

MICROBIOLOGIA DOS ALIMENTOS

CAPÍTULO 4: Alimentos e Enzimas Produzidos por Microrganismos

Os microrganismos tem sido utilizados pelo homem em diferentes processos e de diferentes maneiras. Muitas substâncias de considerável valor econômico são produtos do metabolismo microbiano, desde a produção industrial de materiais importantes incluindo, químicos finos (farmacêuticos) e aqueles produzidos em grandes quantidades que serão utilizados como matéria-prima

Aplicações Biotecnológicas de microrganismos:

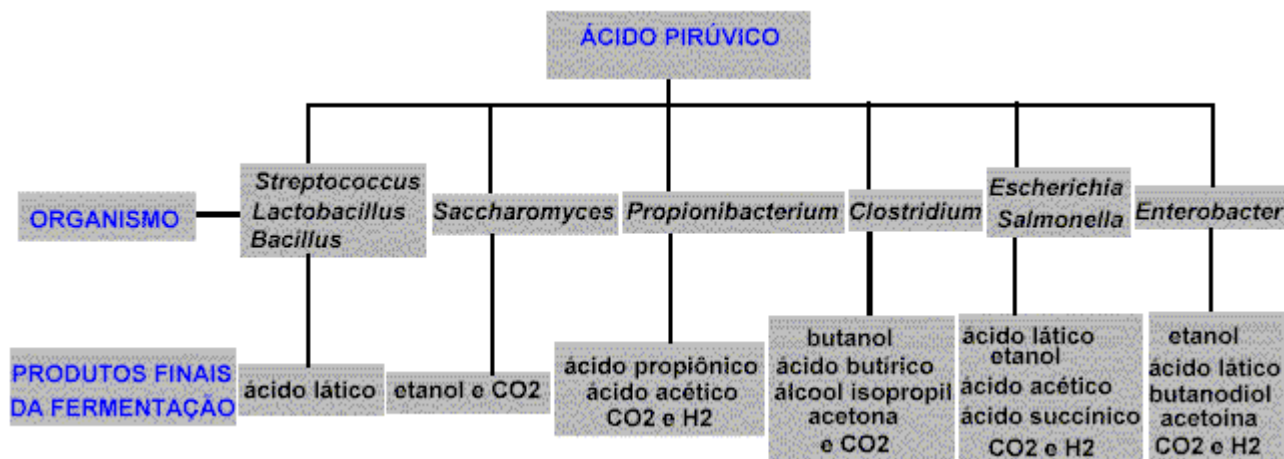
1. Produção de proteína unicelular
2. Produção de inseticidas
3. Produção de vacinas
4. Produção de antibióticos
5. Produção de etanol
6. Produção de ácidos orgânicos: ácido acético (vinagre); ácido láctico; ácido propiônico; ácido cítrico; ácido glucônico
7. Produção de aminoácidos - lisina, ácido glutâmico
8. Produção de enzimas
9. Produção de solventes
10. Produção de polissacarídeos
11. Produção de lipídeos
12. Produção de alimentos por fermentação láctica : pickles, azeitona, queijo, chucrute, iogurte

Produção de cultivos para fermentações de alimentos

Pode-se adicionar os microrganismos necessários para as fermentações alimentares como **cultivos puros** ou como **mistura de cultivos**. Ou ainda "**não se adiciona**" nenhum porque alguns alimentos ao fermentar já contém o microrganismo desejado em quantidades suficientes

De uma maneira geral os princípios de manutenção e preparação de cultivos segue;

1. Seleção - podem ser cultivos já estabelecidos (provenientes de outros laboratórios) ou se seleciona após provar numerosas estirpes - que deve ser estável, e o rendimento e velocidade a que se produzem as mudanças não devem ser variáveis
2. Manutenção da atividade de um cultivo - uma vez obtido um cultivo satisfatório há que mantê-lo puro e ativo - pode ser através de transferências periódicas. Os cultivos de reserva pode ser através de liofilização ou congelamento em nitrogênio líquido
3. Preparação de cultivos - feito com a cultura estoque mantida conservada ou com culturas isoladas na etapa seletiva : Cultivos bacterianos, Cultivos de leveduras, Cultivos de mofo ou Cultivos mixtos
4. Atividade de um cultivo - se joga pela velocidade de seu crescimento e produção da substância



