

## Introdução

Bacteriocinas são peptídeos antimicrobianos produzidos por bactérias. Suas características de ampla gama de atividade e natureza protéica despertaram o interesse em desenvolver novos agentes antimicrobianos. Sua produção é freqüentemente realizada em meios de cultura complexos, porém a necessidade de reduzir poluentes e minimizar o desperdício de matérias primas incentivou a busca por novos meios de cultura utilizando subprodutos da indústria alimentícia. A produção de bacteriocinas depende de múltiplos fatores específicos, assim a metodologia de superfície de resposta vem sendo aplicada para avaliar o efeito dos componentes do meio de cultura e condições ambientais na produção de atividade antimicrobiana.

## Objetivo

O objetivo deste trabalho é selecionar um meio de cultura alternativo ao meio comercial visando a reutilização de resíduos da indústria de alimentos e estudar a influência da temperatura, pH e concentração do substrato sobre a produção de bacteriocinas e crescimento bacteriano.

## Materiais e Métodos

A bactéria produtora foi previamente caracterizada como *Bacillus* sp P11. A linhagem indicadora de atividade antimicrobiana foi *Listeria monocytogenes* ATCC 7644. A figura a seguir resume a metodologia usada (Figura 1):



Figura 01: Cultivo e Atividade Antimicrobiana

Foi realizado um planejamento fatorial de 2<sup>3</sup> completo tendo como variáveis temperatura, pH e concentração do meio visando a maximização da produção de bacteriocinas por *Bacillus* sp. P11. O planejamento está mostrado na (Tabela 1).

Tabela01:  
Planejamento Experimental

Soybean (g/L) (x <sub>1</sub> )	pH (x <sub>2</sub> )	Temperature (°C) (x <sub>3</sub> )	Bacteriocin Production (AU/mL)	Final Cell Concentration (Log CFU/mL)
11 (-1)	5 (-1)	23 (-1)	0±0	5.22±0.12
29 (+1)	5 (-1)	23 (-1)	0±0	5.91±0.05
11 (-1)	9 (+1)	23 (-1)	100±141	6.15±0.03
29 (+1)	9 (+1)	23 (-1)	0±0	6.78±0.03
11 (-1)	5 (-1)	37 (+1)	0±0	6.78±0
29 (+1)	5 (-1)	37 (+1)	0±0	7.16±0.02
11 (-1)	9 (+1)	37 (+1)	800±0	8.37±0
29 (+1)	9 (+1)	37 (+1)	800±0	8.43±0.03
5 (-1.68)	7 (0)	30 (0)	600±283	8.22±0.01
35 (+1.68)	7 (0)	30 (0)	800±0	8.13±0.06
20 (0)	4 (-1.68)	30 (0)	0±0	0±0
20 (0)	10 (+1.68)	30 (0)	0±0	0±0
20 (0)	7 (0)	18 (-1.68)	100±141	8.67±0
20 (0)	7 (0)	42 (+1.68)	1200±566	7.97±0.04
20 (0)	7 (0)	30 (0)	800±0	0±0
20 (0)	7 (0)	30 (0)	800±0	7.32±0.03
20 (0)	7 (0)	30 (0)	800±0	6.80±0.03
20 (0)	7 (0)	30 (0)	400±0	8.04±0.02

O teste estatístico foi realizado pelo software Statistica 7.0, que permite a avaliação dos fatores linear, quadrático e termos interativos.

## Resultados e Discussão

**Seleção do melhor substrato:** Seis diferentes meios de cultura foram estudados: soro de queijo em pó, resíduo fibroso de soja, farinha de peixe, resíduo de uva, proteína isolada de soja e farinha de soja. Os diferentes meios foram comparados para a produção de bacteriocina e mostraram o farelo de soja como o melhor meio de cultura.

**Produção de bacteriocina:** Análise da Variância foi aplicada para a determinação dos parâmetros significativos. A produção de substâncias antimicrobianas foi afetada significativamente ( $p < 0.1$ ) pela relação linear da temperatura, pH e pela interação entre a temperatura e o pH inicial do meio. Pela ANOVA também foi constatado que a concentração do meio não foi considerada significativa para a produção de bacteriocinas, logo *Bacillus* sp P11 pode produzir substâncias antimicrobianas tanto em baixas como em altas concentrações de substrato. O gráfico de Superfície de Resposta obtida (Figura 02) apresenta a variação de temperatura e pH em relação à atividade, já a concentração do meio foi fixada no ponto central, 20g/L. Os resultados mostram que a máxima atividade antimicrobiana (1400AU/mL) foi atingida em pH em torno de 7,0 e temperatura em torno de 37°C.

**Crescimento bacteriano:** O modelo para crescimento bacteriano foi considerado não significativo segundo a ANOVA.

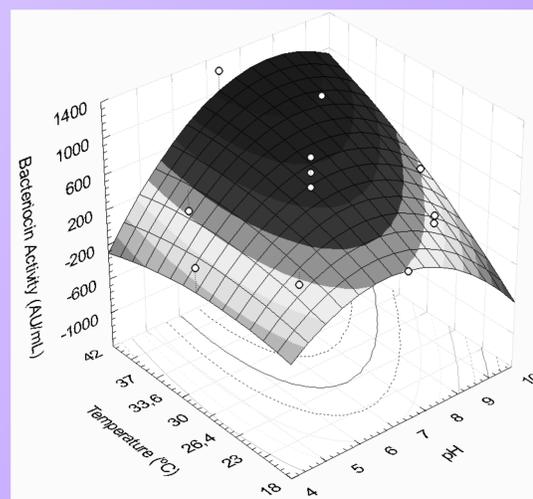


Figura 02: Superfície de Resposta

## Conclusões

Farelo de soja foi o melhor meio para produção de substâncias antimicrobianas por *Bacillus* sp. P11. A máxima produção de bacteriocina foi atingida com pH entre 7,0 e 8,5 e temperatura entre 39 e 42°C. A concentração de farelo de soja não foi considerada significativa para a produção de bacteriocina.

Agradecimentos:

