

# Curso de Engenharia Bioquímica LOT 2041

## O que é a Engenharia Bioquímica?

**Engenharia Bioquímica:** ciência que integra os conhecimentos da Biologia com a estratégia e metodologia da Engenharia Química



Aplicação dos princípios da Engenharia Química aos sistemas Biológicos



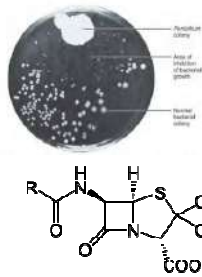
O objetivo principal da **Engenharia Bioquímica** é gerar soluções práticas às necessidades tecnológicas relativas aos processos biológicos

## Como Surgiu a Engenharia Bioquímica?

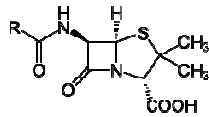
2ª guerra (1939-1945) – Transferir para escala industrial o processo de produção de Penicilina



Alexander Fleming (1928)



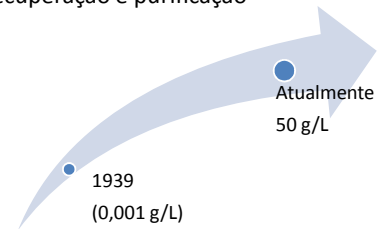
Crescimento do fungo *Penicillium notatum* e sua ação contra o crescimento bacteriano



Penicilina

## Desafios

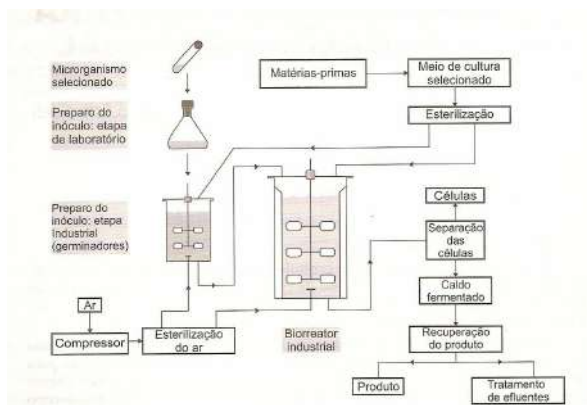
- Aumentar a concentração do produto
- Operação em grandes reatores
- Recuperação e purificação



Profissionais da área de Engenharia Química e de Ciências Biológicas se uniram para encontrar soluções às questões inerentes à ampliação de escala (complexas)

Foi neste período que surgiu um novo ramo da **Engenharia Química**, que mais tarde por suas peculiaridades recebeu o nome de **Engenharia Bioquímica**

## Principais Etapas de um Bioprocesso



## PRINCIPAIS ETAPAS DE UM BIOPROCESSO

- Seleção do Micro-organismo
- Preparo da matéria-prima (meio de cultura)
- Esterilização (equipamento, meio e ar)
- Bioprocesso (reator principal)
- Separação e purificação dos produtos
- Tratamento da água de consumo e águas residuais
- Tratamento do efluente sólido e gasoso da planta

Diante das complexidades e particularidades dos Bioprocessos, podemos dividi-los em três estágios

- 1) A etapa que antecede a biossíntese é denominada (**upstream**),
- 2) Biossíntese propriamente dita;
- 3) A etapa posterior a transformação (**downstream**).

## COMPARAÇÃO ENTRE OS PROCESSOS BIOQUÍMICOS E OS PROCESSOS QUÍMICOS TRADICIONAIS

**Processos Químicos:** Transformação realizada por catalisadores químicos.

### Processos Bioquímicos:

*Enzimáticos:* Transformação realizada por catalisadores biológicos (enzima) na ausência de seres vivos.

*Fermentativos ou Biológicos:* Transformação realizada pelos microrganismos (biocatalisadores).

