

SBM SOCIEDADE
BRASILEIRA DE
MICROBIOLOGIA

18

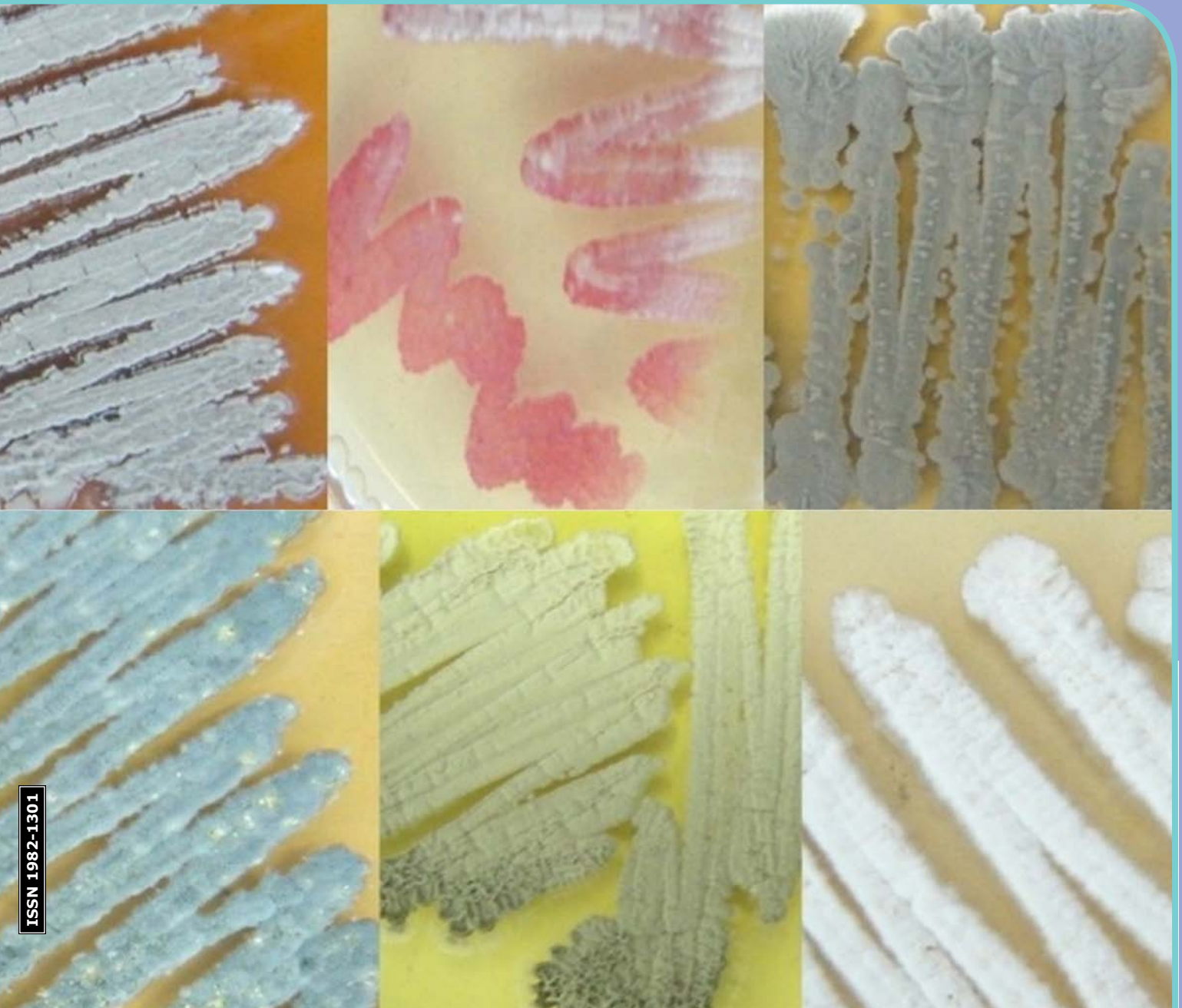
MICROBIOLOGIA

in foco

informativo sbm • ano 5 / 2012

**A revista do
Microbiologista.**

www.sbmicrobiologia.org.br



ISSN 1982-1301

Prezado Microbiologista,

É com grande satisfação que publicamos a 18ª edição da Revista Microbiologia in Foco. Continuamos com os objetivos iniciais selecionando temas abrangentes e de interesse na divulgação da Microbiologia.

Voltamos a enfatizar que esperamos e contamos com a colaboração ativa dos leitores sugerindo temas e encaminhando artigos para publicação.

Esperamos que comunidade de microbiologistas continue a colaborar ativamente para que essa iniciativa possa alcançar o objetivo de divulgar a microbiologia nos mais diversos setores da comunidade brasileira.

Lembramos que a revista é de informação e divulgação e é composta de várias seções:

Seção 1: Ciência in foco: artigos de informação sobre temas relevantes

Seção 2: Resenhas: comentários sobre livros

Seção 3: Resumos comentados de trabalhos científicos relevantes

Seção 4: Homenagem a profissionais com destaque na fundação da SBM e no desenvolvimento da Microbiologia

Seção 5: Ensino em Microbiologia

Seção 6: Departamento in Foco: Departamentos em destaque: Notícias de interesse da Microbiologia

Seção 7: Leitor in Foco: espaço aberto ao leitor

Seção 8: Empresas in Foco - Informes publicitários: espaço destinado a empresas

Agradecemos a todos que colaboraram com a edição número 18 da revista Microbiologia in Foco e contamos com a colaboração dos colegas para futuros artigos.



Adalberto Pessoa Junior
Presidente

Marina B. Martinez
Editora

Carlos P. Taborda
Editor

Ciência in Foco

**ACTINOMICETOS DE AMBIENTES
BRASILEIROS: UM BAÚ DE ENZIMAS
INTERESSANTES 5**

**A CASA DE LOUIS PASTEUR (1822-
1895) DE VOLTA PARA O PASSADO:
UMA VISÃO DE FUTURO! 14**

**SORGO SACARINO: MATÉRIA-PRIMA
PARA PRODUÇÃO DE ETANOL . . . 18**

***Staphylococcus* spp.: ELES NEM
SEMPRE SÃO OS VILÕES 26**

SELO DE QUALIDADE SBM 33

SBM IN FOCO 34

AGENDA IN FOCO 35

**CURSO DE ESPECIALIZAÇÃO
E APERFEIÇOAMENTO EM
MICROBIOLOGIA 36**

FIQUE SÓCIO 37

Expediente

SBM in Foco
Revista da Sociedade Brasileira
de Microbiologia

Ano 5, nº 18
São Paulo: SBM, 2012

Periodicidade Trimestral

Editores:

Carlos P. Taborda e Marina B. Martinez

Tiragem:

2000 exemplares - Circulação Nacional
Distribuição gratuita para sócios SBM

Impressão:

Vox Editora Ltda.
(11) 3871-7300

Diagramação:

Hermano Design Editorial
hermano@nextis.com

Responsabilidade autoral:

Todos os artigos assinados são de
responsabilidade dos respectivos autores

Responsabilidade editorial:

Tífani Luri N. Hanashiro

ACTINOMICETOS DE AMBIENTES BRASILEIROS: UM BAÚ DE ENZIMAS INTERESSANTES



Rosalie Reed Rodrigues Coelho, André Luiz Grigorevski-Lima, Marcella Novaes Franco, Mariana Menezes Quadros de Oliveira, Rodrigo Pires do Nascimento

1. INTRODUÇÃO

Os actinomicetos (Fig 1) são bactérias filamentosas pertencentes à classe Actinobacteria que envolve todas as bactérias Gram positivas com índice G+C elevado, entre 65-75% G+C, possuindo ainda um genoma que varia entre 2.5 e 9.7 Mb (Miao & Davies, 2010). Dentro desta classe estão enquadrados na ordem *Actinomycetales*, compreendendo 14 sub-ordens e 44 famílias

(Goodfellow and Fiedler, 2010). No entanto, é interessante ressaltar que a cada ano são apresentadas na literatura propostas de novas espécies, gêneros ou famílias, e portanto a classificação destes microrganismos se encontra em constante renovação.

Estes microrganismos compreendem o principal grupo produtor de compostos bioativos. Devido a sua grande diversidade metabólica, aqueles pertencentes ao gênero *Streptomyces*, o mais comu-

mente isolado e amplamente estudado, são considerados os mais importantes do ponto de vista industrial e sendo a principal fonte de antibióticos, antineoplásicos e agentes antitumorais, entre outros. Espécies deste gênero têm se destacado por produzirem mais de 70% dos 10 000 metabólitos secundários bioativos já documentados produzidos por actinomicetos (Bérdy, 2005). Além disso, os actinomicetos também são importantes produtores de enzimas. Por

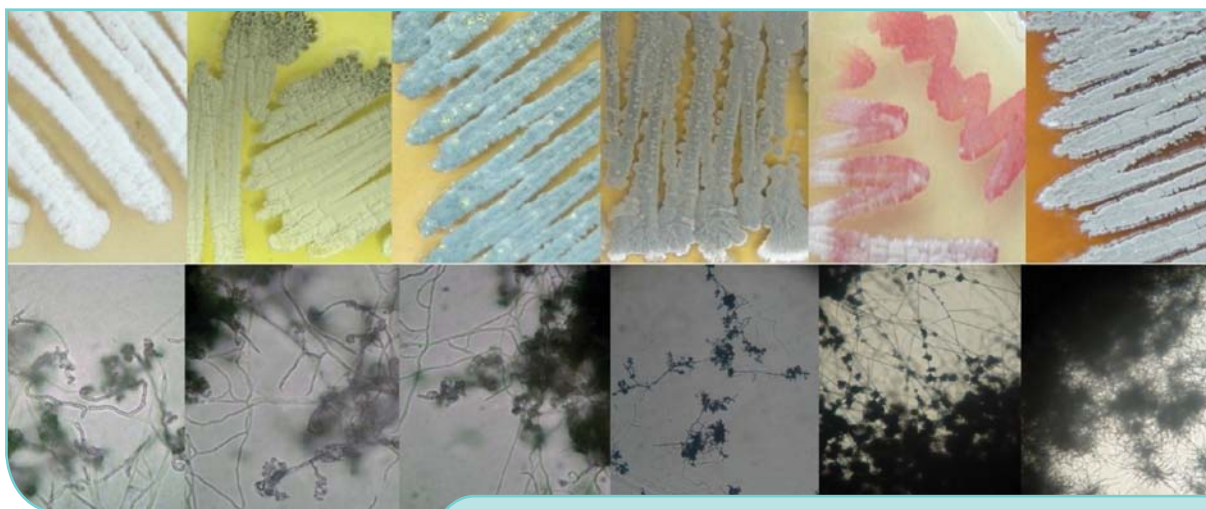


Figura 1. Características macro e microscópicas dos actinomicetos.

possuírem uma ampla diversidade ecológica e bioquímica, e por possuírem também uma alta capacidade de produção de metabólitos secundários, podem ser considerados uma excelente fonte para a procura de novas enzimas com novas especificidades.

A procura por actinomicetos produtores de enzimas de interesse remonta aos anos 50 (Muggleton e Webb, 1952, Ennever e Warner, 1952, Howell e Fitzgerald, 1953). Em 1988, Peczyńska-Czoch e Mordarski, fizeram um levantamento a cerca das principais enzimas produzidas por actinomicetos descritas na literatura, e que poderiam ser consideradas promissoras para aplicações biotecnológicas. Foram capazes de citar cerca de 35 tipos diferentes, incluindo várias oxidoredutases, transferases, hidrolases, liases, isomerases e sintases, de utilidade não só nas indústrias farmacêuticas, alimentícias, têxteis, de detergentes, e na biologia molecular, como também no tratamento de efluentes, na preservação ambiental, na recuperação de áreas degradadas e no controle biológico.

Na presente revisão serão abordados alguns exemplos de métodos de seleção de actinomicetos isolados de solos brasileiros e sua possível aplicação biotecnológica, baseado nos trabalhos desenvolvidos nos últimos anos no laboratório de Biotecnologia de Actinomicetos do Instituto de Microbiologia Paulo de Góes da UFRJ. Será discutida, especificamente, a produção de três enzimas de interesse biotecnológico: as celulasas e xilanases, que são capazes de degradar a celulose e hemicelulose, respectivamente os polímeros naturais mais abundantes na superfície terrestre, e em seguida as proteases, com importância em diversos ramos da biotecnologia, tanto na área médica como na área industrial.

2. SELEÇÃO DE ACTINOMICETOS PRODUTORES DE ENZIMAS DE INTERESSE BIOTECNOLÓGICO A PARTIR DE SOLOS BRASILEIROS

Desde a descoberta, na década de quarenta, do primeiro antibiótico produzido por um actinomiceto, e a constata-

ção de que estes poderiam ser grandes produtores deste tipo de substância, a procura por novas espécies produtoras de novos compostos bioativos foi intensa. Nos trinta anos seguintes mais de 2000 antibióticos foram identificados, a maioria produzida por actinomicetos do gênero *Streptomyces*. A partir dos anos 70-80 começou a haver um declínio no número de compostos bioativos descritos produzidos pelos componentes deste gênero, com uma queda para 30-35% do total em comparação com os 75-80% descritos anteriormente (Brédy, 2005).

A partir de então começaram a ser identificados também antibióticos provenientes de outros gêneros, ou mesmo de outras espécies menos comuns do gênero *Streptomyces*. Estes actinomicetos foram chamados de "raros", ou "não usuais", pois sua frequência de isolamento pelos métodos convencionais é bem menor do que a frequência de isolamento dos membros mais comuns do gênero *Streptomyces* (Donadio *et al.*, 2002). A partir destes microrganismos, a chance de se obter novas moléculas, sejam elas substâncias bioativas, ou enzimas, é aumentada, pois não se corre o risco de se "redescobrir" o que já havia sido descoberto anteriormente.

A baixa ocorrência dos actinomicetos ditos raros, em contraste com os do gênero *Streptomyces*, é devido ao fato de serem difíceis de serem isolados, difíceis de serem cultivados e difíceis de serem mantidos sob condições convencionais.

Várias estratégias tem sido desenvolvidas para a procura dos actinomicetos ditos raros. Estratégias relacionadas às condições de isolamento, como por exemplo a utilização de meios de cultura alternativos, maiores períodos de incubação em diferentes temperaturas, até o pré-aquecimento do solo e a adição de compostos antibacterianos específicos já foram sugeridas nos anos 80 (Nolan e Cross, 1988). Técnicas de cultivo "in situ" (Gavriš *et al.*, 2008), e isolamento de actinobactérias endofíticas também tem sido descritas já há algum tempo (Bascom-Slack *et al.*, 2009; Gurmey & Mantle, 1993; Castillo *et al.*, 2007). Uma abordagem bem interessante, que tem sido desenvolvida mais recentemente por diversos grupos de pesquisa, envolve a procura de actinomicetos em

ambientes extremos, tais como solos de regiões remotas (Zhang *et al.*, 2010), solos vulcânicos, lagos salinos, ou ambientes marinhos (Fenical *et al.*, 2006). Neste último caso tem sido explorados não apenas sedimentos nos fundos dos mares (Maldonado *et al.*, 2009), inclusive de mares profundos (Pathom-aree *et al.*, 2006) mas também esponjas marinhas (Jiang *et al.*, 2007), pepino do mar (Kurahashi *et al.*, 2010) e algas (Lee *et al.*, 2008). Estas diversas abordagens, onde a exploração de novos solos e de novos "habitats" tem sido priorizada para a determinação da diversidade de actinomicetos ambientais, tem revelado uma grande variedade de novas espécies produtoras de novos antibióticos e outros compostos bioativos (Goodfellow & Fiedler, 2010).

Os solos tropicais, em particular os brasileiros como os da Mata Atlântica sob vegetação de floresta, e os sob vegetação de cerrado no planalto central, são "habitats" bastante peculiares, com características próprias e únicas, e com atividade biológica extremamente rica (Bull *et al.*, 1992). Estes solos possuem uma ampla biodiversidade e têm sido pouco estudados quanto às suas características microbiológicas. Tais características lhes conferem uma excelente fonte para a busca de microrganismos produtores de novas enzimas e/ou novos compostos bioativos. Segundo Hawksworth (1998), das 16013 espécies fúngicas descritas na literatura entre 1981 e 1990, 49% eram provenientes de países tropicais, o que evidentemente pode ser extrapolado para outros grupos microbianos, inclusive o dos actinomicetos.

Em 1978 Coelho e Drozdowicz verificaram que os actinomicetos eram bastante abundantes nos solos de cerrado brasileiros. Baseado nestes resultados o Laboratório de Biotecnologia de Actinomicetos da UFRJ iniciou um amplo estudo visando avaliar a biodiversidade de solos brasileiros, tendo em vista, principalmente, a seleção de estirpes produtoras de enzimas de interesse biotecnológico. Uma das abordagens empregadas para este fim foi a aplicação da técnica de dispersão e centrifugação diferencial, descrita por Hopkins *et al.* (1991). Esta técnica utiliza agentes quelantes e ultra-

-som para separar células que ficariam mais firmemente aderidas às partículas de solo, facilitando assim a liberação das mesmas para o meio líquido diluente, e seu posterior isolamento. Através da utilização deste procedimento para o isolamento de actinomicetos a partir de solos de cerrado e floresta foram obtidas contagens até cinco vezes maiores quando comparado com a técnica convencional das diluições em placas (Semêdo *et al.*, 2001). Assim também, a aplicação da mesma técnica para a obtenção de actinomicetos quitinolíticos de solo de cerrado pré-incubado com quitina forneceu contagens nove vezes maiores que a técnica convencional (Gomes *et al.*, 1999).

Algumas das estirpes isoladas destes solos, pertencentes ao gênero *Streptomyces*, foram estudadas quanto a sua caracterização taxonômica em nível de espécie. Observou-se que a maioria delas não se acomodava nas matrizes de identificação propostas por Williams *et al.* (1983a e b), enquanto que os dendrogramas obtidos mostravam que estas formavam agrupamentos segregados dos outros grupos já conhecidos (Semêdo *et al.*, 2001). Estes resultados poderiam indicar a presença de possíveis espécies novas. Na verdade, uma das estirpes isoladas de solo de floresta, selecionada como celulolítica (Semêdo *et al.*, 2000), a estirpe *Streptomyces* sp M7a, quando estudada ao nível molecular, foi identificada como uma espécie nova, e nomeada *Streptomyces drozdowiczii* (Semêdo *et al.*, 2004). Da mesma maneira a estirpe *Streptomyces* sp RCQ1071 também foi caracterizada como uma nova espécie, e foi nomeada *Streptomyces lunalinharesii* (Souza *et al.*, 2008). Outras duas estirpes estão em fase final de caracterização e também parecem ser espécies novas, uma peptidase positiva com atividade de queratinase, a *Streptomyces* sp 594, e uma celulolítica, a PESB 25. Assim sendo supõe-se que várias outras destas estirpes, isoladas de solos tropicais brasileiros, também sejam espécies novas, nunca antes isoladas, ou ainda espécies com características enzimáticas ainda por explorar. Até o presente mais de 700 estirpes já foram isoladas e mantidas em nosso laboratório.

3. CELULASES

A celulose, o maior carboidrato sintetizado pelos vegetais, é um homopolissacarídeo compreendendo cerca de 8000 -12000 unidades de β -D-glucopiranosose, unidas entre si por ligações β -1,4 (Tao *et al.*, 2010), sendo a celobiose, o dissacarídeo 4-O- β -D-glucopiranosil-D-glucopiranosose, a unidade repetitiva do polímero (Jiang *et al.*, 2011). O ataque às fibras de celulose é realizado por intermédio das celulases, que agem em sítios onde a estrutura do substrato é mais acessível, ou seja, onde a fibra perdeu seu aspecto reticulado (cristalino), em proveito de um aspecto mais frouxo e amorfo (Bhat, 2000).

A degradação microbiana da celulose ocorre através de um sistema multienzimático, compreendendo basicamente três enzimas que agem sinergicamente na hidrólise da celulose: as endoglucanases (E.C. 3.2.1.4), que hidrolisam o polímero de celulose internamente, expondo finais redutores e não redutores, as celobiohidrolases (exocelulase, E.C. 3.2.1.91), que agem nos terminais redutores e não-redutores, liberando celobiose, e as celobiasas (β -glucosidase, E.C. 3.2.1.21), que são responsáveis pela clivagem de pequenas cadeias, tanto de celooligossacarídeos como de celobiose, até glicose, que poderá então ser utilizada nas diversas vias metabólicas do microrganismo (Haichar *et al.*, 2007; Zhang e Lynd, 2004).

As celulases têm sido investigadas principalmente no que diz respeito ao seu potencial como aditivos na indústria de detergentes, na indústria têxtil, e também na bioconversão de biomassa agrícola em produtos com valor comercial. Neste aspecto tem havido uma atenção crescente no que diz respeito a conversão de biomassa em etanol, considerado atualmente o combustível mais ambientalmente adequado como alternativa aos combustíveis fósseis (Lin e Tanaka, 2006). Dentro das pesquisas visando um avanço na tecnologia da fermentação do etanol, o estudo das enzimas utilizadas na hidrólise de materiais lignocelulósicos, incluindo celulases e xilanases tem um papel de destaque, visto que compreendem uma das etapas mais onerosas do processo.

