

Esterilização

D10 – Dose de redução decimal

D0 – Dose de inativação

DSAL – Dose para assegurar SAL

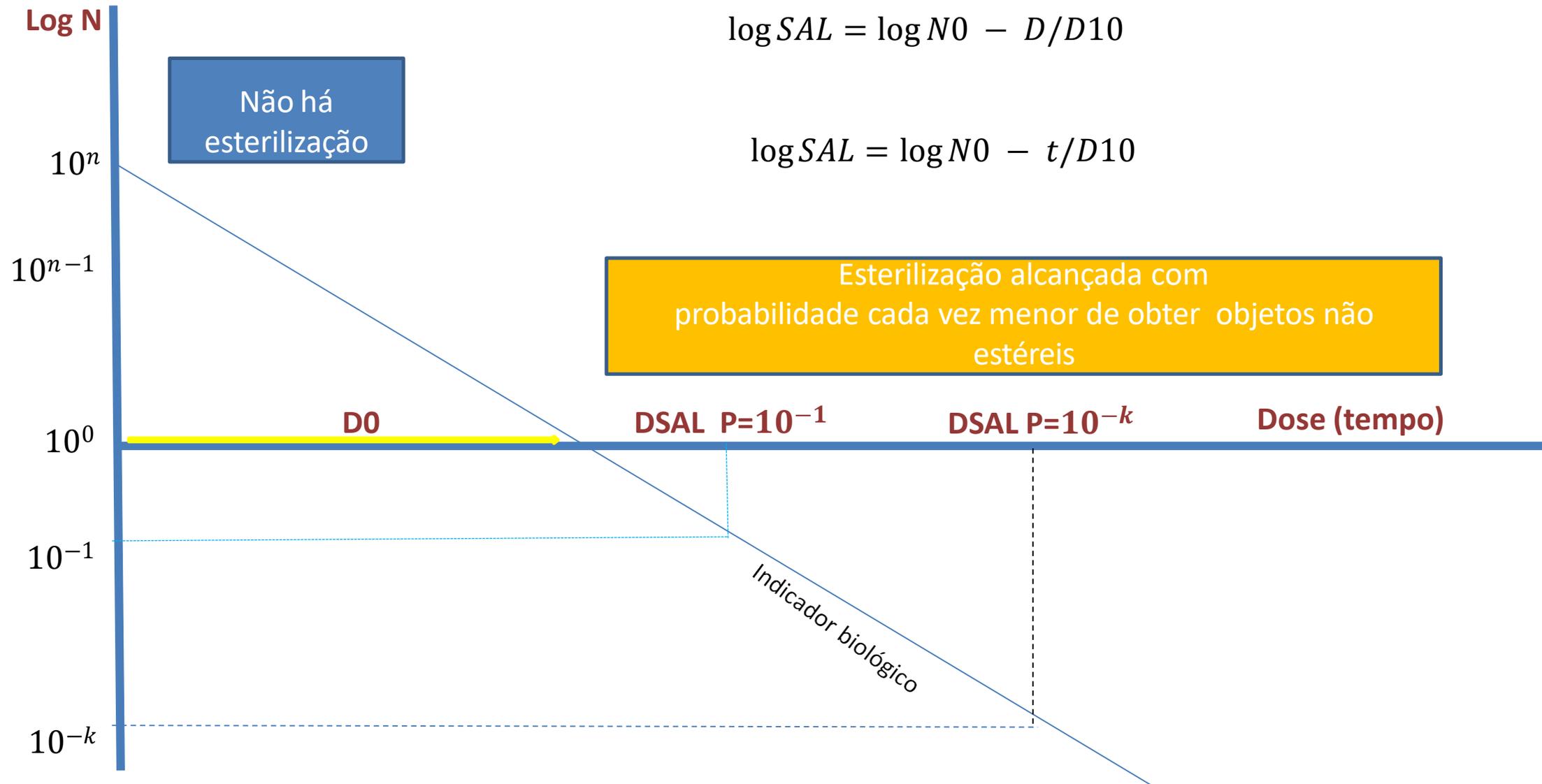
F dose que inclui a probabilidade de contaminação

Cálculo da probabilidade da não esterilidade dos Microrganismos mais resistentes

$$\log SAL = \log N_0 - KD$$

$$\log SAL = \log N_0 - D/D_{10}$$

$$\log SAL = \log N_0 - t/D_{10}$$



Nível de segurança de esterilidade

A eficiência de esterilização é expressa como a probabilidade estatística de sobreviverem microrganismos no final do processo

SAL 10^{-3}

SAL 10^{-6}

Dose SAL – dose de esterilização (inclui probabilidade de contaminação)

10^{-k} (1 em 10^k estar não estéril)

