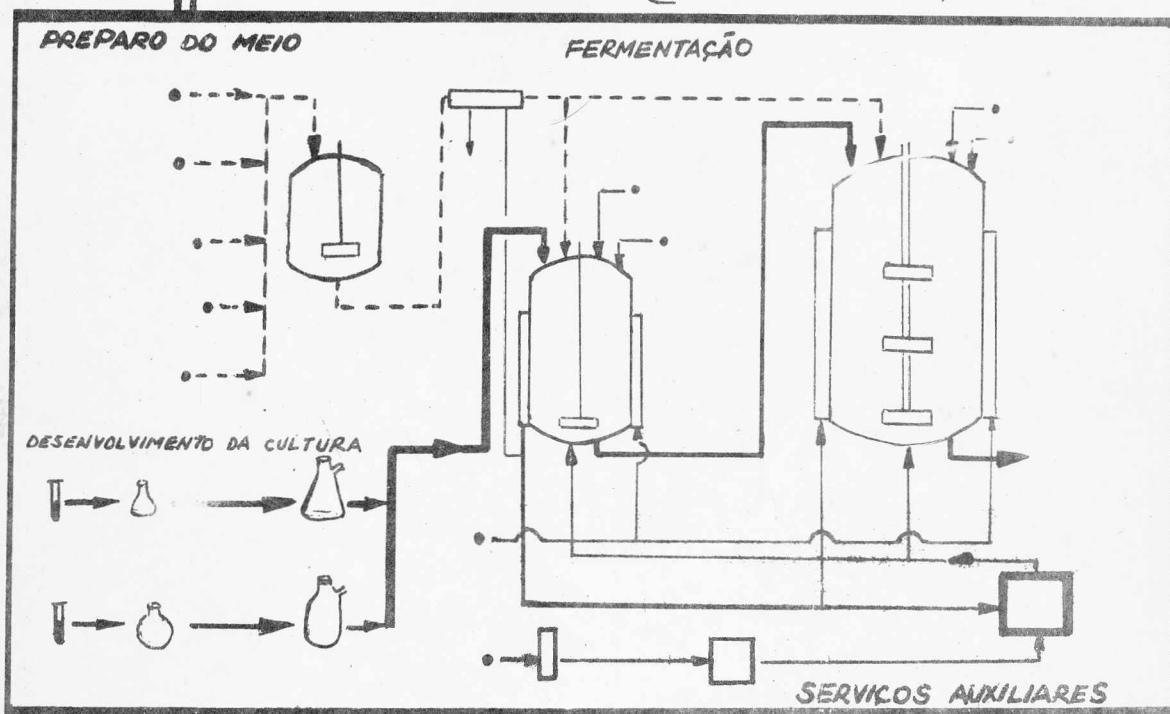


INTRODUÇÃO À ENGENHARIA BIOQUÍMICA

VITALIS MORITZ

assistente de ensino superior da
escola de química da u.f.r.j.
professor regente de processos
unitários das indústrias de fermentação



publicação do diretório acadêmico da
escola de química da u.f.r.j.

Vitalis Moritz

Professor assistente e Docente-Livre da Escola de Química, UFRJ
Professor regente da Disciplina de Engenharia Bioquímica, EQ-UFRJ

INTRODUÇÃO À ENGENHARIA BIOQUÍMICA

2ª. impressão

Rio de Janeiro, Agosto 1969

Apresentação

O presente volume, contendo noções básicas de Engenharia Bioquímica, resultou de uma revisão das notas de aulas das Disciplinas de Processos Unitários das Indústrias de Fermentação e de Engenharia Bioquímica, que vêm sendo ministradas no curso de Engenharia Química desde 1963. Longe de ser original e completo, tem por objetivo auxiliar os alunos da Escola de Química da U.F.R.J., que de outra forma se veriam forçados a compulsar a vasta e esparsa literatura para se introduzirem neste novo ramo da Engenharia Química que vem tomando tremendo impulso nos últimos anos.

Em virtude de ser especialidade recente e portanto ainda em formação, torna-se difícil uma perfeita sistematização dos assuntos abordados, motivo pelo qual nos excusamos das falhas existentes. É nosso propósito apresentar este trabalho em futuro próximo, com uma feição mais ampla afim de que possa atender plenamente aos objetivos a que se propõe.

Aproveitamos a oportunidade para agradecer aos Professores Hebe Martelli, José Augusto Rosenberg e Anita Panek pelo seu inestimável auxílio na elaboração de várias das unidades didáticas apresentadas; e ao Professor Ricardo S.A. Silveira e Engenheiro-Químico Abrahão Fidel pela valiosa colaboração na revisão dos originais.

Nosso agradecimento é ainda extensivo aos demais companheiros do Departamento de Engenharia Bioquímica, pela colaboração sempre solícita.

Não poderíamos finalizar sem deixar consignado que este trabalho não teria razão de ser, não fosse o discernimento do Professor Raymundo Moniz de Aragão, que antevendo a tendência do estudo dos processos fermentativos sob o prisma de processos e operações unitárias, propôs a introdução da nova Disciplina na dinâmica estrutura curricular da Escola de Química da Universidade Federal do Rio de Janeiro.

V.M.

ESCOLA NACIONAL DE QUÍMICA

PROCESSOS UNITÁRIOS DAS INDÚSTRIAS DE FERMENTAÇÃO

- 1 - Conceito de indústria de fermentação. Histórico e evolução; perspectivas atuais. Quadro geral das fermentações industriais. Fermentação como processo unitário da indústria química.
- 2 - Elementos de Microbiologia Industrial. Estudo geral e classificação dos microrganismos de interesse industrial.
- 3 - Conceitos de fisiologia microbiana. Fermentação e respiração. Metabolismo assimilativo e desassimilativo. Aerobiose e anaerobiose.
- 4 - Enzimas; definição, constituição e especificidade. Catálise enzimática. Mecanismo e cinética das reações enzimáticas. Bioquímica das principais fermentações. Conhecimentos gerais relativos às enzimas mais importantes do ponto de vista industrial.
- 5 - Matérias primas e substratos para os processos de fermentação. Tratamentos; sacarificação do amido em escala industrial.
- 6 - Agente e meio; preparo do mosto. Estabelecimento do meio de cultura econômico. Inóculo, recuperação e controle.
- 7 - Processos fermentativos industriais; processos em batelada e contínuos; processos em superfície e em profundidade; processos aerados e não aerados.
- 8 - Controle dos processos; pureza microbiológica, consumo de substrato e formação de produto; contaminações. Cálculos de rendimento e eficiência.
- 9 - Cinética dos processos fermentativos; velocidade específica de variação da concentração; determinação da ordem global de um processo fermentativo contínuo.
- 10 - Equipamentos: propagadores e fermentadores; equipamento auxiliar. Suprimento de ar; agitadores e aeradores. Cálculo de número econômico de dornas e seu volume correspondente.
- 11 - Esterilização - Teoria da esterilização pelo calor. Esterilização de equipamento e mosto. Cálculos na esterilização de mostos. Eficiência e controles. Condições de operação com culturas estéreis e púas; amostragem.
- 12 - Teoria da esterilização por filtração. Esterilização do ar, eficiência e controle do processo. Dimensionamento de filtros de ar.
- 13 - Aeração dos mostos. Suprimento e demanda do oxigênio nas fermentações aeróbicas. Teoria de Whitman. Eficiência da aeração. Transferência do oxigênio nas fermentações aeróbicas. Relações entre a velocidade do ar e a eficiência da aeração. Controle das espumas.

2.

- 14 - Agitação dos móstos. Tipos de agitação e tipos de aeradores. Cálculo e "scale-up" da potência necessária à agitação em um processo fermentativo.
- 15 - Tratamentos complementares do mosto fermentado. Recuperação dos produtos e aproveitamento dos sub-produtos. Eliminação dos resíduos.
- 16 - Estudo de um processo fermentativo em ausência do ar: fermentação acetona-butílica.
- 17 - Estudo de um processo fermentativo não aerado, em profundidades: fermentação alcoólica.
- 18 - Estudo de um processo fermentativo aerado, em profundidades: produção de antibióticos.
- 19 - Estudo de um processo fermentativo em superfície: fermentação cítrica.

3.
1 - Conceito de Indústria de fermentação. Histórico e evolução; perspectivas. Fermentação como processo unitário da indústria química. O advento da Engenharia -bioquímica.

I - CONCEITO DE INDÚSTRIA DE FERMENTAÇÃO

Fermentação é a transformação de uma substância orgânica, mediante metabolismo microbiano, com formação e excreção de outra substância orgânica. Se tal transformação conduz a excretas úteis é economicamente vantajosa, pode ser industrializada e estaremos portanto em posse de uma indústria de fermentação.

HISTÓRICO E EVOLUÇÃO

Milênios antes de conhecer o mecanismo das fermentações, já se beneficiava delas.

O homem das cavernas já sabia que a carne tinha melhor paladar quando ingerida alguns dias após a matança e já conhecia o preparo de bebidas inebriantes a partir de grãos de frutas. Desconhecia, entretanto, estar se aproveitando da atividade de microorganismos invisíveis.

A fabricação de queijos pela fermentação de leite, a obtenção de coalhada e vinagre, são conhecidas desde tempos imemoriais.

O pão, que envolve uma fermentação por levedura, é conhecido há milênios, havendo sido encontrado em pirâmides egípcias construídas há mais de seis mil anos.

Os antigos gregos já conheciam o vinho, e a própria Bíblia cita sua existência.

Cervejaria já era uma atividade bem conhecida em 1000 A.C. um escrito assírio de 2000 A.C. inclui cerveja na lista dos artigos e barcados por Noé.

Há mais de três milênios, os chineses usavam uma suspensão de soja mofada para limpar infecções da pele e os antigos índios da América Central se utilizavam de fungos para tratamento de feridas infectadas.

Até a segunda metade do século XIX, entretanto, o homem permaneceu na ignorância total sobre as causas da fermentação.

Em 1857, Pasteur provou que a fermentação alcoólica era realizada por leveduras e que as leveduras eram células vivas. Demonstrou também que várias doenças eram causadas por microorganismos.

Em 1901, Rudolf Emmerich e Oscar Low, da Universidade de Munique isolaram a piocianase, de uma bactéria, a Pseudomonas aeruginosa. Centenas de pacientes foram tratados com sucesso com a piocianase, o primeiro antibiótico. Mas a piocianase estava quarenta anos adiante de seu tempo, pois, não havia métodos seguros e reprodutíveis para sua obtenção e controle de qualidade. Foi por isso abandonada, devido ao grande risco apresentado.

No início do século XX, já se produzia levedura para panificação em tanques profundos e aerados.

Durante a primeira Grande Guerra, Chaim Weizmann, utilizando uma bactéria, o Clostridium acetobutylicum, para transformar amido em acetona (que era utilizada na obtenção de cordita), livrou a Inglaterra de séria falta de munição.

Em 1923, a Pfizer inaugurou a primeira fábrica para obtenção de ácido cítrico por fermentação, utilizando o bolor Aspergillus niger na conversão de açúcar em ácido, com o consequente barateamento do produto.

Sir Alexander Fleming, em 1928, trabalhando com uma bactéria, denominada Staphylococcus aureus, notou que uma das placas de cultura estava contaminada por um bolor, o Penicillium notatum e que na vizinhança deste, a bactéria não se desenvolvia. Extraiu do bolor uma substância química, a que denominou penicilina, ativa contra a bactéria.

Mas foi somente à época da 2ª Guerra Mundial, devido a grande necessidade de agentes antibacterianos de atividades mais ampla que a sulfa, que a penicilina foi industrializada.

Seguiu-se o aparecimento de outros antibióticos. O professor Selman Waksman, isolou da garganta de uma galinha, um actinomiceto, o Streptomyces griseus, produtor de estreptomicina; este antibiótico mostrou-se altamente eficaz contra a bactéria causadora da tuberculose.

A lista de antibióticos hoje, é longa, destacando-se além das penicilinas e estreptomicina, o cloranfenicol, as tetraciclínas, a bacitracina e a kanamicina etc...

A pesquisa é intensa, e cada ano novos produtos vão se juntar à relação dos obtidos por processos fermentativos.

As vitaminas B₂ (riboflavina) e B₁₂ (cianocobalamina) são obtidas por fermentação, o mesmo se dando com alguns aminoácidos essenciais (lisina e ácido glutâmico, por exemplo).

A giberelina, regulador do crescimento de plantas é um novo produto de fermentação e está tendo grande aplicação, principalmente no Oriente.

A modificação nas moléculas dos esteróides por fermentação é assunto de grande interesse e tem contribuído enormemente para novas sínteses de derivados da cortisona.

III - PERSPECTIVAS

As matérias primas usadas nas indústrias de fermentação são geralmente subprodutos da agricultura e pecuária, de baixo custo. Freqüentemente o processo fermentativo em si não necessita de grande volume de mão de obra, sendo pequenas as necessidades de energia elétrica. Apresenta-se portanto à indústria de fermentação um vasto campo nos países em que a agricultura e pecuária representem papel importante na economia.

A tendência é de uma tremenda expansão dos processos fermentativos que conduzam a substâncias de grande complexidade molecular; tal complexidade não admite a possibilidade de sua obtenção por síntese

ses químicas, seja porque são desconhecidas, seja por serem industrialmente antieconômicas. É o caso dos biosintéticos de um modo geral (antibióticos, vitaminas), ácido cítrico, láctico, glutâmico e glicônico transformação de esteroides etc.

Já o desenvolvimento daquelas fermentações que visem à obtenção e estabilização de alimentos (álcool potável, levedo para panificação, vinho, queijos, vinagre etc.) está subordinada ao crescimento demográfico.