Várias das estirpes isoladas de solos brasileiros foram examinadas quanto à capacidade de produzirem atividade celulolítica. Duas estirpes em especial, a estirpe M7a, nomeada *S. drozdowiczii*, e a *Streptomyces* sp M23, pareceram ser altamente promissoras em biotecnologia, visto possuírem atividade de endo e exocelulase numa ampla faixa de pH e a temperaturas (Semêdo *et al.*, 2000). A estirpe *S. drozdowiczii* M7a foi estudada em mais profundidade, procurando-se um meio de cultura de baixo custo para a sua produção. Foram testadas diversas fontes de C e N oriundas de resíduos agro-industriais, com resultados bastante promissores.

A milhocina, que compreende água de maceração do milho, vem sendo considerado um importante sub-produto da indústria de moagem do milho, visto ser de baixo custo, rica em vitaminas e aminoácidos, e disponível em larga escala (Parekh *et al.*, 1999). É capaz de substituir diversas fontes de nitrogênio orgânico, como extrato de levedura, peptona e triptona. Este resíduo barato tem sido utilizado com sucesso em uma variedade de bioprocessos como a produção de solventes e antibióticos (De Azeredo *et al.*, 2006a) e enzimas (Chen *et al.*, 1997; Grigorevski-Lima *et al.*, 2005; Nascimento *et al.*, 2009; Nascimento *et al.*, 2011).

Nos estudos com a estirpe *S. drozdowiczii* a milhocina foi empregada substituindo adequadamente o extrato de levedura, cujo preço exorbitante pode inviabilizar qualquer produção em níveis comerciais. Da mesma maneira foi utilizada a carboxi metil celulose (CMC), originária da modificação química do bagaço de cana, com preços também bastante acessíveis (Grigorevski-Lima *et al.*, 2005). O sobrenadante obtido do crescimento da estirpe nesse tipo de meio de cultura foi utilizado para testes de aplicação industrial, não só em formulações para a indústria de detergentes, como na indústria têxtil (Grigorevski-Lima *et al.*, 2005), com resultados promissores.

A estirpe *Streptomyces malaysiensis* AMT-3 também foi capaz de crescer em substratos de baixo custo, no caso, com o dreche cervejeiro como principal fonte de C, e a milhocina como principal fonte de N, produzindo celulase (Nas-

cimento et al., 2009). Mais uma vez o uso de milhocina se mostrou bastante promissor quando comparado com extrato de levedura, confirmando o grande potencial deste resíduo na produção de compostos bioativos por actinomicetos. As celulases desta estirpe também apresentaram características biotecnológicas promissoras quanto ao perfil de temperatura (40-60°C) e pH (4.0), com níveis equiparáveis aos das celulases comerciais, como a IndiAge Super L (Nascimento et al., 2009).

Outra estirpe estudada foi a *Streptomyces viridobrunneus* SCPE-09, isolada de um solo dentro de um canal, em uma usina de cana de açúcar no município de Ribeirão, Pernambuco (Da Vinha et al., 2011). A concentração das fontes de carbono e nitrogênio, bem como sua natureza, interferem significativamente na produção de enzimas celulolíticas por actinomicetos. Assim sendo, desta vez foram testados dois substratos de baixo custo como principal fonte de carbono, o farelo de trigo e o bagaço de cana-de-açúcar em diferentes concentrações, e novamente a milhocina como fonte de nitrogênio orgânico, também em diferentes concentrações. Foi feito um estudo baseado num planejamento experimental, onde valores otimizados de 1,1 U/mL (bagaço de cana-de-açúcar) e 2,0 U/mL (farelo de trigo) de endoglucanase foram obtidos. Estes resultados foram considerados bastante promissores, já que foram superiores àqueles obtidos por outras estirpes de estreptomicetos já descritas na literatura, quando crescidas em resíduos de baixo custo. Aliado aos ótimos de temperatura (50°C) e pH (5.0), os resultados como um todo obtidos com a estirpe *S. viridobrunneus* SCPE 09 sugerem uma possível aplicação do extrato enzimático no reaproveitamento de resíduos agro-industriais para obtenção de açúcares fermentáveis visando à bioconversão em bioetanol (Da Vinha et al., 2011).

4. HEMICELULASES

As hemiceluloses são heteropolissacarídeos, não-celulósicos, encontrados em tecidos vegetais, compostos de polímeros complexos de carboidratos, onde as xilanas e as glucomanas são

os principais componentes. A xilana é o polissacarídeo hemicelulósico mais comum, presente na parede celular de plantas terrestres, e representando de 20-40% do peso seco do vegetal. Corresponde, depois da celulose, ao polissacarídeo renovável mais abundante em a natureza, com um alto potencial para a degradação com formação de um produto final (xilose) utilizável (Thomson, 1993; Béguin e Aubert, 1994, Sunna e Antranikian, 1997).

Os polímeros constituintes das hemiceluloses são de alto peso molecular, alguns insolúveis, podendo estar associados à celulose e à lignina. As hemiceluloses são também altamente variáveis em suas estruturas, e embora o número de ligações químicas diferentes seja limitado, elas apresentam uma grande variabilidade em seus arranjos moleculares, sendo classificadas, de acordo com seus monômeros componentes, como xilanas, arabinoxilanas, arabinanas, galactomananas, mananas, arabinogalactana, entre outras (Shallom e Shoham, 2003).

A heterogeneidade e complexidade estrutural das xilanas resultam em uma abundância de enzimas xilanolíticas com variações na especificidade, nas seqüências primárias, e no tamanho, além naturalmente das limitações pela especificidade ao substrato (Collins et al., 2005). Dentre as enzimas do complexo enzimático destacamos as β -1,4-endoxilanas (β -1,4-*D*-xilan xilanolidase, EC 3.2.1.8), que despolimerizam a xilana pela hidrólise randômica do esqueleto principal, e as β -xilosidas (β -1,4-*D*-xilósido-xilohidrolase, EC 3.2.1.37), que quebram pequenos oligossacarídeos.

Vários microrganismos são capazes de produzir múltiplas xilanases, adicionalmente a outras enzimas do complexo xilanolítico (Biely et al., 1997, Sunna e Antranikian, 1997, Collins et al., 2005). Estas apresentam diversas propriedades físico-químicas, estruturais, atividades específicas, bem como a sobreposição de especificidades, aumentando desse modo a eficiência e extensão da hidrólise, como também a diversidade e complexidade das enzimas (Sunna e Antranikian, 1997, Collins et al., 2005).

A maior aplicação das xilanases hoje em dia é na indústria de polpa e papel,

onde altas temperaturas (55-70°C) e pH alcalino do substrato da polpa requerem a utilização de enzimas termo-alcalofílicas para um bi branqueamento eficiente (Beg et al., 2000, Collins et al., 2005). No entanto outras aplicações, como na indústria alimentícia também podem ser citadas. Neste caso, xilanases adaptadas ao frio, que podem ser ativas em temperaturas baixas ou intermediárias, poderiam ser as mais aptas para o uso na indústria de panificação, como no preparo da massa de pão, processo esse geralmente conduzido à temperaturas abaixo de 35°C (Collins et al., 2005).

A atividade de xilanase foi examinada para 162 das estirpes isoladas, e dentre elas foi selecionada a estirpe *Streptomyces* sp AMT-3, isolada de solo de cerrado (Nascimento et al., 2003). Neste caso a estirpe foi identificada como *Streptomyces malaysiensis*, uma espécie isolada de solos da Malásia por Al-tai e colaboradores (1999), e que ainda não havia sido descrita em outros pontos geográficos de nosso planeta. Foi observada inicialmente uma alta atividade de endoxilanas em meio contendo xilana, extrato de levedura e triptona. Posteriormente a estirpe também foi capaz de produzir quantidades consideráveis da enzima em meio mínimo de xilana e sais minerais, apresentado novamente resultados promissores em substratos agro-industriais, de baixo custo, como por exemplo o farelo de trigo (Nascimento et al., 2002). Valores de até 70 U/mL de atividade de endoxilanas foram obtidos, que quando comparados com dados da literatura mostra sua alta eficiência. O extrato bruto contendo atividade xilanolítica também apresentou uma melhor atividade entre 55 e 65°C e pH 6.0, e reteve 50% de sua atividade a 55°C por 20 horas (Nascimento et al., 2002). Ao se utilizar xilanas comerciais como xilana "oat spelts", xilana "birchwood" ou xilana "larchwood", os valores de atividade xilanásica foram ainda bem mais elevados, chegando a 120 U/mL (Nascimento et al., 2003). Como visto anteriormente, esta mesma estirpe também foi bastante promissora na produção de endoglucanases, e por tudo isso foi então considerada uma boa produtora de biocatalizadores interessantes para aplicação industrial.

5. PEPTIDASES

As peptidases são uma classe única de enzimas que catalisam a hidrólise das proteínas através da clivagem de ligações peptídicas. As enzimas proteolíticas sintetizadas por microrganismos têm se tornado um atrativo para pesquisas devido a sua ampla aplicação nas diferentes áreas da indústria e medicina, bem como pela sua participação no metabolismo microbiano. Elas têm sido utilizadas nas indústrias do couro, farmacêutica e de alimentos, na hidrólise de substratos utilizados na preparação de meios microbiológicos e na alimentação parenteral, preparação de detergentes e em cosméticos. Na medicina, preparações enzimáticas são particularmente importantes para a limpeza de queimaduras, na remoção de tecidos necrosados e para lise de coágulos sanguíneos (Landau e Egorov, 1996).

Dentre as diversas estirpes proteolíticas isoladas de solos e ambientes tropicais brasileiros a *Streptomyces* sp. 594 se destacou. Esta estirpe foi isolada de solo de cerrado, e nosso objetivo inicial foi realizar um estudo visando a otimização da produção de proteases utilizando meios de cultura de baixo custo. Através de experimentos em frascos agitados foi concluído que o melão de cana de açúcar e a casitona eram boas fontes de C e N para a produção da enzima, e a cinética

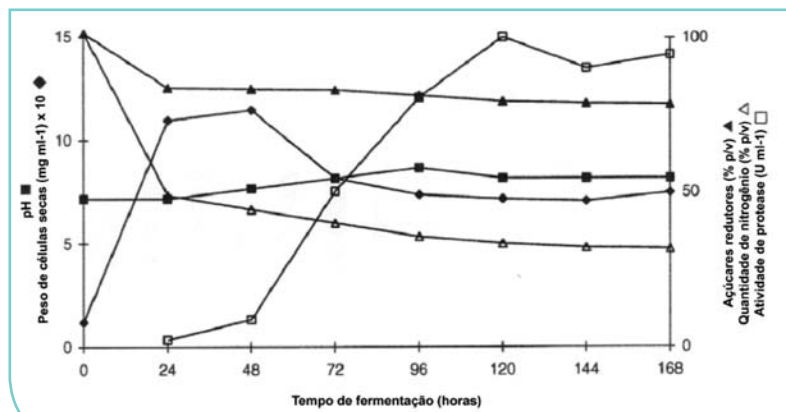


Figura 2. Cinética do crescimento celular, produção de protease, pH e açúcares redutores em fermentador de bancada, para *Streptomyces* sp 594.

de fermentação mostrou que a síntese da protease não estava associada ao crescimento da biomassa (De Azeredo *et al.*, 2003). Nesta etapa inicial a produção de proteases chegou a 20U/mL.

Um planejamento fatorial foi utilizado para a determinação das concentrações ótimas de melão (1,0%) e casitona (0,3%) para a produção enzimática, levando a um aumento na produção, ainda em frascos agitados, para 56 U/mL, correspondente a um incremento de cerca de 50%. Em seguida foi realizada uma otimização da fermentação em fermentador de bancada, onde as concentrações de 0,3% para casitona e 1,0% para melão foram mantidas, bem como os valores de pH inicial (7,0) e temperatura

de fermentação (30°C), em uma velocidade de aeração de 1vvm, o que levou a valores de atividade enzimática ainda maiores, agora 99 U/mL de proteases (Figura 2, De Azeredo *et al.*, 2004).

O extrato enzimático obtido foi estudado quanto aos ótimos pH e temperatura, e foi verificado que o mesmo apresentava características de termofilia, com ótimo de temperatura entre 55 e 70°C, e ótimo de pH em 6,0. O extrato enzimático era inibido por íons Cu^{2+} , mas sua atividade foi aumentada na presença de íons Ca^{2+} e Ba^{2+} em cerca de 100%. O preparado enzimático foi então considerado interessante para aplicações biotecnológicas (Fig 3, De Azeredo *et al.*, 2004).

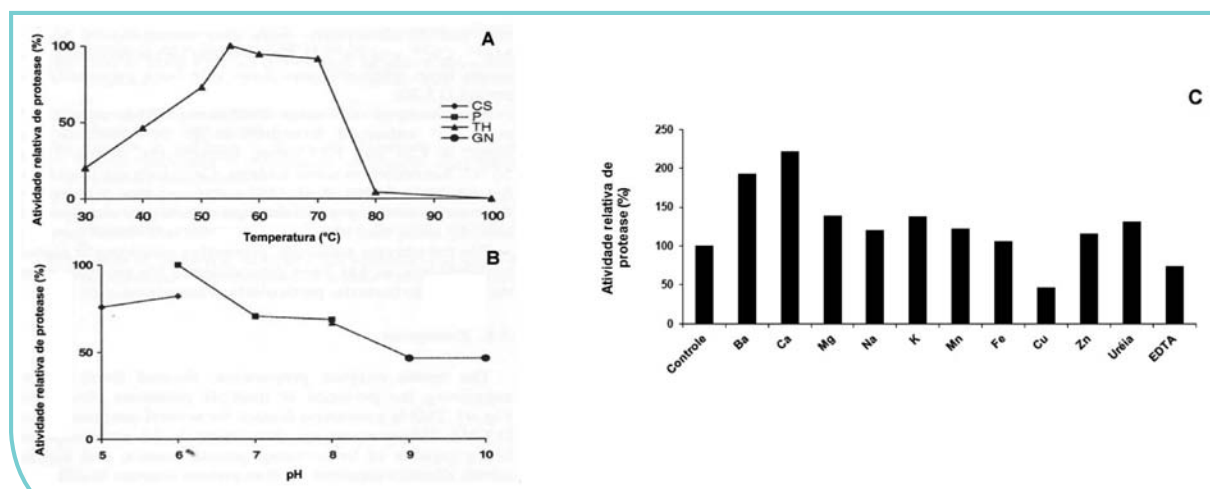


Figura 3. Efeito da temperatura a pH 7,0 (A); do pH em diferentes tampões (citrato de sódio, pH 5,0-6,0, fosfato, pH 6,0-7,0, tris-HCl, pH 7,0-8,0, glicina, pH 8,0-9,0) a 60°C (B) e da presença de compostos químicos (C) na atividade das proteases produzidas por *Streptomyces* sp 594 em meio de cultura otimizado

Dando continuidade, fomos procurar saber se esta estirpe também seria capaz de degradar pena de frango, sabidamente rica em queratina. Em experimentos prévios, realizados em meio sólido de agar - sais minerais em placas, foi verificado que tanto o farelo de pena de frango como também a pena de frango picada e a lã de ovelha foram adequa-

dos (Fig 4. A, B, C). Quando crescido em meio líquido mineral contendo pena de frango como única fonte de C e N, também pode ser observada a colonização das penas, quando comparado com a pena não inoculada (Fig 4, D, E).

Os experimentos realizados em meio líquido complexo, contendo penas de frango + melaço + casitona mostraram,

por microscopia, que a estirpe era capaz de atacar a pena de frango hidrolisando as bárbulas e ráquis (fig 5), confirmando a capacidade da estirpe de degradar um substrato queratinoso natural (De Azeredo *et al.*, 2006b).

Streptomyces sp 594 foi então testada visando a produção de peptidases utilizando como substrato o farelo de pena de frango, tendo sido adicionado também, num primeiro momento, o extrato de levedura e sais minerais no meio de cultura. Foram realizadas fermentações tanto em estado sólido como submersa. Os resultados mostraram que havia a produção de peptidases em ambas as condições (Fig 6, A e B, De Azeredo *et al.*, 2006b) Numa etapa seguinte foi utilizado um meio de cultura contendo apenas substratos de baixo custo, o farelo de frango como principal fonte de C, e a milhocina, em substituição ao extrato de levedura, como principal fonte de N. Neste caso tanto a fermentação submersa como a fermentação em estado sólido apresentaram resultados ainda melhores que os obtidos com extrato de levedura, tendo sido observados valores consideráveis de atividade de protease (Fig 6, C e D, De Azeredo *et al.*, 2006b).

Portanto, *Streptomyces* sp. 594 foi capaz de crescer em diferentes substratos queratinosos (lã de ovelha, pena de frango e farelo de frango) como única fonte de C e N, e de produzir proteases em meios de baixo custo, incluindo farelo de pena de frango, o que caracterizou esse processo como inovador, de baixo valor agregado e de caráter biotecnológico e ambiental.

Outras estirpes isoladas de solos brasileiros também foram caracterizadas como produtoras de peptidases: *Streptomyces cyaneus* (Petinate *et al.*, 1999), *Streptomyces alboniger* (Lopes *et al.*, 1999) e *Streptomyces malaysiensis* neste último caso utilizando também substratos de baixo custo, especificamente o farelo de trigo (Nascimento *et al.*, 2005) e o dreche cervejeiro, um resíduo da indústria cervejeira (Nascimento *et al.*, 2011).

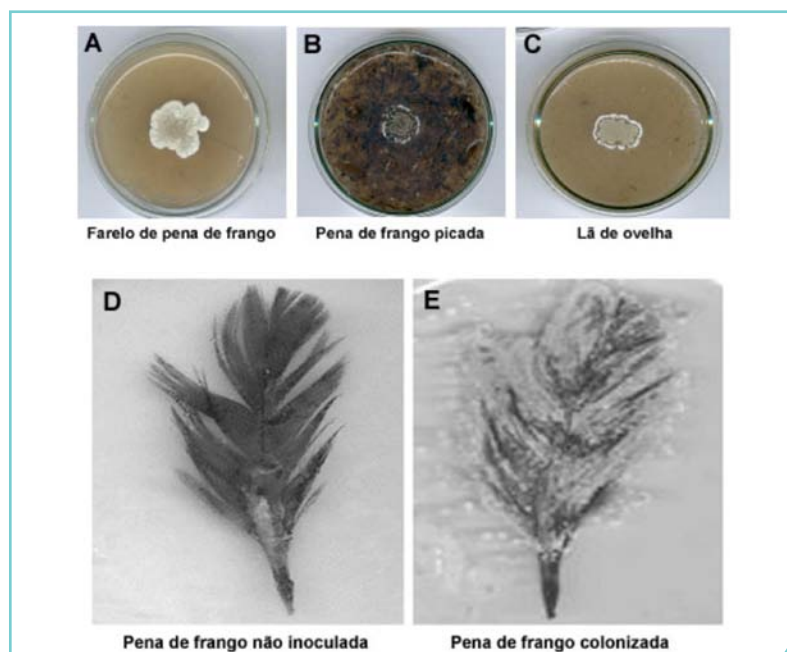


Figura 4. Crescimento de *Streptomyces* sp 594 em meio sólido de agar - sais minerais em placas, contendo diferentes fontes de queratina (A, B e C), e em pena de frango em meio líquido mineral (D – crescimento; E - controle, não inoculado)

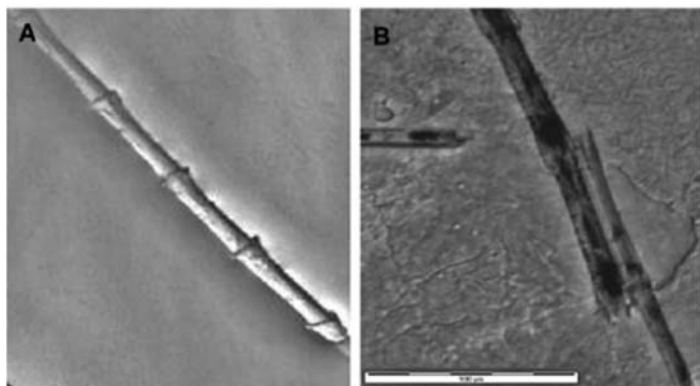


Figura 5. Degradação de penas de frango por *Streptomyces* sp. 594 em meio líquido complexo (A, controle não inoculado, e B, inoculado). Aumento de 40 vezes.

