



# **NUTRIÇÃO MICROBIANA**

**Prof. Sharline Florentino de Melo Santos**

**UFPB – CT - DEQ**

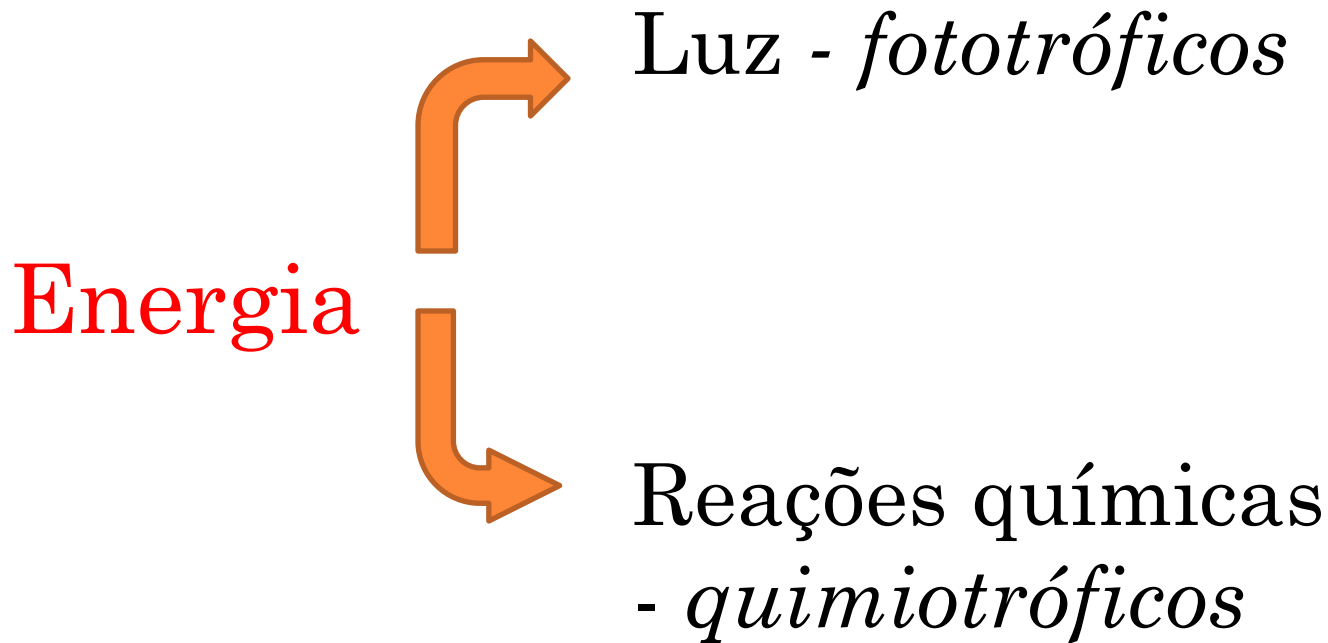
Para crescer, todos os organismos necessitam de uma variedade de elementos químicos como nutrientes.

Estes elementos são necessários tanto para a síntese como para as funções normais dos componentes das células.

Eles existem na natureza em uma grande variedade de compostos, que são inorgânicos e orgânicos.



# CLASSIFICAÇÃO NUTRICIONAL DOS MICRORGANISMOS



De acordo com a fonte de energia e carbono os organismos se classificam em:

➤ **Fotoautotróficos** – utilizam luz como fonte de energia e **dióxido de carbono** como fonte principal de carbono. Ex: Algas, plantas e cianofíceas.

➤ **Fotoheterotróficos** – utilizam luz como fonte de energia e **compostos orgânicos** como principal fonte de carbono. Ex: Bactérias púrpuras e verdes não enxofradas.



➤ **Quimioautotróficos** – utilizam substâncias químicas **inorgânicas** como fonte de energia e **dióxido de carbono** como principal fonte de carbono. Ex: bactérias nitrificantes.

➤ **Quimioheterotróficos** – utilizam substâncias químicas **orgânicas** como fonte de energia e os **compostos orgânicos** como principal fonte de carbono. Ex: Animais, bactérias, fungos, protozoários.