Bioprocessos	Processos Químicos
Decorrentes de atividade biológica	Decorrentes de reações químicas
Catalisadores de alta especificidade	Catalisadores não específicos
Condições brandas de T, P e pH	Condições drásticas de T, P e pH
Maiores volumes	Menores volumes
Podem requerer esterilidade	Não requerem esterilidade

## Vantagens e Desvantagens dos Processos Bioquímicos

### VANTAGENS

- ✓ Temperaturas mais brandas (gasto menor de energia)
- ✓ Pressão atm (condições mais seguras)
- ✓ pH menos extremo (mais seguro)
- ✓ Maior especificidade
- ✓ Biodegradáveis e fontes renováveis

## DESVANTAGENS

- ✓ Presença de muitas substâncias juntamente com o produto final (células, produtos metabólicos, nutrientes residuais, etc..) o que dificulta a purificação
- ✓ Produtos normalmente muito diluídos
- ✓ Contaminação pode comprometer o processo
- ✓ Baixa velocidade da reação

O sucesso de um dado Bioprocesso depende da correta definição de :

- ✓ AGENTE BIOLÓGICO (Microorganismos)
- ✓ MATÉRIA-PRIMA (Meio de Cultura)
- ✓ PROCESSO DE ESTERILIZAÇÃO (Meios e equipamentos)
- ✓ BIORREATOR (Forma de Condução do Processo)
- ✓ RECUPERAÇÃO DO PRODUTO

Estes devem ser definidos de forma conjunta (aspectos biológicos e econômicos)

## MICROORGANISMOS

✓ **Isolamento a partir de fontes naturais** (obtenção de novas linhagens de interesse industrial).

Atividade que envolve muito trabalho, relativamente de custo elevado, mas com resultado de grande importância (isolamento de linhagem melhor produtora ou ainda a descoberta de novos produtos).

As grandes empresas de antibióticos e enzimas mantêm programas nesta área.

✓ **A compra em coleção de culturas** (ATCC, NRRL) é bastante viável.

✓ **Obtenção de mutantes e recombinantes** (melhoramento genético)

Manutenção e a preservação de microrganismos são etapas de extrema importância para assegurar a sua viabilidade e atividade, bem como prevenir mudanças genéticas que podem levar à redução ou perda das propriedades fenotípicas desejadas

## CARACTERÍSTICAS DESEJÁVEIS DE MICROORGANISMOS

- ✓ Apresentar elevada eficiência na conversão de substrato em produto (custo da matéria –prima)
- ✓ Permitir elevado e rápido acúmulo de produto no meio de cultivo (produtividade e custos de recuperação)
- ✓ Não produzir substâncias incompatíveis com o produto
- ✓ Não ser patogênico (riscos ambientais)

- ✓ Apresentar estabilidade quanto ao comportamento fisiológico
- ✓ Não exigir condições de processo muito complexas
- ✓ Tolerância e resistência a substâncias tóxicas
- ✓ Não exigir meios de cultura dispendiosos (economia do processo)

Técnicas da Biologia Molecular e da Engenharia Metabólica vêm sendo utilizadas para se maximizar essas propriedades desejáveis em um agente biológico

## MATÉRIA-PRIMA

A viabilidade técnica e econômica são aspectos relevantes que devem ser considerados na escolha da matéria-prima.

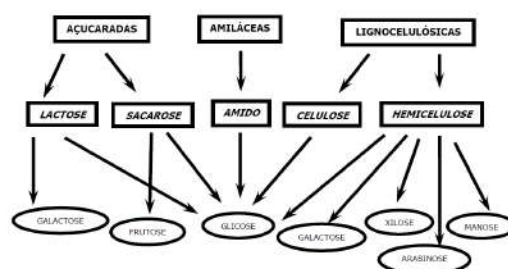
## CARACTERÍSTICAS DESEJÁVEIS DA MATÉRIA-PRIMA

- ✓ Atender as necessidades nutricionais do micro-organismo e permitir a formação do produto de interesse;
- ✓ Baixo custo de obtenção, beneficiamento, transporte e estocagem;
- ✓ Auxiliar no controle do processo (pH e espuma)
- ✓ Elevada disponibilidade e facilidade de padronização dos componentes;
- ✓ Não contribuir para dificultar os processos de separação do produto

Uma grande variedade de matérias-primas, geralmente provenientes da agroindústria, é utilizada como fonte(s) de substrato/carbono/energia e outros nutrientes.