6. CONCLUSÕES

De acordo com os resultados aqui apresentados fica evidente que os solos tropicais brasileiros se mostraram

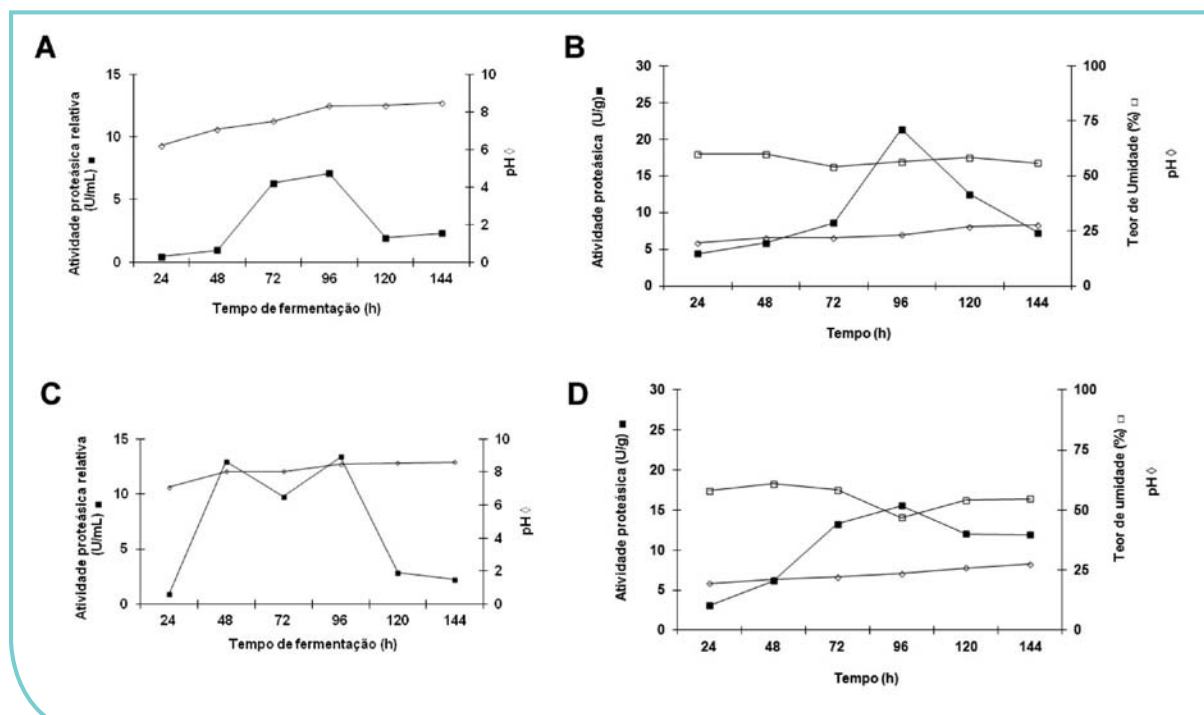


Figura 6. Cinética da produção de peptidases em farelo de pena de frango acrescido de extrato levedura em fermentação submersa (A) e em fermentação em estado sólido (B), ou acrescido de milhocina em fermentação submersa (C) e em fermentação em estado sólido (D).

habitats interessantes para a procura de novas espécies de actinomicetos com novas atividades enzimáticas. Duas espécies novas já foram descritas, e mais duas se encontram em fase final de descrição. Além disso, três diferentes tipos de enzimas foram exploradas e foi possível encontrar diversas características interessantes do ponto de vista biotecnológico, tanto no que diz respeito a produção de celulases e xilanases, como também de peptidases. Foi verificada também a possibilidade de utilização de substratos de baixo custo para a obtenção de um processo de produção enzimática economicamente viável.

7. BIBLIOGRAFIA

- AI-TAI, A.; KIM, B.; KIM, S. B.; MANFIO, G. P. AND GOODFELLOW, M. *Streptomyces malaysiensis* sp. nov., a new streptomycete species with rugose, ornamented spores. *International Journal of Systematic Bacteriology*, v. 49, p. 1395-1402, 1999.
- BASCOM-SLACK, C. A.; MA, C.; MOORE, E.; BABBS, B.; FENN, K.; GREENE, J. S.; HANN, B. D.; KEEHNER, J.; KELLEY-SWIFT, E. G.; KEMBAIYAN, V.; LEE, S. J.; LI, P.; LIGHT, D. Y.; LIN, E. H.; SCHORN, M. A.; VEKHTER, D.; BOULANGER, L.; HESS, W. M.; VARGAS, P. N.; STROBEL, G. A. AND STROBEL, S. A. Actinomycetes Isolated from Upper Amazonian Rainforests. *Microbial Ecology*, v. 58, p. 374-383, 2009.
- BEG, Q.K.; BHUSHAN, B.; KAPOOR, M.; HOONDAL, G.S. Production and characterization of thermostable xylanase and pectinase from *Streptomyces* sp. QG-11-3. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, v.24, p.396-402, 2000.
- BÉGUIN, P. & AUBERT, J.P. The biological degradation of cellulose. *FEMS Microbiology Reviews*, v.13, p. 25-58, 2004.
- BÉRDY, J. Bioactive Microbial Metabolites. *The Journal of Antibiotics*, v. 58, p. 1-26, 2005.
- BHAT, M.K. Cellulases and related enzymes in biotechnology. *Biotechnology Advances*, v.18, p. 355-383, 2000.
- BIELY, P.; VRSANSKÁ, M.; TENKANEN, M.; KUEPFEL, D. Endo- β -1,4-xylanase families: differences in catalytic properties. *Journal of Biotechnology*, v.57, p.151-166, 1997.
- BULL, A. T.; GOODFELLOW, M. AND SLATER, J. H. Biodiversity As A Source Of Innovation In Biotechnology. *The Annual Review of Microbiology*, v. 46, p. 219-252, 1992.
- CASTILLO, U.F.; BROWNE, L.; STROBEL, G.; HESS, W.M.; EZRA, S.; PACHECO, G.; EZRA, D. Biologically active endophytic *Streptomyces* from *Nothofagus* spp. and other plants in Patagonia. *Microbiology and Ecology*, v.53, p. 12-19, 2007.
- CHEN, C.; CHEN, J.L.; LIN, T.Y. Purification and characterization of a xylanase from *Trichoderma longibrachiatum* for xylooligosaccharide production. *Enzyme and Microbiology Technology*, v.21, p.91-96, 1997.
- COELHO, R. R. R. AND DROZDOWICZ, A. The occurrence of actinomycetes in a cerrado soil in Brasil. *Revue d' Ecologie & Biologie du Sol*, v. 15, p. 459-473, 1978.
- COLLINS, T.; GERDAY, C. & FELLER, G. Xylanases, xylanase families and extremophilic xylanases. *FEMS Microbiology Reviews*, v.29, p. 3-23, 2005.

- DA VINHA, F. N. M.; GRAVINA-OLIVEIRA, M. P.; FRANCO, M. N.; MACRAE, A.; BON, E. P. S.; NASCIMENTO, R. P. AND COELHO, R. R. R. Cellulase production by *Streptomyces viridobrunneus* SCPE-09 using lignocellulosic biomass as inducer substrate. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 164, p. 256–267, 2011.
- DE AZEREDO, L. A. I.; CASTILHO, L. R.; LEITE, S. G. F.; FREIRE, D. M. G. AND COELHO, R. R. R. Peptidase production by *Streptomyces* sp. isolated from Brazilian Cerrado soil. Optimization of culture medium employing statistical experimental design. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 105, p. 749-755, 2003.
- DE AZEREDO, L. A. I.; FREIRE, D. M. G., SOARES, R. M. A.; LEITE, S. G. F. AND COELHO, R. R. R. Production and partial characterization of thermophilic proteases from *Streptomyces* sp. isolated from Brazilian cerrado soil. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 34, p. 354-358, 2004.
- DE AZEREDO, L.A.I., LIMA, M.B., COELHO, R.R.R. AND FREIRE, D.M.G. Thermophilic protease production by *Streptomyces* sp. 594 in submerged and solid-state fermentations using feather meal. **Journal of Applied Microbiology**, v.100, p.641-647, 2006a.
- DE AZEREDO, L. A. I.; DE LIMA, M. B.; COELHO, R. R. R. & FREIRE, D. M. G. A low-cost fermentation medium for thermophilic protease production by *Streptomyces* sp. 594 using feather meal and corn steep liquor. **Current Microbiology**, v. 53, p. 335-339, 2006b.
- DONADIO, S.; MONCIARDINI, P.; ALDUINA, R.; MAZZA, P.; CHIOCCHINI, C.; CAVALETTI, L.; SOSIO, M. AND PUGLIA, A. M. Microbial technologies for the discovery of novel bioactive metabolites. **Journal of Biotechnology**, v. 99, p. 187-198, 2002.
- ENNEVER, J. J. AND WARNER, B. W. Phosphatase and the oral Actinomyces. **Journal of Dental Research**, v. 31, n. 1, p. 25-26, 1952.
- FENICAL, W. AND JENSEN, P. R. Developing a new resource for drug discovery: marine actinomycete bacteria. **Nature Chemical Biology**, v. 2, n. 2, p. 666-673, 2006.
- GAVRISH, E.; BOLLMANN, A.; EPSTEIN, S. AND LEWIS, K. A trap for in situ cultivation of filamentous actinobacteria. **Journal of Microbiological Methods**, v. 72, p. 257-262, 2008.
- GOMES, R. C.; SEMÉDO, L. T. A. S.; GUIMARÃES, A. C. C.; ALVIANO, C. S.; LINHARES, L. F. AND COELHO, R. R. R. Efficiency of the dispersion and differential centrifugation technique in the isolation of chitinolytic actinomycete populations from an acidic soil. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 15, p. 53-56, 1999.
- GOODFELLOW, M. AND FIEDLER, H. A guide to successful bioprospecting: informed by actinobacterial systematic. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 98, n. 2, p. 119-142, 2010.
- GRIGOREVSKI-LIMA, A. L.; NASCIMENTO, R. P.; BON, E. P. DA S. AND COELHO, R. R. R. *Streptomyces drozdowiczii* cellulase production using agro-industrial by-products and its potential use in the detergent and textile industries. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 37, p. 272–277, 2005.
- GURNEY, K. A. AND MANTLE, P. G. Biosynthesis of 1-N-methylalbo-noursin by an endophytic *Streptomyces* sp. isolated from perennial ryegrass. **Journal of Natural Products (Lloydia)**, v. 56, p. 1194–1198, 1993.
- HAICHAR, F. Z.; ACHOUAK, W.; CHRISTEN, R.; HEULIN, T.; MAROL, C.; MARAIS, M. F.; MOUGEL, C.; RANJARD, L.; BALESSENT, J.; BERGE, O. Identification of cellulolytic bacteria in soil by stable isotope probing. **Environmental Microbiology**, v.9, p.625–634, 2007.
- HAWKSWORTH, D. L. The extent of fungal diversity: where it is to be found and how much of it is new. In: Progress in Microbial Ecology. MARTINS, M. T. *et al.* (ed.). São Paulo: Sociedade Brasileira de Microbiologia, p. 11-16, 1998.
- HOPKINS, D. W.; MACNAUGHTON, S. J. AND O'DONNELL, A. G. A dispersion and differential centrifugation technique for representatively sampling microorganisms from soil. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 23, n. 3, p. 217-225, 1991.
- HOWELL JR., A. AND FITZGERALD, R. J. The production of acid phosphatase by certain species of Actinomyces. **The Journal of Bacteriology**, v. 66, n. 4, p. 437-442, 1953.
- JIANG, S.; SUN, W.; CHEN, M.; DAI, S.; ZHANG, L.; LIU, Y.; LEE, K. J. AND LI, X. Diversity of culturable actinobacteria isolated from marine sponge *Haliclona* sp. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 92, p. 405-416, 2007.
- JIANG, X.; GENG, A.; HE, N.; LI, Q. New isolated of *Trichoderma viride* strain for enhanced cellulolytic enzyme complex production. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v.111, p.121-127, 2011.
- KURAHASHI, M.; TUKUNAGA, Y.; SAKIYAMA, Y.; HARAYAMA, S.; YOKOTA, A. *Euzebya tangerina* gen. nov., a deeply branching actinobacterium isolated from the sea cucumber *Halothuria edulis* and proposal of *Euzebyaceae* fam. nov., *Euzebyales* ord. nov. and *Nitriliruptoridae* subclassis nov. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v.60, p.2314-2319, 2010.
- LANDAU, N. S. AND EGOROV, N. S. Proteolytic enzymes of *Nocardia minima*: Accumulation in the medium and some properties. **Microbiology**, v. 65, n. 1, p. 36-40, 1996.
- LEE, D. W.; LEE, J. M.; SEO, J. P.; SCHUMANN, P.; KIM, S. J. AND LEE, S. D. *Phycicola gilvus* gen. nov., sp. nov., an actinobacterium isolated from living seaweed. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 58, p. 1318-1323, 2008.
- LIN, Y.; TANAKA, S. Ethanol fermentation from biomass resources: current state and prospects. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v.69, p.627-642, 2006.
- LOPES, A.; COELHO, R.R.R.; MEIRELLES, M.N.L.; BRANQUINHA, M.H.; VERMELHO, A.B. Extracellular Serine-proteinases isolated from *Streptomyces alboniger*: partial characterization and Effect of Aprotinin on cellular structure. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.94, p.763-770, 1999.
- MALDONADO, L. A.; FRAGOSO-YÁÑEZ, D.; PÉREZ-GARCÍA, A.; ROSELLÓN-DRUKER, J. AND QUINTANA, E. T. Actinobacterial diversity from marine sediments collected in Mexico. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 95, p. 111-120, 2009.
- MIAO, V. AND DAVIES, J. *Actinobacteria*: the good, the bad, and the ugly. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 98, n. 2, p. 143-150, 2010.
- MUGGLETON, P. W AND WEBB, M. The exocellular bacteriolytic system of soil actinomycetes III. The separation and characterization of the proteolytic system. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 8, p. 526-536, 1952.
- NASCIMENTO, R. P.; COELHO, R. R. R.; MARQUES, S.; ALVES, L.; GÍRIO, F. M.; BON, E. P. S. AND AMARAL-COLLAÇO, M. T. Production and partial characterization of xylanase from *Streptomyces* sp. strain AMT-3 isolated from Brazilian Cerrado soil. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 31, p. 549–555, 2002.
- NASCIMENTO, R. P., MARQUES, S.; ALVES, L.; GÍRIO, F.; AMARAL-COLLAÇO, M. T.; SA-

- CRAMENTO, D. R. BON, E. P. S. AND COELHO, R. R. R. A novel strain of *Streptomyces malaysiensis* isolated from Brazilian soil produces high endo-b-1,4-xylanase titres. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 19, p. 879–881, 2003.
- NASCIMENTO, R. P.; D'AVILA-LEVY, C.M.; SOUZA, R.F.; BRANQUINHA, M.H.; BON, E.P.S.; PEREIRA JR., N.; COELHO, R.R.R. Production and partial characterization of extracellular proteinases from *Streptomyces malaysiensis*, isolated from a brazilian cerrado soil. **Archives of Microbiology**, v.184, p.194-198, 2005.
- NASCIMENTO, R. P. ; ALVES JUNIOR, N. ; PEREIRA JR., N. ; BON, E. P. S. AND COELHO, R. R. R. . Brewer s spent grain and corn steep liquor as substrates for cellulolytic enzymes production by *Streptomyces malaysiensis*. **Letters in Applied Microbiology**, v. 48, p. 529-535, 2009.
- NASCIMENTO, R. P. ; ALVES JUNIOR, N. ; BON, E. P. S. ; COELHO, R. R. R. Brewer s spent grain and corn steep liquor as alternative culture medium substrates for proteinase production by *Streptomyces malaysiensis* AMT-3. **Brazilian Journal of Microbiology**, *In press*, 2011.
- NOLAN, R. D. AND CROSS, R. Isolation and screening of actinomycetes. In: Actinomycetes in biotechnology. Goodfellow, M., Williams, S.T., Mordarski, M.(eds.), **Academic Press**, San Diego, CA, p. 1–32, 1988.
- PAREKH, M.; FORMANEK, J. AND BLAS-CHEK, H. P. Pilot-scale production of butanol by *Clostridium beijerinckii* BA101 using a low-cost fermentation medium based on corn steep water. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 51, p. 152-157, 1999.
- PATHOM-AREE, W.; STACH, J. E. M.; WARD, A. C.; HORIKOSHI, K.; BULL, A. T. AND GOODFELLOW, M. Diversity of actinomycetes isolated from Challenger Deep sediment (10,898 m) from the Mariana Trench. **Extremophiles**, v. 10, p. 181-189, 2006.
- PECZYNSKA-CZOCH, W., AND MORDARSKI, M. Actinomycetes enzymes. In: Goodfellow, M., Williams, S. T.; Mordarski, M. (eds.). Actinomycetes in biotechnology. **London: Academic Press**, p. 219-283, 1988.
- PETINATE, S.D.G; MARTINS, R.M.; COELHO, R.R.R.; MEIRELLES, M.N.L.; BRANQUINHA, M.H.; VERMELHO, A.B. Influence of growth medium in proteinase and pigment production by *Streptomyces cyaneus*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 94, p.173-177, 1999.
- SEMÉDO, L. T. A. S.; GOMES, R. C.; BON, E. P. S.; SOARES, R. M. A.; LINHARES, L. F. AND COELHO, R. R. R. Endocellulase and exocellulase activities of two *Streptomyces* strain isolated from a forest soil. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 84, p. 267–76, 2000.
- SEMÉDO, L. T. A. S.; LINHARES, A. A.; GOMES, R. C.; MANFIO, G. P.; ALVIANO, C. S.; LINHARES, L. F. AND COELHO, R. R. R. Isolation and characterization of actinomycetes from Brazilian tropical soils. **Research in Microbiology**, v. 155, n. 4, p. 291-299, 2001.
- SEMÉDO, L.T.A.S.; GOMES, R.C.; LINHARES, A.A.; DUARTE, G.F.; NASCIMENTO, R.P.; ROSADO, A.S; MARGIS-PINHEIRO, M.; MARGIS, R.; SILVA, K.R.A.; ALVIANO, C.S.; MANFIO, G.P.; SOARES, R.M.A.; LINHARES, L.F. ; AND COELHO, R.R.R. *Streptomyces drozdowiczii* sp. nov., a novel cellulolytic streptomycete from soil in Brazil. **International Journal Of Systematic And Evolutionary Microbiology**, v. 54, p. 1323–1328, 2004.
- SHALLOM, D. & SHOHAM, Y. Microbial hemicellulases. **Current Opinion in Microbiology**, v.6, p. 219-228, 2003.
- SOUZA, R. F.; COELHO, R. R. R.; MACRAE, A.; SOARES, R. M. A.; NERY, D. C. M.; SEMÉDO, L. T. A. S.; ALVIANO, C. S. AND GOMES, R. C. *Streptomyces lunalinharesii* sp. nov., a chitinolytic streptomycete isolated from cerrado soil, Brazil. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 58, p. 2774-2778, 2008.
- SUNNA, A. & ANTRANKIAN, G. Xylanolytic enzymes for fungi and bacteria. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 17, p. 39-67, 1997.
- TAO, Y.M.; ZHU, X.Z.; HUANG, J.Z.; MA, S.J.; WU, X.B.; LONG, M.N.; CHEN, Q.X. Purification and properties of endoglucanase from a sugar cane bagasse hydrolyzing strain, *Aspergillus glaucus* XC9. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.58, p.6126-6130, 2010.
- THOMSON, J.A. Molecular biology of xylan degradation. **FEMS Microbiology Reviews**, v.104, p.65-82, 1993.
- WILLIAMS, S.T.; GOODFELLOW, M.; ALDERSON, G.; WELLINGTON, E. M. H.; SNEATH, P. H. A. AND SACKIN, M. G. Numerical classification of *Streptomyces* and related genera. **Journal of General Microbiology**, v. 129, p. 1743-1813, 1983a.
- WILLIAMS, S. T.; GOODFELLOW, M.; WELLINGTON, E. M. H.; VICKERS, J. C.; ALDERSON, G.; SNEATH, P. H. A.; SACKIN, M. G. AND MORTIMER, A. M. A probability matrix for identification of some streptomycetes. **Journal of General Microbiology**, v. 129, p. 1815-1830, 1983b.
- ZHANG Y.-H.P., AND LYND L.R. Toward an aggregated understanding of enzymatic hydrolysis of cellulose: non-complexed cellulase systems. **Biotechnology and Bioengineering**, v.88, p.797-824, 2004.
- ZHANG, Y.; LIU, H.; CHEN, J.; YUAN, L.; SUN, W.; ZHANG, L.; ZHANG, Y.; YU, L. AND LI, W. Diversity of culturable actinobacteria from Qinghai–Tibet plateau, China. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 98, p. 213-223, 2010.

A CASA DE LOUIS PASTEUR (1822-1895) DE VOLTA PARA O PASSADO: UMA VISÃO DE FUTURO!



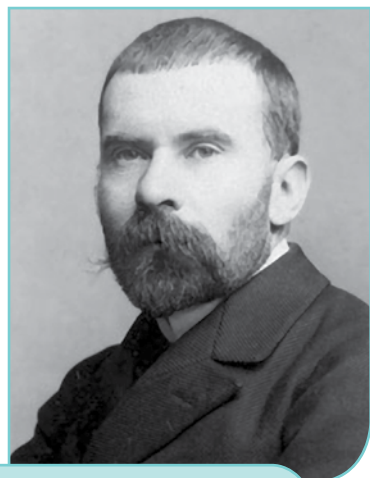
José Francisco Ghignatti Warth

*Prof. Associado do Depto de Medicina Veterinária da Universidade Federal do Paraná - UFPR.
E-mail: labmicro@ufpr.br. Endereço: Rua dos Funcionários 1575, Bairro Cabral, Curitiba, PR, Brazil*

"A obra de Pasteur é admirável e mostra seu gênio; mas é preciso ter vivido em sua intimidade para conhecer toda a bondade de seu coração"

Pierre Paul Emily Roux

Ao visitar Paris no verão de julho de 2008, não poderia deixar de conhecer o famoso Instituto Pasteur de Paris, situado no calmo e belo bairro de Montparnasse, à rua Dr. Roux nº 28. Inaugurado em 14 de novembro de 1888, por iniciativa de Louis Pasteur e às múltiplas do-



Dr. Emile Roux

ações governamentais vindas de todas as partes do mundo como aquelas do Império do Brasil, autorizadas por Dom Pedro II. Graças ao sucesso alcançado com os tratamentos obtidos com a vacina anti-rábica, única alternativa viável para esta doença letal, o Instituto Pasteur de Paris tornou-se em pouco tempo o maior centro mundial de pesquisa nas áreas de medicina preventiva humana e veterinária. Prédio austero de dois andares cujas janelas do segundo andar afloram do próprio telhado, conserva ainda intacta a imponência do passado. Seu estilo é aquele vigente em toda Paris do século XVII, de cujos telhados cinzentos se sobressaem bucólicas chaminés que nos fazem lembrar dos rigorosos invernos parisienses. Sua arquitetura se harmoniza perfeitamente com a da cidade, cuja beleza se caracteriza pela riqueza de verdes plátanos que dão ao visitante, a impressão de estar passeando em um imenso jardim exuberante em árvores, flores e folhas de um verde claro brilhante só visto em Paris.