# ELEMENTOS QUÍMICOS ESSENCIAIS

Os elementos químicos principais para o crescimento das células são:

Carbono

Nitrogênio

Hidrogênio

Oxigênio

Enxofre

Fósforo

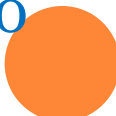


# CARBONO

Para os microrganismos autotróficos a única fonte de carbono é o  $\text{CO}_2$  ou o íon bicarbonato, a partir dos quais consegue sintetizar todos os compostos orgânicos que necessita.

Fungos e a maioria das bactérias são heterotróficos, exigindo fontes orgânicas de carbono, como proteínas, carboidratos e lipídeos.

Metade do peso de uma célula bacteriana típica é composta de carbono.

Os elementos químicos oxigênio e hidrogênio geralmente fazem parte dos compostos orgânicos. 

# CARBONO

É o componente básico para a biossíntese, fazendo parte de todos os compostos sintetizados pela célula.

Geralmente a mesma fonte de carbono serve como fonte de energia. As fontes de carbono mais comuns são os açúcares e os glicídios (pentoses, hexoses, polissacarídeos).


Outras fontes de carbono menos comuns abrangem uma ampla faixa de compostos, indo desde os mais simples como metano e metanol às mais complexas como celulose e hemicelulose.



# CARBONO

## Fontes de carbono

Carboidratos:

- Cana de açúcar
  - Frutas - uva, laranja, jabuticaba, etc.
  - Malte - cevada, trigo, milho, etc.
  - Melaço - subproduto da fabricação do açúcar
  - Licor sulfítico - subproduto da fabricação do papel
  - Lígno-celulósicos - palha, bagaço cana, resíduos madeira
- 

# CARBONO

## Fontes de carbono

- Carboidratos puros - açúcares e amidos, mas tem preços elevados.
- Óleos vegetais - soja, algodão, palma – cosubstratos.
- Alcoóis - etanol, metanol
- Alcanos - C12 – C14



# NITROGÊNIO

Os microrganismos necessitam de nitrogênio para a síntese de proteínas, DNA, RNA e ATP.

Algumas bactérias retiram o nitrogênio diretamente da atmosfera e o convertem a nitrogênio orgânico.

Numerosos fungos, algas e a quase totalidade das bactérias utilizam compostos inorgânicos de nitrogênio, em especial sais de amônia e ocasionalmente nitratos.

Fungos e algumas bactérias exigem fontes orgânicas de nitrogênio, de modo geral, a adição de aminoácidos e hidrolisados de proteínas favorece o crescimento da maioria dos organismos heterotróficos.

O peso seco de uma célula bacteriana é composto de aproximadamente 14% de nitrogênio.

# NITROGÊNIO

É assimilado sob forma amoniacal.

Muitas substâncias servem como fonte de nitrogênio

## Fontes de nitrogênio

Inorgânico:  $\text{NH}_4\text{Cl}$ ,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ,  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ , etc.

Orgânica:

Líquido de maceração de milho – subproduto do amido

Farinha de soja - subproduto da fabricação de óleo

Extrato de levedura - preço elevado

Peptonas - preço elevado

Uréia - adubo



# ÍONS INORGÂNICOS ESSENCIAIS

## Macronutrientes

**Fósforo** – síntese de DNA, RNA e ATP. São utilizados na forma de fosfato.

**Enxofre** – síntese de aminoácidos e de vitaminas como biotina e tiamina.

**Potássio** – ativador de enzimas e regula a pressão osmótica.

**Magnésio** – ativador das enzimas extracelulares e fator importante na esporulação.

**Cálcio** – co-fator para as reações enzimáticas.

**Ferro** – síntese de citocromos e de certos pigmentos.

# Micronutrientes

Cobre

Cobalto

Zinco

Manganês

Sódio

Boro

Outros



# FATORES DE CRESCIMENTO

São os compostos orgânicos indispensáveis a um determinado microrganismo, mas que ele não consegue sintetizar.

Muitos destes fatores são vitaminas, em especial do complexo B e aminoácidos.

As necessidades dos microrganismos são variadas.

Quando um microrganismo exige um certo fator, seu crescimento será limitado pela quantidade do fator presente no meio.



# ÁGUA

Não constitui um nutriente, mas é indispensável para o crescimento dos microrganismos.

Fora das células, os nutrientes estão dissolvidos em água, facilitando a passagem através das membranas celulares.

Dentro da célula, a água é o meio para maioria das reações químicas.

Compõe pelo menos 5 a 95% de todas as células (67-75%).

A atividade de água ótima para fungos é por volta de 0,7; para as leveduras de 0,8 e para bactérias 0,9.