Os produtos de fermentação de estrutura química simples, estão no âmbito mundial, sendo paulatinamente obtidos por síntese química e o advento da petroquímica permitiu que o álcool industrial, solventes e ácido acético fossem obtidos mais economicamente que por fermentação.

No caso do Brasil, entretanto, devemos levar em conta as peculiaridades de nosso país. Assim por exemplo, o álcool industrial continua a ser obtido por processo fermentativo, levando em conta que a lavoura canavieira não pode ser forçada a retroceder, sob pena de graves problemas sociais. Por outro lado, o estágio em que se encontra a nossa indústria petroquímica, permite que seja competitiva a obtenção de butanol por fermentação.

A produção de antibióticos no Brasil, vem sendo levada a efeito dentro das técnicas mais modernas, dando-nos autosuficiência e registrando-se até exportações para centros altamente desenvolvidos.

Pesquisas vêm se efetuando intensamente em todo o mundo, buscando o aperfeiçoamento dos processos existentes e novos produtos de fermentação.

Trabalhos recentes evidenciam a procura de matérias primas menos nobres que os hidratos de carbono para serem utilizadas nas indústrias de fermentação.

O problema da carência de alimentos no mundo também é objeto de preocupação dos pesquisadores, e quer nos parecer que a obtenção de proteína alimentar por processo fermentativo desempenhará papel importante no futuro.

FERMENTAÇÃO COMO PROCESSO UNITÁRIO DA INDÚSTRIA QUÍMICA.

A classificação das diversas reações químicas economicamente em Processos Unitários, permite raciocinar em termos de - Assim, deve o profissional lembrar-se de princípios básicos em vez de detalhes específicos. Os requisitos que permitem consubstanciar um Processo Unitário podem ser resumidos em:

- 1) analogia num grupo de numerosas reações químicas (aspecto unitário). Este aspecto unitário, além de filiação química básica, pode ser comportamento semelhante em trocas energéticas, corrosão, e em condições e equilíbrio, ou mesmo semelhança de matéria prima;
- 2) semelhança de técnicas e fases;

3) Relação íntima no equipamento usado para as várias indústrias enfeixadas no mesmo Processo Unitário. Como consequência, a aparelhagem pode ser convenientemente adaptada para a fabricação de um ou outro produto englobado no mesmo Processo Unitário.

Nas diversas fermentações, a reação básica é uma catálise enzimática geralmente na presença do microorganismo vivo. As condições em que se processa a reação (pH, temperatura, suprimento de oxigênio etc.) devem ser controladas e dependem da natureza do processo. A matéria prima contém, via de regra, um açúcar como substrato fermentável.

As fermentações industriais, lidando com microorganismos vivos, exigem o emprego de uma técnica especial, a técnica microbiológica asséptica, com todas as suas implicações (esterilização de ar, equipamento e mosto, etc.). Nos diversos processos fermentativos, distinguimos sempre uma fase de multiplicação do agente (propagação), uma fase de transformação do substrato em produto (fermentação propriamente dita) e outra de separação do excreta útil do mosto fermentado (recuperação do produto).

O equipamento é análogo, respeitadas os diversos grupos, e é também versátil, podendo ser usado para outros processos fermentativos, com poucas modificações e adaptações.

Dai poderemos proceder a um estudo geral dos princípios comuns aos diversos processos fermentativos industriais. Estes princípios são aplicados a cada fermentação específica, com algumas adaptações destinadas a atender às suas características.

Isto explica e justifica a inclusão da Fermentação entre os diversos Processos Unitários da Indústria Química. A Fermentação é, na realidade, a combinação de Processos Unitários como oxigenação e hidrogenação, e Operações Unitárias, como transferência de massa, transferência de calor, agitação, filtração, cristalização, etc...

V - O ADVENTO DA ENGENHARIA BIOQUÍMICA

O grande desenvolvimento que tomou a Indústria de Fermentações após o início da produção industrial de penicilina, mostrou a necessidade de um novo tipo de profissional: o engenheiro bioquímico.

Anteriormente, os processos fermentativos não eram controlados rigorosamente, no que dizia respeito à sua pureza de cultura e à racionalização no emprego do equipamento. Isto deveu-se às condições desfavoráveis ao desenvolvimento de contaminantes nos processos usuais (exceção feita da fermentação acetono-butílica) e à ausência de competição que ensejasse cálculos e especificações mais corretas para o dimensionamento da aparelhagem.

A necessidade de aplicação de técnica asséptica, aliada à execução do processo fermentativo em reatores aerados e agitados, trouxe toda uma série de implicações no que se refere ao correto dimensionamento das indústrias de fermentação. O cálculo das dimensões e número ideal de fermentadores, o desenvolvimento de novos tipos de gachetas, válvulas e sistemas de amostragem estéril, mostraram-se necessidade inadiável.

Os cálculos relativos à esterilização de equipamento e meio, compressão e filtração de ar, dimensionamento da potência de agitadores e corretos níveis de aeração, aliados aos problemas de transferência para escala industrial de equipamento pilôto, falam suficientemente da importância de um profissional com formação básica de engenheiro-química que tenha paralelamente conhecimento dos princípios que envolvem as reações de fermentação.

A engenharia bioquímica baseia-se nos mesmos conceitos básicos de Operações Unitárias e Processos Unitários da Engenharia-química. O equipamento e as operações usadas nos diferentes processos fermentativos não diferem dos utilizados nos demais processos químicos. O profissional que se dedica a este tipo de indústria, deve conhecer bem as características análogas dos dois processos, lembrando-se sempre que no caso das fermentações a diferença essencial é estar lidando com seres vivos, de cuja fisiologia se aproveita, para obtenção em termos econômicos de uma substância química.

Bibliografia:

- 1) Aiba, S., Humphrey, A.E. & Millis, N.F.- Biochemical Engineering, University of Tokyo Press, 1965.
- 2) Steel, R. - Biochemical Engineering, Heywood & Co., Gondon, 1958
- 3) Gaden, E.L. Jr. - Chemical Engineering, 63, 159, 1956
- 4) Shreve, R.N. - The Chemical Process Industries, Mc Graw Hill Book Co., New York, 1945
- 5) Beesch, S.C. & Schull, G.M.- Industrial & Engineering Chemistry, 47, 1857, 1955.

8.

2 - Elementos de Microbiologia Industrial. Estudo Geral e Classificação dos microorganismos de interesse industrial.

I - INTRODUÇÃO

Microbiologia é o ramo da biologia que estuda animais e vegetais que escapam à vista desarmada. (microorganismos).

Microbiologia Industrial é o ramo da Microbiologia Geral que estuda os microorganismos agentes das transformações químicas que apresentam interesse industrial, denominadas fermentações. Nela incluem-se somente microorganismos do reino vegetal.

Microorganismos de interesse industrial - São seres vivos, do reino vegetal, aclorofilados, quimiosintetizantes (obtem energia de compostos químicos), com reprodução sexual ou assexual, podendo ser uni ou pluricelulares.

Há quatro grupos de microorganismos de interesse industrial:

Bactérias
Actinomicetos
Leveduras) (Fungos
Bolores)

Ao estudo das bactérias e actinomicetos denomina-se bacteriologia e ao estudo dos fungos denomina-se micologia. Pela classificação botânica de Engler e Gilg, os vegetais são divididos em 13 ramos. Os microorganismos de interesse industrial pertencem aos ramos Proto-phyta (bactérias e actinomicetos) e Eumycophyta (bolores e leveduras)

Os Protophyta são geralmente unicelulares, reproduzindo-se assexualmente. Os Eumycophyta são também rudimentares, mas filamentosos em sua maioria. No caso das leveduras, são pseudofilamentosos. A reprodução pode ser sexual e assexual.

Os seres vivos são classificados nos seguintes grupos: Reino - Ramo - Classe - Ordem - Família - Tribo - Gênero - Espécie. - Há também sub-família, sub-classes, sub-gêneros, etc. Para perfeita identificação do microorganismo, deve-se citar gênero e espécie.

A nomenclatura da espécie é binomial e latina. É a nomenclatura clássica de botânica, de Linneo. O primeiro nome é escrito no nominativo (com a inicial maiúscula) e o segundo no genitivo. Devem ser grafados em tipo diferente ou então sublinhados.

Exemplo: Saccharomyces cerevisiae ; Gênero - Saccharomyces
Espécie - Saccharomyces cerevisiae

Aspergillus niger ; Gênero - Aspergillus ;
Espécie - Aspergillus niger

É permitida a abreviatura do gênero, desde que a espécie já tenha sido citada uma vez no texto por extenso.

Exemplos: S. cerevisiae ; A. niger

As espécies agrupam os seres que possuem um mesmo conjunto de características herdadas ou adquiridas.

8.

2 - Elementos de Microbiologia Industrial. Estudo Geral e Classificação dos microorganismos de interesse industrial.

I - INTRODUÇÃO

Microbiologia é o ramo da biologia que estuda animais e vegetais que escapam à vista desarmada. (microorganismos).

Microbiologia Industrial é o ramo da Microbiologia Geral que estuda os microorganismos agentes das transformações químicas que apresentam interesse industrial, denominadas fermentações. Nela incluem-se somente microorganismos do reino vegetal.

Microorganismos de interesse industrial - São seres vivos, do reino vegetal, aclorofilados, quimiosintetizantes (obtem energia de compostos químicos), com reprodução sexual ou assexual, podendo ser uni ou pluricelulares.

Há quatro grupos de microorganismos de interesse industrial:

Bactérias

Actinomicetos

Leveduras) (Fungos

Bolores)

Ao estudo das bactérias e actinomicetos denomina-se bacteriologia e ao estudo dos fungos denomina-se micologia. Pela classificação botânica de Engler e Gilg, os vegetais são divididos em 13 ramos. Os microorganismos de interesse industrial pertencem aos ramos Proto-phyta (bactérias e actinomicetos) e Eumycophyta (bolores e leveduras)

Os Protophyta são geralmente unicelulares, reproduzindo-se assexualmente. Os Eumycophyta são também rudimentares, mas filamentosos em sua maioria. No caso das leveduras, são pseudofilamentosos. A reprodução pode ser sexual e assexual.

Os seres vivos são classificados nos seguintes grupos: Reino - Ramo - Classe - Ordem - Família - Tribo - Gênero - Espécie. - Há também sub-família, sub-classes, sub-gêneros, etc. Para perfeita identificação do microorganismo, deve-se citar gênero e espécie.

A nomenclatura da espécie é binomial e latina. É a nomenclatura clássica de botânica, de Linneo. O primeiro nome é escrito no nominativo (com a inicial maiúscula) e o segundo no genitivo. Devem ser grafados em tipo diferente ou então sublinhados.

Exemplo: Saccharomyces cerevisiae ; Gênero - Saccharomyces

Espécie - Saccharomyces cerevisiae

Aspergillus niger ; Gênero - Aspergillus ;

Espécie - Aspergillus niger

É permitida a abreviatura do gênero, desde que a espécie já tenha sido citada uma vez no texto por extenso.

Exemplos: S. cerevisiae ; A. niger

As espécies agrupam os seres que possuem um mesmo conjunto de características herdadas ou adquiridas.

ESCOLA NACIONAL DE QUÍMICA

PROCESSOS UNITÁRIOS DAS INDÚSTRIAS DE FERMENTAÇÃO

- 1 - Conceito de indústria de fermentação. Histórico e evolução; perspectivas atuais. Quadro geral das fermentações industriais. Fermentação como processo unitário da indústria química.
- 2 - Elementos de Microbiologia Industrial. Estudo geral e classificação dos microrganismos de interesse industrial.
- 3 - Conceitos de fisiologia microbiana. Fermentação e respiração. Metabolismo assimilativo e desassimilativo. Aerobiose e anaerobiose.
- 4 - Enzimas; definição, constituição e especificidade. Catálise enzimática. Mecanismo e cinética das reações enzimáticas. Bioquímica das principais fermentações. Conhecimentos gerais relativos às enzimas mais importantes do ponto de vista industrial.
- 5 - Matérias primas e substratos para os processos de fermentação. Tratamentos; sacarificação de amido em escala industrial.
- 6 - Agente e meio; preparo do mosto. Estabelecimento do meio de cultura econômico. Inóculo, recuperação e controle.
- 7 - Processos fermentativos industriais; processos em batelada e contínuos; processos em superfície e em profundidade; processos aerados e não aerados.
- 8 - Controle dos processos; pureza microbiológica, consumo de substrato e formação de produto; contaminações. Cálculos de rendimento e eficiência.
- 9 - Cinética dos processos fermentativos; velocidade específica de variação da concentração; determinação da ordem global de um processo fermentativo contínuo.
- 10 - Equipamentos: propagadores e fermentadores; equipamento auxiliar. Suprimento de ar; agitadores e aeradores. Cálculo de número econômico de dornas e seu volume correspondente.
- 11 - Esterilização - Teoria da esterilização pelo calor. Esterilização de equipamento e mosto. Cálculos na esterilização de mostos. Eficiência e controles. Condições de operação com culturas estéreis e púas; amostragem.
- 12 - Teoria da esterilização por filtração. Esterilização do ar. Eficiência e controle do processo. Dimensionamento de filtros de ar.
- 13 - Aeração dos mostos. Suprimento e demanda do oxigênio nas fermentações aeróbicas. Teoria de Whitman. Eficiência da aeração. Transferência do oxigênio nas fermentações aeróbicas. Relações entre a velocidade do ar e a eficiência da aeração. Controle das espumas.