Produção Microbiana de Ingredientes de Alimentos

Ingredientes	Função	Organismo
D-arabitol	açúcar	<i>Candida diddensis</i>
beta-caroteno	pigmento	<i>Blakeslae trispora</i>
ácido cítrico	acidulante	<i>Aspergillus niger</i>
diacetil	saborizante (manteiga)	<i>Leuconostoc cremosis</i>
ésteres de ácido graxo	fragrâncias de frutas	<i>Pseudomonas spp</i>
declactona	fragrâncias de pêssego	<i>Sporobolomyces odorus</i>
genariol	fragrâncias de rosa	<i>Kluyveromyces lactis</i>
ácido glutâmico	estimulante do sabor	<i>Corinebacterium glutamicum</i>
ácido láctico	acidulante	<i>Estreptococos e Bacilos</i>
lisina	aminoácido	<i>Corinebacterium glutamicum</i>
manitol	açúcar	<i>Torolopsis mannitofaciens</i>
nisina	antimicrobiano	<i>Streptococcus lactis</i>
6-pentil-2-pirona	fragrâncias de coco	<i>Trichoderma viride</i>
l-fenilalanina	precursor do aspartame	<i>Bacillus polymyxa</i>
prolina	aminoácido	<i>Serratia marcerscens</i>
polissacarídeos termoestáveis	espessante	<i>Argobacterium radiobacter</i>
vitamina B-12	vitamina	<i>Propionibacterium</i>
goma xantana	espessante	<i>Xanthomonas campestri</i>

Produção de biomassa microbiana/ Proteínas unicelulares

Proteína unicelular é aquela proveniente de células de microrganismos. Fungos filamentosos, leveduras, bactérias e algas são fontes de proteínas unicelulares. As leveduras tem sido preconizadas com mais frequência, contudo esta produção depende do tipo de substrato a ser utilizado, disponibilidade de matéria prima, velocidade e multiplicação do organismo, toxicidade, digestibilidade e valor nutritivo do produto final.

Biomassa fúngica

1. Fungos filamentosos formadores de cogumelos comestíveis

- p.ex. *Agaricus campestris*, *Lentinus edodes* - cultivados utilizando-se diferentes substratos lignocelulósicos (bagaço de cana, palha de arroz, serragem, polpa de café, folha de mandioca, etc)
- extrato obtido de *Lentinus edodes* inibiu o desenvolvimento de tumores em ratos, em pesquisa realizada na Universidade de Hong Kong
- atualmente, desenvolvem-se estudos sobre proteína microbiana para consumo animal e do homem, a partir de resíduos agrícolas utilizados para crescimento fúngico.

2. Micoproteína ou proteína fúngica

- é produzida a partir do gênero *Fusarium*, e está sendo estudada como substituto de carne. É considerado uma proteína de elevada qualidade.

3. Levedura alimentícia

- a levedura é fonte de proteínas e vitaminas do complexo B e minerais. No estado seco, contém cerca de 50% de proteína de boa qualidade

Processo de produção de proteína unicelular

- preferência a material abundante, de baixo custo, ricos em carboidratos - resíduos industriais, de destilarias, de processamento de alimentos, soros de leite, resíduos lignocelulósicos de bagaço de cana, papéis velhos, etc
- consiste primeiramente, na transformação de hidratos de carbono da matéria-prima em matéria celular, com suplementação de sais de amônio e fósforo.
- na obtenção de proteína unicelular de leveduras, a conversão da matéria-prima em proteína é conduzida em fermentadores que são dotados de dispositivos para agitação e aeração, objetivando fornecer oxigênio que é essencial ao desenvolvimento dos microrganismos
- finalizada a fase de conversão, segue-se o processo de recuperação, que consiste em separar a massa celular dos outros componentes indesejáveis do meio de cultura, o que se consegue por processos de centrifugação, lavagem, filtração e secagem.

Produção de Inseticida Microbiano - Controle Biológico

A constatação dos efeitos dos pesticidas sobre o meio ambiente tem intensificado os esforços para se utilizar microrganismos como agentes biológicos, ao invés de defensivos químicos para o controle de pragas. Inseticidas microbianos dizem respeito a característica patogênica que alguns microrganismos apresentam para alguns insetos. Em cada aplicação, os microrganismos precisam ser dispersos no meio ambiente.

Alguns requerimentos específicos precisam ser preenchidos antes da utilização do microrganismo como inseticida microbiano :

1. facilidade para a produção em larga-escala;
 2. a viabilidade do microrganismo precisa ser mantida;
 3. o organismo não deve apresentar toxicidade ou patogenicidade a animais e plantas;
 4. o organismo precisa apresentar menos custo que os agentes químicos
- bactérias, vírus, fungos, protozoários podem ser utilizados como inseticidas. Alguns deles são produzidos comercialmente em fermentações de larga-escala ou como hospedeiro de insetos
 - atualmente, sabe-se que cerca de 400 espécies de fungos atacam insetos e ácaros, o que estimula estudos voltados para utilização desses fungos como micofungicidas, micoinseticidas e micoherbicidas
 - o fungo *Metarhizium anisophae* é um inimigo natural da cigarrinha da folha, e pode parasitar aproximadamente 200 insetos hospedeiros diferentes, o que traz a possibilidade de sua utilização como único agente biológico controlador de diversas pragas
 - mais de 650 vírus tem sido caracterizado como patógenos de plantas, e demonstram possibilidades para sua utilização como inseticidas biológicos.
 - três bactérias, *Bacillus popilliae*, *B. moritae*, *B. thuringensis*, são comercialmente produzidas. *B. popilliae* é obtido diretamente de larvas infectadas, e as outras bactérias são cultivadas em processos de fermentação submersa.
 - *B. thuringensis*, é a bactéria mais amplamente usada e é cultivada em um meio contendo amido, xarope de milho, caseína, extrato de levedura e sacarose. Após aproximadamente 30 horas de fermentação, a esporulação ocorre, acompanhado pela formação de proteínas extracelulares e intracelulares.
 - *B. thuringensis* produz um cristal protéico intracelular, que apresenta elevada toxicidade, específica para larvas de certos insetos lepidópteros, mas inteiramente atóxico para animais vertebrados e plantas, após a ingestão do cristal pelo inseto, este é dissolvido no pH alcalino do intestino, inibindo o transporte de íons, provocando a morte do inseto.

