Engenharia Bioquímica

Licenciatura em Biotecnologia

Aula 1

11 de Fevereiro de 2013

Módulo 1. Componente Teórica
João Noronha

1. Introdução aos bio reatores batch, fed-batch, e contínuos, e caso particular dos reatores em "solid state".
2. Termodinâmica e estequiometria do crescimento celular. Cinéticas de crescimento, de produção e de inibição.
3. Principais questões de transferência de massa e de energia em bio reatores aplicadas ao dimensionamento preliminar de bio reatores.
4. Aplicações - "estudos de caso" - ex: produções industriais de ácido láctico (solid state), de etanol (fermentação batch), corantes alimentares (beta caroteno em reatores contínuos), de "biodiesel" (produção de combustíveis alternativos por utilização direta de matérias-primas ou reaproveitamento industrial de óleos vegetais) e de bioplásticos.

Avaliação – Teóricas

- Teste(s) de avaliação (60%)
- Apresentação de um trabalho de grupo relativo ao desenvolvimento de um bio produto - ex: cerveja, ácido cítrico, produção de colagénio, etc. (40%)

Módulo 2. Componente Prática
Marta Henriques

Exercícios de aplicação e prática laboratorial à escala piloto:

- EB1 - Reator batch para crescimento de biomassa. Avaliação e controlo das variáveis operatórias.
- EB2 - Determinação da taxa específica máxima de crescimento, da constante de Monod e do rendimento em biomassa, em sistema batch.
- EB3 - Reator contínuo para crescimento de biomassa. Avaliação das evolução da biomassa e da concentração de substracto em função da taxa de diluição.
- EB4 - Fermentação batch com biomassa imobilizada / não imobilizada. Avaliação dos fenómenos de transferência de massa durante o processo fermentativo.
- EB5 - Determinação do coeficiente de transferência de massa (kla) no crescimento microbiano.

Avaliação práticas

1) Trabalhos práticos (65%) - execução prática, tratamento e discussão de resultados

2) Relatório Formal (35%) de um dos trabalhos práticos efetuados

(ver com a Professora Marta Henriques)

Página da UC e contacto

- www.esac.pt/noronha
  - Descritor da disciplina
  - Sumários
  - Apontamentos
- Gabinete: Bloco Z
- noronha@esac.pt
- Em último caso…. 934584171

E nunca de manhã cedo!!!

Engenharia Bioquímica

- Condução de processos biológicos numa escala industrial (Lee, 2001)
- Trata-se da aplicação conjunta de ferramentas multidisciplinares (matemática, física e biologia) para a quantificação, "scaling-up", melhoramento e otimização de bioprocessos, devendo incluir também uma componente de análise de riscos e de oportunidades de investimento (?)

Alguns marcos da engenharia bioquímica

- Alimentos fermentados (iogurte, queijo, molho de soja, pickles, vinho e cerveja são alguns exemplos produtos produzidos via fermentativa, já com milénios de tradição)
- Os Aztecas do México cultivaram a Spirulina (alga unicelular) que utilizavam em sistemas de depuração de água e como fonte de proteína
- Explosivos foram fabricados na renascença, via fermentativa pelo uso de bactérias que nitrificavam amónia, presente em urina de cavalo
- Louis Pasteur no sec. XIX prova definitivamente a existência de microrganismos associados à bioconversão do açúcar em etanol e em ácido láctico
- Alexandre Fleming descobriu a penicilina (1928)
- Actualmente são produzidos numerosos produtos de elevadíssimo valor comercial de que são exemplos antibióticos, solventes, amino ácidos (ex. lisina e ácido glutâmico), ácidos orgânicos, biopesticidas, probióticos, corantes para a indústria têxtil (*indigo* pela *Pseudomonas cepacia*) e para a indústria alimentar (ex. *β*-caroteno) fermentações conduzidas ao nível de resíduos industriais possibilitam a obtenção de produtos com interesse económico