Células: É a unidade morfológica, genética e fisiológica do ser vivo. Seu estudo denomina-se citologia. No caso das bactérias, que são unicelulares, cada célula executa todas as funções, estando nela presentes a nutrição e a reprodução. As bactérias são todas unicelulares e os actinomicetos podem ser pluricelulares, sendo em sua maioria unicelulares. As leveduras, dependendo do estágio de seu desenvolvimento, são uni ou pluricelulares, fato discutível, sendo consideradas como unicelulares. Os bolores são, na sua maioria pluricelulares.

II - BACTÉRIAS

São microorganismos do reino vegetal, aclorofilados, quimio-sintetizantes, unicelulares, reproduzindo-se por divisão direta.

1 - Dimensões - de um modo geral situam-se na faixa de 1 a 8 micra

2 - Morfologia - As bactérias podem ser esféricas, em bastão, ou espiraladas.

a) Esféricas - Denominam-se "coccus" e podem se apresentar isoladas (micrococcus) ou então agrupadas; neste caso, duas à duas (diplococcus), 4 à 4 (tetrágeno), 8 à 8 (sarcina), em cadeia (Streptococcus), ou em cacho (Staphylococcus).

Exemplo: Streptococcus lactis

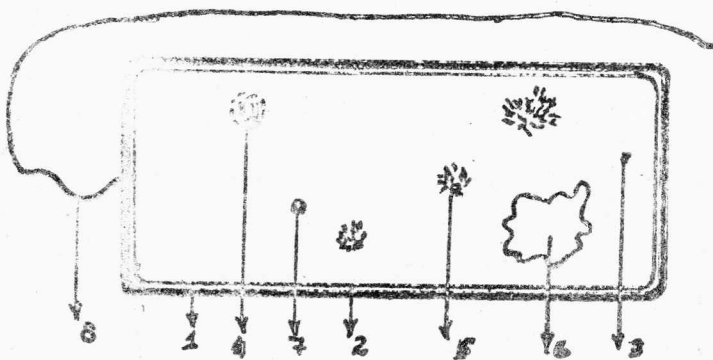
b) Bastão - têm a forma básica de pequenos cilindros e são denominadas bastonetes. A relação entre o eixo maior e o menor pode variar enormemente e as extremidades dos bastonetes também mostram variações de forma, que é característica para a espécie. Podem se apresentar isolados, grupados dois à dois (diplobastonetes) ou então em cadeia (streptobastonetes).

Exemplo: Clostridium acetobutylicum, Bacillus polymixa, Acetobacter aceti, Lactobacillus casei, L. delbrueckii.

c) Espiraís - As células se apresentam encurvadas ou enroladas. No primeiro caso denominam-se Vibrio e no segundo Espirillo. Não há espécies de interesse industrial,

3 - Citologia

Célula esquemática:



- 1 - Parede celular
- 2 - Membrana citoplasmática
- 3 - Citoplasma
- 4 - Núcleo
- 5 - Inclusões
- 6 - Vacúolo
- 7 - Esporo
- 8 - Flagelo

A parede celular é uma estrutura rígida, responsável pela forma do corpo bacteriano. A membrana citoplasmática é semi-permeável, e-

xercendo função capital nas atividades celulares. Não permite a passagem de macromoléculas como amido, proteínas etc. Muitos autores denominam de protoplasma tudo que fica para dentro da membrana (citoplasma, núcleo e inclusões). O citoplasma é um colóide, cuja natureza é proteica, e é menos hidratado que nas células dos seres superiores. Nê le se encontram substâncias absorvidas, metabolizadas e de excreção. O núcleo é a sede dos fenômenos genéticos, estando nêla localizados os cromossomas, sempre em número par, característico para cada espécie. A existência do núcleo nas células bacterianas foi por muito tempo contestada, sendo entretanto hoje, ponto pacífico apesar de ser difícil a sua evidenciação. As inclusões são principalmente reservas nutritivas destacando-se os grânulos de glicogênio e gorduras. Os vacúolos são cavidades abertas no seio do citoplasma, cheio de líquido, onde se acumulam substâncias que não têm utilidade para a célula; nêle se encontram por vêzes alguns materiais de reserva alimentar hidrossolúveis. Os flagelos ou cílios são órgãos responsáveis pela motilidade das células móveis, e seu número e arranjo guardam constância para a espécie. São sempre maiores que o organismo formador.

A célula pode ser:

Monotricada - Um flagelo em uma extremidade da célula

Anfitricada - Dois flagelos, um em cada extremidade

Lofotricada - Um tufo de flagelos, em cada uma ou ambas as extremidades.

Peritricada - Flagelos distribuídos em volta do corpo bacteriano.

Os esporos são formações aproximadamente esférica, geralmente únicas (raramente duas), que podem ser geradas no interior da célula por espécies bacterianas do gênero Bacillus e Clostridium. São susceptíveis de reproduzir a célula por germinação, e embora ligados à reprodução, a sua formação não depende de nenhum ato sexual. O esporo é considerado uma forma de vida latente, sendo uma forma de conservação vital da célula, sempre que esta se encontra em meio desfavorável. O esporo é muito mais resistente ao aquecimento e às substâncias tóxicas que a forma vegetativa, resistindo anos a fio. Em condições favoráveis germina dando prosseguimento ao ciclo vital. As células que contêm esporos são denominadas esporângios.

4 - Propriedades Tintoriais - Para se observar as bactérias é necessário o emprêgo de artifícios de coloração. A mais empregada é a coloração de Gram, que usa 4 reagentes (sendo dois, corantes), e permite dividir as bactérias em dois grandes grupos: as Gram negativas, que se coram em vermelho, e as Gram positivas que se coram em rôxo. A coloração de Gram é de grande utilidade na classificação das bactérias. Nas fermentações esta técnica é utilizada para verificação da presença de contaminantes. Outra coloração de interês-

se é a coloração vital, executada com azul de metileno: as células mortas tomam a cor azul e as vivas não se coram, pois reduzem o azul de metileno à sua leucobase.

5) - Classificação - A classificação das bactérias é feita através de testes de morfologia e testes de fisiologia. Os testes de morfologia mostrarão ao microscópio os detalhes de forma, e os testes de fisiologia evidenciarão os hábitos de nutrição das bactérias. Estes dados reunidos, são analisados à luz de informações dadas por livros especializados, como por exemplo o "Bergey's Manual of Determinative Bacteriology", e as bactérias classificadas.

6) - Fisiologia - Constitui o estudo dos fenômenos de nutrição e de reprodução.

a) Nutrição - As bactérias de interesse industrial utilizam-se de glicídeos como fonte de carbono, se bem que existam bactérias que possam utilizar carbono de CO_2 e de carbonatos. Utilizam nitrogênio orgânico (por exemplo de peptonas) e nitrogênio mineral (de amônio ou nitrato). Algumas necessitam de vitaminas. No que diz respeito às condições ideais de meio, somente para fixar idéias, diremos que a temperatura ótima de crescimento situa-se em torno de $37^\circ C$ e o pH ideal próximo à neutralidade; no que diz respeito às relações com o oxigênio, registre-se que as bactérias que não podem viver sem oxigênio livre são ditas bactérias aeróbicas. Entretanto, há bactérias que não podem viver e se multiplicar na presença de oxigênio livre: são ditas bactérias anaeróbicas estritas. Estes são os extremos, e existem microorganismos que vivem e se reproduzem na presença de quantidades menores de oxigênio livre. Uma classificação para melhor entendimento inclui:

Aeróbicas - quando necessitam de oxigênio livre para crescer. O oxigênio pode estar dissolvido no meio de cultura.

Anaeróbicas - Não necessitam oxigênio livre para seu crescimento.

Microaerófilas - Crescem melhor na presença de pequenas quantidades de oxigênio livre.

Anaeróbicas facultativas - Podem crescer tanto aeróbica como anaeróbicamente.

Anaeróbicas estritas - São as que requerem a exclusão rigorosa de oxigênio livre. São às vezes ditas anaeróbicas obrigatórias.

b) Reprodução - É feita por divisão binária, chamada também de divisão direta, bipartição, fissão, etc. Neste ato, uma célula dará origem a duas, duas darão quatro, quatro darão oito, e assim por diante, segundo uma progressão geométrica de razão 2.

7) Bactérias de interesse Industrial

As principais situam-se nas ordens Pseudomonadales e Eubacteriales.

a) Pseudomonadales - Acetobacter aceti (produção de ácido acético); Pseudomonas aeruginosa (produção de pirocianase e liberação de fibras vegetais como linho, juta etc.)

b) Eubacteriales:

- Família Lactobacillaceae - Lactobacillus delbrueckii (produção de ácido láctico a partir de melaço); L. casei (produção de ácido láctico a partir de soro de leite).

- Família Bacillaceae - Bacillus polymixa (produção de polimixina); B. brevis (produção de tirotricina); Clostridium acetobutylicum (produção de acetona, butanol e etanol); B. subtilis (produção de bacitracina). Cl. butylicum (produção de butanol); Cl. butyricum (produção de ácido butírico).

III - ACTINOMICETOS

Os actinomicetos, que durante muito tempo constituíram um grupo à parte, hoje são classificados como bactérias. Por apresentarem algumas características próprias, veremos separadamente algumas delas.

Sua morfologia é distinta das demais bactérias. Apresentam-se sob forma filamentosa, que muitas vezes se desagregam em formas bacilares. O calibre dos filamentos varia de 0,5 a 2 micra, podendo o comprimento atingir milímetros. As bactérias filamentosas pertencem à ordem Actinomycetales, sendo todas gram-positivas. Sómente duas ou três espécies são móveis. Todas, exceto algumas patogênicas, são saprófitas, amplamente distribuídas no solo, e água. Nenhuma forma verdadeiros endosporos, e a ordem é comumente dita actinomicetos.

Os actinomicetos dividem-se em 4 famílias, sendo que é enorme o número de microorganismos de interesse industrial na família Streptomyceaceae, gênero Streptomyces. A particularidade de seu ciclo evolutivo é mostrar um tipo de frutificação que dá origem a esporos do tipo dos encontrados nos bolores. As características de nutrição são semelhantes às demais bactérias. Crescem bem entre 25°C e 35°C, com faixa de pH ótimo variando de 5 a 7. As espécies da família Streptomyceaceae são aeróbicas, e no gênero Streptomyces localizam-se os principais produtores de uma vasta gama de antibióticos, destacando-se:

Streptomyces griseus (Produção de estreptomicina); S. venezuelae (produção de cloranfenicol); S. rimosus (produção de oxitetraciclina); S. aureofaciens (produção de clortetraciclina); S. olivaceus (produção de vitamina B-12).-

IV - LEVEDURAS

1- Conceito - São microorganismos do reino vegetal, acolorofilados, unicelulares, caracterizados pela presença de brotos ou gêmulas, podendo reproduzir-se sexual ou assexualmente.

2- Morfologia -

a) Formas - As leveduras apresentam-se sob várias formas, existindo espécies que se apresentam sob 3 ou 4, dependendo do meio e condições. As formas mais comuns são: arredondadas, ovais, elípticas, triangulares, cilíndricas; as de interesse industrial aparecem principalmente sob as 3 primeiras formas.

b) Dimensões - Em tamanho, as leveduras estão situadas entre os bolores e as bactérias, podendo ser facilmente observadas ao microscópio com cerca de 500 aumentos; as maiores apresentam 12 a 15 micra na maior dimensão, e as menores cerca de 3 micra.

c) Gemulação ou brotamento - São formações características das leveduras. Em dado momento de seu ciclo evolutivo, a célula apresenta uma protuberância que cresce, havendo migração de material nuclear e plasmático, destacando-se uma outra célula. A gemulação pode ser em um ou mais pontos da célula, simultaneamente.

Formação e destaque duma gêmula:



d) Pseudo filamentação ou pseudomicélio - Existe em certos grupos de leveduras, nas quais o broto cresce mas não se destaca, dando assim origem sucessivamente a outros, e formando o que se chama de pseudofilamentos ou pseudomicélio.



É um fenômeno de grande importância na classificação de leveduras, por ser característica de determinadas espécies.

e) Esporulação - As leveduras apresentam também formas esporuladas; êstes esporos podem ser de origem sexual ou não. O esporo não é tão resistente quanto o das bactérias. Os ascosporos são de origem sexual, existindo sempre um número par. Os esporos de origem assexual, os bastosporos, aparecem quando há filamentação. Há ainda os artrospóros, que são de origem sexual, mas que têm papel importante na perpetuação da espécie. As células lançam um prolongamento (levedura filamentosa) septado; os septos se destacam, formando os artrosporos.



3 - Citologia - As células de leveduras apresentam paredes bem nítidas e o núcleo é evidenciável com coloração específica. Apresentam granulações internas (reservas) na sua maioria ricas em gorduras. Quando velhas mostram muitos vacúolos, de proporções avantajadas. São todas imóveis (não possuem flagelos).

4 - Fisiologia

a) Nutrição-

Fonte de carbono - Utilizam carbono de açúcares.

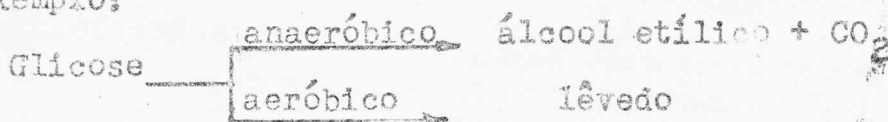
Fonte de nitrogênio - Sais de amônio, preferencialmente

Fonte de enxôfre - Sulfatos, e as vêzes aminoácidos sulfidridados.

A levedura sintetiza suas vitaminas, não sendo portanto necessário dá-las preformadas no meio de cultura.