Produção de Vacinas Bacterianas

Antígenos imunizantes - o cultivo extensivo de microrganismos para uso em vacinas pode ser encarado como um empreendimento industrial, embora não seja um processo de fermentação.

As vacinas, ou substâncias antigênicas, são de natureza protéica, previamente elaboradas e representadas pelo próprio microrganismo, por frações dele ou por produtos de seu metabolismo. Todas as vacinas funcionam estimulando o organismo a produzir anticorpos, substâncias que farão a defesa do corpo contra a doença, provocando o desenvolvimento de imunidade, ou uma resistência específica.

São numerosas as doenças provocadas por bactérias, para as quais tem sido preparadas vacinas: tuberculose (*Mycobacterium tuberculosis* ou bacilo de Koch), meningite meningocócica (*Neisseria meningitidis*), tétano (*Clostridium tetani*) entre outras

Produção de Antibióticos

Antibióticos são produtos do metabolismo secundário que inibem o processo de crescimento de outros organismos, mesmo quando usados em baixas concentrações

A penicilina foi o primeiro antibiótico a ser produzido industrialmente. Atualmente, aproximadamente 6000 dessas substâncias são conhecidas, no mínimo 91 são produzidas

comercialmente por fermentação. Outros 46 antibióticos semi-sintéticos tem aplicações clínicas. Cloramfenicol e pirrolnitrina foram originalmente descobertos como compostos microbianos, mas agora são produzidos quimicamente em laboratórios.

Os grupos microbianos produtores de antibióticos:

- antibióticos são produzidos por bactérias e fungos
- nos fungos, apenas os antibióticos produzidos pelos fungos da divisão Ascomycotina e fungos imperfeitos são de importância prática. Apenas 10 dos antibióticos fúngicos conhecidos são produzidos comercialmente, e apenas as penicilinas, cefalosporina C, griseofulvina e ácido fusídico são clinicamente importantes
- nas bactérias, existem alguns grupos taxonômicos importantes que produzem antibióticos. A grande variedade na estrutura e número de antibióticos é encontrado nos *Actinomicetes*, especialmente no gênero *Streptomyces*
- outro importante grupo de substâncias são os antibióticos peptídeos, produzidos pela bactéria do gênero *Bacillus*

As principais fases da produção comercial da penicilina (*P. chrysogenum*) são :

1. Preparação do inóculo;
2. Preparação e esterilização do meio,
3. Inoculação do meio no fermentador;
4. Aeração forçada com ar estéril durante a incubação;
5. Remoção do micélio após a fermentação;
6. Extração e purificação da penicilina

A produção da maioria dos outros antibióticos segue o mesmo plano geral. As principais diferenças se relacionam com o microrganismo, a composição do meio e o método de extração. Alguns fabricantes empregam o mesmo equipamento de fermentação para a produção de vários antibióticos diferentes.

Produção de etanol

Após a água, o álcool é o solvente mais comum, além de representar a matéria-prima de maior uso no laboratório e na indústria química.

Na biossíntese do etanol é empregado linhagens selecionadas de *Saccharomyces cerevisiae*, que realizam a fermentação alcoólica, a partir de um carboidrato fermentável. É muito importante que a cultura de levedura possua um crescimento vigoroso e uma elevada tolerância ao etanol, apresentando assim a fermentação um grande rendimento final

O etanol é inibidor à altas concentrações, e a tolerância das leveduras é um ponto crítico para uma produção elevada deste metabólito primário. A tolerância ao etanol varia consideravelmente de acordo com as linhagens de leveduras. De modo geral, o crescimento cessa quando a produção atinge 5% de etanol (v/v), e a taxa de produção é reduzida a zero, na concentração de 6 a 10% de etanol (v/v)

A transformação bioquímica realizada pela *S. cerevisiae* é a seguinte:



