

A PRODUÇÃO DE ANTIBIÓTICOS POR PROCESSOS FERMENTATIVOS AERÓBIOS

Erlon Lopes PEREIRA¹

Ana Flávia Alves OLIVEIRA²

¹Departamento de Química. Setor de Engenharia Química. Universidade Federal de Viçosa. Campus: Viçosa-MG. CEP: 36570-900. e-mail: erlon.pereira@ufv.br/erlonlopes@gmail.com.

²Departamento de Química/Universidade Federal de Viçosa. ana.f.alves@ufv.br

Recebido em: 13/07/2016 - Aprovado em: 02/11/2016 - Disponibilizado em: 18/12/2016

RESUMO:

Este estudo tratar-se-á de uma revisão bibliográfica que abrange a produção de antibióticos, sua influência ao longo dos anos após seu descobrimento, a classificação da diversa gama desses medicamentos hoje existentes, e a forma mais comum de produzir a maioria deles, a fermentação, com foco na penicilina. São também avaliados neste artigo a produção de antibióticos semi-sintéticos a partir de uma molécula antibiótica natural que deve passar por diversos processos de modificação até que se obtenha o medicamento semi-sintético, são avaliadas a importância do uso correto dos antibióticos, assim como os efeitos de sua má administração, causando o possível aparecimento de bactérias super-resistentes, meios de prevenção e controle desse tipo de bactérias também estão descritos neste estudo. Por fim, a revisão aqui proposta leva em consideração a importância econômica da produção dessas drogas, tanto no cenário mundial quanto nacional.

Palavras-chave: Antibióticos; Fermentação; β -lactâmicos; Resistência

ABSTRACT:

This study will discourse about a literature review covering production of antibiotics, its influence over the years, the classification of the several medicines, and the most common way to produce most of them, the fermentation. Also, in this article will be evaluated the production of semi-synthetic antibiotics from natural antibiotic molecule that must pass through several modifications processes to achieve the semi-synthetic medicine. In addition, will be analyzed the importance of the correct use of the antibiotics as well as effects of their mismanagement that could cause the appearance of super-resistant bacteria. Furthermore, ways to protection and control these bacteria types are discussed in this article. Finally, this review proposed considers the economic importance of the production of these drugs in the global and national stage.

Keywords: Antibiotics; Fermentation; β -lactams; Resistance.

1. INTRODUÇÃO

Os antibióticos são substâncias do metabolismo secundário de fungos e bactérias com capacidade de impedir o crescimento ou levar à morte outros microrganismos, podendo ser sintéticos ou naturais (Lima et al., 2001; Walsh, 2003). De acordo com Wright et al.(2014) com a descoberta dos antibióticos no início do século XX, a saúde e bem-estar da população sofreram grandes transformações positivas. A síntese química permitiu o desenvolvimento das primeiras substâncias antibacterianas, mas o efeito

dessas drogas se mostraram baixos quando comparados com os antibióticos posteriormente descobertos (Wright et al, 2014).

Korolkovas e Burkhalter (1988) descrevem que a penicilina foi o primeiro antibiótico produzido em escala industrial. Os autores afirmam que o estímulo a sua produção foi devido ao sucesso de sua utilização durante as duas guerras mundiais. De acordo com Takahashi e Lucas (2008) os efeitos dos primeiros antibióticos sobre a qualidade de vida da humanidade foram

imediatos, levando à redução de 39% no índice de mortalidade dos oficiais militares durante a Primeira Guerra Mundial e 3,9% no índice de mortalidade dos oficiais militares durante a Segunda Guerra.

Lohner e Staudegger (2001) mencionam que a partir do início da produção da Penicilina em escala industrial os avanços da biotecnologia têm sido de grande utilidade para o desenvolvimento de novos antibióticos e drogas de elevada eficiência no combate aos microrganismos, cada vez mais resistentes devido às modificações genéticas naturais. Isso porque as rotas de síntese e biossíntese dos antibióticos podem ser bastante diversas. Wright et al. (2014) descreve que uma sequência de antibióticos eficientes, de natureza complexa e eficazes no combate às bactérias vem sendo produzidos desde o início do século XX como: penicilina, estreptomicina, tetraciclina, eritromicina e, entre outros.

Guimarães et al. (2010) mostram que a síntese bioquímica associada com a recombinação genética proporcionam o desenvolvimento de antibióticos de maior complexidade e de difícil síntese química. Herr e Fisher (2014) descrevem que a síntese química de antibióticos é conhecida desde 1957, porém os processos industriais se baseiam nas técnicas biotecnológicas de produção. Neste contexto, a produção dos antibióticos utilizando processos fermentativos aeróbios vem despertando

interesse industrial devido à simplicidade de produção já que os antibióticos podem ser moléculas complexas, bons rendimentos reacionais e possibilidade de aplicação à produção de diversos antibióticos.

Para a produção de antibióticos via fermentação os parâmetros concentração do substrato, concentração de oxigênio dissolvido no meio fermentativo, concentração da biomassa, volume de cultura, concentração de penicilina no meio, concentração de dióxido de carbono no meio, pH, temperatura de fermentação, taxa de aeração e potência do agitador empregado para homogeneização do meio reacional são fatores importantes. Uma vez que se trata de reações envolvendo microrganismos sensíveis, variações bruscas destas variáveis, podem afetar o rendimento da produção. Os reatores utilizados nos processos produtivos, de acordo com Yang e Hou (2016), são do tipo bateladas que permitem agitação, aeração e entrada das correntes de substrato que requer o processo, assim como controle de temperatura do meio. Além disso o conhecimento do processo biotecnológico permite ao pesquisador e técnico a tomada de decisões para otimização da produtividade. A indústria farmacêutica busca o constante desenvolvimento dessas técnicas de otimização da produção dos antibióticos. No entanto, as técnicas mais atuais e estudos conclusivos sobre o assunto são protegidos através de registro de patente uma vez que os

antibióticos possuem grande valor de mercado. A proteção desses dados dificulta a busca atualizada e conhecimento prático do processo.

Visto o exposto, este trabalho teve como objetivo apresentar uma revisão de literatura sobre os aspectos biotecnológicos envolvidos na produção de antibióticos com foco na produção da Penicilina, uma vez que este é o antibiótico mais produzido e precursor de todo o desenvolvimento da área. Outro aspecto abordado neste trabalho foi os efeitos negativos que os antibióticos vem provocando na sociedade e meio ambiente.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Os Antibióticos

A necessidade de se combater as doenças e infecções é bastante antiga. Takahashi e Lucas(2008)apresenta relatos dos anos 3000 a.C. do uso de sapatos mofados, pelos chineses, para curar infecções nos pés ainda sem o conhecimento específico do efeito do antibiótico no microrganismo em questão.

Patrick (1995)afirma que na segunda metade do século XIX, alguns cientistas, entre eles o pesquisador Robert Koch, conseguiram identificar os microrganismos causadores de doenças como tuberculose, cólera e febre tifóide. Referenciando o primeiro autor Patrick (2005) completa que a partir daí, iniciou-se uma intensa busca por agentes químicos de combate à esses

microrganismos, com atividade antibiótica. Ambos os autores afirmam que o cientista e pesquisador Paul Ehrlich foi o responsável pelos primeiros conceitos de que uma substância química, em quantidades controladas, poderia interferir no metabolismo de microrganismos e não ser danoso ao organismo hospedeiro.

