



Estudo da atividade antimicrobiana do biosurfactante de *Bacillus subtilis* obtido por fermentação contínua utilizando maniveira como substrato.



PEREIRA, C.S⁺; SIMIQUELI, A.P.R.; BARROS, F.F.C.; PASTORE, G.M.

Laboratório de Bioaromas, Departamento de Ciência dos Alimentos, Faculdade de Engenharia de Alimentos,

Universidade Estadual de Campinas, Campinas/SP, Brasil (*carol09@fea.unicamp.br). Biosurfactante – *Bacillus subtilis* - Maniveira

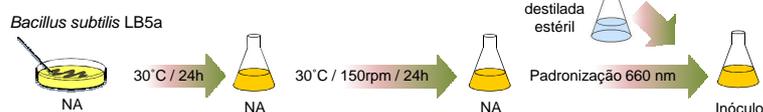
Introdução

Biosurfactantes são compostos orgânicos capazes de alterar as propriedades superficiais e interfaciais de um líquido (1), formando um filme molecular ordenado que reduz a tensão superficial e altera as características entre fases (2). Os surfactantes produzidos por micro-organismos são conhecidos como biosurfactantes e apresentam grande interesse e potencial econômico, devendo ser levados em consideração fatores como sua baixa toxicidade, sua biodegradabilidade, seu elevado poder tensoativo e a possibilidade de sua produção através de substratos alternativos (3). Como a matéria-prima representa cerca de 30% dos custos totais em um processo biotecnológico, o uso de resíduos agroindustriais como meio de cultura é uma alternativa praticável para a redução dos custos na produção de biosurfactantes (4).

Os surfactantes mais efetivos e reconhecidos por suas atividades antibióticas são os biosurfactantes do grupo dos lipopeptídios, principalmente os produzidos por *Bacillus sp.*, sendo a surfactina o mais estudado dentre eles (5). A produção de surfactina pela linhagem LB5a de *Bacillus subtilis*, utilizando maniveira como substrato, já foi descrita e o composto obtido foi capaz de reduzir a tensão superficial da água de 72 para 27 mN.m⁻¹ (2).

Materiais e Métodos

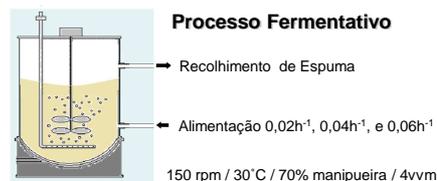
Preparo do Inóculo



Atividade Antimicrobiana



Medida de Atividade Superficial



Resultados e Discussões

Tensão Superficial

Foi avaliada a produção contínua de biosurfactante utilizando-se as taxas de diluição de 0,02h⁻¹, 0,04h⁻¹ e 0,06h⁻¹, através das medidas de TS, CMD⁻¹ ou CMD⁻² (Figura 1).

Considerando-se que quanto menores os valores de tensão superficial, maior seria a produção de biosurfactante, pode-se perceber que houve uma alta produção para todas as taxas testadas, já que TS aproximou-se de 30 mN/m em todos os casos até as 72h de fermentação.

A partir de 87h, verifica-se que os valores de tensão superficial para a curva de CMD⁻² diminuem com o aumento da taxa de diluição. Nota-se também que, após 100h, as curvas das três diluições atingem um patamar, indicando a obtenção de um estado de equilíbrio, com maior produção de biosurfactante nas taxas de diluição maiores.

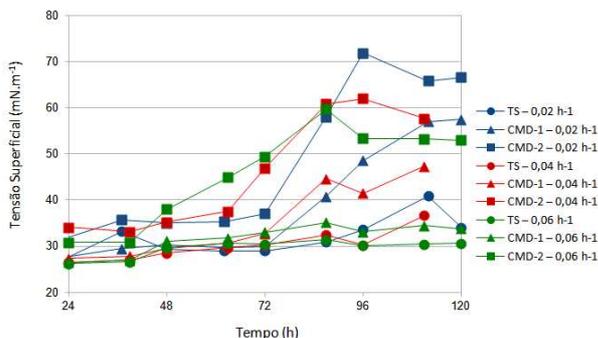


Figura 1: TS, CMD⁻¹ e CMD⁻² para a espuma por tempo e taxa de diluição.

Atividade Antimicrobiana

Na atividade antimicrobiana foi determinada a concentração inibitória mínima (MIC), que é a concentração microbostática, ou seja, a menor concentração de biosurfactante necessária para impedir a proliferação celular, inibindo o seu crescimento.

Os micro-organismos da Tabela 1 foram testados em diferentes concentrações de biosurfactantes e a MIC foi determinada pela observação visual da formação de turbidez no meio de cultura.

Foi encontrado um MIC maior que 2 mg.mL⁻¹ para os micro-organismos, exceto pelas as espécies *Mucor meihei* e *Aspergillus oryzae*, cujo MIC encontrado foi de 1 mg.mL⁻¹.

Tabela 1: Micro-organismos utilizados no teste de atividade antimicrobiana do biosurfactante.

Bactérias	Fungos
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6051	<i>Aspergillus niger</i>
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 4698	<i>Rhizopus sp.</i>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 13388	<i>Neurospora sp.</i>
<i>Serratia marcescens</i> ATCC 1953	<i>Penicillium italicum</i>
<i>Listeria inócua</i> ATCC 33090	<i>Mucor meihei</i>
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 10876	<i>Aspergillus oryzae</i>
<i>Rhodococcus equi</i> ATCC 6939	
<i>Escherichia coli</i> ATCC 11775	
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	
<i>Salmonella choleraesuis</i> ATCC 10708	

Referências

- JONSSON, B.; LINDMAN, B.; HOLMBERG, K.; KRONBERG, B. Surfactants and Polymers in Aqueous Solution. John Wiley & Sons: Chichester, 1998
- BARROS, F.F.C.; QUADROS, C.P.; MARÓSTICA JR., M.R.; PASTORE, G.M. Quim. Nova, Vol. 30, No. 2, 409-414, 2007.
- BOGNOLO, G. Biosurfactants as emulsifying agents for hydrocarbons. Colloids Surf. 12: 41-52, 1999.
- CAMEOTRA S.S.; MAKKAR, R.S. Recent applications of biosurfactants as biological and immunological molecules. Curr Opin Microb. 7: 262-266, 2004.
- MATSUURA, A.B.J. Produção e caracterização de biosurfactantes visando a aplicação industrial e em processos de biorremediação. Tese (Doutorado) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2004.

Conclusão

Após 24h de fermentação, a produção de biosurfactante mantém-se constante para as três taxas de diluições estudadas, sendo que o aumento da taxa de diluição resultou em uma maior quantidade de biosurfactante produzido.

Como resultado da atividade antimicrobiana, todos os micro-organismos apresentaram crescimento celular nas oito diluições testadas com exceção das espécies *Mucor meihei* e *Aspergillus oryzae*.

Agradecimentos

