



INSTITUTO DE CIÊNCIAS
BIOMÉDICAS/ USP



Prof. Elisabete Vicente
bevicent@usp.br

Emprego de Microrganismos na Indústria Química

1. Microrganismos empregados nas Indústrias
2. Microbiologia industrial
3. Metabólitos primários e secundários

4. Exemplos de Produtos:

A **Microbiologia industrial** originou-se a partir de processos de fermentação alcoólica, como produção de **vinho** e **cerveja**. Posteriormente, foram desenvolvidos processos microbianos visando a produção de inúmeros produtos. São alguns exemplos:

- Biossurfactantes;
- Síntese de produtos farmacêuticos, como antibióticos;
- Síntese de vários produtos, como: bioetanol, ácido cítrico, polissacarídeos, ácidos orgânicos;
- Aditivos alimentares, como vinagre e aminoácidos;
- Biocatálise: Enzimas de aplicação industrial, para produção de: detergentes, têxteis, papel, celulose, etc;
- Biofiltros: Empregados na assimilação de resíduos gerados em processos industriais, como metano e enxofre;
- Biolixiviação;
- As próprias células microbianas (SCP) e seus derivados;
- Biopolímeros – Polihidroxialcanoatos (PHA)

- **Produção de Biopolímeros – Polihidroxialcanoatos (PHA)**
(Prof. J. Gregório C. Gomes)

1. Microrganismos empregados nas Indústrias

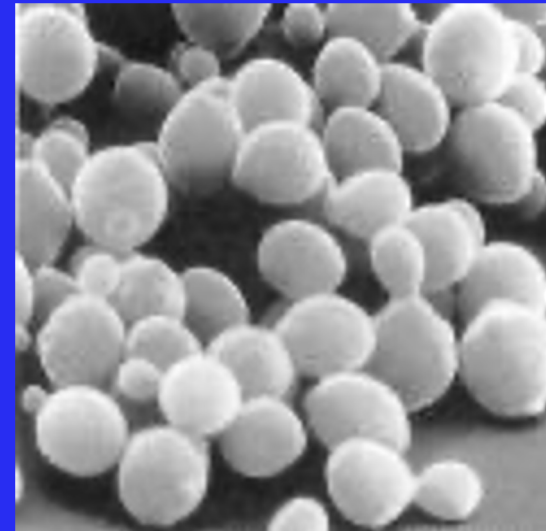
Microrganismos industriais e seus produtos

Microrganismos industriais podem ser considerados especialistas metabólicos, capazes de sintetizar um ou mais produtos em altos níveis.

Microbiologistas industriais frequentemente utilizam métodos de **genética clássica** (mutações, cruzamentos), para a seleção de variantes altamente produtivos com o objetivo de aumentar a quantidade do produto até o ponto em que o processo se torne economicamente viável. Assim, o comportamento real da linhagem produtora industrial muitas vezes pode estar bastante distante da linhagem selvagem original.

Os principais microrganismos utilizados são:

- Leveduras (Ex.: *Saccharomyces cerevisiae*)
- Fungos filamentosos (Ex.: *Penicillium*)
- Procariotos (Ex. *Streptomyces*)



Células da levedura *Saccharomyces cerevisiae*, microrganismo reconhecido como GRAS (“Generally Recognized As Safe”) pelo “FDA” (Food and Drug Administration) dos EUA.

No Brasil, *S. cerevisiae* também é considerada SEGURA pela ANVISA (Agencia Nacional de Vigilância Sanitária).

Emprego de Microrganismos na Indústria Química

Microrganismos empregados nas Indústrias

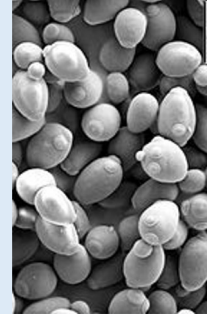
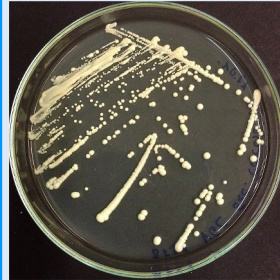
Produtos de microrganismos industriais

Microrganismos empregados nas indústrias podem ser considerados especialistas metabólicos, capazes de sintetizar um ou mais produtos em altos níveis.

Microbiologistas industriais frequentemente utilizam métodos de **genética clássica** (mutações, cruzamentos), para a seleção de variantes altamente produtivos com o objetivo de aumentar a quantidade do produto até o ponto em que o processo se torne economicamente viável. Assim, o comportamento real da linhagem produtora industrial muitas vezes pode estar bastante distante da linhagem selvagem original.

Os principais microrganismos utilizados são:

- Leveduras (Ex.: *Saccharomyces cerevisiae*)
- Fungos filamentosos (Ex.: *Penicillium*)
- Procariotos (Ex. *Streptomyces*)



Saccharomyces cerevisiae



Penicillium chrysogenum



Streptomyces sp

Características desejáveis

Os **Microrganismos industriais** devem ter as seguintes características:

- Crescer e sintetizar o produto em culturas de larga escala, em biorreatores;
- Ter crescimento rápido;
- Produzir o produto desejado em tempo curto;
- Crescer em meio de cultura líquido formulado com compostos de baixo custo (como rejeitos de carbono oriundos de outras indústrias. Exs.: água de moagem de milho; whey, rico em lactose da indústria de laticínios);
- Não deve ser patogênico para o homem e animais);
- Deve ser de fácil manipulação diária;
- Deve ter genética bem conhecida e ser de fácil manipulação genética, permitindo a seleção de cepas derivadas adaptadas ao processo industrial.

2. Microbiologia industrial

A **microbiologia industrial** emprega microrganismos e estes são **cultivados em larga escala empregando biorreatores**.

A **Microbiologia industrial** emprega técnicas da área “**Engenharia de Processo de Produção**” que são otimizadas em vários ensaios em **Biorreatores semi-industriais**. Estes ensaios de fermentação objetivam a otimização do crescimento e de reações enzimáticas, visando a superprodução do produto de interesse.

Distintamente, a **Biotecnologia microbiana** (que será posteriormente apresentada) que emprega “**Organismos Geneticamente Modificados**” (**OGM**).

A **Microbiologia industrial** originou-se a partir de processos de fermentação alcoólica, como produção de vinho e cerveja. Posteriormente, foram desenvolvidos processos microbianos visando a produção de inúmeros produtos:

- Síntese de produtos farmacêuticos, como antibióticos
- Aditivos alimentares, como vinagre e aminoácidos
- Enzimas
- Compostos químicos, como álcool, ácido cítrico
- Próprias células microbianas (SCP)



Exemplo de Biorreator de bancada de laboratório empregado nas fases de pesquisa e desenvolvimento (P&D) de novos produtos .



Exemplo de Biorreator de uma planta piloto semi-industrial, com até algumas centenas de litros.

Exemplos de Biorreatores de PEQUENO e de GRANDE porte

Biorreatores – Tipos empregados em fermentações em larga escala

➤ Tamanhos:

Possuem tamanhos variados: poucos litros até **milhões de litros**.

➤ Tipo de Fermentação:

✓ Fermentadores aeróbios:

São mais complexos, com equipamentos que também garantam a homogeneização e a aeração adequadas. Controles necessários:

- Necessidade de difusão do **oxigênio** no líquido;
- Necessidade de controle de **pH**, concentração de **O₂**, temperatura, massa celular, níveis de nutrientes e concentração do produto;

✓ Fermentadores anaeróbios:

São mais simples, somente com necessidade de equipamento para dissipação do calor produzido. Todavia, dependendo do grau de anaerobiose requerida, é demandam esta atenção.

➤ Automação do processo:

Algun grau de controle de automaização sempre é requerido. Este grau será maior ou menor de acordo com a complexidade do Processo de Fermentação.

A Diversidade de Bioprodutos impõe diferentes escalas de produção

Bioprodutos de baixo valor agregado –

Impõem a utilização de biorreatores de grandes volumes e conversão a partir de substratos de baixo custo. Ex. Produção de bioetanol a partir de cana-de-açúcar, ou de milho.



Exemplo : Em Sinop, Mato Grosso, esta inaugurando a maior Usina de etanol de milho da América Latina (Impasa Agroindustrial). Estavam previstos 200 mil empregos diretos e 1.500 indiretos.

Bioprodutos de elevado valor agregado -

Impõem a utilização de biorreatores que com **bom controle do processo e instalado em ambiente controlado**. A depender do bioproduto, o biorreator poderá ter pequeno volume (**escala de L**).

Exs.: Produção de **fármacos**, como antibióticos;
Produção de homônimo de crescimento recombinante.

Emprego de Microrganismos na Indústria Química

Importantes parâmetros que devem ser considerados em BIOPROCESSOS

➤ Rendimento da Conversão de Biomassa em Bioproduto

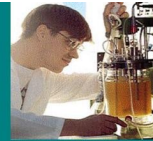
➤ Produtividade de Produção do Bioproduto

Corresponde ao **tempo em que a bioconversão ocorre**

Estes parâmetros são extremamente dependentes da **capacidade de Controle do Processo**.

Este fato resulta em grande demanda nas áreas:

- 1) Emprego de uma **linhagem microbiana de alta performance**
- 2) Engenharia construção de Biorreatores;
- 3) **Informática**, para elaboração de “Programas automatizados de controle de Biorreatores” e de “Programas que permitem o Acompanhamento do Processo à distância”.