Em 1928, o cientista Alexander Fleming noticiou que as bactérias estudadas por ele cresciam em uma placa de meio de cultura e tiveram suas atividades afetadas de forma negativa por um fungo que havia contaminado o referido meio. O fungo em questão era o *Penicillium notatum*, atualmente conhecido como *Penicillium chrysogenum*. Desse evento foi descoberto o primeiro antibiótico denominado Penicilina considerado uma das descobertas científicas mais importantes do século XX (Britannica Academic, 2016). Apenas uma década após a descoberta, os cientistas Ernst Chain e Howard Florey conseguiram isolar o componente do fungo responsável pelo efeito antibiótico, e investigaram suas propriedades biológicas, se mostrando altamente eficaz contra infecções bacterianas graves (Wright et al., 2014; Britannica Academic, 2016).

Britannica Academic (2016) descreve que nos anos seguintes a publicação da descoberta dos cientistas Ernst Chain e Howard Florey, outros antibióticos foram produzidos graças ao isolamento dos microrganismos responsáveis pela produção

dos mesmos, surgindo a estreptomicina, gramicidina e tyrocidin, produzidas por bactérias, e as cefalosporinas produzidas por fungos. Em seguida, houve a descoberta de uma classe de antibióticos conhecidos como quinolonas, capazes de impedir a replicação do DNA da bactéria patogênica, inibindo a reprodução das mesmas o que otimizou o efeito do antibiótico no processo saúde-doença. No final dos anos 1950, uma gama de derivados da penicilina foram produzidos a partir da inserção de grupos químicos na molécula de penicilina, gerando versões de antibióticos semi-sintéticas. Após 1960 foi observado uma diminuição na descoberta de novos antibióticos.

O último relato oficial foi descrito por Lima et al. (2001) onde os autores apresentaram 8000 tipos de antibióticos diferentes disponíveis para uso na medicina humana, animal e na agricultura. De acordo com Pereira Jr et al. (2008) os antibióticos podem ser classificados segundo ao tipo de cepa produtora (produzidos por fungos ou bactérias) e ainda quanto a sua estrutura química, ao espectro de atividade e ao mecanismo de ação.

Lima et al. (2001) classifica os antibióticos quanto a sua estrutura química em nove tipos. Tipo 1 aqueles que possuem

em sua estrutura carboidratos. Tipo 2 aqueles que possuem em sua estrutura lactonas macrocíclicas. Tipo 3 são os antibióticos que possuem em sua molécula, quinonas e relacionados. Os antibióticos do Tipo 4 possuem em sua estrutura aminoácidos e peptídios. O Tipo 5 são os antibióticos heterocíclicos que contêm nitrogênio. Tipo 6 são antibióticos heterocíclicos que contêm oxigênio. Os antibióticos do Tipo 7 possuem em sua estrutura química derivados acíclicos. Tipo 8 aquele antibiótico que possui estrutura aromática. Tipo 9 os antibióticos que possuem estrutura alifática.

A classificação quanto ao espectro de atividade se refere à diversidade de organismos afetados pela droga. Esse espectro está relacionado ao número e características fisiológicas do organismo afetado pelo antibiótico (Pereira Jr et al., 2008).

Pereira Junior et al. (2008) descreve que a classificação quanto ao mecanismo de ação se refere a forma como o agente antibiótico interfere no metabolismo da bactéria patogênica podendo atuar na síntese da parede celular, na síntese de ácidos nucleicos, na síntese de proteínas e/ou nas funções da membrana citoplasmática como mostrado no Quadro 1.

Quadro 1 - Mecanismos de ação antibiótica

Antibiótico	Alvo	Mecanismo de ação
β -lactâmicos (penicilina, cefalosporina, carbapeninas, monobactamas)	Enzima transpeptidase	Inibição da formação de ligação cruzada entre cadeias de peptideoglicano, impedindo a formação correta da parede celular bacteriana.
β -lactâmicos (oxapeninas, sulfaxapaninas)	Enzima β -lactamase	Inibição da enzima de resistência bacteriana, que degrada antibióticos β -lactâmicos.
Macrolídeos, lincosamidas, estreptograminas (dalfopristina e quinupristina), cloranfenicol, oxazolidinonas (linezolida)	Subunidade 50S ribossômica	Inibição da síntese proteica bacteriana.
Aminoglicosídeos, tetraciclinas	Subunidade 30S ribossômica	Inibição da síntese proteica bacteriana
Glicopeptídeos (vancomicina, teicoplanina)	Dipeptídeo terminal D-Ala-D-Ala do peptideoglicano	Complexação com as cadeias peptídicas não ligadas e bloqueio da transpeptidação, impedindo a formação correta da parede celular bacteriana.
Peptídeos não ribossomais (bacitracina, gramicidina C, polimixina B)	Membrana plasmática	Afetam permeabilidade da membrana bacteriana por facilitarem o movimento descontrolado de íons através da membrana.
Lipodepsipeptídeos (daptomicina)	Membrana plasmática	Afeta permeabilidade da membrana bacteriana e bloqueia síntese de ácido pipoteicoico, componente da membrana externa de bactérias Gram positivo.
Rifampicina	RNA polimerase dependente de DNA	Inibição da síntese de RNA.
Fluoroquinolonas	Enzima DNA girase	Bloqueio da replicação e reparo do DNA.
Sulfonamidas	Enzima di-hidropteroatosintetase	Bloqueio da formação de cofatores do ácido fólico, importantes para síntese de ácidos nucleicos.

Fonte: Guimarães et al., 2010.

Com base no estudo de revisão realizado foi observado que com o avançar da tecnologia, os microrganismos tiveram seus genes modificados para produzir antibióticos

desejados, com maiores rendimentos ou ainda em condições mais abrangentes de produção, fazendo com que a produção de antibióticos aumentasse em grandes proporções através de

cepas de maiores rendimentos.

Analisando as informações obtidas através dessa revisão notou-se dificuldade na pesquisa referente a uma classificação mais aprofundada dos antibióticos para enriquecimento do Quadro 1. Entretanto, ficou evidente uma maior quantidade de dados referentes à classificação dos antibióticos por mecanismo de ação. A classificação por mecanismo de ação é a mais utilizada dentre as classificações dos antibióticos e se deve à importância de relacionar antibióticos que atuem de maneira específica a cada bactéria, é preciso que o mecanismo de atuação seja compatível às atividades vitais do agente patogênico afim de interrompê-las.

Dentre os antibióticos classificados através do seu mecanismo de atuação aqueles denominados β -lactâmicos vêm despertando o interesse para a pesquisa, afim de otimizar a produção a nível industrial e detectar possíveis falhas na produção, devido suas características singulares, grande volume de produção e ao seu elevado valor econômico.

2.2 Antibióticos β -lactâmicos

Os antibióticos β -lactâmicos, pertencentes a classe dos antibióticos aminoácidos e peptídicos, são de grande importância para controle de enfermidades infecciosas e eram responsáveis por 50% das vendas de antibióticos em 2004 (Von Nussbaum et al., 2006). Este tipo de

antibiótico atua na inibição da síntese da parede celular, onde funcionam inibindo a enzima transpeptidase, responsável por catalisar a transpeptidação das cadeias de peptidoglicana da parede celular bacteriana (Walsh, 2003; Suárez e Gudiol, 2009), que conferem rigidez a parede celular e dessa forma a bactéria fica sem proteção contra variações osmóticas (Guimarães et al., 2010).

A classe dos β -lactâmicos ainda pode ser subdividida em 5 classes, sendo as principais, as penicilinas e cefalosporinas, já que são mais eficazes em aplicações medicinais. Lima et al. (2001) descreve que a penicilina é produzida por vários fungos, e mostrou-se eficiente no combate a uma série de bactérias gram-positivas. O autor explica que a popularidade do seu uso é devido ao fato que a penicilina pode ser utilizada em grandes concentrações em decorrência da sua baixa toxicidade para os seres humanos.