Calcule a probabilidade de não esterilidade dos microrganismos mais resistentes da seguinte situação:

$$N_0 = 10^8$$

Dose – 15 min

D10 – 1,5 min

Num processo industrial de produção de ácido cítrico com fermentadores contendo 500 L de meio de fermentação (melaço de cana e beterraba; nível de contaminação inicial de 8×10^6 cfuml⁻¹) utilizaram-se dois esquemas de esterilização por calor húmido antes da inoculação da estirpe produtora:

Esquema A – 30 min 121⁰ C

Esquema B - 15 s 135⁰ C

Bacillus stearothermophilus: D10 (121⁰ C) = 1,5 min; D10 (135⁰ C) = 0,9 s

Considera os dois esquemas equivalentes em termos da margem de segurança associada?
Justifique a resposta, apresentando todos os cálculos que efectuar.

Uma empresa de importação e distribuição de produtos alimentares que procede à embalagem de especiarias em pacotes de 10 g, pretendendo reduzir o nível de contaminação microbiana habitual neste tipo de produto, solicitou a um laboratório de controlo a determinação da dose de radiação gama a utilizar de modo a garantir um máximo de 100 cfu por pacote.

a) Com base nos dados apresentados na tabela seguinte, determine a dose de radiação (expressa em KGy) necessária para satisfazer o requisito.

	cfu g ⁻¹	D10 max
bactérias	10 ³	3 KGy
fungos	10 ⁴	2 KGy

b) Discuta a aplicabilidade do conceito de margem de segurança de esterilidade (SAL) a esta situação.