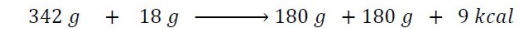
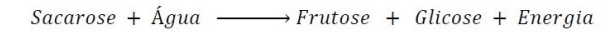
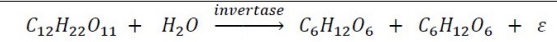
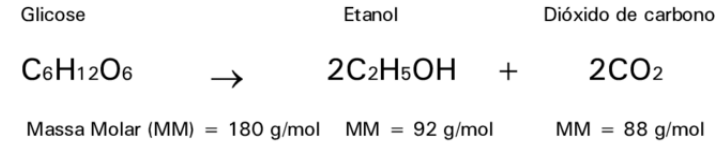
VARIÁVEIS DE RESPOSTA IMPORTANTES PARA SE AVALIAR O DESEMPENHO DE BIOPROCESSOS

Fatores de Rendimento: $Y_{P/S}$; $Y_{X/S}$; $Y_{P/X}$ [g/g]

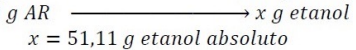
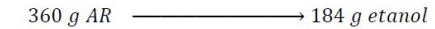
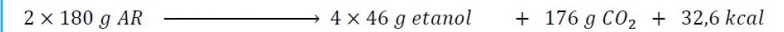
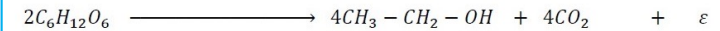
Produtividade: $Q_p = \frac{P}{t}$ [g/L.h]



Definem a viabilidade técnica e econômica de Bioprocessos



Portanto, de 1,0 g de sacarose obtemos: $360/342 = 1,0526$ g de AR.



Formulas de **RENDIMENTOS** e **EFICIÊNCIA** utilizadas na indústria **sucroalcooleira** no Brasil

Vários fatores intrínsecos do processo interferem na Produtividade, como a velocidade crescimento microbiano

4) Crescimento microbiano

☞ O tempo de duplicação celular (td) varia de microrganismo para microrganismo...

Microrganismo	Temperatura de cultivo (°C)	μ_m (h ⁻¹)
Bactérias	37	0,6 – 1,0
Leveduras (*)	30	0,3 – 0,5
Fungos filamentosos	28	0,1 – 0,3

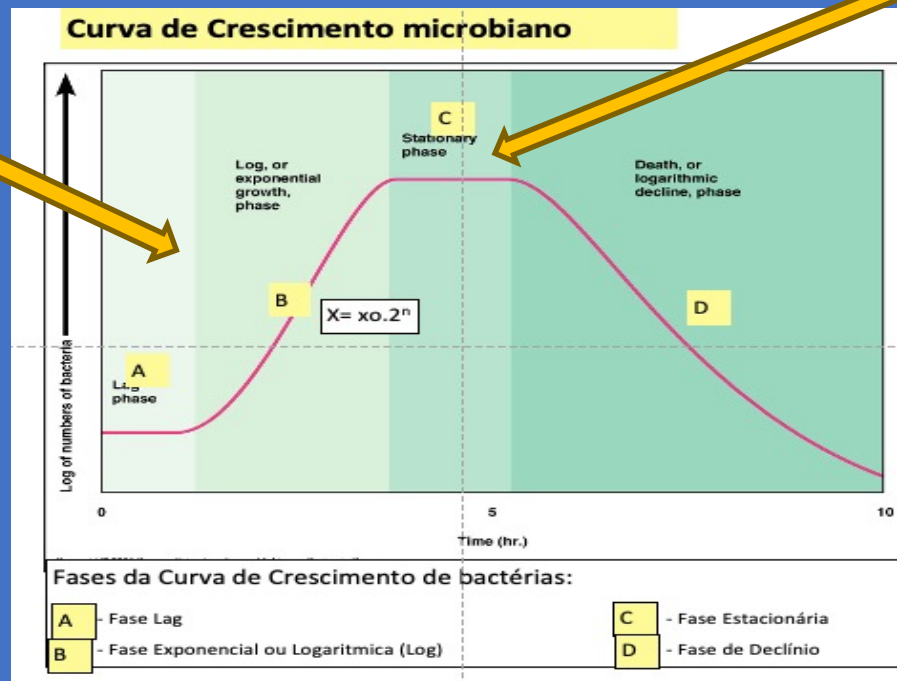
3. Metabolitos primários e secundários

Em **Microbiologia industrial**, a **Curva de Crescimento microbiano** e as **Fases de Crescimento** microbiano (Figura seguinte) são fortemente consideradas.

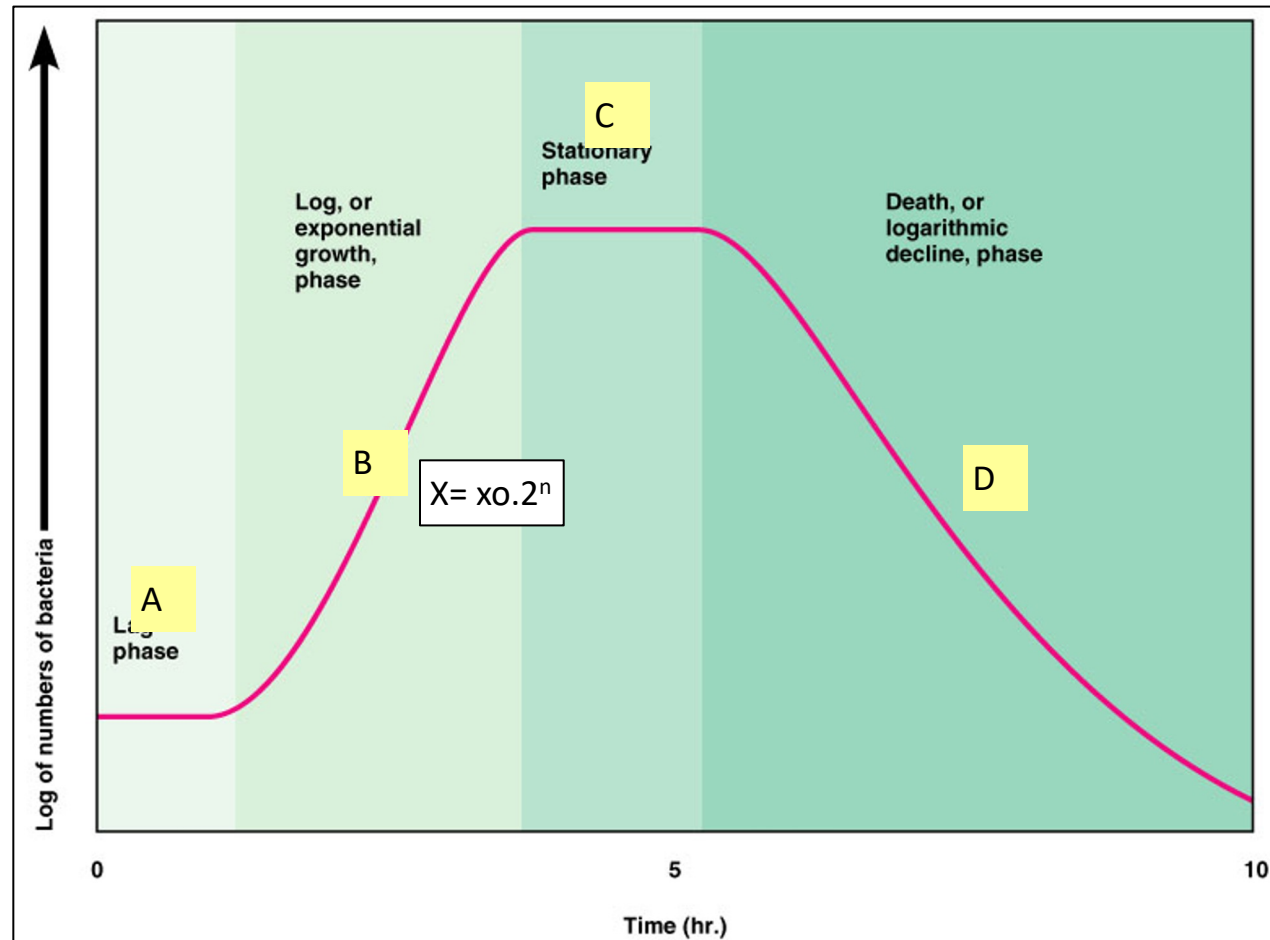
Em Microbiologia industrial **2 tipos de produtos** devem ser considerados:

- **Metabólitos primários:** os que são sintetizados durante a **Fase Exponencial de Crescimento**;

- **Metabólitos secundários:** os que são sintetizados próximo ao **final da Fase de Crescimento**, mais frequentemente na **Fase Estacionária de Crescimento**.



Curva de Crescimento microbiano



Fases da Curva de Crescimento de bactérias:

A - Fase Lag

B - Fase Exponencial ou Logaritmica (Log)

C - Fase Estacionária

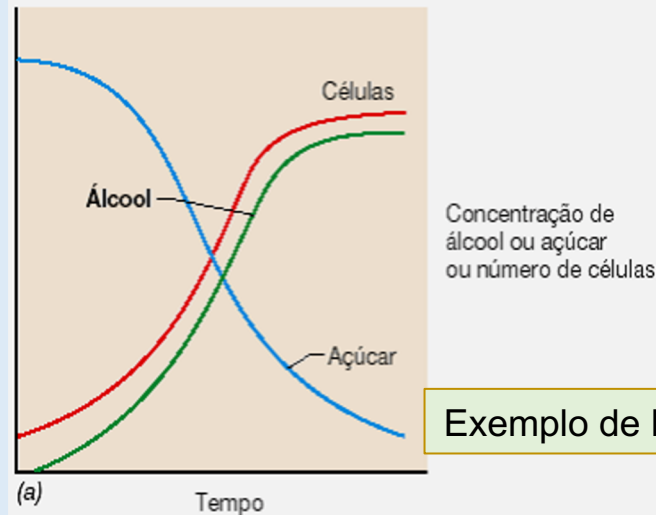
D - Fase de Declínio

Emprego de Microrganismos na Indústria Química

3. Metabolitos primários e secundários

- **Metabolitos primários:** os que são sintetizados durante a **Fase Exponencial de Crescimento**;

O **Álcool** (etanol) é um **metabólito primário** típico. Produto do metabolismo fermentativo de levedura, sendo sintetizado como parte do metabolismo energético.