Araújo e Vieira (2009) mostraram que em 2008 a indústria farmacêutica movimentou cerca de US\$725 bilhões anualmente, sendo que o Brasil faturou cerca de US\$12 bilhões do montante total. Atualmente, a produção mundial de fármacos equivale a 33% de toda a produção de químicos industriais, e seu lucro possui equivalente proporcional (PUCRio, 2016).

De acordo com Meštrović (2015) os antibióticos β -lactâmicos movimentaram naquele ano US\$15 bilhões. Os processos de produção dos antibióticos vem se tornando

cada vez mais eficientes devido ao desenvolvimento industrial, permitindo a diminuição dos custos de produção dos mesmos. Meštrović (2015) relata que em 1953 a penicilina tinha um preço de US\$300,00 por quilo do produto, enquanto atualmente o valor atinge US\$10,00 por quilo de produto. Essa análise reflete uma constante alta dos valores movimentados por esse setor industrial, uma vez que os antibióticos se tornam mais acessíveis a população. No Brasil, as vendas de medicamentos cresceram cerca de 82,2% de 2007 a 2011 (PwC, 2013).

Dentre os medicamentos comercializados no Brasil, cerca de 17% são antibióticos, 5% são analgésicos, 4% vitaminas, 4% remédios para gripe e tosse, 4% remédios utilizados em tratamento para inflamações e reumatismos, 3% para doenças gastrointestinais, 2% cardioterápicos, 2% vascular cerebral, 2% hormônios sexuais e 57% representam juntos as outras classes de medicamentos (PUCRio, 2016). Os dados mostram que os antibióticos representam o maior percentual de venda e utilização dentre todas as classes de medicamentos.

Lima et al. (2001) mostra que dos 8000 tipos de antibióticos de origem microbiana conhecidos, 123 tipos são produzidos por processos fermentativos. Destes 123 grande parte são antibióticos β -lactâmicos que são os mais utilizados pela população, tornando o

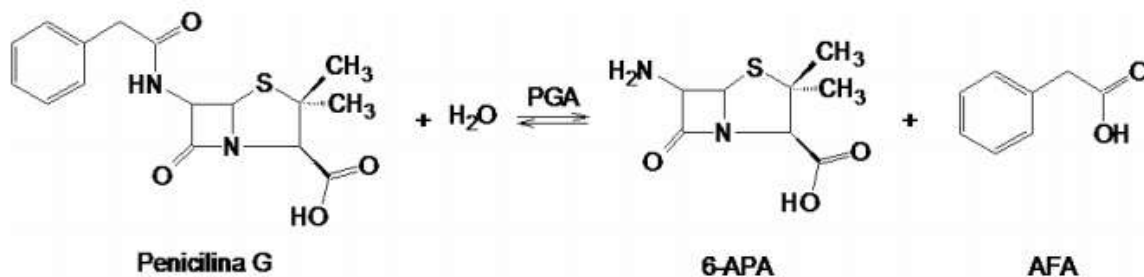
processo de fermentação crucial para o desenvolvimento e produção desses compostos.

Os antibióticos podem ser produzidos de forma natural, sintética ou semi-sintética. Os antibióticos naturais são aqueles excretados pelos fungos e bactérias, junto a outros compostos durante a fermentação. Para a sua obtenção de forma pura, é necessário a recuperação do produto de interesse ao final do processo fermentativo.

De acordo com Lima et al. (2001) diferentes moléculas de penicilinas podem ser produzidas produtos de fermentação e podem ser encontradas na forma natural, quando a fermentação é conduzida sem a adição de precursores. Porém, as penicilinas de maior valor industrial são as Penicilinas G, V e N. Segundo Lima et al. (2001) com a adição de precursores de cadeia lateral é possível induzir a formação de apenas da penicilina G que é a molécula desejada na fabricação dos antibióticos semi-sintéticos.

As penicilinas semi-sintéticas são obtidas a partir da hidrólise química ou enzimática da penicilina natural, de forma a se obter o composto principal deste antibiótico, o 6-aminopenicilânico (6-APA) que é reciclado para produzir outro derivado da penicilina, com reação descrita na Figura 1.

Figura 1 - Reação da hidrólise da penicilina G catalisada por penicilina G acilase



Fonte: Barros, 2008.

Barros (2008) explica que com a hidrólise, é possível que cadeias laterais sejam adicionadas ao anel 6-APA, e com isso pode-se formar novos tipos de penicilinas, semi-sintéticos, diferentes daqueles tipos que podem ser encontrados na natureza.

Segundo Lima et al. (2008) as penicilinas semi-sintéticas têm melhores características, como por exemplo a melhor atividade antimicrobiana, por isso, vem sendo muito utilizada na quimioterapia com grande espectro de ação.

Por esses motivos, a revisão aqui proposta direcionará os parâmetros de estudo para a produção da Penicilina por fermentação, devido à grande importância desse antibiótico, tanto in natura, quanto semi-sintético.

2.3 Matéria-Prima

Os processos de produção de antibióticos, em geral utilizam como matérias-primas um meio de cultura favorável para crescimento do microrganismo produtor. Segundo Bon (1999), no caso da produção da Penicilina, utiliza-se como meio de cultura

usa-se alguns derivados da indústria agrícola, como água de milho, arroz, ou trigo por exemplo são utilizados como fonte de nitrogênio ao meio. Meios de cultivo de glicose ou melão também têm sido viáveis para o processo como fontes de carbono, como mostra Lima et al (2001).

2.4 Microrganismo

Na produção de antibióticos um inóculo da cultura de fungo ou bactérias produtoras do composto desejado é utilizado para se realizar a via metabólica de produção da droga desejada. Segundo Herr e Fischer (2014), na síntese de Penicilina são utilizados fungos das espécies *Penicillium chrysogenum* e *Aspergillus nidulans* para realizar a fermentação. Entretanto, segundo os autores, o processo industrial ocorre principalmente através do *Penicillium chrysogenum* uma vez que o *Aspergillus nidulans* tem uma produção menor do antibiótico.