Logo na entrada, fomos recepcionados por uma funcionária do instituto, que nos conduziu ao mundo de Louis Pasteur: seu laboratório de experimentos microbiológicos e seu lar!

Os livros de microbiologia nos fa-

lam da grande atuação profissional de Pasteur exercida no interior de diversas regiões da França numa seqüência de experimentos que parecem ter vindo com o objetivo de torná-lo o porta-voz do mundo microbiológico. Para todos os problemas Pasteur encontrava uma solução.

Primeiramente com a doença do bicho da seda denominada de Pebrina na província de Alais. Na seqüência em Lille, onde resolveu os problemas que tornavam o vinho azedo sugerindo o processo de aquecimento como forma de eliminar a contaminação indesejada.

Anos depois realiza o famoso experimento na Fazenda Pully-le-Fort, cujos resultados obtidos com a vacinação em ovinos contra o Antrax, livraram os criadores franceses dos famosos "campos malditos".

Considerava-se um homem do campo e escolheu Arbois, como sua cidade preferida para descanso com a família, onde passava as férias entre os vales verdejantes das montanhas do Jura na província de Rhône-Alpes. Entende-se então, o porquê de Pasteur vivenciar todos os problemas que surgiam naquelas regiões. Nos arredores desta cidade situada quase na divisa com a Suíça vislumbra-se grandes trigais dourados nas

planícies, vinhedos e parreirais que se projetam pelas encostas montanhosas, pomares de frutas, e amoras, para produção da fina seda francesa bem como a presença constante de cabras e carneiros. Pasteur era o homem certo, no momento certo e no local certo.

Aos oito anos de idade, gritos de dor vindos de uma ferraria da cidade lhe chamaram a atenção. Eram de pessoas mordidas por cães raivosos que se submetiam ao tratamento de desinfecção das lesões expostas com ferro em brasa. Seria este um primeiro aviso de sua grande missão que estaria por vir ?

Mas foi em Paris, com as pesquisas com a vacina anti-rábica, que ele se tornou célebre no mundo inteiro. Imagina-se quão difícil foi para Pasteur, acostumado a ver em seu microscópio agentes bacterianos, ter que admitir que o agente causador da Raiva no cérebro de animais infectados não se mostrava visível!

Logo para Pasteur que advogava a quatro ventos que as doenças infecciosas dos animais nada mais eram do que "epidemias de fermentação". Onde estaria o agente causador da fermentação rábica? Um ser invisível? No entanto Pasteur ao instituir a famosa "prova biológica" sabia por intuição que o agente infeccioso estava ali presente.

Este cruel enigma que atormentava Pasteur por centenas de dias e noites, revelaria na verdade o nascimento de um segmento novo da microbiologia de então: A Virologia. Com grande inspiração em 1884 declara ao mundo da ciência: *"Estou tentado a acreditar que um micróbio de infinita pequenez, sem a forma bacilar ou de coco é o causador da raiva"*. Mais uma vez Pasteur estava certo. O agente causador da Raiva, só poderia ser visto e mensurado quase um século depois com a utilização da microscopia eletrônica, quando Atanasiu et al (1963) e Matsumoto et al (1963) revelaram tratar-se de uma partícula nanométrica invisível ao microscópio ótico comum.

Contando com o apoio do grande médico e microbiologista Dr. Pierre Paul Émile Roux, Pasteur pode trabalhar com vacinações em humanos tornando-se rapidamente conhecido, admirado e um dos quarenta membros da Academia Francesa de Ciência em 1862.

Ocasionalmente Pasteur também

residia no próprio Instituto Pasteur tal o prestígio por ele alcançado e lá encontramos todos os seus pertences utilizados por ele e sua família. Em seu laboratório de microbiologia encontramos tudo como ele deixou. Seus armários envidraçados de cor verde claro e em suas prateleiras internas, os frascos com os famosos cristais que o notabilizaram em experimentos com cristalografia, descobertas até hoje aceitas pela ciência moderna como verdadeiras.

Em outra sala contígua a esta, ficava seu laboratório de experimentos microbiológicos e seus instrumentos de trabalho: o famoso forno de Pasteur por ele inventado (não havia autoclave na época); os tubos de ensaio contendo culturas de esporos de *Bacillus anthracis* que dizimava os rebanhos franceses bem como os frascos de vidro com colo em pescoço de cisne usados para provar as contaminações vindas do ar. Podemos ver também as famosas "pipetas de Pasteur", com as quais, com segurança, aspirava a saliva de cães raivosos.

Como Louis Pasteur, com tão poucos recursos técnicos disponíveis, contribuiu



Estátua do menino alsaciano Joseph Meister em luta contra o cão raivoso, considerado como um marco histórico por ser o primeiro humano a receber a vacinação anti-rábica por Pasteur.

tanto para a humanidade? Ao deixar o seu laboratório para traz senti-me um humilde admirador e discípulo, ainda mais admirador do que antes.

Dirigimo-nos então a moradia de



Antigo Instituto Pasteur de Paris, atual museu.

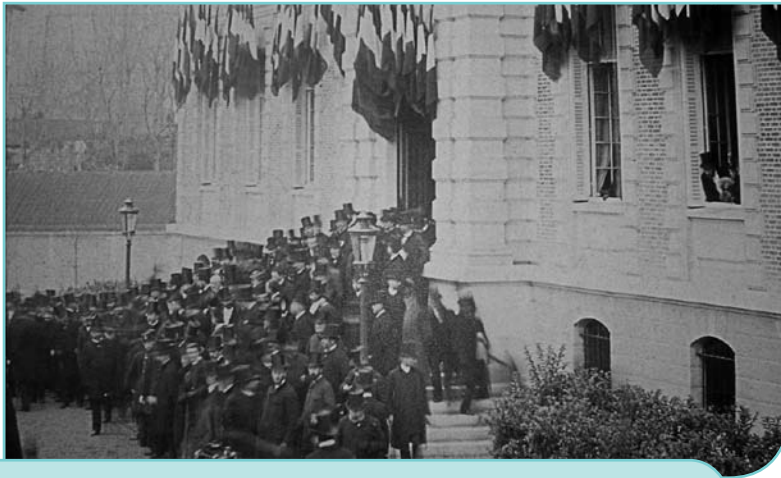


Foto da Inauguração do Instituto Pasteur



Fotos das instalações do Instituto Pasteur na época da inauguração

Pasteur, acompanhados pela guia lembrando-nos sempre da proibição de tirar fotos. Um saguão separa a grande porta de sua residência no primeiro andar do instituto de microbiologia que fica no lado oposto.

Deparei-me, então com o inesperado! Viveria naqueles 30 minutos futuros de visita a mais emocionante experiência profissional de minha vida. Ao abrir a grande porta que separa o presente do passado estava ali o mundo de Louis Pasteur.

Um ar de mistério e suspense tomou conta de todos os presentes. O cenário exalava Pasteur. Era como se ele estivesse ali prestes a chegar. Tive a impressão de estar contracenando em um filme surrealista no estilo “Meia noite em Paris”.

A partir do hall de entrada de sua casa, a emoção de estar ali é a sensação mais forte e esta vai tomando conta de sua mente, minuto a minuto por todo o tempo da visita.

No longo corredor de entrada que conduz as outras salas da casa, nota-se nas paredes, a presença de pequenos quadros pintados a óleo, pelo próprio Louis Pasteur. Pintura era seu hobby preferido nas horas vagas em suas férias em Arbois. Todas as salas da casa apresentam tapetes grossos e coloridos que tornam silenciosos os passos dados pelos visitantes. A mobília de fino gosto pertence ao elegante estilo da “belle époque”, típico do final daquele século.

A sala de refeições, a maior entre todos os cômodos da casa, chama a atenção pelas dimensões e tem ao centro uma mesa de madeira escura para abrigar, no mínimo, vinte pessoas.

Nas paredes desta sala podemos ver dois grandes quadros pintados a óleo: um deles seu auto-retrato e outro de seu grande inspirador J.B. Dumas, que como ele, acreditava na existência de um mundo microbiológico invisível. Ao lado de um dos quadros destaca-se uma grande lareira indispensável para os dias de inverno. Pasteur nos momentos de lazer notabilizava-se por ser um bom gourmet e um magnífico anfitrião.

Gostava de receber seus amigos para saborear um bom vinho tinto francês. Percebe-se em todas as salas da casa de Pasteur as grandes janelas que

dão a todos os ambientes internos uma claridade invejável.

Por uns poucos segundos, através das vidraças das janelas de sua casa olhei para a Paris de hoje. Moderna, atual, com seus carros coloridos, transeuntes descontraídos vivendo o momento presente. Tive a forte sensação de que o tempo dentro daquela casa parou para ver o mundo passar. Seu quarto de dormir, suas muitas medalhas ganhas em reconhecimento pelos brilhantes feitos. Sua beca negra e seu famoso quepe para o uso em cerimônias oficiais.

Os quadros a óleo de sua esposa Marie, de suas filhas Jeanne, Camile e Cecile falecidas ainda bem jovens e de Marie Louise a única sobrevivente entre as meninas, que lhe deu netos e que trazem ao visitante a impressão de como foi dura a sua vida.

São faces de rostos queridos por Pasteur que ajudam a formar o ambiente daquela casa histórica. A escada de madeira que o levava ao segundo andar, com degraus rebaixados devido aos seus problemas de hemiplegia, igualmente rangem ao peso dos passos dados e inevitavelmente nos fazem lembrar dele.

Segundo informações fornecidas, a sala de estar neste segundo andar, no final do longo corredor, era a sua preferida. É também sem dúvida a mais exótica de todas. Ali, após as refeições, Louis Pasteur descansava nas cadeiras preguiçosas lendo as notícias dos jornais parisienses Le Figaro e Le Monde para, na sequência, tirar uma ligeira sesta, antes das atividades da tarde. Nas paredes desta sala iluminada pelos altos janelões estão os souvenirs recebidos de seus amigos. Presentes vindos do mundo inteiro! Destaca-se entre todos a presença de um enorme dente de elefante apresentado por Alexander Yersin, seu discípulo, amigo e colega de trabalho. Yersin lembrou-se do grande mestre quando estava na Indochina trabalhando com pesquisas sobre a etiologia da Peste Bubônica, a serviço do Instituto Pasteur.

Há também um quadro, seu último auto-retrato pintado um pouco antes de seu falecimento.

Tive a impressão que Pasteur exprime em seu rosto e em seu olhar a imen-

sa amargura de ter perdido suas filhas, de saber que estava no fim da vida e que pouco poderia ainda contribuir para a ciência. Quando no auge de suas inspirações, Pasteur costumava dizer que “sentia-se em ebulição”.

Pareceu-me que Louis Pasteur gostaria de viver mais 100 anos tal sua fascinação pelas novas descobertas, pelos mistérios que o circundavam e que tiravam dele horas e horas de sono.

Os desafios diários só o impulsionavam ainda mais pelas novas descobertas e esta era a sua principal característica, só vista e sentida pelos verdadeiros cientistas. Nunca desistir! Jamais esmoecer!

Por fim, fomos levados a “Chapelle Funéraire” onde repousa seu corpo e o de sua esposa Marie Laurent no porão do prédio. Pasteur faleceu na Villeneuve-L'Etang em Saint-Claude, no dia 28 de setembro de 1895. No dia de seu enterro Paris inteira parou para vê-lo passar lentamente pela Avenida Champs Élysées em carro funebre levado por oito cavalos negros como forma de representar o profundo luto de toda nação francesa.

A capela foi erguida em sua homenagem por iniciativa de seu filho Jean Baptiste. O ambiente do seu interior a meia luz, traz ao visitante um aspecto solene e triste. Fomos tomados por um sentimento de profundo respeito. Nas paredes revestidas em mosaico ladrilhado em tom amarelo claro, estão desenhados seus feitos em ordem cronológica que preenchem todos os anos de sua vida científica. No teto, estão escritos os paradigmas de Pasteur: Esperança, Fé, Caridade e.... Ciência.

Pasteur era espiritualista e acreditava na vida após a morte. Mais ao fundo da capela está o túmulo de sua fiel companheira de tantas emoções e sofrimentos. Marie Laurent faleceu 5 anos após morte de Louis Pasteur e em sua lápide consta a seguinte inscrição: “Aqui jaz Marie, esposa de Pasteur, companheira da vida terrena e espiritual”.

O último discurso de Pasteur foi proferido por seu filho na Universidade de Sorbonne pois já se encontrava sem condições físicas para tanto. Parecia antever o futuro de paz que viria com a

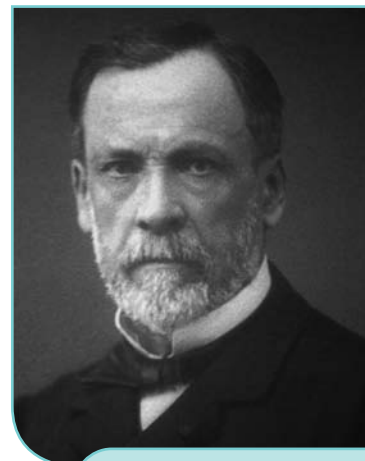


Foto do Dr. Pasteur

criação do Tratado da União Européia em 1992, quase 100 anos após sua morte. Neste discurso vale lembrar um pequeno trecho que fala por todos os demais : “Senhores.... vós me proporcionais a maior felicidade que possa ser experimentada por um homem cuja fé inabalável acredita que a ciência e a paz, hão de triunfar sobre a ignorância e a guerra...Nunca vos deixeis desacomodar pela tristeza de certas horas que passam pelas nações e pelos corações dos homensTende fé que as nações hão de aprender a unir-se, não para a destruição, mas para a cooperação. O futuro pertencerá, não aos conquistadores, mas aos salvadores da humanidade...”

Ao deixar para traz o mundo de Louis Pasteur, estancado no tempo, minha esposa, minha filha e eu, estávamos profundamente sensibilizados, com olhos vermelhos de tanta emoção. Uma visita inesquecível!

REFERÊNCIAS

The Natural History of Rabies. George M. Baer. 1ª. Edição CRC Press, Boston, 1991.

A Ciência Particular de Louis Pasteur. Gerald L. Geison. Editora Contraponto. 1ª. Edição, Rio de Janeiro, 2002.

Vida de Grandes Cientistas. Editora Globo, Porto Alegre. Tradução do original: Living Biographies of Great Scientists. Henry Thomas e Dana C.Lee Thomas .

SORGO SACARINO: MATÉRIA-PRIMA PARA PRODUÇÃO DE ETANOL



Karine Lima Araujo

Bióloga, Pós-graduada em Microbiologia Industrial e Ambiental pela Sociedade Brasileira de Microbiologia

Adalberto Pessoa Junior

Professor Titular, Departamento de Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica, FCF/USP

Por ser uma fonte finita, as reservas de combustíveis fósseis se esgotam a cada ano. As preocupações da queima destes combustíveis também giram em torno da questão ambiental. Com a missão de reduzir a queima de combustíveis fósseis, muitos países apostam nos biocombustíveis, produzidos a partir de biomassas. Para tanto, novas fontes de matéria-prima devem exploradas. O sorgo sacarino é uma planta de alta eficiência fotossintética, com adaptabilidades mais evoluídas que outras plantas e que apresenta potencial para ser utilizada como matéria-prima para a produção de etanol de primeira geração. Nesse sentido, o presente estudo buscou, através de ampla revisão bibliográfica, expor vantagens do sorgo sacarino como fonte alternativa para produção de etanol com rendimentos bons, de modo que possa substituir com a mesma eficiência matérias-primas já usadas em alguns países, como a cana-de-açúcar no Brasil.

INTRODUÇÃO

Por ser uma fonte finita, as reservas de combustíveis fósseis se esgotam a cada ano. As preocupações da queima destes combustíveis também giram em torno da questão ambiental, devido ser a principal fonte de emissão de gases que provocam mudanças climáticas e

o aquecimento global (BNDES e CGEE, 2008). Essas consequências tem estimulado a busca de combustíveis com equivalente potencial energético, sustentáveis e econômicos, para substituir os combustíveis fósseis (BNDES e CGEE, 2008; HILL, 2006).

O Brasil está à frente dos demais países no que se trata de tecnologia para produção de biocombustíveis (FURTADO & SCANDIFFIO, 2007; MAPA, 2006), sendo o segundo maior produtor, estando atrás somente dos Estados Unidos (PIRES & SCHECHTMAN, 2010; CARDNO, 2010).

O etanol (C_2H_6O) é um composto químico que contém um grupo hidroxila ligado a um átomo de carbono. É usado como combustível automotivo por si só, ou também pode ser misturado à gasolina. A molécula de etanol contém um átomo de oxigênio, portanto, permite motores automotivos a mais completa combustão do combustível, resultando em menos emissões de dióxido de carbono e óxido de enxofre, contribuindo com o meio ambiente (KUNDIYANA, 2006).

Os investimentos em pesquisas e tecnologias fizeram do Brasil o maior produtor de etanol a partir da cana-de-açúcar do mundo (MARCOCCIA, 2007; FAPESP, 2007). Contudo, em um país como o Brasil, onde a produção de etanol é reconhecida como a mais eficiente

do mundo, que há décadas vem inovando e avançando em pesquisas para geração de combustíveis renováveis (PARRELLA *et al*, 2010) que supram as necessidades do mercado, de forma que, sua produção seja economicamente viável, é importante que as pesquisas e o domínio da tecnologia incluam novas matérias-primas energéticas, com elevado potencial para serem utilizadas na produção de biocombustíveis.

Neste contexto, o sorgo sacarino [*Sorghum bicolor* (L.) Moench], que é uma gramínea cuja cultura é uma das mais importantes do mundo (BALOLE, 2001), apresenta características que fazem dele uma ótima opção de matriz energética para a produção de etanol de primeira e segunda geração (PARELLA *et al*, 2010).

Diante das vantagens do sorgo sacarino, o objetivo deste trabalho é apresentar seu potencial para produção de etanol, focando na eficiência dos seus processos e na cultura da matéria-prima, se esta pode complementar a cana-de-açúcar para produção deste biocombustível, ou ainda, substituí-la com a mesma eficiência.

Sorgo sacarino [*Sorghum bicolor* (L.) Moench]

A cultura do sorgo sacarino (Figura 1) é promissora, já que pode ser obtida uma vasta gama de produtos desta gra-

mínea (GRASSI, 2004), o que faz dela uma matéria-prima versátil, podendo ser usada para alimento, forragem de animais e para produção de combustíveis (ICRISAT, 2009). O etanol, produzido a partir do sorgo sacarino, vem se destacando e ganhando reconhecimento mundial (GRASSI, 2004).

Do resíduo fibroso (bagaço), assim como o da cana-de-açúcar, também pode ser produzido etanol de segunda geração ou ser usado como fonte de energia para gerar vapor nas caldeiras (BORGES *et al*, 2010).

O sorgo sacarino é cultivado a partir de sementes, com ciclo vegetativo curto (comparado com a cana-de-açúcar) variando, de acordo com as literaturas, de 90 a 130 dias (BORGES *et al*, 2010; TORRES, 2010, ALMODARES & HADI, 2009; REDDY, 2003; TURHOLLOW *et al*, 2010), o que proporciona duas colheitas por ano, ou até três, em regiões quentes e sob irrigação (PARRELLA *et al*, 2010). É uma planta com alta eficiência fotossintética (MAGALHÃES *et al*, 2010; AMODARES & HADI, 2009; MURRAY *et al*, 2008) capaz de produzir maior teor de açúcares se comparado com outras culturas em uma escala de tempo semelhante (ICRISAT, 2009). Das adaptações do sorgo sacarino, destaca-se sua resistência à seca, necessitando de menos água para se desenvolver quando comparado com outras culturas (MAGALHÃES *et al*, 2010), o que lhe permite adaptar-se a climas tropicais, subtropicais e temperados (MURRAY *et al*, 2008), até mesmo em regiões semi-áridas (GRASSI, 2004). O sorgo apresenta duas características que o fazem resistente à seca: um sistema radicular profundo e ramificado, o qual é eficiente na extração de água do solo; e tolerância relacionada ao nível bioquímico, em que o sorgo diminui seu metabolismo, murcha (hiberna) e se recupera extraordinariamente quando o estresse é interrompido (MAGALHÃES *et al*, 2010; RAO *et al*, 2009). O sorgo é eficiente no consumo hídrico e contribui evitando os riscos de erosão (PÉREZ *et al*, 2010). Assim como a exigência de água, a exigência de fertilizantes também é muito menor para cultura do sorgo se comparado com o cultivo da cana-de-açúcar, por exemplo, o que resulta em menor custo de



Figura 1 - Sorgo sacarino (Fonte: PORTAL DO AGRONEGÓCIO).

cultivo (GRASSI, 2004). O sorgo ainda adapta-se a vários tipos de solos, tolera uma faixa de pH entre 5,0 – 8,5, sendo adaptável à salinidade, alcalinidade e drenagem pobre (BLADE, 2010), o que o torna tolerante ao excesso de água do solo (REDDY, 2003).