O etanol pode ser produzido a partir de qualquer carboidrato fermentável pela levedura: sacarose, sucos de frutas, milho, melão, beterrabas, batatas, malte, cevada, aveia, centeio, arroz sorgo etc, (necessário hidrolisar os carboidratos complexo em açúcares simples fermentáveis, pelo uso de enzimas da cevada ou fúngicas, ou ainda pelo tratamento térmico do material acidificado). Material celulósico, como madeira e resíduos da fabricação da pasta de papel podem ser utilizados. Por causa da grande quantidade de resíduos de material celulósico disponível, a fermentação direta desses materiais quando hidrolisados por enzimas celulolíticas pode ser de grande importância econômica

Culturas mistas de *Clostridium thermocellum* e *C. thermosaccharolyticum* podem ser usadas. Hemiceluloses e celuloses são hidrolisadas em monossacarídeos (hexoses e pentoses) por essas bactérias e os monossacarídeos são fermentados diretamente a etanol

A produção de etanol é iniciada aerobicamente para produzir o máximo de biomassa. De modo geral, o processo envolve as seguintes etapas: (1) preparo do substrato; (2) correção do mosto (3) preparo do inóculo (4) fermentação; (5) destilação

Produção de ácidos orgânicos

1. Produção de Ácido Acético

Na indústria de alimentos, o grupo das bactérias acéticas são de grande importância na fabricação de vinagres (álcool ---- ácido acético)

Grupo das bactérias acéticas :

- família *Pseudomonadaceae*, bastonetes Gram-negativos, aeróbicas, móveis, apresentam ou não flagelo polar
- formam ácido por oxidação incompleta de açúcares ou álcoois: (1) é formado o acetaldeído por oxidação; (2) acetaldeído é convertido a ácido acético. 75% do acetaldeído é convertido em ácido acético, e os outros 25% em etanol.
- são razoavelmente tolerantes às condições ácidas. Suportam pH < 4.0 (pH ótimo em torno de 5.0 a 6.0)
- ocorrem na superfície de plantas, flores e frutas. Flora secundária em matéria vegetal em decomposição. São bastante exigentes nutricionalmente
- principais diferenças que as distinguem do gênero *Pseudomonas*:
 - toleram pH mais ácidos
 - apresentam menor atividade proteolítica
 - motilidade limitada e não são pigmentadas (com exceção de *Gluconobacter oxydans* que produz um pigmento marrom).
- as bactérias acéticas podem ser divididas em 2 gêneros principais:
 - *Gluconobacter* (oxidam a glicose a ácido glucônico) - *G. oxydans* : apresenta flagelos polares (3 -8); são consideradas suboxidativas
 - *Acetobacter* - *A. aceti*, *A. pasteurianus*, *A. peroxidans* : mais utilizadas comercialmente na produção de vinagre
- são contaminantes indesejáveis na fabricação de vinhos
- juntamente com as leveduras e as bactérias lácticas, as bactérias acéticas tem sido frequentemente citadas como deteriorantes na indústria de bebidas
- o tipo de deterioração que eles produzem inclui sabores desagradáveis, crescimento limoso e formação de gás

Generalidades sobre a produção de vinagre:

- a produção do vinagre envolve dois tipos de alterações bioquímicas: (1) uma fermentação alcoólica de um carboidrato; (2) uma oxidação do álcool até ácido acético.
- existem diversos tipos de vinagres produzidos dependendo do tipo de material usado na fermentação alcoólica (sucos de frutas, xaropes contendo amiláceos hidrolisados).
- emprega-se uma fermentação por leveduras para a produção do álcool. A concentração alcoólica é ajustada entre 10 a 13% sendo então exposta às bactérias do ácido acético (um processo aeróbio), que vai oxidar a solução alcoólica até que se produza o vinagre na concentração desejada.

Com o aumento da produção de bebidas em embalagens plásticas, as bactérias acéticas não fermentativas tornaram-se mais importantes. Várias razões contribuíram para este fato entre elas a resistência de *Gluconobacter* a sanitizantes comumente empregados na indústria engarrafadora de bebidas, sua habilidade de crescer na presença de ácido ascórbico e benzóico, e os altos níveis que caracterizam as bebidas em recipientes plásticos

2. Produção de Ácido Cítrico

O acúmulo do ácido cítrico por alguns fungos foi descoberto por volta de 1893 quando Wehmer, descobriu que o *Citromyces* (hoje identificado como *Penicillium* sp) e *Mucor* possuíam a capacidade de acumular este ácido durante o seu cultivo. Atualmente, a fermentação industrial para a produção do citrato é conduzida utilizando uma única espécie de fungo: *Aspergillus niger*. A levedura oxidativa *Saccharomycopsis* (*Candida*) tem apresentado características interessantes, podendo ser considerada potencialmente importante.

