



**Sistemas Biológicos no desenvolvimento
de Produtos e Processos:
novos horizontes e oportunidades
para a Engenharia Química**

ARTIGOS

- *Engenharia Metabólica, Biologia de Sistemas e o desenvolvimento de processos biotecnológicos microbianos*
- *2016: Celebrando 20 anos do Encontro Brasileiro sobre Adsorção*

ARTIGOS

- *Novos horizontes para biotecnologia industrial*
- *Biofármacos: do desenvolvimento à produção industrial*
- *Biorreatores Pneumáticos: Simples e Eficientes*

EQ NA PALMA DA MÃO

- *Os diferentes sistemas biológicos usados na produção em larga escala de enzimas recombinantes*



ABEQ Associação Brasileira de Engenharia Química

A Associação Brasileira de Engenharia Química (ABEQ) é uma sociedade sem fins lucrativos que congrega pessoas e empresas interessadas no desenvolvimento da Engenharia Química no Brasil.

Há mais de quatro décadas a ABEQ desempenha importante papel na valorização dos profissionais e estudantes da engenharia química em nosso país, bem como na divulgação da engenharia química e de sua contribuição para a melhoria da qualidade de vida dos cidadãos.

A ABEQ oferece ainda uma variedade de serviços que ajudam a comunidade de engenharia química a melhor posicionar-se quanto aos desafios do presente e do futuro nas áreas tecnológica, científica e de ensino.



Nossos Serviços

CURSOS: ABEQ oferece diversos cursos de extensão.

CONGRESSOS: COBEQ - Congresso Brasileiro de Engenharia Química.

ENBEQ - Encontro Brasileiro sobre o Ensino de Engenharia Química.

COBEQ-IC - Congresso Brasileiro em Iniciação Científica de Engenharia Química.

SINAFERM - SHEB - Simpósio Nacional de Bioprocessos e Seminário de Hidrólise Enzimática de Biomassa.

PRÊMIO: Prêmio Incentivo à Aprendizagem, dedicado aos melhores formandos dos cursos de Engenharia Química.

Publicações

BJChE



Brazilian Journal of Chemical Engineering: periódico trimestral que publica artigos científicos em inglês.

BIM



Boletim Informativo: é uma edição mensal, buscando transmitir notícias relevantes sobre Engenharia Química no Brasil e Exterior.

REBEQ



Revista Brasileira de Engenharia Química: a publicação quadrimestral promove o debate sobre questões relacionadas à engenharia química e suas relações com a sociedade.

REGIONAIS: Aqui você encontra informações sobre atividades das regionais da ABEQ.

REGIONAL BAHIA
regionalba@abeq.org.br

REGIONAL PARÁ
regionalpa@abeq.org.br

REGIONAL PERNAMBUCO
regionalpe@abeq.org.br

REGIONAL RIO DE JANEIRO
regionalrj@abeq.org.br

REGIONAL RIO GRANDE DO NORTE
regionalrn@abeq.org.br

REGIONAL RIO GRANDE DO SUL
regionalrs@abeq.org.br

REGIONAL SÃO PAULO
regionalsp@abeq.org.br

ASSOCIE-SE: Para associar-se à ABEQ basta indicar a uma das modalidades de sócio. Além da carteira de sócio o associado passa a usufruir de vantagens exclusivas da ABEQ. Como desconto em Cursos, Seminários e Congressos promovidos pela ABEQ. Convênios com Livrarias, Escolas de Idiomas, entre outros descontos que chegam até 20% na apresentação da carteirinha.

SÓCIOS COOPERADORES



SÓCIOS COLETIVOS





Maria Cristina Silveira Nascimento
Presidente da ABEQ

Prezados,

A Biotecnologia é o tema central desta edição da REBEQ. Não só pelo importante papel que desempenha em diversas áreas do conhecimento, mas pelo o impacto que seu desenvolvimento pode causar na vida moderna. Desde a produção de antibióticos e vacinas até o tratamento de efluentes, a biotecnologia permeia as áreas de saúde, agropecuária, alimentos, meio ambiente e outros que se beneficiam dos estudos e avanços da área.

Comece esta edição com uma interessante viagem que passa pela Engenharia Metabólica, Biologia de Sistemas e o desenvolvimento de processos biotecnológicos microbianos. Em uma abordagem simples você irá se situar nos principais aspectos e desafios que tornam o tema foco de interesse e estudos de tantas áreas da ciência.

Desde a discussão acerca dos

novos horizontes para a biotecnologia industrial, passando pelo desenvolvimento de processos e scale-up de biofármacos, avaliação de biorreatores pneumáticos e sistemas para produção de enzimas recombinantes, nossa equipe editorial preparou uma edição interessante e atual para os profissionais da indústria e da academia.

Também nesta edição prestamos nossa homenagem ao Encontro Brasileiro de Adsorção (EBA), evento que realizou sua 11ª edição este ano.

E se estamos falando em Bioprocessos, não podemos deixar de falar no Simpósio Nacional de Bioprocessos. Veja como foi o XX SINAIFERM e XI SHEB e já vá se preparando para o evento no ano que vem. Você é nosso convidado.

Boa leitura! ●

SOBRE A ABEQ

Publique na REBEQ

A ABEQ o convida para participar da Revista Brasileira de Engenharia Química, com artigos técnicos de divulgação que sejam de interesse de amplos segmentos da comunidade de engenharia química. Consulte os editores da revista sobre sua idéia.

A ABEQ e você

Associando-se à ABEQ você impulsiona sua carreira profissional e se posiciona melhor frente aos novos desafios que a sociedade impõe sobre a profissão.

A ABEQ lhe oferece múltiplas oportunidades de relacionamento a elite de profissionais da academia e da indústria. Também lhe dá acesso a informação

científica e tecnológica de ponta e lhe oferece oportunidade de participação ativa na comunidade de engenharia química.

Confira:

- Oportunidades de contatos com colegas, associações, universidades, empresas e entidades governamentais.
- Organização de encontros nas áreas científica, tecnológica e de ensino que mobilizam cerca de 3000 profissionais.
- Organização de cursos de extensão e apoio a cursos de terceiros.
- Acesso a publicação científica trimestral com o respeitável índice de impacto 0,4 (Web of Knowledge), a revista técnico-comercial formato

digital e um boletim eletrônico de notícias distribuído para mais de 110 mil contatos.

- Valorização do profissional através de prêmios para estudantes, formandos e pós-graduandos.

FALE com a gente!

Contribua com opiniões, ideias, depoimentos e dúvidas.

Tel. 11 3107-8747

Fax 11 3104-4649

2ª a 6ª feira das 9 às 17 horas

E-mail: abeq@abeq.org.br ou secretaria@abeq.org.br



Informações e Novidades sobre a ABEQ em:

www.abeq.org.br

Editor

Galo Carrillo Le Roux
Editor Associado
Moisés Teles dos Santos

Secretaria Executiva

Bernadete Aguilar Perez

Produção Editorial

Always Propaganda
(11) 3280-0439 - www.always.com.br

**Redação, Correspondência
e Publicidade**

Rua Líbero Badaró, 152 - 11º andar
01008-903 - São Paulo - SP
Tel.: (11) 3107-8747 - fax: (11) 3104-4649
www.abeq.org.br - e-mail: abeq@abeq.org.br

ABEQ – GESTÃO 2014 - 2016

CONSELHO SUPERIOR

Argimiro Resende Secchi, Edson Bouer, Fernando Baratelli Júnior,
Flávio Faria de Moraes, Gorete Ribeiro de Macedo, Hely de Andrade
Júnior, Marcelo Martins Seckler, Pedro Wongtschowski, Raquel de
Lima Camargo Giordano, Selene Maria de Arruda Guelli Ulson de
Souza, Suzana Borschiver

DIRETORIA

Maria Cristina Silveira Nascimento - Diretora Presidente
Galo Antonio Carrillo Le Roux - Diretor Vice-Presidente
Luiz Carlos Surnin Vieira - Diretor Vice-Presidente
Ricardo da Silva Seabra - Diretor Vice-Presidente
Moisés Teles dos Santos - Diretor Secretário
Paulo Takakura - Diretor Tesoureiro

REGIONAIS

Bahia

Luciano Sergio Hocevar - Diretor Presidente

Elaine Christine de Magalhães Cabral Albuquerque - Diretora Vice-
Presidente

Pará

Pedro Ubiratan Oliveira Sabaa Srur - Diretor Presidente
Fernando Alberto Sousa Jatene - Diretor Vice-Presidente

Pernambuco

Laise Carvalho de Albuquerque Maranhão - Diretora Presidente
Maurício Alves Motta Sobrinho - Diretor Vice-Presidente

Rio de Janeiro

Ricardo de Andrade Medronho - Diretor Presidente
Maria Alice Zarur Coelho - Diretora Vice-Presidente

Rio Grande do Norte

Ana Lúcia de Medeiros Lula da Mata - Diretora Presidente
Everaldo Silvino dos Santos - Diretor Vice-Presidente

Rio Grande do Sul

Heitor Luiz Rossetti - Diretor Presidente
Jorge Otávio Trierweiler - Diretor Vice-Presidente

São Paulo

Denise Mazzaro Naranjo - Diretora Presidente
Mariana Rubim Accioli Dori - Diretora Vice-Presidente

DIRETORIA CONVIDADA

Henrique José Brum da Costa - Mario José Montini - Mayra Costa
Matsumoto - Reinaldo Giudici - Danniell Luiz Panza - Maria Elizabeth
Brotto - Carlos Calvo Sanz

Artigos

Engenharia Metabólica, Biologia de Sistemas e o desenvolvimento de processos biotecnológicos microbianos	6
Novos horizontes para biotecnologia industrial.....	14
Biofármacos: do desenvolvimento à produção industrial	18
Biorreatores Pneumáticos: Simples e Eficientes	24
2016: Celebrando 20 anos do Encontro Brasileiro sobre Adsorção	34
XX SIMPÓSIO NACIONAL DE BIOPROCESSOS - SINAFERM	
XI SEMINÁRIO DE HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DE BIOMASSAS - SHEB	40
EQ na palma da mão	
Os diferentes sistemas biológicos usados na produção em larga escala de enzimas recombinantes	45

Os artigos assinados, declarações dos entrevistados e publicidade não refletem necessariamente a opinião da ABEQ.

É proibida a reprodução total ou parcial de textos e fotos sem prévia autorização.

A Revista Brasileira de Engenharia Química é propriedade da ABEQ – Associação Brasileira de Engenharia Química, conforme certificado 1.231/0663-032 do INPI.



Informações e Novidades sobre a ABEQ em:

www.abeq.org.br

▶ **Se a capacidade de inovar é importante para as pessoas, imagine para um país?**

A inovação traz o futuro. E o futuro passa pela química e pelo plástico.

Para a Braskem, inovar é a sua maneira de atuar em um mundo que precisa, cada vez mais, de boas ideias para se perpetuar. Com um investimento de 230 milhões de reais em pesquisa e desenvolvimento, 23 laboratórios e 2 grandes centros de pesquisa, a Braskem foi eleita em 2014 uma das 50 empresas mais inovadoras do mundo pela Fast Company. Plástico Verde, Desafio de Design Odebrecht Braskem e Braskem Labs são exemplos de produto e projetos da Braskem que, através da química e do plástico, ajudam a melhorar a vida das pessoas.

Para saber mais acesse: www.braskem.com/inovacao



Patrocinadora do
Paratletismo Brasileiro

Braskem

Engenharia Metabólica, Biologia de Sistemas e o desenvolvimento de processos biotecnológicos microbianos.

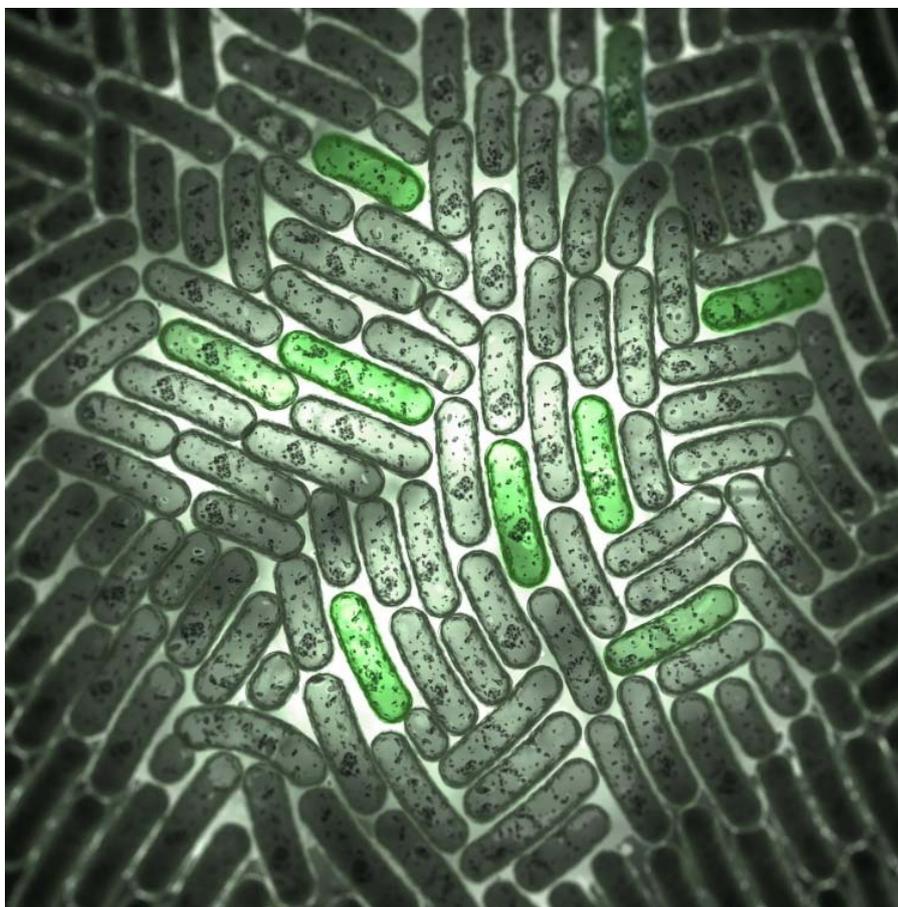
José Gregório Cabrera Gomez

*Laboratório de Bioprodutos - Departamento de Microbiologia -
Instituto de Ciências Biomédicas - Universidade de São Paulo*

Conhecimento microbiológico e processos biotecnológicos.

O desenvolvimento de processos biotecnológicos microbianos sempre esteve atrelado ao desenvolvimento do conhecimento biológico. Como consequência dessa afirmação, a Biotecnologia microbiana pode ser dividida em três grandes fases e a quarta fase está em pleno desenvolvimento (Figura 1). O que caracteriza e delimita o potencial de desenvolvimento biotecnológico em cada uma dessas fases é o conhecimento biológico existente até então.

Microrganismos eram utilizados para geração de produtos desde o início da civilização humana (cerca 10.000 anos atrás). Esses produtos de início eram principalmente alimentos (pães, queijos, iogurtes, etc), mas no século XIX já existiam processos industriais bem estabelecidos em vários países europeus para fabricação de etanol, vinhos, vinagre, etc. Esse período é denominado Biotecnologia Antiga. Os processos biotecnológicos microbianos nessa época eram claramente procedimentos artesanais. Sabia-se como fazer, mas não se



tinha qualquer compreensão do porque essas transformações ocorriam e quem eram os agentes responsáveis. Neste período, a Biologia ainda não estava estabelecida como uma Ciência independente, não existia ainda uma clara distinção entre vivo e não vivo. Experimentos de geração espontânea eram realizados e demonstravam o surgimento de seres vivos a partir de matéria inanimada. Ao longo desse período,

experimentos mais controlados demonstraram claramente que não ocorria geração espontânea de animais ou plantas. Microrganismos foram o último reduto da geração espontânea, principalmente devido a maior dificuldade técnica de estabelecer experimentos controlados.

A segunda metade do século XIX representou uma verdadeira revolução no conhecimento biológico. Mendel demonstrou que fatores presentes nos seres

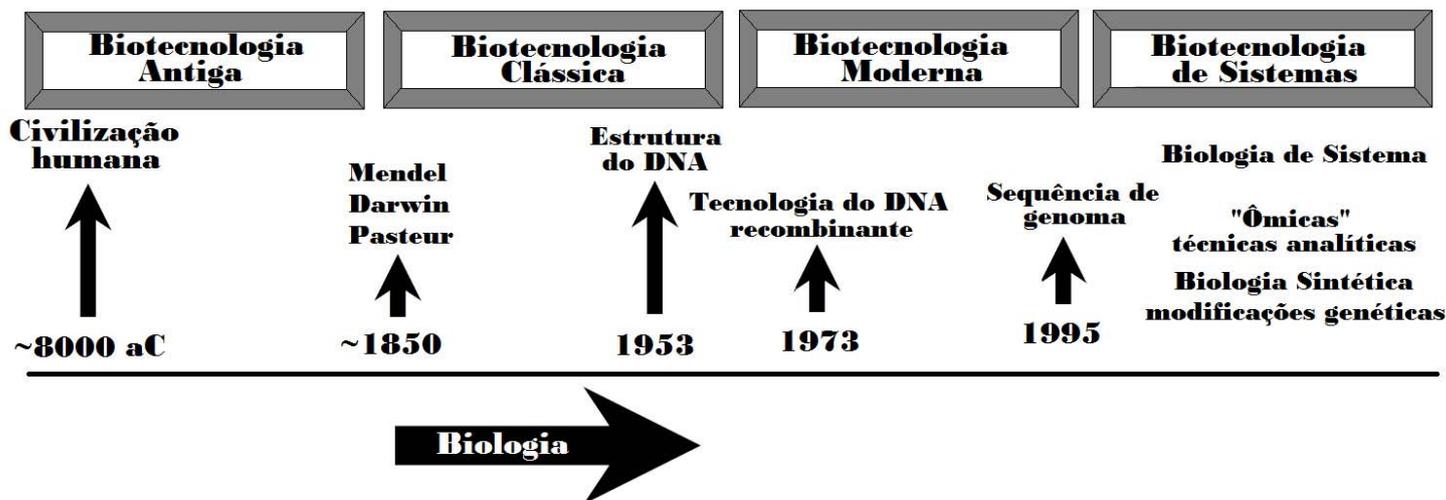


Figura 1. Diferentes fases da Biotecnologia e sua correlação com o conhecimento biológico.

vivos eram responsáveis por suas características fenotípicas, embora esse conhecimento tenha sido apropriado pela sociedade científica apenas no início do século XX. Darwin apontou para a existência de uma inter-relação de origem entre todos os seres vivos. Pasteur demonstrou que microrganismos não surgem por geração espontânea, contribuindo para o estabelecimento final do conceito da biogênese (seres vivos surgem apenas de seres vivos pré-existentes). Pasteur contribuiu ainda para o desenvolvimento de processos biotecnológicos microbianos de duas formas: primeiro demonstrando que os processos de fermentação conhecidos na época eram resultantes da ação de microrganismos e não simplesmente transformações químicas; segundo demonstrando que microrganismos específicos eram responsáveis por transformações particulares. Assim, com a compreensão dos agentes responsáveis pelas transformações, no período da Biotecnologia Clássica, diversos micror-

ganismos foram selecionados para processos biotecnológicos. Historicamente, se reconhece que as duas grandes guerras mundiais, que ocorreram no período da Biotecnologia Clássica, foram momentos importantes no desenvolvimento de processos industriais microbianos. Durante a Primeira Guerra Mundial, foram desenvolvidos processos microbianos de produção de solventes, matérias primas imprescindíveis para a produção de explosivos. A Segunda Guerra Mundial foi o palco para o desenvolvimento do processo de produção de penicilina, um dos mais importantes antibióticos ainda nos dias atuais. Neste período, os processos microbianos industriais se diversificaram e se tornaram cada vez mais sofisticados com o desenvolvimento crescente, por exemplo, dos biorreatores e seus componentes, de processos para preparação das matérias-primas e de separação/purificação dos produtos. Modificações genéticas nos microrganismos também contribuíram para a melhora ness-

es processos industriais. Essas modificações eram obtidas, entretanto, ao acaso e laboriosos procedimentos de seleção dos microrganismos melhorados eram necessários.