Exemplo de Metabólito Primário

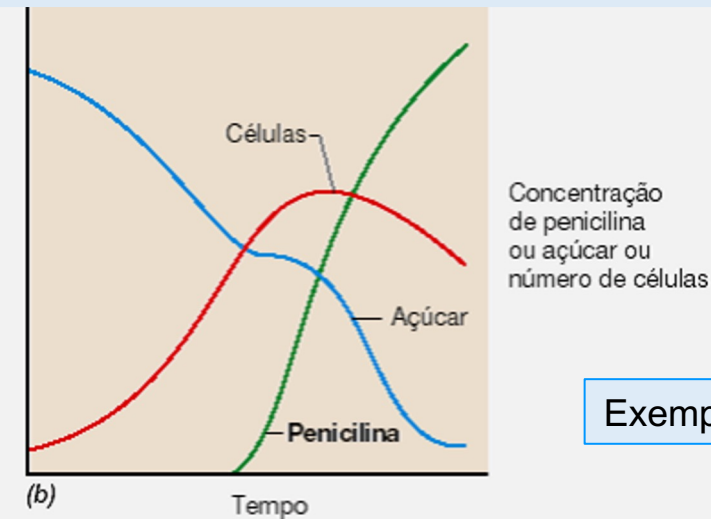
- a) Produção de **etanol** pela levedura ***Saccharomyces cerevisiae*** - um exemplo de metabolismo primário;

- **Metabólitos secundários:** os que são sintetizados próximo ao **final da Fase de Crescimento**, mais frequentemente na **Fase Estacionária de Crescimento**.

Há inúmeros produtos de interesse industrial que são produzidos durante o metabolismo secundário (Ex.: antibióticos). Estes compostos:

1. Não são essenciais ao crescimento e reprodução microbiana;
2. Sua síntese é altamente dependente das condições de cultivo (composição do meio);
3. Frequentemente são produzidos como um grupo de compostos relacionados. Ex. Uma única cepa de *Streptomyces* é capaz de produzir mais de 30 antibióticos;

4. Muitas vezes os metabólitos 2^{ários} são produzidos em enormes quantidades. Metabólitos 1^{ários} por estarem associados ao crescimento e energia normalmente não exibem superprodução.
5. Frequentemente, são produzidos por bactérias formadoras de esporos, durante o processo de esporulação. Por ex. todos os antibióticos são produzidos por fungos ou procariotos formadores de esporos.



Exemplo de Metabólito Secundário:

- b) Produção de **penicilina** pelo fungo filamentoso ***Penicillium chrysogenum*** - um exemplo de metabolismo secundário. Observe que a **penicilina** não é produzida até a metade da fase exponencial de crescimento.



Profa. Elisabete Vicente
bevcent@usp.br

Emprego de Microrganismos na Indústria Química

4. Exemplos de Produtos

1. Microrganismos empregados nas Indústrias
2. Microbiologia industrial
3. Metabolitos primários e secundários

4.Exemplos de Produtos:

A **Microbiologia industrial** originou-se a partir de processos de fermentação alcoólica, como produção de **vinho** e **cerveja**. Posteriormente, foram desenvolvidos processos microbianos visando a produção de inúmeros produtos. São alguns exemplos:

- Biosurfactantes;
- Síntese de produtos farmacêuticos, como antibióticos;
- Síntese de vários produtos, como: bioetanol, ácido cítrico, polissacarídeos, ácidos orgânicos;
- Aditivos alimentares, como vinagre e aminoácidos;
- Enzimas de aplicação industrial, para produção de: detergentes, têxteis, papel, celulose, etc;
- Biofiltros: Empregados na assimilação de resíduos gerados em processos industriais, como metano e enxofre;
- Biolixiviação;
- As próprias células microbianas (SCP) e seus derivados;
- Biopolímeros – Polihidroxialcanoatos (PHA)

Emprego de Microrganismos na Indústria Química

Biosurfactantes

Biosurfactantes são compostos de origem microbiana que exibem propriedades surfactantes (tensoativos) e são subprodutos **metabólicos secundários** de **bactérias**, **fungos** e **leveduras**.

Podem ser classificados em: glicolipídeos, lipossacarídeos, lipopeptídeos, fosfolipídeos e ácidos graxos/lipídeos e neutros.

Vem despertando crescente interesse na competição com homólogos químicos que geralmente são tóxicos.

Podem oferecer **várias vantagens** e, assim, são potenciais substitutos aos emulsificantes químicos clássicos empregados na indústria de alimentos e de cosméticos:

- Baixa toxicidade;
- Biodegradabilidade;
- Aceitabilidade ecológica;
- Atividade específica em condições extremas;
- Vasta gama de atividades biológicas incluindo: atividade antibacteriana, antifúngica, antiviral e antitumorais;

Problemas:

Custos de produção relativamente elevados.

Desafio / Oportunidade:

Possíveis estratégias para a redução de custos incluem a utilização de substratos alternativos de baixo custo, tais como:

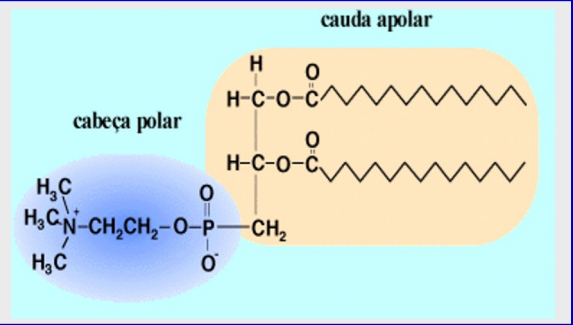
- Resíduos agroindustriais;
- Aumento do rendimento da produção por otimização de processo;
- Emprego de técnicas de engenharia genética.

Referências:

- BARROS, F. F. C.; QUADROS, C. P.; PASTORE, G.M. Propriedades emulsificantes e estabilidade do biosurfactante produzido por *Bacillus subtilis* em manipueira. Ciênc. Tecnol. Aliment. 28(4): 979-985, 2008.
- COSTA, G.A.N. Produção biotecnológica de surfactante de *Bacillus subtilis* em resíduo agroindustrial, caracterização e aplicações. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.
- FIECHTER, A. Biosurfactants: moving towards industrial application. Trends Biotechnol. 10:208-217, 1992

E,o que são **Surfactantes**?

- São moléculas **anfipáticas**: uma porção **hidrofóbica** e uma porção **hidrofílica**;
- São compostos químicos, utilizados em diversos setores industriais;
- Em sua maioria são sintetizados a partir de derivados de petróleo;
- Até 1965, os surfactantes presentes nos detergentes **não eram** biodegradáveis.



Propriedade antibacteriana de um Biosurfactante produzido por *Bacillus subtilis* contra várias outras bactérias.

	<i>B. cereus</i>	<i>E. coli</i>	<i>Serratia marcescens</i>	<i>Staphylo coccus aureus</i>
MIC (mg/mL) (Mínima concentração o inibitória)	0,8	5	10	6

Microrganismos produtores de Biosurfactantes	
BIOTENSOATIVO	MICROORGANISMO
Lipopeptídeos e Lipoproteínas	
Peptidolipídio	<i>Bacillus lincheformis</i>
Viscosin	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
Surfactin	<i>Bacillus subtilis</i>
Ácidos graxos e Fosfolipídios	
Ácidos graxos	<i>Corynebacterium lepus</i>
Fosfolipídios	<i>Thiobacillus thiooxidans</i>
Surfactantes poliméricos	
Emulsan	<i>Anthrobacter calcoaceticus</i>
Manana lipídio proteína	<i>Candida tropicalis</i>
Liposan	<i>Candida lipolytica</i>
Fonte: Desai e Banat 1997, 2000	

Emprego de Microrganismos na Indústria Química

Polissacarídeos

Alguns Exemplos:

- **Goma Xantana** - *Xanthomonas campestris*
- **Dextrana** - *Leuconostoc mesenteroides*
- **Curdana** - *Alcaligenes faecalis*, *Agrobacterium* sp
- **Gelana** - *Sphingomonas paucimobilis*, *Pseudomonas elodea*
- **Ágar-ágar** - algas marinhas

São empregados como aditivos para o melhoramento e controle de propriedades em diversos produtos nas mais diversas indústrias. São usados como: **espessantes**, **emulsionantes**, **estabilizantes**, **gelificantes**, **agentes de floculação**, **coagulantes**, **lubrificantes**, etc.

Vários exopolissacarídeos (EPS)

microbianos já são aceitos como produtos biotecnológicos mas, embora apresentem muitas vantagens, **o custo da maioria deles ainda é relativamente alto quando comparado àqueles obtidos de vegetais e algas marinhas**, devido aos **custos dos processos de produção**, que impõem intensivos investimentos de capital e energia.

Ainda, existem **poucos microrganismos que produzem EPS com rendimentos satisfatórios** bons para desenvolvimento em escala industrial e, conseqüentemente, sua exploração comercial ainda é baixa.