A matéria-prima pode representar até 75% dos custos totais (uma das razões pelo crescente interesse no aproveitamento de resíduos agro-industriais e florestais como matérias-primas para uma grande variedade de bioconversões

## Principais matérias-primas glicídicas e seus substratos correspondentes



## Açucaradas

✓ Monossacarídeos solúveis: facilmente extraídos e convertidos prontamente a produto(s), como por exemplo: sacarose, glicose, frutose e lactose (cana de açúcar, beterraba, melão, soro de leite etc);

## Amiláceas

✓ Polissacarídeos insolúveis, que precisam de tratamento moderado para solubilização e hidrólise, antes da conversão a produto(s) como por exemplo: amido de milho, mandioca, trigo, cevada, batata etc;

## Lignocelulósicas

✓ Polissacarídeos insolúveis altamente resistentes, que necessitam de pré-tratamento físico, seguido de hidrólise química ou enzimática para produzir substratos na forma monomérica, que serão convertidos a produto(s), como por exemplo: celulose e hemicelulose de matérias-primas lignocelulósicas

Tabela 2.1 - Composição aproximada de alguns tipos de matérias lignocelulósicas (HOWARD et al., 2003; SAHA, 2003).

Matérias Lignocelulósicas	Celulose (%)	Hemicelulose (%)	Lignina (%)
Madeira dura	40-55	24-40	18-25
Madeira mole	45-50	25-35	25-35
Casca de nozes	25-30	25-30	30-40
Sabugo de milho	45	35	15
Papel	85-99	0	0-15
Palha de trigo	30	50	15
Palha de arroz	32,1	24	18
Sementes de algodão	80-95	5-20	0
Fibra de milho	15	35	8
Bagaço de cana de açúcar	40	24	25

Matéria prima	Potencial para produção de bioetanol (L/ton)
Cana de açúcar	70
Beterraba	110
Batata doce	125
Batata	110
Mandioca	180
Milho	360
Arroz	430
Cevada	250
Trigo	340
Sorgo	60
Biomassas lignocelulósicas	280

## Operações de Esterilização (Meios, Ar e Equipamentos)

Considerando os grandes volumes de meios e de ar (processos aeróbios), :

Como eliminar os micro-organismos (filtração ou aquecimento)

Se escolhermos aquecimento (contínuo ou descontínuo) em qual regime de tempo e temperatura

## BIORREATOR Configuração - Forma de Condução

✓No Biorreator ocorrem vários fenômenos (químicos, físicos e, naturalmente, biológicos). Por essa razão, no projeto de um biorreator deve-se levar em conta: a cinética do bioprocesso, a transferência de massa e de calor, e o controle da fisiologia microbiana.

✓A forma de condução do processo é de vital importância para atingir resultados que possam ser transferidos para larga escala

✓A operação de biorreatores de grande porte, do ponto de vista técnico e econômico, praticamente exige o emprego de microrganismos não patogênicos, os quais podem ser manuseados sem riscos ambientais.

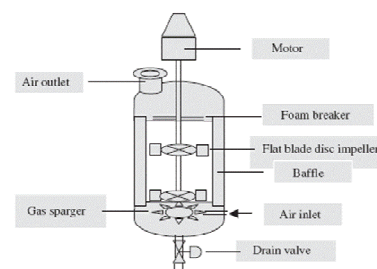
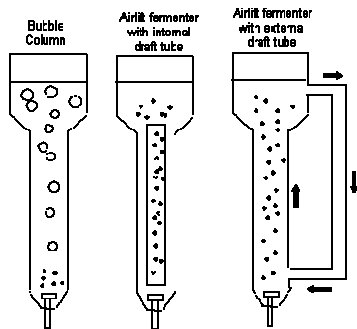


FIG. 6.3. Stirred tank bioreactor.