Emprego do citrato:

- cerca de 70% da produção é utilizado pela indústria de alimentos e bebidas; 12% pela indústria farmacêutica e 18% por outras indústrias.
- na indústria de alimentos usa-se em larga escala como acidulante por apresentar sabor agradável, baixíssima toxicidade e alta solubilidade. Além disso, esse ácido tem capacidade de complexação com metais pesados como o ferro e o cobre. Essa propriedade tem conduzido a crescente utilização como estabilizante de óleos e gorduras para reduzir a sua oxidação catalisada por esses metais. Também, essa propriedade aliada ao baixo grau de corrosividade a certos metais, tem permitido seu uso na limpeza de caldeiras e instalações especiais.
- na indústria farmacêutica, o ácido cítrico é usado como estabilizante de ácido ascórbico por causa de sua ação quelante. Nos anti-ácidos e analgésicos efervescentes, o ácido cítrico é usado juntamente com carbonatos e bicarbonatos para gerar CO₂.
- sais de citrato, como citrato trissódico e citrato tripotássico são usados na medicina para evitar a coagulação do sangue e na indústria alimentícia como emulsificante para fabricação de certos produtos como o queijo.
- ésteres de ácido cítrico, como trietil, tributil e acetildibutil, são usados como plastificantes não tóxicos nas películas plásticas de embalagens de alimentos.

Bioquímica da produção do ácido cítrico: essencialmente a glicose é transformada em piruvato pela via glicolítica. O piruvato é transformado em acetil CoA, que entrará no ciclo de Krebs para a formação do citrato

Fonte de carboidrato para a produção de ácido cítrico: a presença de carboidrato prontamente metabolizável é essencial para uma boa produção de ácido cítrico. Maltose, sacarose, manose, glicose e frutose são os açúcares mais apropriados para a produção de ácido. Na prática, o ácido

cítrico é produzido a partir de carboidrato purificado (sacarose) ou da fonte de carboidrato bruto, de preço mais conveniente, como melão de cana de açúcar, melão de beterraba, sacarose bruta, caldo de cana, e hidrolisado de amido.

A presença de metais como contaminantes dessas matérias-primas constitui o principal problema na fermentação cítrica. Além disso, em alguns produtos encontram-se substâncias inibidoras e/ou promotoras de crescimento, a maioria pouco conhecidas ou analisadas. Algumas técnicas são usadas para remover ou neutralizar a inibição por esses contaminantes: a adição de ferrocianato de potássio e metanol é bastante comum na prática.

3. Produção de Ácido Láctico

Para a produção do ácido láctico, são 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.

Principais características das bactérias lácticas

São bactérias Gram +, microaerófilas, não esporuladas, usualmente não apresentam motilidade, são catalase-negativa, apresentam colônias pequenas e apigmentadas

Nutricionalmente muito exigentes. Possuem habilidade biossintética limitada e necessitam de aminoácidos, vitaminas, purinas e pirimidinas. Necessitam para o crescimento em laboratório: meios ricos em peptonas e hidrolisados protéicos, extrato de levedura, vitaminas e nucleotídeos.

São bactérias acidófilas: toleram baixos valores de pH. Tolerância a pH: bastonetes: não crescem a pH maior que 6,0; pH ótimo para crescimento: 4,5; cocos: pH neutro

Quando crescem na presença de O₂, substâncias oxidantes tóxicas ao metabolismo são produzidas: peróxidos (H₂O₂), superóxidos (O⁻²), radical hidroxila (OH⁻)

Habitat dos cocos e bastonetes homofermentativos:

- o principal é o corpo dos animais de sangue quente
- animal - flora normal da pele e mucosas: orofaringe, trato gastrointestinal e trato genito-urinário (associado a patógenos, exclusivamente linhagens do gênero *Streptococcus*)
- vegetal - vivem em associação com vegetais e crescem as custas de nutrientes eliminados a partir da morte do vegetal;
- leite: acesso através da pele e mucosas do animal (forragem, vegetais), linhagens patogênicas provocam a mastite (*Streptococcus agalactie*)

As bactérias lácticas podem ser divididas em dois subgrupos bioquímicos de acordo com os produtos formados a partir de glicose

1. Bactérias homofermentativas

São muito importantes e tem grande interesse na fabricação do ácido láctico. Os primeiros estágios da via metabólica da fermentação láctica são os mesmos da fermentação alcoólica,

ou mais especificamente a via de Embden-Meyerhof ou via glicolítica. O intermediário importante para a formação do ácido láctico é o ácido pirúvico. No final da via glicolítica, o ácido pirúvico, sob a ação da enzima lactato desidrogenase dá origem ao ácido láctico

2. Bactérias heterofermentativas:

Fermentação da glicose por essas bactérias resultam em vários produtos. Enquanto as bactérias homofermentativas degradam a glicose através da via glicolítica, as heterofermentativas degradam a glicose através da via oxidativa das pentoses fosfato. Os compostos intermediários importantes na via heterofermentativa são o ácido pirúvico e o aldeído acético. O rendimento líquido em ATP: 2 moles / mol de glicose pela via homofermentativa e apenas 1 mol / mol de glicose pela via heterofermentativa.