O etanol de sorgo sacarino pode ser produzido tanto a partir de açúcares diretamente fermentáveis presentes em seu colmo, como a partir de seus grãos. Esforços para o melhoramento genético que visam à produção de etanol são concentrados principalmente nos colmos do sorgo, o que permite que a planta tenha maior rendimento dos seus colmos, mas que geralmente traz pequena quantidade de grãos e com características indesejáveis, como alto teor de tanino, pois pouco se sabe sobre as respostas fisiológicas do melhoramento dos grãos e dos colmos do sorgo simultaneamente. Diante disso, há escassez de estudos de melhoramento genético que visam maximizar a produção de energia a partir dos colmos e dos grãos do sorgo sacarino, aumentando seu rendimento (MURRAY *et al*, 2008).

Sorgo sacarino versus cana-de-açúcar

O sorgo sacarino apresenta uma série de vantagens em relação à cana-de-açúcar que viabilizam seu uso para produção de etanol como primeira escolha, ou ainda complementando a entressafra da cana (REDDY *et al*, 2005).

O sorgo requer um quarto da quan-

tidade de água que a cana-de-açúcar e possui um ciclo de crescimento quatro vezes inferior, o que possibilita a colheita de duas safras por ano, ou até três dependendo da região (REDDY *et al*, 2005; ICRISAT, 2009; CERES, 2010). Requer também menos fertilizante e alcança picos de açúcar em diferentes épocas do ano (CERES, 2010). O sorgo tem taxas de açúcares totais (redutores e não redutores) semelhantes aos da cana-de-açúcar, assim como o teor de açúcares diretamente fermentáveis, o que evita a cristalização do açúcar, tendo uma eficiência de fermentação de 90% (REDDY *et al*, 2005; ICRISAT, 2009; REEDY *et al*, 2008).

Devido ao fato da plantação do sorgo ser através de sementes e devido às suas características de alta adaptação e flexibilidade, ele pode ser plantado em rotação com outros cultivos anuais ou ser semeado em áreas não cultiváveis, como terras onde a cana-de-açúcar não se adapta bem (CERES, 2010). O sorgo sacarino pode alcançar uma capacidade de produção de biomassa superior ao da cana-de-açúcar, principalmente nos trópicos (REEDY, 2003). A tabela 1 resume as principais diferenças do sorgo sacarino em relação à cana-de-açúcar. A relação custo-benefício favorece o sorgo sacarino em relação à cana-de-açúcar. Um estudo realizado na Índia pelo *National Research Center for Sorghum* (NRCS) indicou que o custo por litro de produção de etanol a partir do sorgo sacarino é inferior ao da cana-de-açúcar (RAO *et*

TABELA 1. PRINCIPAIS DIFERENÇAS ENTRE SORGO SACARINO E CANA-DE-AÇÚCAR

	Sorgo sacarino	Cana-de-açúcar
Qualidade do açúcar	Açúcares diversos	Sacarose
Biomassa (ton/ha)	50 – 130	80 – 170
Açúcar total (%)	10 – 14	10 – 14
Fibra (%)	11 – 16	11 – 14
Etanol (litros/ha/ano)	4500 – 5500 (1 corte)	5500 – 6000
Plantio	sementes	muda
Necessidade	5-10 Kg _{sementes} /ha	7-10 ton _{talão} /ha
Tempo de ampliação de escala	Propagação por semente - menor	Propagação vegetativa - maior
Ciclo	90 – 130 dias	11 – 12 meses
Cortes por ano	1 - 2	1
Necessidade de água	1/ 4 relativo à cana	1
Custo/ ha (R\$)	1.100	5.500
Áreas marginais	Cultivo em áreas marginais	Limitada nas áreas marginais

Fonte: Adaptado de CERES, 2010 e KLINK, 2010.

al, 2009; REEDY, 2008 *et al*; REEDY *et al*, 2005).

Etanol a partir do Sorgo sacarino

No Brasil, pesquisas para o desenvolvimento de híbridos de sorgo com rendimentos significantes de etanol estão sendo desenvolvidas. Em 2011, a usina Cerradinho (Catanduva, São Paulo) produziu 1,4 milhão de litros de etanol usando um híbrido de sorgo desenvolvido pela Monsanto. As pesquisas para o desenvolvimento deste híbrido iniciaram em 2004 na Monsanto, mas a passagem do laboratório para uma escala de produção só se deu com a participação da equipe de pesquisadores da CanaVialis (SIMÕES, 2011).

Este novo híbrido está sendo cultivado em dez usinas e totaliza 12 mil hectares de área plantada. Alguns pesquisadores estudaram o tipo de açúcar que o sorgo sacarino produz e o compararam com a cana-de-açúcar. Os resultados foram satisfatórios, já que os açúcares são semelhantes, vencendo uma grande barreira tecnológica. Se os açúcares fossem diferentes, a levedura já utilizada pela indústria na fermentação do açúcar da cana-de-açúcar não serviria para o sorgo sacarino, o que provavelmente inviabilizaria economicamente o uso do sorgo para a produção de etanol (SIMÕES, 2011).

Vantagens e desvantagens

O sorgo sacarino apresenta diversas vantagens que o prevalece para a escolha de matéria-prima para produção de etanol. A primeira delas é que, através do sorgo sacarino podem ser produzidas maiores quantidades de etanol se comparado com outras culturas, uma vez que praticamente toda a sua biomassa pode ser utilizada (KÖPPEN *et al*, 2009).

O plantio e colheita do sorgo é 100% mecanizável, sendo possível utilizar os mesmos equipamentos de outras culturas (MAGALHÃES *et al*, 2010). A mesmas instalações de usinas de açúcar podem ser utilizadas para produção de etanol do sorgo sacarino. O sorgo pode ser cultivado como um complemento à cana-de-açúcar em áreas marginais ou durante a sua entressafra, expandindo a capacidade de produção (CERES, 2010). A cultura do sorgo pode ainda não demandar áreas adicionais, pois pode ser plantado em rotatividade para renovação dos canaviais substituindo a soja ou o amendoim (TNPETRÓLEO, 2011). Além disso, o sorgo sacarino também pode ser competitivo com a cana-de-açúcar para a produção de etanol, já que possui propagação de sementes, quantidade de biomassa semelhante ao da cana e crescimento mais rápido (CERES, 2010).

Devido o sorgo sacarino poder ser cultivado em terras menos férteis e ser

tolerante à seca, sua cultura que visa à produção de etanol não interfere na produção de alimentos (ICRISAT, 2009), ou ainda quando a cultura visa a produção de etanol a partir dos colmos, os grãos e o bagaço podem ser utilizados como alimentos para animais. O bagaço ainda pode ser utilizado para produção de etanol de segunda geração ou como bioenergia (KÖPPEN *et al*, 2009).

Apesar de o sorgo sacarino requerer menores quantidades de fertilizantes, a sua monocultura pode trazer desvantagens semelhantes a outras monoculturas intensivas, como a degradação do solo e poluição da água devido ao uso de fertilizantes e pesticidas (RAO *et al*, 2009). O estabelecimento de novos campos para a plantação do sorgo sacarino, assim como de outras culturas, pode levar a uma perda da biodiversidade deste local (RAO *et al*, 2009). Uma dificuldade apresentada pelo sorgo sacarino, assim como a cana-de-açúcar, é a necessidade de se processar rapidamente grandes quantidades de colmos para obtenção de etanol, pois sua oxidação é rápida, o que se torna então, um problema logístico para processamento a ser resolvido (MARCOCCIA, 2007, KUNDIYANA, 2006).

Dados de produção, mercado e comercialização

Dentre os principais produtores de

sorgo sacarino no ano de 2009 estão os Estados Unidos (18,68%), Nigéria (17,12%), Índia (11,27%) e México (9,81%) (STROADE & BOLAND, 2010). Em 2008, a China e a Índia produziram 1,3 bilhão de galões de etanol a partir do sorgo sacarino (STROADE & BOLAND, 2010). Na Índia, a destilaria *Mohammed Shahpur Village* em Medak, produz cerca de 10.568 galões de etanol por dia a partir do sorgo sacarino. Da colheita até o processamento o uso do sorgo sacarino fornece cerca de 40 mil empregos por ano na Índia (ABW, 2008). No Brasil, Usinas em São Paulo, Goiás e Minas Gerais têm realizado experimentos de plantio do sorgo sacarino para seu uso na produção de etanol. Em 2010, foram cultivados 3,1 mil hectares com híbridos da multinacional Monsanto (TNPETRÓLEO, 2011). Em 2011, quase todos os grandes grupos sucroalcooleiros colheram sorgo de fevereiro a início de abril, época de entressafra da cana (TNPETRÓLEO, 2011). A Usina Cerradinho foi a primeira a produzir etanol de sorgo sacarino em escala industrial. (CAMARGO, 2011).

Extração do caldo e preparo do mosto

Assim como a cana-de-açúcar o sorgo sacarino deve passar por um preparo antes da extração do caldo, a fim de facilitar o trabalho da moenda e aumentar a quantidade de caldo extraído. Este preparo visa destruir a resistência da parte dura e ruptura das células para moagem. O sorgo desfibrado é conduzido então para a moagem (RIBEIRO, 2010).

A extração do caldo do sorgo sacarino pode ser realizada nas mesmas instalações da cana-de-açúcar sob os mesmos processos (BORGES *et al*, 2010). Alguns autores relatam a extração do caldo do sorgo sacarino pela técnica de moagem, que envolve uma série de moinhos com o fluxo de suco contracorrente para lixiviar solúveis. A água é empregada no último compartimento e o caldo, com menor Brix, vem retornando sobre o material em processo obtendo a extração da sacarose. A partir desta técnica, o rendimento de açúcares no caldo do sorgo sacarino atinge 87%, que é menor se comparado com a cana-de-açúcar, já que o sorgo possui maior conteúdo de

fibras. (GNANSOUNOU *et al*, 2005; ALMODARES & HADI, 2009).

Após a moagem, o caldo do sorgo sacarino já misturado com água, está convenientemente diluído para sofrer a fermentação alcoólica. Embora seja possível fazer a fermentação com o caldo bruto, é comum clarificá-lo por meio de aquecimento, decantação e filtração a fim de se obter um mosto mais limpo, que irá fermentar melhor e produzirá menos espuma. Após a clarificação, o caldo é resfriado e enviado às dornas (PIMENTA & OLIVEIRA, 2010). Concentrações de 16 a 22° Brix têm sido encontradas no sorgo sacarino, o que varia dependendo do local de crescimento da planta (KUNDIYANA, 2006).

Micro-organismos envolvidos

A levedura utilizada para a fermentação dos açúcares do sorgo sacarino é, sobretudo, *Saccharomyces cerevisiae* (BRYAN, 1990; KUNDIYANA, 2006; LAOPAIBOON *et al*, 2007; CAPAREDA & IMAM, 2010; WU *et al*, 2010; GUIGOU *et al*, 2011; NUANPENG *et al*, 2011). Essa levedura é a primeira escolha quando se trata de fermentação para produção de etanol, pois além de sua versatilidade, já são conhecidas suas capacidades, como maior tolerância aos subprodutos e maior resistência se comparada com outras leveduras (KUNDIYANA, 2006). A *S. cerevisiae* é uma levedura aeróbia facultativa, podendo, portanto, se ajustar metabolicamente, tanto em condições de aerobiose como de anaerobiose (PIMENTA & OLIVEIRA, 2010).

KUNDIYANA, 2006 conduziu experimentos para testar a eficiência de diferentes micro-organismos para a conversão de açúcar em etanol. Para tanto, utilizou *S. cerevisiae*, *Zymomonas mobilis* e *Kluyveromyces marxianus*. Os resultados dos experimentos de KUNDIYANA, 2006 mostraram que a *S. cerevisiae* foi capaz de produzir mais etanol se comparado com os demais micro-organismos, mesmo sob condições diferentes de pH, temperatura e nutrientes.

Correção do mosto e preparo do inóculo

Vários fatores podem influenciar na

fermentação alcoólica. Para evitar perdas nas produções, faz-se a correção do mosto, ou seja, seu condicionamento para obter fermentações regulares, homogêneas e puras (PIMENTA & OLIVEIRA, 2010).

Quando se trabalha com o caldo do sorgo direto, sem adição de melaço, é necessária uma correção mais cuidadosa para oferecer à levedura condições de nutrição que normalmente não se encontram no caldo, bem como a adição de antibióticos e a regularização do pH do caldo para evitar e/ou minimizar o crescimento de contaminantes (PIMENTA & OLIVEIRA, 2010).

As indústrias usam leveduras em grande escala e optam por utilizar leveduras de panificação. Nesse caso obtém-se fácil e rapidamente grande massa de inóculo partindo-se de 10 a 20g de leveduras para cada litro de mosto (PIMENTA & OLIVEIRA, 2010).

O inóculo é preparado em uma fração inicial em um pré-fermentador e, após a fermentação, divide-se o mosto fermentado em outras dornas realimentando com o mosto até completar o volume das dornas (PIMENTA & OLIVEIRA, 2010).

Nutrientes

As leveduras necessitam nutrientes indispensáveis para seu crescimento como nitrogênio, que pode ser utilizado pela levedura *S. cerevisiae* nas formas amoniacal (NH_4^+), amídica (uréia) ou amínica (aminoácidos); enxofre, que pode ser assimilado do sulfato, sulfito ou tiossulfato. A adição de ácido sulfúrico empregada no tratamento do fermento parece já fornecer quantidade suficiente de enxofre para a levedura, pois sua exigência desse elemento é pequena (PIMENTA & OLIVEIRA, 2010).

O potássio e o fósforo também são necessários, sendo o último importante para o metabolismo do açúcar, síntese lipídica e produção de ácidos nucleicos. Além desses, o magnésio é necessário por estar envolvido em muitas funções essenciais fisiológicas e bioquímicas da levedura, incluindo o crescimento, divisão celular e ativação enzimática. Há ainda os microelementos como cobalto, boro, cádmio, cobre, iodo, entre outros e vitaminas como tiamina, piridoxina entre outras, utilizadas como fator de crescimento para

as leveduras (KUNDIYANA, 2006). Esses elementos podem já estar presentes no mosto, não sendo necessárias adições, ou podem ocorrer teores inadequados e deficiência de alguns, ou ainda concentrações excessivas de outros, sendo necessária uma correção para garantir o sucesso do crescimento da levedura (PIMENTA & OLIVEIRA, 2010).

Contaminantes

A produção de etanol nas indústrias não é realizada, pela dimensão do processo, em condições de completa assepsia, o que facilita a contaminação bacteriana que, dependendo de sua intensidade, compromete o rendimento do processo fermentativo (PIMENTA & OLIVEIRA, 2010).

Para controlar a contaminação, são adicionados antissépticos, como o hexaclorofenol, que contribui para boas fermentações. O ácido sulfúrico (H_2SO_4) também é um antisséptico que reduz o pH, ficando o inóculo em pH de 2,5 durante três horas para diminuir os contaminantes, já que a levedura tolera bem pH ácido (PIMENTA & OLIVEIRA, 2010). Os antibióticos também podem ser empregados, como a penicilina que é um bom inibidor de contaminantes, aumentando o rendimento do etanol (PIMENTA & OLIVEIRA, 2010).

Temperatura e pH

As temperaturas ideais para o crescimento da *S. cerevisiae* estão entre a faixa de 30 a 35° C. Temperaturas mais elevadas podem resultar em maior produtividade de etanol, porém resultam também em maior morte celular (KUNDIYANA, 2006).

Controlar a temperatura durante a produção de etanol em escala industrial é um trabalho difícil. Variações de 2 a 4°C para mais ou para menos, podem desviar a temperatura ideal para o processo. Portanto, é necessário compreender a influência da temperatura sobre a cinética de fermentação como estratégia útil para otimização dos processos, pois uma mudança na temperatura exerce influência direta sobre características do metabolismo, estrutura das células, reação das enzimas e permeabilidade

de celular (KUNDIYANA, 2006). Além disso, à medida em que a temperatura aumenta, aumenta o risco de contaminação bacteriana e a levedura fica mais sensível à toxidez do etanol (PIMENTA & OLIVEIRA, 2010).

Apesar das fermentações se desenvolverem numa ampla faixa de valores de pH, a mais adequada é entre 4,0 e 5,0. Os valores de pH dos mostos industriais geralmente se encontram na faixa de 4,5 e 5,5. Valores de pH mais ácidos resultam em maiores rendimentos de etanol, pois restringem o crescimento de contaminantes (PIMENTA & OLIVEIRA, 2010).

Concentração de açúcares e concentração de inóculo

O aumento da concentração de açúcares leva a maior velocidade de fermentação e produtividade em etanol e, dentro de certos limites (18 a 22° Brix), leva a menor crescimento celular. Porém, elevados teores de açúcar podem acarretar um estresse osmótico da levedura (PIMENTA & OLIVEIRA, 2010).

Maiores concentrações de levedura na dorna permitem fermentações mais rápidas, aumentando a produtividade e exercendo maior controle sobre as bactérias contaminantes, além de restringir o crescimento da própria levedura. Entretanto, elevado teor de levedura exige maior consumo de açúcar para manter as células vivas, resultando em maior competição pelos nutrientes do meio, minerais e vitaminas, o que diminui a viabilidade do fermento (PIMENTA & OLIVEIRA, 2010). É necessário, portanto, chegar à concentração ótima de levedura na dorna, dependendo das condições do processo industrial.

Fermentação

A fermentação envolve reações em sequência ordenada, cada qual catalisada por uma enzima específica, transformando o açúcar em etanol e CO_2 . Essas reações ocorrem no citoplasma do micro-organismo (PIMENTA & OLIVEIRA, 2010).

As enzimas glicolíticas são influenciadas por diversos fatores (nutrientes, minerais, vitaminas, inibidores, subs-

tâncias do próprio metabolismo, pH, temperatura, entre outros), que podem estimular ou reprimir a ação enzimática, afetando o desempenho do processo fermentativo conduzido pelas leveduras (PIMENTA & OLIVEIRA, 2010).

Os produtos finais do metabolismo do açúcar irão depender das condições ambientais que a levedura se encontra. Em aerobiose, o açúcar será utilizado para o crescimento celular e haverá liberação de CO_2 e H_2O , enquanto que em anaerobiose será convertido em etanol e CO_2 (PIMENTA & OLIVEIRA, 2010). Em anaerobiose, o objetivo da levedura é gerar energia necessária para a manutenção da vida, crescimento e multiplicação. Dessa forma, há uma sequência de reações enzimáticas para produção de ATP tendo como produtos secundários o etanol e o CO_2 (PIMENTA & OLIVEIRA, 2010).

Processo de fermentação

O processo de produção de etanol a partir do sorgo sacarino é bem compreendido, principalmente no Brasil, já que é exatamente o mesmo utilizado para o etanol da cana-de-açúcar (GNANSOULOU *et al*, 2005).

Após a mistura do inóculo ao mosto, inicia-se o processo de fermentação alcoólica. Num primeiro momento há uma multiplicação celular intensa, pequena elevação de temperatura e pequeno desprendimento de dióxido de carbono. Na fase chamada de tumultuosa há maior desprendimento de dióxido de carbono, maior número de células para fermentar os açúcares do mosto, a temperatura se eleva rapidamente e é corrigida sempre que necessário com refrigeração, a densidade do mosto se reduz e eleva-se a porcentagem de álcool e a acidez. Passada a fase de maior produção, a fase seguinte caracteriza-se pela diminuição da intensidade do desprendimento do dióxido de carbono, menor agitação do líquido e diminuição da temperatura. Nessa fase a concentração de açúcares chega ao fim e termina a fermentação alcoólica (PIMENTA & OLIVEIRA, 2010).

O processo de fermentação mais utilizado para produção de etanol nas destilarias é o de batelada alimentada, no qual o inóculo é alimentado aos poucos e o

caldo fermentado é retirado em intervalos de tempo, além de ocorrer a recuperação de leveduras (NUANPENG *et al*, 2011). Esse sistema é muito utilizado no Brasil, no qual após a fermentação, todo o vinho é passado por centrífugas separando o “creme de leveduras”. Esse creme, que corresponde de 10 a 30% do volume da dorna, é enviado para um tanque para receber um tratamento com ácido sulfúrico e ser diluído em água. Após o tratamento, o creme de leveduras é enviado para outra dorna e reinicia-se nova fermentação com a realimentação de um novo mosto (PIMENTA & OLIVEIRA, 2010).

A batelada alimentada aumenta a produtividade e a recuperação de leveduras e permite que se entre rapidamente na fase tumultuosa do processo fermentativo garantindo grandes vantagens econômicas (PIMENTA & OLIVEIRA, 2010). Outras vantagens desse sistema de operação é que praticamente não há tempo ocioso para limpeza e esterilização e a levedura fica menos tempo em contato com o etanol, que é tóxico para ela (NUANPENG *et al*, 2011).

Na primeira etapa da fermentação direta dos açúcares, a sacarose (dissacarídeo) é hidrolisada pela enzima invertase em glicose e frutose (monossacarídeos) (KUNDIYANA, 2006). Em seguida, o monossacarídeo passa por uma série de reações catalisadas por enzimas na glicólise para produzir o etanol e CO₂.

Durante essas reações, os elétrons são transferidos para o NAD⁺ para formar o NADH, os grupos fosfatos são transferidos para moléculas de ADP para formar ATP e o gliceraldeído, por sua vez, transforma-se em ácido pirúvico. Cada molécula de piruvato é reduzida pelo hidrogênio originando o etanol e outros produtos finais (KUNDIYANA, 2006). Assim, o rendimento energético deste processo fermentativo é de apenas 2 moléculas de ATP para cada molécula de glicose degradada.

Fatores que influenciam na fermentação

Aeração e Agitação

Durante o preparo do inóculo, a disponibilidade do oxigênio para fase de crescimento das leveduras deve ser maior, já que se multiplicam mais rapida-

mente em aerobiose. A agitação também deve estar presente para disponibilizar o oxigênio, que é fornecido nos fermentadores na forma gasosa, para as leveduras na forma solúvel dissolvido no meio (KUNDIYANA, 2006).

