianas testadas.

<b>Cepas</b>	<b>Coloração dos pigmentos</b>
<b>C1</b>	Violeta
<b>C2</b>	Cobre
<b>C3A</b>	Bege
<b>C3B</b>	Bege
<b>C3C</b>	Bege
<b>C4</b>	Vermelho
<b>C5</b>	Amarelo
<b>C6</b>	Bege
<b>C8</b>	Amarelo
<b>C8B</b>	Amarelo
<b>C9</b>	Branco
<b>C10</b>	Esverdeado
<b>P1</b>	Branco
<b>P2</b>	Amarelo
<b>P7</b>	Amarelo
<b>P8A</b>	Amarelo
<b>P8B</b>	Amarelo
<b>P8C</b>	Amarelo
<b>P9</b>	Vermelho



Entre os isolados, cerca de 15% (3 cepas) mostraram resistência a exposição a radiação ultravioleta, no mínimo, por 5 minutos (Tabela 3). Entre as 19 estirpes selecionadas para o teste de resistência a radiação UV apenas três apresentaram resistência à exposição ultravioleta nos períodos de tempo testados. Os resultados do teste de Resistência à radiação UV estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3. Resultado do crescimento microbiano após exposição a radiação ultravioleta em diferentes períodos de tempo.

Amostras	5 min	10 min	15 min
C1	+	-	-
C2	-	-	-
C3A	-	-	-
C3B	-	-	-
C3C	-	-	-
C4	-	-	-
C5	-	-	-
C6	+	+	-
C8	-	-	-
C8B	-	-	-
C9	-	-	-
C10	-	-	-
P1	-	-	-
P2	-	-	-
P7	-	-	-
P8A	+	+	+
P8B	-	-	-
P8C	-	-	-
P9	-	-	-

(+) = Houve crescimento microbiano; (-) = Não houve crescimento microbiano.

A cepa C1 que possui a coloração violeta foi resistente à exposição por 5 min. Segundo Pitlovanciv (2005) esse resultado pode ter ocorrido devido o pigmento violeta está envolvido na proteção contra efeitos da radiação solar sobre o microorganismo.

A estirpe C6 demonstrou resistência quando exposta a radiação ultravioleta por até 10 minutos. Vale lembrar que estirpes que apresentam características esporogênicas, como a cepa C6, são mais resistentes a elevadas temperaturas, o que pode sugerir o resultado apresentado.

A estirpe P8A produtora de pigmento amarelo apresentou resistência à radiação

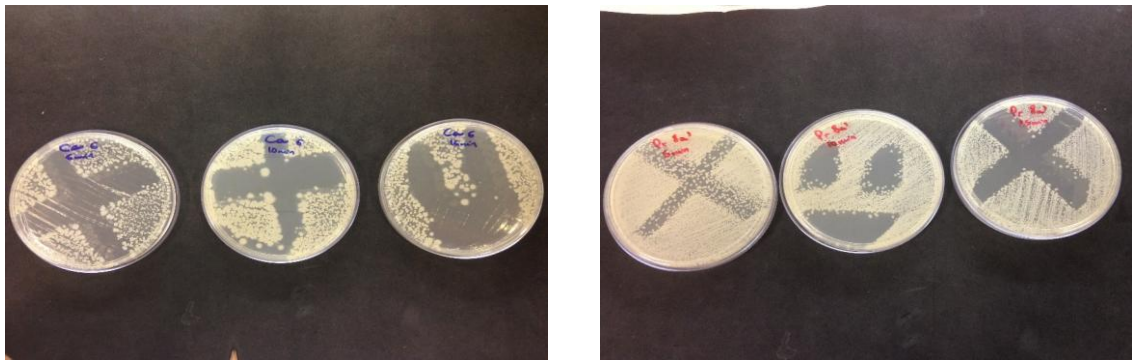
ultravioleta quando exposta por até 15 min sendo, portanto, a mais resistente. Diferente do que foi apresentado no trabalho de Sáber (2010), o pigmento amarelo foi o menos resistente a radiação ultravioleta nos períodos de tempo em comparação aos outros pigmentos.