Tensão de oxigênio - São anaeróbicas facultativas (cumprem metabolismo anaeróbico mesmo em presença de O₂ livre). Se aerarmos abundantemente o meio de cultura, as leveduras seguem um metabolismo aeróbico, com reprodução intensa.

Exemplo:



Como foi dito, as leveduras sintetizam suas vitaminas, sendo suas células ricas em complexo B.

Temperatura ideal - 25°C

pH ideal - em torno de 6,0

4) Reprodução - As leveduras reproduzem-se sexual ou assexualmente; existem espécies que só apresentam reprodução sexuada; no caso de reprodução sexual há a formação de asco. A reprodução assexual é feita por esporos ou gêmulas.

5 - Nomenclatura e classificação - A nomenclatura usada é a clássica de Linné. É comum citar-se ao lado da denominação da espécie, o nome de seu descobridor.

Exemplo: Saccharomyces cerevisiae, Hansen

As leveduras são classificadas de acordo com suas características morfológicas e fisiológicas.

Pela observação ao microscópio determina-se seus caracteres de forma, e através de testes, seus caracteres funcionais (fisiológicos).

Exemplo de teste fisiológico: fermentação de açúcares

A capacidade de fermentar açúcares é variável nas várias espécies podendo ser portanto um critério de seleção.

Para o S. cerevisiae, por ex.: glicose+ lactose - sacarose + maltose+ rafinose + galactose+

6 - Espécies de interesse industrial

a) Saccharomyces cerevisiae - álcool industrial e bebidas alcólicas

b) S. ellipsoideus - vinhos

c) Schizosaccharomyces pombe - vinhas

d) Torula utilis - explorando o fato desta levedura ser rica em gorduras e proteínas usa-se misturá-la com farinhas obtendo então farinha rica em gorduras.

e) Kloeckera apiculata - vinho: formação de ésteres que dão sabor

Sendo as leveduras geralmente muito ricas em vitaminas de complexo B, delas obtemos o extrato de lêvedo, rico neste complexo.

V - BOLORES

1 - Conceito - São microorganismos do reino vegetal, aclorofilados, quimiosintetizantes, uni ou pluricelulares, caracterizados pela presença de um talo filamentosos, aeróbicos estritos, podendo reproduzir-se sexual ou assexualmente.

2 - Morfologia - Os bolôres, apresentam um conjunto de fila-

mentos denominado micélio; a cada filamento dá-se o nome de hifa.

a) Micélio - pode ser aéreo ou submerso

Notar a semelhança entre os micélio

aéreo

submerso

aéreo e submerso com o caule na raiz dos vegetais superiores, respectivamente

b) Hifa - pode ser contínua ou septada.



c) Órgão de reprodução (frutificação) - Os bolores apresentam várias formas de órgão de frutificação, característicos das várias espécies e gêneros. Os órgãos de frutificação podem ser de origem sexual ou assexual.

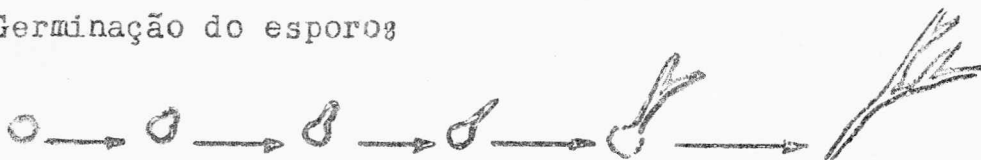
Os tipos para os quais não se conhece a reprodução sexual, são classificados entre os "Fungi Imperfecti".

Para os bolores do gênero Penicillium, a reprodução é assexuada, através de esporos denominados conidiosporos.

Para os do gênero Mucor (que inclui espécies que sacarificam o amido), a reprodução também é assexuada, através dos esporângiosporos.

Para os do gênero Aspergillus, conhece-se órgãos de reprodução assexual (conidiosporos).

Germinação do esporos



No que diz respeito às dimensões, os bolores são os maiores dos microorganismos que serão objeto de nossos estudos. Suas dimensões são variadas, sendo bem maiores que as leveduras.

3.- Citologia - A célula apresenta as mesmas características vistas para os outros grupos. Cada porção compreendida entre dois septos é uma célula bem mais evoluída que as das bactérias e leveduras. Já se afastam dos vegetais inferiores, aproximando-se dos superiores.

4 - Fisiologia

a) Nutrição - Empregam como fonte de carbono os açúcares. São todos aeróbicos estritos.

Do ponto estritamente bioquímico, os bolores não fermentam.
Fonte de carbono - açúcares.

Fonte de Nitrogênio - de preferência nitrogênio de nitratos.

Fonte de enxôfre - enxôfre de sulfatos ou ácidos amino sulfidrilados.

Há um grupo (Phicomycetos) que exige N e S orgânicos (peptonas provenientes da hidrólise de proteínas sulfidriladas)

No que diz respeito às vitaminas, a maioria das espécies não as sintetizam-nas.

Com respeito à tensão de oxigênio, são aeróbicos estritos, não cumprindo nenhuma via metabólica na ausência de oxigênio livre.

O pH ideal é variável de acôrdo com a espécie, situando-se entre 4,0 e 8,0.

A temperatura ótima situa-se em tôrno de 25°C.

b) Reprodução - Os bôlôres reproduzem-se ^{sexual ou} ~~sexual~~ assexualmente, sendo que a reprodução sexuada de certas espécies é mal conhecida.

A reprodução sexual é caracterizada pela presença de ascos (ascosporos e zigotos).

A reprodução assexual é feita através de hifas ditas conidióforas e de esporângeos (conidiosporos e esporângeosporos).

6 - Bolôres de importância industrial - os bolôres de maior interêsse nas indústrias de fermentação, levam à obtenção de antibióticos, ácidos orgânicos e enzimas.

Exemplos: Penicillium notatum - penicilina (processo em superfície).

P. Chryzogenum - penicilina (processo em profundidade)

Aspergillus niger - ácido cítrico, amilase, ácido glicônico

A. wentii - ácido cítrico.

Rhizopus oryzae - amilases

Bibliografia:

- A taxonomic study*
- 1) The Yeasts - ~~Lodder~~, van Rij, N. Holland, Amsterdam 1961
 - 2) Précis de Mycologie - Langeron, M. - Masson & Cie. Editeurs - Paris, 1952
 - 3) Fungi Imperfecti - Barret
 - 4) Fundamentals of Microbiology - Frobisher, M. - W.B. Saunders Co. - London, 1962.
 - 5) General Microbiology - Stanier, Douduroff e Adelberg - Mc Millan & Co Ltd - London, 1958.

3 - Conceitos de Fisiologia Microbiana. Fermentação e Respiração. Metabolismo assimilativo e desassimilativo. Aerobiose e Anaerobiose

I - FISIOLOGIA MICROBIANA

É o estudo dos processos mediante os quais os microorganismos obtêm energia e matéria para conservar-se vivos, crescer e multiplicar-se.

A nutrição é o conjunto de reações que importam em manutenção e no crescimento do ser vivo.

A reprodução é o conjunto de transformações de matéria e energia que conduzem à multiplicação do ser vivo.

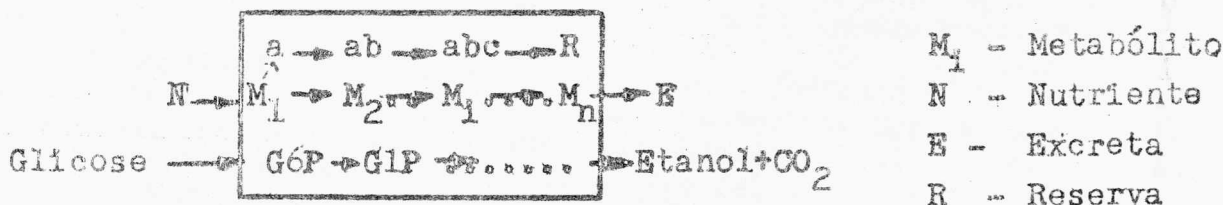
Sob o ponto de vista termodinâmico, o microorganismo realiza um trabalho, para o qual carece de energia.

Do ponto de vista da energia utilizada, os seres vivos podem ser fotossintetizantes (utilizam energia radiante) e quimiosintetizantes (utilizam energia química). Nosso interesse situa-se nos microorganismos quimiosintetizantes.

Nutriente é o alimento fornecido ao microorganismo. Deve conter fontes de carbono, nitrogênio, enxofre, fosfatos, etc.

Digestão consiste na solubilização das macromoléculas, pois estas não podem penetrar a célula. A digestão é feita ao nível da membrana, catalizada por substâncias ditas enzimas. É geralmente uma hidrólise. Assim, por exemplo a digestão do amido, catalizada por uma enzima denominada amilase, conduz a maltose e glicose.

Absorção é a passagem do nutriente solubilizado pela membrana celular. O nutriente absorvido recebe o nome de metabólito.



Dentro da célula há uma sequência de transformações metabólicas. Se um dos metabólitos é ponto obrigatório de passagem, é dito metabólito essencial. Exemplo: O ácido pirúvico é metabólito essencial na transformação de glicose em etanol. Quando a célula não consegue elaborar o metabólito essencial, temos que dá-lo pré-formado, e ele então denomina-se fator de crescimento. Caso este não esteja presente, a sequência metabólica é interrompida e a célula morre. Exemplo: vitaminas.

O termo final que não interessa a célula é excretado. É o último termo da sequência metabólica, e denomina-se excreta, e é geralmente tóxico para a célula.

Se o valor econômico do excreta (ou da reserva) for superior ao do nutriente, temos um processo que poderá ser utilizado industrialmente, caso seja rentável sob o ponto de vista econômico.

Em muitos casos há reações de síntese, e não de degradação. É a formação de reservas. Exemplo é o glicogênio, reserva que está para os vegetais inferiores assim como o amido para os superiores,

II - MEABOLISMO

1- Conceito de metabolismo - O nutriente absorvido pode seguir dentro da célula dois caminhos:

a) Ser degradado : $A \longrightarrow a + b + c + \dots + \text{Energia}$

A este processo degradativo, com liberação de energia, denominamos desassimilação: passa-se de um composto mais complexo para compostos mais simples. A energia liberada é utilizável pela célula. Temos então o catabolismo, que é assim o conjunto desassimilação-produção de energia.

b) Ser elemento de síntese : $A \longrightarrow AB \longrightarrow ABC - \text{Energia}$

A este processo de síntese com acumulação de energia, denominamos assimilação; há formação no interior da célula de compostos mais complexos que o nutriente. Há utilização de energia, que é potencializada; temos então o anabolismo. Anabolismo é assim o conjunto assimilação-potencialização de energia.

A soma de catabolismo e anabolismo denominamos metabolismo, que é o conjunto de trocas de energia e matéria entre a célula e o meio.

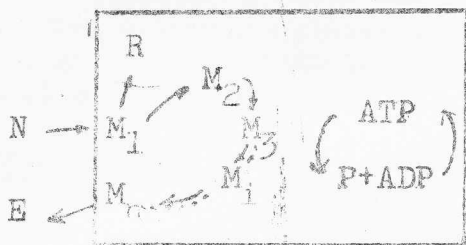
2- Panel dos fosfatos no metabolismo- O grupamento fosfato é o grupamento energético por excelência. As chamadas ligações fosfáticas ricas em energia liberam, quando rompidas, cerca de 12.000 calorias; este valor, normalmente aceito como correto, está provavelmente algo exagerado, como mostram trabalhos mais recentes. Participando ativamente nos processos metabólicos, o grupamento fosfato, quando ligado à molécula orgânica que está sendo metabolizada, é representado em bioquímica pela letra P; o fosfato inorgânico é representado por P_i e as ligações químicas ditas ricas em energia são simbolizadas por \sim . Portanto, uma ligação fosfática rica em energia se representa por $\sim P$.

O adenosino-tri-fosfato (ATP) é um dos mais importantes compostos ditos de "alta energia" no metabolismo da célula, sendo considerado mesmo, dentre as substâncias de baixo peso molecular na matéria viva, uma das de maior relevância. Funciona como acumulador de energia, que é utilizada pela célula quando necessário. O ATP formado durante as oxidações pode estar ligado a reações endergônicas, que não terão lugar a menos que seja fornecida energia. Os dois grupos fosfato terminais do ATP são extremamente lábeis face à hidrólise ácido, e quando são hidrolisados, 12.000 calorias são liberadas por fosfat, mas a hidrólise do adenosino monofosfato libera somente 1.500 calorias. As quantidades de energia liberadas na hidrólise do ATP dependem das condições fisiológicas; considera-se que o número de calorias liberadas pela hidrólise dos grupos fosfato é da ordem do mencionado.



Na formulação dos meios de cultura, sempre utilizamos fosfato, para recompor o ATP utilizado quando houve necessidade.

Vejamos simplificadamente um ciclo onde funciona o ATP:



Energia para trabalho

Dado o nutriente N a célula, e, supondo uma via metabólica de assimilativa, temos que $N > E$ sob o ponto de vista energético. Se a célula necessita, por exemplo, se contrair, utiliza o ATP rompendo uma ligação fosfática rica em energia, o que libera 12.000 calorias para a contração. Para recompor o ATP utilizado a partir do ADP formado (adenosino difosfato) a célula retira energia do nutriente e fosfato do meio de cultura; isto é feito continuamente.

Se contarmos o suprimento de nutriente, entra em função a reserva, que é cida a um outro produto de excreção, de forma a se ter a energia necessária à recomposição do ATP. Quando a reserva a célula morre.