O texto do link abaixo é muito interessante:

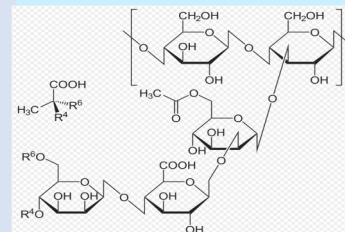
http://aditivosingredientes.com.br/upload_arquivos/201601/2016010030333001453488327.pdf

Goma Xantana



Atualmente, **100% da goma xantana consumida no Brasil é importada**, e tem origem na **glicose** do **milho**. Alguns estudos desenvolvidos no país apontam para a produção de **goma xantana** a partir do **soro de leite** e do caldo de **cana-de-açúcar**.

A Goma Xantana ($C_{35}H_{49}O_{29}$) é um **polissacarídeo** obtido naturalmente pela **fermentação** da bactéria ***Xanthomonas campestris***, que sintetiza a goma para evitar sua desidratação. É um aditivo bastante **utilizado** na indústria farmacêutica e alimentícia como **estabilizante**, **espessante** e emulsificante.



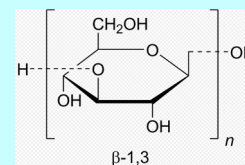
Dextrana

Unidades de α -D-**glicose**, produzidas por bactérias da família *Lactobacillaceae*: ***Leuconostoc mesenteroides***, ***Streptococcus***, e ***Lactobacillus***



Goma Curdlana

Homopolissacarídeo linear insolúvel, composto por resíduos de D-glicose unidas por ligações glicosídicas β -(1-3), e produzida por cepas de ***Alcaligenes faecalis***



Auxiliar de formulação processamento, estabilizante, **espessante** e texturizante. Não possui sabor, cor, odor, pode imitar a palatabilidade da gordura e ainda, é considerada uma **fibra dietética**.

Goma Gelana

Gelificante, **texturizante**, estabilizante e formador de filmes. Pode ser utilizada para o preparo de géis fluidos, especialmente úteis para manter partículas em suspensão. Repetições de 1,3 β -D-glicose, 1,4 β -D-ácido glucurônico, 1,4 β -D- glicose, 1,4 α -L -ramnose.



Ágar-ágar

O ágar, também conhecido como **ágar-ágar** ou **agarose**, é um hidrocolóide extraído de diversos gêneros e espécies de **algas marinhas vermelhas** (Figura abaixo 15-10 cm X 2-5 mm) onde ocorre como carboidrato estrutural na parede das células.



Uso como suplemento alimentar

Uso a elaboração de meios de Cultura microbiano. solido

Géis de agarose para análise de DNA e de proteínas

Mas, realçando.....o ágar-ágar é produzido por algas vermelhas



O ágar-ágar

é extraído de vários tipos e espécies de **algas vermelhas (MACROALGAS)** pertencentes à classe ***Rhodophyceae***. Essas algas contendo ágar são chamadas de **agarófitas** e as principais espécies comerciais são ***Gracilaria*** e ***Gelidium***.

O teor de ágar das algas varia de acordo com as condições da água do mar. A concentração de dióxido de carbono, a tensão de oxigênio, a temperatura da água e a intensidade da radiação solar podem ter influência significativa.

Gelidium é um gênero de algas talóides que inclui pelo menos 124 espécies. Os espécimes deste gênero podem atingir **2 a 40 cm de comprimento**.



Fonte: <https://agargel.com.br/en/agar-agar/#processo>



Campo de produção de ágar-ágar

Biocatálise | Catálise Enzimática

A **biocatálise**, ou catálise enzimática, é o uso de componentes biologicamente ativos para catalisar transformações químicas.

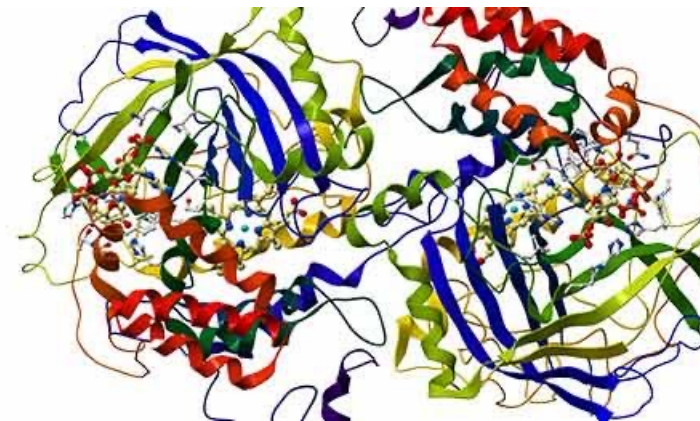
Facilita um espectro de reações centradas principalmente no carbono que ocorrem em ambientes que variam de:

- processos isentos de células, **totalmente *in vitro***, a
- processos mediados por **fermentação em cultura de células vivas**.

A biocatálise representa uma **alternativa útil** à catálise química tradicional por várias razões, porque as reações do biocatalisador enzimático:

- São altamente quimio-, régio- e enantioespecíficos
- Muitas vezes têm cinética rápida
- Operam em condições mais suaves do que catalisadores químicos
- Eliminam a questão de resíduos, toxicidade e custo de catalisadores de metal
- Reduzem os requisitos de energia associados a reações químicas

A engenharia dirigida de biocatalisadores melhora a estabilidade em solventes em temperaturas elevadas, permitindo ampla adoção da biocatálise nas indústrias farmacêutica, química, de biocombustíveis e de alimentos.



“ Green Chemistry”

A biocatálise está associada à fabricação de produtos químicos “verdes”, sustentáveis e de baixo custo.

Biocatálise | Catálise Enzimática

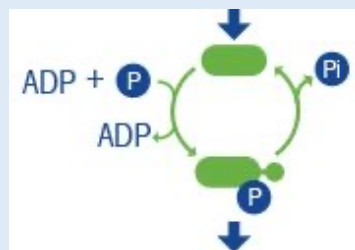
Há seis classes principais de enzimas empregadas em Biocatálise:

1. Oxidorredutases que catalisam oxidações e reduções moleculares.

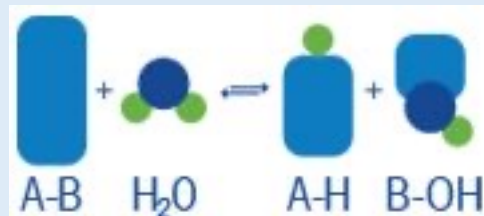
As enzimas **monooxigenase** com oxigênio molecular permitem a formação da ligação C-O,



2. As transferases são úteis para transferir grupos funcionais de uma molécula para outra, como **quinases** e **fosfatases**.

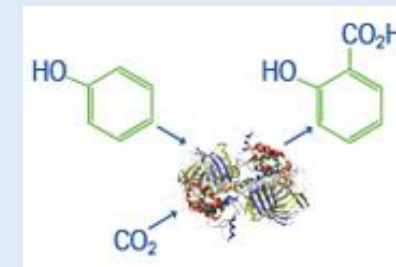


3. As hidrolases catalisam a hidrólise de vários substratos, como as **nucleases** ou **proteases**



4. As liases geralmente catalisam reações por meio da formação ou eliminação de duplas ligações.

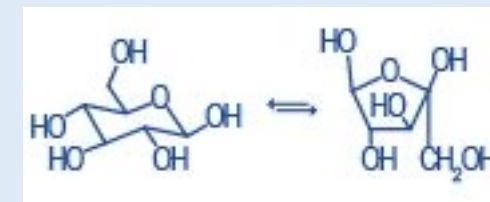
Reações de **carboxilase** ou **descarboxilase** são comuns em biocatálise farmacêutica **para a adição ou remoção de CO₂**, assim como **C-N liases** que podem ser usadas para gerar **aminoácidos** incluindo **ácidos aspárticos substituídos e alaninas**.



5. As isomerases permitem o rearranjo de átomos em uma molécula.

Isomerases, tais como racemases, catalisam a isomerização de isômeros cis-trans em alcenos ou cicloalcanos.

A conversão de **glicose em frutose** via glicose isomerase



6. As ligases formam novas ligações químicas ao juntar duas moléculas para formar uma molécula maior.

Uma das aplicações mais importantes a DNA-ligase usada na formação de moléculas de DNA recombinantes.

São o complementos de endo- ou exonucleases.

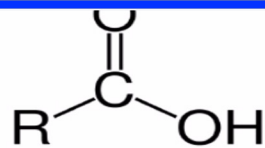


Ex. Alguns Ácidos orgânicos que podem ser produzidos

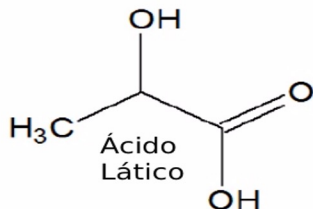
➤ O que são ácidos orgânicos?

➤ Características;

➤ Ácido acético, láctico, cítrico e etc;



Ácido Acético



2

Microorganismos usados industrialmente

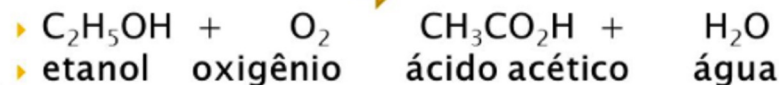
- Para a produção do ácido láctico, são usadas as bactérias homoláticas do gênero *Lactobacillus* e *Streptococcus*.
- A espécie escolhida depende do carboidrato disponível e da temperatura a ser empregada:
 - - *Lactobacillus delbrueckii*, *L. bulgaricus*: temperatura na faixa de 45 - 50°C;
 - - *L. casei* e *Streptococcus lactis*: temperatura ao redor de 30°C;
 - - *L. pentosis*, *L. leishmanii*: temperatura acima de 30°C.
- É conveniente para cada caso, estudar a temperatura mais conveniente.