Desvios da linearidade

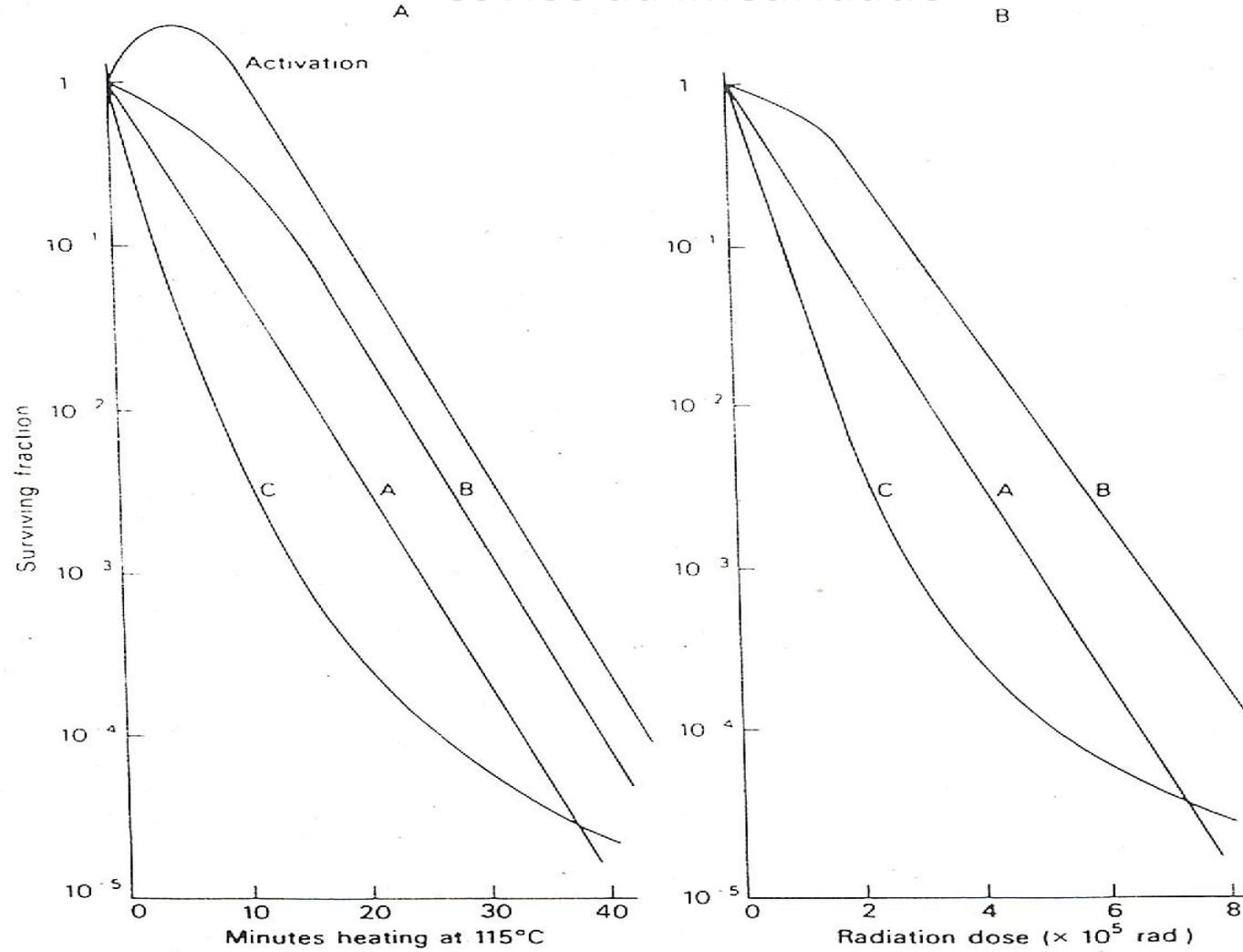
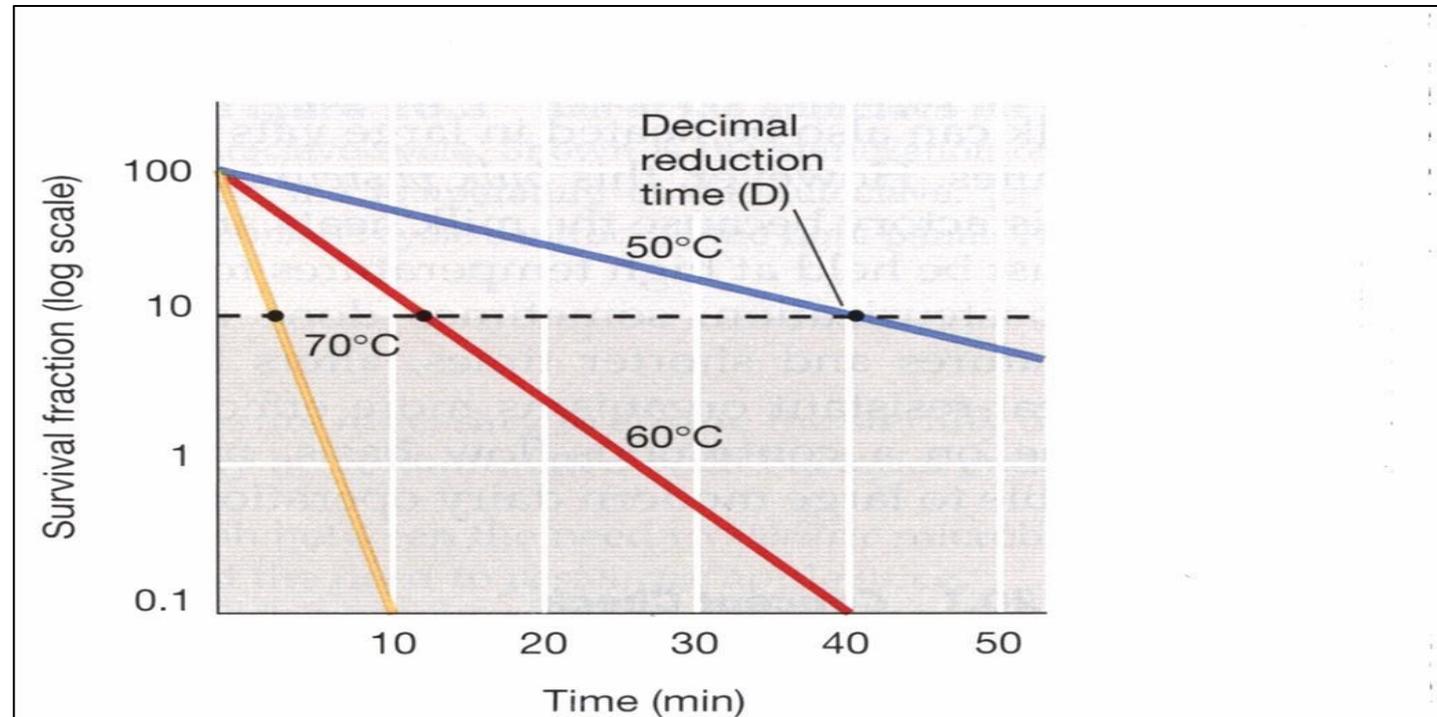