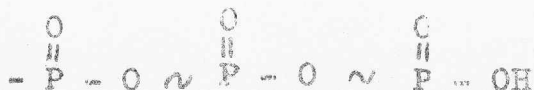
3 - Tipos de nutrientes - Trofismo diz respeito a capacidade de um microorganismo sintetizar a matéria que o constitui. Os microorganismos podem ser:

a) Autotróficos - quando se utilizam de nutrientes inorgânicos, tendo a capacidade de transformá-los em compostos orgânicos.

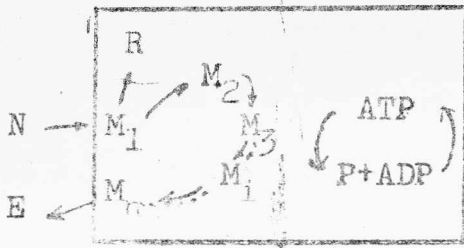
b) Heterotróficos - utilizam-se de nutrientes orgânicos.

Exemplo: as leveduras são heterotróficas para Carbono (hidratos de carbono - glicose, sacarose etc.) e autotróficas para Nitrogênio (utilizam nitrogênio de NH_4^+). Os bolores são heterotróficos para Carbono e autotróficos para Nitrogênio (utilizam Nitrogênio de NO_3^-). As bactérias são em sua maioria heterotróficas para Carbono e Nitrogênio (utilizam Nitrogênio orgânico de peptonas).

4 - Ligações ricas em energia - A matéria viva obtém energia para o crescimento de oxidações ou da luz. A energia liberada na remoção de hidrogênio ou eletrons de um substrato é parcialmente dissipada como calor, mas uma parte é usada para formação de compostos orgânicos com as chamadas ligações de "alta energia". Estes compostos contêm fosfato ou enxôfre em uma das configurações mostradas abaixo.



Vejamos simplificadamente um ciclo onde funciona o ATP:



Energia para trabalho

Dado o nutriente N a célula, e, supondo uma via metabólica de assimilativa, temos que $N > E$ sob o ponto de vista energético. Se a célula necessita, por exemplo, se contrair, utiliza o ATP rompendo uma ligação fosfática rica em energia, o que libera 12.000 calorias para a contração. Para recompor o ATP utilizado a partir do ADP formado (adenosino difosfato) a célula retira energia do nutriente e fosfato do meio de cultura; isto é feito continuamente.

Se contarmos o suprimento de nutriente, entra em função a reserva, que é usada a um outro produto de excreção, de forma a se ter a energia necessária à recomposição do ATP. Quando a reserva a célula morre.

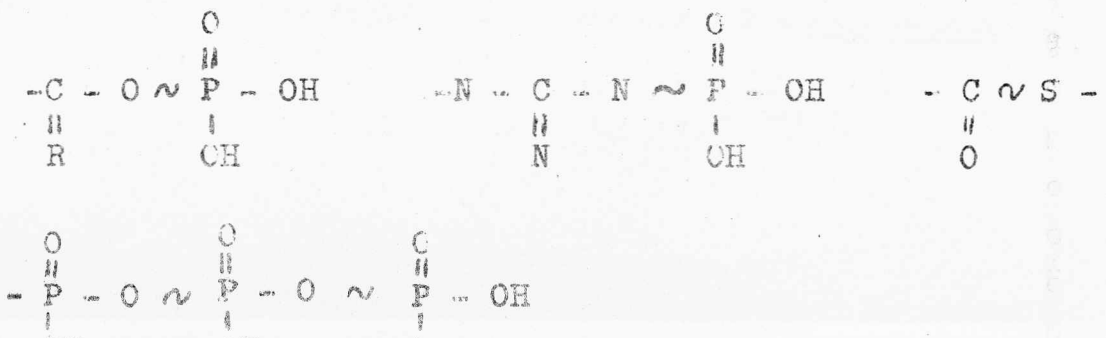
3 - Tipos de nutrientes - Trofismo diz respeito a capacidade de um microorganismo sintetizar a matéria que o constitui. Os microorganismos podem ser:

a) Autotróficos - quando se utilizam de nutrientes inorgânicos, tendo a capacidade de transformá-los em compostos orgânicos.

b) Heterotróficos - utilizam-se de nutrientes orgânicos.

Exemplo: as leveduras são heterotróficas para Carbono (hidratos de carbono - glicose, sacarose etc.) e autotróficas para Nitrogênio (utilizam nitrogênio de NH_4^+). Os bolores são heterotróficos para Carbono e autotróficos para Nitrogênio (utilizam Nitrogênio de NO_2^-). As bactérias são em sua maioria heterotróficas para Carbono e Nitrogênio (utilizam Nitrogênio orgânico de peptonas).

4 - Ligações ricas em energia - A matéria viva obtém energia para o crescimento de oxidações ou da luz. A energia liberada na remoção de hidrogênio ou eletrons de um substrato é parcialmente dissipada como calor, mas uma parte é usada para formação de compostos orgânicos com as chamadas ligações de "alta energia". Estes compostos contêm fosfato ou enxôfre em uma das configurações mostradas abaixo.

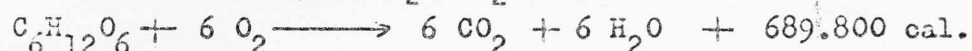


III - FERMENTAÇÃO E RESPIRAÇÃO - AEROBIOSE E ANAEROBIOSE

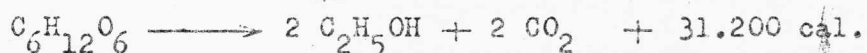
A obtenção de energia pelos microorganismos quimiosintetizantes é feita através processos oxidativos (oxidações biológicas). A respiração e a fermentação têm como finalidade única a obtenção de energia. Todos os microorganismos respiram, sejam anaeróbicos ou aeróbicos.

Na respiração dos aeróbicos, participa o oxigênio livre e na dos anaeróbicos, o oxigênio necessário é doado por compostos químicos do meio de cultura.

Exemplo típico de respiração completa, é a oxidação aeróbica da glicose, levando a termos finais CO_2 e H_2O , conforme abaixo:



Já a oxidação anaeróbica da glicose a etanol e CO_2 , é uma fermentação, pois trata-se de respiração incompleta que leva o composto orgânico original a compostos menos oxidados que CO_2 e H_2O .



O primeiro exemplo é típico de aeróbicos, e o segundo de anaeróbicos. A primeira reação corresponde à respiração da glicose e a segunda corresponde à fermentação da glicose à álcool etílico.

Se o excreta ainda pode liberar energia, estamos em face de uma fermentação, e fermentação então é um processo que se interrompe num ponto intermediário, com liberação parcial da energia.

O termo respiração é então aplicado quando o processo se desenvolve até o fim, liberando toda a energia que o substrato pode dar.

Caso o produto final de uma fermentação tem molécula menos complexa que a molécula do substrato que lhe deu origem, temos uma fermentação assimilativa, como o são as fermentações alcoólica, láctica, acética etc... Se o produto final tem molécula mais complexa que a molécula do substrato de que originou, estamos em face de uma fermentação assimilativa, como por exemplo aquelas que produzem antibióticos, vitaminas etc...

Bibliografia:

- 1) Fundamentals of Microbiology - Frobisher, M.
W. B. Saunders Co., London, 1962
- 2) General Biochemistry - Frutton, J.S. & Simmonds, S.
John Wiley & Sons, Inc., New York, 1958

4 - Enzimas: definição, constituição e especificidade. Catálise enzimática. Mecanismo e cinética das reações enzimáticas. Bioquímica das principais fermentações. Conhecimentos gerais relativos às enzimas mais importantes, do ponto de vista industrial.

I - CONCEITOS GERAIS

1- Fermentação - É a transformação química de substâncias orgâ -

nicas em outras substâncias orgânicas por ação de microorganismos.

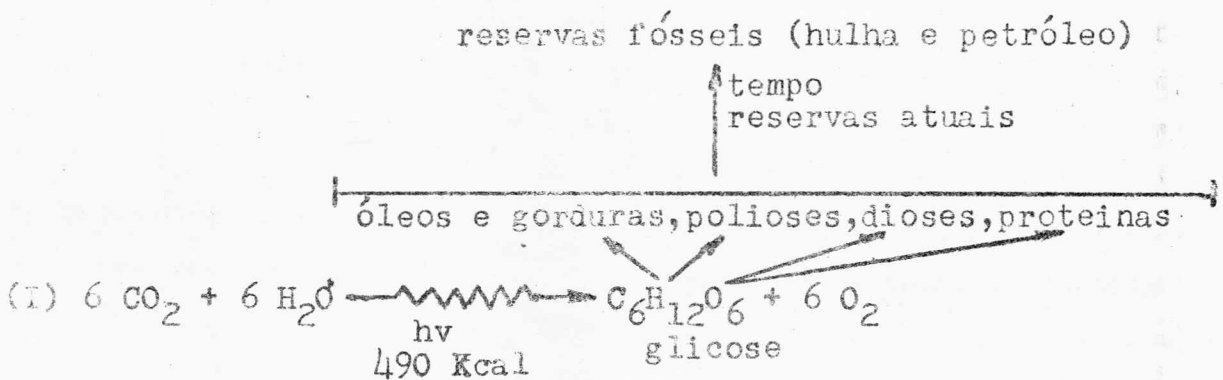
Quando tais transformações levam à substâncias minerais (CO_2 , H_2O , NH_3 , H_2S), o processo recebe o nome de respiração. A respiração conduz à mineralização total da matéria orgânica, enquanto a fermentação se detém em etapas intermediárias podendo inclusive evoluir para a biosíntese de substâncias mais complexas que a inicial. No caso em que os produtos de transformação tenham interesse econômico e possam ser industrializados, temos fermentações industriais. Fermentações de assimilativas quando o produto obtido tem menos energia de formação que o inicial, sendo em geral quimicamente mais simples. Fermentações assimilativas, quando o produto obtido tem mais energia de formação - que o inicial, sendo em geral quimicamente mais complexo. Exemplo do primeiro caso é o etanol, e do segundo os antibióticos.

A restrição relativa à substâncias orgânicas é devida a que os microorganismos também podem transformar substâncias minerais, e as transformam largamente na crosta terrestre, só que o processo não recebe o nome de fermentação. Temos pois que o conceito de fermentação é bem definido e envolve de um lado ação de microorganismos e por outra refere-se a transformações de substâncias orgânicas.

As substâncias orgânicas, objeto destas transformações, são substâncias de ocorrência natural.

2 - Reserva natural - Na natureza há duas reservas de substâncias orgânicas:

a) reserva primária - Devida à ação fotosintetizante dos vegetais clorofilados que podem realizar a reação (I):



b) reserva secundária - Devida à ação de animais que alimentando-se de compostos vegetais, os transformam, biologicamente, sintetizando por exemplo gorduras e proteínas animais.

Os agentes das fermentações industriais, transformam principalmente substâncias da reserva primária (matérias primas de origem vegetal). Apenas em casos muito especiais substâncias de origem animal são também utilizadas. Como pode ser deduzido da exposição feita, os seres vivos em geral e os microorganismos em particular, são dotados de alto poder de transformação, são agentes químicos muito poderosos.

3 - Bioquímica - É precisamente o ramo da química que estuda as reações químicas que se processam por mecanismos biológicos. É devido ao poder e eficiência deste mecanismo que os seres vivos apresentam tal poder de transformação. Exemplificando: a hidrólise do amido. O amido é uma poliose componente de grão, de tubérculos (batata) e de rizomas (mandioca) e industrializado sob forma de farinhas, em geral para uso alimentar. É constituído por uma cadeia de unidades alfa - glicopiranosicas, ligadas entre si por pontes de oxigênio, provenientes de desidratação entre as hidroxilas do C - 1 de um grupo e C - 4 do grupo vizinho, formando molécula de elevado peso molecular.

Sendo macromolécula é insolúvel e para ser utilizado, tanto por seres superiores como por microorganismos, tem que ser transformado nos monômeros solúveis em água, isto é, têm que ser hidrolisado. Se esta reação fôsse feita em laboratório, seria necessário juntar solução a 5% de ac. sulfúrico e aquecer a 120°C, durante 2 horas. Esta mesma reação, passando-se bioquimicamente sob ação de seres vivos, (digestão do amido) faz-se a 37°C e em pH neutro, é feita normalmente na natureza à temperaturas médias e em prazos curtos. O mesmo poderia ser dito relativamente à hidrólise (digestão) de gorduras ou de proteínas e muitas outras reações que em laboratório exigem condições drásticas, e se passam biologicamente em condições suaves.

A que se deve este poder químico dos seres vivos que lhes permite realizar transformações químicas sem variação apreciável de pH ou temperatura e em alta velocidade, em contraste com o que ocorre no laboratório? Em que consiste este mecanismo biológico tão eficiente?

É que os seres vivos, incluindo é claro os microorganismos, têm a capacidade de elaborar catalizadores que reduzem enormemente a energia de ativação necessária para a reação, de tal forma que esta passa a efetuar-se em condições suaves e com alta velocidade. Tais catalizadores são chamados: enzimas. É na atividade enzimática que repouza o mecanismo biológico das transformações químicas executadas pelos seres vivos.

II - ENZIMAS

1 - Conceito - catalizadores biológicos, proteínas dotados de ação catalítica específica sobre as reações químicas que ocorrem nas células vivas, podendo agir também ^{na atividade} fora da célula, quando extraídas em condições adequadas.

célula viva → enzimas → reações bioquímicas
 atividade química da célula - somatório das atividades enzimáticas.

As transformações químicas que um tipo de célula, e por conseguinte um tipo de microorganismo, seja capaz de executar, depende das enzimas que seja capaz de elaborar. A substância cuja transformação a

enzima catalizada; especificamente, chama-se substrato. A atividade enzimática pode ser dosada determinando-se a quantidade de substrato transformado em tempo e condições padronizadas de pH e temperatura. É expressa em unidades, sendo que uma unidade é a quantidade da enzima que transforma 1 mg de substrato, no tempo e condições fixadas.