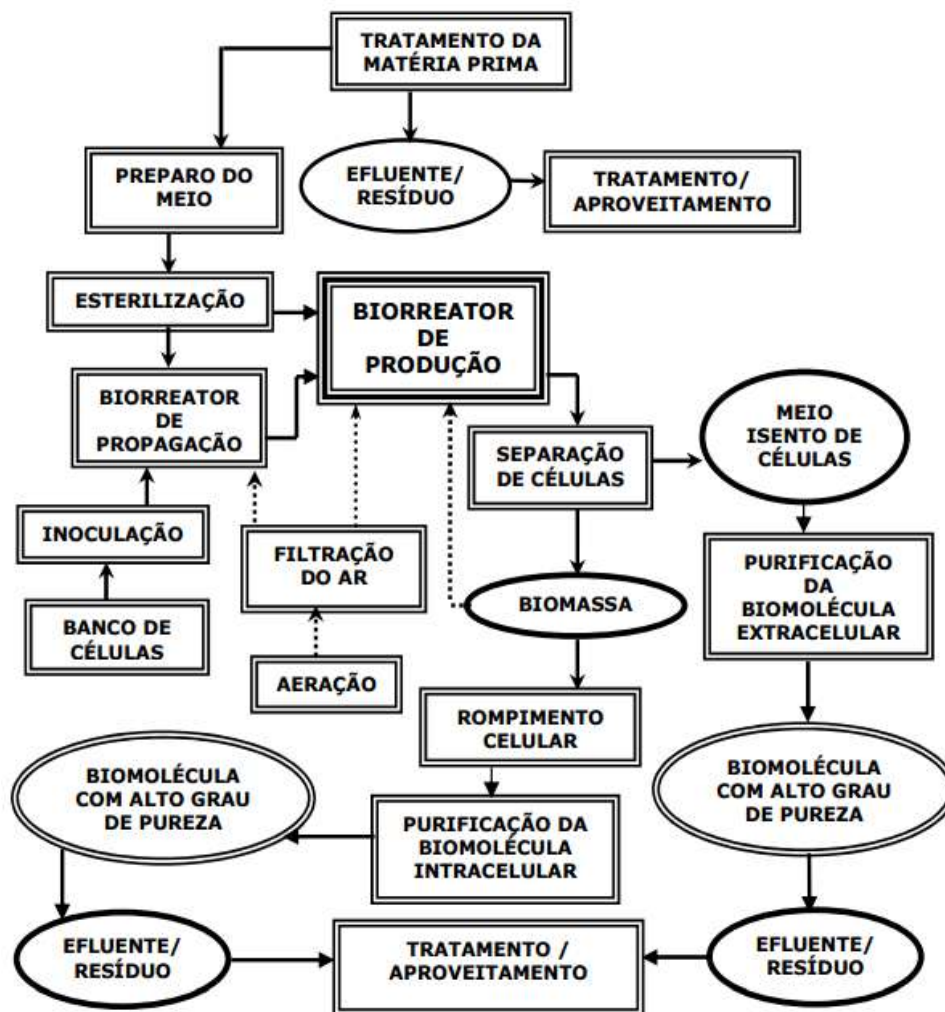
2.5 O Processo Fermentativo

O bioprocesso responsável pela produção de grande número dos antibióticos

comercializados é a fermentação. Os bioprocessos, em geral, seguem uma sequência de mecanismos semelhantes aos descritos na Figura 2, onde as devidas

modificações devem ocorrer de acordo com a necessidade de cada bioprocessos e de acordo com o microrganismo que é utilizado para realização do mesmo.

Figura 2 - Esquema geral de um bioprocessos



Fonte: Pereira Jr et al., 2008.

Segundo Pereira Jr et al. (2008), industrialmente se utiliza o processo de fermentação submersa para produção de antibióticos, em que a célula produtora se desenvolve em meio de cultivo líquido, comumente agitados. Pereira Jr et al. (2008) ratifica que quando comparados com os

processos em superfície, os processos de fermentação submersos permitem a manipulação de maiores volumes, onde o microrganismo responsável pela produção do antibiótico fica totalmente submerso no meio de cultura rico em nutrientes, o meio de cultura pode ser ajustado com facilidade para

fornecer as condições ideais ao metabolismo do microrganismo. Estes fatores admitem que a absorção de nutrientes e excreção de metabólitos ocorra de forma mais rápida, fazendo com que o processo ocorra com maior eficiência permitindo uma maior produtividade quando se compara a fermentação submersa a outros meios de fermentação.

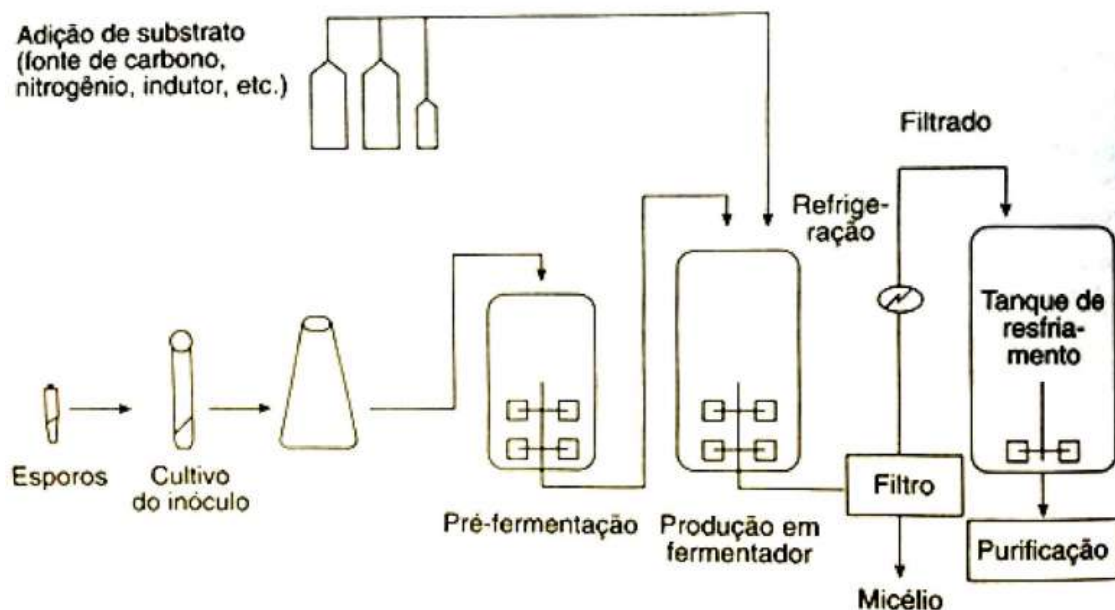
Lima et al. (2001) evidencia que a fermentação para produção de antibióticos ocorre de forma semelhante para a maior parte dos antibióticos produzidos por este meio, porém as condições ótimas do reator de fermentação devem ser alteradas de acordo

com o microrganismo utilizado para produção.

Segundo Lima et al. (2001), outros métodos de fermentação são estudados, entre eles o contínuo, porém não apresentam bons resultados devido a instabilidade dos microrganismos, então é comum utilizar-se o método "enche e retira" onde parte do caldo de fermentação é retirado e se insere meio de cultivo rico em nutrientes na mesma proporção.

O modelo de produção da penicilina por fermentação pode ser visualizado de forma geral na Figura 3.

Figura 3- Esquema da fermentação para produção de antibióticos.



Fonte: Lima et al. , 2001.

De acordo com Lima et al. (2001) o procedimento de produção da Penicilina se inicia com a utilização do inóculo de esporos

liofilizado que deve ser preparado cuidadosamente visando a alta produção das células. Os esporos devem ser incubados em

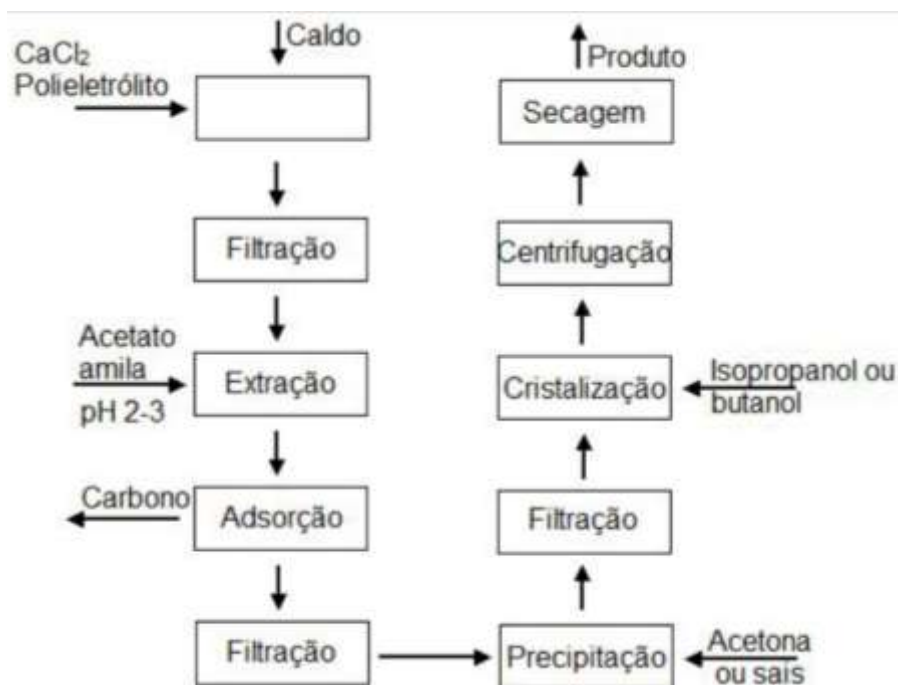
concentrações ótimas para que forme agregados de células, denominados pellets, de forma solta e sem que cresçam de forma compactas. Este inóculo deve passar por uma sequência de etapas de crescimento até chegar na fase de produção, onde o meio é alimentado com quantidades adequadas de nutrientes.