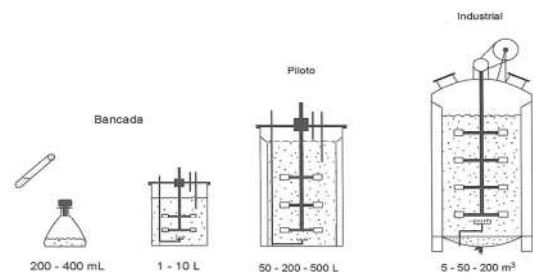


## Modos de Operação de Bioprocessos

- ✓DESCONTÍNUO
- ✓CONTÍNUO
- ✓DESCONTÍNUO ALIMENTADO

A escolha da forma de condução será função da Cinética do Bioprocesso (Síntese do produto de forma associada, semi-associada e não associada ao crescimento microbiano).

## Extrapolação de Escala



### Ampliação de escala

- Utiliza-se os dados de laboratório para estabelecimento das variáveis de operação na escala industrial

### Redução de escala

- Fundamental importância para o estabelecimento de inovações tecnológicas ao processo (novos lotes de matéria prima; novas linhagens)

A extrapolação de escala constitui em um dos grandes desafios da Engenharia Bioquímica.

Muitas vezes ao se ampliar a escala de produção, obtêm-se resultados diferentes e insatisfatórios àqueles obtidos em escalas reduzidas (laboratorial e piloto).

Isto se deve seguramente ao fato das condições ambientais não terem sido mantidas constantes, afetando, conseqüentemente, o comportamento das células do agente biológico em questão

**Grupo I**

- Capacidade variando de 100 litros até 2m<sup>3</sup>.
- Ex: cultivo de patogênicos ou crescimento de células animais ou vegetais. *Produtos ligados a saúde (rigor na assepsia)*

**Grupo II**

- Capacidade variando de 10 a 200 m<sup>3</sup> (10.000 a 200.000 litros).
- Ex: produção de enzimas, antibióticos, vitaminas (*rigor na assepsia*)

**Grupo III**

- Capacidade de milhares de m<sup>3</sup> (1.000.000 litros).
- Ex: fermentação alcoólica, tratamento biológico de efluentes. *Exigem pouco ou nenhum cuidado de assepsia*

Aula 1 - Eng. Bioquímica - Profa. Inês Roberto - 2015 43

## Separação e Purificação de Bioprodutos

Aula 1 - Eng. Bioquímica - Profa. Inês Roberto - 2015 44

A opção pela(s) operação(ões) de separação será influenciada pelo tamanho do próprio bioprocessamento e do valor do produto.

**Grau de Pureza:** Qual é o grau de pureza requerida (ex. extratos enzimáticos brutos ou enzima purificada)

**Forma Final:** Qual é a forma final exigida para um dado produto (produto cristalizado, liofilizado, líquido concentrado, prensado).

Aula 1 - Eng. Bioquímica - Profa. Inês Roberto - 2015 45

O projeto dos equipamentos que irão compor esta seção será função de:

- ✓ Localização do produto (intracelular ou extracelular), tamanho molecular
- ✓ Concentração, solubilidade, polaridade, volatilidade do produto
- ✓ Propriedades físico-químicas do meio de fermentação, como viscosidade, densidade, impurezas e partículas indesejáveis.

Aula 1 - Eng. Bioquímica - Profa. Inês Roberto - 2015 46

## Tratamento Biológico de Efluentes

Aula 1 - Eng. Bioquímica - Profa. Inês Roberto - 2015 47

A tecnologia de tratamento de efluentes difere ligeiramente da tecnologia de obtenção de bioprodutos industriais. Para o tratamento de efluentes, são dispensados os cuidados assépticos ou da manutenção de culturas puras, como ressaltado anteriormente.