No início do século XX, uma importante questão permeava a Biologia e era fundamental para sua consolidação como ciência: a identificação da molécula responsável pela mais peculiar propriedade dos seres vivos, ou seja, sua capacidade de transmitir suas características aos seus descendentes. De início, as proteínas pareciam ser os candidatos óbvios para exercer esse papel. Embora, gradativamente diversos experimentos científicos apontassem para o DNA como material genético, apenas com a proposta de modelo estrutural para essa molécula, apresentado por Watson e Crick em 1953, o DNA conseguiu atingir o status de molécula responsável por armazenar e transmitir a informação em seres vivos. Esta compreensão abriu as portas para um importante avanço nos processos biotecnológicos micro-

bianos. Pouco tempo após (20 anos mais precisamente), se tornou possível a manipulação in vitro de moléculas de DNA para estabelecer novas combinações (DNA recombinante), que podiam ser expressas em microrganismos. Desta forma, foi possível estabelecer processos para produção de moléculas que nunca se imaginou poderiam ser produzidas por microrganismos, como insulina e hormônio do crescimento. O planejamento e execução de um projeto de expressão de um ou mais genes em um organismo ficou conhecido como Engenharia Genética, que caracteriza a nova fase que se inaugurou: a Biotecnologia Moderna. O número de produtos e a sofisticação dos processos foram crescentes com o uso das técnicas de Engenharia Genética.

Além da crescente sofisticação das técnicas de manipulação de DNA, um número crescente de células hospedeiras tem sido utilizado (bactérias, leveduras, fungos filamentosos, células de mamíferos, vegetais ou insetos). Embora, algumas dessas células claramente estão fora dos limites da Microbiologia, as técnicas de cultivo das células individualizadas de mamíferos, vegetais ou insetos, se assemelham aos processos biotecnológicos utilizando microrganismos e o estudo de cada um contribui em grande medida para o desenvolvimento do outro.

Cada uma das fases da Biotecnologia (Antiga, Clássica e Moderna) pode ser, portanto, caracterizada e delimitada com base no conhecimento biológico daquele momento e um

novo marco na Biologia determinará mudanças profundas nas possibilidades de desenvolvimento biotecnológico. A questão do ponto de vista do desenvolvimento da Biotecnologia microbiana é entender qual será (ou é) o novo marco no conhecimento biológico.

Biologia de Sistemas

Em 1995, foi concluído o sequenciamento completo dos genomas de duas bactérias: *Haemophilus influenzae* e *Mycoplasma genitalium*. O sequenciamento de muitos outros genomas se seguiu e o desenvolvimento técnico permitiu o sequenciamento em massa de diferentes genomas. O sequenciamento de genomas pode ser considerado um marco do ponto de vista biológico, pois

IMPULSIONE SEU FUTURO!

CONHECIMENTO QUE TRANSFORMA SUA VIDA.

ENGENHARIA QUÍMICA

CONCEITO 4 AVALIAÇÃO DO MEC UNIFEB

unifeb
CENTRO UNIVERSITÁRIO DA FUNDAÇÃO EDUCACIONAL DE BARRETOS
www.unifeb.edu.br

Programas de incentivo ao estudo:
ProUni FIES PROUNI

Acompanhe o Unifeb:
f Instagram YouTube in

Endereço:
Avenida Professor Roberto Frade Monte nº 369
CEP: 14.783-226 - Barretos/SP
0800 727 6411

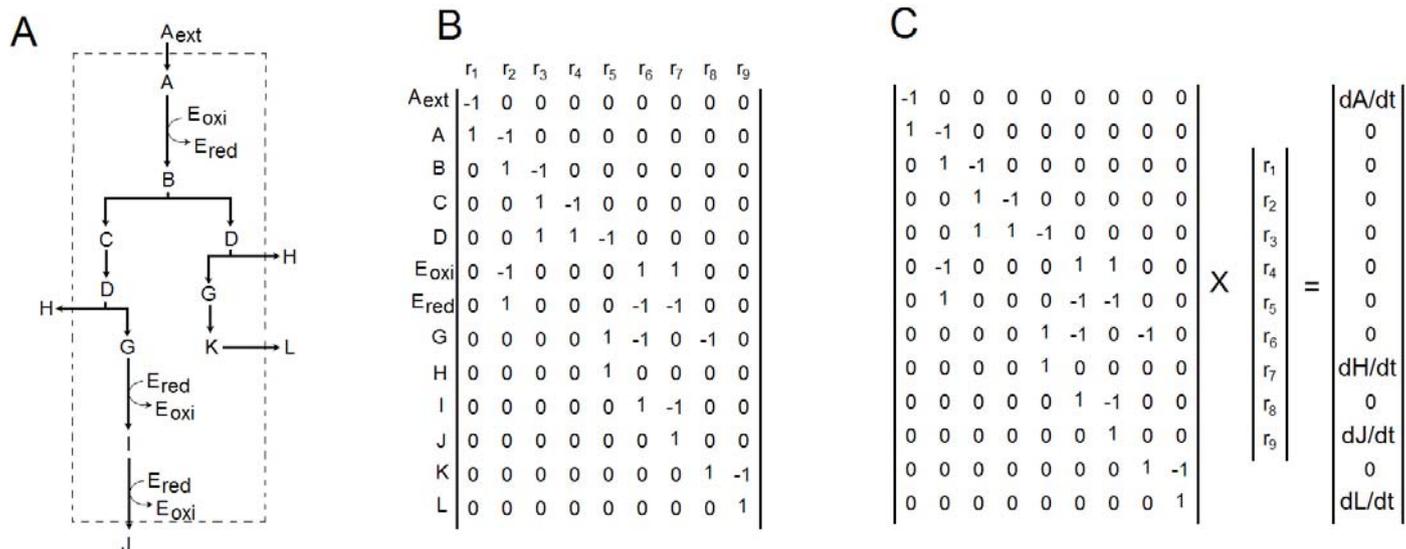


Figura 2. A. Uma rede metabólica. B. Representação matricial da rede metabólica. C. Em regime permanente de transformação, a matriz metabólica multiplicada por um vetor resultará nas transformações: consumo de substrato(s) e formação de produto(s), com intermediários não se acumulando ou diminuindo em quantidade.

permite detectar todo o conjunto de informações armazenadas na(s) molécula(s) de DNA de um organismo.

Outras técnicas foram desenvolvidas e permitem a análise do funcionamento do genoma, ou seja, sua expressão: o transcriptoma e o proteoma. O transcriptoma detecta o conjunto de moléculas de RNA sendo transcritas em uma determinada circunstância, enquanto o proteoma detecta o conjunto de proteínas traduzidas. Genoma, transcriptoma e proteoma são informações que abordam o organismo de forma sistêmica, constituindo-se, portanto, em um dos componentes da Biologia de Sistemas.

A possibilidade de analisar os efeitos no sistema biológico como um todo, seria extremamente interessante, sobretudo se essas mudanças permitirem prever o fenótipo final resultante em toda a sua complexidade. Esse é o objeto da Biologia de Sistemas,

$$\begin{bmatrix} -1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 1 & -1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & -1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 1 & -1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 1 & 1 & -1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & -1 & 0 & 0 & 0 & 1 & 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 & 0 & 0 & -1 & -1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & -1 & 0 & -1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & -1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & -1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & -1 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 \end{bmatrix} \times \begin{bmatrix} r_1 \\ r_2 \\ r_3 \\ r_4 \\ r_5 \\ r_6 \\ r_7 \\ r_8 \\ r_9 \end{bmatrix}$$

Regulação metabólica

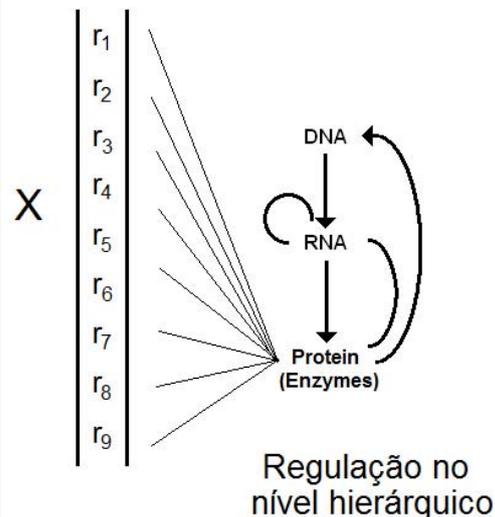


Figura 3. Representação gráfica das regulações no nível hierárquico e metabólico.

ou seja, uma compreensão dos organismos vivos em nível sistêmico.

Além do transcriptoma e do proteoma, outras técnicas permitem a análise sistêmica de um organismo. O metaboloma refere-se ao conjunto de

compostos de baixa massa molecular sintetizados por uma célula. O fluxoma corresponde às velocidades relativas no conjunto de reações da rede metabólica celular. A análise do transcriptoma e proteoma é de certa forma facilitada, pois

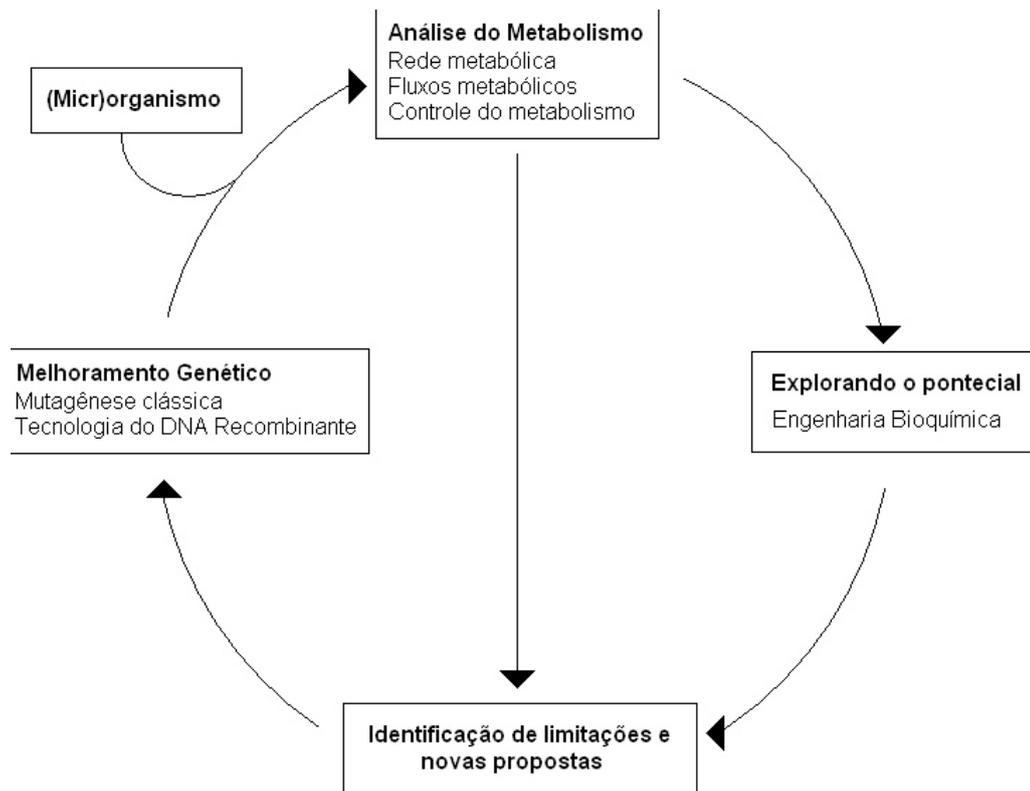


Figura 4. Processo cíclico de desenvolvimento da Engenharia Metabólica.

trata da detecção de moléculas com uma mesma natureza química, RNAs e proteínas, respectivamente. Assim, é mais fácil reconhecer que com o uso dessas técnicas de fato se analisa todo o conjunto de genes sendo transcritos e traduzidos. O metaboloma, por outro lado, representa um desafio técnico maior devido à diversidade química das moléculas que devem ser analisadas. De fato, é praticamente impossível detectar todas as moléculas que compõem o metaboloma com apenas uma técnica analítica.

Dois procedimentos experimentais têm sido utilizados para se realizar a análise de fluxos metabólicos (ou fluxoma): balanços metabólicos e experimentos com traçadores. Estes procedimentos não podem ser realizados por análises

diretas e necessitam de uma rede metabólica configurada (Nielsen, 2003).

Uma forma muito prática de representar o metabolismo é na forma de uma matriz (Figura 2). Nesta matriz, em cada uma das linhas estão os componentes das reações metabólicas e as colunas representam cada uma das reações. Os números na matriz representam os coeficientes estequiométricos de cada um dos componentes da reação. As soluções matemáticas desse sistema consistem em vetores que descrevem o fluxo em cada uma das reações da rede metabólica para diferentes situações (Figura 2). Este sistema é resolvido considerando-se uma situação na qual a formação e consumo de todos os intermediários ocorrem com a mesma velocidade

e, portanto, não se acumulam no sistema, enquanto os nutrientes e produtos estão sendo consumidos e formados, respectivamente. Ou seja, uma situação de regime permanente (steady state) de transformações. Três estratégias têm sido aplicadas para resolver matematicamente este sistema (Trinh & Srienc, 2009).

A primeira estratégia é denominada análise de fluxos metabólicos (Metabolic Flux Analysis – MFA). Nesta estratégia, algumas medidas de fluxos são

realizadas, normalmente os fluxos de troca do sistema e o ambiente (consumo de nutrientes e formação de produtos). Se o número de fluxos medidos for igual ou superior aos graus de liberdade do sistema e se este não contiver componentes que contribuem igualmente para as transformações sendo analisadas, é possível definir um vetor que corresponde aos fluxos em todas as reações da rede metabólica.

Considerando o que foi apresentado até aqui, a Biologia de Sistema representa um grande salto na forma de se abordar os seres vivos, portanto, um novo ciclo de desenvolvimento na Biotecnologia microbiana pode ser esperado. De fato, consideramos que esse novo ciclo (Biotecnologia de Sistemas) já está em andamento por meio

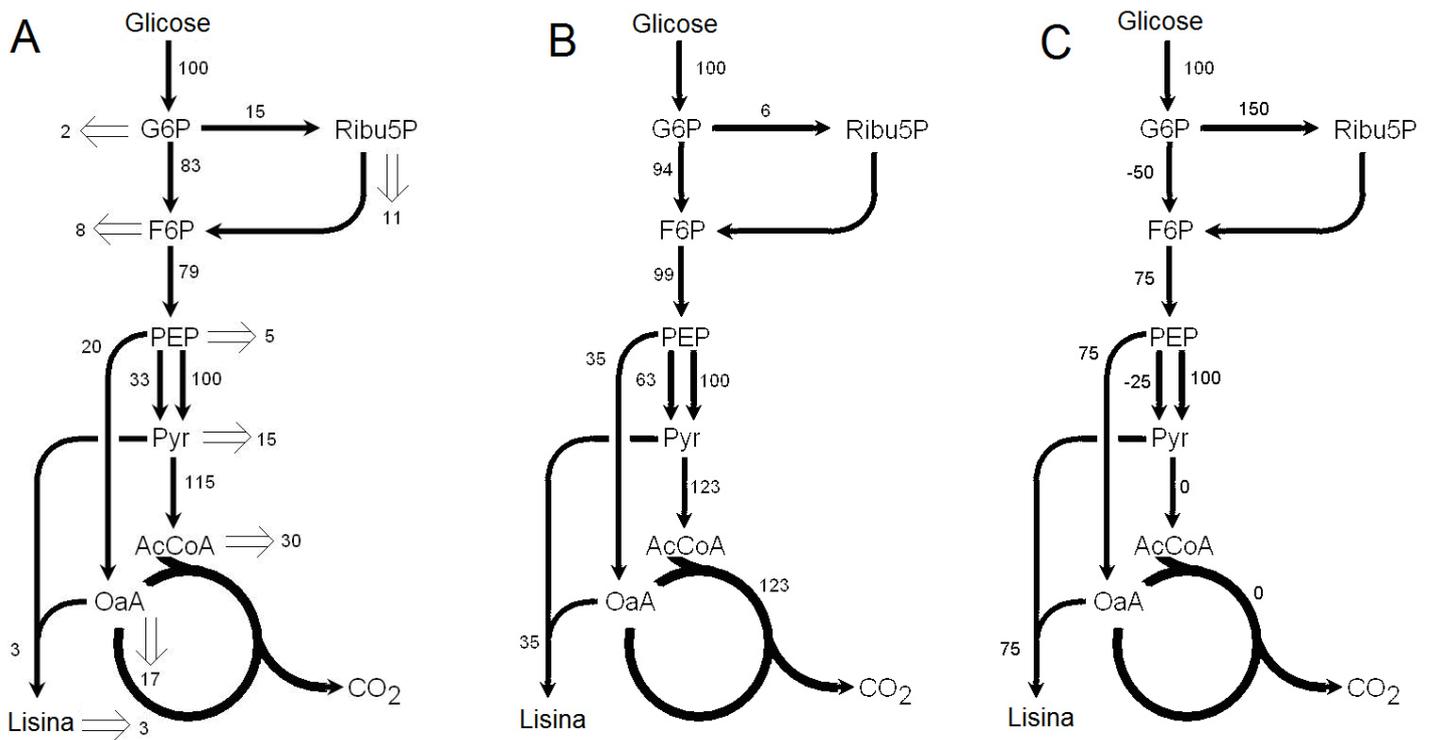


Figura 5. Distribuição de fluxos metabólicos em *C. glutamicum* em três situações diferentes: A. Aminoácidos produzidos apenas para crescimento celular. B. Lisina produzida em excesso em processo industrial. C. Máxima eficiência de conversão de glicose em lisina.

da Engenharia Metabólica, que como apresentaremos a seguir tem em suas bases conceituais uma abordagem sistêmica.

Engenharia Metabólica: uma abordagem sistêmica.

Bailey (1991) definiu a Engenharia Metabólica como sendo “o melhoramento de atividades celulares por manipulações das funções enzimáticas, de transporte e regulatórias da célula com o uso da tecnologia de DNA recombinante”. Está definição em si não distingue claramente a Engenharia Metabólica da Engenharia Genética. Entretanto, já em sua proposta inicial, Bailey reconhecia a necessidade de um ciclo interativo de análise e melhoramento genético. Logicamente no início da aplicação destes conceitos, considerando ainda a efervescência da Engenharia

Genética, o melhoramento genético foi mais amplamente utilizado, mas o desenvolvimento de técnicas de análise do metabolismo foi gradativamente se consolidando e permitindo que o ciclo da Engenharia Metabólica pudesse ser realizado.

Um conceito importante por trás do termo Engenharia Metabólica é que a amplificação da atividade de enzimas (pela clonagem de múltiplas cópias de um gene) ou outras alterações na rede metabólica (o nocaute de um gene, por exemplo), frequentemente sendo objeto da Engenharia Genética, não necessariamente resultam em aumentos no rendimento e na produtividade de forma expressiva (Stephanopoulos & Vallino, 1991). É necessária uma visão sistêmica do metabolismo de tal forma que as modificações propostas levem em conta os efeitos da expressão ou nocaute

de um gene na rede metabólica como um todo. Isto significa, por exemplo, que o balanço de coenzimas do metabolismo celular como um todo também necessita ser respeitado. Ou seja, é necessária uma análise mais holística do metabolismo e, portanto, a abordagem da Engenharia Metabólica vai em direção a uma análise sistêmica.

A Engenharia metabólica pode ser compreendida como um processo de desenvolvimento cíclico (Nielsen, 2001) consistindo dos seguintes passos: (i) análise do funcionamento metabólico de uma célula, (ii) desenho das modificações genéticas que permitiriam melhorar seu desempenho na biossíntese de um produto de interesse e (iii) construção da nova linhagem recombinante (Figura 4). A terceira etapa desse processo consiste na aplicação de técnicas amplamente difundidas da

Engenharia Genética, mas são as duas primeiras etapas que definem o alvo mais adequado para manipulação genética que pode ser mais promissor na melhora do processo de biossíntese e que consideram o sistema biológico como um todo. Assim, a Engenharia Metabólica consiste em uma estratégia sistêmica para alterar fenótipos (características) celulares uma vez que trata a formação de um determinado produto (etanol, lisina, etc) como uma propriedade da célula como um todo (Tyo et al., 2007). Esta visão vem de encontro aos interesses mais imediatos da Biologia de Sistemas. Redes metabólicas em escala genômica, por exemplo, oferecem um arcabouço para a integração de dados ômicos (Nielsen & Jewett, 2008). Um dos grandes desafios atuais está no desenvolvimento de modelos e algoritmos que permitam integrar a informação global obtida na Biologia de Sistemas no arcabouço das redes metabólicas (Nielsen & Jewett, 2008) e na compreensão dessa mudança no fenótipo final da célula.

