

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO JOÃO DEL REI - UFSJ  
CAMPUS CENTRO OESTE DONA LINDU - CCO  
PROGRAMA MULTICÊNTRICO DE PÓS-GRADUAÇÃO  
EM BIOQUÍMICA E BIOLOGIA MOLECULAR

TUÂNIA NATACHA LOPES SILVA

**Método de lise e inativação de espécies probióticas,  
bioprocessamento de produção e desenvolvimento de microcápsula**

Divinópolis - MG  
Fevereiro - 2023

TUÂNIA NATACHA LOPES SILVA

**Método de lise e inativação de espécies probióticas, bioprocessamento de produção e desenvolvimento de microcápsula**

Tese apresentada ao Programa Multicêntrico de Pós-Graduação em Bioquímica e Biologia Molecular da Universidade Federal de São João Del Rei, como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutor.

**Orientador:** Paulo Afonso Granjeiro

**Co-orientador:** Ivarne Luis dos Santos Tersariol

Divinópolis - MG  
Fevereiro – 2023

Ficha catalográfica elaborada pela Divisão de Biblioteca (DIBIB)  
e Núcleo de Tecnologia da Informação (NTINF) da UFSJ,  
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

S586m Silva, Tuânia Natacha Lopes.  
Método de lise e inativação de espécies  
probióticas, bioprocessamento de produção e desenvolvimento  
de microcápsula / Tuânia Natacha Lopes Silva ;  
orientador Paulo Afonso Granjeiro; coorientador  
Ivarne Luis dos Santos Tersariol. -- Divinópolis,  
2023.  
156 p.

Tese (Doutorado - Programa Multicêntrico de Pós  
Graduação em Bioquímica e Biologia Molecular -  
Doutorado) -- Universidade Federal de São João del  
Rei, 2023.

1. Bactérias do ácido láctico. 2. Probióticos. 3.  
Lise. 4. Inativação. 5. antimicrobiano. I. Granjeiro,  
Paulo Afonso , orient. II. Tersariol, Ivarne Luis  
dos Santos, co-orient. III. Título.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO JOÃO DEL-REI  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOQUÍMICA E BIOLOGIA MOLECULAR

**ATA DE DEFESA DE TESE Nº 1 / 2023 - PMBqBM (13.26)**

**Nº do Protocolo: 23122.007636/2023-04**

**Divinópolis-MG, 06 de março de 2023.**

**Ata de Defesa de Tese da doutoranda**

**Tuânia Natacha Lopes Silva**

No dia 27 de fevereiro de 2023, às 08h00min, reuniu-se, por meio de videoconferência - plataforma Google Meet, a banca examinadora da Defesa de Tese da discente Tuânia Natacha Lopes Silva, regularmente matriculada no Programa de Pós Graduação Multicêntrico em Bioquímica e Biologia Molecular, nível Doutorado. A banca examinadora foi constituída pelos doutores: Paulo Afonso Granjeiro (UFSJ), orientador e presidente da banca, Énio Nazaré de Oliveira Júnior (UFSJ), Kennio Ferreira Palm (UFTM), Flaviano dos Santos Martins (UFMG) e Maria Esperanza Cortés Segura (UFMG). Após apresentação, durante 55 minutos, do trabalho intitulado "Método de lise e inativação de espécies probióticas, bioprocesso de produção e desenvolvimento de microcápsula", a doutoranda foi arguida pelos examinadores. Reunidos em sessão secreta, às 11h30min a banca considerou a doutoranda **APROVADA**. Sem mais a relatar, assinam a presente ata os participantes da banca.

*(Assinado digitalmente em 06/03/2023 21:38 )*  
ENIO NAZARE DE OLIVEIRA JUNIOR  
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR  
DOBIO (12.26)  
Matricula: 1748672

*(Assinado digitalmente em 06/03/2023 21:25 )*  
PAULO AFONSO GRANJEIRO  
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR  
NETEC (13.00.02)  
Matricula: 1675921

*(Assinado digitalmente em 06/03/2023 21:43 )*  
KENNIO FERREIRA PALM  
ASSINANTE EXTERNO  
CPF: 956.972.506-06

*(Assinado digitalmente em 06/03/2023 13:03 )*  
MARIA ESPERANZA CORTES SEGURA  
ASSINANTE EXTERNO  
CPF: 143.004.328-89

*(Assinado digitalmente em 06/03/2023 13:27 )*  
FLAVIANO DOS SANTOS MARTINS  
ASSINANTE EXTERNO  
CPF: 043.684.026-00

Para verificar a autenticidade deste documento entre em  
<https://sipac.ufsj.edu.br/public/documentos/index.jsp> informando seu número: **1**, ano:  
**2023**, tipo: **ATA DE DEFESA DE TESE**, data de emissão: **06/03/2023** e o código de verificação:  
**f50165c176**

***Aos meus exemplos de vida e base forte na caminhada meus pais,  
minhas irmãs e em especial minha tia Maria Aparecida, pelo amor  
e confiança depositados em mim.***

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus, por me guiar por todo o percurso.

A toda minha família, principalmente aos meus pais, Fátima e Sebastião pelo apoio, dedicação e carinho, sem vocês tenho certeza que não conseguiria.

As minhas irmãs Sarita e Tayara pelas palavras de incentivo.