Processo de obtenção do ácido láctico

Obtém-se o ácido láctico a partir de diversas matérias-primas, subprodutos ou resíduos da indústria alimentícia, como soro do queijo, melaço, glicose de milho. Empregam-se, também, resíduos de elevada DBO (demanda bioquímica de oxigênio), como os das indústrias de papel e polpa de celulose, aglomerados que contêm polímeros de açúcar.

Os substratos utilizados são principalmente a glicose, lactose e sacarose. Porém, substratos amiláceos como de milho, batata e mandioca podem ser empregados, desde que pré-hidrolisados enzimaticamente.

A concentração em açúcares do mosto é ajustada na faixa de 5 a 20% de acordo com o microrganismo, a matéria-prima e o processo empregado.

pH - O pH, para propiciar elevado rendimento, deve-se situar nas proximidades da neutralidade ou na faixa levemente ácida. É importante manter o pH constante, pois conforme a acidez aumenta, ocorre uma inibição da fermentação.

Tempo de fermentação - a fermentação se completa entre 1 a 7 dias, mas a média é de 5 a 7 dias.

Rendimentos - a média é de 85 a 90% em relação ao açúcar consumido (fermentado). O ácido formado é uma mistura racêmica.

A utilização do ácido láctico

- é usado em alimentos, em fermentações, produtos farmacêuticos, cosméticos e também na indústria química.
- na alimentação, é usado como acidulante em produtos de confeitaria, na fabricação de extratos, essências, sucos de frutas, refrigerantes e outros. É empregado, ainda, na conservação de carnes, de vegetais e de pescado.
- na indústria têxtil é usado como mordente para estampar a lã. Emprega-se, ainda, no preparo de couros e pele. Na fabricação de plástico, utiliza-se o ácido láctico transparente, de qualidade superior.
- os lactatos são usados na indústria farmacêutica, de cosméticos e na alimentícia;
- os ésteres são usados principalmente na fabricação de tintas e vernizes, de plastificantes e também como solventes

Fermentação Láctica

As bactérias utilizadas industrialmente são as anaeróbias e microaerófilas, para a produção de ácido acético, láctico, glucônico, propiônico e outros, ou para a produção de alimentos como queijos, pickles, chucrutes, vinagres, leites fermentados e outros.

Os fungos também são usados na produção de ácidos por via fermentativa. Os principais ácidos são: cítrico, glucônico, fumárico, láctico, gálico, ácidos graxos e outros.

As bactérias envolvidas nos processos para obtenção de ácidos são principalmente as do gênero *Acetobacter* e *Lactobacillus*.

As bactérias podem formar inúmeros ácidos diferentes. São, no entanto, de maior interesse econômico algumas das bactérias produtoras de ácido láctico, ácido acético e de ácido propiônico.

Os ácidos são provenientes da degradação anaeróbica de glicídeos por oxidação incompleta.

Importância das bactérias lácticas na indústria de alimentos

Obtenção de vegetais fermentados: pickles, chucrute, azeitonas, forragem para gado.

Gênero *Leuconostoc* - produção de sabor no chucrute; laticínios: iogurtes, leites acidificados, queijos, manteiga;

Leuconostoc, *S. lactis*, *S. diacetylactis* e *L. cremoris*: são usados como fontes de flavorizantes na indústria de laticínios e são responsáveis pelas diferentes características conferidas à manteiga, queijos e iogurtes (produção de diacetil)

Carnes curadas: salames e outros embutidos;

Biopolímeros: espessantes; expansor plasmático (plasma para repor volume em grandes hemorragias).

Flavorizantes: produção de diacetil/acetoína a partir do citrato no leite 1g/L.

Aspectos negativos da presença das bactérias ácido-lácticas na indústria

- Produção de acidez e aromas indesejáveis (diacetil) em: vinhos, sucos, cervejas e outras bebidas destiladas: Ex. *Pediococcus pernicius* e *P. damnosus*, encontrados na cerveja.
- Deterioração de produtos cárneos, vegetais e frutas.
- A síntese de biopolímeros por *Leuconostoc mesenteroides*, consome sacarose: na indústria açucareira, reduzindo o rendimento e provocando o entupimento de filtros, bombas e tubulações.

4. Produção de Ácido Propiônico

Microrganismos : ***Propionibacterium***

Matérias-primas : fonte de carbono
- lactose, sacarose, glicose; fonte
de nitrogênio - milhocina, peptona.
Tiamina e riboflavina estimula o
crescimento das Bactérias
Propiônicas

Processo : glicose -- glicólise ---
ácido pirúvico ---- ácido succínico -
-- descarboxilação --- ácido
propiônico

Produção de Aminoácidos

1. Produção de ácido glucônico

Muitos microrganismos podem sintetizar aminoácidos a partir de compostos nitrogenados inorgânicos. A taxa e a quantidade de síntese de alguns aminoácidos podem exceder as necessidades celulares para a síntese protéica, resultando na excreção dos mesmos para o meio ambiente.