A questão neste momento é se a abordagem sistêmica da Engenharia Metabólica pode levar a solucionar problemas que não poderiam ser resolvidos pela abordagem clássica da Engenharia Genética. Ou seja, se de fato temos em mãos uma ferramenta que nos habilita a identificar e resolver problemas que não podem ser feitos por outras abordagens. Esta seria a evidência final que estamos de

fato vivendo uma nova fase na Biotecnologia microbiana. Um caso de estudo biotecnológico que demonstra com clareza esta situação é a produção de lisina que é realizada por *Corynebacterium glutamicum* (Stephanopoulos & Vallino, 1991). O problema a ser resolvido é aumentar a capacidade de produção desse aminoácido pelo microrganismo. A abordagem deste problema tomando como base os conceitos de Engenharia Genética seria realizada pela super-expressão de genes de biossíntese de lisina e pelo nocaute de genes envolvidos na biossíntese de outros aminoácidos que competiriam com a síntese de lisina. A Figura 5 apresenta uma análise da rede metabólica de *C. glutamicum* em três situações: na primeira ocorre apenas crescimento e não há excreção de lisina, na segunda apresenta-se a distribuição de fluxos com a produção atingida em processo industrial de produção de lisina e a terceira analisa uma distribuição de fluxos na rede metabólica que permitiria dobrar a quantidade de lisina produzida a partir da mesma quantidade de glicose. Uma simples análise das diferentes distribuições de fluxos metabólicos revela que o problema pode ser resolvido com um aumento do fluxo da fonte de carbono na via das pentoses em detrimento da via de Embden-Meyerhoff-Parnas. É relativamente simples explicar o porquê dessa solução: a via das pentoses gera a coenzima reduzida NADPH, necessária para biossíntese da lisina,

enquanto a via de Embden-Meyerhoff-Parnas não. Mas veja que apenas após a análise sistêmica da rede metabólica foi possível decifrar a distribuição de fluxos mais adequada para atingir esse resultado. Assim, o alvo de modificações genéticas para se atingir a super-produção de lisina apenas pode ser identificado após uma análise sistêmica do metabolismo.

Nos caso apresentado, fica claro que a abordagem sistêmica da distribuição de fluxos observada e a identificação da forma de funcionamento do metabolismo mais adequada pode ser uma estratégia mais precisa para identificar as causas mais prováveis do fenótipo indesejado e quais modificações podem levar a melhoras significativas no processo de produção, atingindo-se inclusive valores máximos teóricos. Uma nova fase na Biotecnologia microbiana está em progresso: a Biotecnologia de Sistemas (Figura 1).

São grandes as expectativas. A abordagem sistêmica de microrganismos envolvidos na biossíntese de produtos de interesse comercial deve levar a melhoras significativas nesses processos. Microrganismos poderão ser caracterizados como plataformas com base na sua capacidade de suprir os diferentes precursores para biossíntese de produtos (Julleson et al., 2015). Os modelos metabólicos, a caracterização dos componentes e o conhecimento dos mecanismos de sua interação poderão chegar a um estágio tal que será possível construir um

organismo completamente novo, levando a Biologia Sintética ao seu limite (Keasling, 2010). Neste cenário, a Biotecnologia poderá resolver de forma efetiva importantes problemas: desde fármacos extremamente sofisticados até produtos simples que fazem parte do nosso dia a dia e que poderão ser gerados a partir de matérias primas renováveis. ●

Referências

- Bailey, J.E. 1991. Toward a Science of Metabolic Engineering. *Science*, 252: 1668-1675.
- Jullesson, D.; Florian, D.; Pfleger, B. & Niesens, J. 2015. Impact of synthetic biology and metabolic engineering on industrial production of fine chemicals. *Biotechnology Advances*, 33: 1395-1402.
- Keasling, J. 2010. Manufacturing molecules through metabolic engineering. *Science*, 330: 1355-1358.
- Kresnowati, M.T.A.P.; Winden, W.A.; Almering, M.J.H.; Pierick, A.; Ras, C.; Knijnenburg, T.A.; Daran-Lapujade, P.; Pronk, J.T.; Heijnen, J.J. & Daran, J.M. 2006. When transcriptome meets metabolome: fast cellular response of yeast to sudden relief of glucose limitation. *Molecular System Biology*, 49.
- Kuile, B.H. & Werterhoff, H.V. 2001. Transcriptome meets metabolome: hierarchical and metabolic regulation of the glycolytic pathway. *FEBS Letters*, 500: 169-171.
- Nielsen, J. & Jewett, M.C. 2008. Impact of system biology on metabolic engineering of *Saccharomyces cerevisiae*. *FEMS Yeast Research*, 8: 122-131.
- Nielsen, J. 2001. Metabolic engineering. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 55: 263-283.
- Nielsen, J. 2003. It is all about metabolic fluxes. *Journal of Bacteriology*, 185: 7031-7035.
- Stephaopoulos, G. & Vallino, J.J. 1991. Network rigidity and Metabolic Engineering in metabolite overproduction. *Science*, 252: 1675-
- Tyo, K.E.; Alper, H.S. & Stephanopoulos, G.N. 2007. Expanding the metabolic engineering toolbox: more options to engineer cells. *Trends in Biotechnology*, 25: 132-137.

www.unaerp.br

folklereis

**ORGULHO
DE SER
UNAERP.**



Entre as dez melhores universidades particulares do País no IGC MEC.
Doutorados e Mestrados avaliados com notas 5 e 4 pela Capes/MEC.
19 cursos estrelados no "Guia do Estudante" da Editora Abril 2015.
7ª classificada no estado de São Paulo no RUF 2015
(Ranking Universitário da Folha).

UNAERP
Universidade de Ribeirão Preto
Campus Ribeirão Preto - Campus Guarujá
EXCELÊNCIA NACIONAL.
PADRÃO MUNDIAL DE ENSINO.

Novos horizontes para biotecnologia industrial

Mateus Schreiner Garcez Lopes – Inovação em Tecnologias Renováveis na Braskem
E-mail: mateus.lopez@braskem.com

Em julho de 2015, depois de nove anos de desenvolvimento e viagem pelo espaço, a Horizon chegou a Marte marcando um dos principais feitos tecnológicos da humanidade. Em uma comparação interessante, o desenvolvimento de um novo processo biotecnológico para a produção de biocombustíveis, químicos ou alimentos pode demorar um tempo similar desde a sua concepção até a demonstração em escala comercial. Porém, além de grandes desafios técnicos, o desenvolvimento de um novo processo de biotecnologia industrial depende de fatores macro e microeconômicos que impactam diretamente na estratégia de P&D e no sucesso comercial. Este artigo pretende avaliar brevemente o impacto das mudanças de cenários macroeconômicos no P&D de projetos de biotecnologia industrial nos últimos quinze anos. Além disso, pretende-se apontar os desafios atuais para consolidação de cadeias de valor renováveis para garantir a mitigação dos efeitos da emissão de gases de efeito estufa (GEE).

Mudanças drásticas de cenários macroeconômico ocorridas em 2008 e 2015, resultaram em grandes

reestruturações estratégicas na área de biotecnologia industrial. Da euforia de investimentos do início dos anos 2000, passando pela revolução do shale gas após 2008 e, mais recentemente, por um cenário marcado por petróleo de baixo preço. Durante cada período, estratégias de P&D foram redesenhadas e implementadas, empresas de base tecnológica surgiram e desapareceram, criando um dos períodos mais frutíferos da biotecnologia industrial.

O início dos anos 2000 é marcado pela hype dos biocombustíveis e pela criação do que se define como engenharia de sistemas biológicos¹. O apetite de investidores de risco e de grandes empresas em tecnologias renováveis foi alavancado pela percepção de atingimento do peak oil² e pela especulação do preço do petróleo que elevou os preços do barril do petróleo a mais de US\$ 115,00. Aliado a este cenário, a descoberta de novas rotas metabólicas para produção de combustíveis avançados e a sofisticação das técnicas de construção de sistemas biológicos possibilitaram a criação de diversas startups de biotecnologia, como Amyris, Genomatica, Global Bioenergies, Gevo, LS9, Solazyme,

Lanzatech, Cobalt, Zechem, Verdezyme, Joule, OPX, Algenol etc. Destaca-se a descoberta de novas vias metabólicas que possibilitaram a conversão direta de açúcar a isobuteno pela Global Bioenergies³ e farneseno pela Amyris⁴.

Com a crise de 2008, marcada pela revolução do shale gas, a indústria química passa por mudanças estruturais com o aumento de crackers utilizando gás natural e redução dos preços de petróleo. Empresas que estavam focadas em combustíveis e que não possuíam um plano B, tiveram dificuldades em justificar seus planos de negócios e, eventualmente, faliram ou foram adquiridas. Um exemplo é a startup californiana de engenharia metabólica LS9, após sucessivos anúncios de atrasos da construção da planta industrial para a produção de biodiesel, acabou sendo adquirida pela Renewable Energy Group, uma das maiores empresas produtoras de biodiesel dos Estados Unidos⁵. Outras empresas, como a Amyris, conseguiram pivotar seus planos de negócios e tecnologia para produção de produtos de maior valor agregado, como especialidades químicas e lubrificantes. Além disso, a biotecnologia

se mostrou uma ferramenta interessante para produção de químicos que poderiam ter a seu suprimento ameaçado devido a substituição da nafta pelo gás natural nos crackers. Por exemplo, em 2015, juntamente com a Genomatica, a Braskem demonstrou a produção em escala de laboratório, a produção de butadieno diretamente a partir de açúcares⁶.

Ainda em 2015, ocorreu mais uma mudança abrupta de cenário com o aumento da oferta e redução do preço do petróleo, atingindo preços de US\$ 25-30. Neste cenário, as empresas de biotecnologia industrial enfrentam um cenário ainda mais desafiador, no qual empresas buscam a viabilidade técnico-econômica dos seus planos de negócio focando produtos de alto valor agregado. Empresas como Evolva passaram a atuar em mercado de moléculas mais complexas e de altíssimo valor agregado, como o resveratrol, vanilina e stevia. Este exemplo define um novo cenário de busca por tecnologias que possam dar retorno no curto prazo e empresas de biotecnologia que possuem um amplo portfólio de moléculas. A recente arrecadação de fundos pela Zymergen⁷ e Gingko Bioworks⁸, Transcript e Emerald Cloud Lab começam a definir novos modelos de negócio de prestação de serviço para o desenvolvimento de microrganismos geneticamente modificados e de laboratórios de engenharia metabólica “na nuvem”.

Nestes últimos 15 anos, uma

série de fronteiras na construção de sistemas biológicos foram ultrapassadas⁹ por meio da domesticação de novos hosts microbianos, da descoberta de novas reações enzimáticas para produção de químicos e da utilização de novas fontes de matérias-primas, como metano e CO₂. Além disso, novas tecnologias de engenharia metabólica, e.g. CRISPR/Cas System¹⁰, e de síntese de DNA, e.g. empresa Twist Bioscience, tem um importante papel da redução dos custos e do tempo de desenvolvimento de projetos de biotecnologia industrial. Apesar do aumento exponencial de conhecimento em sistemas biológicos, o desenvolvimento de novas cadeias de valores sustentáveis ainda está na sua infância. Para, de fato, dissociar o crescimento econômico da emissão de GEE é necessário combinar tecnologias renováveis com modelos de negócios inovadores e políticas públicas de longo prazo.

Novos modelos de negócios e de tecnologias renováveis precisam ser pensados de maneira conjunta. Conceitos como expansão do tempo de vida do produto, plataformas de compartilhamento, produto como serviço e tecnologias renováveis precisam ser integrados para criar soluções de circuito fechado. Um exemplo interessante é a utilização de polietileno (PE) verde e reciclado como matéria-prima para impressão 3D. Ao juntar diferentes stakeholders e tecnologias, plásticos podem ser regenerados não apenas para

durar mais (reciclagem) mas para durar para sempre (renováveis) e, com a gestão apropriada da cadeia de valor, é possível monetizar a sua longevidade por meio da manufatura doméstica de bens de consumo (impressão 3D).

A implementação de novas cadeias de valor não é dependente de apenas uma grande descoberta, mas de breakthroughs em diversas partes da cadeia de valor. Por exemplo, o desenvolvimento de novas tecnologias de segunda geração para produção de combustíveis a partir de resíduos agroindustriais (e.g. bagaço de cana-de-açúcar) depende de uma série de inovações. Novos tratores são necessários para a colheita de palha de cana-de-açúcar, novas variedades de cultivares resistentes a pragas e a escassez de água, IoT (internet of things) para otimizar a irrigação e a logística, novas tecnologias de pré-tratamento e liberação dos açúcares contidos na biomassa até o desenvolvimento de microrganismos geneticamente modificados. Para garantir que todas estas inovações ocorram em tempo hábil para mitigar os efeitos dos GEE é necessário que políticas públicas eficazes sejam implementadas. No final do ano passado, a COP21 se destacou como o primeiro acordo global para o estabelecimento de metas de redução de emissão de GEE a partir da próxima década. Afim de garantir que as políticas públicas corretas sejam realizadas, a comunidade científica e empresarial precisa

comunicar claramente quais são os desafios, o roadmap tecnológico e os recursos necessários. Nos Estados Unidos, a academia nacional de ciência juntamente com o governo e a indústria, desenvolveu um roadmap tecnológico¹¹ para identificar os principais gargalos para acelerar a implementação da biotecnologia industrial, identificando assim, as principais linhas de pesquisa para os próximos dez anos. Além disso, agências de fomento, políticas públicas, aceleradoras¹², capitalistas de risco e empresas continuam fortalecendo novos ciclos virtuosos de desenvolvimento. No Brasil, apesar de todo o nosso potencial da agroindústria, apenas esforço difusos e tímidos estão sendo realizados.

Enquanto a colonização de Marte ainda continua como sendo um roteiro de ficção científica, as ameaças e prejuízos das mudanças climáticas já fazem parte do nosso dia-a-dia. O desenvolvimento e a implementação de tecnologias limpas que considerem a sustentabilidade de toda a cadeia de valor precisam ser consolidados globalmente, independente das oscilações de preço das matérias-primas fósseis. Para isso, além de políticas públicas de longo prazo que criem incentivos para redução de GEE, é preciso o engajamento de toda a sociedade: comunidade científica, empresas, governo, ONGs e, principalmente, consumidores. Coletivamente, nós temos o dever de garantir

um ambiente saudável para as próximas gerações. O Brasil precisa definir uma agenda tecnológica clara para explorar o potencial do seu agronegócio para desenvolver soluções para a sociedade e agregar valor os seus produtos. Dessa maneira, o país pode garantir um papel de liderança econômica na transição para uma sociedade de base renovável. ●

Referências:

- 1 Nielsen J, Fussenegger M, Keasling J, Lee SY, Liao JC, Prather K, Palsson B (2014) Engineering synergy in biotechnology. *Nat Chem Biol* 5:319–322. doi:10.1038/nchembio1519
- 2 Hirsch RL, Bezdek R, Wendling R (2005) Peaking of world oil production: impacts, mitigation and risk management. Disponível via DOE. http://www.netl.doe.gov/publications/others/pdf/oil_peaking_netl.pdf.
- 3 Marliere P (2011) Production of alkenes by enzymatic decarboxylation of 3-hydroxyalkanoic acids (US2011/0165644 A1)
- 4 Renninger N, McPhee D (2008) Fuel compositions including farnesane and farnesene derivatives and methods of making and using same (WO2008045555)
- 5 <http://www.biofuelsdigest.com/bdigest/2014/01/22/reg-acquires-ls9-for-up-to-61-5m/>
- 6 <https://www.braskem.com.br/usa/news-detail/Genomatica-and-Braskem-Confirm-Direct,-Single-Step-Biological-Production-of-Butadiene>
- 7 <http://synbiobeta.com/zymergen-to-automate-microbial-engineering/>
- 8 <https://synbiobeta.com/twist-bioscience-closes-37-million-series/>
- 9 <http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs10295-015-1606-9>
- 10 Cong L, Ran FA, Cox D, Lin S, Barretto R, Habib N, Hsu PD, Wu X, Jiang W, Marraffini LA, Zhang F (2013) Multiplex genome engineering using CRISPR/Cas systems. *Science* 339(6121):819–823. doi:10.1126/science.1231143
- 11 <http://www.nap.edu/catalog/19001/industrialization-of-biology-a-roadmap-to-accelerate-the-advanced-manufacturing>
- 12 <http://www.cyclotronroad.org/>



Primeiros Mestres em Engenharia Química formados pela FEI



Pós
Graduação

O melhor profissional se faz com a melhor formação.

DOUTORADO | Mestrado | ESPECIALIZAÇÃO

“

O Mestrado em Engenharia Química da FEI desenvolve competências relacionadas ao trabalho de pesquisa e desenvolvimento, abrindo outras possibilidades no mercado de trabalho, seja atuando na indústria ou na área acadêmica. Além do aprimoramento técnico, o desenvolvimento de habilidades como criatividade, comunicação, capacidade de planejar e conduzir um trabalho serão fundamentais para minha vida profissional.

”

Fabiana dos Santos Lima – Mestre em Engenharia Química

-  facebook.com/fei
-  fei.edu.br/linkedin
-  twitter.com/feionline
-  instagram.com/feionline

11 4353-2900

www.fei.edu.br

FEI 75
anos

Biofármacos: do desenvolvimento à produção industrial

Autores: Caroline Didier e Sérgio Luiz Moreira

1. Introdução

A Biotecnologia pode ser definida como o conjunto de técnicas e tecnologias que visam à produção de bens ou à prestação de serviços mediante a utilização de células ou sistemas biológicos, em uma ou mais de suas etapas. As células ou sistemas biológicos podem ser o resultado final dessas técnicas e tecnologias, como por exemplo os microrganismos desenvolvidos para a redução das concentrações de metais pesados em águas residuais, ou podem ser os mediadores de reações químicas complexas que levam à geração de um produto, seja ele um antibiótico, um hormônio, um ácido orgânico, ou outra molécula. Essas células (bactérias, fungos, leveduras, células animais e vegetais) podem ter sido modificadas geneticamente, ou não, sendo consideradas então OGM (Organismos Geneticamente Modificados) ou Não-OGM, regidas por normativas diferentes. A Biotecnologia desempenha um papel importante nas áreas de saúde humana e animal (produção de antibióticos, enzimas, vacinas, kits diagnósticos, anticorpos

monoclonais, entre outros), agropecuário e alimentício (controle biológico de pragas, obtenção de plantas e sementes resistentes à seca ou a inseticidas, alimentos fermentados), meio ambiente (no tratamento de efluentes, biorremediação, biossensores), biocombustíveis e biopolímeros (etanol de segunda geração, plásticos biodegradáveis) e têxtil (fibras de origem vegetal e animal).

2. Mercado mundial e brasileiro de biofármacos

As receitas provenientes do mercado mundial de Biotecnologia nos últimos anos têm mostrado um crescimento em forma contínua a uma taxa anual entre 11,6% e 12,3%, passando dos USD 270,5 bilhões em 2013 e com uma expectativa de alcançar os USD 414,5 bilhões até o fim de 2017, devido principalmente a uma demanda crescente de novas terapias e metodologias para diagnóstico^{1,2}. Em 2013, a área de produtos destinados à saúde humana ou animal (biofármacos) dominou o mercado, com uma receita aproximada de USD 184,2 bilhões, quase 60% do

total^{1,3}.

No Brasil, o levantamento mais completo do mercado biotecnológico foi realizado pela BRBIOTECH / CEBRAP em 2011⁴. Nesse estudo, dois fatos se destacam: em primeiro lugar, a predominância das micro e pequenas empresas nesta área - 56% delas com receita anual de R\$ 2,4 milhões, 20% ainda sem geração de receita (com produtos e serviços ainda em desenvolvimento), e somente 10% delas com uma receita anual superior a R\$ 12 milhões. Em segundo lugar, as atividades das empresas incluídas no levantamento indicam que 67,1% delas se enquadram dentro das áreas de saúde humana e animal e diagnóstico, 9,7% na agricultura e uma quantidade igual em meio ambiente, e 5,1% em biocombustíveis (Figura 1).

3. Produção industrial de biofármacos

A produção industrial de um biofármaco se divide na obtenção do princípio ativo ou Insumo Farmacêutico Ativo (IFA) e a do medicamento em sua forma final. As sucessivas etapas de processamento do IFA de origem biológica para

* Biotecnóloga, Doutora em Ciências Biológicas e Especialista em Engenharia da Qualidade, Pesquisadora Sênior no CRISTÁLIA Prod. Quím. Farm. Ltda. – Divisão de Biotecnologia.

Biólogo e Doutor em Biotecnologia Industrial, Pesquisador Sênior no CRISTÁLIA Prod. Quím. Farm. Ltda. – Divisão de Biotecnologia.

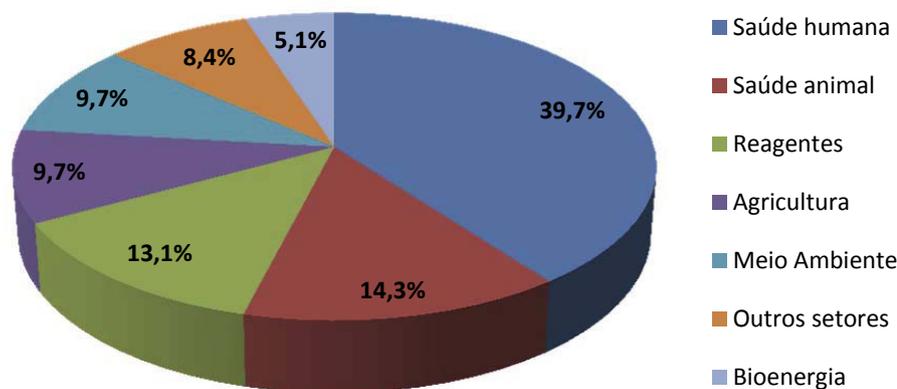


Figura 1: Distribuição das empresas brasileiras de base biotecnológica em função da área de atuação.