1- ÁCIDO ACÉTICO (vinagre)

PRODUÇÃO DO VINAGRE-MICRORGANISMO

➤ *Acetobacter aceti* são capazes de fermentar vários açúcares - ÁCIDO ACÉTICO.

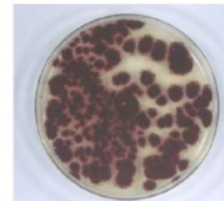
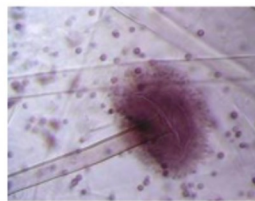
➤ A oxidação do etanol por bactérias produzindo ácido acético e água é denominado de Acetificação (processo que consiste na transformação do vinho em vinagre, mediante a oxidação de líquidos alcoólicos).



2- ÁCIDO CÍTRICO (um poderoso conservante)

2.1 Microrganismo

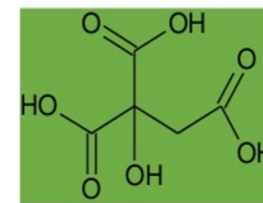
- *Aspergillus niger* (fungo filamentoso)



2.2 Matéria-prima

- Depende do processo e utiliza-se: Farelo de trigo, bagaço de laranja, amido de batata, melão de beterraba e xarope de cana com 30-35% de açúcar invertido (mistura de glicose e frutose)

• Ácido cítrico (C₆H₈O₇)



O ácido cítrico é obtido a partir do microrganismo *Aspergillus niger*, que transforma diretamente a glicose em ácido cítrico.

Emprego de Microrganismos na Indústria Química

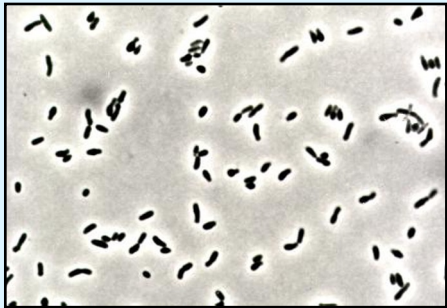
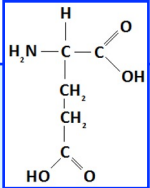
Ex. Alguns Aminoácidos que podem ser produzidos

Os aminoácidos podem ser produzidos industrialmente por vários métodos:

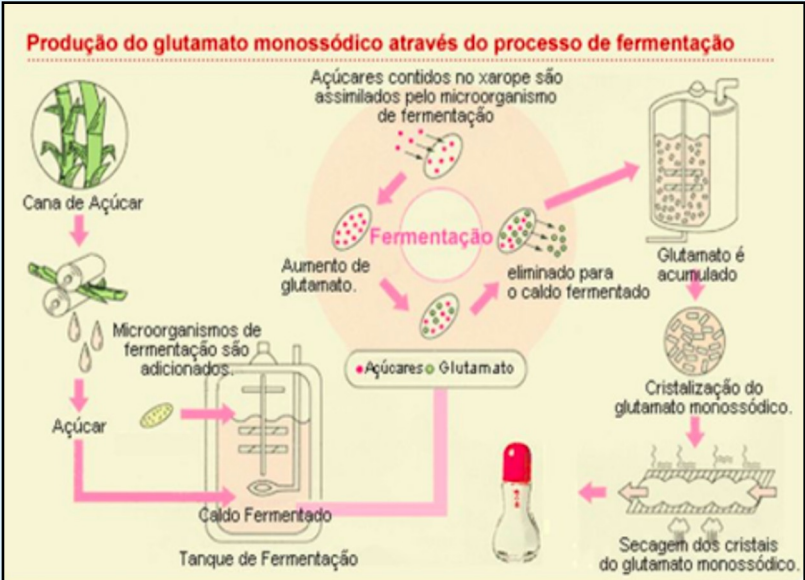
- Hidrólise de proteínas;
- Síntese química;
- **Fermentação microbiana.** A maior parte produzida utiliza este método e emprega matérias primas de fontes naturais, renováveis e de baixo custo, como:
 - cana-de-açúcar,
 - mandioca,
 - milho,
 - beterraba,
 - outras.

Exemplo:

➤ **Ácido glutâmico:** glutamato monossódico É um intensificador de sabor produzido por *Corynebacterium glutamicum*.



Corynebacterium glutamicum é um bacilo Gram-positivo conhecido por apresentar morfologia de “letras chinesas” decorrentes de aglomerados de células resultantes de seu estilo de divisão celular.



➤ **É sempre muito importante:**

- Emprego de **cepas boas produtoras;**
- Emprego de bom **Processo de Produção** a partir de fonte de carbono de baixo custo ;
- Dispor-se de um bom **Processo de Purificação.**

Outros exemplos:

Aminoácido	Cepa utilizada	Rendimento (g/L)	Fonte de Carbono
D,L-alanina	Microbacterium ammoniaphilum	60	Glicose
Ácido Glutâmico	Corynebacterium glutamicum Brevibacterium flavum Aerobacter paraffineus	100 98 82	Glicose Acetato n-Alcanos
L-lisina	B. lactofermentum AJ11204 B. flavum	70 75	Glicose Acetato
L-metionina	C. glutamicum KY9276	2	Glicose
L-triptofano	E. coli JP4114	23,5	Glicose

Biotransformações em Química fina (Este TEMA é muito extenso, pois deriva muitas das aplicações)

Biotransformação ou Biocatálise

Vários compostos empregados em “**síntese orgânica**” fina podem ser produzidos por síntese química mas normalmente, devido às dificuldades das etapas de síntese e/ou de purificação pós-síntese têm pelo menos uma etapa de síntese microbiana, que é denominada **Biotransformação** ou **Biocatálise**.

Este tipo de síntese também é chamado de “**Green-chemistry**”, pois emprega etapas que demandam baixa utilização de energia e pouco uso de solventes derivados de petróleo.

A produção anual de **Químicos Finos** supera 800 toneladas/ano, num mercado de demanda crescente. São exemplos de produtos vários fármacos:

- Hormônios animais;
- Esteroides;
- Corticosteroides: que reduzem inflamações, artrites, etc;
- Estrógenos e androgênicos: usados na fertilidade humana e ganho de massa muscular;
- Cortisona e hidrocortisona: usados no controle de pruridos subcutâneos,
- vários outros produtos.

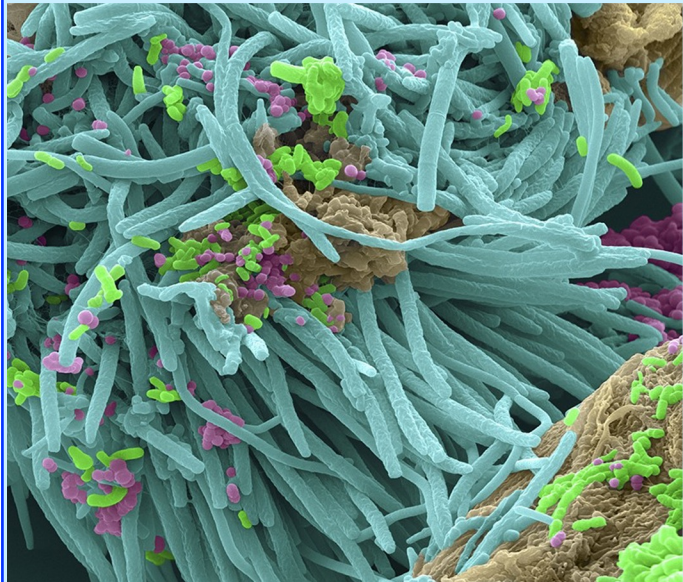
nature

Subscribe

TECHNOLOGY FEATURE · 24 SEPTEMBER 2019

Microbial chemistry gains fresh focus

The tools of chemical biology, genomics and data mining can yield insights into the metabolites of the microbiome.



Microbial chemistry gains fresh focus

Novas técnicas de **Genômica**, **Proteômica** e de **Metabolômica** (respectivamente: estudo do conteúdo total do material genético, das proteínas e do Metabolismo) permitem o descobrimento de novas Enzimas para emprego em Biotransformação.

Chapter

Microorganisms as Biocatalysts and Enzyme Sources

Arturo Cano-Flores, Javier Gómez, Iker S. Escalona-Torres and Benjamín Velasco-Bejarano

[Veja um pedaço desta Publicação :](#)

ITEM: Transformações microbiológicas de alguns produtos naturais selecionados com diferentes microrganismos:

Lactona de sesquiterpeno

A **artemisinina**, um endoperóxido de lactona sesquiterpeno, é um medicamento **antimalárico eficaz contra parasitas resistentes à cloroquina**, mas suas toxicidades e baixa solubilidade na água dificultam seu uso terapêutico.

Estudos sobre sua modificação empregando metodologias biológicas e químicas foram relatados para produzir derivados mais eficazes e solúveis em água.

Estão sendo estudadas uma ampla variedade de **transformações microbianas** envolve reações de oxidação, redução e degradação por diferentes microrganismos, como ***Aspergillus niger*, *A. flavus*, *A. adametzi* (ATCC 10407), *Cunninghamella echinulata*, *Caenorhabditis elegans*, *Mucor polymorphous*, *M. rammanianus*, *Streptomyces griseus*, *Penicillium simplicissimum*, *P. chrysogenum*, *P. purpuresceus*, *Pestalotiopsis guepini* (P-8), *Eurotium amstelodami*, *Trichoderma viride* (T-58), *Saccharomyces cerevisiae* e *Pichia pastoris***. Sua biotransformação geralmente inclui processos como a hidroxilação de grupos metil, metila e metileno, reações de desoxidação, reações de hidratação e acetilação, epimerização e quebra de anéis heterocíclicos (Tabela 1).