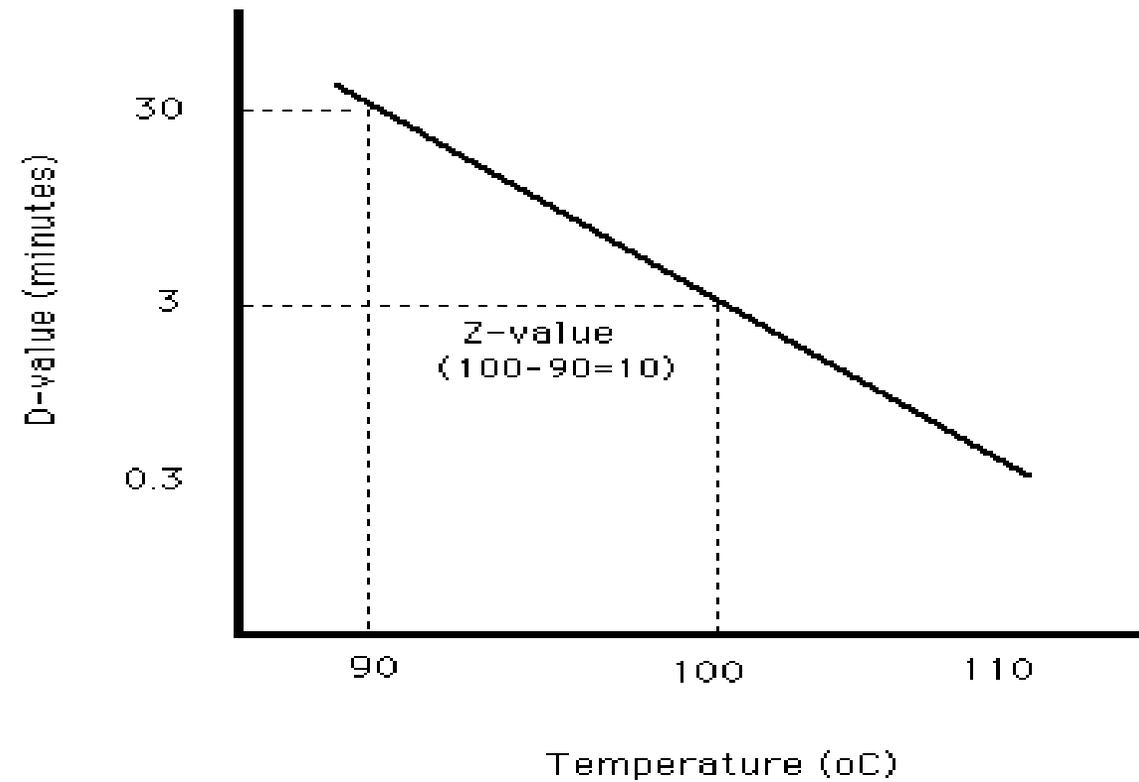
Fig. 19.1 Typical response curves for bacterial spores exposed to (A) moist heat, (B) gamma radiation.

Efeito da Temperatura no Tempo de Redução Decimal



Efeito da Temperatura no Tempo de Redução Decimal – Cálculo de doses letais equivalentes

Cálculo do valor z



Produção industrial de enzimas

Fermentação em substrato sólido *versus* fermentação submersa

FERMENTAÇÃO INDUSTRIAL

FERMENTAÇÃO EM SUBSTRATO SÓLIDO

- Crescimento de m.o num substrato predominantemente insolúvel sem fase líquida livre
- processos mediados por fungos filamentosos

Ex. Produção de *shoyu*, *misu* e *tempé* a partir de feijão de soja por *Aspergillus oryzae*

FERMENTAÇÃO EM SUBSTRATO SÓLIDO

VANTAGENS

Meios de cultura mais simples e económicos

Redução do processo de esterilização

Maior produtividade

Redução de efluentes

Inoculação directa de esporos

Soluções enzimáticas com concentrações mais elevadas

DESVANTAGENS

A maioria dos substratos precisa de pré-tratamento

Processo limitado a fungos

Dificuldade de monitorização (determinação de parâmetros mais difícil, dada a não homogeneidade da cultura)

Dificuldade em variar independentemente o pH, a T, transferências de oxigénio/ arejamento

Fermentação Molho de soja

- São conhecidos 5 tipos principais de molho de soja no Japão
- Usados geralmente como tempero de carnes, produtos marinhos e vegetais
- Resultam da fermentação do feijão de soja e de grão, farinha ou farelo de trigo
- Características comuns:

Quantidades elevadas de sal (17-19%)

pH: 4.6 -4.8

2 – 3.8 g/100 ml de açúcares redutores

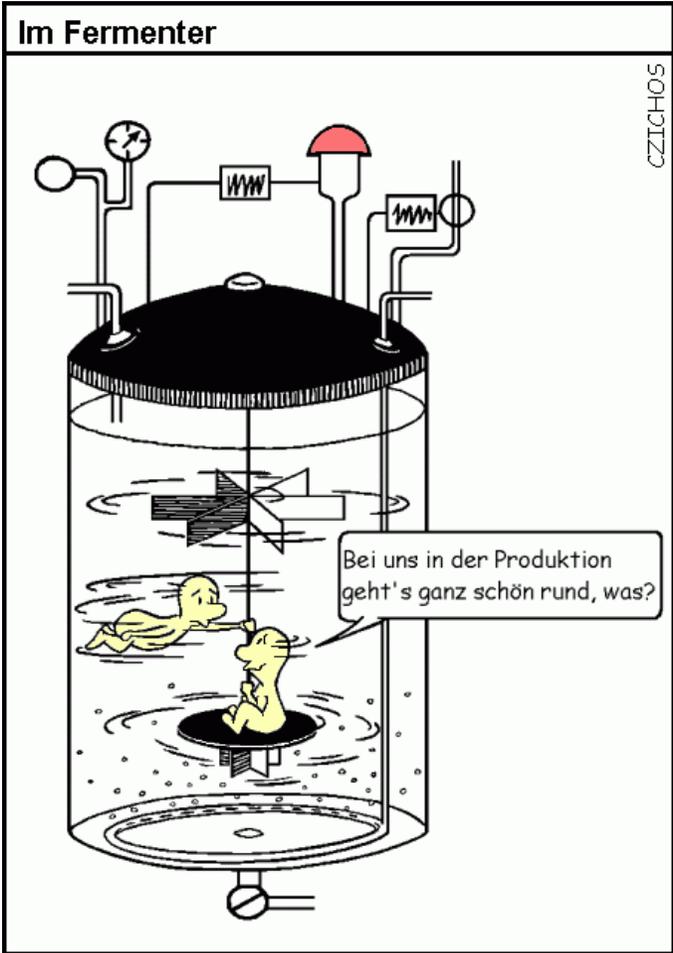
Até 2.2 ml/100 ml de etanol

Ingredientes

- Feijão de soja ou produtos de soja já semi-processados
- Grão, farinha ou farelo de trigo



FERMENTAÇÃO SUBMERSA



PRODUÇÃO DE ENZIMAS POR PROCESSOS FERMENTATIVOS

DATA	ENZIMA	TIPO DE FERMENTAÇÃO	MICROORGANISMOS
Antes de 1920	α -amilase	Substrato sólido	<i>Aspergillus oryzae</i>
1920-30	Pectinase α -amilase	Substrato sólido Submersa	<i>Aspergillus niger</i> <i>Bacillus subtilis</i>
1930-40	Proteinase	Substrato sólido	<i>Aspergillus niger</i>
1940-50	Amiloglucosidase	Substrato sólido	<i>Aspergillus niger</i>
1950-60	α -amilase Glucoseoxidase amiloglucosidase	Submersa Submersa Submersa	<i>Bacillus subtilis</i> <i>Aspergillus niger</i> <i>Aspergillus niger</i>
1960-70	Proteinase β -galactosidase	Submersa Substrato sólido	<i>Bacillus spp.</i> <i>Aspergillus spp.</i>
1970-	Glucose isomerase pululanase	Submersa Submersa	Várias fontes <i>Klebsiella aerogenes</i>

ENZIMA	PRODUTO INDUSTRIAL	TIPO DE FERMENTAÇÃO
Proteinases	Detergentes, alimentos, curtumes, queijo	Submersa, enzima extracelular obtida no sobrenadante
Amilases	Amido, cerveja Detergentes e textéis	Submersa, enzima extracelular obtida no sobrenadante
β Galactosidase	Derivados do leite	Submersa, enzima na biomassa;
Invertase	confeitaria	Submersa, enzima na biomassa;
Celulase	Alimentos, sumos de fruta	Submersa, enzima extracelular obtida no sobrenadante
Lipases	Alimentos, diagnóstico, detergentes	Submersa, enzima extracelular obtida no sobrenadante
Penicilina acilase	antibióticos	Enzima intracelular

FERMENTAÇÃO SUBMERSA

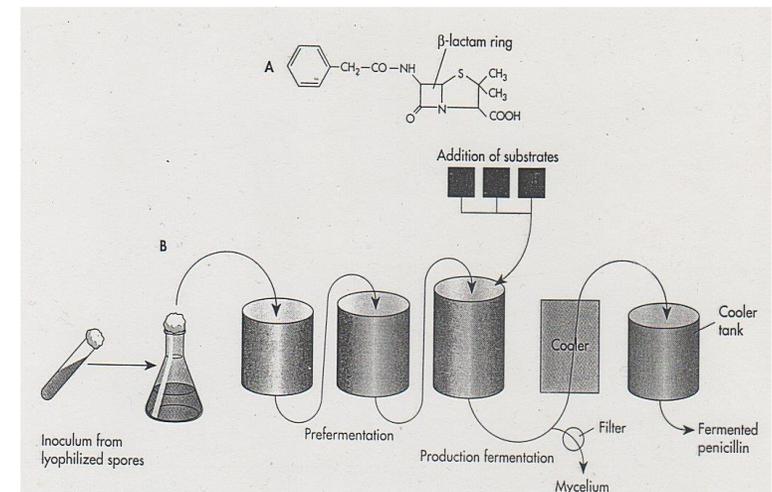
O crescimento é feito em meio líquido com os nutrientes dissolvidos, embora estes possam encontrar-se em suspensão como partículas sólidas