Durante a fermentação a oferta de oxigênio deve ser mínima, porém necessária, pois as leveduras necessitam de pequenas quantidades de oxigênio para a função necessária e integridade das membranas celulares. Quando as leveduras são cultivadas em ausência total de oxigênio não realizam a síntese de esteróis insaturados e ácidos graxos, parando de crescer (KUNDIYANA, 2006).

A agitação é importantíssima para um processo de fermentação. Além de disponibilizar o oxigênio para as células, proporciona a distribuição homogênea dos substratos e produtos. O tempo de produção do etanol diminui muito quando se aplicado a agitação correta (KUNDIYANA, 2006).

Floculação

A floculação é um agregado de leveduras que se unem em função de vários fatores. A ocorrência da floculação na fermentação alcoólica pode ser causada pela presença de linhagens floculentas do gênero *Saccharomyces* ou por bactérias contaminantes (FURTADO & SCANDIFFIO, 2010).

Nas destilarias, a contaminação bacteriana é a principal responsável pela floculação. As bactérias se unem às leveduras provocando a floculação, tornando-se então mais densas e sedimentando no fundo das dornas ocasionando perda de fermento. Além disso, pode ocasionar na centrifugação o entupimento de encaamentos, ocasionando também em perda de levedura e resultando em queda no rendimento do processo fermentativo (FURTADO & SCANDIFFIO, 2010).

Para se evitar a floculação e perdas no rendimento é necessário eliminar ou reduzir ao máximo as bactérias contaminantes, através da redução do pH e adição de antibióticos, como relatado anteriormente.

Destilação, retificação e desidratação

O vinho (mosto fermentado) obtido após o processo de fermentação deve

ser destilado para a separação do etanol produzido. Esse vinho possui constituição variável, contendo substâncias gasosas, representadas principalmente pelo dióxido de carbono; material sólido representado sobretudo pelas leveduras e outros micro-organismos contaminantes, sais minerais, açúcares não fermentados e outras impurezas sólidas em suspensão. O teor de água e etanol variam de 8 a 93% e 7 a 12%, respectivamente (PIMENTA & OLIVEIRA, 2010).

Desse material impuro e heterogêneo separa-se o etanol por destilação, obtendo-se grau de pureza e concentrações em função de sua aplicação (álcool hidratado ou anidro). Na destilação do etanol se geram vapores de álcool e água que, depois de resfriados, formam um líquido de concentração superior a do vinho e isento de substâncias sólidas (PIMENTA & OLIVEIRA, 2010). Para separar o etanol dos demais componentes do vinho são empregadas várias etapas de destilação, baseadas na diferença do ponto de ebulição das substâncias presentes. A primeira operação de destilação é a depuração, que é a purificação do vinho, com eliminação parcial de impurezas como os aldeídos e ésteres. Desta operação resulta o vinho depurado e uma fração denominada álcool bruto de segunda (ALCARDE, 2007). O vinho depurado é encaminhado para nova destilação em coluna de destilação ou esgotamento de onde resultam duas frações: o flegma, que é o produto principal da destilação constituído por uma mistura impura de água e álcool; e a vinhaça, que é um resíduo aquoso de destilação do vinho, no qual se acumulam as substâncias sólidas do vinho (extrato do mosto, leveduras e bactérias) e parte dos voláteis (ALCARDE, 2007). A vinhaça resultante da produção de etanol do sorgo sacarino pode ser tratada e devolvida ao solo ou ainda pode ser vendida como fertilizante líquido (ALMODARES & HADI, 2009). O flegma é então submetido a uma operação de retificação para separação dos alcoóis superiores e concentração do destilado até o teor alcoólico exigido para produção do álcool hidratado (~97%). Para a obtenção de etanol anidro, é necessária uma etapa de desidratação, já que não é possível realizar a separação desta mistura aze-

otrópica (água e etanol) na destilação (ALCARDE, 2007).

No processo de desidratação obtém-se o etanol anidro, que é usado como aditivo em combustíveis (principalmente gasolina), sendo composto por 99,5% (v/v) de etanol puro e 0,5% de água (ALCARDE, 2007).

CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS FUTURAS

O sorgo sacarino apresenta diversas vantagens que fazem dele uma matéria-prima promissora para a produção de etanol de primeira geração. Seus rendimentos são tão bons quanto de outras culturas já utilizadas para produção de etanol como a cana-de-açúcar, beterraba e o milho. Pode-se concluir, portanto, que o sorgo sacarino tem grande potencial para substituir a cana-de-açúcar no Brasil para produção de etanol. Contudo, o Brasil se dedica há anos às pesquisas e melhoramento da cana-de-açúcar para produção de etanol, o que fez dele referência mundial quando se trata de biocombustíveis. Não seria razoável, portanto, substituir toda a cultura da cana-de-açúcar pelo sorgo sacarino. A cultura do sorgo sacarino surge como uma tecnologia alternativa para a produção de etanol, alimento para humanos e animais e demais finalidades. Sendo assim, no Brasil o sorgo sacarino poderia complementar a cana-de-açúcar, sendo produzido etanol do sorgo durante a sua entressafra, podendo substituir a soja ou o amendoim na renovação dos canaviais. Ou ainda, produzir etanol de cultivares de sorgo sacarino plantadas em áreas marginais, onde a cana-de-açúcar não se desenvolve bem, como em regiões mais secas do país, minimizando o impacto da redução da disponibilidade do produto.

Por outro lado, países como os Estados Unidos, que produzem etanol a partir do milho e enfrentam problemas no quesito de usar uma matéria-prima também utilizada na alimentação humana, o sorgo sacarino seria a saída para resolver este problema. Na Índia, os grãos do sorgo são muito utilizados na alimentação, porém a produção de etanol não compete com a alimentação, já que o etanol pode ser produzido dos colmos.

Já é conhecida toda a tecnologia para a produção de biocombustível do sorgo sacarino e já são provadas suas vantagens. Basta o incentivo dos países em aumentar as pesquisas para o seu melhoramento e utilizá-lo como matéria-prima para produção de etanol.

Como perspectivas futuras, fica o incentivo para produção de etanol do sorgo sacarino nos meses de fevereiro a início de abril, período de entressafra da cana-de-açúcar, com plantação nos meses de outubro e novembro. Desta forma, pode-se iniciar a safra mais cedo, aumentar o período de produção de etanol e reduzir os custos fixos das usinas (MONSANTO, 2011). Outra opção para o uso do sorgo sacarino no Brasil é a sua utilização em áreas de expansão em indústrias no início de suas atividades, quando os canaviais disponíveis ainda não são suficientes para suprir as necessidades da indústria (CANAVIALIS, 2011).

REFERÊNCIAS

- ALCARDE, A. R. Destilação. Agência de Informação Embrapa Cana-de-açúcar. Brasília, 2007. Disponível em: <<http://www.agencia.cnptia.embrapa.br>>. Acesso em: 28 de ago. 2011.
- ALMODARES, A. & HADI, M. R. Production of bioethanol from sweet sorghum: A review. *African Journal of Agricultural Research*. Victoria Island: Nigéria, v. 4, n. 9, p. 772-780, 2009.
- _____ & HADI, M. R. The Effects of Nitrogen Fertilizer on Chemical Compositions in Corn and Sweet Sorghum. *American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sci*. Irã, v. 6, n. 4, p. 441 – 446, 2009.
- BALOLE, T.V. *Strategies Improve Yield and Quality of Sweet Sorghum as a Cash Crop for Small Scale Farmers in Botswana*. 2001. Tese (Doutorado em Filosofia). Department of Plant Production and Soil Science in the Faculty of Biological and Agricultural Sciences. University of Pretoria, Pretoria, 2001.
- BLADE ENERGY CROPS. *Managing high-biomass Sorghum: as a dedicated Energy Crop*. California, 2010. 23 p.
- BNDES e CGEE. Bioetanol de Cana-de-açúcar: Energia para o Desenvolvimento Sustentável. 1. ed. Rio de Janeiro, 2008. 316 p.
- BORGES, I. D.; MENDES, A.A.; VIANA, E.J.; GUSMÃO, C.A.G.; RODRIGUES, H.F.F.; CARLA, L.A. Caracterização Do Caldo Extraído Dos Colmos Da Cultivar De Sorgo Sacarino BRS 506 (*Sorghum bicolor* L.). In: XXVIII CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 2010, Goiânia: Associação Brasileira de Milho e Sorgo. Disponível: <<http://efazweb.com.br/clientes/resumos/0073.pdf>>. Acesso em: 10 mar. 2011.
- CAMARGO, H. Sorgo sacarino é alternativa para a produção de etanol. *Revista Globo Rural*. Rio de Janeiro, 2011. Disponível em: <<http://revistagloborural.globo.com>>. Acesso em: 20 de ago. 2011.
- CANAVIALIS. Cultura de sorgo sacarino: uma nova alternativa para otimização da indústria sucroalcooleira. Campinas, 2011. Disponível em: <http://www.canavialis.com.br/newsletter/CanaVialis_Report_15_Edicao.pdf>. Acesso em: 03 de set. 2011.
- CARDNO ENTRIX. *Current State of the U.S. Ethanol Industry: Preparado para U.S. Department of Energy*. New Castle: Delaware, 2010, 46 p.
- CERES – Sementes do Brasil [homepage na internet]. Sorgo sacarino tem vantagens que o diferem da cana-de-açúcar. Piracicaba, 2010. Disponível em: <<http://www.ceres.net/ceressesementes/Etanol/Etanol-Vantagens.html>>. Acesso em: 22 de jun. 2011.
- FAPESP. *Brazil world leader in sugarcane and ethanol knowledge and technology: Fapesp's Contribution*. São Paulo, 2007, 83 p.
- FURTADO, A & SCANDIFFIO, M. A Promessa do Etanol no Brasil. *Visages d'Amérique Latine*, França, n. 5, p. 95-106, 2007. Versão online. Disponível em: <<http://www.opalc.org/val/media/val5/10.pdf>>. Acesso em: 09 mar. 2011.
- GRASSI G. *Sweet sorghum – One of the best world food-feed energy crop*. LAMNET. In: 7º LAMNET Workshop, 2004, Beijing. Disponível em: <http://web.etaflorence.it/uploads/media/LAMNET_sweet_sorghum.pdf>. Acesso em: 12 mar. 2011.
- HILL, J. et al. Environmental, economic, and energetic costs and benefits of biodiesel and ethanol biofuels. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, Washington, D.C., v. 103, n. 30, p. 11206-11210, 2006.
- ICRISAT – International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics. *Sweet Sorghum for Biofuel and Strategies for its Improvement: Information Bulletin n° 77*. Índia, 2009. 73 p.

- KLINK, P. U. Sorgo sacarino como uma opção viável para antecipação da safra. In: 4º Grande Encontro sobre Variedade de Cana-de-açúcar – CanaVialis & Alellyx Applied Genomics, 2010.
- KÖPPEN, S.; REINHARDT G.; GÄRTNER, S. Assessment of energy and greenhouse gas inventories of Sweet Sorghum for first and second generation bioethanol. *Food and Agriculture Organization of The United Nations – FAO. Environment and Natural Resources Management Series 30*. Roma, 2009. 85 p.
- KUNDIYANA, D. K. Sorganol: In-field Production of Ethanol from Sweet sorghum. Dissertação (Mestrado). Oklahoma State University, Oklahoma, 2006.
- MAGALHÃES, P. C.; DURÃES, F.O.M.; RODRIGUES, J.A.S. Ecofisiologia. In: Embrapa Milho e Sorgo – Sistemas de Produção. 6. ed. 2010. Versão eletrônica. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Sorgo/CultivodoSorgo_5ed/index.htm>. Acesso em: 12 mar. 2011.
- MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Plano Nacional de Agroenergia. 2. ed. revisada. Embrapa Informação Tecnológica. Brasília, 2006, 110 p.
- MARCOCCIA, R. *A participação do etanol brasileiro em uma nova perspectiva na matriz energética mundial*. 2007. Dissertação (Mestrado – Programa Interunidades de Pós-graduação em Energia) - EP/ FEA/ IEE/ IF. Universidade de São Paulo, São Paulo. 2007.
- MONSANTO. CanaVialis apresenta sorgo sacarino para produção de etanol. *Monsanto em Campo*. Brasil, edição 38, ano VI, 2011. Disponível em: <http://www.monsanto.com.br/monsanto/brasil/newsletter/geral/09_2011Maio/tendencias.asp>. Acesso em: 05 de set. 2011.
- MURRAY, S. C. *et al.* Genetic Improvement of Sorghum as a Biofuel Feedstock: I. QTL for Stem Sugar and Grain Nonstructural Carbohydrates. *Crop Science*, Madison, v. 48, p. 2165 - 2179, 2008.
- NUANPENG, S. *et al.* Ethanol production from sweet sorghum juice under very high gravity conditions: Batch, repeated-batch and scale up fermentation. *Electronic Journal of Biotechnology*. Chile, 2011. Disponível em: <<http://www.ejbiotechnology.info>>. Acesso em: 15 de ago. 2011.
- PARELLA, R. A. C. *et al.* Desempenho de cultivares de sorgo sacarino em diferentes ambientes visando a produção de etanol. In: XXVIII CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 2010, Goiânia: Associação Brasileira de Milho e Sorgo. Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/25139/1/0236.pdf>>. Acesso em: 10 mar. 2011.
- PÉREZ, A. *et al.* Caracterización y potencialidades del grano de sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench). *Pastos y Forrajes*. Cuba, v. 33, n. 1, p. 1-25, 2010.
- PIMENTA, G. G. & OLIVEIRA, L. R. R. Produção de Etanol. Faculdade de Ciência e Tecnologia de Montes Claros – FACIT. Minas Gerais, 2010.
- PIRES, A. & SCHECHTMAN, R. *Políticas Internacionais de Biocombustíveis*. In: Etanol e Bioeletricidade: A cana-de-açúcar no futuro da matriz energética. São Paulo, 2010. p. 191-222.
- PORTAL DO AGRONEGÓCIO. Disponível em: <<http://www.portaldoagronegocio.com.br/>>. Acesso em: 08 de mar. 2011.
- RAO, P. S. *et al.* Sweet sorghum as a Biofuel feedstock: Can there be Food-Feed- Fuel Tradeoffs? In: 60th International Executive Council Meeting and 5th Asian Regional Conference of International Commission on Irrigation and Drainage (ICID), 2009, New Delhi, Índia.
- REDDY, B. V. S.; REDDY, P. S. Sweet Sorghum: Characteristics and Potential. *International Sorghum and Millets Newsletter*. Índia, v. 44, p. 26-28, 2003.
- _____ *et al.* Sweet Sorghum: A Potential Alternate Raw Material for Bio-ethanol and Bioenergy. *Journal of SAT Agricultural Research – ICRISAT*. Índia, v. 1, p. 1 – 8, 2005.
- _____ *et al.* Bio-fuel Crops Research for Energy Security and Rural Development in Developing Countries. *Bioenergy Research – Springer Science*. Nova York, v. 1, p. 248 – 258, 2008.
- REDDY, P. S.; REDDY, B. V. S.; KUMAR, A. A.; RAO, P. S. Standardization of nitrogen fertilizer rate for sugar yield optimization in sweet sorghum. *Journal of SAT Agricultural Research – ICRISAT*, Índia, v. 6, p. 1-4, 2008.
- RIBEIRO, P. R. Apostila de Treinamento Módulo II: Curso Sequencial de Automação para Indústria Sucoalcooleira. Universidade de Ribeirão Preto (UNAERP), 2010. Disponível em: <<http://pt.scribd.com/doc/55554242/23/PREPARO-E-MOAGEM-DE-CANA>>. Acesso em: 10 de ago. 2011.
- SIMÕES, J. Monsanto desenvolve híbrido de sorgo sacarino como alternativa para produção de etanol: Usina Cerradinho, em Catanduva (SP), produziu 1,4 milhão de litros de etano usando a planta – 05/05/2011. Disponível em: <<http://www.inovacao.unicamp.br/noticia.php?id=925>>. Acesso em: 26 de jul. 2011.
- STROADE, J. & BOLAND, M. Agricultural Marketing Resource Center (AgMRC) - Sorghum profile. Iowa, Estados Unidos, 2010. Disponível em: <http://www.agmrc.org/commodities_products/grains_oilseeds/sorghum/sorghum_profile.cfm>. Acesso em: 20 de ago. 2011.
- TNPETRÓLEO. Cresce cultivo de sorgo para etanol no país. Rio de Janeiro, 2011. Disponível em: <<http://www.tnppetroleo.com.br/cliping/6960/cresce-cultivo-de-sorgo-para-etanol-no-pais->>. Acesso em: 20 de ago. 2011.
- TORRES, M. *Uso de sorgo para produção de combustível é discutido em reunião do Conselho Assessor Externo*. In: Embrapa – Milho e Sorgo. Minas Gerais, 2010. Disponível em: <http://www.cnpms.embrapa.br/noticias/mostra_noticia.php?codigo=614>. Acesso em: 16 mar. 2011.
- TURHOLLOW, A.F.; WEBB, E.G.; DOWNING, M.E. Review of Sorghum Production Practices: Applications for Bioenergy. *Oak Ridge National Laboratory*. Oak Ridge: Tennessee, 2010, 21 p.

Staphylococcus spp.: ELES NEM SEMPRE SÃO OS VILÕES



Hilana Ceotto

Depto de Microbiologia Geral, IMPPG, UFRJ, Av. Carlos Chagas Filho, 373, Rio de Janeiro, RJ, 21941-902

Patrícia Carlin Fagundes

Depto de Microbiologia Geral, IMPPG, UFRJ, Av. Carlos Chagas Filho, 373, Rio de Janeiro, RJ, 21941-902

Maria do Carmo de Freire Bastos

Depto de Microbiologia Geral, IMPPG, UFRJ, Av. Carlos Chagas Filho, 373, Rio de Janeiro, RJ, 21941-902

Janaína dos Santos Nascimento

Laboratório de Microbiologia, Campus Rio de Janeiro, IFRJ, Rua Senador Furtado, 121, Rio de Janeiro, RJ, 20270-021

1. INTRODUÇÃO

Em 1884, Rosenbach descreveu pela primeira vez os membros do gênero *Staphylococcus*: cocos Gram-positivos em forma de cachos irregulares, imóveis, não formadores de esporos, catalase-positivos e anaeróbios facultativos. O genoma destas bactérias possui um baixo conteúdo G+C, entre 30 e 39% (ROSEN-BACH, 1884, *apud* KLOOS, SCHLEIFER & GÖTZ, 1991; BANNERMAN & PEACOCK, 2007). Estes micro-organismos pertencem à família *Staphylococcaceae* e, segundo Euzéby (2011), o gênero é composto por 45 espécies e 24 subespécies.

Os estafilococos estão amplamente distribuídos na natureza, embora sejam frequentemente isolados de pele e de membranas mucosas de humanos e de animais. São encontrados algumas vezes na boca, nas glândulas mamárias, no sangue, nos tratos respiratório superior, intestinal e geniturinário (KLOOS, SCHLEIFER & GÖTZ, 1991). São também isolados de uma variedade de alimentos como carnes, queijos e leite (IRLINGER, 2008).

As bactérias do gênero *Staphylococcus* estão divididas em dois grupos: *Staphylococcus* coagulase-positivos (SCP) e *Staphylococcus* coagulase-negativos (SCN). Os SCP são capazes de produzir a coagulase, uma enzima responsável pela conversão do fibrinogênio do plasma sanguíneo em fibrina. A designação SCN refere-se a todas as espécies deste gênero que não produzem esta enzima. Dentre as espécies de SCP, pode-se destacar *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus delphini*, *Staphylococcus intermedius*, *Staphylococcus schleiferi* e algumas estirpes de *Staphylococcus hyicus*, e, entre os SCN, as espécies *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus simulans* e *Staphylococcus capitis*, entre outras (MADIGAN, MARTINKO & PARKER, 2004; BANNERMAN & PEACOCK, 2007; EUZÉBY, 2011).

A espécie *S. aureus* pode ser considerada a principal espécie de importância médica do gênero, estando associada a diferentes quadros de infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS), além de apresentar grande relevância para a medicina

veterinária. Tal valor clínico se deve à combinação dos diferentes fatores de virulência produzidos por esta bactéria, à sua capacidade invasora e à emergência de estirpes resistentes a diferentes antibióticos. A maioria das estirpes desta espécie produz enzimas e citotoxinas que incluem a coagulase além de hemolisinas, nucleases, proteases, hialuronidases e collagenases. Algumas estirpes também são capazes de produzir uma ou mais exoproteínas, como a toxina da síndrome do choque tóxico 1 (TSST-1), enterotoxinas estafilocócicas (como por exemplo SEA), toxinas esfoliativas (ETA e ETB), leucocidina, além de cápsula e biofilme (MADIGAN, MARTINKO & PARKER, 2004; BANNERMAN & PEACOCK, 2007). Adicionalmente, os *S. aureus* podem infectar fagócitos, células endoteliais e fibroblastos do organismo hospedeiro (BAYLES *et al.*, 1998).

Além dos diversos fatores de virulência descritos em estirpes de *S. aureus*, um outro atributo dessas bactérias tem complicado o tratamento das infecções estafilocócicas: a sua resistência a múl-

tipos antibióticos, principalmente aos β -lactâmicos (DANCER, 2008).