Segundo Lima et al. (2001), a fermentação ocorre de forma aeróbia com absorção de oxigênio a taxas de 0,4-0,8mM/L.min, a temperatura ótima de para produção se encontra entre 25-27⁰C, e o pH do meio deve ser constante de 6,5, onde a fermentação leva cerca de 120 a 160 horas. De acordo com Meštrović (2015) a fermentação seguindo essas condições deve

ser realizada industrialmente em reatores de aço inox e esses reatores devem ter volumes entre 40m³ e 200m³, uma vez que volumes maiores fazem com que a aeração ao logo das dimensões do reator não seja satisfatória. A aeração uniforme e em taxas adequadas é uma variável importante, já que este fermentativos para produção de penicilina ocorre de forma aeróbica, que deve ser mantida durante todo processo no intervalo aqui especificado (Lima et al., 2001; Meštrović, 2015).

Terminada a fermentação, é necessária a separação do antibiótico excretado no meio de cultivo e a retirada de uma porcentagem do antibiótico que permanece unida ao micélio, as etapas de purificação podem ser visualizadas na Figura 4.

Figura 4 - Purificação da penicilina



Fonte: Hook, 2006.

Segundo Lima et al. (2001) a partir do caldo fermentado, faz-se uma etapa de

filtração para retirada do micélio, em seguida o caldo de fermentação passa por duas

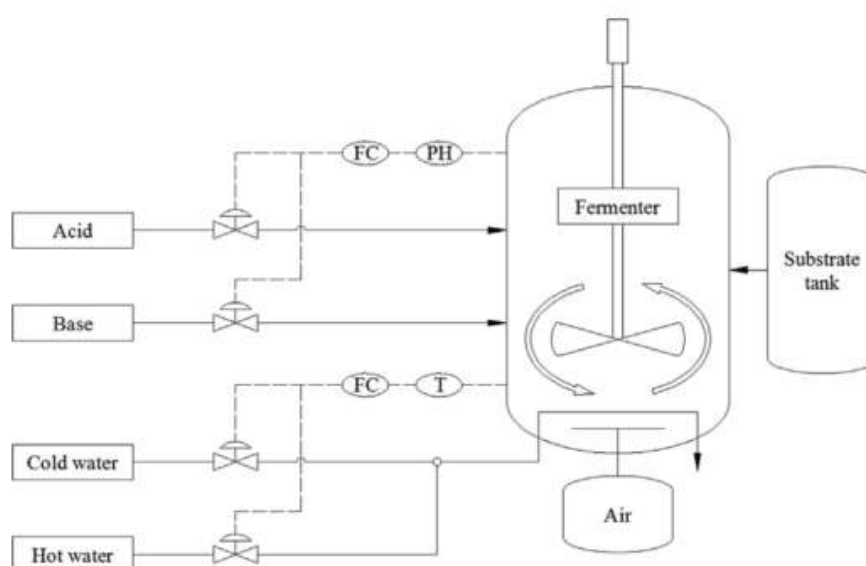
extrações líquido-líquido contínuas em contracorrente com acetato de amila, butila ou metilisobutilcetona, em condições de pH e temperatura de 2,5 a 3,0 e 0 a 3°C respectivamente, assim o produto é recuperado. Após estas etapas, Hook (2006) mostra que o produto líquido segue para fases de recuperação com uma etapa de adsorção e subsequente filtração. Após esta nova filtração é necessário precipitar a penicilina existente no líquido, e isto se faz reagindo o composto com acetona, permitindo que ocorra a precipitação. Depois de precipitada, deve haver nova filtração para separar a Penicilina do líquido, a purificação do antibiótico se finda com a cristalização, usando isopropanol, e centrifugação e secagem, obtendo assim o produto final da penicilina (Hooke, 2006).

O setor de produção de antibióticos,

alimenta várias pesquisas na área afim de contribuir com incrementos tecnológicos para melhoria na produção dos antibióticos. Todavia, os conhecimentos e resultados adquiridos nessas pesquisas são protegidos por patentes visto o alto valor agregado do produto e seu interesse econômico para o mercado mundial.

Yang e Hou (2016), estudaram a importância dos parâmetros reacionais e possíveis falhas no processo produtivo de Penicilina. Os autores utilizaram reator em batelada com agitação mecânica em condição de mistura completa para produção do antibiótico, no reator havia um impelidor do tipo pá central e fixado na parte superior do reator, aeração e mecanismos de controle das correntes, pH do meio e temperatura reacional, como pode ser observado na Figura 4.

Figura 4 - Reator em batelada com controle das variáveis do processo.



Fonte: Yang e Hou, 2016.

O estudo de Yang e Hou (2016) buscou caracterizar as falhas do processo, para isso adotou valores previamente otimizados para os parâmetros que influenciam a eficiência da fermentação. Como o controle das condições do meio é de extrema importância para que o microrganismo utilizado na produção consiga executar suas rotas metabólicas, os autores buscaram meios para detectar as possíveis variações que comumente ocorrem nos referidos parâmetros otimizadas durante o processo fermentativo, afim de poder controlar essas variáveis.

Yang e Hou (2016) iniciam o processo fermentativo com uma concentração de substrato de 15 g L^{-1} , a concentração de oxigênio dissolvido no meio de $1,16 \text{ g L}^{-1}$, concentração de biomassa de $0,1 \text{ g.L}^{-1}$, utilizam um volume piloto em reator 100 L, a concentração de dióxido de carbono no meio foi de $0,5 \text{ g.L}^{-1}$, valor de pH 5, temperatura de fermentação 298 K, taxa de aeração de $8,6 \text{ L.h}^{-1}$, potência de agitação de 29,9W e corrente de substrato a 296K e fluxo de $0,0426 \text{ L.h}^{-1}$.

As variações dos parâmetros operacionais foram impostas aleatoriamente durante o processo e as mesmas foram detectados com precisão utilizando o software pensim2.0 e análise estatística. De acordo com Yang e Hou (2016) com a detecção de avarias nas condições do sistema se torna possível readequar os parâmetros através de controlador lógico programável e retomar a

produção ótima. A importância do estudo desses autores remonta o fato da necessidade de se operar bioreatores de fermentação nas condições ótimas para cada microrganismos afim de se obter alta produtividade.