Microorganism	Products	Action	Reference
<i>A. niger</i>	3β-hydroxy-4,12-epoxy-1-deoxyartemisinin Artemisinin G 3,13-epoxyartemisinin 4α-hydroxy-1-deoxyartemisinin	Epoxidation, hydroxylation C-3β site Endoperoxide function reduction Breakdown of heterocyclic rings Epoxidation C-3 and C-13 Hydroxylation C-4, endoperoxide function reduction	[10]
<i>A. flavus</i> (MTCC 9167)	14-hydroxyartemisinin Artemisinin G 4α-hydroxydeoxyartemisinin Deoxyartemisinin	Hydroxylation of C-14 site Breakdown of heterocyclic rings Hydroxylation of C-4α site Endoperoxide function reduction	[11, 12]
<i>C. elegans</i> (ATCC 9245)	7β-hydroxy-9α-artemisinin 4α-hydroxy-1-deoxoartemisinin 7β-hydroxyartemisinin 6β-hydroxyartemisinin 7α-hydroxyartemisinin 6β,7α-dihydroxyartemisinin	Hydroxylation C-7β site Epimerization C-9 Hydroxylation C-4α site Hydroxylation C-7β site Hydroxylation C-6β site Hydroxylation C-7α site Hydroxylation C-6β and C-7α sites	[13, 14]
<i>P. simplicissimum</i>	9β-acetoxyartemisinin 9α-hydroxyartemisinin	Acetylation of C-9β site Hydroxylation of C-9α site	[15]
<i>R. stolonifer</i>	Deoxyartemisinin 1α-hydroxyartemisinin 10β-hydroxyartemisinin	Endoperoxide function reduction Hydroxylation of C-1 site	[16]
<i>S. griseus</i> (ATCC 13273)	9-artemisitone 9α-hydroxyartemisinin 9β-hydroxyartemisinin 3α-hydroxyartemisinin	Oxidation of C-9 site Hydroxylation of C-9α site Hydroxylation of C-9β site Hydroxylation of C-3α site	[17]
<i>N. corallina</i>	Deoxyartemisinin	Endoperoxide function reduction	[11]

Table 1.
Products obtained from the biotransformation of artemisinin (1) by different microorganisms.

Molecules **2015**, *20*, 9358–9379; doi:10.3390/molecules20059358

OPEN ACCESS

molecules

ISSN 1420-3049

www.mdpi.com/journal/molecules

Review

Green Polymer Chemistry: Enzyme Catalysis for Polymer Functionalization

Sanghamitra Sen and Judit E. Puskas *

Department of Chemical and Biomolecular Engineering, The University of Akron, Akron, OH 44325, USA; E-Mail: ssen@uakron.edu

* Author to whom correspondence should be addressed; E-Mail: jpuskas@uakron.edu; Tel.: +1-330-972-6203.

Academic Editor: Lajos Novak

Received: 11 April 2015 / Accepted: 15 May 2015 / Published: 21 May 2015

Vantagens das Biocatálises:

As reações **catalisadas por enzimas** são abordagens **alternativas verdes** para funcionalizar polímeros em comparação com métodos convencionais.

Essa técnica é especialmente vantajosa devido à:

- alta seletividade,
- alta eficiência,
- condições mais leves de reação, e
- capacidade de reciclagem de enzimas.
- As reações podem ser conduzidas sob condições sem solvente,
- sem a aplicação de catalisadores de metal.

Portanto, esse processo está se tornando mais reconhecido no campo das **aplicações biomédicas**, pois a **toxicidade** criada por solventes e resíduos de catalisadores metálicos pode ser completamente evitada.

https://www.researchgate.net/publication/277945154_Green_Polymer_Chemistry_Enzyme_Catalysis_for_Polymer_Functionalization



Advances in Enzyme Technology

Biomass, Biofuels, Biochemicals

2019, Pages 137-151



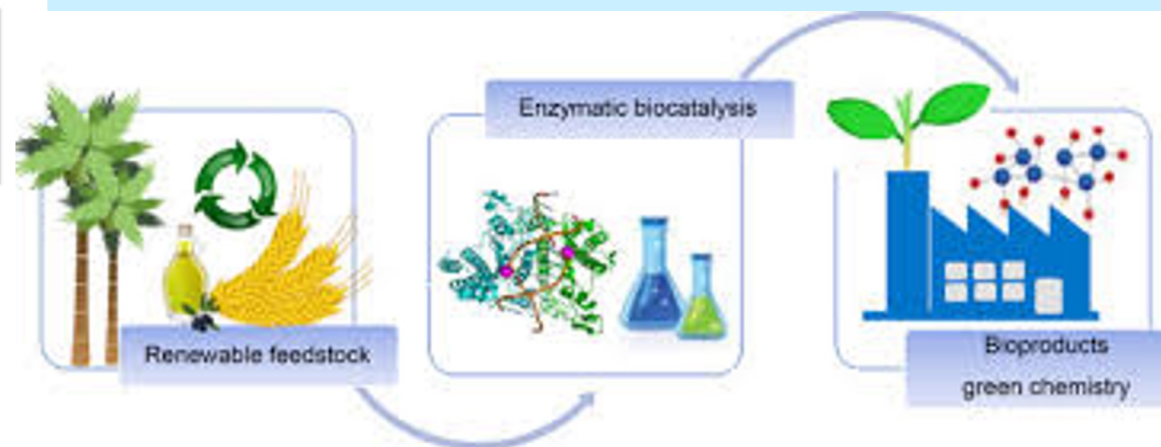
Chapter 5 - Enzymes in Green Chemistry: The State of the Art in Chemical Transformations

Eliane Pereira Cipolatti ^{*, a}, Martina Costa Cerqueira Pinto ^{*, †, a}, Rosana Oliveira Henriques ^{‡, a}, José Carlos Costa da Silva Pinto [†], Aline Machado de Castro [§], Denise Maria Guimarães Freire ^{*}, Evelin Andrade Manoel [¶]

Show more

<https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64114-4.00005-4>

[Get rights and content](#)



Resumo:

A Importância da Biocatálise Enzimática em “**Green Chemistry**”:

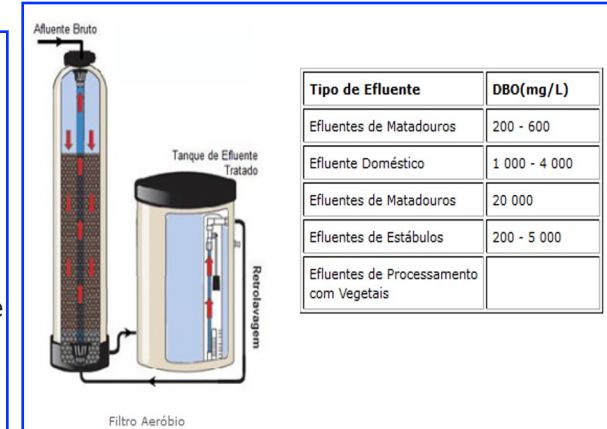
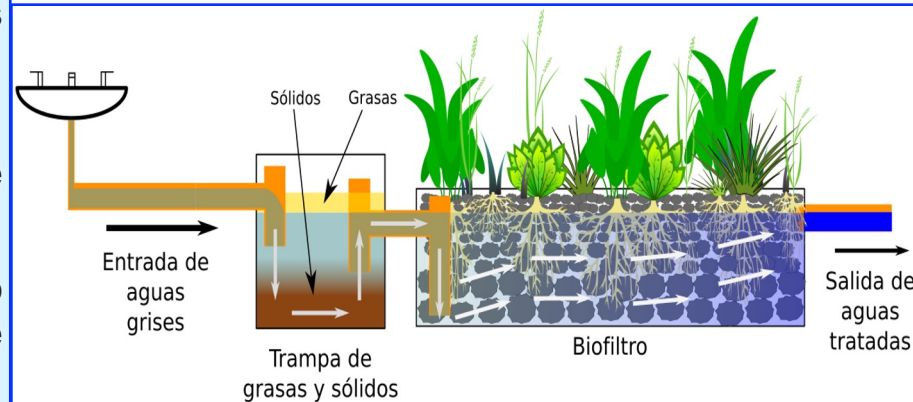
1. Produção de **biocombustíveis** (“Green Fuel”)
2. Produção de **Biolubrificantes**
3. Produção de **Bioinseticidas**
4. Produção de Biodetergentes e Biosurfactantes
5. Vantagens das Tecnologias **Ômicas “Omics Technologies”** para aumentar e melhorar a Produção de Enzimas
6. Processos Ambientalmente corretos (ecológicos) baseados em enzimas imobilizadas

Biofiltros: Empregados na assimilação de resíduos gerados em processos industriais, como metano e enxofre

Biofiltragem é um processo de remoção das impurezas de um fluido (água ou ar) que utiliza agentes biológicos.

Os poluentes são removidos pela barreira mecânica e por biodegradação.

Os **biofiltros** feitos de raízes de plantas têm sido considerados uma boa alternativa para o tratamento e reutilização de águas poluídas.



Na aula de **BIORREMEDIAÇÃO**, este tema será mais profundamente abordado. Veremos que os **MICROORGANISMOS** podem ser aplicados, com muito sucesso na despoluição de águas contaminadas até com metais e também podem descontaminar até o solo.

Filtros biológicos empregam **microrganismos** especializados em retirar da água substâncias sólidas, dissolvidas, gases e em **degradar compostos químicos e orgânicos**.