Envolve três etapas:

- Manutenção da estirpe microbiana
- Desenvolvimento de inóculo (3-10% volume meio do fermentador)
- Fermentação

Soluciona muitas das limitações da fermentação em substrato sólido

- Monitorização mais fácil e rigorosa
- Esterilização do meio de cultura é eficiente
- Permite o crescimento de bactérias



Escalas de BIOREACTORES

“Lab scale”- escala de laboratório:

- Balão erlenmeyer 1-10 L (descontínuo, fechadas, batch).
- Quimiostato turbidostato

“Pilot plant”- escala intermédia- fermentadores pequenos e intermédios (300-3000 L)

“Large scale”- produção comercial (10 a 500 m³)

Arejamento e agitação de Bioreatores

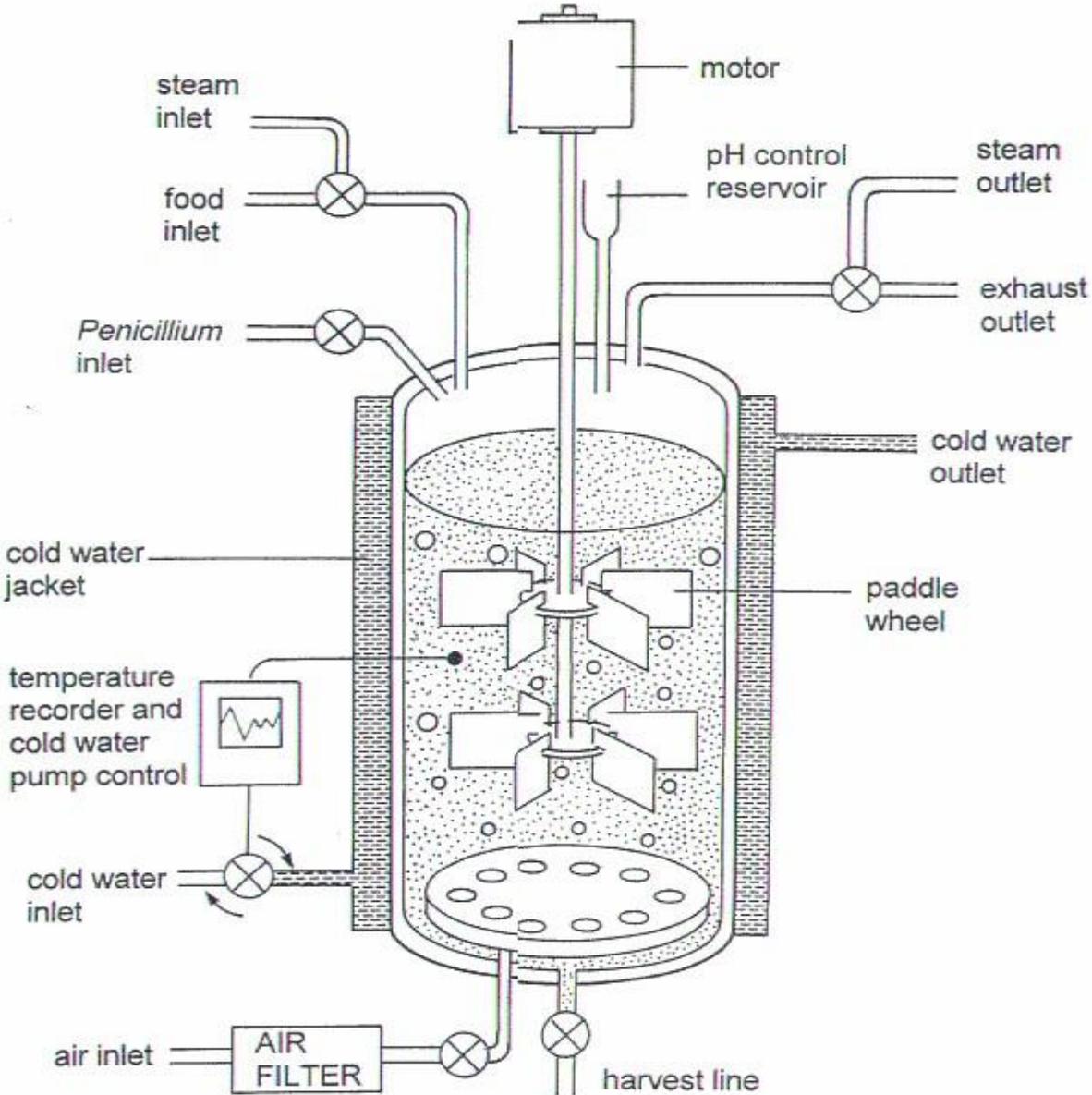
“Stirred-tank” reactor- com agitação mecânica