No período em que os microrganismos são expostos à radiação ultravioleta, os pigmentos exercem a função de fotoproteção, protegendo o aparato fotossintético contra os danos causados pelo estresse oxidativo (MELLO, *et al.* 2011).

Pigmento como os carotenóides tem como função servir de proteção na dissipação de energia excedente, além de ampliar o espectro de absorção dos pigmentos primários (SANTOS, *et al.* 2011).

Resultados dos testes de resistência à radiação UV estão na Figura 7.

Figura 7. Resultados do teste de exposição a radiação ultravioleta das estirpes C6 e P8A .



## 5.2 Atividade bactericida dos pigmentos bacterianos

Alguns pigmentos também podem apresentar capacidade de inibição de crescimento de bactérias. Os resultados dos testes de atividade bactericida dos extratos de pigmentos bacterianos estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4. Resultado da atividade bactericida dos pigmentos oriundos dos isolados da praia do Meireles e solo da caatinga frente a cepas padrão.

CEPAS	<i>S. aureus</i> (ATCC25923)	<i>Pseudomonas</i> (ATCC27853)	<i>E.coli</i> (ATCC25922)	<i>Cloranfenicol</i> (+)
C1	R	R	R	S
C2	R	R	R	S
C3A	R	R	R	S
C3B	R	R	R	S
C3C	R	R	R	S
C4	R	R	R	S
C5	R	R	R	S
C6	R	R	R	S
C8	R	R	R	S
C8B	R	R	R	S
C9	R	R	R	S
C10	R	R	R	S
P1	R	R	R	S
P2	R	R	R	S
P7	R	R	R	S
P8A	R	R	R	S
P8B	R	R	R	S
P8C	R	R	R	S
P9	R	R	R	S

(R) =Resistente. (S)=Sensível.

Os resultados obtidos pelo método de difusão em ágar por poços demonstraram que nenhum dos extratos de pigmentos bacterianos das 19 estirpes testadas apresentou ação inibitória sobre as bactérias *E. coli*, *S. aureus* e *P. aeruginosa*. (Figura 8).

As cepas C1, C6 e P8A embora tenham apresentado efeito de fotoproteção no teste de resistência à radiação UV,o extrato de pigmento não apresentou a atividade bactericida.

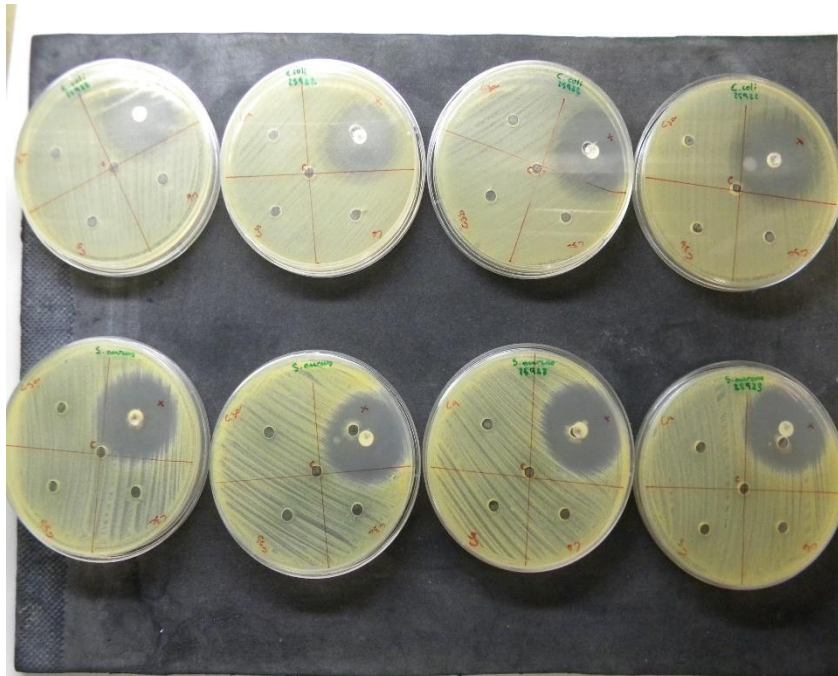
Em ensaios de atividade antimicrobiana com cepas de bactérias gram-negativas o pigmento violaceína não apresentou atividade bactericida em altas concentrações do extrato, com exceção de cepas *Pseudomonas aeruginosa* (LIMA, 2013). Entretanto, neste estudo o extrato da cepa C1 (violeta) não exerceu atividade bactericida.