Produtos da Engenharia Bioquímica

Área	Produtos
Antibióticos	Penicilina, cefalosporina, tetraciclina
Enzimas	Amilases, proteases, lipases
Enzimas específicos	enzimas de restrição , endonucleases, streptoquinases
Biomassa	Leveduras ,"starters diversos", algas
Biopolímeros	goma de xantano, polihidroxido, alcanoatos, dextrano
Biopesticidas	*bacillus thuringinensis,* caculovirus
Alimentos	molho de soja, tofu, café, iogurte, vinagre, queijo, cacau, pão, etc..
pigmentos	b-caroteno, astaxantina
Indústria farmacêutica	Interleukina, factor de necrose para tumores, interferon ,vacinas, hormonas de crescimento, anticorpos

Tipos de fermentações

- Produção de células (biomassa) como produto
  - Produção de fermento de padeiro
  - Produção de células consumo humano ou animal (single cell protein)
- Produção de enzimas microbiológicas
  - Amilases, proteases, celulases, etc..
- Produção de metabolitos microbiológicos
  - Etanol, ácido cítrico, ácido glutâmico, etc..
- Produção de produtos recombinantes
  - Interferon, insulina
- Modificação de um composto que é adicionado à fermentação – Biotransformação
  - Produção de vinagre (etanol em ácido acético)
  - Esteroides, antibióticos, prostaglandinas

Fases de desenvolvimento da indústria de fermentação

Fase	Principais produtos	Tipo de biorreactores	Controlo do processo	Modo de operação	Instalação piloto ?	Seleção de estirpes
I <1900	Álcool	Barris de madeira Vasos de Cobre (cerveja)	Utilização de termómetro, densímetro e permutador de calor	Descontínuo	Não	Culturas puras de leveduras (Carlsberg 1896)
	Vinagre	Barris, tabuleiros, leitos percoladores		Descontínuo	Não	Uso de Bom vinagre

Reatores descontínuos

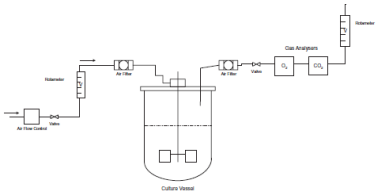


Figure 4.1 *A diagram of a simple batch fermentation. The system is 'closed', containing all the nutrients required by the organism prior to inoculation, except for the gaseous requirement, which is continuously added to, and removed from, the reactor via sterilising-grade hydrophobic filters*

Practical Fermentation Technology Edited by Brian McNeil and Linda M. Harvey
© 2008 John Wiley & Sons, Ltd. ISBN: 978-0-470-01434-9

Fases de desenvolvimento da indústria de fermentação

Fase	Principais produtos	Tipo de biorreactores	Controlo do processo	Modo de operação	Instalação piloto ?	Seleção de estirpes
II 1900 a 1940	Fermento de padeiro, Ácidos cítrico e láctico e acetona/ butanol	Vasos de aço (200 m^3) para acetona/ butanol Distribuidores de ar para fermento de padeiro Agitação mecânica em vasos pequenos	Medidores de pH para controlo assíncrono Controlo da temperatura	Descontínuo (Batch) Semi-contínuo (Fed-Batch)	Quase nenhumas	Uso de culturas puras

Reator semi-contínuo (fed-batch)

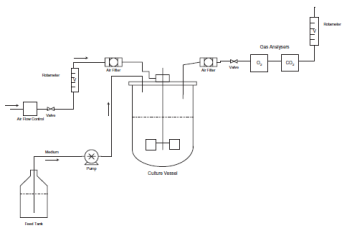


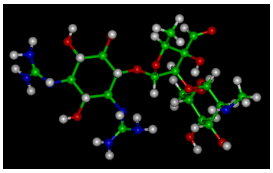
Figure 4.7 *A simple fed-batch fermentation set-up. Feeding begins at a predetermined point during the process, often at the end of the exponential growth phase. The feed consists of a super-concentrated version of the process medium, allowing control of the growth rate and carbon flux through the system*

