

**Nº 179274**

**Simulação do crescimento microbiano e produção de bactericinas por  
Enterococcus lactis BT2 em meio com melaço de cana-de-açúcar como  
substrato**

**Taciana F. Oliveira**

**Ricardo P.S. Oliveira**

**Rosane Aparecida Moniz Piccoli**

*Palestra ministrada no WORKSHOP DE  
MODELAGEM E SIMULAÇÃO  
COMPUTACIONAL DO IPT INOVAÇÃO E  
IA, 2, 2024, São Paulo. **Pôster...** 1 slide.*

A série “Comunicação Técnica” compreende trabalhos elaborados por técnicos do IPT, apresentados em eventos, publicados em revistas especializadas ou quando seu conteúdo apresentar relevância pública.

**PROIBIDO REPRODUÇÃO**

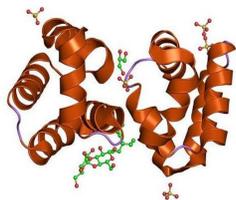
TACIANA F. OLIVEIRA<sup>a</sup>; RICARDO P. S. OLIVEIRA<sup>a</sup>, ROSANE M. PICCOLI<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Faculdade de Ciências Farmacêuticas (FCF/USP) – Rua do Lago, 250, CEP: 05508-080, São Paulo, SP, Brasil

<sup>b</sup>Instituto de Pesquisas Tecnológicas (IPT) – Rua Almeida Prado, 532, CEP: 05508-901, São Paulo, SP, Brasil

## INTRODUÇÃO

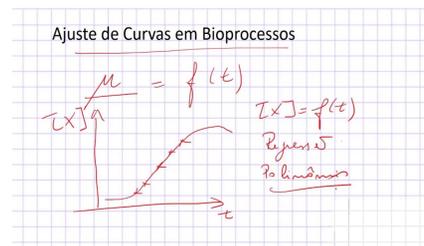
Bacteriocinas são peptídeos antimicrobianos produzidos principalmente por bactérias ácido-láticas e que estão ganhando cada vez mais notoriedade como bioconservantes naturais de alimentos



Neste cenário, a simulação de processos permite avaliar novas condições de cultivo, sendo uma ferramenta bastante útil para embasar novas estratégias e auxiliar na otimização do processo.



Um dos grandes desafios para o uso dessas biomoléculas em larga escala está associado ao custo elevado para sua produção.



## OBJETIVOS

- Estudar a cinética de produção de BLIS (*Bacteriocin-like inhibitory substance*) por *Enterococcus lactis* BT2 em meio de cultivo contendo melaço de cana-de-açúcar como fonte de carbono;
- Descrever a cinética de crescimento microbiano, consumo de substrato e produção de bacteriocina e ácido lático em cultivo conduzido em batelada, utilizando os modelos logístico, *Monod* e *Luedeking Piret*.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### Cultivo em biorreator:



- Cultivo em batelada de *E. lactis* BT2 em biorreator Biosstat B<sup>®</sup> com dorna de 2 litros (Vt = 1,5 L), 37 °C, 200 rpm, microaerofilia, pH = 6,5.
- Meio de cultivo MRS (*Man, Rogosa, Sharpe*) com adição de 15 g/L do melaço de cana-de-açúcar.

Figura 1: Reator Biosstat B (Sartorius-Stedim Biotech, Göttingen, Germany)



### Modelagem e simulação de processo

Foram utilizados modelos não estruturados, baseado no estudo de Vázquez; Murado (2008):

- Crescimento microbiano:** Descrito pelas equações logística (2) e pela equação cinética de Monod (1)

$$\mu_x = \mu_{mx} \left( \frac{S}{K_S + S} \right) \quad \text{Equação 1}$$

$$\frac{dX}{dt} = \mu_x \cdot X \cdot \left( \frac{K - X}{K} \right) \quad \text{Equação 2}$$

- Consumo de substrato (sacarose, glicose e frutose):** Descrito pela equação de balanço de massa no biorreator, considerando a constante de manutenção celular ( $m_s$ )

$$\frac{dS}{dt} = - \frac{1}{Y_{X/S}} \cdot \frac{dX}{dt} + m_s \cdot X \quad \text{Equação 3}$$

- Produção de bacteriocina:** Descrito pela equação de Luedeking-Piret

$$\frac{dB}{dt} = \alpha_B \cdot \frac{dX}{dt} + \beta_B \cdot X \quad \text{Equação 4}$$

- Produção de ácido-lático:**

$$\frac{dL}{dt} = - \frac{1}{Y_{L/S}} \cdot \frac{dS}{dt} \quad \text{Equação 5}$$