No trabalho de Cantalice (2014), o teste foi realizado também com três estirpes padrões *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter sp* e foi encontrado um

resultado similar nas duas estirpes padrões que também foram utilizadas neste trabalho, *E.coli* (ATCC25922) e *Pseudomonas* (ATCC27853), elas foram resistentes e por isso não apresentaram halos.

O método de difusão em ágar por meio de poços habitualmente é utilizado para microrganismos de rápido crescimento e para alguns de crescimento lento (CONA, 2002). Para se obter um resultado significativo e confiável dos testes, se faz necessário trabalhar com uma metodologia padronizada (BAUER *et al*, 1966).

Figura 8. Resultados do teste de difusão em Ágar por meio de poços



### 5.3 Teste do efeito fotoprotetivo de pigmentos

Na tabela 5 estão apresentados os resultados do teste para avaliar o efeito protetivo dos pigmentos bacterianos sobre as células de *E. coli* não produtora de pigmentos. Quando misturadas ao pigmento das outras bactérias e expostas a radiação UV, 58 % não tiveram seu crescimento ou morfologia colonial alterados. A cepa utilizada como controle, apresentando apenas *E.coli*, não foi misturada a nenhum pigmento.

Tabela 5. Resultado do efeito protetivo dos extratos de pigmentos bacterianos das estirpes oriundos dos isolados da praia do Meireles e solo da caatinga sobre a cepa padrão *E. coli* (ATCC25922).

<b>Amostras</b>	<b>Resultado</b>
<b>(Controle)</b>	-
<b>C1</b>	+
<b>C2</b>	+
<b>C3A</b>	+
<b>C3B</b>	+
<b>C3C</b>	+
<b>C4</b>	+
<b>C5</b>	-
<b>C6</b>	+
<b>C8</b>	+
<b>C8B</b>	-
<b>C9</b>	+
<b>C10</b>	-
<b>P1</b>	+
<b>P2</b>	-
<b>P7</b>	+
<b>P8A</b>	+
<b>P8B</b>	+
<b>P8C</b>	-
<b>P9</b>	+

(+) = crescimento microbiano.

Houve crescimento de colônias bacterianas em 14 das 19 placas. No entanto, para os isolados C6, C8, C8B e C9 foi observado um efeito mutagênico provocado pela luz UV sobre as células. Nestas estirpes ocorreu uma alteração morfológica com relação às suas colônias. Em seu crescimento original, as colônias se apresentavam redondas e após a exposição à UV seu formato foi alterado.

Importante ressaltar que para os isolados C6, C8, C8B e C9 não houve alteração morfotintorial de acordo com a aplicação da técnica de coloração de Gram.

Houssaini-Iraqi *et al.* (2001) realiza o teste de efeito fotoprotetivo utilizando também pigmentos, entretanto demonstra que técnicas como a de fotoproteção de pigmentos podem ser utilizadas no meio clínico. Neste trabalho, os autores transformaram uma *E.coli*

(sem pigmento) usando plasmídeos que codifica a biogene de licopeno em *Mycobacterium aurum* A+ que passou a apresentar maior resistência à irradiação ultravioleta.

Zhang *et al* (2016) também realiza o teste de efeito fotoprotetivo usando uma *E.coli*, e obtém um resultado de fotoproteção, no qual foi estabelecido pelo pigmento melanina, que possui uma ampla absorção para UV; sobre a estirpe sem pigmentação utilizada.

## **6 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Esse estudo é um passo inicial no conhecimento do potencial biotecnológico de pigmentos bacterianos encontrados em ecossistemas (caatinga e região costeira) da região nordeste caracterizado por elevado índice de insolação durante todo o ano.