A emergência e a disseminação de estirpes de *S. aureus* resistentes à metilicina (MRSA) tiveram início nos anos 60 e na década de 90 já causavam sérias dificuldades no tratamento de infecções estafilocócicas, sendo hoje um problema significativo nos hospitais (CHAMBERS & DELEO, 2009; BANNERMAN & PEACOCK, 2007). A propagação dos MRSA é contínua e a incidência de infecções por MRSA, adquiridas na comunidade (CA-MRSA), tem aumentado nos últimos anos (LECLERCQ, 2009).

Os SCN são colonizadores da epiderme humana e, até a década de 1970, essas bactérias foram consideradas não-patogênicas. Porém, esses micro-organismos têm sido associados a diversos quadros de infecções humanas e animais (ARCHER, 2000; PEACOCK, 2007).

Embora as bactérias do gênero *Staphylococcus* sejam famosas como patógenos, algumas espécies têm grande importância industrial.

2. APLICAÇÕES DOS STAPHYLOCOCCUS SPP. NA INDÚSTRIA

2.1. Produção de alimentos

O perfil volátil de embutidos curados compreende uma variedade de compostos como os hidrocarbonetos, aldeídos, ácidos, cetonas, alcoóis, ésteres, sulfuretos, nitrilas, furanos, dentre outros. Muitos desses compostos são formados por reações enzimáticas durante a maturação, o processamento ou o armazenamento dos alimentos, sendo o crescimento microbiano um dos principais elementos responsáveis pela produção do aroma (STAHNKE, 1999).

A fermentação espontânea de embutidos envolve a participação de bactérias pertencentes à microbiota anfibiótica do alimento, composta por bactérias do ácido láctico (BAL), além de estirpes de SCN, que auxiliam na manutenção da qualidade do alimento. É a combinação desses dois grupos bacterianos que compõe as culturas iniciadoras comercializadas para utilização em produtos cárneos (MARTÍN *et al.*, 2006; AMMOR

& MAYO, 2007). De acordo com Hammes, Bantleon e Min (1990), essas culturas podem ser definidas como sendo preparações que contenham micro-organismos ativos (ou em estado latente), que desenvolvam a atividade metabólica desejada na carne (AMMOR & MAYO, 2007).

Muitas espécies de *Staphylococcus* vêm sendo utilizadas na indústria de alimentos como culturas iniciadoras de processos fermentativos de alimentos cárneos e de queijos (NIETO-LOZANO *et al.*, 2002; IRLINGER, 2008), promovendo um aumento da vida de prateleira e aumentando a aceitabilidade do produto final. Um estudo realizado por Montel e colaboradores (1996) verificou que cepas de *S. carnosus* e *S. xylosus* isolados de embutidos foram responsáveis pela produção da maior parte dos compostos voláteis como aldeídos, cetonas, ésteres metílicos e etílicos, fornecendo assim o odor característico dos alimentos curados.

Na Itália, duas espécies de SCN, *S. carnosus* e *S. simulans*, são legalmente utilizadas como culturas iniciadoras no preparo de linguiças fermentadas, uma vez que podem prevenir a rancificação através da decomposição de peróxido, promover a produção de aromas e sabores, além de estabilizar a coloração deste tipo de alimento (CASABURI *et al.*, 2006; LEROY, VERLUYTEN & DE VUYST, 2006). *S. carnosus* tem sido utilizado sozinho ou em combinação com outros micro-organismos, como os pertencentes aos gêneros *Pediococcus* ou *Lactobacillus*, como cultura iniciadora na produção de linguiça crua (ZELL *et al.*, 2008). Outra espécie de SCN que contribui para o aroma de linguiças é *S. saprophyticus*, que também ajuda a prevenir reações desagradáveis produzidas pela oxidação lipídica ocorrida durante o período de maturação deste tipo de alimento (MAURIELLO *et al.*, 2004; IRLINGER, 2008).

Em outros países da Europa, várias espécies de *Staphylococcus* também são utilizadas como iniciadoras para a produção de embutidos fermentados frescos. Estirpes de *S. xylosus* constituem a microbiota dominante desses alimentos na Grécia e na Espanha (BLAIOTTA *et al.*, 2004; DROSINOS

et al., 2005; FIORENTINI *et al.*, 2009). Já na tradicional indústria francesa de embutidos fermentados curados, as espécies mais utilizadas como iniciadoras são *S. xylosus* e *S. carnosus*, devido a sua habilidade de reduzir o nitrato, contribuindo para a coloração dos produtos (MOROT-BIZOT, LEROY & TALON, 2007).

No Brasil, no entanto, as culturas utilizadas como iniciadoras são geralmente importadas da Dinamarca, França e Alemanha, o que ocasiona, além de um elevado custo de produção, a diminuição de um sabor genuinamente brasileiro (CIROLINI *et al.*, 2009).

Mauriello e colaboradores (2004) avaliaram e determinaram as propriedades tecnológicas de estirpes de *Staphylococcus* spp. para utilização como culturas iniciadoras em linguiças processadas, através da avaliação das atividades de enzimas como proteases, lipases e nitrato-redutase, além de avaliarem a atividade antioxidante. Os resultados demonstraram que as estirpes de *S. xylosus* exibiram as melhores propriedades tecnológicas que possibilitariam o seu emprego como culturas iniciadoras em alimentos cárneos fermentados. A atividade da enzima nitrato-redutase promove a estabilidade da coloração avermelhada deste tipo de alimento, enquanto as atividades proteolítica e lipolítica contribuem para a textura e o sabor através da formação de compostos de baixo peso molecular, incluindo peptídeos, ácidos aminados, entre outros compostos. A ação das enzimas catalase e superóxido-dismutase previne a oxidação de lipídeos e dificulta o processo de rancificação (ZELL *et al.*, 2008).

Outros estudos sugerem que outras espécies de SCN, como *Staphylococcus succinus* subsp. *casei* (PLACE *et al.*, 2002) e *Staphylococcus equorum* subsp. *lineus* (PLACE *et al.*, 2003), podem ser utilizadas como ingredientes em culturas iniciadoras em queijos maturados *smear ripened cheese* e em queijos típicos suíços. Esta última espécie de *Staphylococcus* compõe a microbiota encontrada na salmoura durante o processo de maturação. A sua utilização como cultura iniciadora, juntamente com a levedura *Debaryomyces hansenii*, promoveu uma maior proteção da superfície dos queijos

testados, através do aumento do pH, já nos primeiros três dias de maturação. São necessários estudos adicionais, a fim de se identificar se ambos os micro-organismos, leveduras e estafilococos, são componentes essenciais para a aplicação direta na superfície destes queijos, visando uma maior proteção contra possíveis contaminantes, ou se apenas a presença da salmoura é suficiente para tal resultado. Deste modo, as culturas iniciadoras poderiam ser menos complexas, além de mais baratas e fáceis de serem manipuladas (BOCKELMANN, 2002).

2.2 Produção de lipases

As lipases constituem uma classe de enzimas que catalisam a hidrólise de triacilgliceróis de cadeia longa e possuem o recurso exclusivo de atuação na interface entre as fases aquosa e não-aquosa de soluções (ARAVINDAN, ANBUMATHI & VIRUTHAGIRI, 2007).

A importância de lipases microbianas não está apenas na sua participação em alguns processos patogênicos, mas também na sua aplicação em diversos setores industriais, devido a sua capacidade de catalisar reações seletivas, com base no comprimento da cadeia, na especificidade e na seletividade quiral dos triacilgliceróis, tornando-as ótimas candidatas para a produção de compostos opticamente ativos usados na indústria farmacêutica, alimentícia e agrícola (JOSEPH, RAMTEKE & KUMAR, 2006; RAHMAN *et al.*, 2010; TREICHEL *et al.*, 2010). De acordo com Pogaku e colaboradores (2010), as lipases bacterianas podem ser utilizadas em detergentes, alimentos, produção de aromas, produção de inseticidas, ou até mesmo na síntese de drogas anti-inflamatórias como o naxopreno e o ibuprofeno.

Embora a produção de lipases seja uma característica geral do gênero *Staphylococcus*, a espécie *S. epidermidis* tem se tornando um importante alvo dos estudos de produção e obtenção dessas enzimas. Isso se deve ao fato de que este micro-organismo está entre os mais abundantes da microbiota cutânea residente de humanos e animais, sendo encontrado predominantemente nas regiões da pele mais ricas em lipídeos

(JOSEPH, RAMTEKE & KUMAR, 2006; KHORAMNIA *et al.*, 2010).

Tem sido verificado que o uso de células de *S. epidermidis* imobilizadas em suportes adequados para a produção industrial de lipases pode oferecer várias vantagens, como estabilidade da produção e desenvolvimento de biorreatores (JOSEPH, RAMTEKE & KUMAR, 2006). Em um trabalho recente, foi demonstrado que a estirpe *S. epidermidis* CMST-Pi1, isolada de intestino de camarão, foi capaz de produzir uma lipase termoestável e tolerante a solventes orgânicos, tornando essa enzima um alvo para várias aplicações industriais, incluindo sínteses orgânicas (ESAKKIRAJ *et al.*, 2010).

Rahman e colaboradores (2010) descreveram a detecção de outra lipase resistente a solventes orgânicos, produzida por *S. epidermidis* AT2, cujo foi gene clonado e expresso com sucesso em *Escherichia coli*, apresentando uma maior atividade em relação à lipase produzida em estafilococos. Segundo os autores, estas lipases resistentes são úteis em uma variedade de campos da biotecnologia, como catálise em síntese orgânica, biotransformação e resolução óptica de compostos quirais.

Outras espécies de SCN diferentes de *S. epidermidis* também vêm sendo estudadas quanto à produção de lipases com potencial de aplicação, como por exemplo, *S. simulans*, cujas lipases são importantes na formação de importantes moléculas aromáticas como o etil-valerato e o hexil-acetato, que promovem fragrâncias de maçã verde e pera, respectivamente. Estas fragrâncias são usadas mundialmente pelas indústrias farmacêutica, de alimentos e de cosméticos e vêm sendo alvo de estudos recentes que visam à utilização de um sistema livre de solventes (não tóxico) e que promova o aumento da síntese destes compostos, além de reduzir os custos de produção para os fabricantes (KARRA-CHÁBOUNI *et al.*, 2006).

A espécie *Staphylococcus warneri* também tem sido objeto de estudo da produção de lipases nos processos de fermentação industrial. Um estudo realizado na África, por Souissi e colaboradores (2009), demonstrou que lipases de *S. warneri* puderam ser produzidas

utilizando-se como substrato a peptona de peixe, resultando em um processo de baixo custo, mas com alta produtividade, destacando o potencial uso desta metodologia. Volpato (2009), em um trabalho realizado no Brasil, demonstrou que a lipase da estirpe *S. warneri* EX17 pode ser produzida utilizando-se glicerol residual como fonte de carbono, resultando na diminuição do custo de produção da enzima.

Estirpes de *Lactococcus lactis* estão sendo utilizadas para expressar o gene *lip* (codificador da produção de lipase) de *S. hyicus*, com a finalidade de levar a lipase, por via oral, ao trato gastrointestinal de porcos com problemas de insuficiência pancreática. Este tratamento possui potencial de aplicação em humanos, uma vez que o custo e a segurança do mesmo parecem ser bastante promissores (DROUVAULT *et al.*, 2002).

2.3. Produção de bacteriocinas

As bacteriocinas são peptídeos antimicrobianos com atividade inibitória contra outras estirpes bacterianas. Essas substâncias são produzidas por arqueas, bactérias Gram-negativas e Gram-positivas (RILEY & CHAVAN, 2007). As bacteriocinas produzidas por bactérias do gênero *Staphylococcus* já são conhecidas desde o século XIX e são designadas estafilococinas (FREDERICQ, 1946, *apud* JACK, TAGG & RAY, 1995).

No ambiente, as bacteriocinas favorecem as bactérias produtoras na competição contra outros micro-organismos que ocupem um mesmo nicho ecológico (JACK, TAGG & RAY, 1995). Por possuírem um amplo espectro de ação, as bacteriocinas produzidas por bactérias Gram-positivas, inclusive as estafilococinas (Tabela 1), apresentam potencial para o uso industrial.

O uso de bacteriocinas na indústria de alimentos pode ajudar a reduzir a adição de preservativos químicos, bem como o uso de tratamentos pela ação do calor, melhor preservando as propriedades naturais dos alimentos e satisfazendo a demanda de consumo de alimentos seguros e minimamente processados (CEOTTO & BASTOS, 2011). Dentre as estafilococinas com potencial de aplicação em ali-

mentos pode-se destacar as aureocinas A53, A70 e 4185, além da hycina 3682, todas estudadas pelo nosso grupo e com atividade contra *Listeria monocytogenes* (BASTOS *et al.*, 2009; CEOTTO *et al.*, 2009; FAGUNDES *et al.*, 2011), um importante patógeno alimentar.

O surgimento de estirpes bacterianas resistentes aos antibióticos utilizados, tanto na clínica médica como na veterinária, tem tornado essencial o desenvolvimento de novas drogas. As estafilococinas têm se mostrado eficientes na inibição de diversos patógenos humanos e animais, principalmente bactérias Gram-positivas, incluindo estirpes resistentes a múltiplas drogas. Portanto, a utilização desses peptídeos, como alternativa ao uso dos antibióticos, parece ser uma solução atraente (BASTOS *et al.*, 2009).

Neste contexto, pode-se destacar a aureocina A53 e a nukacina 3299/ISK1, que combinadas são capazes de inibir os principais agentes causadores da mastite bovina: *Staphylococcus* spp. e *Streptococcus* spp.. Vale ressaltar que o

emprego de bacteriocinas no tratamento e na prevenção da mastite bovina poderia apresentar uma segunda vantagem importante: a ausência de resíduos de antibióticos no leite (BASTOS *et al.*, 2009).

Embora algumas estafilococinas já tenham sido caracterizadas, a lisostafina ainda é a única utilizada pela indústria. Trata-se de uma bacteriolisina, de 27 kDa, produzida por estirpes de *S. simulans* biovar *staphylolyticus*, capaz de hidrolisar a ligação cruzada formada pelas pontes de pentaglicina que compõem a peptidoglicano da parede celular de espécies de *Staphylococcus*, principalmente *S. aureus* (BASTOS *et al.*, 2009; BASTOS, COUTINHO & COELHO, 2010).

A lisostafina possui um pI de 9,5 e um pH ótimo de 7,5 para a sua atividade. Ela é sintetizada na forma de uma pró-enzima de 493 ácidos aminados e a sua secreção é iniciada pela clivagem do peptídeo-líder, de 36 ácidos aminados, presente no seu terminal amino. A proenzima liberada no meio de cultura apresenta 15 repetições em tandem, de

13 ácidos aminados, no terminal amino. Esta prolisostafina apresenta atividade antimicrobiana, mas é significativamente menos ativa do que a lisostafina madura. As repetições presentes no seu terminal amino são removidas durante o crescimento bacteriano, por cisteína-proteases secretadas pela estirpe produtora (BASTOS *et al.*, 2009; BASTOS, COUTINHO & COELHO, 2010).

Esta bacteriolisina possui dois domínios distintos: (i) um domínio N-terminal, responsável pela sua atividade catalítica, e um domínio C-terminal, envolvido na sua ligação ao substrato, a peptidoglicano (BASTOS *et al.*, 2009; BASTOS, COUTINHO & COELHO, 2010).

A lisostafina é amplamente empregada para estudos genéticos em estafilococos, tais como a purificação de DNA e a obtenção de protoplastos, sendo comercializada pela Sigma-Aldrich, a partir da expressão heteróloga do seu gene estrutural em *E. coli*. Adicionalmente, *in vitro* e *in vivo*, a lisostafina apresentou atividade antagonística contra estirpes

TABELA 1. EXEMPLOS DE ESTAFILOCOCCINAS E SEU POTENCIAL DE APLICAÇÃO.

ESTAFILOCOCCINAS (MICRO-ORGANISMO PRODUTOR)	ESPECTRO DE ATIVIDADE CONTRA MICRO-ORGANISMOS CONSIDERADOS RELEVANTES	POTENCIAL DE APLICAÇÃO	REFERÊNCIAS
Aureocina A70 (<i>S. aureus</i> A70)	<i>Corynebacterium</i> spp. <i>L. monocytogenes</i> <i>S. aureus</i> <i>S. agalactiae</i>	Biopreservação de alimentos	BASTOS <i>et al.</i> , 2009
Aureocina A53 (<i>S. aureus</i> A53)	<i>Corynebacterium</i> spp. <i>L. monocytogenes</i> <i>Moraxella bovis</i> <i>S. aureus</i> <i>Streptococcus agalactiae</i>	Controle de mastite bovina	BASTOS <i>et al.</i> , 2009
Aureocinas 4185 (<i>S. aureus</i> 4185)	<i>L. monocytogenes</i>	Biopreservação de alimentos	CEOTTO <i>et al.</i> , 2009
Hycina 3682 (<i>S. hyoccus</i> 3682)	<i>L. monocytogenes</i>	Biopreservação de alimentos	FAGUNDES <i>et al.</i> , 2011
Lisostafina (<i>S. simulans</i> biovar <i>staphylolyticus</i> ATCC1362)	<i>S. aureus</i> , <i>S. epidermidis</i>	Estudos genéticos Controle de infecções estafilocócicas Biopreservativo de alimentos	BASTOS, COUTINHO & COELHO, 2010
Pep5 (<i>S. epidermidis</i> Pep5)	<i>S. aureus</i> SCN <i>Corynebacterium</i> spp.	Controle de infecções estafilocócicas	NASCIMENTO <i>et al.</i> , 2006
Warericina RB4 (<i>S. wareri</i> RB4)	<i>Alicyclobacillus acidoterrestris</i>	Biopreservação de sucos de frutas	MINAMIKAWA <i>et al.</i> , 2005
Nukacina 3299/ISK-1 (<i>S. simulans</i> 3299/ <i>S. wareri</i> ISK-1)	<i>Streptococcus agalactiae</i>	Controle de mastite bovina	NASCIMENTO <i>et al.</i> , 2005

de *Staphylococcus* spp. de diferentes origens, incluindo casos clínicos, mastite bovina e mesmo de alimentos. Devido ao seu modo de ação, esta bacteriolisina parece ser um agente promissor para o controle destes micro-organismos (BASTOS, COUTINHO & COELHO, 2010).

CONCLUSÕES

Os *Staphylococcus* spp. têm sido associados a diversos quadros de infecções humanas e animais, além de representarem um importante contaminante de alimentos. Embora as bactérias deste gênero sejam famosas como patógenos, elas nem sempre desempenham papel de vilãs. Algumas espécies têm grande importância biotecnológica, sendo aplicadas em diferentes setores da indústria. Na indústria de alimentos, por exemplo, os *Staphylococcus* spp. são empregados como culturas iniciadoras de processos fermentativos de alimentos cárneos e de queijos, promovendo um aumento da vida de prateleira e aumentando a aceitabilidade do produto final. Já a produção industrial de lipases estafilocócicas pode oferecer várias vantagens, como a estabilidade da produção e o desenvolvimento de biorreatores. Essas lipases têm mostrado, ainda, um potencial de aplicação em síntese orgânica, biotransformação e resolução óptica de compostos quirais. Adicionalmente, os *Staphylococcus* spp. produzem diferentes peptídeos antimicrobianos com amplo espectro de ação, estafilococinas, que têm mostrado potencial de aplicação tanto na indústria de alimentos (como preservativos naturais), como na clínica médica e na medicina veterinária. Dentre as estafilococinas já caracterizadas, a lisostafina já é amplamente utilizada para estudos genéticos e tem se mostrado um agente promissor para o controle de infecções estafilocócicas.

REFERÊNCIAS

AMMOR, M.S. & MAYO, B. 2007. Selection criteria for lactic acid bacteria to be used as functional starter cultures in dry sausage production: An update. *Meat Sci.*, 76, 138-146.

ARAVINDAN, R., ANBUMATHI, P., VIRUTHAGIRI, T. Lipase applications in food industry. 2007. *Indian Journal of Biotechnology*, 6, 141-158.

ARCHER, G.L. *Staphylococcus epidermidis* and other coagulase-negative staphylococci. 2000. In: *Principles and practice of infectious diseases*, p. 1777-1784. Edited by Mandall, G. L., Bennett, J. E. & Dolin, R. Churchill Livingstone, Philadelphia.

BANNERMAN, T.L. & PEACOCK, S. 2007. *Staphylococcus*, *Micrococcus* and other catalase-positive cocci. In: *Manual of Clinical Microbiology*, p. 390-411. Edited by Murray, P.R., Baron, E.J., Tenover, J.C., Tenover, M.C. & Pfaller, J.M.A., ASM Press, Washington DC.

BASTOS, M.C.F., CEOTTO, H., COELHO, M.L.V. & NASCIMENTO, J.S. 2009. Staphylococcal antimicrobial peptides: relevant properties and potential biotechnological applications. *Curr. Pharm. Biotechnol.* 10, 38-61.

BASTOS, M.C.F., COUTINHO, B. G. & COELHO, M.L.V. 2010. Lysostaphin: a staphylococcal bacteriolysin with potential clinical applications. *Pharmaceuticals*, 3, 1139-1161.

BAYLES, K.W., WESSON, C.A., LIU, L.E., FOX, L.K., BOHACH, G.A. & TRUMBLE, W.R. 1998. Intracellular *Staphylococcus aureus* escapes the endosome and induces apoptosis in epithelial cells. *Infect. Immun.*, 66, 336-342.

BLAIOTTA, G., PENNACCHIA, C., VILLANI, F., RICCIARDI, A., TOFALO, R. & PARENTE, E. 2004. Diversity and dynamics of communities of coagulase-negative staphylococci in traditional fermented sausages. *J. Appl. Microbiol.*, 97, 271-284.