Tabela 1: Parâmetros adotados nas equação do modelo

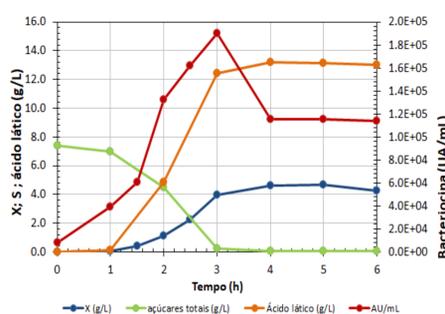
Parâmetros	Valores
$\alpha$ - Constante de produção associada ao crescimento	24,082
$\beta$ - Constante de produção não associada ao crescimento	0,189
$S_0$ - Concentração inicial de substrato (g)	7,37
$Y_{X/S}$ - Fator de conversão de substrato em células (g biomassa/g substrato)	0,623
$m_s$ - Coeficiente de manutenção celular (g substrato/g biomassa/h)	0,057
$K$ - concentração máxima de biomassa (g/L)	4,682
$\mu_{mx}$ - velocidade específica máxima de crescimento celular (h <sup>-1</sup> )	1,286
$X_0$ - Concentração inicial de biomassa (g/L)	0,062

Os parâmetros do modelo estão mostrados na Tabela 1.

A simulação para a formação de biomassa, produtos e consumo de substrato foi realizada utilizando o software Octave 7.3.0 – Integração: método Dormand-Prince 4<sup>a</sup> ordem.

## RESULTADOS

### Cinética do cultivo e simulação do processo



Parâmetros	Resultados
$X_{max}$ (g/L)	4,682
$\mu_{max}$ (h <sup>-1</sup> )	1,286
$Y_{X/S}$	0,623
$Y_{L/S}$	1,796

*E. lactis* BT2 foi capaz de crescer e produzir compostos antimicrobianos com potencial para bioconservante de alimentos, em meio de cultivo com o melaço de cana-de-açúcar (OLIVEIRA et al., 2024)

Figura 2: Perfil do crescimento microbiano, da produção de BLIS e ácido lático e do consumo de substrato de *E. lactis* BT2 em meio com melaço e sacarose

As equações do modelo foram capazes de prever a formação de biomassa, consumo de açúcares e formação do ácido lático e da formação do produto.

A produção de bacteriocina mostrou que inicialmente segue a cinética associada ao crescimento microbiano prevista pelo modelo. Entretanto, após atingir sua produção máxima, observou-se um decréscimo na produção, sugerindo que outro fenômeno de degradação desta biomolécula pode estar envolvido (ZHOU et al., 2015; PARENTE et al., 1994). Esse fenômeno deverá ser incluído no modelo.

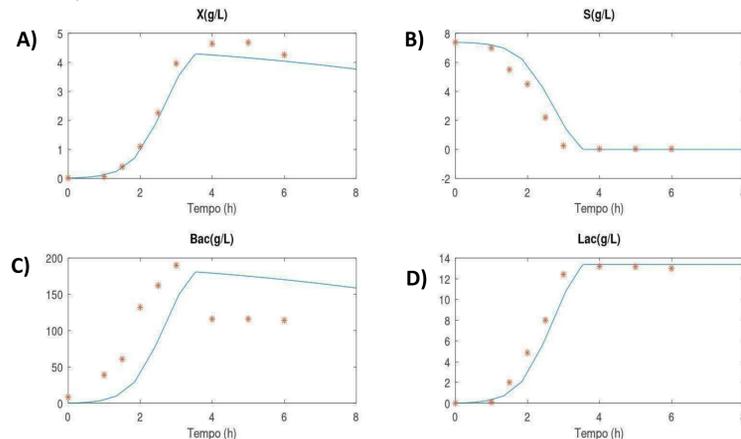


Figura 3: Simulação da formação de biomassa (A), consumo de substrato (B), produção de bacteriocina (C) e ácido lático (D) empregando o modelo proposto.

## CONCLUSÕES

- Apesar de ainda não ter sido realizado o ajuste do modelo aos dados experimentais, os resultados mostraram que o modelo proposto pareceu prever o comportamento da bactéria *Enterococcus lactis* BT2 no cultivo realizado em batelada, sendo portanto um recurso interessante para prever certas interações neste sistema complexo.
- Uma vez que a produção de bacteriocinas envolve diversos fatores, ferramentas de simulação como as apresentadas neste trabalho podem ser muito úteis para indicar as condições ideais para maximizar a produção de bacteriocinas.

## AGRADECIMENTOS



## REFERÊNCIAS

- VÁZQUEZ, J; MURADO, M. Unstructured mathematical model for biomass, lactic acid and bacteriocin production by lactic acid bacteria in batch fermentation. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*. 83:91–96, 2008
- OLIVEIRA, T. F., et al. Anti-Listerial Activity of Bacteriocin-like Inhibitory Substance Produced by *Enterococcus lactis* LBM BT2 Using Alternative Medium with Sugarcan Molasses. *Antibiotics*, 13(3), 210; 2024
- ZHOU, K., et al. Modelling Growth and Bacteriocin Production by *Lactobacillus plantarum* BC-25 in Response to Temperature and pH in Batch Fermentation. *Appl Biochem Biotechnol*. 176:1627–1637, 2015
- PARENTE, E.; RICCIARDI, A. Influence of pH on the production of enterocin 1146 during batch fermentation. *Letters in Applied Microbiology*, 19, 12-15, 1994.