Outra tecnologia aplicada ao mesmo tipo de processo foi estudada por He et al. (2016), buscando novas técnicas de recuperação da Penicilina G, evitando o uso de solventes. He et al. (2016) avaliaram o uso do processo de separação por membrana de fibra oca como operação unitária para purificação da penicilina produzida via fermentação. Os resultados mostraram que a penicilina foi retida como concentrado e como permeado o meio fermentado pós microfiltração. Devido ao sucesso da operação unitária, o processo de separação por membranas foi otimizado.

He et al. (2016) verificaram após a otimização que o processo em cascata, onde foram utilizadas sete membranas de fibra oca em série, se mostrou mais eficiente que o processo com uma única membrana. Segundo os autores o pH ideal para extração por membrana deve estar entre 5 e 7, no entanto os autores escolheram pH 6 para as experiências uma vez que a variação do pH na faixa pré-estabelecida não tem influência significativa no processo, que segundo os autores, é controlado pela transferência de massa e difusão no meio. Além disso, foi necessário o uso de solução tampão para promover a estabilidade da solução a ser

separada, uma vez que a Penicilina G é um composto instável, para isso utilizou-se solução tampão de fosfato monopotássico, possibilitando uma maior eficiência na extração da Penicilina a medida que se aumentava a concentração do tampão, chegando a eficiência de 97% com uma concentração de $0,2\text{mol.L}^{-1}$. Os autores utilizaram K_2CO_3 como fase de extração, onde encontraram uma condição ótima de $0,5\text{mol.L}^{-1}$. Os autores concluíram que o processo desenvolvido tem grande potencial para aplicação industrial com capacidade para recuperação da Penicilina G e menos perdas do produto durante o processo quando comparado com o processo de extração por solventes hoje utilizado.

2.6 Resistência Microbiana

Segundo a Britannica Academic (2016), a administração dos antibióticos aos pacientes deve ser tal que assegure que o paciente esteja recebendo a droga correta a qual a bactéria que se deseja combater é sensível, em concentrações suficientemente elevadas a ponto de combater as bactérias e por um período de tempo suficiente para que a infecção que está sendo tratada seja totalmente erradicada. Porém segundo o autor, a combinação desses fatores, não deve causar nenhum tipo de efeito colateral ou prejuízo ao paciente.

Um problema que vem causando transtornos aos tratamentos com antibiótico é

o fato de que algumas bactérias desenvolveram resistência às drogas que deveriam combatê-las.

A Britannica Academic (2016) explica que teoricamente, em quantidades apropriadas, um antibiótico pode matar todas as bactérias responsáveis por uma enfermidade, porém podem haver bactérias que são geneticamente menos vulneráveis ao antibióticos, essas bactérias não morrem quando submetidas ao mesmo. O autor elucida que devido a esse fator as bactérias mais suscetíveis a ação antibiótica morrem e as mais resistentes sobrevivem, essas bactérias sobreviventes se reproduzem e ocorre um seleção das bactérias, elas ainda podem realizar recombinações genéticas, fazendo com que surja novas linhagens resistentes ao antibiótico. A consequência dessa seleção é o surgimento de infecções não tratáveis pelos antibióticos habituais.

Segundo Walsh (2003), a resistência das bactérias frente ao uso de antibióticos, pode ser vista como um fenômeno natural que surge como resposta ao uso indiscriminado e inadequado dos antibióticos ou pela presença dessas drogas no meio ambiente.

Tornam-se necessárias algumas medidas para evitar que bactérias cada vez mais resistentes se desenvolvam. De acordo com Moellering (1998) e Dzidic et al. (2008), entre essas medidas pode-se citar a prevenção das doenças infecciosas advindas de bactérias por meio de vacinação adequada, uso de

antibióticos de forma correta seguindo as prescrições médicas de dosagem e tempo de tratamento e é de grande importância o controle e prevenção da disseminação daqueles microrganismos que adquiriram resistências. Para o controle dessas bactérias resistentes Dzidicet al. (2008) mostra que é preciso um trabalho de pesquisa que caracterize o gene que determina a resistência das bactérias para que haja melhor entendimento do fator resistente.

2.7 Questões Ambientais

Bila e Dezotti (2002) explica que após o uso, parte da quantidade de antibióticos ingeridas que não foram absorvidas pelo organismo são excretadas, dessa forma resíduos dos antibióticos podem chegar às Estações de Tratamento de Esgoto (ETE's) ou ao curso hídrico no caso de localidades onde não há o tratamento de esgoto doméstico. Com isso, muitos fármacos podem ser encontrados nos afluentes de ETE's na ordem de concentrações de $\mu\text{g/L}$ e ngL^{-1}

Stumpf et al. (1999) e Ternes et al. (1999) descrevem que o problema central da incidência de resíduos antibióticos nos afluentes das ETE's se deve ao fato de que os processos convencionais de tratamento de esgoto não eliminam esse tipo de micro poluente. Segundo Bower (1999), com a falta de técnicas para retirar traços de antibióticos dos efluentes, uma pequena concentração desses medicamentos se acumula nos cursos

hídricos e podem assim desequilibrar todo o sistema ecológico aquático a partir da absorção desses medicamentos pelos animais ali presentes causando possíveis disfunções de seus sistemas biológicos.

Segundo Bila e Dezotti (2002), outro fator importante quanto a presença de antibióticos como micropoluentes hídricos é o fato de a água captada para abastecimento da população poder estar contaminada com esse tipo de fármaco. Analogamente ao que ocorre nas ETE's, as Estações de Tratamento de Água (ETA's) também não contam com processos eficientes de remoção de antibióticos, os quais persistem na água mesmo após tratamento convencional.

De acordo com Miranda e Castillo (1998) e Bower (1999), uma consequência grave da presença de antibióticos na água de abastecimento da população é a administração involuntária desses medicamentos, e como se encontram em pequenas dosagens se corre o risco novamente de se desenvolver bactérias super-resistentes nos organismos que ingerem dessa água.

Alguns estudos vêm sendo realizados afim de buscarem técnicas capazes de remover os resíduos de antibióticos das águas residuais para se evitar a disseminação dos problemas ambientais e de saúde causados pelo acúmulo desse tipo de composto nas águas.

Segundo Tambosi (2008), métodos como bioreatores com membranas, processos

oxidativos avançados e adsorção em carvão ativado são processos de tratamento que viabilizariam a remoção dos antibióticos em efluentes de estações de tratamento ou promoveriam a conversão desses medicamentos a compostos menos prejudiciais à saúde e ao meio ambiente. O autor estudou a capacidade de remoção de fármacos através desses três mecanismos.

De acordo com Tambosi (2008) os experimentos com bioreatores de membranas submersas teve seu mecanismo de funcionamento baseado na sorção dos fármacos no lodo presente no bioreator em conjunto com a degradação dos compostos desempenhada pelos microrganismos do efluente e a retenção dos antibióticos pelas membranas de ultra filtração utilizadas nos experimentos do autor. O potencial de remoção de antibióticos previsto nos experimentos, correlacionados às propriedades de retenção da membrana, não se mostrou eficaz uma vez que os fármacos experimentados por ele apresentaram peso molecular mais de mil vezes abaixo do que a membrana consegue reter. O autor explica que a pequena quantidade de antibióticos removida nesse tipo de processo foi obtida pela processo de biodegradação e não pela retenção nas membranas.