2 - Natureza química - todas as enzimas conhecidas são proteínas, isto que dizer, são quimicamente cadeias de alfa aminoácidos, ligados entre si por ligações peptídicas. Admitem porém graus variáveis de complexidade:

a) Holoproteínas - A molécula é exclusivamente proteica e dá só ácidos aminados por hidrólise.

b) Heteroproteínas - Proteínas possuindo uma fração não proteica ligada quimicamente, não dialisável, só separável por hidrólise, e que se denomina grupo protético.

c) Sistemas proteicos - Constituídos por uma molécula proteica associada sem ligação química a outra molécula não proteica, termostável, dialisável, denominada coenzima.

3 - Formação - As enzimas são obtidas exclusivamente por biosíntese ("in vivo"). Uma vez sintetizadas pelas células vivas podem ficar contidas no interior da célula e neste caso são chamadas endocelulares. Outras, após sua formação são, excretadas para fora da célula e são ditas exocelulares.

Dentre as enzimas que uma célula é capaz de elaborar, algumas estão sempre presentes e são ditas constitutivas. Outras só aparecem em determinadas circunstâncias, em geral, em presença do substrato que devem catalizar e por isto são ditas adaptativas. Ambas porém dependem de uma potencialidade genética da célula, transmitida por herança. O equipamento enzimático de uma célula é hereditário.

4 - Ação enzimática - É uma ação catalítica química.

a) Mecanismo - o mecanismo da ação catalítica das enzimas é o da combinação do substrato com certos pontos da molécula da enzima, chamados centros ativos. É a existência desses centros ativos (devidos a uma particular sequência de ácidos aminados na cadeia proteica) que diferencia as enzimas das demais proteínas não catalíticas. Como resultado desta combinação forma-se um complexo intermediário instável entre o substrato e a enzima, no qual certas ligações da molécula do substrato estão fortemente "ativadas", de tal sorte que a reação se processa espontânea e rapidamente, no sentido determinado pela natureza das ligações ativadas. Isto explica que a ação da enzima seja específica em relação ao substrato o qual deve ter uma estrutura química compatível com os grupos ativos da enzima (conceito de uma chave e uma fechadura) e quanto ao tipo da reação que depende dos átomos especificamente ativados no substrato.

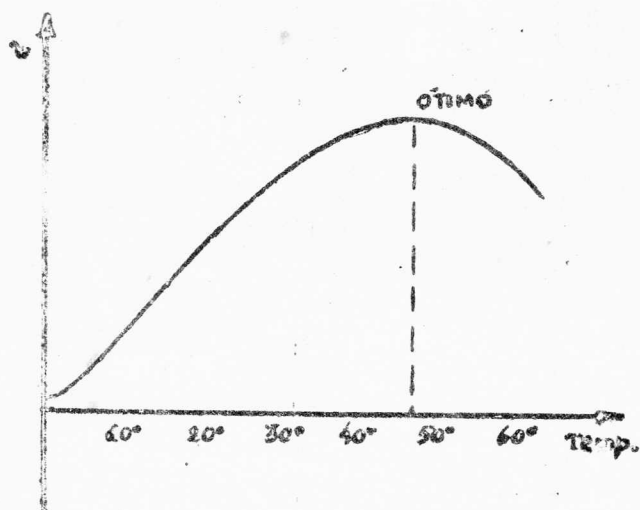
b) Equilíbrio e cinética das reações enzimáticas

Para serem estudadas, é necessário que a enzima tenha sido isolada e purificada:

enzima + substrato $\xrightarrow[\text{transformação}]{\text{(enzima.substrato)}}$ enzima + produto. O seu estudo é feito fora da célula "in vitro". Até o presente não há meios experimentais para o estudo da ação de uma única enzima no interior da célula, isto é "in vivo".

Assim isoladas, as reações enzimáticas seguem as leis próprias das reações catalizadas. São reações que chegam a um equilíbrio, reversíveis, e têm velocidade mensurável. São influenciadas por fatores de equilíbrio, como temperatura, pH, concentração inicial do substrato, presença de substâncias ativadoras ou inibidoras.

A influência dos fatores de equilíbrio sobre a velocidade de reação passa por um máximo que corresponde a um valor ótimo (ótimo de temperatura, ótimo de pH, etc...). O valor numérico ótimo de temperatura, por exemplo, poderia ser determinado experimentalmente mantendo-se constantes todos os



fatores menos a temperatura e usando a variação da concentração dos produtos finais na unidade de tempo (velocidade). Um dos fatores importantes é a influência da concentração inicial do substrato.

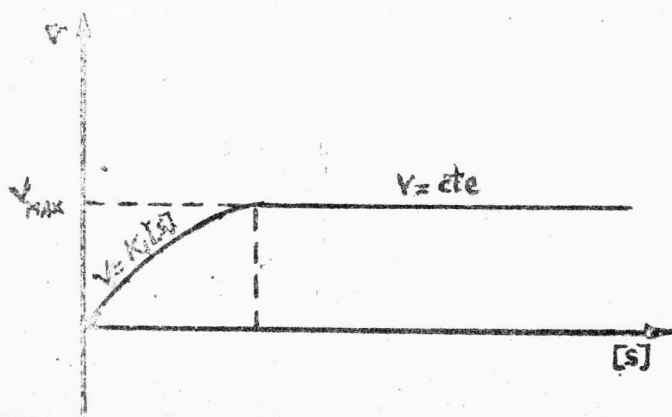
(1) $v = k [E][S]$, onde temos que:

$k =$ cte. de velocidade da reação $[E] =$ concentração da enzima

$[S] =$ " do substrato

Como a enzima não é transformada, $[E]$ é constante, logo (2) $v = k_1 [S]$, pois $k_1 = k [E] =$ cte.

A medida que aumenta a conc. de S, a velocidade de reação aumenta. Até que se chega a um ponto em que toda a enzima está combinada com o



substrato e não mais adianta aumentar a conc. do substrato. Neste ponto, a velocidade passa por um máximo (velocidade máxima) e se torna constante. A curva que representa a variação da velocidade com a variação da conc. inicial do substrato é

uma hipérbole.

Segundo a conhecida equação de Michaelis, a cte. da velocidade de decomposição do complexo enzima-substrato (K_s) de que depende a reação, obedece à relação:

$$(3) \quad K_s = \left(\frac{V_{max.}}{v} - 1 \right) [S]$$

A ação catalítica vai depender da afinidade da enzima com o substrato. Esta afinidade pode ser medida através da relação acima e é chamada constante de Michaelis, da enzima. Corresponde numericamente ao valor da concentração inicial do substrato em que a velocidade da reação é a metade da velocidade máxima.

$$v = \frac{V_{max.}}{2} ; \text{ substituindo em (3),}$$

$$K_s = \left(\frac{V_{max.}}{V_{max./2}} - 1 \right) [S]$$

$$K_s = [S]$$

A constante de Michaelis é a principal característica da ação de uma enzima.

5 - Especificidade - a ação enzimática é específica, para o substrato através da combinação deste com os centros ativos da proteína. Quando a enzima é uma holoproteína toda a especificidade depende da molécula proteica. Quando é uma heteroproteína, a especificidade para o substrato depende da fração proteica e para o tipo de reação depende do grupo prostético. Quando é um sistema proteico a afinidade para o substrato depende da molécula proteica e o tipo da reação depende da coenzima. A mesma coenzima associada a diferentes proteínas, pode catalizar o mesmo tipo de reação, em substratos diferentes. A especificidade para o substrato pode ser absoluta ou relativa. Absoluta quando se refere a molécula total. Relativa quando se refere às ligações (ligação peptídica, ligação glicosídica); à posição dos grupos na molécula (orto, meta e para); à configuração, na mesma ligação. Ex. : as enzimas que hidrolisam o amido (amilases) só atuam sobre as ligações glicosídicas alfa (1→4), ficando indiferentes às ligações beta (1→4), ou alfa (1→6).

6 - Nomenclatura das Enzimas - Está condicionada à atividade catalítica pois em tudo o mais coincidiria com as proteínas.

a) Nomes genéricos - tipo de reação catalisada mais a terminação ase. Exemplos: Hidrolases, oxidases, transferases, desidrogenases etc.

b) Nomes específicos-

Ligação envolvida + ase. Exemplos: peptidase, esterase, etc.

Substrato específico + ase. Exemplos maltase, amilase, etc.

Substrato + nome da reação + ase. Exemplo. amidofosforilase

7 - Classificação das Enzimas - Está condicionada também à atividade catalítica pois em tudo o mais coincidiria com as proteínas.

a) Quanto a reação - São distribuídas em grandes grupos conforme o tipo da reação, recebendo estes grupos nomes genéricos. Estes grupos são divididos em subgrupos que recebem nomes relativos ao tipo da ligação ou do substrato especificamente transformados. Por fim em cada subgrupo figuram as enzimas relacionadas ao substrato.

- | | | | | | | |
|--|---|---|---|-------------------------------------|---|--|
| - hidrolases
($\text{HO}^- + \text{H}^+$) | { | glicosadases
rompem ligações
oses | { | polissacarídeas
glico-sacarídeas | { | amilases
celulases
maltase, invertase, trealase, estearases (rompem ligações esterés), fosfatases, sulfatases, peptidases, Nucleotídeases. |
|--|---|---|---|-------------------------------------|---|--|
- Fosforilases ($\text{H}^+ + \text{H}_3\text{PO}_4$) : glicogeniofosforilase, nucleotídeofosforilase.
- | | | |
|---|--|---|
| - Sulfurilases ($-\text{HSO}_4^+ + \text{H}^+$) | | - Thiolases ($-\text{SH} + \text{H}^+$) |
| - Desidrogenases | | - Oxidases |
| - Descarboxilases | | - Desaminases |
| - Dessulfidrilases | | - Transferases |
| - Quinases | | - Isomerases |

b) Quanto ao sentido da reação -

Enzimas degradativas - catalisam reações de decomposição. Ex. - hidrolases, descarboxilases, desaminases.

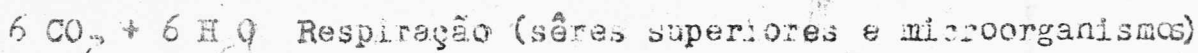
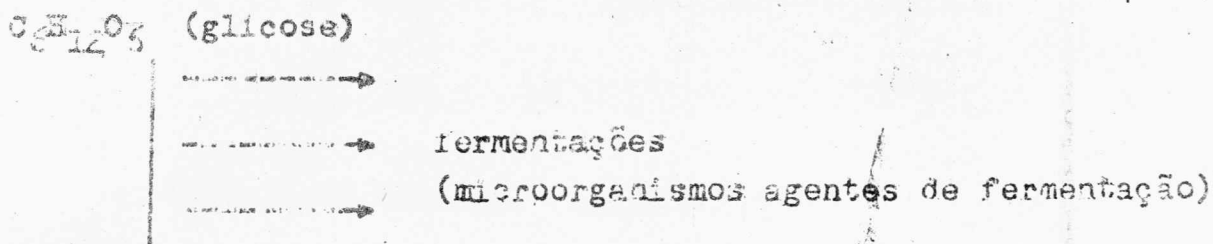
Enzimas sintetizantes - catalizam reações de sínteses. Ex. - transferases, quinases; são chamadas sintetase ou liases.

Enzimas ativantes - catalizam a ativação do substrato ou da ligação.

É preciso advertir que às vezes a enzima é dita degradativa num sentido mas pode ser sintetizante em outro. Ex.: Thiólases rompem duplas ligações mas servem à síntese do grupo R-SH. O conceito refere-se à reação espontânea.

III - CAMINHO METABÓLICO DAS PRINCIPAIS FERMENTAÇÕES

1 - Introdução - Os glicídios (hidratos de carbono) constituem a principal fonte energética dos seres vivos. A sua degradação pelos microorganismos visando obter energia é que leva às principais fermentações. Dentre os glicídios, o ponto de partida comum é a glicose. Aqui chamamos novamente a atenção de que é a atividade microbiana que leva às fermentações porque os seres superiores e muitos microorganismos não agentes de fermentações respiram a glicose até CO_2 e água.



O conjunto de reações químicas que vão do produto inicial ao produto final constitui um processo fermentativo. A sequência de reações químicas unitárias que constituem um determinado processo chama-se: "sequência metabólica" ou "caminho metabólico". Nesta sequência, que vem a ser um sistema de reações, cada reação é catalizada por uma enzima específica; mas nós só percebemos o produto final. Ainda quando os produtos finais são diferentes, há caminhos metabólicos que levam a um intermediário comum, a partir do qual as reações finais se diversificam constituindo as diversas fermentações. Estudaremos apenas os caminhos metabólicos das principais fermentações. Mas é indispensável a quem vai conduzir êstes processos na indústria, conhecê-los na sua sequência, pois há reações críticas que devem ser estimuladas; outras ao contrário evitadas, através da modificação de condições.

2 - Fermentações totalmente anaeróbicas

Têm uma fase comum, dita fase glicolítica ou glicólise, durante a qual um mol de glicose é cindido em duas trioses que a seguir são oxidadas até ácido pirúvico. A seguir o ac. pirúvico é metabolizado anaerobicamente de acôrdo com o equipamento enzimático dos diferentes microorganismos levando às diferentes fermentações.

a) Glicólise - a sequência de reações unitárias nesta fase foi estudada em detalhe por muitos autores, mas foi estabelecida como sequência por dois autores, pelo que tomou o nome dêstes: esquema de Embden & Mayerhoff (E.E.M.)