Alguns microrganismos são capazes de produzir quantidades de aminoácidos (lisina, ácido glutâmico, triptofano) suficientes para justificar seu emprego comercial. Muitas espécies de microrganismos, especialmente bactérias e fungos, são capazes de produzir grandes quantidades de ácido glutâmico.

Espécies dos gêneros *Micrococcus*, *Arthrobacter* e *Brevibacterium* são usadas na produção industrial do ácido glutâmico (produzem no mínimo 30g de aminoácido/L de meio).

A produção e excreção do ácido glutâmico depende da permeabilidade celular. O aumento da permeabilidade da célula pode ser obtida das seguintes maneiras:

- Deficiência de biotina;
- Adição de ácidos graxos saturados ou derivados de ácidos graxos;
- Adição de ácido oléico em mutantes nutricionais (ácido oléico auxotófos);
- Deficiência de glicerol para glicerol auxotróficos.
- Adição de penicilina, na fase logarítmica de crescimento

Todas as linhagens produtoras de ácido glutâmico necessitam de biotina, coenzima essencial na síntese de ácidos graxos. Biotina > 5mg/L, aumenta a síntese de ácido oléico, o que resulta em uma membrana com alto conteúdo de fosfolipídeos, originando células incapazes de excretar o ácido glutâmico formado (25-35mg de ácido glutâmico/mg massa seca) é acumulado intracelularmente.

O meio de cultura para produção de ácido glutâmico contém, em geral, um carboidrato, peptona, sais inorgânicos e biotina em uma concentração adequada. O ácido alfa-cetoglutarico, intermediário do ciclo de Krebs, é o precursor do ácido glutâmico. A conversão do ácido alfa-cetoglutarico até ácido glutâmico se realiza pela ação da desidrogenase glutâmica.

Um dos principais empregos do ácido glutâmico é como condimento e agente favorecedor de sabor, sob a forma de glutamato de sódio.

Produção de enzimas

Enzimas	Origem	Indústria	Aplicação
Amilase	<i>Aspergillus niger</i> , <i>A. oryzae</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Rhizopus spp</i> , <i>Mucor rouxii</i>	Panificação	suplemento de farinha, preparação de massa, alimentos pré-cozinhados, elaboração de xaropes
Celulase	<i>Aspergillus niger</i> , <i>Trichoderma viride</i>	Cerveja	preparação de concentrados líquidos de café, clarificação sucos
Dextrano-sacarose	<i>Leuconostoc mens.</i>	Alimentar	dextrano para diversos uso
Glucosioxidase	<i>Aspergillus niger</i>	Alimentar	eliminação da glicose dos sólidos do ovo
Invertase	<i>Sacharomyces cereviase</i>	Alimentar	mel artificial
Lactase	<i>Sacharomyces fragilis</i>	Láctea	hidrólise da lactose
Lipase	<i>Aspergillus niger</i> , <i>Rhizopus spp</i> , <i>Mucor spp</i>	Láctea	sabor ao queijo
Pectinase	<i>Aspergillus niger</i> , <i>Rhizopus spp</i> , <i>Penicillium</i>	Alimentar	clarificação de vinho e de sucos de frutas
Protease	<i>Aspergillus oryzae</i> , <i>Bacillus subtilis</i>	Cerveja, Panificação, Alimentar	impede que a cerveja se enturva ao esfriar, abranda as carnes
Enzimas parecidas a renina	<i>Mucor</i>	Alimentar	coalhada do leite para fabricação de queijo

Bioconversões ou Biotransformações

São processos nos quais microrganismos convertem um composto a produtos relacionados estruturalmente. Compreendem apenas uma ou poucas reações enzimáticas (é diferente de processos fermentativos que apresentam várias sequências de reações).

- são usados comercialmente apenas quando as reações químicas convencionais são muito caras ou difíceis. Exemplos: transformações estereoseletivas, quando apenas um grupo de uma molécula, com vários grupos funcionais idênticos necessita ser modificado.
- a bioconversão, envolve o crescimento do organismo em grandes fermentadores, seguidos pela adição à um tempo apropriado de um composto químico a ser convertido
- O processo de bioconversão mais praticado é na produção de hormônios esteróides.