Tambosi (2008) também experimentou a remoção de antibióticos através de processos oxidativos avançados que visa degradar as moléculas de antibióticos. Nesse

tipo de processo podem ser utilizados diversos métodos para promoção da oxidação, entre eles estão a oxidação com ozônio, com peróxido de hidrogênio, com radiação ultravioleta, processo Felton (em que utiliza catalizador de íons ferrosos) e associação do peróxido com a radiação. O autor testou esses mecanismos para remoção dos antibióticos roxitromicina, sulfametoxazol e trimetoprima, observou-se que o processo oxidativo a partir do ozônio foi eficaz para remoção dos três tipos de antibióticos testados, enquanto processos a partir de radiação ultravioleta e associação de peróxido de hidrogênio com radiação ultravioleta não se mostraram tão eficientes na degradação do roxitromicina. Apesar dos bons resultados, Tambosi (2008) ressalta que ainda não é possível concluir se os meios oxidativos reduzem os compostos a dióxido de carbono e água ou se os antibióticos apenas são transformados em compostos intermediários.

Segundo Tambosi (2008), os experimentos obtidos a partir de adsorção em carvão ativado têm acima de 80% de eficiência na remoção de roxitromicina, e acima de 90% na remoção de sulfametoxazol e trimetoprima.

Outra pesquisa visando a remoção de fármacos dos efluentes foi realizada por Trovo (2009) em que foram testadas a remoção dos antibióticos amoxicilina e sulfametoxazol a partir de processos oxidativos avançados utilizando

fotodegradação. A degradação da amoxicilina se mostrou eficiente quando utilizado o processo com peróxido de hidrogênio associado a radiação ultravioleta com lâmpada germicida, o autor ressaltas que a degradação desse antibiótico pode ser afetada pela presença de ferro no sistema. Com isso, o autor mostra que a degradação da amoxicilina é mais eficaz quando se utiliza irradiação solar ou lâmpada de luz negra quando na presença de óxidos de ferro, o que pode variar de acordo com a composição do efluente. Trovo (2009) discute que foram detectados 20 intermediários quando se realizou a degradação da Penicilina pelo processo Fenton, uma vez que essa degradação pode ocorrer por diferentes rotas.

Para a degradação da amoxicilina, Trovo (2009) comparou os processos usando peróxido de hidrogênio associado a radiação ultravioleta e o processo Fenton, o autor resalta que os dois processos apresentam bons resultados, porém o processo Fenton necessita de pH abaixo de 2,5 enquanto o primeiro processo pode ser operado com ph entre 2,5 e 9, tornando-o mais viável. O autor também descreve que no processo utiliza peróxido de hidrogênio associado a radiação ultravioleta pode ser utilizar radiação solar, o que diminui os custos do método.

Trovo (2009) analisa também a fotodegradação do sulfametoxazol, os resultados obtidos pelo autor mostra que este antibiótico apresenta boa degradabilidade

quando em água destilada, mas os resultados obtidos por ele não foram satisfatórios quando o antibiótico esteve presente em água do mar. Já no processo Fenton os resultados foram análogos ao primeiro métodos, porém houve uma maior remoção do carbono orgânico dissolvido nos testes realizados em água destilada.

Rodrigues-Silva et al. (2013) utilizaram fotocatalise heterogênea com luz UV/dióxido de titânio (TiO_2) ou luz UV/ TiO_2 /peróxido de hidrogênio (H_2O_2), para a degradação de flumequina em soluções aquosas. Na condição ótima, as remoções de flumequina atingiram, 93% sem a presença de peróxido de hidrogênio para um tempo de 30 min de reação, a presença de H_2O_2 aumentou a degradação para o mesmo tempo. Segundo o autor, a degradação da flumequina levou a uma redução da atividade antimicrobiana das soluções. A razão molar entre catalisador e a solução de flumequina deve ser considerada pois uma maior concentração de catalisador, apesar de possuir uma maior quantidade de sítios ativos, impede a passagem de luz UV a qual é essencial para o processo. A utilização de peróxido de hidrogênio tem maior diminuição da atividade antimicrobiana das soluções tratadas sendo um tratamento mais eficiente para a remoção da flumequina.

Miranda (2014) analisou a capacidade de adsorção dos materiais argilosos LECA (agregados de argila expandida) evermiculite (minerais laminares de silicatos de alumínio-

ferro-magnésio hidratados) e do material não-argiloso gravilha (pedra brita) para alguns fármacos incluindo o sulfametoxazol. Para a adsorção desse antibiótico específico, a autora evidencia que os materiais argilosos apresentaram maior adsorção sendo que a vermiculite apresentou a maior taxa de adsorção e também uma cinética mais rápida. A gravilha utilizada nesse trabalho originada de granito, obteve a menor absorção como o esperado pela autora por não apresentar porosidade.

Como pode ser observado, todos os trabalhos citados foram realizados em escala laboratorial, portanto embora a necessidade de remoção de antibióticos dos efluentes ainda não há aplicação de nenhum processo em escala real, sendo esta a área de estudo que deve ser aprofundada, voltando-se para projetos de maiores dimensões.

2.8 Perspectivas Futuras

Segundo Takahashi e Lucas (2008), o surgimento da resistência aos antibióticos por algumas bactérias tem motivado uma constante busca por novos agentes com propriedade antibiótica e por novas linhagens de microrganismos com capacidade para produzir os requeridos e mais potentes antibióticos.

Novas pesquisas para isolamento de microrganismos com capacidade de produção de antibióticos que consigam combater os microrganismos que criaram resistência aos

antibióticos já administrados se mostra cada vez mais necessária, e uma corrida para produção desses medicamentos se inicia, assim como se torna cada vez mais importante a prevenção da seleção de bactérias resistentes, com o uso de forma adequada dos antibióticos, evitando tal seleção. Com isso grandes investimentos da indústria farmacêutica tem sido direcionados para obtenção dessas linhagens.

Outra ramo de pesquisa se direciona na questão da remoção dos antibióticos dos efluentes, muitos métodos tem sido testado, mas nenhum com grande eficácia e sem testes conclusivos em escala industrial. Sendo assim, se aguarda o desenvolvimento de operações que viabilizam esse processo em grande escala.

Espera-se também pesquisas que indiquem o efeito dos antibióticos nas bactérias de lodo de estações de tratamento de efluentes, afim de corrigir os parâmetros cinéticos utilizados nas ETEs.

3. CONCLUSÃO

A descoberta dos efeitos antibióticos dos produtos de metabolismos secundários de fungos e bactérias proporcionou grandes avanços na qualidade da saúde populacional. Os excelentes resultados logo nos primeiros testes em humanos fez com que a necessidade de produção em escala industrial se alavancasse.

As técnicas de produção industrial variam de acordo com o antibiótico a ser produzido, já que a linhagem de microrganismo produtor utilizada na produção de cada um dos antibióticos fabricados tem necessidades específicas para o meio de crescimento. Em suma, deve ocorrer uma fermentação em reatores de material nobre, como o aço inox, em temperaturas, condições de pH e aeração adequadas para o microrganismo produtos apresentar sua máxima eficiência. Após produção, o agente antibiótico se encontra disperso no meio, e é necessário que o caldo fermentado passe por etapas de purificação para que o antibiótico seja produzido de forma pura.

Os antibióticos se mostram drogas de grande eficiência no combate às infecções, porém o uso indiscriminado de antibióticos cria condições para o surgimento de linhagens de bactérias resistentes ao agente antibiótico, fator de grande preocupação para a saúde pública, uma vez que essas linhagens são de difícil combate e levam a doenças infecciosas graves, e que se deve evitar que essas linhagens consigam se proliferar.

O crescimento constante da indústria farmacêutica, além da grande contribuição para o melhoramento dos indicadores de saúde da população, também tem grande relevância na atividade econômica mundial, movimentando cifras bilionárias anualmente, e entre todos os medicamentos

comercializados, os antibióticos são responsáveis por grande parte das drogas comercializadas, requerendo montantes de investimentos em produção e pesquisa cada vez maiores para desenvolvimento constante de medicamentos eficientes.