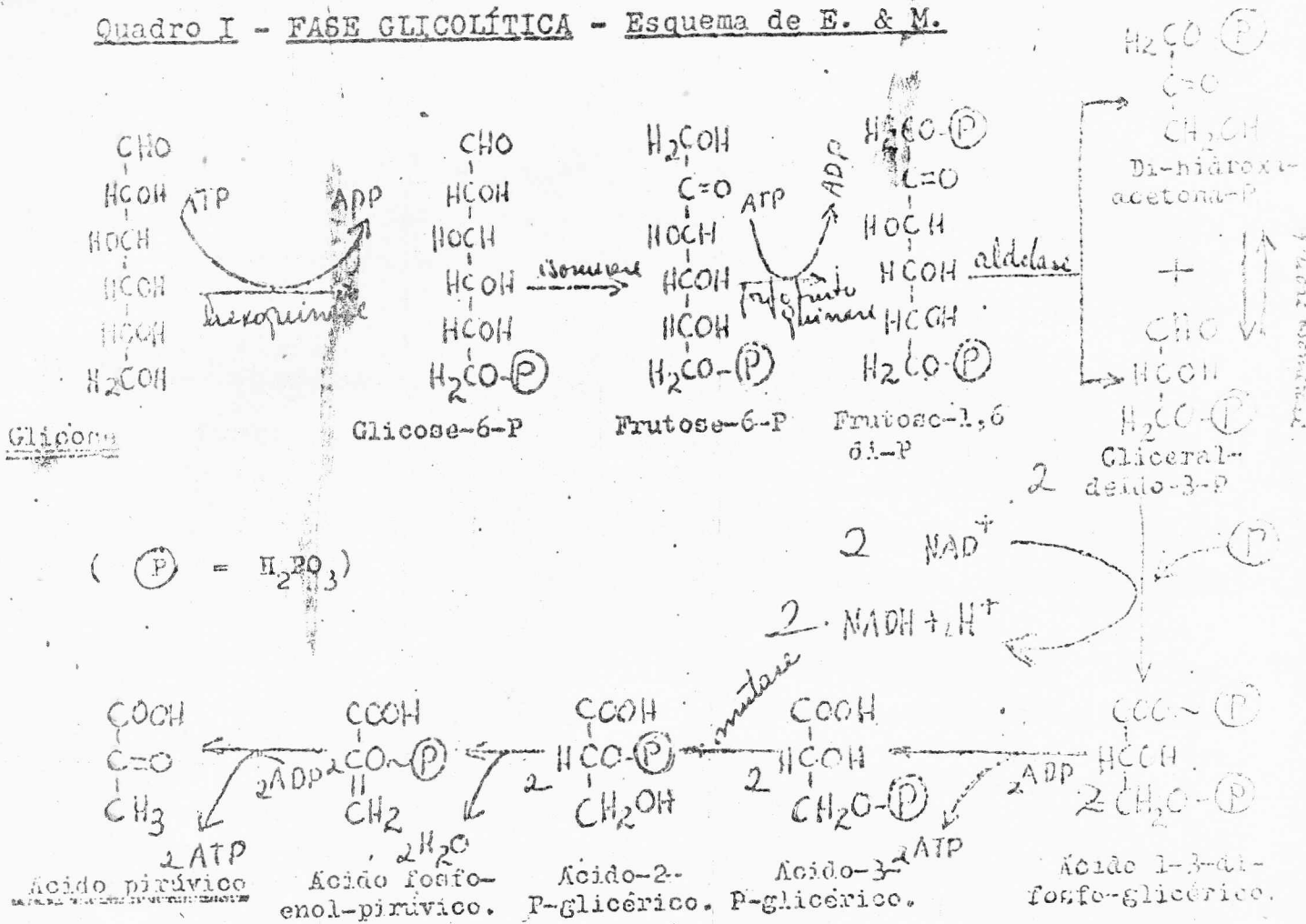
As principais reações são:

- 1) fosfatação da glicose (hexoquinase)
- 2) isomerização da aldose em cetose (fosfohexoisomerase)
- 3) fosfatação da fosfoetose (fosfohexoquinase)
- 4) rutura da difosfoetose em duas fostotrioses (aldolase)
- 5) oxidação das trioses até ac. pirúvico.

As reações 2 e 3 e 4 são características da glicólise, bem como a ausência de oxigênio durante as oxidações a que se refere o item 5.

A partir do piruvato os caminhos metabólicos diversificam-se conforme o equipamento enzimático dos diversos agentes, e os produtos finais podem variar.

Quadro I - FASE GLICOLÍTICA - Esquema de E. & M.



Resumo: $\text{Glucose} + 2\text{ATP} + 2\text{NAD}^+ \rightleftharpoons 2 \text{ Piruvato} + 4\text{ATP} + 2\text{NADH} + 2\text{H}^+$

As etapas na degradação anaeróbica da glicose a piruvato, pelo esquema glicolítico ou Esquema de Embden-Meyrhoff-Parnas (EMP) estão resumidas acima, e os pontos de importância dessa sequência são:

1. Ativação da glicose com ATP; isomerização e uma segunda fosforilação originando frutose-1,6-difosfato e 2 ATP.
2. Rompimento da molécula da frutose-1,6-difosfato para dar duas moléculas de triose fosfato.
3. Oxidação do gliceraldeído-3-fosfato com redução do NAD e utilização de fosfato inorgânico (1 P), resultando na formação de uma ligação de "alta energia" no ácido 1,3-difosfo-glicérico.
4. Transferência da ligação ~ P do ácido 1,3-di-fosfo-glicérico para o ADP.
5. Isomerização do ácido 3-fosfo-glicérico, seguida de desidratação para formar uma ligação ~ P no ácido fosfo-enol-pirúvico.
6. Transferência da ligação ~ P do fosfo-enol-piruvato para o ADP e formação de piruvato e de ATP.-

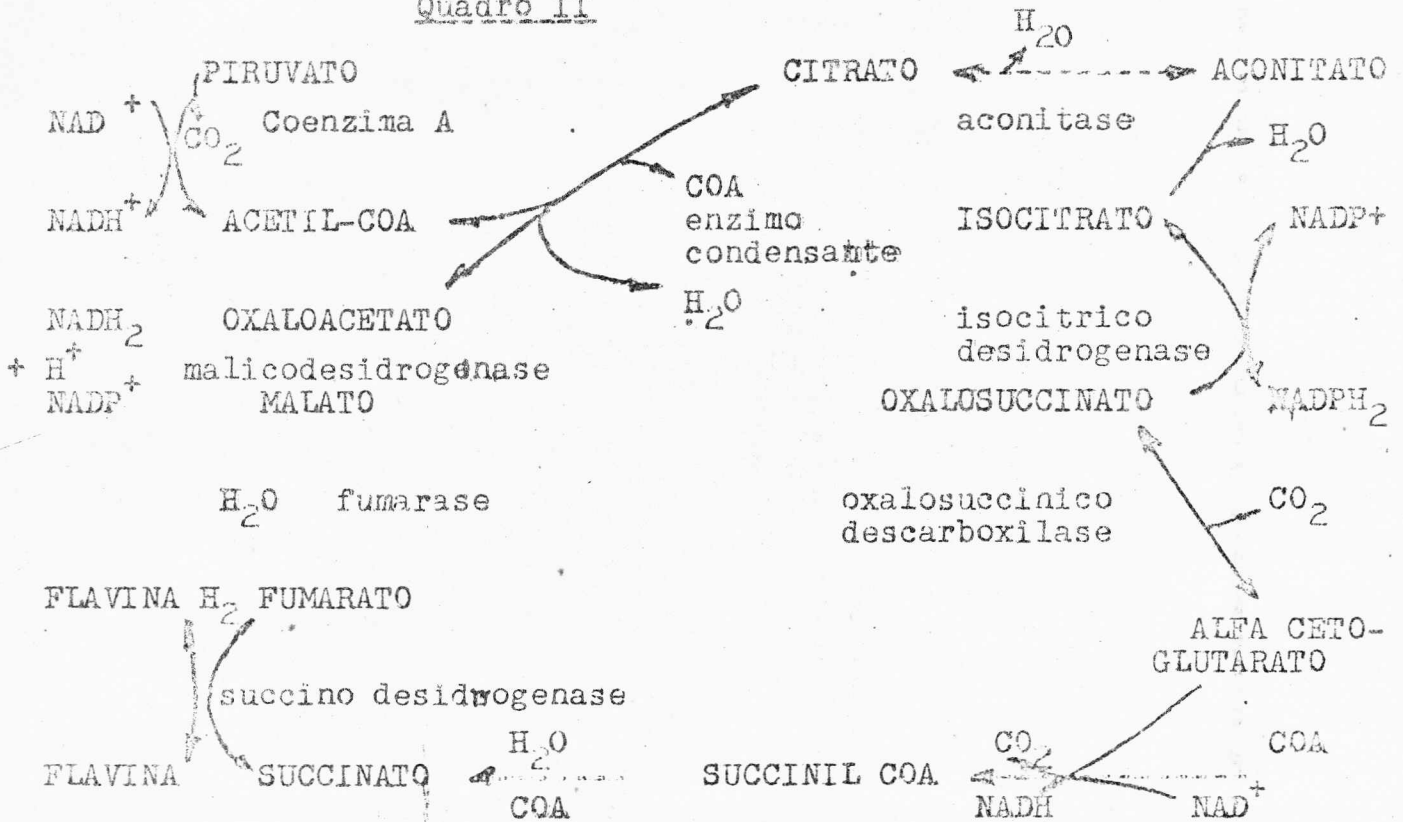
Há assim um ganho líquido de dois moles de ATP por mol de glicose oxidada, e dois moles de NAD são reduzidos. O esquema glicolítico do piruvato está amplamente distribuído entre todos os tipos de células. O oxigênio não é necessário para nenhuma destas reações, mas é claro que o NAD reduzido deve ser regenerado por algum mecanismo.-

3 - Fermentações aeróbicas

a) Fermentações desassimilativas

Parcialmente aeróbicas. - Inicialmente anaeróbicas (glicólise) e a seguir o piruvato é metabolizado aerobicamente. O ex. mais característico são as fermentações ligadas ao chamado ciclo de Krebs, e que levam à produção de ácidos orgânicos tri e dicarboxílicos. O ciclo de Krebs tem a seguinte sequência metabólica:

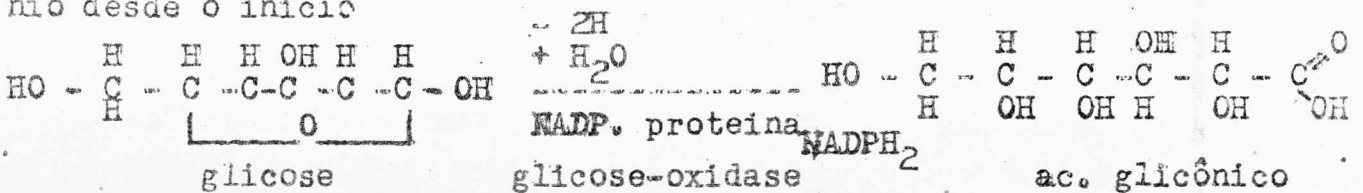
Quadro II



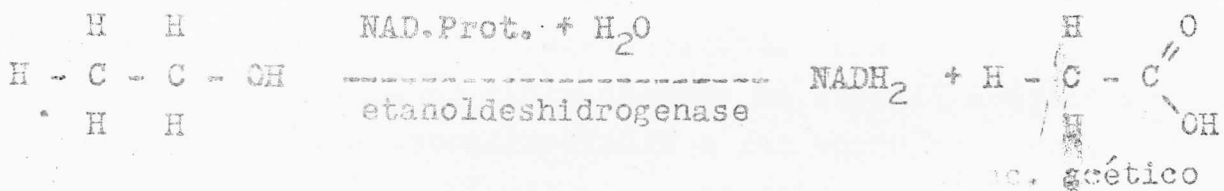
A enzima aconitase que catalisa a transformação do ac.cítrico em ac.isocítrico, através do ac.aconítico, é muito carente de ferro e manganês. Em meios pobres nestes dois cations, a enzima não atua e há acumulação de ac.cítrico e tem-se a fermentação cítrica. O ac.cítrico é mais oxidado que a glicose embora tenha o mesmo nº de átomos de carbono. A interrupção pode dar-se ao nível de ac.succínico e ac.fumárico. Se o ciclo funcionar até o fim, tem-se a respiração final com formação de CO_2 e água.

- Totalmente aeróbicas -

Fermentação glicônica - Caracteriza-se pela ausência de fosforilação da glicose, por não haver rutura da molécula e por exigir oxigênio desde o início



Fermentação acética - é aeróbica e tem como substrato o etanol não um glicídio.



Nêstes casos as coenzimas reduzidas são reoxidadas por um sistema de reações em que o oxigênio é o acceptor final dos protons.

b) Fermentações assimilativas : São totalmente aeróbicas pois a atividade biosintetisante é aeróbica.

A partir de um intermediário, que varia em cada caso podem ocorrer reações de síntese que levam a produção de proteínas, de gordu~~ras~~ras, bem como de antibióticos (êstes como produtos do metabolismo de ácidos aminados).

IV - SISTEMAS MULTI-ENZÍMICOS

Nas fermentações, que são processos metabólicos, isto é, desenvolvem-se ao interior das células vivas, atuam várias enzimas em sequência, constituindo um sistema unificado, do qual só aparece o produto final



O metabolito A é transformado até o produto final P segundo uma série de etapas catalisadas cada uma por uma enzima. Mas o funcionamento da sequência é controlado pela célula viva, por todo um sistema biológico de controle.