Diferentes microrganismos desempenham diferentes tarefas e permitem:

- Redução de DBO,
- Remoção de amônia, R
- Remoção nitritos,
- Remoção sólidos orgânicos dissolvidos,
- Adicionar oxigênio, remover dióxido de carbono,
- Remover excesso de nitrogênio e outros gases dissolvidos e
- Remover sólidos em suspensão.

Três grupos de microrganismos aeróbios se destacam:

- **bactérias heterotróficas** que utilizam compostos carbonáceos dissolvidos,
- **Nitrossomonas** que utilizam amônia e produzem nitrito como subproduto e
- **Nitrobacter** que utilizam o nitrito produzindo nitrato.

Biolixiviação: Mineração com microrganismos

Biolixiviação:

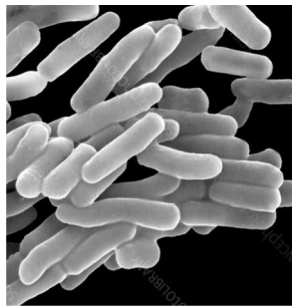
Uma das formas mais comuns de ferro na natureza é a **pirita (FeS_2)**, muitas vezes presente em carvões betuminosos e em minérios metálicos.

O sulfeto (-S) forma minerais insolúveis com muitos metais, assim muitos minérios que são fontes destes metais são minérios de sulfeto.

Quando são extraídos minérios que têm concentração do metal desejado baixa, sua extração poderá se tornar economicamente inviável pelas técnicas de **hidrometalurgia convencional**.

Como alternativa para obtenção de metal, a **lixiviação microbiana** permite a concentração de metais de interesse (**Figura 21.1**).

O aumento da produção de ácido e a dissolução de **FeS_2** por **bactérias acidófilas**, tais como ***Acidithiobacillus ferrooxidans***, é usado para lixiviar os minérios metálicos em operações de mineração em grande escala. A lixiviação é especialmente útil para os minérios de cobre porque o sulfato de cobre (CuSO_4) formado durante a oxidação de minérios de sulfureto de cobre é muito solúvel em água.



Acidithiobacillus ferrooxidans

São bacilos Gram-negativos que crescem em pH entre 0,5 e 2,0



(a)



(b)



(c)



(d)

Figura 21.1 A lixiviação de minérios de cobre de baixo teor utilizando bactérias oxidantes de ferro. (a) Uma típica pilha de lixiviação. O minério de baixo teor foi triturado e despejado em uma grande pilha, com a área superficial exposta o mais alto possível. Tubos distribuem a água ácida de lixiviação sobre a superfície da pilha. A água ácida é filtrada lentamente, sendo escoada na base. (b) Efluente de um despejo de lixiviação de cobre. A água ácida é muito rica em Cu^{2+} . (c) Recuperação de cobre na forma de cobre metálico (Cu^0) pela passagem da água rica em Cu^{2+} sobre ferro metálico, ao longo de uma extensa calha. (d) Uma pequena pilha de cobre metálico removido da calha, pronta para posterior purificação.

Biolixiviação: Mineração com microrganismos

Biolixiviação:

A suscetibilidade à oxidação varia entre os minerais, sendo aqueles mais rapidamente oxidados os mais adequados à lixiviação microbiana.

Assim, minérios de sulfeto de ferro e de cobre, como a **pirrotita (FeS)** e a **covelita (CuS)**, são prontamente lixiviados, enquanto minérios de chumbo e molibdênio o são em menor grau.

Processo de lixiviação microbiana (**Figura 21.1**):

O **minério de baixo teor** é acumulado em uma grande pilha (pilha de lixiviação) e uma solução diluída de ácido sulfúrico (**pH 2**) filtrada por meio da pilha.

- O líquido que emerge do fundo da pilha (**Figura 21.1b**) é rico em metais dissolvidos
- e é transportado para uma planta de precipitação (**Figura 21.1c**);
- onde o metal desejado é precipitado e purificado (**Figura 21.1d**).
- Em seguida, o líquido é bombeado de volta ao topo da pilha, sendo o ciclo repetido. Quando necessário, mais ácido é acrescentado a fim de manter-se o pH baixo.

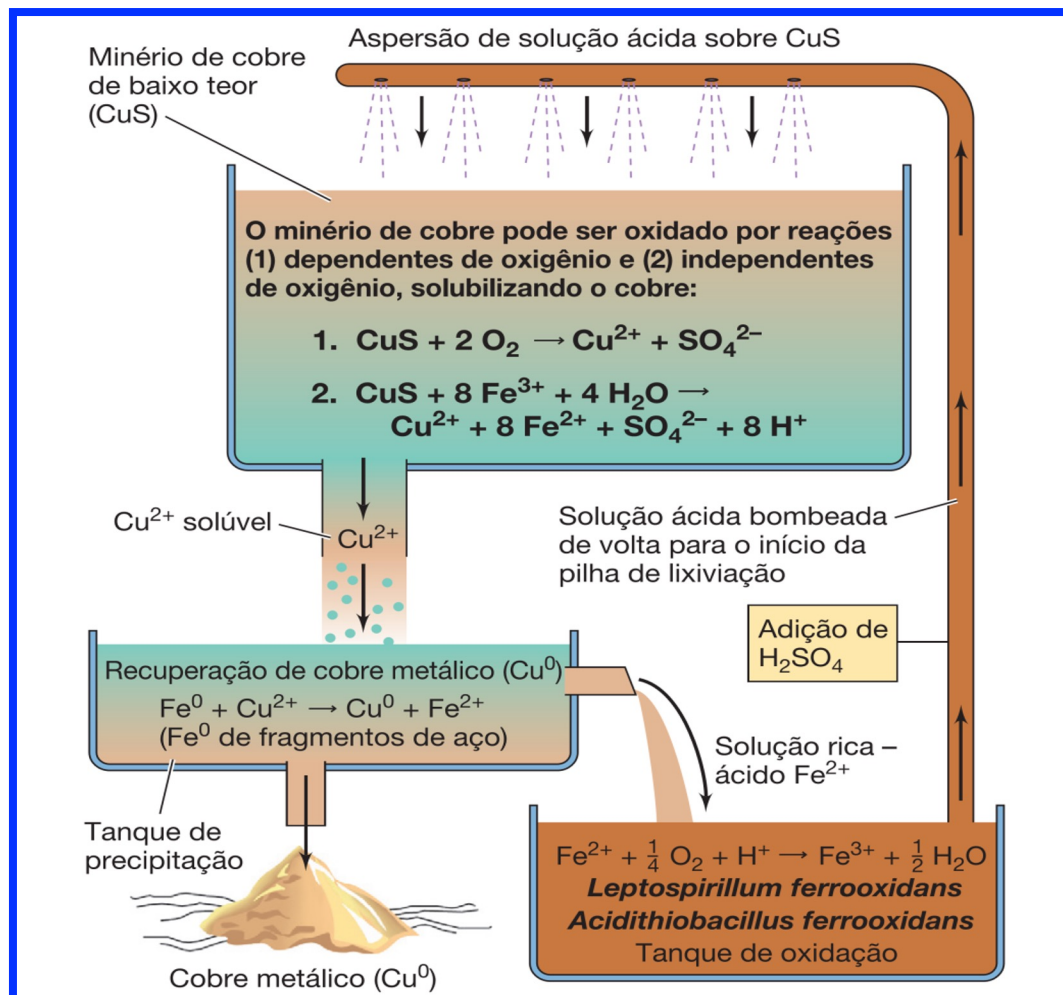


Figura 21.2 Organização de uma pilha de lixiviação e reações envolvidas na lixiviação microbiana de minerais de sulfeto de cobre para produzir cobre metálico. A reação 1 ocorre biológica e quimicamente. A reação 2 é estritamente química e é a reação mais importante nos processos de lixiviação de cobre. Para que a reação 2 ocorra, é essencial que o Fe^{2+} produzido a partir da oxidação do sulfeto em CuS a sulfato seja oxidado novamente a Fe^{3+} por organismos quimiolitotróficos de ferro (ver a química na lagoa de oxidação).

Biolixiviação: Mineração com microrganismos

Biolixiviação:

A Biolixiviação também pode ser usada para mineração de outros metais, como OURO.



Ashanti Goldfields Corp., Ghana

Figura 21.3 Biolixiviação de ouro. Tanques de lixiviação de ouro em Gana (África). Dentro dos tanques, uma mistura de *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Acidithiobacillus thiooxidans*, e *Leptospirillum ferrooxidans* solubiliza o mineral pirita/arsênio que contém ouro, liberando-o.

A lixiviação Natural produz contaminação ambiental

Consequentemente às atividades de mineração produzem **pilhas rejeitos de mineração**, que contêm minérios com baixo teor de metal e que não serão explorados por hidrometalurgia. Estas pilhas ficam submetidas a lixiviação natural pela ação das chuvas, gerando contaminação ambiental.



T. D. Brock

Figura 21.5 Drenado ácido de mina de uma operação de mineração de superfície de carvão. A cor vermelho-amarelada é decorrente de óxidos de ferro precipitados no escoamento (ver Figura 21.4c para as reações de drenado ácido de minas).

A Biorremediação ambiental

deste tipo de poluição pode ser realizada empregando microrganismos

(Este Tema será apresentado futuramente)

Proteínas unicelulares (“Single Cell Protein” - SCP)

Há tempos os homens utilizam os microrganismos como fonte de alimentos (iogurtes, Kefir). O termo **SCP** se refere especificamente aos microrganismos usados como suplementos alimentares para humanos e em rações para animais.