Aula 1 - Eng. Bioquímica - Profa. Inês Roberto - 2015 48



Dentre os processos biológicos tradicionais destacam-se:

- ✓ **Lodos ativados** (processo contínuo e aerado, com reciclo da microbiota floculante);
- ✓ **Digestão anaeróbia**, que além de reduzir a carga orgânica produz metano;
- ✓ **Nitrificação**, processo que possibilita a oxidação de amônia a nitrito e, posteriormente, a nitrato, produzindo um efluente final com baixa demanda bioquímica de oxigênio.

Outros tipos de processo incluem: lagoas aeradas, biodiscos, filtros percoladores, reatores seqüenciais descontínuos. Ressalta-se que muitas vezes faz-se necessária a combinação de processos para efetiva degradação do material orgânico e inorgânico.

Table 2  
Some major industrial fermentation products

	Production* (metric tons)	Microorganism	Separation method	Applications
Citric acid	1,200,000	<i>A. niger</i>	Extraction	Food
Ethanol	26,000,000	<i>S. cerevisiae</i>	Distillation	Fuel
Glutamate (MSG)	1,000,000	<i>C. glutamicum</i>	Crystallization	Flavoring
Lactic acid	400,000	<i>Lactobacillus</i> sp.	Extraction	Food, Plastics
Lysine	800,000	<i>C. glutamicum</i>	Crystallization	Feed
Penicillin	60,000	<i>P. chrysogenum</i>	Extraction	Drug
Xanthan gum	100,000	<i>X. campestris</i>	Precipitation	Food, Oil drilling

\*2006 data from personal communication with industry sources.

Some fermentation products and downstream-processing steps used in their recovery and purification

Product	Concentration (g/L)	Major steps used in downstream processing
Ethanol	70–120	Stripping, distillation
Organic acids	50–100	Precipitation / Solvent extraction, crystallization
Antibiotics (Penicillin)	10–30	Filtration, solvent extraction, crystallization, drying
Amino Acids	1–100	Filtration, precipitation, crystallization, drying
Xanthan gum	25–50	Alcohol precipitation, centrifugation, drying
Enzymes	2–25	Precipitation, adsorption, chromatography
Vitamin B <sub>12</sub>	0.02–0.06	Flocculation, filtration, adsorption, crystallization

## Considerações Finais Desafios Tecnológicos Atuais

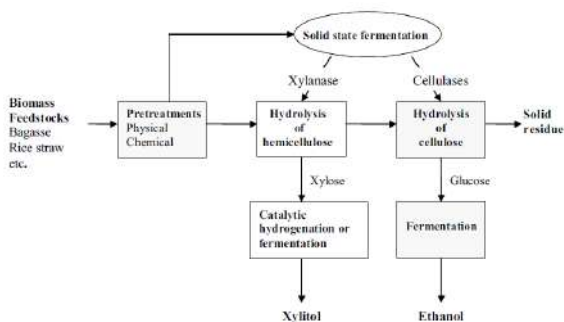


Fig. 9. An integrated biorefinery with solid state fermentation to produce xylanase and cellulase for the hydrolysis of hemicellulose and cellulose to xylose and glucose, which are then used to produce xylitol and ethanol, respectively.

## Bibliografia

**Biotechnologia Industrial.** Willibaldo Schmidell; Urgel de Almeida Lima; Eugenio Aquarone; Walter Borzani (Coordenadores). Volume 2. Engenharia Bioquímica. 2001. Editora Edgard Blucher.

**Séries em Biotecnologia.** Nei Pereira Jr., Elba Pinto da Silva Bon, Maria Antonieta Ferrara. Volume 1. Tecnologia de Bioprocessos – Rio de Janeiro: Escola de Química/UFRJ, 2008. Biblioteca Nacional