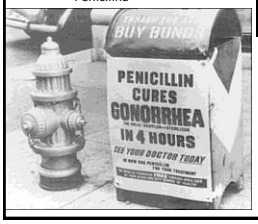
Practical Fermentation Technology Edited by Brian McNeil and Linda M. Harvey
© 2008 John Wiley & Sons, Ltd. ISBN: 978-0-470-01434-9

Fases de desenvolvimento da indústria de fermentação

Fase	Principais produtos	Tipo de biorreactores	Controlo do processo	Modo de operação	Instalação piloto ?	Seleção de estirpes
III Desde 1940	Penicilina, estreptomicina e outros antibióticos, giberilina, aminoácidos, nucleótidos, biotransformações, enzimas	Vasos arejados com agitação mecânica; Primeiros fermentadores com operação asséptica	Eléctrodos de pH e Oxigénio autoclaváveis Uso de sistemas de controlo automático com posterior computorização	Descontínuo e Semi-Contínuo (mais comum) Introdução de culturas contínuas em cerveja e alguns metabolitos primários	Começam a ser comuns	Os programas de mutação e selecção são essencias

Penicilina





Estreptomicina

Fases de desenvolvimento da indústria de fermentação

Fase	Principais produtos	Tipo de biorreactores	Controlo do processo	Modo de operação	Instalação piloto ?	Seleção de estirpes
IV Desde 1960	Proteína microbiana (single-cell protein) a partir de hidrocarbonetos e outras matérias-primas	Vasos com circulação induzida por ar comprimido	Uso de sistemas de controlo por computador	Culturas contínuas com reciclagem do meio	Muito importante	Engenharia genética de estirpes microbianas
V Desde 1979	Produção de compostos recombinantes (insulina, interferão)	Fermentadores desenvolvidos nas fases III e IV	Sistemas de controlo desenvolvidos nas fases II e IV	Descontínuo Alimentação contínua Contínuo	Muito importante	Clonagem de genes em bactérias e células animais

Practical Fermentation Technology Edited by Brian McNeil and Linda M. Harvey
© 2008 John Wiley & Sons, Ltd. ISBN: 978-0-470-01434-9

Reator Contínuo (chemostat)

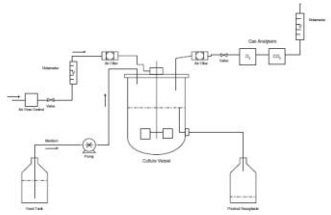


Figure 4.12 A continuous fermentation set-up that can easily be used in the laboratory. Feed is pumped into the reactor, increasing the volume within the reactor. At the same time, the overflow weir allows the excess volume to flow into the product tank. This ensures that the volume within the reactor remains constant

Fermentação

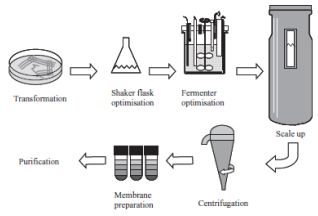


Figure 3.1 *Illustration of the key unit operations in producing E. coli cultures for membrane protein production*

Practical Fermentation Technology Edited by Brian McNeil and Linda M. Harvey
© 2008 John Wiley & Sons, Ltd. ISBN: 978-0-470-01434-9

Fases do processo de fermentação

1. Formulação dos meios utilizados para o crescimento dos microrganismos no inóculo e no fermentador
2. Esterilização dos meios, fermentadores e equipamento auxiliar
3. A produção de uma cultura pura ativa em quantidade suficiente para inocular o fermentador
4. O crescimento do organismo no fermentador sob condições ótimas para a produção do produto desejado
5. A extração do produto e a sua purificação
6. O tratamento dos efluentes produzidos no processo

Processo de fermentação típico

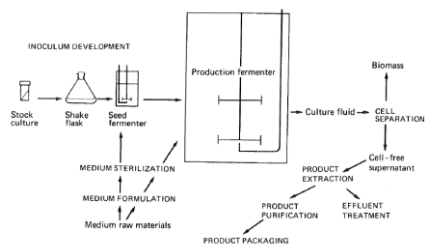


FIG. 1.3. A generalized schematic representation of a typical fermentation process.

Stanbury, Peter F., 1994. Principles of fermentation technology