Esse conhecimento contribui com o desenvolvimento de novas tecnologias e produtos fotoprotetivos com efeitos menos adversos para o ambiente.

## 7 CONCLUSÃO

Com a realização do trabalho foi possível encontrar 15,8% de estirpes bacterianas produtoras de pigmentos que apresentam fotoproteção contra radiação ultravioleta, o que mostra um pequeno percentual em relação ao número total de isolados.

A cepa P8A isolada da areia da praia do Meireles possui o fator de fotoproteção mais elevado que as duas cepas C1 e C6 do solo da caatinga que também apresentaram fator de fotoproteção.

Com relação à atividade bactericida, os pigmentos bacterianos dos 19 extratos não apresentaram atividade inibitória sobre o crescimento das estirpes indicadoras *E.coli* (ATCC25922), *Pseudomonas* sp. (ATCC27853), *S. aureus* (ATCC25923). Entretanto 58% dos extratos de pigmentos apresentaram a atividade protetiva quando adicionados à estirpe *E.coli* (ATCC25922).



## REFERÊNCIAS

- AHMAD, W.A *et al.* Isolation of Pigment-Producing Bacteria and Characterization of the Extracted Pigments. In: Application of Bacterial Pigments as Colorant **Springer Berlin Heidelberg**, p. 25-44, 2012.
- ALEMZADEH R, F. T. Variable effects of beta-carotene therapy in a child with erythropoietic protoporphyria. **Eur J Pediatr**, v. 163, p.547-9, 2004.
- AMBRÓSIO, C. L.B *et al.* Carotenóides como alternativa contra a hipovitaminose A. **Rev. nutr**, v. 19, n. 2, p. 233-243, 2006.
- BARBOSA, F. H. F.; BARBOSA, L. P. J. L. Alternativas metodológicas em Microbiologia- viabilizando atividades práticas. **Rev. Bioterra**, v. 10, n. 2, p. 134-143, 2010.
- BAUER, A. W. *et al.* Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. **Clin. Pathol**, v. 45, n. 4, p. 493, 1966.
- BAYERL, C. Beta-carotene in dermatology: does it help? **Acta Dermatoven APA**. v. 17, n. 4, p. 160-2, 2008.
- CANTALICE, J. C. L. L. **Avaliação da atividade antimicrobiana, citotóxica e efeitos genotóxicos da prodigiosina produzida por *Serratia marcescens***. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) 216 p. Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2014.
- CARDONA-CARDONA, V. *et al.* Characterization of blue pigmented bacteria isolated from **Puerto Rico. Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology**, v. 1, p. 117-123, 2010.
- CARDONA, C. **Molecular analysis, physiological study and biotechnological capabilities of blue pigmented bacteria from Puerto Rico** (Tese), University of Puerto Rico, 2010.
- CONA, T. *et al.*; Condiciones para un buen estudio de susceptibilidad mediante test de difusión en agar. **Rev. Chil. Infect.** v. 19, p. 77-81, 2002.
- DA CRUZ FILHO, R. F.; TEIXEIRA, M. F. S. **Avaliação do potencial biotecnológico de pigmentos produzidos por bactérias do gênero *serratia* isoladas de substratos amazônicos**. Espaço Científico Livre Projetos Editoriais, 2006.
- DA SILVA CABRAL, L.D. ; DE OLIVEIRA PEREIRA, S.; PARTATA, A. K. Filtros solares e fotoprotetores mais utilizados nas formulações no Brasil. **Revista Científica do ITPAC**, Araguaína, v.4, n.3, 2011.
- DERNER, R. B. *et al.* Microalgae, products and applications. **Ciência Rural**, v. 36, n. 6, p. 1959-1967, 2006.
- ESQUERRE, C. G. *et al.* Arqueas Halófilas produtoras de Betacaroteno aisladas de las salinas solares de Huacho-Lima. **Cien. Inv. Agr**, v. 6, n. 2, p. 9-14, 2014.

GOMES, F. D.S. Carotenóides: uma possível proteção contra o desenvolvimento de câncer. **Rev. Nutr.**, v. 20, n. 5, p. 537-548, 2007.