Fonte: BRBIÓTEC Brasil/Cebrap, "Brazil Biotech Map 2011" (n=237)

formular o medicamento final são similares às dos IFA obtidos por síntese química na indústria farmacêutica tradicional, pelo que não serão abordados neste texto.

O desenvolvimento de um biofármaco abrange uma variedade de técnicas e conhecimentos utilizados para fundamentação racional e científica na estruturação do processo, desde a escolha do vetor adequado até a produção em larga escala, em condições de Boas Práticas de Fabricação, o que envolve um complexo sistema de qualidade, pesquisa e desenvolvimento, produção, validações, desenvolvimento analítico, controle de qualidade, aspectos regulatórios e normativos e logística. Para que um IFA biológico possa ser formulado em um medicamento, o processo de obtenção deve primeiro cumprir uma série de etapas, começando pela obtenção da linhagem/clone produtor(a) e a extensiva caracterização físico-química e biológica da molécula produzida.

Posteriormente, os ensaios pré-clínicos permitirão avaliar os perfis farmacocinéticos e farmacodinâmicos do IFA, entre outras determinações, para finalmente chegar aos ensaios clínicos realizados em seres humanos, que permitirão ajustar a dosagem do IFA e atestar sua eficácia e eficiência para o tratamento proposto.

3.1. Plataformas de expressão de biofármacos

A expressão de proteínas na bactéria *Escherichia coli* foi pioneira na produção de biofármacos, através da tecnologia do DNA recombinante. A ampla utilização de *E. coli* na indústria é devido, predominantemente, à facilidade de escalonamento, baixo custo, alto rendimento e produtividade e robustez no cultivo deste microrganismo. Mais recentemente, a produção de IFA biológicos usando células de mamíferos, em particular para a produção de anticorpos monoclonais (mAb) utilizados

como terapia contra o câncer e doenças autoimunes, ganhou destaque e passou a ser a plataforma tecnológica mais usada, pela alta similaridade das proteínas produzidas por essas células com as produzidas no organismo humano.

3.2. Processo: upstream e downstream processing

O desenvolvimento do processo de upstream (USP) inclui a definição do vetor e o desenvolvimento da célula hospedeira, a seleção de clones, a definição do meio de cultura, o desenvolvimento do bioprocesso e seu escalonamento, o projeto dos reatores, os controles em processo e as análises correspondentes, visando obter elevadas concentrações do produto com alta atividade biológica e produtividade. O desenvolvimento do processo de downstream (DSP) envolve as etapas posteriores à geração do IFA pelo organismo produtor durante seu cultivo, e é direcionado, basicamente, ao rendimento e à produtividade, mantendo os atributos de qualidade do produto e incrementando a capacidade de purificação do processo. Novos métodos para o desenvolvimento dos USP e DSP estão sendo utilizados, tais como Quality by Design (QbD) e Design of Experiments (DoE)⁵. A Figura 2 apresenta esquematicamente as diferentes áreas de otimização e os parâmetros mais importantes.

3.3. Aspectos regulatórios

Em paralelo aos estudos

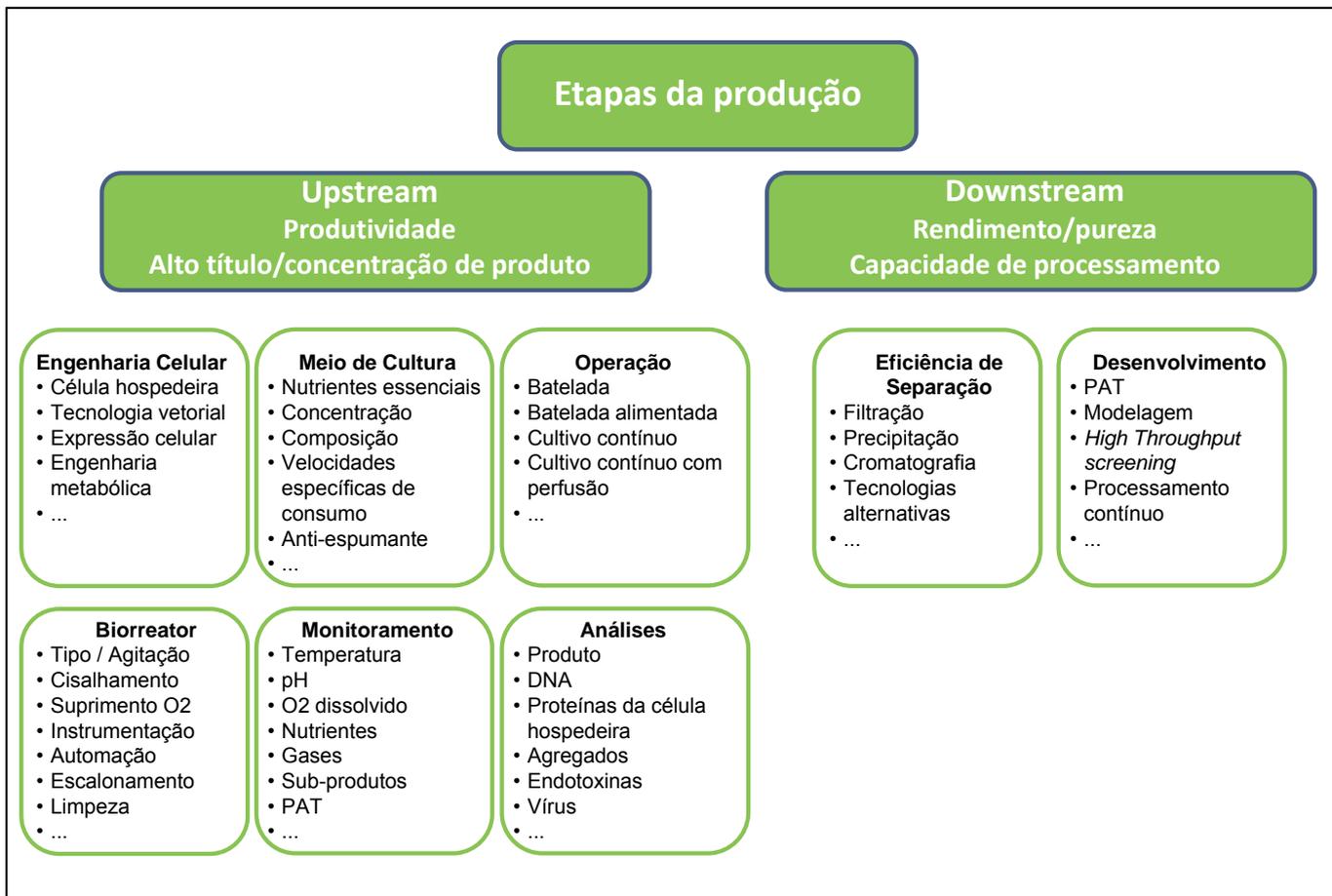


Figura 2: Etapas dos processos de upstream (USP) e de downstream (DSP) a serem otimizadas na produção de um biofármaco. Adaptado de: Gronemeyer, P.; Ditz, R.; Strube, J. (2014) Review: Trends in Upstream and Downstream Process Development for Antibody Manufacturing. *Bioengineering*, 1: 188-212

de desenvolvimento, deve-se iniciar o projeto da planta piloto ou industrial onde o IFA será produzido, solicitando para isso as licenças e habilitações necessárias: habilitação ambiental (no estado de São Paulo, outorgado pela CETESB), Laudo Técnico de Avaliação outorgado pelo Centro de Vigilância Sanitária local, habilitação pelo Corpo de Bombeiros, habilitação pela Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio) no caso de manipulação de OGM, e a certificação de Condições Técnico-Operacionais (CTO), aplicada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) aos estabelecimentos ou linhas de produção que possuem capacidade técnica e operacional

adequada à fabricação em escala industrial de medicamentos ou produtos para saúde. Após a obtenção do CTO, e quando o desenvolvimento do produto em larga escala encontra-se finalizado, deve-se solicitar à ANVISA uma inspeção na planta produtiva para a emissão do Certificado de Boas Práticas de Fabricação (CBPF, para atestar que determinado estabelecimento cumpre com as Boas Práticas de Fabricação, e que é pré-requisito para o registro do produto na ANVISA). Para a emissão da Certificação de Boas Práticas de Fabricação são avaliados itens técnicos de todos os setores das empresas, nas áreas de almoxarifado, produção, controle de qualidade,

garantia da qualidade, utilidades, entre outras⁶. A qualificação de equipamentos críticos, a validação de processo e a validação de limpeza também são itens requeridos para a obtenção do CBPF. Finalmente, requisita-se o Registro do Produto na ANVISA, necessário para poder comercializar o produto no território nacional.

3.4. Qualificação de equipamentos, Validação de processos e Validação de limpeza

Qualificação e validação são conceitos similares, ainda que na prática o termo qualificação seja mais utilizado para instalações e equipamentos, e o termo validação, para processos e

sistemas complexos.

O objetivo da qualificação é provar e documentar que equipamentos e sistemas estão devidamente instalados, que operam corretamente e conduzem aos resultados esperados⁶. Para isso, os instrumentos de medição críticos dos equipamentos e sistemas devem estar calibrados dentro da faixa de valores para a qual estão sendo qualificados. A qualificação deve ser realizada periodicamente, e a frequência deve seguir a normativa vigente.

Os dois processos críticos que devem ser validados para a produção de IFA biológicos são a validação de processo e a validação de limpeza. A validação de processo visa atestar com um alto grau de segurança que um processo específico produzirá um produto de forma consistente, que cumpra com as especificações pré-definidas e características de qualidade. Por outro lado, a validação de limpeza tem por objetivo demonstrar que os procedimentos de limpeza removem resíduos a níveis pré-determinados de aceitação, levando em consideração fatores tais como tamanho do lote, dosagem, dados toxicológicos, solubilidade e área de contato do equipamento com o produto^{6,7}.

3.5. Área limpa e controle ambiental.

Desde as etapas iniciais, o processo de produção de um biofármaco deve ser executado em área limpa, uma área com controle ambiental projetada, construída e utilizada de forma

a reduzir a introdução, geração e retenção de contaminantes em seu interior⁶. Os termos área limpa e área classificada são reservados para instalações submetidas a classificação e monitoramento quanto à contagem de partículas viáveis (contaminantes microbianos, principalmente) e não viáveis (partículas inertes). A maioria das áreas de produção de medicamentos não estéreis não necessita deste tipo de classificação, mas devem sempre ser projetadas e mantidas como áreas controladas, ou seja, áreas que possuam condições e procedimentos definidos, controlados e monitorados para prevenir degradação e contaminação de produtos e protegendo o meio ambiente de contaminantes provenientes do processo fabril⁸.

O controle ambiental estará dado por um sistema de aquecimento, ventilação e ar condicionado (AVAC), mais conhecido pela sigla em inglês HVAC (Heating, Ventilating, and Air Conditioning) que irá manter a temperatura, a umidade e a pressão das salas dentro de faixas pré-definidas e especificadas, e que deve ser qualificado periodicamente. O sistema HVAC permitirá a renovação total ou parcial do ar, que por sua vez será filtrado para manter o nível de partículas viáveis e não viáveis dentro dos níveis aceitáveis de acordo com a classificação da sala. O ar é filtrado passando por filtros de diferentes cortes e, se necessário, por filtros HEPA (High

Efficiency Particulate Arrestance ou também High Efficiency Particulate Air). A cascata de pressões entre salas deve convergir ao ponto mais crítico em termos de biossegurança, para garantir que no momento da abertura de portas o fluxo de ar entre as salas seja contrário ao sentido de saída do potencial contaminante biológico. Os sistemas HVAC de plantas produtoras de biofármacos possuem geralmente a tecnologia BIBO (Bag-in, Bag-out) no alojamento dos filtros HEPA que atendem as salas onde há manipulação do agente biológico, garantindo assim que durante a troca dos mesmos o operador e o ambiente não tenham nenhum tipo de contato com os filtros potencialmente contaminados.

3.6. Sistemas de Tratamento de Água

A tecnologia a ser empregada na purificação da água a ser utilizada na obtenção de IFA biológicos depende das características do IFA, principalmente do tipo e da concentração de contaminantes permitidos (químicos e microbiológicos), conforme especificações técnicas daquele. A qualidade da água utilizada na obtenção de IFA biológicos varia geralmente desde água abrandada, para as primeiras etapas do processo produtivo, até água para injetáveis (API ou WFI, water for injectables), passando por água purificada (AP ou PW, purified water).

A qualidade da água deve ser incrementada gradativamente na

medida em que se avança nas etapas de produção do IFA, e de acordo com a capacidade das etapas posteriores de remover os possíveis contaminantes que ela possa carregar. Em termos gerais, um sistema de purificação de água padrão consiste em um módulo de tratamento da água potável com filtro multicamada (camadas adjacentes de meios filtrantes de diferentes densidades e tamanhos de partículas), carvão ativado, resinas de intercâmbio iônico que visam reduzir a concentração de íons divalentes (Ca^{2+} , Mg^{2+}), e entre eles um ou mais sistemas de microfiltração (filtros de 20, 5 e 1 μm , por exemplo). Se a água de alimentação do sistema apresentar turbidez ou uma alta concentração de coloides (água de captação subterrânea ou de rio), a utilização de um sistema alternativo de ultrafiltração pode ser necessária.

Geralmente a PW é produzida a partir de água abrandada tratada por deionizadores, osmose reversa, ultrafiltração e/ou eletrodeionização⁹. Contudo, o mais comum é uma combinação dessas tecnologias. As membranas de osmose reversa são formadas por polímeros de alta densidade que permitem a separação de moléculas orgânicas e íons presentes na água com uma eficiência típica superior a 95%. Logo após o módulo de osmose reversa é possível instalar um eletrodeionizador, que combina resinas de troca iônica e membranas de seleção iônica com corrente contínua para remover os

íons remanescentes na água. A tecnologia mais utilizada para a obtenção de WFI (e a única aceita pela Farmacopeia Europeia) é a destilação, onde ocorre a mudança de fase da água que permite a remoção final dos contaminantes residuais, principalmente microbiológicos. O vapor puro, necessário para a descontaminação térmica ou esterilização de materiais, biorreatores, tanques e outros equipamentos utilizados no processo e que entram em contato direto com o produto, é obtido em destilador a partir de PW.

O controle da contaminação da água para uso biofarmacêutico é fundamental, uma vez que a água tem grande susceptibilidade para agregar compostos diversos e para sofrer recontaminação, mesmo após a etapa de purificação. Recomenda-se a instalação de um anel de distribuição (loop) de PW ou WFI, no qual a água deve circular em fluxo turbulento, para evitar a formação de biofilme, e geralmente a temperaturas longe da faixa ideal de crescimento microbiano ($<18^{\circ}\text{C}$ ou $>60^{\circ}\text{C}$). Os sistemas mantidos aquecidos em temperaturas entre 65 a 80 $^{\circ}\text{C}$ são considerados autossanitizantes e, portanto, menos susceptíveis à contaminação microbiológica do que sistemas que são mantidos em temperaturas menores. O crescimento de microrganismos pode ser inibido por radiação ultravioleta, manutenção do sistema a quente ($T>65^{\circ}\text{C}$), sanitização periódica do sistema utilizando água quente, água

superaquecida ou vapor puro e sanitização química rotineira usando ozônio ou outro agente químico eficaz⁹.

Todos os sistemas de água e vapor puro para uso biofarmacêutico são considerados sistemas críticos de qualidade e de impacto direto na qualidade e segurança de biofármacos, portanto devem ser qualificados seguindo um protocolo de 3 fases sequenciais, com amostragens periódicas, que se estende por um ano.

3.7. Outras utilidades sanitárias

Nos processos de produção de biofármacos, muitas vezes são utilizados gases especiais, como O_2 (para manter o nível de saturação de oxigênio necessário para a respiração celular, nos cultivos em alta densidade), CO_2 (para regular o pH daqueles sistemas tamponados com base no equilíbrio entre as espécies $\text{H}_2\text{O} + \text{CO}_2 \leftrightarrow \text{HCO}_3^- + \text{H}^+$) e N_2 (para manter condições de anaerobiose). Todos os gases utilizados e que entram em contato direto com o produto devem atender as especificações de ultrapuro, grau medicinal ou similar. O ar comprimido que entra em contato com o produto, seja como nutriente durante o cultivo, para realizar transferências entre vasos por pressão positiva, etc., deve ser isento de óleo e ser de baixa umidade. As linhas de gases, incluindo as de ar comprimido, devem ser sanitárias (tubulações, válvulas e instrumentos), e qualificadas periodicamente para garantir

que atendam as especificações definidas.

3.8. Tratamento de efluentes biológicos

Uma etapa importante da produção de um biofármaco é o correto descarte dos efluentes gerados que contem o agente biológico (caldo de cultura, torta de sólidos filtrados, água de enxágue de equipamentos). Deve-se prever um sistema de descontaminação para a eliminação do agente biológico, ou sua redução até níveis aceitáveis. A descontaminação pode ser física - geralmente térmica - ou química. O processo de descontaminação deve ser validado periodicamente, e possuir registros que permitam a rápida detecção e remediação em caso de qualquer ocorrência que ponha em dúvida o desempenho do processo de descontaminação.

Recomenda-se a implementação de um sistema redundante de descontaminação, ou de medidas de contenção (barreiras físicas) que impeçam que o efluente chegue à rede de tratamento de esgoto antes da verificação e confirmação de que a descontaminação ocorreu conforme procedimento estabelecido. Os processos de descontaminação dos efluentes líquidos, sólidos e gasosos contendo material biológico devem ser periodicamente validados, e os registros dos ciclos de descontaminação guardados para possível consulta dos órgãos regulatórios.

4. Considerações finais

O mercado de produtos e serviços biotecnológicos continuará a crescer a ritmo acelerado nos próximos anos, impulsionado ainda pela

produção de biofármacos, em particular aqueles orientados à obtenção de drogas para o tratamento de doenças raras, câncer e doenças associadas ao envelhecimento.

A biotecnologia no Brasil ainda está em suas etapas iniciais, mas andando a passo firme para se consolidar como um mecanismo para a substituição de importações e internalização de tecnologias, que permitam reduzir significativamente os gastos atuais do Sistema Único de Saúde (SUS) com medicamentos biotecnológicos de alto custo, visando não somente o maior acesso aos mesmos e a melhoria da qualidade da saúde pública, mas também a agregação de valor na cadeia produtiva nacional.

Referências:

- 1 Biotechnology Market Analysis By Technology (Fermentation, Tissue Engineering, PCR Technology, Nanobiotechnology, Chromatography, DNA Sequencing, Cell-based Assay), By Application (Biopharmaceuticals, Bioservices, Bioagriculture, Bioindustry) And Segment Forecasts To 2020. September 2015, ISBN: 978-1-68038-134-4 <http://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/biotechnology-market>
- 2 Global Biotechnology Market Set to Reach US\$414.5 Bn by 2017 due to Rapidly Emerging Technologies and Rise in Government Funding. September 02, 2015. <http://www.transparencymarketresearch.com/pressrelease/biotechnology-market.htm>
- 3 <http://www.ibisworld.com/industry/global/global-biotechnology.html>
- 4 BRBIOTECH BRAZIL / Cebrap. BIOTECH BRAZIL MAP 2011. http://www.cebrap.org.br/v1/upload/pdf/Brazil_Biotec_Map_2011.pdf
- 5 Gronemeyer, P.; Ditz, R.; Strube, J. (2014) Review: Trends in Upstream and Downstream Process Development for Antibody Manufacturing. *Bioengineering*, 1: 188-212.
- 6 ANVISA RDC N°17 (16/04/2010) - Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos.
- 7 ANVISA RDC N°69 (08/12/2014) - Boas Práticas de Fabricação de Insumos Farmacêuticos Ativos.
- 8 Guia da Qualidade para Sistemas de Tratamento de Ar e Monitoramento Ambiental na Indústria Farmacêutica, ANVISA, 2013.
- 9 Guia de Qualidade para Sistemas de Purificação de Água para Uso Farmacêutico, ANVISA, 2013.

Biorreatores Pneumáticos: Simples e Eficientes

Alberto Colli Badino Junior - DEQ/UFSCar

Caroline Eliza Mendes - Pesquisador em Biotecnologia Sênior - PPG-EQ/UFSCar - caroline.biotec@crystalia.com.br

Marcel Otávio Cerri - FCFar/UNESP

Mateus Nordi Esperança - IFSP/Capivari

Rodrigo Béttega - DEQ/UFSCar

Sérgio Luiz Moreira - Pesquisador em Biotecnologia Sênior - sergioluiz.biotec@crystalia.com.br

Muitos processos químicos e bioquímicos envolvem a transferência de massa gás-líquido, ou seja, a dissolução de componentes que se encontram originalmente numa fase gasosa para uma fase líquida onde são convertidos em produtos de interesse. Embora existam vários processos químicos que empregam esta operação, os bioprocessos envolvendo o cultivo de células e microrganismos são os que majoritariamente a utilizam.

Os biorreatores pneumáticos podem ter diferentes aplicações, de acordo com a fase gasosa utilizada (elemento transferido). O Quadro 1 apresenta processos clássicos relacionados com a transferência de massa gás-líquido onde estão destacados o elemento transferido e o(s) produto(s) obtido(s). A aplicação mais conhecida é a transferência de oxigênio da fase gasosa para a fase líquida, utilizada em cultivos aeróbios ou reações enzimáticas que demandam oxigênio. Outras aplicações envolvem o uso de uma fase gasosa inerte para simples homogeneização do sistema reacional e transferência de calor como, por exemplo, em alguns culti-

vos anaeróbios. Uma aplicação também relacionada com sistemas anaeróbios é quando a fase gasosa (elemento transferido) é uma fonte de substrato para os microrganismos, como é o caso de cultivos de *Clostridium sp.*, onde o gás de síntese ($\text{CO}/\text{CO}_2/\text{H}_2$) é utilizado para produção de biocombustíveis como butanol e etanol. A fase gasosa também pode ser utilizada como veículo para extração ou arraste de um componente presente no meio líquido. Esta operação é conhecida como esgotamento ou *stripping*. Por exemplo, cultivos de *Saccharomyces cerevisiae* para a produção de etanol podem ser realizados em biorreator pneumático utilizando o gás carbônico (CO_2) como gás de arraste. Nesse processo que integra as etapas de produção e separação conhecido como fermentação extrativa, parte do etanol presente na fase líquida se vaporiza sendo arrastado pela corrente de CO_2 , minimizando o problema de inibição pelo produto (etanol) e aumentando a produtividade do processo.

Com relação aos dispositivos onde ocorrem os bioprocessos, os comumente utilizados são os biorreatores tipo tanque agitado e aerado e os biorreatores não

convencionais pneumáticos. A primeira classe consiste dos reatores convencionais, os quais apresentam agitação mecânica por meio de impelidores acoplados a um eixo movimentado por um motor (Figura 1). No caso de bioprocessos aeróbios, a aeração é realizada por meio da injeção de ar ou oxigênio através de um aspersor localizado na base do equipamento. Apesar desta classe de reatores apresentar alta eficiência e ser a mais utilizada em processos químicos industriais, deve-se ponderar sobre a sua aplicação em bioprocessos, os quais utilizam células ou microrganismos, uma vez que os campos de cisalhamento impostos aos organismos nesses biorreatores podem afetá-los de forma irreversível, promovendo alterações morfológicas, produção de compostos indesejáveis, redução da síntese do bioproduto de interesse ou até mesmo a morte celular. Ainda, a existência de partes móveis exige a presença de selo mecânico, o que aumenta a possibilidade de ocorrência de contaminação do processo.

Tais desvantagens observadas em reatores convencionais são minimizadas em reatores pneumáticos, que fazem parte

Quadro 1. Processos químicos e bioquímicos que empregam transferência de massa gás-líquido.

Processo	Elemento transferido	Produto
Hidrogenação de lipídeos (óleos e gorduras)	H ₂	gordura hidrogenada (margarina)
Carbonatação de álcalis	CO ₂	carbonatos e bicarbonatos
Oxidação de glicose	O ₂	gliconatos (cálcio, magnésio, sódio, zinco)
Cultivo de algas e cianobactérias	CO ₂	lipídeo (biodiesel) e fármacos
Cultivo de leveduras	O ₂	fermento biológico, proteína unicelular, lipídeo (biodiesel)
Cultivo de bactérias (<i>Clostridium sp.</i>)	Gás de síntese (CO/CO ₂ /H ₂)	biocombustíveis (etanol e butanol)
Cultivo de bactérias (<i>Escherichia coli</i>)	O ₂	vacinas
Cultivos de bactérias e fungos filamentosos	O ₂	ácidos orgânicos, antibióticos, enzimas, vitaminas
Cultivo de células	O ₂	anticorpos monoclonais, fatores VIII e IX (hemofilia), hormônios, interferon, vacinas
Fermentação extrativa	CO ₂ /N ₂	Combustíveis (etanol, butanol)

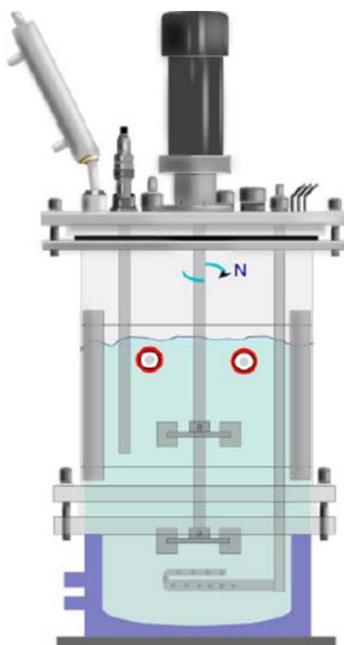
que a agitação e a gaseificação são conjuntas, há uma acentuada redução no consumo energético. Devido à ausência de impelidores, os campos de cisalhamento encontrados no interior destes dispositivos são distribuídos de maneira uniforme, afetando de forma menos intensa as células sensíveis ao cisalhamento. Ainda, uma vez que não possuem partes móveis em seu interior, a possibilidade de contaminação do processo é menor em comparação ao reator convencional, reduzindo assim custos com limpeza e esterilização do equipamento

Principais modelos e princípio de funcionamento

Os biorreatores pneumáticos são divididos em duas classes básicas: biorreatores coluna de bolhas (*bubble column*) e biorreatores de circulação ou tipo

de uma classe de reatores não-convencionais onde um gás, ar ou oxigênio no caso dos bioprocessos aeróbios, é injetado na base do reator e promove, além da gaseificação, a agitação do meio líquido. Uma das suas vantagens está justamente relacionada a esta característica, pois uma vez

Figura 1. Biorreator convencional tipo tanque agitado e aerado.



(Fonte: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Bioreaktor_quer2.jpg)

airlift. De configuração bastante simples, os biorreatores coluna de bolhas correspondem a uma dorna cilíndrica, equipada com um aspersor na sua base, por onde um gás ou mistura de gases são injetados na forma de bolhas em um líquido, solução ou suspensão sólido-líquido (Figura 2a). Desta forma, a dissolução do gás na fase líquida e a homogeneização do meio reacional são obtidas exclusivamente pelo borbulhamento do gás injetado, que escoam ascendentemente devido a menor densidade, arrastando consigo o líquido e promovendo um movimento aleatório do meio que promove a mistura gás-líquido.

Os biorreatores *airlift* são subdivididos ainda em duas categorias, de acordo com a posição relativa entre duas importantes regiões de escoamento: as regiões de subida e descida.

- *Airlift* de circulação interna (ACI): mais comumente utilizados. Nestes dispositivos as regiões de subida e descida encontram-se no mesmo compartimento, sendo separadas pela presença de um anteparo, cujo intuito é separar os canais para o escoamento da dispersão gás-líquido. Entre os anteparos mais comuns encontram-se tubos (*draft-tube*) e placas, originando os biorreatores denominados *airlift* de tubos (ou cilindros) concêntricos (ACC) (Figura 2b) e *airlift split-cylinder* (ASC)

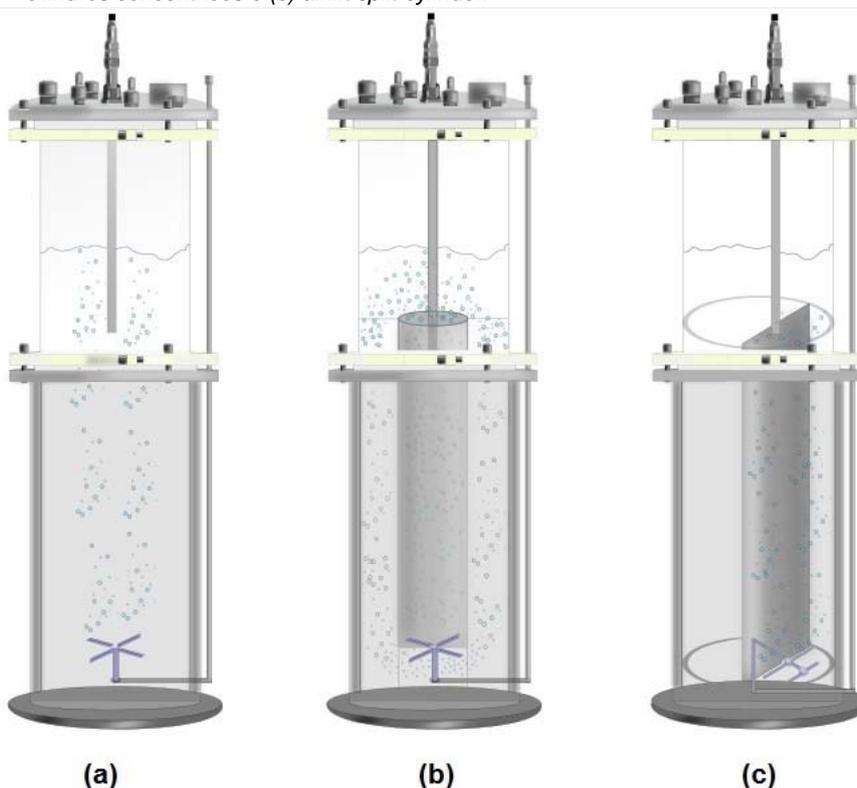
(Figura 2c), respectivamente. Para o biorreator ACC, o borbulhamento de gás pode ser realizado tanto na região interna do tubo quanto na região anular.

- *Airlift* de circulação externa (ACE): menos comuns. Neste modelo as regiões de subida e descida encontram-se em dutos distintos, ligados por seções horizontais no topo e na base. Devido à geometria do separador gás-líquido, geralmente um tubo horizontal fechado ou um reservatório aberto, esses biorreatores alcançam quase o total desprendimento de gás no topo, e conseqüentemente, uma velocidade de circulação superior em comparação aos biorreatores ACI. Logo, a maior velocidade de líquido observada na região de subida leva à redução da retenção gasosa nesta região,

implicando dessa forma, em uma menor transferência de oxigênio em comparação aos biorreatores ACI.

A principal diferença entre biorreatores coluna de bolhas e *airlift* está relacionada ao escoamento do líquido: enquanto o biorreator coluna de bolhas apresenta um movimento aleatório da fase líquida devido ao escoamento ascendente de gás, em reatores *airlift* verifica-se um escoamento cíclico do fluido, sendo por isso, designados como reatores de circulação ou *loop reactors*. Este escoamento ocorre através de canais especificamente projetados para este propósito tanto em biorreatores *airlift* de circulação interna de cilindros concêntricos (Figura 2b) quanto em *airlift split-cylinder* (Figura 2c), que são divididos em quatro regiões

Figura 2. Biorreatores pneumáticos mais comuns: (a) coluna de bolhas, (b) *airlift* de cilindros concêntricos e (c) *airlift split-cylinder*.



(Fonte: Mendes, 2016)

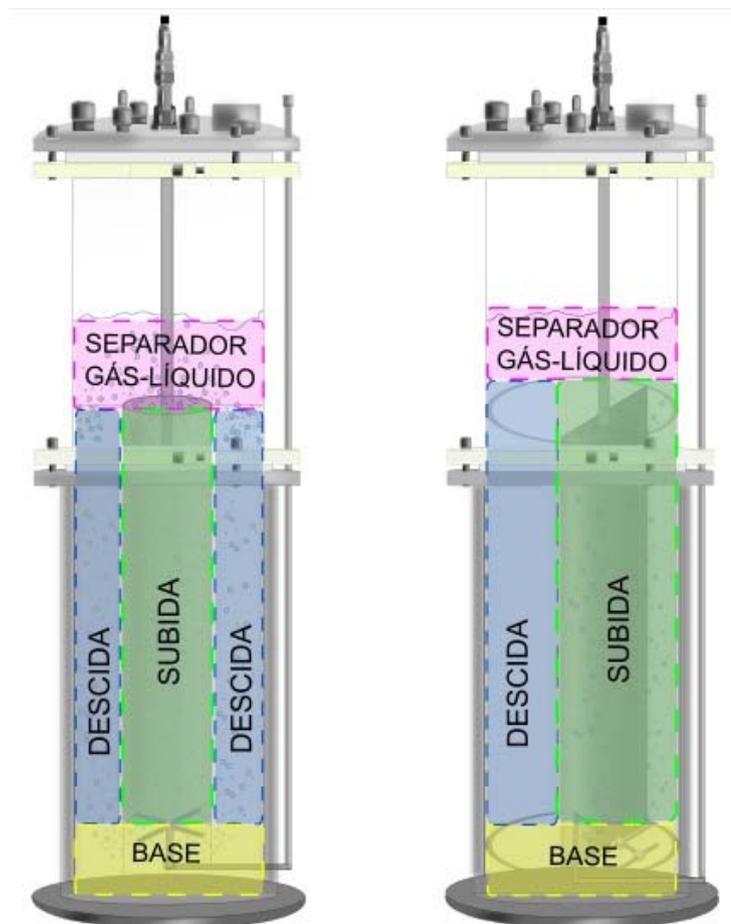
(Figura 3):

- Subida (*riser*): região na qual ocorre o borbulhamento de gás no biorreator e por onde o fluido escoava ascendentemente;
- Descida (*downcomer*): região paralela ao *riser*, por onde o fluido escoava descendentemente;
- Topo ou separador gás-líquido (*gas-liquid separator* ou *degassing zone*): conexão no topo do biorreator entre o *riser* e o *downcomer*, na qual parte da fase gasosa retida na fase líquida se desprende;
- Base (*bottom*): ligação entre o *riser* e o *downcomer* pelo fundo do reator.

O escoamento da fase líquida em biorreatores *airlift* inicia-se com a aspersão de gás na base do reator, localizada no início do *riser*. Em seguida, a dispersão gás-líquido escoava ascendentemente pelo *riser*, em virtude da redução da densidade do meio pela presença de alta quantidade de gás. Ao alcançar o separador gás-líquido no topo do biorreator, parte do gás retido na fase líquida se desprende, aumentando a densidade e levando a dispersão a um escoamento descendente pelo *downcomer*. Após a dispersão percorrer o *downcomer* (caracterizado por uma menor retenção gasosa em relação ao *riser*), esta entrará na base do reator novamente, reiniciando o circuito de circulação.

Deve-se salientar que tanto a base quanto o separador gás-líquido representam importantes seções em biorreatores *airlift* devido à mudança de direção do escoamento verificada em

Figura 3. Regiões de escoamento em biorreatores *airlift* de circulação interna: (a) *airlift* de cilindros concêntricos e (b) *airlift split-cylinder*.



(Fonte: Mendes, 2016)

ambas. Por se tratar de um canal fechado, a base impõe perda de carga ao escoamento, ocasionando elevada dissipação de energia específica. Por outro lado, o topo proporciona o desprendimento parcial do gás e, conseqüentemente, a circulação do líquido, afetando a retenção gasosa global, a velocidade de circulação do líquido e a transferência de oxigênio. A combinação destes fenômenos afeta a força motriz do escoamento da fase líquida no interior destes dispositivos. Portanto, modificações no tamanho e formato destas regiões implicam

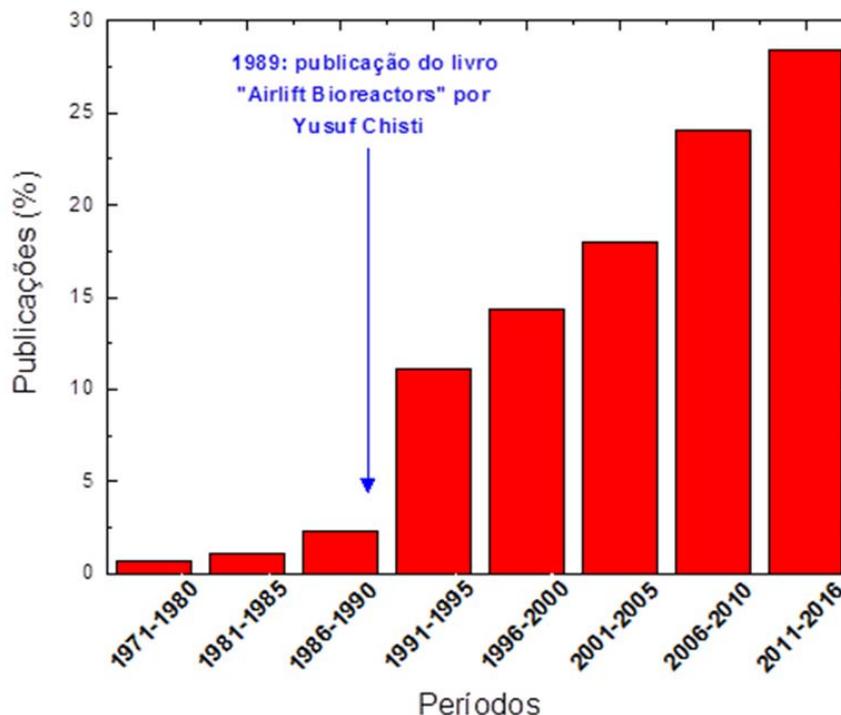
em alterações na eficiência de separação, retenção gasosa local, velocidade do líquido, afetando conseqüentemente a estrutura de escoamento global do biorreator.

Em virtude das vantagens e de sua versatilidade, pesquisas utilizando reatores pneumáticos vêm crescendo de forma sistemática nas últimas décadas, com utilização para uma ampla gama de aplicações incluindo processos enzimáticos e fermentativos, tratamento de águas residuais, cultivo de células animais e vegetais e como fotobiorreator para cultura de microalgas e cianobactérias.

A Figura 4 apresenta dados relativos à porcentagem de artigos científicos publicados ao longo das últimas décadas relacionados com o emprego de biorreatores pneumáticos. A pesquisa, que utilizou a base de dados Web of Science, identificou cerca de 2500 artigos relacionados com o tema. Verifica-se que a partir de 1991, houve um aumento acentuado na quantidade de trabalhos científicos, muito provavelmente como efeito da publicação em 1989 do clássico livro “*Airlift bioreactors*” pelo pesquisador Yusuf Chisti. Nesta obra, o Professor Chisti resumiu uma grande quantidade de informações publicadas na forma de artigos científicos, contribuindo com uma boa base de conhecimento para futuras pesquisas no assunto, além de identificar lacunas ainda existentes nesta área de pesquisa, cujo interesse continua crescente até os dias atuais.

Historicamente, tem-se o relato que o maior biorreator operado em condições aeróbias é um modelo airlift instalado na então planta da Imperial Chemical Industries (ICI) na cidade de Billingham (Inglaterra) na década de 1970 para produção de proteína unicelular. O equipamento com cerca de 7 m de diâmetro, 60 m de altura e volume de aproximadamente 2,7 milhões de litros aparece sendo içado numa famosa fotografia publicada em setembro de 1978 no periódico *Chemical Engineering News* (Figura 5).

Figura 4. Evolução temporal da quantidade de publicações científicas relacionadas com biorreatores pneumáticos.



Principais parâmetros de desempenho

Parâmetros hidrodinâmicos e de transferência de massa tais como retenção gasosa (ϵ), velocidade de circulação do líquido, diâmetro médio da bolha (D_b) e coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio ($k_L a$) são comumente utilizados na avaliação do desempenho de reatores pneumáticos, auxiliando no projeto, operação e variação de escala destes equipamentos.