4. REFERÊNCIAS

Araújo, Tarso e Vieira, Patrícia. **Verdades inconvenientes sobre a indústria de remédios**. Super Interessante, ed 269, setembro de 2009. Disponível em: <<http://super.abril.com.br/ciencia/verdades-inconvenientes-sobre-a-industria-do-s-remedios>>. Acesso em: 03 de junho de 2016.

Barros, André Nogueira Castro de. Purificação de penicilina G por adsorção em resina hidrofóbica. São Carlos, UFSCar, 2008. Disponível em: <http://www.btd.ufscar.br/htdocs/tedeSimplificado/tde_arquivos/10/TDE-2009-09-17T145817Z-2429/Publico/2238.pdf>. Acesso em 28 de maio de 2016.

Bila, Daniele Maia; Dezotti, Márcia. **Fármacos no Meio Ambiente**. COPPE, Universidade Federal do Rio de Janeiro - Rio de Janeiro - RJ, 2003.

Bon, E. P.S.; Pereira Jr, N.; **Tecnologia Enzimática**, Rio de Janeiro, 1999.

Bower, C. K.; Daeschel, M. A.; *Int. J. Food Microbiol.* 1999, 50, 33.

Britannica, Encyclopaedia. "antibiotic." *Britannica Academic Encyclopædia Britannica Inc.*, 2016. Acesso em 28 de maio de 2016. Disponível em: <<http://academic-eb-britannica.ez35.periodicos.capes.gov.br/EBchecked/topic/27751/antibiotic>>.

Dzidic, S.; Suskovic, J.; Kos, B.; *Food*

- Technol. Biotech. 2008.
- Guimarães, Denise Oliveira; Momesso, Luciano da Silva e Pupo, Mônica Tallarico. Antibióticos: importância terapêutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes. *Quim. Nova*, Vol. 33, No. 3, 667-679, 2010.
- He, Lichao; Li Leilei; Sun, Wei; Zhang, Weidong; Zhou, Zhiyoung; Ren, Zhongqi. Extration and recovery of penicillin G from solution by cascade process of hollow fiber renewal liquid membrane. *Biochemical Engineering Journal*. Vol. 110, 8-16, 20016.
- Herr, Andreas; Fischer, Reinhard. Improvement of *Aspergillus nidulus* penicillin production by targeting *AcvA* to peroxisomes. *Metabolic Engineering*. Vol 25 131-139, 2014.
- Hook, D. J. Production of antibiotics by fermentation. In: RATLEDGE, C.; KRISTIANSEN, B. (Eds). *Basic Biotechnology*. 3rd ed. United Kingdom: Cambridge University Press, 2006. p. 433-457
- Korolkovas, A.; Burkhalter, J. H.; Química Farmacêutica, GuanabaraKoogan: Rio de Janeiro, 1988.
- Lima, Urgel de Almeida; Aquarone, Eugênio; Borzani, Walter e Schmidell, Willibaldo. *Biotecnologia Industrial*, volume 3, Processos Fermentativos Enzimáticos- São Paulo: Blucher, 2001.
- Lohner, K.; Staudegger, E. Are we on the threshold of the post-antibiotic era?. In: *Development of novel antimicrobial agents: Emerging strategies*. Lohner, K. (ed), Horizon Scientific - England, pp 1-15, 2001.
- Mercado Farmacêutico Brasileiro. PUC Rio. Disponível em: <http://www.maxwell.vrac.puc-rio.br/4789/4789_4.PDF>. Acesso em: 03 de junho de 2016.
- Meštrović, Dr. Tomislav. Penicillin Production. Abril de 2015. Disponível em: <[http://www.news-medical.net/health/Penicillin-Production-\(Portuguese\).aspx](http://www.news-medical.net/health/Penicillin-Production-(Portuguese).aspx)> Acesso em 29 de maio de 2016.
- Miranda, C. D.; Castillo, G.; *Sci. Total Environ*. 1998, 224, 167.
- Miranda, S. I. M. Remoção de Fármacos de Águas Contaminadas. Avaliação de Vários Substratos. Tese Mestrado. Universidade de Évora, 2014.
- Moellering, R. C. Jr.; *Clin. Infect. Dis*. 1998, 27, S135.
- Patrick, G. L.; *An Introduction to Medicinal Chemistry*, Oxford University - New York, 2005, cap.16;
- Patrick, G. L.; *An Introduction to Medicinal Chemistry*, Oxford University - New York, 1995, cap. 10.
- Pereira Jr., Nei; Bon, Elba Pinto da Silva; Ferrara, Maria Antonieta. *Séries em Biotecnologia*, volume I, Tecnologia de bioprocessos – Rio de Janeiro: Escola de Química/UFRJ, 2008. Disponível em: <<http://www.eq.ufrj.br/vestibular/nukleo/pdfs/series-em-biotecnologia-vol-i-tecnologia-de-bioprocessos.pdf>>. Acesso em 28 de maio de 2016.
- PwC Brasil. O setor farmacêutico no Brasil. 2013. Disponível em: <<https://www.pwc.com.br/pt/publicacoes/setores-atividade/assets/saude/pharma-13e.pdf>>. Acesso em 03 de junho de 2016.
- Rodrigues-Silva, C., Maniero, M. G., Rath, S., Guimarães, J. R. Degradation of flumequine by photocatalysis and evaluation of antimicrobial activity. *Chemical Engineering Journal*, Volume 224, 46–52, 2013.
- Silva, Niléia Cristina da. Remoção de antibióticos da água por meio de adsorção em

carvão ativado. Dissertação Mestrado.
Universidade Estadual Paulista, 2012.

Stumpf, M.; Ternes, T. A.; Wilken, R.;
Rodrigues, S. V.; Baumann, W.; Sci. Total
Environ. 1999, 225, 135.

Suaréz, C.; Gudiol, F.; Enfermidades
Infecciosas Microbiologia Clínica. 2009, 27,
116.

Takahashi, J. A.; Lucas, E. M. F.. Ocorrência
e diversidade estrutural de metabólitos
fúngicos com atividade antibiótica. Quim.
Nova, Vol. 31, No. 7, 1807-1813, 2008.

Tambosi, José Luiz. Remoção de fármacos e
avaliação de seus produtos de degradação
através de tecnologias avançadas de
tratamento. Tese Doutorado UFSC, 2008.

Ternes, T. A.; Stumpf, M.; Mueller, J.;
Haberer, K.; Wilken, R.-D.; Servos, M.; Sci.
Total Environ. 1999, 225, 81.

Trovó, Alam Gustavo. Fotodegradação de
fármacos por processos oxidativos avançados
utilizando fonte de irradiação artificial e solar:
avaliação química e toxicológica. Tese
Doutorado. Universidade Estadual Paulista,
2009.

von Nussbaum, F.; Brands, M.; Hinzen, B.;
Weigand, S.; Häbich, D.; Angew. Chem., Int.
Ed. 2006, 45, 5072.

Walsh, C.; Antibiotics: Actions, Origins,
Resistance; ASM - Washington, 2003.

Wright, Peter M., Seiple, Ian B. e Myers,
Andrew G. The Evolving Role Of Chemical
Synthesis In Antibacterial Drug Discovery.
Angew. Chem. Int. Ed. 2014, 53, 8840 –
8869.

Yang, Chengming; Hou, Jian. Fed-batch
fermentation penicillin process fault diagnosis
and detection based on support vector
machine. Neurocomputing 117 - 123, 2016.