GÓMEZ-MARÍN, A. M. *et al.* Caracterización de un pigmento naranja producido por una cepa nativa de bacillus spp. **Revista CENIC Ciencias Biológicas**, Medellín, v. 38, n. 1, p.55-61,. 2007.

HEJAZI, M. A.; HOLWERDA, E.; WIJFFELS, R. H. Milking microalga *Dunaliella salina* for beta-carotene production in two-phase bioreactors.; **Biotechnol. Bioeng.** v. 85, n. 5, p. 475-481, 2004..

HORST, M. A.; MORENO, F. S. Funções Plenamente Reconhecidas de Nutrientes Carotenoides. **ILSI Brasil: International Life Sciences Institute do Brasil**, São Paulo, v. 6, n. 1, p.3-32, 2009.

HOUSSAINI-IRAQUI, M. *et al.* Response of *Escherichia coli* containing mycobacterial carotene genes to UV radiation. **Bio. Med. Research International**, v. 1, n. 2, p. 79-84, 2001.

KHACHIK, F. *et al.* Identification, quantification, and relative concentrations of carotenoids and their metabolites in human milk and serum. **Anal Chem**, v. 69, n. 10, p. 1873-1881, 1997.

KIRTI, K. *et al.* Colorful world of microbes: carotenoids and their applications. **Advances in Biology**, v. 2014, p. 1-13, 2014.

KRINSKY, N. I.; JOHNSON, E. J. Carotenoid actions and their relation to health and disease. **Mol. Aspects . Med**, v. 26, n. 6, p. 459-516, 2005.

KUMAR, A.*et al.* Microbial pigments: production and their applications in various industries.**J. Pharm, Biol. Sci.** , v. 5, n. 1, p. 203-12, 2015.

LI Z., YUAN H., HU X. Cadmium-resistance in growing *Rhodotorula* sp. Y11. **Bioresour. Technol.** v. 99, n. 5, p. 1339-1344, 2008.

LIMA, B. de A *et al.* **Análise dos mecanismos da atividade antimicrobiana da violaceína sobre *Staphylococcus aureus*.** 2013. Tese (Doutorado em Genética e Biologia Molecular) - Instituto de biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2013.

LIU, Y.-S.; WU, J.-Y.; HO, K.-P. Characterization of oxygen transfer conditions and their effects on *Phaffiarhodozyma* growth and carotenoid production in shake-flask cultures; **Biochem. Eng.** v. 27, n. 3, p. 331-335, 2006.

MALISORN, C.; SUNTORNSUK, W. Optimization of beta-carotene production by *Rhodotorula glutinis* DM28 in fermented radish brine.; **Bioresour. Technol.** v. 99, n. 7, p. 2281-2287, 2008.

MATIOLI, G; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Microencapsulation of lycopene with cyclodextrins. **Ciênc. Tecnol. Aliment** (Campinas), v. 23, p. 102-105, 2003.

MELLO, A.J. M. *et al.* Expressão de pigmentos em algas pardas (*Canistrocarpus cervicornis* e *Padina gymnospora*): uma abordagem quimioecológica, **Ecologia de Campo UFSC**, 2011.

MORAES, F. L.D. **Carotenóides: Características biológicas e químicas**. 70 f. Monografia (Especialização) - Curso de Qualidade de Alimentos, Centro de Excelência em Turismo, Universidade de Brasília, Brasília, 2006.

NARAYANAN, D.L., SALADI, R.N., FOX, J.L. Ultraviolet radiation and skin cancer. **Int. J. Dermatol.** v. 49, n. 9, p. 978-986, 2010.

NASCIMENTO, L. F.; SANTOS, E. P.; AGUIAR, A. P. Fotoprotetores orgânicos: Pesquisa, Inovação e a Importância da Síntese orgânica. **Rev. Virtual Quím.**, v. 6, n. 2, p. 190-223, 2013.

OLSON J.A. Provitamin A function of carotenoids: the conversion of beta-carotene into vitamin A. **J Nutr**; v. 119, n. 1, p. 105-108, 1989.