1 - Propriedade dos sistemas multienzímicos:

a) - A especificidade garante a sequência, pois cada enzima só age depois que a precedente forneça o substrato.

b) - Cinética das reações - a velocidade do processo total é regulada pela velocidade de reação mais lenta, que recebe o nome de - "moderador" (pacemaker) ou ainda "reação mestra" (master reaction).

A temperatura e o pH são os fatores mais importantes com que podemos jogar para influenciar o processo. São, porém, condições críticas e por isso as fermentações devem ser conduzidas em faixas estreitas de pH e temperatura. Variações nêstes fatores podem causar variações na cinética da reação mestra do processo e alterar negativamente a cinética do processo inteiro. Os valores ótimos para cada fermentação são determinados experimentalmente, relacionando o consumo do substrato e a formação do produto final para cada valor do parâmetro cuja influência se quer medir.

c) - Rendimento - ao contrário do que ocorre com as reações

podem passar-se em sentido inverso, nos processos "in vivo" elas podem ser totais, não atingir um equilíbrio e têm sentido determinado. Isto por causa da sequência que permanentemente remove o produto de uma reação, deslocando o equilíbrio no sentido de sua transformação. Para garantir o deslocamento do equilíbrio, o substrato e os demais reagentes devem estar em excesso.

d) - Tempo de transição - depende da velocidade de penetração do substrato na célula, bem como da difusão de cada intermediário no interior da célula, e da excreção do produto final. Quanto maior o peso molecular da substância a migrar, maior o tempo de difusão. A agitação diminui o tempo de transição. Sobre este item, praticamente não há trabalhos experimentais. É importante quando há necessidade de fornecer ar, pois o oxigênio é um dos reagentes do processo.

e) - Ações inibidoras - sobre uma enzima do processo pode paralisar a sequência. Em certos casos é vantajoso (Ferm. cítrica). Em outros é desvantajoso, podendo impedir a formação do produto final. Cabe ao técnico decidir e atuar em cada caso.

Os agentes são unicelulares; cada célula deve ser considerada como um reator, bem mais complexo que os não biológicos. E o que nós conhecemos é o somatório das ações de cada reator.

V - MODÉLOS RELATIVAMENTE AO CONSUMO DO SUBSTRATO ENERGÉTICO

- 1 - Fermentações diretamente relacionadas com a utilização de glicídios. Ex. ferm. alcóolica.
- 2 - Fermentação indiretamente relacionadas com a utilização de glicídios. Ex. biosíntese de gorduras.
- 3 - Fermentação aparentemente não relacionadas com a utilização de glicídios. Ex. antibióticos.

VI - MODÉLOS RELATIVOS À CINÉTICA

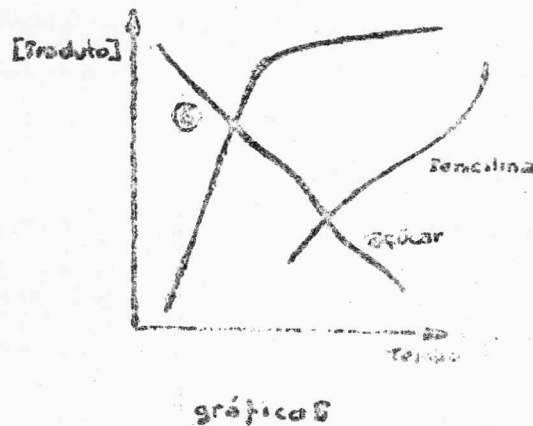
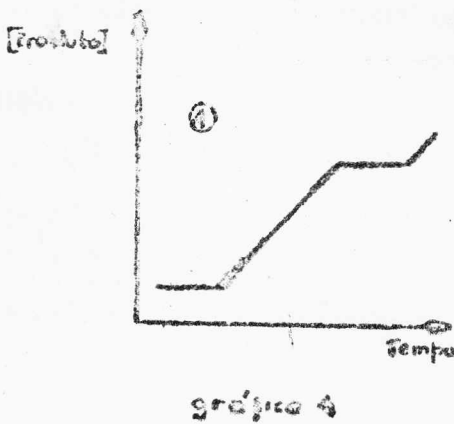
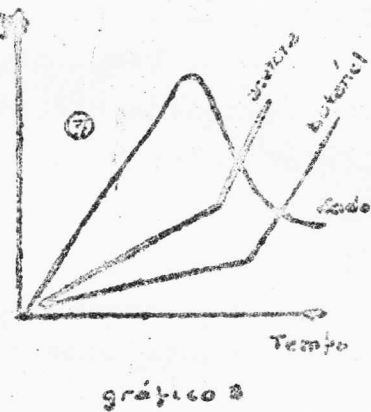
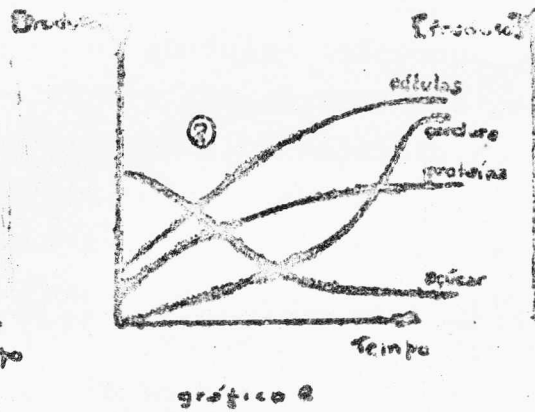
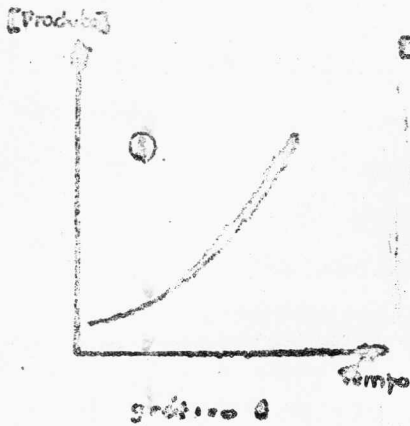
1 - Cinética simples - relação estequiométrica entre o substrato e o produto; não há acumulação de intermediário. Vide gráfico 1

2 - Cinética relativa a reações simultâneas, rearrançamento de intermediário, sem acumulação - síntese de gorduras. Vide gráfico 2.

3 - Cinética relativa a reações consecutivas com acumulação de intermediário - Ex. butanol acetona. Vide gráfico 3.

4 - Cinética de reações progressivas com acumulação de intermediários e posterior utilização (diauxia). Ex. produção de etanol em mosto amiláceo (substrato diferentes em presença). Vide gráfico 4.

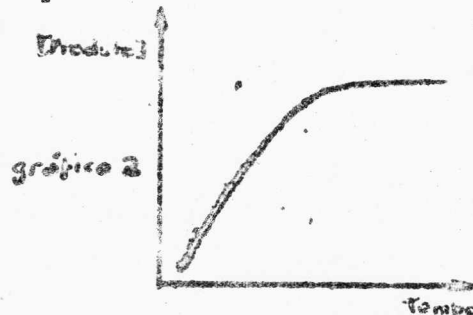
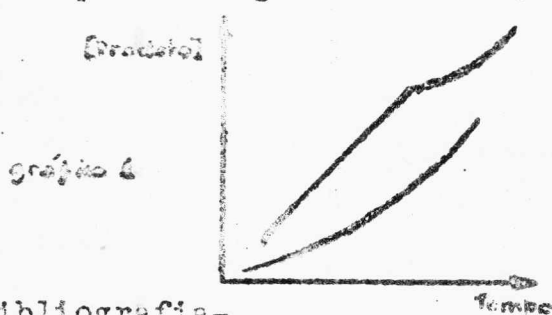
5 - Cinética complexa - produção de antibióticos. Vide gráfico 5.

GráficosVII - SEGUNDO UM OUTRO CRITÉRIO

1 - Com crescimento - Fermentações simultâneas com o crescimento da cultura do agente. Exemplo: fermentação alcoólica. Vide gráfico 1.

2 - Sem crescimento - Células recuperadas ou produzidas à parte, não há fase lag para fermentação. Vide gráfico 2.

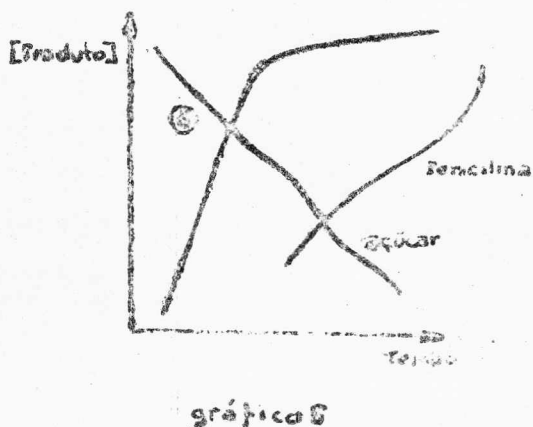
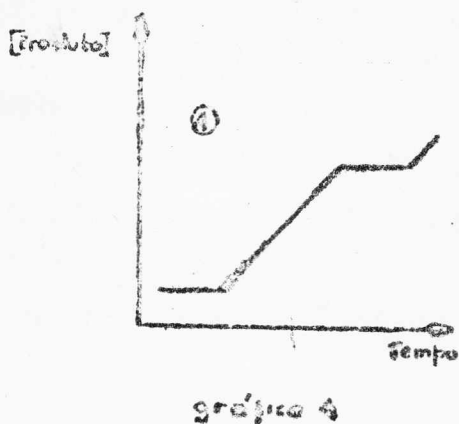
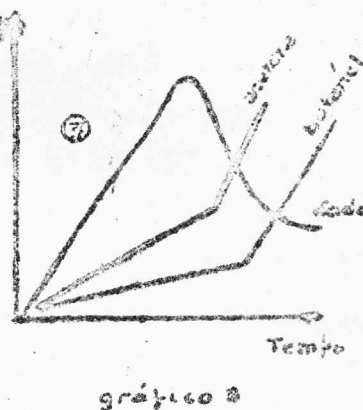
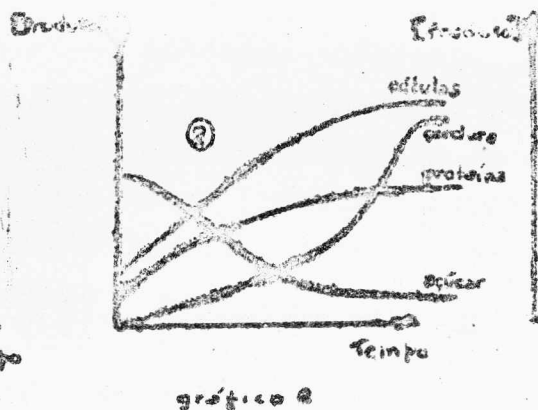
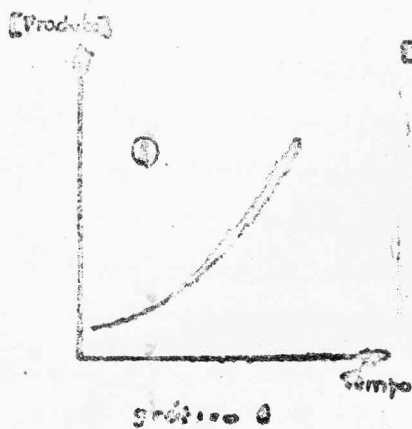
Como vemos o conhecimento da bioquímica do processo e do comportamento do agente, permite deduzir e analisar a cinética do processo e por conseguinte a sua dedução pode ser feita em melhores bases.

Bibliografia-

General Biochemistry - Frutton e Simmonds, - John Willey & Sons N. York 1958.

Biochemistry - Cantarow A. - W.B. Saunders,

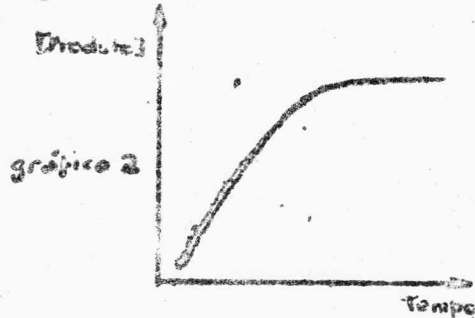
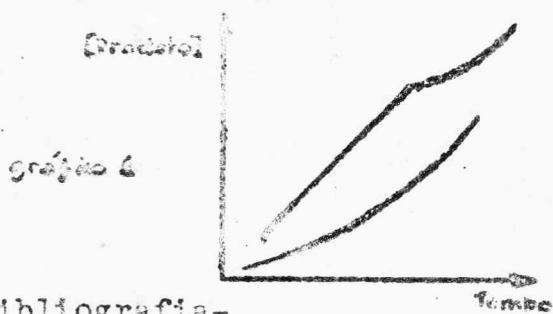
Philadelphia 1951

GráficosVII - SEGUNDO UM OUTRO CRITÉRIO

1 - Com crescimento - Fermentações simultâneas com o crescimento da cultura do agente. Exemplo: fermentação alcoólica. Vide gráfico 1.

2 - Sem crescimento - Células recuperadas ou produzidas à parte, não há fase lag para fermentação. Vide gráfico 2.

Como vemos o conhecimento da bioquímica do processo e do comportamento do agente, permite deduzir e analisar a cinética do processo e por conseguinte a sua dedução pode ser feita em melhores bases.

Bibliografia-

General Biochemistry - Frutton e Simmonds, - John Willey & Sons N. York 1958.

Biochemistry - Cantarow A. - W.B. Saunders Philadelphia 1901.