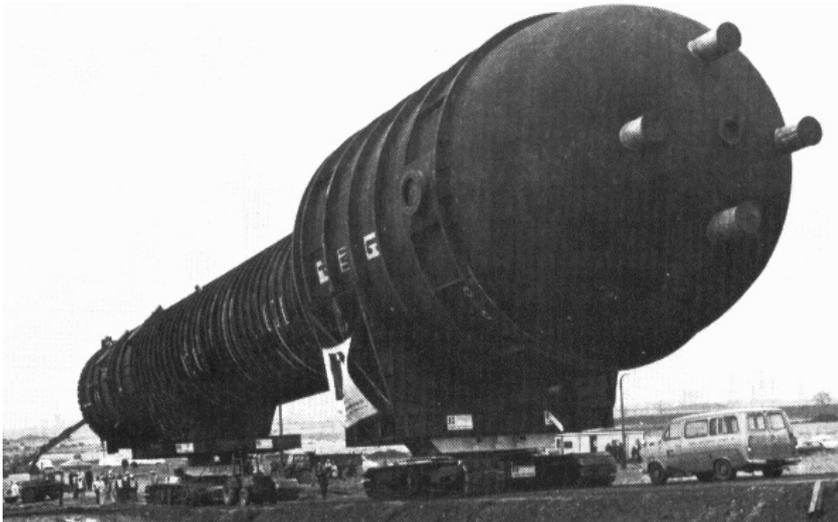
Dentre todos os parâmetros de desempenho de biorreatores, a retenção gasosa (ϵ) é um dos mais utilizados, uma vez que além de facilidade da medida, está relacionada com outras variáveis importantes para a caracterização destes equipamentos. A retenção gasosa é definida como a fração ou o percentual de volume de gás presente numa dispersão

gás-líquido ou gás-líquido-sólido. Para o caso de um sistema bifásico gás-líquido, a retenção gasosa global (ϵ_g) é definida pela Equação 1, onde v_G é o volume de gás presente na dispersão gás-líquido, v_L é o volume de líquido na dispersão que apresenta volume v_D .

$$\epsilon_g = \frac{v_G}{v_G + v_L} = \frac{v_G}{v_D} \quad (1)$$

Em reatores *airlift* a determinação das retenções gasosas parciais, ou seja, a retenção gasosa no *riser* (ϵ_r) e a retenção gasosa no *downcomer* (ϵ_d) têm grande importância, visto que permitem uma melhor compreensão da hidrodinâmica destes biorreatores através da determinação da força motriz para a circulação do líquido, definida como a diferença entre as retenções gasosas ($\epsilon_r - \epsilon_d$),

Figura 5. O maior biorreator aeróbio do mundo.



(Fonte: <http://www.rpi.edu/dept/chem-eng/Biotech-Environ/FERMENT/largest.htm>, acesso em 17/06/2016)

das velocidades de circulação do líquido e da perda de carga em cada seção do equipamento. As retenções gasosas parciais (ε_i) podem ser obtidas pelo método manométrico, utilizando-se a Equação 2, onde ρ_L e ρ_G são as densidades das fases líquida e gasosa, respectivamente, ΔP_i é a diferença de pressão entre os dois pontos separados por uma distância vertical d e g é a aceleração da gravidade. O subscrito "i" corresponde à região de medida, região de subida ($i=R$) ou de descida ($i=D$).

Em bioprocessos aeróbios, o

$$\varepsilon_i = \frac{\rho_L}{\rho_L - \rho_G} - \frac{\Delta P_i}{(\rho_L - \rho_G) \cdot g \cdot d} \quad (2)$$

principal objetivo em promover agitação e aeração do sistema é fornecer oxigênio em quantidade suficiente para suprir as necessidades metabólicas das células de forma a viabilizar a biossíntese de produtos de

interesse. Devido à importância deste nutriente para as células aliado a sua baixa solubilidade, estudos relacionados com a avaliação da transferência de oxigênio da fase gasosa para o meio líquido são cruciais para o sucesso de inúmeros bioprocessos aeróbios.

Na interface gás-líquido, a velocidade de transferência de oxigênio ($N_{O_2} = n_{O_2} \cdot a$) é descrita em termos do coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio ($k_L a$), produto do coeficiente convectivo de transferência de massa (k_L) e a área interfacial de transferência de massa (a), e da força motriz para a transferência de oxigênio que consiste da diferença entre a concentração de saturação de oxigênio no líquido em equilíbrio com a fase gasosa (C_s) e a concentração de oxigênio no seio do líquido (C), conforme a Equação 3.

$$N_{O_2} = n_{O_2} a = k_L a \cdot (C_s - C) \quad (3)$$

A área interfacial de transferência de massa (a) é dada pela área total de troca de massa, ou seja, a somatória das áreas de todas as bolhas de gás dividida pelo volume reacional (Equação 4).

$$a = \sum A_{bolhas} / V_{reator} \quad (4)$$

No entanto, não é possível obter $\sum A_{bolhas}$ num biorreator. Assim, pode-se quantificar a área interfacial de troca de massa em função da retenção gasosa global (ε_g) e do diâmetro médio das bolhas (D_b) pela Equação 5, que assume bolhas de gás esféricas.

$$a = \frac{6 \cdot \varepsilon_g}{D_b \cdot (1 - \varepsilon_g)} \quad (5)$$

Visto que o $k_L a$ é a constante de proporcionalidade entre a

velocidade de transferência de oxigênio (N_{O_2}) e a força motriz para a transferência (C_S-C), a sua determinação é imprescindível de forma a se quantificar a transferência de oxigênio nos diferentes modelos e escalas de biorreatores, sob diferentes condições de operação e assim atender à demanda de um determinado bioprocesso.

Para fins comparativos, a Figura 6 ilustra valores de k_La e de retenção gasosa global (ε_g) obtidos em três modelos de biorreatores pneumáticos (coluna de bolhas, *airlift* de cilindros concêntricos e *airlift split-cylinder*) de 10 L de volume útil em função da vazão específica de alimentação de ar ($\phi_{ar}=Q/V_{líquido}$ em min^{-1}) utilizando água como fase líquida. Observa-se comportamentos similares de ε_g e k_La em função de ϕ_{ar} , indicando uma forte correlação entre esses parâmetros. Isso ocorre pelo fato de que a retenção gasosa promove o aumento da área interfacial de transferência de massa (a), a qual compõe o produto $k_L \cdot a$. Portanto, a retenção gasosa global (ε_g) se apresenta como um parâmetro facilmente mensurável para avaliar a capacidade de transferência de massa gás-líquido em biorreatores pneumáticos.

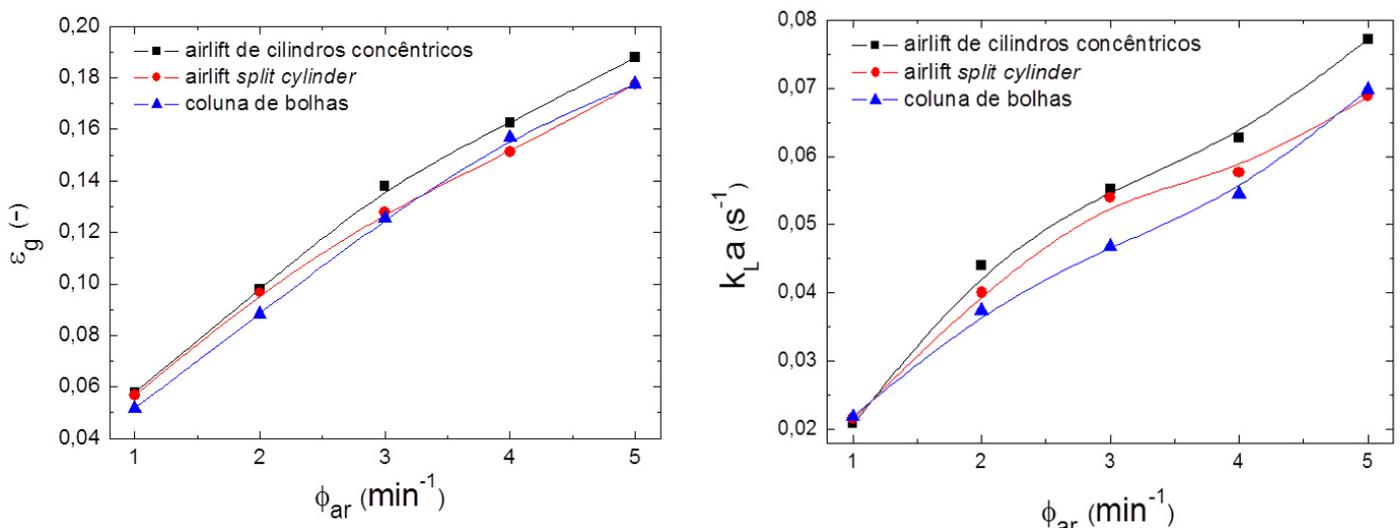
Desenvolvimento de biorreatores pneumáticos no DEQ/UFSCar

Em 2000, foi iniciada uma nova linha de pesquisa na Área de Engenharia Bioquímica do Departamento de Engenharia Química da UFSCar focada no desenvolvimento de biorreatores abordando o “biorreator com uma operação unitária”, ou seja, um equipamento adequado para o uso como biorreator deve atender quesitos ligados às transferências de quantidade de movimento, calor e massa. Com base na literatura, foram escolhidos critérios para avaliar o desempenho desses equipamentos como tempos de circulação e

de mistura, retenção gasosa, coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio (k_La), taxa de cisalhamento e consumo de potência, entre outros, critérios dependentes das condições de operação e da geometria dos equipamentos.

Como modelo de partida foi escolhido o biorreator pneumático com seus diferentes submodelos coluna de bolhas e *airlift* de circulação interna dos tipos cilindros concêntricos e split. Embora já conhecidos da literatura em vários artigos e apresentados e discutidos no clássico livro do Prof. Yusuf Chisti, *Airlift Bioreactors*, havia ainda espaço para modificações em parâmetros geométricos desses sistemas e nos modelos de aspersores, de modo a se melhorar os critérios de desempenho desses equipamentos. Na época não havia informações de grupos de pesquisa nacionais atuando no tema e poucos relatos de

Figura 6. Principais parâmetros de desempenho de biorreatores pneumáticos (ε_g e k_La) em função da vazão específica de alimentação de ar (ϕ_{ar}) em biorreatores pneumáticos operados com água a 30°C: (a) retenção gasosa global (ε_g) e (b) coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio (k_La) (Mendes, 2016).



equipamentos de bancada comercialmente disponíveis, mesmo no exterior.

Partiu-se de uma primeira versão do biorreator *airlift* de cilindros concêntricos *homemade*, construída na oficina mecânica do DEQ/UFSCar em 2001, com aeração promovida por um anel perfurado localizado na base do espaço anular do equipamento. Nesse equipamento foram realizados os primeiros estudos hidrodinâmicos, avaliando a influência de alguns parâmetros geométricos na velocidade de circulação de líquido, retenção gasosa e transferência de oxigênio.

Na sequência foram iniciados estudos relacionados com a hidrodinâmica e a transferência de oxigênio em diferentes escalas de bancada de biorreatores *airlift* com financiamento da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP). Propôs-se o desenvolvimento e a avaliação de diferentes escalas de bancada de biorreatores *airlift* (2, 5 e 10 litros) visando estudos de variação de escala e análise comparativa entre a produção de antibióticos em biorreatores não convencionais deste gênero e em biorreator convencional disponível comercialmente. A otimização das relações geométricas e a proposta de um novo modelo de aspersor tipo cruzeta com orifícios de diâmetro e espaçamento adequados melhorou sobremaneira o desempenho desses equipamentos. Os resultados da avaliação de critérios de desempenho tendo como base

o coeficiente volumétrico de transferência ($k_L a$) superam aqueles obtidos em biorreator convencional tipo tanque agitado disponível comercialmente de escala similar em condições normais de operação. Tais resultados levaram em 2004 à solicitação do pedido de patente de invenção PI 0404703-6 junto ao Instituto Nacional de Propriedade Industrial (INPI) intitulada “Biorreator pneumático de circulação interna e uso do mesmo”, financiada pela Fundação de Apoio Institucional ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (FAI/UFSCar), patente esta concedida em dezembro/2014.

Em 2006, avaliando que o sistema pneumático poderia ter uma maior versatilidade e, portanto, um melhor apelo comercial, foi proposto o desenvolvimento de um sistema reacional pneumático multiuso, que comportaria numa mesma base três modelos de biorreatores, a saber, coluna de bolhas ou torre, *airlift* de cilindros concêntricos e *airlift split-cylinder* de 2, 5 e 10 L, respectivamente. No desenvolvimento da proposta, foram projetadas e construídas as escalas, bem como avaliadas as hidrodinâmicas e as capacidades de transferência de oxigênio das mesmas, de forma a validá-las como eficazes em cultivos de bactérias e fungos filamentosos.

Frente aos resultados obtidos, em abril/2007 foi solicitado o pedido de patente de invenção PI0701608-5 junto ao Instituto Nacional de Propriedade Industrial (INPI) intitulada

“Sistema reacional pneumático e uso do mesmo”, financiada pela FAPESP dentro do Programa de Apoio à Propriedade Intelectual (PAPI/Nuplitec).

No mesmo ano, a empresa “Tecnal Equipamentos para Laboratórios” obteve o licenciamento das patentes relacionadas aos biorreatores pneumáticos. Foi então elaborado um projeto de cooperação técnica que teve como objetivo a construção e testes de desempenho dos modelos de biorreatores comercializados desde então pela empresa como “BIORREATOR PNEUMÁTICO – AIR LIFT”.

A fluidodinâmica computacional (*Computational Fluid Dynamics: CFD*) vem sendo também empregada na avaliação de biorreatores pneumáticos no DEQ/UFSCar. Estudos estão sendo conduzidos objetivando a obtenção de modelos e estratégias de simulação que representem a hidrodinâmica e a transferência de massa nesses equipamentos. De posse destes modelos, a proposição de novas configurações, *scale-up* e testes acerca de condições operacionais podem ser previamente realizados utilizando simulação computacional, evitando custos de construção de protótipos e otimizando o tempo de projeto. Os resultados obtidos até o momento vêm se apresentando promissores nesse contexto.

Para ilustrar o uso de CFD no desenvolvimento de biorreatores, na Figura 8 são apresentados contornos simulados para a retenção gasosa global em diferentes modelos de

biorreatores obtidos através de CFD. É possível observar como a geometria do biorreator altera a distribuição de ar no interior do equipamento. Estes resultados foram obtidos utilizando a abordagem Euler-Euler para o escoamento multifásico, com modelagem tridimensional em uma malha de aproximadamente 500.000 células computacionais.

Nos últimos anos os modelos existentes de biorreatores pneumáticos no DEQ/UFSCar têm sido utilizados em diferentes linhas de pesquisa como na produção de antibióticos e celulases por bactérias e fungos filamentosos, ácido glicônico (gliconatos) a partir de sacarose por sistema multienzimático e etanol por fermentação extrativa. Ainda novos modelos de biorreatores *airlift* de circulação interna com modificações nas suas geometrias vêm sendo avaliados e otimizados experimentalmente e com o auxílio da ferramenta de fluidodinâmica computacional (CFD: *Computational Fluid Dynamics*) de modo a consolidar a linha de pesquisa de Projeto e Desenvolvimento de Biorreatores. ●

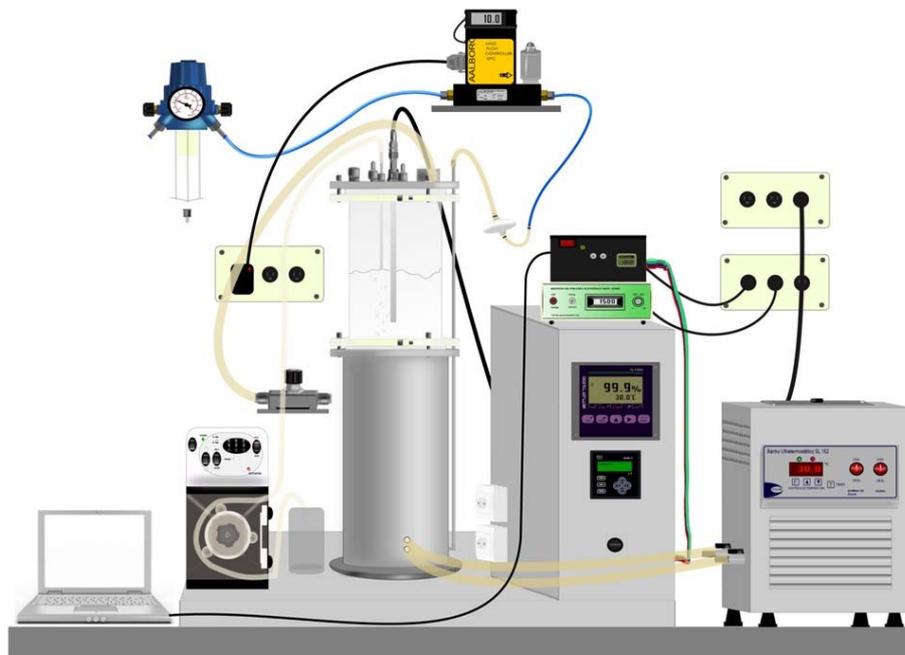


Figura 7. Sistema reacional pneumático constituído por biorreator e periféricos (fluxômetro de massa e sistemas de controle de temperatura e de aquisição de dados). (Fonte: Mendes, 2016)

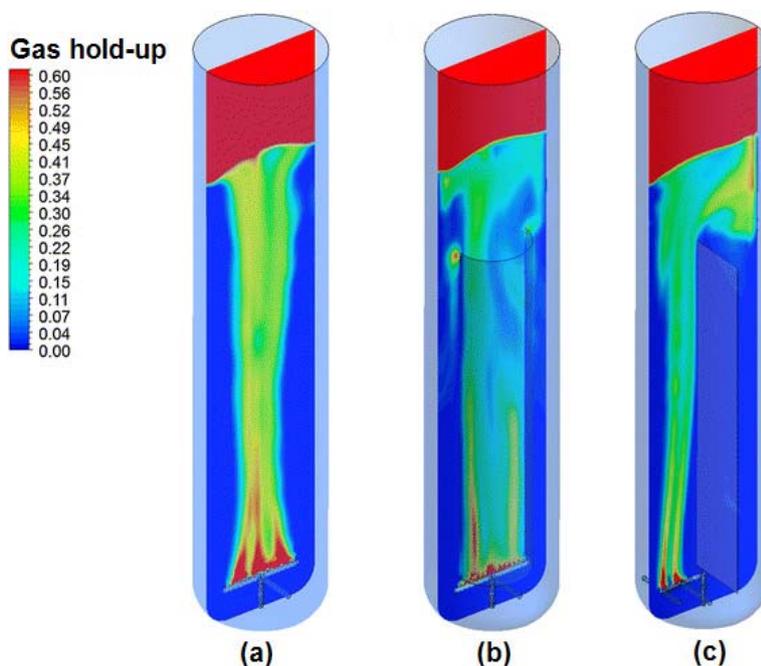


Figura 8. Previsão da retenção gasosa (Gás hold-up) em biorreatores pneumáticos por fluidodinâmica computacional (CFD): (a) coluna de bolhas, (b) airlift de cilindros concêntricos e (c) airlift tipo split. (Fonte: Rodriguez et al., 2015)