Poder ser:

- 1) A própria **biomassa microbiana**; ou
- 2) **Extrato proteico** derivado de culturas puras ou mistas (geralmente estes têm maior valor agregado).

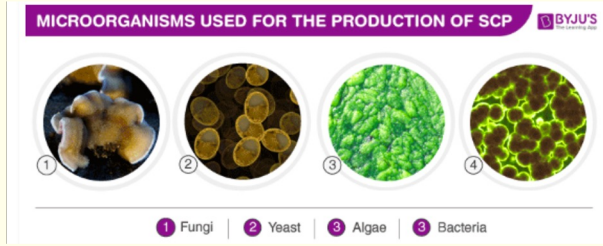
São microrganismos produtores de SCP:

- algas,
- leveduras,
- fungos filamentosos
- bactérias

A produção de SCP não apresenta várias vantagens, relativamente a produção de proteína animal:

- Pode ser produzida a partir de resíduos agrícolas,
- Requer pequeno volume de água;
- Requer espaço pequeno;
- Apresenta teor de aminoácidos muito semelhante ao da proteína animal;
- Pode ser produzida em pequeno intervalo de tempo;
- Não promove a destruição da biodiversidade,
- Não contribui para as mudanças climáticas pela emissão de gases de efeito estufa.







Alguns **Microrganismos** que podem ser utilizados para produzir **SCP**

Levedura	Fungo filamentoso	Bactéria	Alga
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Aspergillus fumigatus</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	<i>Spirulina sps</i>
<i>Candida tropicalis</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Lactobacillus</i>	<i>Chlorella pyrenoidosa</i>
<i>Candida utilis</i>	<i>Rhizopus cyclopean</i>	<i>Bacillus megaterium</i>	<i>Chondrus crispus</i>

Composição Nutricional de fontes de **SCP**

Composição	Levedura	Fungo filamentoso	Bactéria	Alga
Proteína	45-55	30-45	50-65	40-60
Gorduras	2-6	2-8	1-3	7-20
Ácidos Nucléicos	6-12	7-10	8-12	3-8
Cinzas	3-7	9-14	3-7	8-10

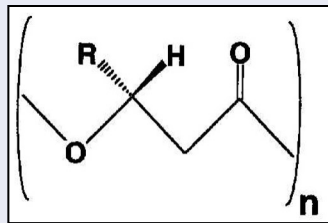
Biopolímeros – Poli (3-hidroxiclcanoatos) (PHA) - (Este TEMA será posteriormente discutido em apresentação exclusiva)

São polímeros acumulados intracelularmente por muitos microrganismos como estoque de carbono e de energia.

Possuem características semelhantes as dos polímeros derivados de petróleo e, quando adicionados de plastificante, são semelhantes aos plásticos convencionais.

São totalmente:

- **Biodegradáveis**
- **Biocompatíveis**



Formula geral dos PHA

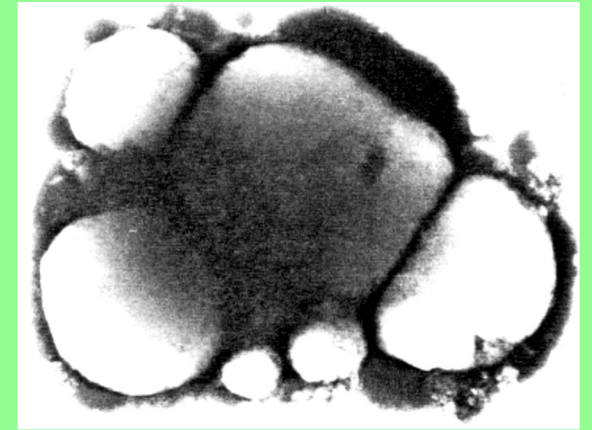
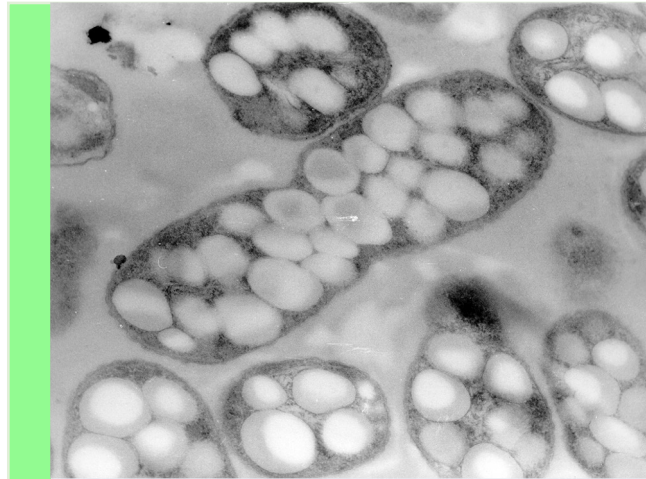
Poli(3hidroxibutirato):

R= CH₃;

n: 100 - 100.000

Diversos tipos de PHA, com características diferentes (mais maleáveis ou mais rígidos) podem ser produzidos empregando:

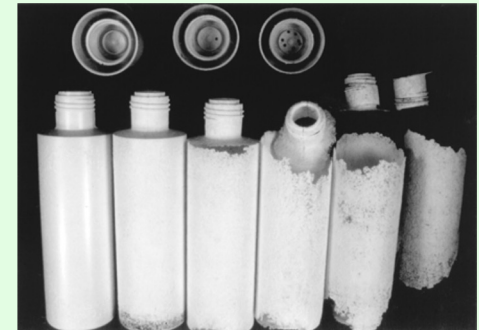
- substratos vegetais renováveis (**BIOPOLIMEROS**) de inúmeros tipos: açúcares, óleos, gorduras, resíduos;
- Cultivo de diversas bactérias



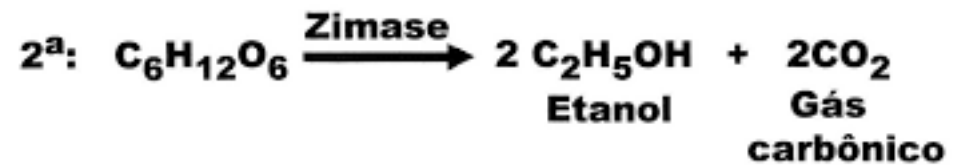
Células da bactéria *Ralstonia eutropha*. Quando cultiva em condições de excesso de uma fonte de carbono (como glicose) e ausência de fonte de nitrogênio é capaz de acumular 80% do seu peso seco do PHA Polihidroxibutirato (PHB).

Garrafas fabricadas com
PHA

sendo degradadas em semanas ou meses, dependendo do tipo de solo e da temperatura em que forem incubadas.



➤ Considere o que estas simples reações são capazes de produzir



Enzimas de aplicação industrial, para produção de: detergentes, têxteis, papel, celulose, etc.

Mais exemplos, e olha que eles não acabam:

- Catalisadores: aceleram atividades bioquímicas
 - Utilizadas como suplementos nutricionais
 - Produzidas por fungos e bactérias
 - Exemplos:
 - Amilases: adesivos, sucos, detergentes
 - Invertases (glicose a frutose): cremes, xaropes (refrigerantes)
 - Proteases: couro, seda, detergentes
 - Pectinases: sucos
 - Extremozimas: ácido-tolerantes
- usadas como suplemento animal

Voltando, é claro, para a produção de **CERVEJAS**.
Que exemplo poderia ser melhor neste encerramento ?

Microrganismos na produção de cervejas

- A partir de grãos maltados: grãos de cevada germinados (**enzimas** que digerem o amido convertendo-o em açúcar)
- Maceração dos grãos
- Cozimento: **enzimas** degradam o amido a glicose que **será fermentada pelas leveduras**. Proteínas e aminoácidos (1 hora a 65-67 C)
- Adição de lúpulo (aromatizante e antimicrobiano)
- Fervura para liberar ação do lúpulo e coagulação de proteínas
- Filtragem
- Resfriamento
- Fermentação:
 - alta fermentação: **levedura** em todo o mosto (*ales*) – **S. cerevisiae**
 - baixa fermentação: **levedura** no fundo do tanque (cervejas claras) – **S. carlsbergensis**
- Filtragem





Profa. Elisabete Vicente
bevicent@usp.br

Emprego de Microrganismos na Indústria Química

1. **Microrganismos empregados nas Indústrias**
2. **Microbiologia industrial**
3. **Metabolitos primários e secundários**

4. Exemplos de Produtos:

A **Microbiologia industrial** originou-se a partir de processos de fermentação alcoólica, como produção de **vinho** e **cerveja**. Posteriormente, foram desenvolvidos processos microbianos visando a produção de inúmeros produtos. São alguns exemplos:

- Biosurfactantes;
- Síntese de produtos farmacêuticos, como antibióticos;
- Síntese de vários produtos, como: bioetanol, ácido cítrico, polissacarídeos, ácidos orgânicos;
- Aditivos alimentares, como vinagre e aminoácidos;
- Biocatálise: Enzimas de aplicação industrial, para produção de: detergentes, têxteis, papel, celulose, etc;
- Biofiltros: Empregados na assimilação de resíduos gerados em processos industriais, como metano e enxofre;
- Biolixiviação;
- As próprias células microbianas (SCP) e seus derivados;
- Biopolímeros – Polihidroxialcanoatos (PHA)

Chegamos ao final.

Como podem ver, este Tema é extremamente amplo e pode ser apresentado de muitas formas com diversos enfoques.

Espero que tenha servido para abrir horizontes.

Aqui há várias sugestões de assuntos que podem ser aproveitados para aprofundamento e visando à construção de uma ótima Revisão para o Trabalho de “Conclusão da Disciplina”.