BOCKELMANN, W. 2002. Development of defined surface starter cultures for the ripening of smear cheeses. *Int. Dairy J.*, 12, 123-131.

CASABURI, A., VILLANI, F., TOLDRÁ, F. & SANZ, Y. 2006. Protease and esterase activity of staphylococci. *Int. J. Food Microbiol.*, 112, 223-229.

CEOTTO, H. & BASTOS, M.C.F. 2011. Bacteriocinas: peptídeos naturais para a preservação de alimentos. *Microbiol. in foco*, 17, 29-36.

CEOTTO, H., NASCIMENTO, J.S., BRITO, M.A.P. & BASTOS, M.C.F. 2009. Bacteriocin production by *Staphylococcus aureus* involved in bovine mastitis in Brazil. *Res. Microbiol.*, 160, 592-599.

CHAMBERS, H.F. & DELEO, F.R. 2009. Waves of resistance: *Staphylococcus aureus* and the antibiotic era. *Nat. Rev. Microbiol.*, 7, 629-641.

CIROLINI, A., FRIES, L.L.M., TERRA, N.N.,

MILANI, L.I.G. & URNAU, D. 2009. Isolation and characterization of *Staphylococcus xylosum* of artisanal fermented sausages: a preliminary study. *Alim. Nutr.*, 20, p. 307-311.

DANCER, S.J. 2008. The effect of antibiotics on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J. Antimicrob. Chemother.*, 61, 246-253.

DROSINOS, E.H., MATARAGAS, M., XIRAPHI, N., MOSCHONAS, G., GAITIS, F. & METAXOPOULOS, J. 2005. Characterization of the microbial flora from a traditional Greek fermented sausage. *Meat Sci.*, 69, 307-317.

DROUVAULT, S., JUSTE, C., MARTEAU, P., RENAULT, P., CORTIER, G. 2002. Oral treatment with *Lactococcus lactis* expressing *Staphylococcus hyicus* lipase enhances lipid digestion in pigs with induced pancreatic insufficiency. *Appl. Environ. Microbiol.*, 68, 3166-3168.

ESAKKIRAJ, P., RAJKUMARBHARATHI, M., PALAVESAM, A. & IMMANUEL, G. 2010. Lipase production by *Staphylococcus epidermidis* CMST-Pi 1 isolated from the gut of shrimp *Penaeus indicus*. *Ann Microbiol.*, 60, 37-42.

EUZÉBY, J.P. 2011. List of prokaryotic names with standing in nomenclature. <http://www.bacterio.cict.fr/>.

FAGUNDES, P.C., CEOTTO, H., POTTER, A., VASCONCELOS, BRITO, M.A.V.P., BREDE, D., NES, I.F. & BASTOS, M.C.F. 2011. Hyicin 3682, a bioactive peptide produced by *Staphylococcus hyicus* 3682 with potential applications for food preservation. *Res. Microbiol.*, 162, 1052-1059.

FIorentini, A.M., SAWITZKI, M.C., BERTOL, T. M., BROD, F.C.A., PELISSER, M. R., ARISI, A.C.M. & SANT'ANNA, E.S. 2009. Phenotypic and molecular characterization of *Staphylococcus xylosum*: technological potential for use in fermented sausage. *Braz. Arch. Biol. Technol.*, 52, 737-746.

HAMMES, W.P., BANTLEON, A. & MIN, S. 1990. Lactic acid bacteria in meat fermentation. *FEMS Microbiol. Rev.*, 87, 165-174.

IRLINGER, F. 2008. Safety assessment of dairy microorganisms: coagulase-negative staphylococci. *Int. J. Food Microbiol.*, 126, 302-310.

JACK, R.W., TAGG, J.R. & RAY, B. 1995. Bacteriocins of Gram-positive bacteria. *Microbiol. Rev.*, 59, 171-200.

JOSEPH, B., RAMTEKE, P. W. & KUMAR,

- P.A. 2006. Studies on the enhanced production of extracellular lipase by *Staphylococcus epidermidis*. J. Gen. Appl. Microbiol., 52, 315-320.
- KARRA-CHÄABOUNI, M., GHAMGUI, H., BEZZINE, S., REKIK, A. & GARGOURI, Y. 2006. Production of flavor esters by immobilized *Staphylococcus simulans* lipase in a solvent-free system. Process Biochem., 41, 1692-1698.
- KHORAMNIA, A., LAI, O.M., EBRAHIMPOUR, A., TANDUBA, C.J., VOON, T.S. & MUKHLIS, S. 2010. Thermostable lipase from a newly isolated *Staphylococcus xylosus* strain, process optimization and characterization using RSM and ANN. Electronic J. Biotech., 13, 15-16.
- KLOOS, W.E., SCHLEIFER, K.H. & GÖTZ, F. 1991. The genus *Staphylococcus*. In: The prokaryotes, 1369-1420. Edited by Blows, A. & Trüper, H. G., Springer, New York.
- LECLERCQ, R. 2009. Epidemiological and resistance issues in multidrug-resistant staphylococci and enterococci. Clin. Microbiol. Infect., 15(3), 224-231.
- LEROY, F., VERLUYTEN, J. & DE VUYST, L. 2006. Functional meat starter cultures for improved sausage fermentation. Int. J. Food Microbiol., 106, 270-285.
- MADIGAN, M.T., MARTINKO, J.M. & PARKER, J. 2004. Brock: Biology of Microorganisms, 10th Edition. Prentice-Hall, New Jersey, p. 1019.
- MAURIELLO, G., CASABURI, A., BLAIOTTA, G. & VILLANI, F. Isolation and technological properties of coagulase negative staphylococci from fermented sausages of southern Italy. Meat Sci., 67, 149-158, 2004.
- MARTÍN, B., GARRIGA, M., HUGAS, M., BOVER-CID, S., VECIANA-NOGUÉS, M.T. & AYMERICH, T. 2006. Molecular, technological and safety characterization of Gram-positive catalase-positive cocci from slightly fermented sausages. Int. J. Food Microbiol., 107, 148-158.
- MINAMIKAWA, M., KAWAI, Y., INOUE, K.N. & YAMAZAKI, K. 2005. Purification and characterization of warnericin RB4, anti-*Alicyclobacillus* bacteriocin, produced by *Staphylococcus warneri* RB4. Curr. Microbiol., 51, 22-26.
- MONTEL, M.-C., REITZ, J., TALON, R., BERDAGUED, J.-L. AND ROUSSET-AKRIM, S. 1996. Biochemical activities of *Micrococaceae* and their effects on the aromatic profiles and odors of a dry sausage model. Food Microbiology, 13, 489-499.
- MOROT-BIZOT, S.C., LEROY, S. & TALON, R. 2007. Monitoring of staphylococcal starters in two French processing plants manufacturing dry fermented sausages. J. Appl. Microbiol., 102, 238-244.
- NIETO-LOZANO, J.C., REGUERA-USEROS, J.I., PELÁEZ-MARTÍNÉZ, M.C. & HARDISON DE LA TORRE, A. 2002. Bacteriocinogenic activity from starter cultures used in Spanish meat industry. Meat Sci., 62, 237-243.
- NASCIMENTO, J.S., FAGUNDES, P.C., BRITO, M.A.P., SANTOS, K.R. & BASTOS, M.C.F. 2005. Production of bacteriocins by coagulase-negative staphylococci involved in bovine mastitis. Vet. Microbiol., 20, 61-71.
- PEACOCK, S. 2007. *Staphylococcus*. In: Topley & Wilson's Microbiology & Microbial Infections, p. 390-411. Edited by Borricello, S. P., Murray, P. R. & Funke, G., ASM Press.
- PLACE, R.B., HIESTAND, D., BURRI, S. & TEUBER, M. *Staphylococcus succinus* subsp. *casei* subsp. *nov.*, a dominant isolate from surface ripened cheese. Syst. Appl. Microbiol., 25, 353-359, 2002.
- PLACE, R.B., HIESTAND, D., GALLMANN, H.R. & TEUBER, M. 2003. *Staphylococcus equorum* subsp. *lineus* subsp. *nov.*, a starter culture component for surface ripened semi-hard cheeses. Syst. Appl. Microbiol., 26, 30-37.
- POGAKU, P., SURESH, A., SRINIVAS, P. & REDDY, R.S. 2010. Optimization of lipase production by *Staphylococcus* sp. Lp12. Afr. J. Biotech., 9, 882-886.
- RAHMAN, R.N. Z.R.A., KAMARUDIN, N.H.A., YUNUS, J., SALLEH, A.B. & BASRI, M. 2010. Expression of an organic solvent stable lipase from *Staphylococcus epidermidis* AT2. Int. J. Mol. Sci., 11, 3195-3208.
- RILEY, M.A. & CHAVAN, M.A. Introduction. In: Bacteriocins: ecology and evolution. p. 1-3. Edited by Riley, M.A. & Chavan, M.A., Springer, 2007.
- SOUISSI, N., BOUGATEF, A., TRIKI-ELLOUZ, Y. & NASRI, M. 2009. Production of lipase and biomass by *Staphylococcus simulans* grown on sardinella (*Sardinella aurita*) hydrolysates and peptone. Afr. J. Biotech., 8, 451-457.
- STAHNKE, L.H. 1999. Volatiles produced by *Staphylococcus xylosus* and *Staphylococcus carnosus* during growth in sausage minces Part I. Collection and identification. Lebensm. Wiss. Technol., 32, 357-364.
- TREICHEL, H., OLIVEIRA, D., MAZUTTI, M.A., LUCCIO, M.D., OLIVEIRA, J.V. 2010. A review on microbial lipases production. Food Bioprocess Technol., 3, 182-196.
- VOLPATO, G. 2009. Produção, purificação e imobilização de lipases de *Staphylococcus warneri* EX17 produzidas em glicerol. Tese de Doutorado. Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, RS, Brasil.
- ZELL, C., RESCH, M., ROSENSTEIN, R., ALBRECHT, T., HERTEL, C. & GÖTZ, F. 2008. Characterization of toxin production of coagulase-negative staphylococci isolated from food and starter cultures. Int. J. Food Microbiol., 127, 246-251.

Selo de Qualidade SBM

Confiança na qualidade do produto

Em 2009 a Sociedade Brasileira de Microbiologia implantou o Selo de Qualidade SBM, com o objetivo de promover a certificação de produtos sanitariamente adequados quanto à presença de microrganismos. Em paralelo ao Selo, foi criado o Departamento de Avaliação de Produtos pela SBM, responsável pelas análises e pesquisas dos produtos, incluindo as embalagens e informações ao consumidor.

A certificação do produto começou a ser uma exigência do mercado e os fabricantes passaram a se preocupar mais em adequar sua produção e seus produtos dentro de parâmetros qualitativos e com preços competitivos. O programa de certificação da SBM visa certificar produtos quanto a sua qualidade microbiológica e/ou sua capacidade germicida.

O processo de certificação pela SBM segue um programa internacional, cujas diretrizes emanam da Organização Mundial de Saúde.

O primeiro produto a receber o Selo de Qualidade da SBM foi o Dettol® produzido pela empresa Reckitt-Benckiser nas formas de sabonete em barra, sabonete líquido e gel anti-séptico. Este selo foi concedido após avaliação de parecer técnico-específico emitido por especialistas indicados pela SBM.



Como solicitar o Selo SBM

As empresas interessadas em encaminhar seus produtos para avaliação do programa de certificação da SBM devem:

- Enviar carta à Sociedade Brasileira de Microbiologia e solicitar que o produto, fabricado ou comercializado no Brasil seja analisado para receber o Selo de Qualidade SBM;
- Também é preciso enviar estudos já realizados sobre o produto, como análises, pesquisas e formulação, além de informações adicionais que houver;
- Caso a comissão de avaliação achar necessário, novos testes em laboratórios credenciados poderão ser solicitados.

Vigência é de 24 meses

Depois do envio deste material, o SBM firma com a empresa solicitante um protocolo de pesquisa, informando os objetivos, procedimentos e tempo de estudo. A realização dos ensaios dura entre 30 a 90 dias e todas as análises realizadas, materiais e equipamentos utilizados obedecem a normas específicas para cada produto. Sendo o produto aprovado, deverá a Empresa assinar um Contrato que rege todos os pontos do relacionamento com a SBM, passando a efetuar um pagamento mensal pela utilização da marca. Este valor mensal também é definido conforme o resultado da análise do Questionário de Perfil da Empresa.

Para tornar possível mais essa atividade da SBM, foi realizado um convênio de parceria com empresa tradicional em proficiência, a Controllab.

Para obtenção de maiores esclarecimentos entre em contato com:
sbm@sbmicrobiologia.org.br

MICROBIOLOGIA *in foco*

SBM IN FOCO - A forma direta de falar com os microbiologistas.



Apresentamos o plano de comercialização para 1 ou 4 edição (ões) da Revista Microbiologia in Foco.

Periódico da Sociedade Brasileira de Microbiologia, com tiragem de 2000 exemplares e distribuição gratuita. Revista de informação e divulgação sobre temas em bacteriologia, micologia e virologia nas várias áreas de abrangência da Microbiologia: ambiental, agrícola, básica, de alimentos, industrial, médica humana e veterinária e oral.

A revista ainda conta com espaços para divulgação de consensos, agenda científica, atualidades e oportunidades de trabalho.

Venha fazer parte deste veículo de informação atualizada!

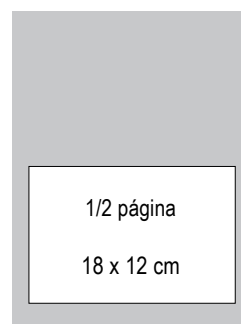
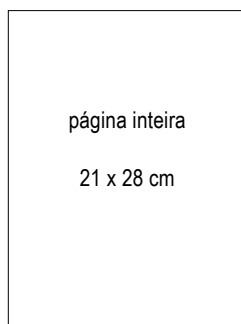
Atenciosamente,

Marina Baquerizo Martinez e Carlos P. Taborda - Editores
Sociedade Brasileira de Microbiologia

VALORES:

Capa Final Interna	1 edição R\$ 2.000,00	4 edições – R\$ 4.000,00 cada
Capa Final Externa	1 edição R\$ 2.500,00	4 edições – R\$ 5.200,00 cada
½ página (par)	1 edição R\$ 1.000,00	4 edições – R\$ 1.600,00 cada
Página Inteira (par)	1 edição R\$ 1.850,00	4 edições – R\$ 3.600,00 cada
½ página (impar)	1 edição R\$ 1.350,00	4 edições – R\$ 2.400,00 cada
Página Inteira (impar)	1 edição R\$ 2.150,00	4 edições – R\$ 4.400,00 cada

FORMA DE PAGAMENTO: 15 dias após a edição da Revista, através de boleto bancário com recibo oficial.



Para anunciar entre em contato com Jair Cagnotto:

E-mail: financeiro@sbmicrobiologia.org.br

Telefone: (11) 3813-9647 ou 3037-7095

AGENDA 2012



XXI ALAM

Congresso Latinoamericano
de Microbiologia
SANTOS - BRASIL

XXI Congresso Latino-Americano de Microbiologia

Data: 28/10/2012 à 01/11/2012.

Local: Mendes Convention Center – Santos, SP – Brasil.

Eventos simultâneos:

III Simpósio Internacional de Microbiologia Clínica – SIMC2012

XIII Encontro Nacional de Microbiologia Ambiental – ENAMA

I Workshop Sul-Americano de Microbiologia Polar – SAMP

XIV Simpósio Brasileiro de Micobactérias – SIBRAMIC

III Congresso Latinoamericano de Microbiología de Medicamentos - CLAMME

I Simpósio Iberoamericano sobre Micro-organismos Fotossintetizantes - SIMIF

Simpósio de Fermentação Alcoólica

III Meeting of the Latin American Coalition for Escherichia coli Research - LACER



Cursos de Especialização e Aperfeiçoamento em Microbiologia

- Microbiologia Clínica
- Microbiologia Industrial
- Microbiologia de Alimentos
- Microbiologia Ambiental

Início das turmas em fevereiro

Coodernadora: Dra. Marina Baquerizo Martinez
Profa. Titular da FCF-USP

Público Alvo

Graduados em

- Biologia
- Medicina Veterinária
- Engenharia de Alimentos
- Engenharia Química
- Farmácia
- Biomedicina
- Medicina
- Odontologia

Especialização

Interessados em atuar na área de microbiologia de alimentos, ambiental, industrial e clínica.

Seleção: Ficha de inscrição e Envio de currículo

Duração: 24 meses, aulas quinzenais, sextas-feiras das 19:00 a 23:00 horas e sábados das 9:00 as 18:00 horas

Carga Horária Total: 904 horas

Aperfeiçoamento

Profissionais que atuam na área de microbiologia de alimentos, ambiental, industrial e clínica. E queiram aprimorar seus conhecimentos específicos.

Seleção: Ficha de inscrição e Envio de currículo

Duração: 12 meses, aulas quinzenais, sextas-feiras das 19:00 a 23:00 horas e sábados das 9:00 as 18:00 horas

Carga Horária Total: 252 horas

www.sbmicrobiologia.org.br
Av. Prof. Lineu Prestes 2415 ICB III | Cidade Universitária | São Paulo | SP | CEP: 05508-000
Tel: 11 3037-7095 | 11 3813-9647 | curso@sbmicrobiologia.org.br

Os sócios da SBM têm direito a descontos especiais nos eventos promovidos ou patrocinados pela SBM. Para usufruir do desconto de associado em nossas atividades é imprescindível estar anuente a dois anos consecutivos com a sociedade. Além disso, têm acesso livre à revista científica *Brazilian Journal of Microbiology* (BJM) e que se destina à publicação de trabalhos de pesquisa originais, notas breves e revisões, envolvendo todos os aspectos da Microbiologia. É considerada uma das revistas científicas mais importantes do nosso país. O BJM tem uma política muito severa de avaliação dos trabalhos submetidos à publicação, sendo cada manuscrito avaliado por pelo menos dois revisores criteriosamente selecionados.

A revista *Microbiologia in Foco* tem o objetivo de promover o intercâmbio de informações científicas entre os associados, publicando os autores nacionais de expressão. Adota o mesmo critério de avaliação e excelência que a SBM sempre adotou. Enviaremos o último número da *Microbiologia in Foco* a todos os novos associados, após sua efetiva associação.

Fique sócio da SBM.

Veja informações no site: www.sbmicrobiologia.org.br

Lembre-se: um sócio da SBM integra a maior e mais representativa associação da comunidade científica que atua na microbiologia nacional.

Valores para associação

Categoria de Sócio	Anuidade 2012
Aluno de Graduação	R\$ 85,00
Aluno de Pós-Graduação (Mestrado e Doutorado)	R\$ 135,00
Aluno de Pós-Doutorado	R\$ 165,00
Profissional	R\$ 195,00
Assinatura Jurídica	R\$ 355,00

Diretoria

Biênio 2012-2013

Presidente

Adalberto Pessoa Junior, USP-SP

Vice Presidente

Alexandre Soares Rosado, UFRJ-RJ

1º Secretário

Carla Taddei de Castro Neves, USP-SP

2º Secretário

Lauro Santos Filho, UFPB-PB

1º Tesoureiro

Carlos Pelleschi Taborda, USP-SP

2º Tesoureiro

Maria Cristina Dantas Vanetti, UFV-MG

Conselho Fiscal

Bernadette D. G. M. Franco, USP-SP

Sergio E. L. Fracalanza, UFRJ-RJ

Agnes Marie Sá Figueiredo, UFRJ-RJ

Representantes de Área

SBM 2012-2013

Coleções de Cultura

Manuela da Silva, FIOCRUZ-RJ

Carlos Augusto Rosa, UFMG-MG

Ensino

Karla Tereza Silva Ribeiro, UFPA-PA

Marcela Pellegrine Peçanha, PUC-SP/UNISO

Infecção Hospitalar

Afonso Luis Barth, UFRGS-RS

Ana Lúcia Darini, USP-SP

Microbiologia de Alimentos

Bernadette G. Franco, USP-SP

Ricardo Souza Dias, FUNED-MG/Metodista de Minas-MG

Microbiologia Ambiental

Vivian Pelizari, USP-SP

Raquel Paixoto, UFRJ-RJ

Microbiologia Clínica

Elizabeth de Andrade Marques, UERJ-RJ

Marina Baquerizo Martinez, FCF/USP

Microbiologia Industrial

Eleni Gomes, UNESP-Rio Preto, SP

Luiz Henrique Guimarães, USP-Ribeirão Preto, SP

Microbiologia Médica

Leila Carvalho Campos, FIOCRUZ-BA

Tânia Aparecia Tardelli G. do Amaral, UNIFESP-SP

Micologia

Célia Maria de Almeida Soares, UFG-GO

Marcio Rodrigues, UFRJ-RJ

Micotoxinas

Adriana de Almeida Palma, ITAL-SP

Marta Taniwaki, ITAL-SP

Parasito-Hospedeiro

Sandro R. de Almeida, USP-SP

Dario Simões Zamboni, USP-Ribeirão Preto, SP

Microbiologia do Solo

Itamar Soares de Melo, Embrapa-SP

Vânia Maria Maciel Melo, UFC-CE

Microbiologia Veterinária

Odir Antônio Dallagostin, UFPEL-RS

Rinaldo Aparecido Mota, UFRPE-PE

Virologia

Flávio Guimarães da Fonseca, UFMG-MG

Luciana Barros de Arruda, UFRJ-RJ

Genética de Microrganismos e Bioinformática

Artur Luiz da Costa Silva, UFPA-PA

Gustavo Goldman, USP-SP