Aos professores que me ensinaram os aprendizados e valores de uma profissão, principalmente meu professor e orientador Dr. Paulo Afonso Granjeiro e aos Professores Dr<sup>a</sup>Juliana Teixeira de Magalhães e Dr. Daniel Bonoto Gonçalves por todo o apoio durante a realização desse trabalho.

Aos amigos do Laboratório de Processos Biotecnológicos e Purificação de Macromoléculas, principalmente meus amigos Diego, Maria e Hiure.

Aos amigos dos outros laboratórios, principalmente meu amigo Jonatas que sempre se mostrou disponível a ajudar na realização desse trabalho.

Ao CNPq, FAPEMIG e UFSJ, pelo financiamento deste projeto.

**“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou o que era antes”. (Marthin Luther King)**

## RESUMO

Distúrbios na microbiota da pele estão relacionados a infecções e inflamação causadores de doenças como acne e entre outras. Alternativas para tratamento são cepas probióticas. Probióticos são microrganismos vivos que quando administrados em quantidades adequadas conferem benefícios à saúde do hospedeiro. A aplicação de lisados e inativados na indústria cosmética é uma tendência. Desde que os efeitos benéficos sejam mantidos eles apresentam vantagens, como transporte, vida útil, risco de translocação e infecção do consumidor. O objetivo deste estudo foi avaliar atividade antimicrobiana de sobrenadante livre de células, lisado e inativados, viabilidade, dano subletal, influência do meio de cultura em diferentes métodos, otimizar a produção de biomassa e microencapsulamento de isolados de bactérias do ácido láctico (BAL). Os sobrenadantes livre de células das quinze cepas de BAL não inibiram o crescimento de *Corynebacterium xerosys* ATCC 373 e *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442. Os únicos métodos capazes de inativar totalmente todas as cepas foram métodos térmicos. A viabilidade e danos subletais foi dependente da cepa, meio de cultivo e método de lise ou inativação. Os métodos de lise e inativação não mantiveram atividade antimicrobiana contra *Cutibacterium acnes* ATCC 6919. O MEV das cepas em soro de leite apresentou matéria orgânica envolvendo as células, não observado em MRS. A técnica de emulsificação / gelificação interna com alginato de sódio 5% proporcionou o encapsulamento de 61,94% sem liofilização e 37,83% com liofilização, sem sobrevivência gastrointestinal. Características físico-químicas foram analisadas por FTIR e microscópio óptico. A microcápsula perdeu atividade anti-acne. A realização da otimização cepa DE4 foi através do enriquecimento do soro de leite, utilizando o delineamento fatorial fracionado (DFF) e um delineamento composto central rotacional (DCCR), delineados pelo programa Minitab18. O bioprocessamento obteve um alto nível de crescimento celular, alcançando valores maiores que  $10^{15}$  UFC mL<sup>-1</sup>. Concluímos que BAL em suas formas lisadas ou inativadas e encapsuladas não mantiveram atividade antimicrobiana promissora. A otimização de



produção da cepa probióticas torna cada vez mais possível o escalonamento do bioprocesso.

**Palavras-chave:** bactérias do ácido láctico, probióticos, lise, inativação, antimicrobiano, encapsulamento, bioprocesso.

## ABSTRACT

Disturbances in the skin microbiota are related to infections and inflammation that cause diseases such as acne and others. Alternatives for treatment are probiotic strains. Probiotics are live microorganisms that, when administered in adequate amounts, confer a health benefit on the host. The application of lysed and inactivated in the cosmetic industry is a trend. As long as the beneficial effects are maintained, they have advantages such as transportation, shelf life, risk of translocation and consumer infection. The aim of this study was to evaluate the antimicrobial activity of cell-free, lysed and inactivated supernatant, viability, sublethal damage, influence of the culture medium on different methods, optimize biomass production and microencapsulation of lactic acid bacteria (LAB) isolates. Cell-free supernatants from the fifteen LAB strains did not inhibit the growth of *Corynebacterium xerosis* ATCC 373 and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442. The only methods capable of completely inactivating all strains were thermal methods. Viability and sublethal damage was dependent on the strain, culture medium and lysis or inactivation method. The lysis and inactivation methods did not maintain antimicrobial activity against *Cutibacterium acnes* ATCC 6919. The SEM of the strains in whey showed organic matter surrounding the cells. The technique of emulsification / internal gelation with 5% sodium alginate provided encapsulation of 61.94% without lyophilization and 37.83% with lyophilization, without gastrointestinal survival. Physical-chemical characteristics were analyzed by FTIR and optical microscope. The microcapsule lost antimicrobial activity. DE4 strain optimization was carried out by enriching the whey, using the fractional factorial design (DFF) and a central composite rotational design (DCCR), outlined by the Minitab program<sup>18</sup>. The bioprocess achieved a high level of cell growth, reaching values greater than  $10^{15}$  CFU mL<sup>-1</sup>. We conclude that LAB in its lysed or inactivated and encapsulated forms did not maintain promising anti-acne activity. The optimization of probiotic strain production makes it increasingly possible to scale up the bioprocess.

**Keywords:** lactic acid bacteria, probiotics, lysis, inactivation, antimicrobial, encapsulation, bioprocess.