Bioconversão de esteróides - síntese de cortisona

- corticosteróides (cortisona) e hormônio adrenocorticotrófico (ACTH): usados com grande efeito no tratamento de artrite reumática.
- esteróides são importantes hormônios em animais, que regulam vários processos metabólicos. Podem ser obtidos de plantas e animais
- muitos microrganismos podem transformar esteróides, mas o grupo dos fungos são os mais importantes.
- alguns esteróides são usados na medicina humana: progesterona - ativo durante a gravidez; alguns esteróides são usados como sedativos, na terapia anti-tumores; cortisona - são anti-inflamatória, artrite reumatóide, doenças da pele, alergias
- a transformação dos esteróides requer o crescimento de um microrganismo capaz de efetuar a modificação desejada, num meio apropriado e sob condições controladas. Após ter ocorrido o crescimento adiciona-se o esteróide à cultura e a transformação química se realiza durante uma incubação ulterior. Remove-se a massa do desenvolvimento microbiano, extraindo-se, então, o esteróide transformado

Transformação de esteróides por fungos:

- Redução de ligações duplas nas posições 4,5 e 16, 17 e redução de grupos cetonas. Ex. *Epicoccum oryzae*
- Desidrogenação de esteróides na posição 1,2. Ex. *Fusarium solani*
- Hidroxilação: é a transformação mais importante. Nas posições 11 e 17 são bastantes produtivas. Hidroxilação em mais de uma posição - progesterona nas posições 6 e 11, por *Rhizopus arrhizus*.
- Epoxidação: *Curvularia lunata*. Crescimento em meio mínimo, reduz problemas com extração do produto. No final do crescimento, o esteróide a ser adicionado, é dissolvido em pequenas quantidades de solvente (0.5-2g/L). Após 20-40 h, a extração é realizada com solvente clorofórmio

Exemplos de Bioconversões efetuadas por microrganismos

- Síntese da vitamina C (*Acetobacter suboxydans*; *A. xylinum*)
- Transformação de antibióticos, produzidos semi-sinteticamente. Exemplo: enzima acilase penicilina (fúngica) usada na produção de penicilina. Isomerização da glicose para produção de frutose (enzima glicose isomerase)
- Transformação de pesticidas poluentes de solos e efluentes : Gêneros envolvidos: *Arthrobacter*; *Phanerochaete chrysosporium*; *Pseudomonas cepacia*, *P. aeruginosa*, entre outros

*Fungos de Interesse Industrial

Os fungos influenciam a vida do homem participando de processos desejáveis ou prejudiciais.

Os fungos encontram-se amplamente em todos os ecossistemas e habitats. Podem ser parasitas, simbiontes, sendo, em sua grande parte, saprófitos. Crescem onde existe matéria orgânica disponível, viva ou morta, geralmente apreciando calor e umidade. Água, solo, troncos, folhas, frutos, sementes, excrementos, insetos, alimentos frescos e processados, têxteis e inúmeros outros produtos fabricados pelo homem constituem substratos para o desenvolvimento de fungos.

Os Fungos na Biotecnologia

Muitas espécies de fungos tem sido testadas e utilizadas para a produção de substâncias de interesse industrial ou médico:

O etanol, ácido cítrico, ácido glucônico, aminoácidos, vitaminas, nucleotídeos e polissacarídeos são exemplos de metabólitos primários produzidos por fungos, enquanto que os antibióticos constituem importantes metabólitos secundários.

Além da aplicação em indústrias de fermentação, novos aspectos biotecnológicos têm sido explorados, inclusive de caráter ambiental, ou seja, os fungos podem atuar como agentes benéficos à melhoria do meio ambiente: Tratamento de resíduos líquidos e biorremediação de solos poluídos; Mineralogia e biohidrometalurgia; Produção de biomassa, incluindo proteína comestível; Tecnologia de combustíveis, particularmente na solubilização de carvão; Emprego em controle biológico

Leveduras

As leveduras, são fungos como os bolores, mas se diferenciam deles por se apresentarem predominantemente sob forma unicelular. Por serem células mais simples, elas crescem e se reproduzem mais rapidamente do que os bolores. Uma levedura típica consta de células ovais, que se multiplicam assexuadamente comumente por brotamento ou emulação. A maioria das leveduras, não vive no solo mas adaptou-se a ambientes com alto teor de açúcares, tal como néctar das flores e a superfície de frutas.

As leveduras fermentativas vêm sendo exploradas pelo homem há milhares de anos, na produção de cerveja e do vinho e na fermentação do pão, embora, somente no século XIX tenha sido reconhecida a natureza biológica dos agentes responsáveis por estes processos.

O principal agente da fermentação alcoólica, *Saccharomyces cerevisiae*, é uma levedura ascomicética.

Leveduras de interesse industrial

Saccharomyces cerevisiae, *S. calrsbergensis* - usadas na panificação, cerveja, vinhos, etc

S. fragilis, *S. lactis* - fermentam lactose (tratamento de resíduos); *S. roufii*, *S. mellis* - osmofílicas - frutas secas, xaropes, geléias; *S. baillie* - fermentação de sucos (cítricos)

Torulopsis osmofílica - leite condensado; *Candida* produz grande quantidade de proteínas, ataca leite e derivados; *Rodotorula* - deterioração de pickles, chucrutes e carnes (cor vermelha ou

amarelo) *Picchia*, *Hansenula*, *Debaryomyces*, *Thricosporum* - deterioração de pickles com produção de película, oxida o ácidoacético e altera o sabor; *Debaryomyces* - carnes, queijo e salsichas