PARAJÓ, J.; SANTOS, V.; VÁZQUEZ, M. Production of carotenoids by *Phaffia rhodozyma* growing on media made from hemicellulosic hydrolysates of *Eucalyptus globulus* wood; **Biotechnol. Lett.** v. 59, n. 4, p. 501-506, 1998.

PITLOVANCIV, A. K. **Atividade antibiótica de extratos obtidos de culturas de *Chromobacterium violaceum***. 2005. 80 p. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005

RAO, A. V.; RAO, L. G. Carotenoids and human health. **Pharmacol. Res.**, v. 55, n. 3, p. 207-216, 2007.

RAO, A.V. Lycopene, tomatoes, and the prevention of coronary heart disease. **Exp. Biol. Med.**, v.227, p.908-913, 2002.

RIBEIRO, E. P.; SERAVALLI, E. A. G. **Química de Alimentos**. Instituto Mauá de Tecnologia. Editora Edgard Blücher Ltda, 1ª edição, São Paulo, p.155-157, 2004.

SANTOS, F. S. *et al.* Resposta antioxidante, formação de fitoquelatinas e composição de pigmentos fotoprotetores em *Brachiaria decumbens* Stapf submetida à contaminação com Cd e Zn. **Quim. Nova**, v. 34, n. 1, p. 16-20, 2011.

SÁBER, M. L. **Efeito da radiação ultravioleta B sobre a comunidade bacteriana epifítica de soja (*Glycinemax* L. Merrill)**. Tese de Doutorado. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz". 2010;

SILVA, L.D. S. V. *et al.* Micronutrientes na gestação e lactação. **Rev. Bras. Saúde Matern. Inf**, v. 7, n. 3, p. 237-244, 2007.

SUSAN, C. *et al.* Erythropoietic protoporphyria (erythrohepatic protoporphyria). **Pediatr Dermatol**, v. 24, n. 3, p. E5-E9, 2007

SHAMI, N. J. I. E.; MOREIRA, E. A. M. Licopeno como agente antioxidante. **Rev.Nutr**, v. 17, n. 2, p. 227-36, 2004.

STAHL W, Sies H. Carotenoids and flavonoids contribute to nutritional protection against skin damage from sunlight. **Mol Biotechnol**; v. 37, n. 1, p. 26-30, 2007.

STANKOVIC, N. *et al.* Properties and applications of undecylprodigiosin and other bacterial prodigiosin. **Appl. Microbiol. Biotechnol**, v. 98, n. 9, p. 3841-58, 2014.

STRINGHETA, P. C. *et al.* Luteína: propriedades antioxidantes e benefícios à saúde. **Alim. Nutr.**, Araraquara, v. 17, n. 2, p. 229-238, 2009.

VALDUGA, E. *et al.* Produção de carotenóides: microrganismos como fonte de pigmentos naturais. **Quim Nova**, v. 32, n. 9, p. 2429-36, 2009.

VENIL, C. K.; ZAKARIA, Z. A.; AHMAD, W. A. Bacterial pigments and their applications., Johor, **Process Biochemistry**. v. 48, n. 7, p. 1065-1079, 2013.

VENIL, C. K. *et al.* Current perspective on bacterial pigments: emerging sustainable compounds with coloring and biological properties for the industry—an incisive evaluation. **RSC Advances**, v. 4, n. 74, p. 39523-39529, 2014.

MOSS, M. O. Bacterial pigments. **Microbiologist**. v. 3, n. 4, p. 10-12, 2002.

WACKERBARTH, H., Stoll, T., Gebken, S., Pelters, C. and Bindrich, U. Carotenoid-protein interaction as an approach for the formulation of functional food emulsions,” **Food. Res. Int**, vol. 42, n. 9, p. 1254–1258, 2009

ZANONI, M.V; CARNEIRO, P.A O Descarte dos Corantes Têxteis. **Rev. Ciência Hoje**, v. 29, p. 61-64, 2001.

ZHANG, B. *et al.* One-step deposition of a melanin-like polymer on individual Escherichia coli cells exhibiting a special UV resistance effect. **RSC Advances**, v. 6, n. 82, p. 78378-78384, 2016.