Bibliografia

- CERRI, M.O.; BADINO, A.C.. Shear conditions in clavulanic acid production by *Streptomyces clavuligerus* in stirred tank and airlift bioreactors. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 35, p. 977-984, 2012.
- CERRI, M.O. **Avaliação de transferência de calor e massa de um biorreator airlift de circulação interna de bancada para a produção de ácido clavulânico**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química), Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 116 p., 2005.
- CERRI, M.O.; FUTIWAKI, L.; JESUS, C.D.F.; CRUZ, A.J.G.; BADINO, A.C. Average shear rate for non-Newtonian fluids in a concentric-tube airlift bioreactor. **Biochemical Engineering Journal**, v. 39, p. 51-57, 2008.
- CERRI, M.O. **Hidrodinâmica e transferência de oxigênio em três biorreatores airlift de circulação interna geometricamente semelhantes**. Tese (Doutorado em Engenharia Química), Universidade Federal de São Carlos, 157 p., 2009.
- CERRI, M.O.; BADINO, A.C. Oxygen transfer in three scales of concentric tube airlift bioreactors. **Biochemical Engineering Journal**, v. 51, p. 40-47, 2010.
- CERRI, M.O.; BALDACIN, J.C.; CRUZ, A.J.G.; HOKKA, C.O.; BADINO, A.C. Prediction of mean bubble size in pneumatic bioreactors. **Biochemical Engineering Journal**, v. 53, p. 12-17, 2010.
- CERRI, M.O.; POLICARPO, L.M.; BADINO, A.C. Gas hold-up and mass transfer in three geometrically similar internal loop airlift reactors using newtonian fluids. **International Journal of Chemical Reactor Engineering**, v. 8, p. 1-22, 2010.
- CHISTI, Y. **Airlift bioreactors**. London: Elsevier Applied Science, 1989.
- CHISTI, Y. Pneumatically agitated bioreactors in industrial and environmental bioprocessing: hydrodynamics, hydraulics, and transport phenomena. **Applied Mechanics Reviews**, v. 51, p. 33-112, 1998.
- CUNHA, F.M.; ESPERANÇA, M.N.; ZANGIROLAMI, T.C.; BADINO, A.C.; FARINAS, C.S. Sequential solid-state and submerged cultivation of *Aspergillus niger* on sugarcane bagasse for the production of cellulase. **Bioresource Technology**, v. 112, p. 270-274, 2012.
- ESPERANÇA, M.N.; CUNHA, F.M.; CERRI, M.O.; ZANGIROLAMI, T.C.; FARINAS, C.S.; BADINO, A.C. Gas hold-up and oxygen mass transfer in three pneumatic bioreactors operating with sugarcane bagasse suspensions. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 37, p. 805-812, 2014.
- ESPERANÇA, M. N. **Influência de aspectos geométricos na hidrodinâmica e transferência de oxigênio de biorreatores airlift de circulação interna**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química), Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 110 p., 2014.
- GOUVEIA, E.R.; HOKKA, C.O.; BADINO, A.C. The Effects of Geometry and Operational Conditions on Gas Holdup, Liquid Circulation and Mass Transfer in an Airlift Reactor. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 20, p. 363-374, 2003.
- MAFRA, A.C.O.; FURLAN, F.F.; BADINO, A.C.; TARDIOLI, P.W. Gluconic acid production from sucrose in an airlift reactor using a multi-enzyme system. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 38, p. 671-680, 2015.
- MENDES, C.E. **Avaliação das condições hidrodinâmicas, de transferência de oxigênio e de cisalhamento em diferentes modelos e escalas de reatores pneumáticos**. Tese (Doutorado em Engenharia Química), Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 245 p., 2016.
- MENDES, C.E.; BADINO, A.C. Hydrodynamics of Newtonian and non-Newtonian liquids in internal-loop airlift reactors. **Biochemical Engineering Journal**, v. 109, p. 137-152, 2016.
- MENDES, C.E.; BADINO, A.C. Oxygen transfer in different pneumatic bioreactors containing viscous Newtonian fluids. **Chemical Engineering Research and Design**, v. 94, p. 456-465, 2015.
- MERCHUK, J.C. Airlift bioreactors: review of recent advances. **The Canadian Journal of Chemical Engineering**, v. 81, p. 324-337, 2003.
- ONKEN, U.; WEILAND, P. Airlift Fermenters: Construction, Behavior, and Uses. **Advances in Biotechnological Processes**, p. 67-95, 1983.
- RODRIGUEZ, G.Y.; VALVERDE-RAMÍREZ, M.; MENDES, C.E.; BÉTTEGA, R.; BADINO, A.C. Global performance parameters for different pneumatic bioreactors operating with water and glycerol solution: experimental data and CFD simulation. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 38, p. 2063-2075, 2015.
- RODRIGUEZ, G.Y. **Avaliação de parâmetros globais de desempenho de biorreatores pneumáticos através de fluidodinâmica computacional**. Tese (Doutorado em Engenharia Química), Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 95 p., 2015.
- SONEGO, J.L.S.; LEMOS, D.A.; PINTO, C.E.M.; CRUZ, A.J.G.; BADINO, A.C. Extractive fed-batch ethanol fermentation with CO₂ stripping in a bubble column bioreactor: Experiment and modeling. **Energy & Fuels**, v. 30, p. 748-757, 2016.
- SONEGO, J.L.S.; LEMOS, D.A.; RODRIGUEZ, G.Y.; CRUZ, A.J.G.; BADINO, A.C. Extractive batch fermentation with CO₂ stripping for ethanol production in a bubble column bioreactor: Experimental and modeling. **Energy & Fuels**, v. 28, p. 7552-7559, 2014.
- THOMASI, S.S. **Avaliação de parâmetros de desempenho de três modelos de biorreatores pneumáticos de bancada**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química), Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 86 p., 2010.
- THOMASI, S.S.; CERRI, M.O.; BADINO, A.C. Average shear rate in three pneumatic bioreactors. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 33, p. 979-988, 2010.

2016: Celebrando 20 anos do Encontro Brasileiro sobre Adsorção

Igor Tadeu Lazzarotto Bresolin¹, Odélsia Leonor Sanchez de Alsina², Diana Cristina Silva de Azevedo³, Célio Loureiro Cavalcante Jr³

¹ Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP Diadema/SP); Professor ABEQ. E-mail: bresolin@unifesp.br

² Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Processos, Universidade Tiradentes (UNIT, Aracaju/SE). E-mail: odelsia@uol.com.br

³ Grupo de Pesquisa em Separações por Adsorção (GPSA), Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal do Ceará (DEQ/UFC). E-mail: diana@gpsa.ufc.br, celio@gpsa.ufc.br

Resumo

O Encontro Brasileiro sobre Adsorção (EBA) caracteriza-se como o único evento técnico-científico realizado no Brasil dedicado especificamente a Adsorção, nas suas diversas aplicações, reunindo pesquisadores, estudantes e profissionais do setor industrial. Este artigo tem o objetivo de compartilhar o desenvolvimento e a evolução dos EBA ao longo dos últimos vinte anos, desde sua primeira edição em 1996. Particularmente, o 11º EBA representou um momento especial para a comunidade “adsortiva” do Brasil, com um retrospecto da sua atuação e contribuições ao longo da sua história. É notório o crescimento qualitativo e quantitativo dos trabalhos desenvolvidos e publicados como consequência da evolução desta área no Brasil, especialmente pelo favorecimento da integração e troca de informações entre os pesquisadores do país e do exterior.

Histórico do EBA

O Encontro Brasileiro sobre Adsorção (EBA) teve como origem um curso sobre “Leito

Móvel Simulado”, ministrado pelo Prof. Dr. Alirio E. Rodrigues (Universidade do Porto, Portugal) em Fortaleza em dezembro de 1995. Naquela ocasião, já estava programada para Julho de 1996 uma visita a Fortaleza do Prof. Dr. Douglas Morris Ruthven, autor do livro “Principles of Adsorption and Adsorption Processes (Wiley, 1984)”. Assim, sob a liderança dos professores Célio Cavalcante e Diana Azevedo, decidiu-se aproveitar a vinda do Prof. Ruthven e promover um “encontro” entre pesquisadores da área, pertencentes a alguns poucos grupos no Brasil, o que originou o 1º Encontro Brasileiro sobre Adsorção. Como palestrantes plenários, foram convidados, além do Prof. Ruthven, o Prof. Alirio Rodrigues (Universidade do Porto, Portugal) e o Prof. Marco Mazzotti (Politécnico di Milano, Itália). Este primeiro evento mostrou que a iniciativa foi oportuna face ao número de participantes (cerca de 100) e qualidade dos 58 trabalhos apresentados. Destes trabalhos, 13 foram publicados em edição especial do Brazilian Journal of Chemical Engineering (vol. 14(3), 1997). Aproveitando

a vinda destes especialistas ao Brasil, foram também realizados dois minicursos em dias anteriores ao evento, ministrados pelos Profs. Ruthven e Mazzotti, inaugurando assim uma novidade em oferecimento de minicursos aos estudantes e profissionais que participavam do evento. A grande ousadia da incorporação do ordinal “1º” ao nome mostrou-se acertada, pois não só tivemos o 2º EBA como os demais que vieram para consolidá-lo como o grande evento da área no Brasil.

A organização do 2º EBA ficou a cargo da Universidade Federal da Santa Catarina, sendo sediado em Florianópolis, em maio de 1998, tendo como coordenador o Prof. Dr. Leonel Teixeira Pinto. Esta segunda versão mostrou um crescimento acentuado, contando com 65 trabalhos científicos e 130 participantes. A comunidade científica internacional esteve representada pelos conferencistas Dr. Hermant W. Dandekar (UOP, Illinois, EUA) e Prof. N.-H. Linda Wang (Purdue University, Indiana, EUA).

O 3º EBA aconteceu em Recife, em julho de 2000, sob a responsabilidade da Universidade Federal de

Pernambuco, coordenado pelos Professores Dr. César Augusto Moraes da Abreu, Dra. Valdinete Lins da Silva e Dr. Augusto Knoechelmann. Assim como os EBA's anteriores, este evento reuniu, com sucesso, cientistas, engenheiros, técnicos e estudantes que apresentaram 70 trabalhos. O convidado internacional foi o Prof. Bohumil Volesky (University McGill, Canadá).

Em maio de 2002, ocorreu no Rio de Janeiro o 4º EBA, sob a responsabilidade do Departamento de Engenharia Química da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, tendo como coordenador o Prof. Dr. Gerson Luiz Vieira Coelho. O Encontro contou com pesquisadores de renome nacionais e internacionais, tendo a apresentação de 80 trabalhos científicos. Representando a comunidade científica internacional fizeram-se presentes o Prof. James Ritter (South Carolina University, EUA), Dr. Jörg Thommes (IDEC Pharmaceuticals, EUA) e o Prof. Mietek Jaroniec (Kent State University, EUA).

O 5º EBA ocorreu em Natal em julho de 2004, sob a responsabilidade do Prof. Antônio Souza de Araújo, do Departamento de Química da Universidade Federal do Rio Grande do Norte. O evento contou com a participação de renomados conferencistas como o Prof. Gino Baron (Vrije Universiteit Brussel, Bélgica e editor da Revista Adsorption), o Prof. Francisco Rodriguez-

Reinoso (Universidade de Alicante, Espanha, e editor da Revista Carbon) e o Prof. M. Douglas LeVan (Vanderbilt University, EUA). O evento foi marcado também por um número recorde de trabalhos científicos apresentados, ao todo, 116. Os trabalhos que se destacaram naquela ocasião foram enviados para a Revista Adsorption, onde 9 artigos foram publicados em edição especial (vol. 11(2), 2005).

O 6º EBA ocorreu em Maringá, no Paraná, em agosto de 2006. O evento teve a coordenação das professoras Maria Angélica Simões Dornelas de Barros e Célia Regina Granhen Tavares, organizado pelo Departamento de Engenharia Química da Universidade Estadual de Maringá. Esta edição também contou com a participação de conferencistas de renome internacional. Em particular, o Prof. Douglas Morris Ruthven (University of Maine, EUA) esteve novamente presente. Os professores Randall Snurr (Northwestern University, EUA), Francesco Vegliò (Università degli studi di l'Aquila, Itália), Carlos Moreno Castilla (Universidad de Granada, Espanha) e Dr. Reiner Staudt (Institute of non Classical Chemistry, Alemanha) foram os demais conferencistas estrangeiros convidados. Neste EBA, foram apresentados 107 trabalhos, mostrando que o crescimento do evento foi acompanhado também pela transcendência além das fronteiras do país. Os trabalhos que se destacaram foram enviados para a Revista

Adsorption Science & Technology, onde foram publicados 13 artigos em edição especial (vol. 25(9), 2007).

Para a realização do 7º EBA, foi escolhida a cidade paraibana de Campina Grande, realizado no mês de junho de 2008. A Pós-Graduação em Engenharia de Processos da UFCG teve a honra de organizar o evento, tendo como Coordenadoras as Professoras Odelsia Leonor Sánchez de Alsina e Maria Wilma de Carvalho. A conferência de abertura foi realizada pelo Prof. Douglas M. Ruthven (University of Maine, EUA), o qual pode ser considerado quase um "sócio" do EBA, pelo seu apoio e participação constantes. Destacaram-se ainda como palestrantes convidados internacionais o Prof. Giorgio Zgrablich (Universidad Nacional de San Luís, Argentina), o Prof. Jean Rouquerol (Université de Provence, França), o Prof. Juan Carlos Moreno-Piraján (Universidad de Los Andes, Colômbia), o Dr. Frieder Dreisbach (Ruhrtherm, Alemanha) e o Prof. Jörg Kärger (Universität Leipzig, Alemanha). O evento contou com a apresentação de 149 trabalhos. Destaca-se que, nesta ocasião, realizou-se em paralelo o I Simpósio Sul-Americano sobre Ciência e Tecnologia da Adsorção e a I Escola Sul-Americana sobre Adsorção, com recursos de Edital PROSUL/2007.

A 8ª edição do EBA, sob a coordenação da Profa. Meuris Gurgel Carlos da Silva (UNICAMP) e do Prof. Marcelino Luiz Gimenes (UEM), ocorreu

dentro do Congresso Brasileiro de Engenharia Química (COBEQ 2010). Dois renomados palestrantes internacionais estiveram presentes neste EBA: Dr. Matthias Thommes (Quantachrome, EUA) e a Profa. Tereza Badosz (CUNY, EUA). Neste evento, a quantidade de trabalhos diminuiu para 94, haja vista muitos potenciais trabalhos do EBA terem sido apresentados no COBEQ. Em Assembléia Geral realizada ao final do evento concordou-se em retornar ao formato anterior já que, como evento autônomo, o EBA consegue focar mais no seu tema e congrega mais pesquisadores.

O 9º EBA voltou a ser sediado em Recife em 2012, tendo como coordenador o Prof. Maurício Alves da Motta Sobrinho da Universidade Federal de Pernambuco. Simultaneamente ao 9º EBA, realizou-se o I Simpósio Ibero-Americano sobre Adsorção (IBA1), uma reivindicação antiga de muitos pesquisadores que atuam em Ciência e Tecnologia da Adsorção na região e que se reúnem esporadicamente em eventos de Catálise ou apenas no encontro internacional da área (Fundamentals of Adsorption, FOA). A realização simultânea dos eventos fez com que houvesse uma participação maciça de pesquisadores da região Ibero-latino-americana. O evento contou com a apresentação de 250 trabalhos. Duas conferências plenárias foram apresentadas pelo Prof. Francisco Rodríguez-Reinoso

(Universidad de Alicante, Espanha) e pelo Prof. Alírio Rodrigues (Universidade do Porto, Portugal). Dezesete conferências semi-plenárias foram apresentadas por renomados convidados brasileiros e internacionais. Foi publicado outra vez um número especial com trabalhos selecionados na revista *Adsorption Science and Technology* (vol 30(8-9) 2012).

A 10ª edição do EBA foi coordenada pelo Prof. Igor Tadeu Lazzarotto Bresolin da Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), sendo realizada em abril de 2014 no Guarujá. Contou com 228 trabalhos científicos, dos quais 25 foram recomendados pelo comitê científico para que fossem submetidos a edições especiais das Revistas *Adsorption* (vol. 20(8), 2014 e vol. 21(1), 2015) e *Adsorption Science & Technology* (vol. 33(2), 2015). A conferência de abertura tratou dos processos de adsorção aplicados na produção de biocombustíveis, sendo proferida pelo Prof. Dr. Gino Baron (Vrije Universiteit Brussels, Bélgica). Estiveram presentes como conferencistas convidados internacionais os professores Alois Jungbauer (University of Natural Resources and Life Sciences, Viena, Áustria), Alírio Egídio Rodrigues (Universidade do Porto, Portugal), Abdelhamid Sayari (University of Ottawa, Canadá), Juan Carlos Moreno-Piraján (Universidad de los Andes, Bogotá, Colômbia), Diego Mantovani (Université Laval,

Quebec, Canadá), Joaquín Silvestre-Albero (Universidad de Alicante, Espanha) e os Drs. Cyril Leenhardt (Novasep Biopharma, França) e Darren Broom (Hiden Isochema Ltd, Inglaterra).

Finalmente, coroando os 20 anos deste importante evento, foi realizado em Aracaju o 11º EBA, que manteve algumas características tradicionais dos EBA's anteriores, como conferências plenárias por pesquisadores renomados, apresentação de trabalhos convidados para as conferências semi-plenárias, sessões técnicas orais e sessões com apresentação de pôsters e a Escola de Adsorção. A Profa. Odélsia Leonor Sanchez de Alsina, da Universidade Tiradentes (UNIT) foi a coordenadora geral e anfitriã do evento, que contou com um total de 238 participantes. Convidados internacionais estiveram presentes e apresentaram conferências plenárias: Dra. Conchi Ania (Instituto Nacional Del Carbón, Espanha), Prof. Bogdan Kuchta (Aix Marseille Université, França), Prof. Karim Sapag (Universidad de San Luis, Argentina) e Prof. Alírio Rodrigues (Universidade de Porto, Portugal).

Na Figura 1 estão apresentadas as fotos oficiais do 1º e do 11º EBA. Podemos notar a fidelização no evento, onde várias pessoas se fazem presentes em ambas as fotos, porém com 20 anos de "mais experiência" na foto abaixo.

Escola de Adsorção

Nos EBA's, o desenvolvimento de recursos humanos e o interesse dos alunos de graduação e pós-graduação são destacados, desde o primeiro evento, pela realização de uma Escola de Adsorção. Como o próprio nome indica, aulas magistrais sobre aspectos do estado da arte da adsorção são ministradas por pesquisadores brasileiros e estrangeiros. A Escola de Adsorção consolidou-se a partir da



Figura 1. Foto oficial com os participantes do 1º EBA em 1996 (acima) e 11º EBA em 2016 (abaixo).

realização da I Escola Sul-Americana sobre Adsorção do 7º EBA, sendo definitivamente incorporada na programação do EBA a partir da 9ª edição em 2012.

Uma compilação da quantidade de trabalhos apresentados em cada edição do EBA pode ser encontrada na Tabela 1.

Progresso da Adsorção no Brasil

Atualmente, há 247 grupos de pesquisa cadastrados no Diretório dos Grupos de Pesquisa na Plataforma Lattes do CNPq com o termo "Adsorção". Dos 158 Bolsistas de produtividade em pesquisa da

área de Engenharia Química, atualmente listados no site do CNPq, cerca de 30 participam usualmente dos EBA's. Dos 179 projetos de pesquisa vigentes na área de Engenharia Química no CNPq, 10% têm o termo "Adsorção". Fazendo a mesma análise em todas as áreas, encontram-se 128 projetos no CNPq com o termo "Adsorção", o equivalente a 1% do total.

Neste sentido, surge a seguinte pergunta: E a produção científica? Para respondê-la, realizou-se uma consulta à Web of Science, cujos resultados estão apresentados na Tabela 2. Separando o tempo em períodos de 5 em 5 anos, utilizou-se a palavra-chave Adsorption, como tópico combinando com o endereço Brazil (coluna 2) e sem endereço nenhum (coluna 3). Uma nova busca foi feita mantendo somente o endereço Brazil (coluna 4), indicando todos os trabalhos publicados por brasileiros no período. As colunas 5 e 6 indicam as razões entre as colunas 2/3 e 2/4, respectivamente.

Comparando-se o espaço de tempo entre os períodos 2011-2015 e 1991-1995, percebe-se um crescimento da adsorção no Brasil de 13,7 vezes, enquanto que no mundo este crescimento foi de 3,6 vezes. No mesmo espaço de tempo, observou-se um crescimento de 8,6 vezes nas publicações brasileiras. Como consequência disso, tem-se observado uma abrangência internacional crescente e produtiva na área de adsorção devido, em grande parte, à

Tabela 1. Avaliação histórica quantitativa de trabalhos apresentados nos EBA's

Edição	Ano	Cidade	Trabalhos
1	1996	Fortaleza/CE	58
2	1998	Florianópolis/SC	65
3	2000	Recife/PE	70
4	2002	Rio de Janeiro/RJ	80
5	2004	Natal/RN	116
6	2006	Maringá/PR	107
7	2008	Campina Grande/PB	149
8	2010	Foz do Iguaçu/PR	94
9	2012	Recife/PE	250
10	2014	Guarujá/SP	228
11	2016	Aracaju/SE	186

Tabela 2. Consulta a base *Web of Science* acerca da produção científica brasileira e mundial na área de adsorção.

Período	“Adsorption” no Brasil	“Adsorption” no Mundo	“Tudo” no Brasil	Adsorption Brasil/Mundo (%)	Adsorption/Tudo no Brasil (%)
1991-1995	196	33649	29142	0,58	0,67
1996-2000	539	45708	59899	1,18	0,90
2001-2005	1154	57919	96072	1,99	1,20
2006-2010	1989	83122	177155	2,39	1,12
2011-2015	2693	120161	250971	2,24	1,07

Fonte: *Web of Science*.

participação de grupos brasileiros em eventos como os FOA (International Conference on Fundamentals of Adsorption) e, desde 2012, o IBA (Iberoamericano de Adsorción). Destaca-se, também, a existência da IAS (International Adsorption Society) que apóia pesquisadores, empresas e organizações que buscam promover ciência e tecnologia de adsorção por meio da publicação de periódicos especializados realização de eventos contribuindo com a difusão científica.

Peculiaridades do EBA:

Os EBA's possuem algumas características peculiares, ou seja, suas “marcas registradas”. A primeira delas é a alternância de sedes entre as regiões Norte/Nordeste e Sul/Sudeste. Em um país de proporções continentais como o Brasil, este formato permite que haja uma expressiva participação dos pesquisadores e estudantes mais próximos à sede, o que mostra o quanto a rotatividade do local de realização do congresso é válida e importante.

Na sessão de encerramento de cada EBA, ocorre a entrega do “Troféu Abacaxi” para o coordenador da próxima edição. É uma forma bem-humorada de mostrar a todos os participantes o quão desafiador e trabalhoso é a organização de um evento científico como o EBA. Ao longo dos anos, todos os coordenadores que receberam o “Abacaxi”, o “descascaram” com muita habilidade e competência, promovendo eventos memoráveis e de excelência.

Outra grande marca é o Adsorption Open, o já tradicional torneio de tênis realizado com os participantes do evento adeptos a esta modalidade esportiva. Ao longo destes 20 anos de EBA, o grande destaque deste torneio é o Prof. César Costapinto Santana, pentacampeão do Adsorption Open, recebendo uma grande homenagem em 2016 pelas suas memoráveis conquistas.