Bubble column- bolhas de ar que atravessam o meio de fermentação

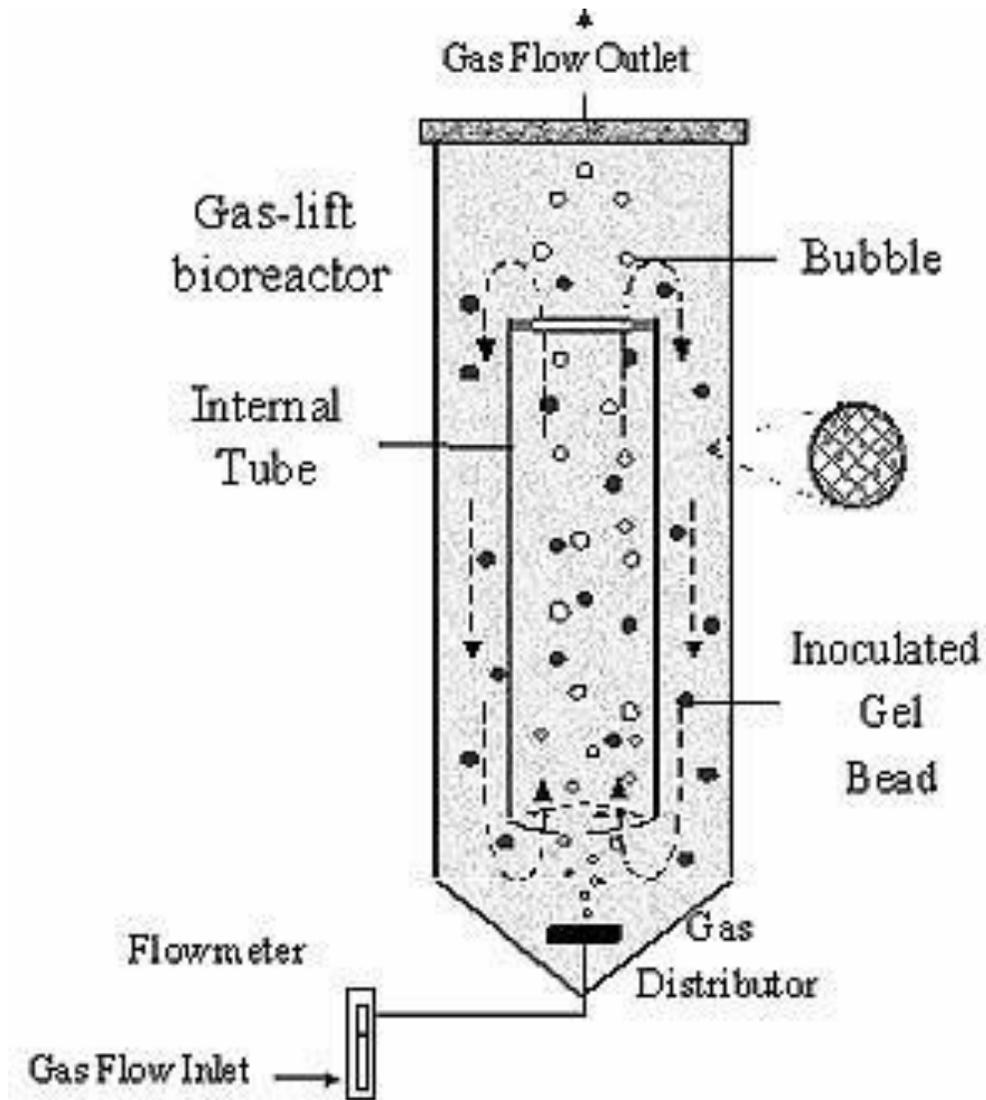
“Airlift”- elevador com corrente ascendente de ar e meio e descendente de meio

“Packed bed”- matriz sólida com microrganismos imobilizados

REACTOR PERFEITAMENTE AGITADO E AREJADO

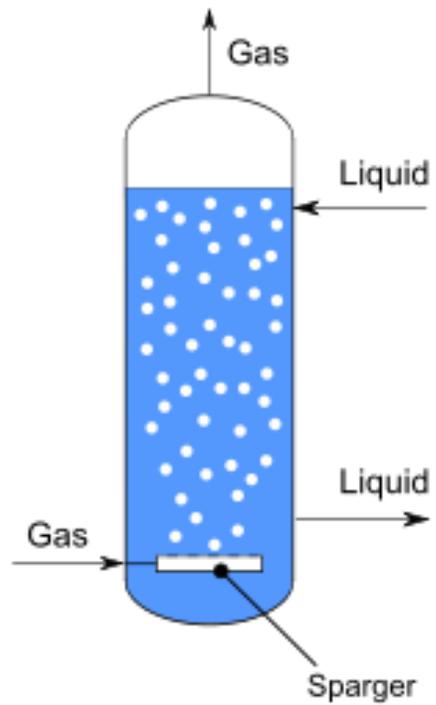


**REACTOR DO TIPO
AIR-LIFT**

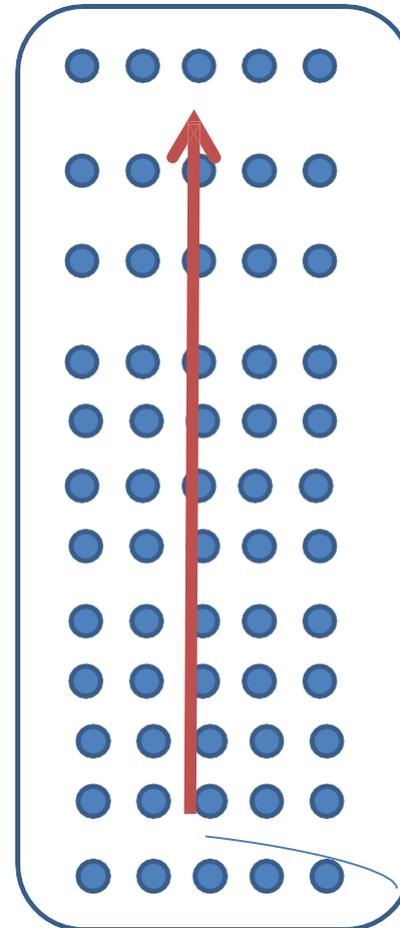


“Airlift”- elevador com corrente ascendente de ar e meio e descendente de meio

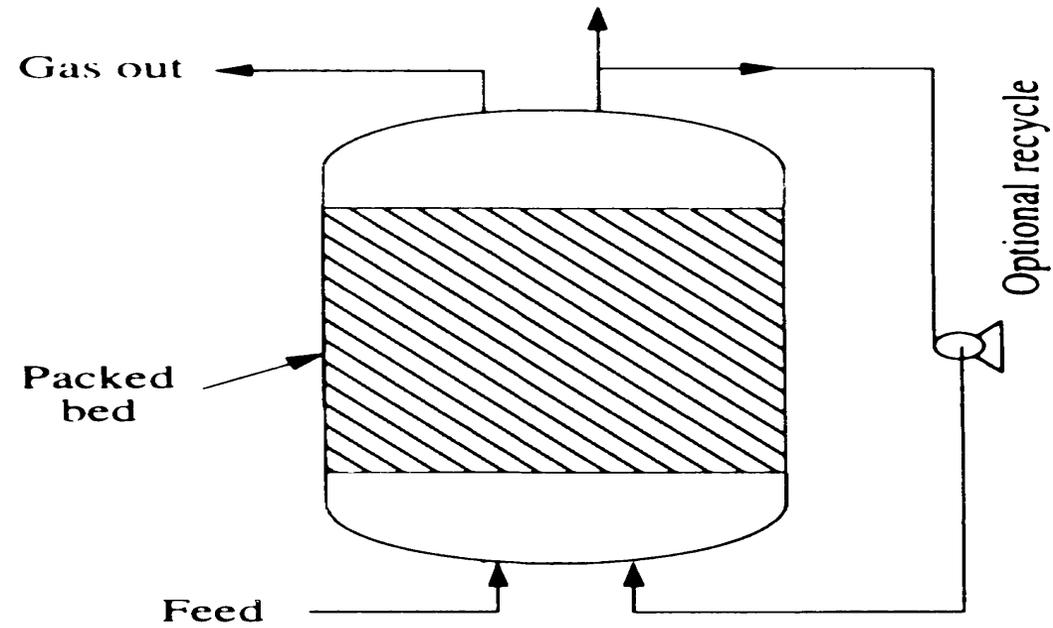
**REACTOR DO TIPO
BUBBLE COLUMN**



“Bubble column- bolhas de ar que atravessam o meio de fermentação



“Packed bed”- matriz sólida com microrganismos imobilizados



(a)