Convite para o EBA 2018

Ao encerrar este artigo, convidamos a todos os interessados a participarem do 12º EBA, que será realizado de 23 a 25 de abril de 2018 no centro de eventos da Fundação de Apoio da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (FAURGS), na belíssima cidade de Gramado, na serra gaúcha. O evento será organizado por quatro instituições gaúchas (Universidade Federal de Santa Maria - UFSM, Universidade Federal de Rio Grande - FURG, Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS, e Universidade de Passo Fundo - UPF), tendo como coordenador geral o Prof. Dr. Guilherme Luiz Dotto (UFSM). Nos vemos em Gramado em abril de 2018!



Agradecimentos

Os autores agradecem aos inúmeros apoiadores do evento ao longo destes vinte anos, e, em especial, à ABEQ, pela oportunidade de publicarmos este artigo na REBEQ. ●

Univap
Universidade do Vale do Paraíba
UNIVERSIDADE DE VERDADE

**Diligência em Ensino,
Pesquisa e Extensão.**

Univap
Universidade do Vale do Paraíba
Compreensão com a sociedade

MEC 5
Conselho Institucional 2015

20 ANOS
1998-2018
UNIVERSIDADE DO VALE DO PARAÍBA



XX SIMPÓSIO NACIONAL DE BIOPROCESSOS - SINAFERM

XI SEMINÁRIO DE HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DE BIOMASSAS - SHEB

01 a 04 de setembro de 2015
**Hotel Praia Centro – Fabrica de Negócios,
Fortaleza-CE-BR**

O Simpósio Nacional de Bioprocessos (SINAFERM) é um tradicional evento bianual que reúne profissionais com diferentes formações e que atuam nas várias etapas dos bioprocessos. Sua 20ª edição foi realizada em 2015, no período de 01 a 04 de Setembro na Fabrica de Negócios em Fortaleza-CE. Organizado pela Universidade Federal do Ceará (Departamento de Engenharia de Alimentos e Departamento de Engenharia Química) contou com a colaboração da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (Departamento de Engenharia Química) da Universidade Federal Rural de Pernambuco (Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal); Universidade Federal de Pernambuco (Departamento de Antibióticos) e Universidade Tirandentes (UNIT, Sergipe) além do tradicional apoio da ABEQ.

Ao promover a apresentação dos últimos avanços de pesquisas realizadas nas Universidades, Institutos de Pesquisa e Empresas, esse evento promoveu interações entre ciência e tecnologia na área de bioprocessos, mostrando as diferentes perspectivas na abordagem dos problemas da área e qualificando-a no que se refere à competência científica e tecnológica. Esse evento contribui assim para divulgação dos avanços científicos e tecnológicos em Bioprocessos no país e no mundo, estimulando ainda o avanço da inovação em área estratégica do conhecimento. O evento teve por objetivo estimular o surgimento de novas propostas e abordagens para o avanço da biotecnologia industrial, promover o intercâmbio de técnicas entre pesquisadores de instituições de pesquisa e empresas, e fomentar novas

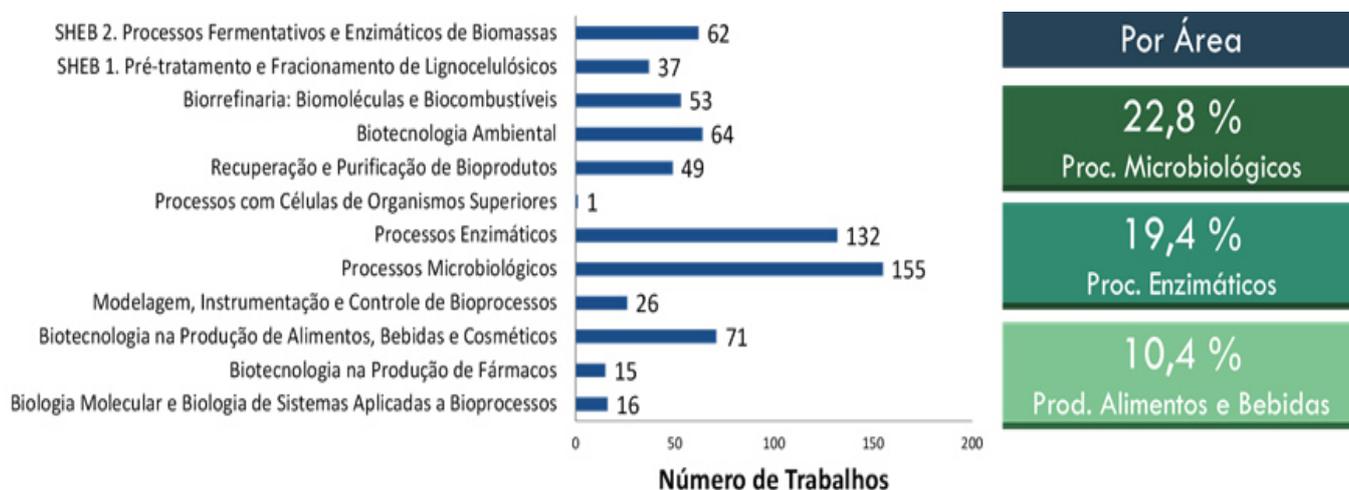


Figura 1 - Distribuição dos trabalhos aprovados por área temática no SINAFERM/SHEB 2015

colaborações entre cientistas, professores, alunos e profissionais que trabalham com Bioprocessos no Brasil e pesquisadores de instituições internacionais de renome. As mesmas premissas se aplicam ao 11º Seminário de Hidrólise Enzimática de Biomassas, que enfoca Bioprocessos com ênfase na utilização de biomassas e que foi realizado simultaneamente ao SINAFERM 2015. Foram apresentados no congresso 517 trabalhos distribuídos nas diversas áreas do evento conforme a Figura 1.

O evento teve a participação de 480 congressistas. Nas categorias “professores/pesquisadores” e “profissionais” incluem-se também os membros da comissão organizadora e científica, demais colaboradores, palestrantes e participantes convidados. As Figuras 2 e 3 mostram a distribuição por categoria de inscrição e por distribuição geográfica, respectivamente. A abstenção foi extremamente baixa: 100 % dos trabalhos orais e 94% dos pôsteres foram apresentados por seus autores, apenas 24 não foram apresentados. A distribuição dos participantes é visualizada nas Figuras 2 e 3.

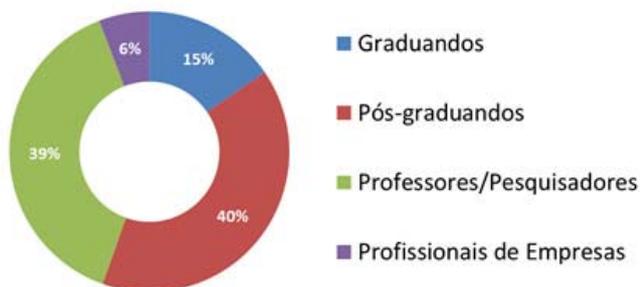


Figura 2 - Distribuição por categoria de inscrição dos participantes do SINAFERM/SHEB 2015

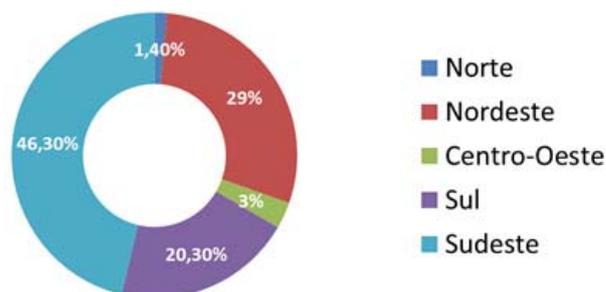


Figura 3 - Distribuição geográfica dos participantes do SINAFERM/SHEB 2015

As principais atividades realizadas no evento estão relacionadas na Tabela 1. Sina

CERIMÔNIA DE ABERTURA

O evento se iniciou com as boas vindas da Presidente do Congresso, Profa. Dra. Sueli Rodrigues, e da Diretora Presidente da ABEQ, Maria Cristina Silveira Nascimento. Em seguida, o Engenheiro Alberto Leite Barbosa Belchior destacou a importância da CONFEA.

Após a abertura oficial do Simpósio, a seguinte Palestra Magna foi preferida:

“STRATEGIES FOR BIOPROCESSES INTENSIFICATION”

Prof. Dr. José Teixeira
CEB-Centro de Engenharia Biológica,
Universidade do Minho, Portugal



Após a palestra, a Comissão Organizadora homenageou as Professoras Raquel de Lima Camargo Giordano (DEQ/UFSCar) e Gorete Ribeiro de Macedo (DEQ/UFRN), por sua contribuição à comunidade

e ao desenvolvimento de bioprocessos no país. Ao término da Cerimônia de Abertura, um coquetel foi oferecido aos participantes. Seguem fotos desta sessão.



CONFERÊNCIAS PLENÁRIAS

Nesta edição do SINAFERM/SHEB, foram convidados para as conferências plenárias pesquisadores líderes em temas de interesse. Procurou-se selecionar não só nomes conhecidos no cenário mundial, mas também pesquisadores brasileiros, que tem atuação destacada na Pesquisa e Desenvolvimento na área de Bioprocessos no Brasil. Segue um resumo das Conferências Plenárias apresentadas:

	<p>“INMOVILIZACIÓN Y ESTABILIZACIÓN DE ENZIMAS INDUSTRIALES: CIENCIA O ARTE”</p> <p>Dr. Benevides C. Pessela</p> <p>Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación CIAL-CSIC, Madrid-Espanha</p>
	<p>“PROCESSOS INTEGRADOS DE PRODUÇÃO E SEPARAÇÃO DE ETANOL”</p> <p>Dr. Renato Carrhá Leitão</p> <p>Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa Embrapa Agroindústria Tropical - Brasil</p>
	<p>“SYSTEM APPROACHES FOR BIOPROCESSES DEVELOPMENT”</p> <p>Prof. Dr. José Gregório Cabrera Gomez</p> <p>Departamento de Microbiologia Universidade de São Paulo - Brasil</p>
	<p>“OTIMIZAÇÃO DE PROCESSOS: DESENVOLVIMENTO DE UM SOFTWARE ESTATÍSTICO PARA TRATAMENTO E INTERPRETAÇÃO DE DADOS”</p> <p>Maria Isabel Rodrigues</p> <p>Protimiza – Brasil</p>
	<p>“REMOÇÃO DE NUTRIENTES DE ESGOTO SANITÁRIO EM BIORREATORES”</p> <p>Profa. Dra. Lourdinha Florêncio</p> <p>Departamento de Engenharia Civil Universidade Federal de Pernambuco - Brasil</p>
	<p>“RECOMBINANT MONOCLONAL ANTIBODIES: CELL LINE GENERATION”</p> <p>Dr. Ana Maria Moro</p> <p>Instituto Butantan, Brasil</p>
	<p>“TOWARDS INTEGRATED BIOREFINERIES FOR FUEL AND CHEMICAL PRODUCTION”</p> <p>Jochen Förster</p> <p>Technical University of Denmark, Dinamarca</p>



“Opportunities and Challenges for Extraction Technology in Intensifying Bio-based Product Manufacturing”

Prof. Dr. André de Haan

Delft University



“FERMENTATION TECHNOLOGY TRANSFER TO LARGE SCALE”

Saul Nitsche Rocha

Solazyme Inc – Estados Unidos



“QUÍMICA VERDE E BIOTECNOLOGIA BRANCA: VALORIZAÇÃO DA (BIO)QUÍMICA SUSTENTÁVEL”

Profª Drª Gisella Maria Zanin

Departamento de Engenharia Química
Universidade Estadual de Maringá - Brasil



“TRENDS AND CHALLENGES IN THE BIOTECH PRODUCTION OF FUNCTIONAL FOOD INGREDIENTS”

Profa. Dra. Ligia Rodrigues

CEB-Centro de Engenharia Biológica
Universidade do Minho, Portugal



“FROM THE CELL FACTORY TO THE BIOREFINERY: THE CHEMICAL ENGINEERING SYSTEMS APPROACH APPLIED TO COMPLEX PROBLEMS IN MICRO AND MACROSCALES”

Prof. Dr. Roberto de Campos Giordano

Departamento de Engenharia Química
Universidade Federal de São Carlos, Brasil

Os diferentes sistemas biológicos usados na produção em larga escala de enzimas recombinantes

Adriano R. Azzoni - Departamento de Engenharia Química da Escola Politécnica da USP

Enzimas possuem inúmeras aplicações, que vão desde a utilização como biofármacos, produção de alimentos, até a hidrólise de biomassa na produção biocombustíveis. Hoje, muitas dessas enzimas são produzidas em larga escala por microrganismos e células modificadas geneticamente. No entanto, o desenvolvimento de processos de produção de enzimas recombinantes possui dificuldades que são inerentes ao caráter multidisciplinar e ainda novo desses processos. Uma dessas dificuldades diz respeito à escolha do sistema biológico de expressão da enzima recombinante, que impacta diretamente no desenvolvimento e viabilidade dos processos. O intuito deste artigo é apresentar, de forma resumida, alguns dos principais critérios utilizados nessa escolha.

Enzimas recombinantes produzidas industrialmente

Enzimas são, em geral, proteínas com atividade catalítica utilizadas pelo homem desde tempos remotos, a princípio na modificação e conservação de

alimentos, como o queijo, o pickles, entre outros. Foram, ao longo dos séculos, extraídas em pequenas quantidades de plantas, animais ou microrganismos que naturalmente as produziam. Mas foi apenas na segunda metade do século passado que a produção industrial de enzimas, tanto nativas quanto recombinantes, floresceu, em parte embasada nos conhecimentos de fermentação de microrganismos em larga escala desenvolvidas anteriormente para a produção de acetona e butanol e, no caso das enzimas recombinantes, também embasada nos avanços da biologia molecular (Demain e Vaishnav, 2009). Hoje, parte considerável das enzimas são produzidas industrialmente em microrganismos recombinantes, como a bactéria *Escherichia coli*, a levedura *Saccharomyces cerevisiae* e, no caso de proteínas e enzimas farmacêuticas, também em células animais cultivadas em biorreatores. No entanto, a ciência ainda nos apresenta muitos tipos de microrganismos, células (oriundas de organismos superiores), e até mesmo plantas que, manipulados geneticamente, oferecem real potencial de aplicação

na produção de enzimas em larga escala. Com todas essas possibilidades, quais seriam então os critérios que devem nortear a escolha de um ou outro “sistema biológico” para a produção de determinada enzima em larga escala, e quais seriam os possíveis impactos para a viabilidade do processo a ser desenvolvido? Finalmente, quais profissionais deveria participar dessa escolha?

A escolha do sistema biológico de expressão

O primeiro critério a ser levado em consideração na escolha do sistema de expressão diz respeito às características da proteína ou enzima a ser produzida, além de sua aplicação ou finalidade. Como regra geral, enzimas que contêm em sua estrutura modificações pós-traducionais complexas, em especial glicosilações, não podem ser produzidas por microrganismos bacterianos simples, como a *Escherichia coli*. Já leveduras bastante conhecidas, como a *Saccharomyces cerevisiae* e a *Pichia pastoris*, além de fungos filamentosos como o *Trichoderma reesei*, são capazes de fazer

grande parte das modificações pós-traducionais encontradas em proteínas, inclusive glicosilações. No entanto, o padrão de glicosilação, que diz respeito à sequência e aos tipos de carboidratos inseridos na proteína, costuma ser diferente dos encontrados em mamíferos, o que pode inviabilizar seu emprego na produção de proteínas farmacêuticas, devido à alta imunogenicidade. Para casos como esse, costuma-se empregar células de mamífero capazes de serem cultivadas em biorreatores, como as CHO (Chinese Hamster Ovary cells) (Schmidt, 2004). Ainda assim, mesmo não sendo capazes de “glicosilar”, bactérias como a *E. coli* e o *Bacillus subtilis* são muitas vezes utilizadas pela indústria quando a enzima a ser produzida não possui esse tipo de modificação, ou ainda, quando essa modificação não é essencial para a atividade esperada.

Outro critério importantíssimo de escolha é o desempenho do sistema biológico em condições de crescimento em larga escala. De nada adianta produzir enzimas com a qualidade esperada mas em quantidades e custos incapazes de viabilizarem economicamente a produção em larga escala. A literatura apresenta artigos científicos, inclusive revisões, que podem nos fornecer, ainda que de forma parcial, informações sobre a capacidade de vários sistemas, incluindo velocidades específicas de crescimento celular, fatores

de conversão de substrato a célula ou produtos, além de valores de produtividade. Nesse quesito, a bactéria *E. coli*, além das leveduras *S. cerevisiae* e *P. pastoris* são candidatas interessantes, em especial pelas altas velocidades de crescimento, robustez e altos rendimentos, com necessidades nutricionais mais simples que os de células oriundas de organismos superiores (Demain e Vaishnav, 2009). Também os fungos filamentosos como o *T. reesei* são interessantes, em especial para a produção de enzimas (nativas e recombinantes) utilizadas na hidrólise de biomassa lignocelulósica em processos de produção de biocombustíveis (Nevalainen e Peterson, 2014).

Um outro critério importante a ser considerado na escolha do microrganismo ou célula é a capacidade de secretar a enzima recombinante para o meio de cultivo durante o processo de produção em biorreator. Ao evitar-se, ao final do cultivo, o rompimento celular para a extração da enzima acumulada, ao menos duas operações unitárias do processo de purificação são evitadas (rompimento celular e remoção dos debrís celulares), o que pode ter um grande impacto sobre a viabilidade econômica do processo (Mergulhão et al., 2005). Nesse quesito, a bactéria *E. coli* costuma ser incapaz de secretar as proteínas recombinantes produzidas, ou o faz apenas de maneira parcial.

Finalmente, os sistemas de

expressão que já são conhecidos e empregados industrialmente costumam ter vantagens no momento da escolha, em parte pelo conhecimento já adquirido e disponível na literatura, nas universidades, na indústria, e também pela pronta disponibilidade de equipamentos por parte de fornecedores, no caso da implantação do processo industrial. Novos sistemas de expressão, ainda que potencialmente interessantes quando avaliados pelos critérios apresentados acima, podem ser preteridos por este último critério, em especial na indústria farmacêutica, onde as normas de certificação de processos e produtos pelas agências reguladoras são muito exigentes.

De quem é a escolha?

O desenvolvimento de um processo de produção de enzimas recombinantes em larga escala envolve, além de um amplo conhecimento do sistema biológico de expressão, o conhecimento necessário ao desenvolvimento de bioprocessos em larga escala. A esses devem se somar conhecimentos relativos aos métodos analíticos, além de aspectos regulatórios e de mercado. Tratam-se, portanto, de projetos multidisciplinares, onde engenheiros químicos ou bioquímicos precisam interagir e compartilhar conhecimentos com biólogos moleculares, microbiologistas, químicos, farmacêuticos e/ou engenheiros de alimentos, além de outros

profissionais. Nesse contexto, o mais amplo compartilhamento de conhecimentos entre professores, alunos e profissionais da indústria, ainda durante os cursos de graduação, é imprescindível para a formação dos novos profissionais que atuam na área.

Referências

Demain, A.L.; Vaishnav P. Production of recombinant proteins by microbes and higher organisms. *Biotechnology Advances*, 27 (2009) 297–306.

Mergulhão, F.J.M.; Summers, D.K.; Monteiro, G.A. Recombinant protein secretion in *Escherichia coli*. *Biotechnology Advances*, 23 (2005) 177–202.

Nevalainen, H e Peterson, R. Making recombinant proteins in filamentous fungi - are we expecting too much? *Frontiers in Microbiology*, v.5, 75 (2014) 1–10.

Schmidt, F. R. Recombinant expression systems in the pharmaceutical industry. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 65 (2004) 363–372. ●

Tabela 1: Potencial de utilização em larga escala de alguns diferentes sistemas de expressão de enzimas recombinantes.

Sistema de expressão	Modificação genética*	Produtividade	Custo de produção	Qualidade da enzima**
<i>E. coli</i>	++++	++++	++++	++
<i>S. cerevisiae</i>	++++	+++	+++	+++
<i>T. reesei</i>	++	+++	++++	+++
Células <i>CHO</i>	++	++	+	++++
Milho transgênico	+	++++	++++	+++

Legenda: (++++) = ótimo; (+++) = bom; (++) = regular; (+) = ruim. * Facilidade de obtenção de clones com alta produtividade. ** Qualidade em termos de enovelamento correto e modificações pós-traducionais.

O maior evento
brasileiro em
Engenharia Química
aguarda por você!

Venha inovar
com a gente no:

**XXI Congresso
Brasileiro de
Engenharia
Química**

25 a 29 de setembro
Fortaleza/CE

**COBEQ
2016**

Mais informações:
www.cobeq2016.com.br