# OXIGÊNIO

Não constitui um nutriente, funciona como receptor final de hidrogênio nos processos de respiração aeróbica.

De acordo com a resposta ao oxigênio gasoso, os microrganismos são divididos em grupos fisiológicos:



# OXIGÊNIO

**Aeróbios** – exigem a presença de oxigênio livre.

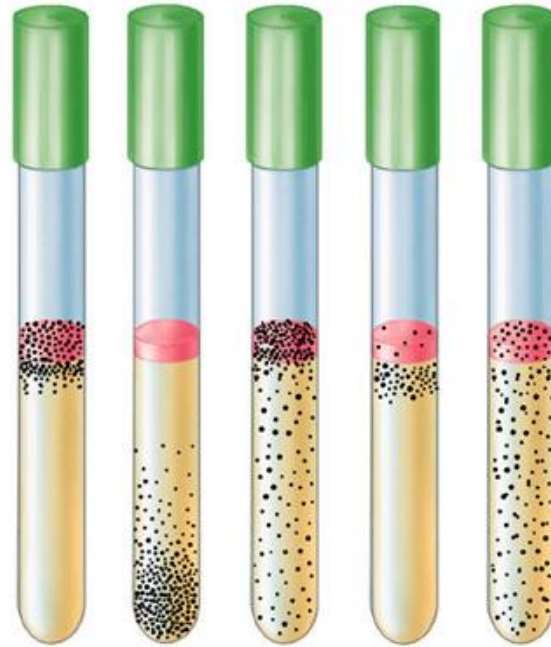
**Microaerófilos** – exigem pequena quantidade, não toleram as pressões normais de  $O_2$  atmosférico.

**Anaeróbios** – não toleram a presença de oxigênio livre.

**Facultativo** – crescem na presença ou ausência de oxigênio livre.

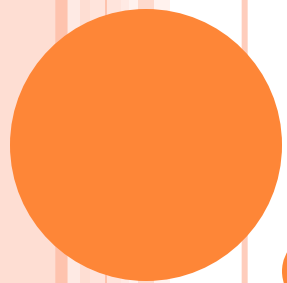


## Classes de organismos, em relação à tensão de oxigênio



Entre as bactérias, encontramos os três tipos de comportamentos.

Os fungos são aeróbios ou facultativos, raramente anaeróbios.



# MEIOS DE CULTURA

O material nutriente preparado em laboratório para o crescimento de microrganismos é denominado **meio de cultura**.

O meio de cultura deve conter todos os nutrientes necessários para que o microrganismo de interesse possa crescer.

Quando microrganismos são colocados em um meio de cultura para iniciar o crescimento, são chamados de **inóculo**.

Os microrganismos que cresceram e se multiplicaram nos meios de cultura são denominados **cultura**.



Os meios de propagação e produção devem conter os nutrientes em concentrações tais que resultem em atividade máxima do agente biológico, não sendo as condições ótimas para o crescimento celular, necessariamente, as mesmas para o processo produtivo.

A escolha da fonte de carbono é muito importante devido ao fato de a síntese de diversas biomoléculas estar sujeita à repressão catabólica. A glicose, por exemplo, apesar de ser, em geral, excelente fonte para o crescimento celular, tem sido reportada como repressora para a síntese de diversas substâncias, em particular na produção de enzimas e antibióticos.

Conhecendo-se a composição elementar da célula, pode-se determinar a sua “fórmula mínima” e estimar estequiometricamente suas necessidades nutricionais.

Tabela 10: Composição centesimal de células microbianas.

Fonte: Bailey & Ollis (1986).

<b>ELEMENTOS</b>	<b>BACTÉRIA</b>	<b>LEVEDURA</b>	<b>BOLORES</b>
Carbono	46-52	46-52	45-55
Hidrogênio	8-12	8-12	8-12
Oxigênio	18-24	18-24	18-24
Nitrogênio	10-14	5-9	3-7
Magnésio	0,1-0,5	0,1-0,5	0,1-0,3
Fósforo	2,0-3,0	0,8-2,5	0,4-4,5
Enxofre	0,1-1,0	0,01-0,25	0,1-0,5
Cálcio	0,01-1,0	0,1-0,3	0,1-1,4
Potássio	1,0-4,5	1,0-4,0	0,2-2,5
Ferro	0,02-0,2	0,01-0,5	0,1-0,2
Outros	<0,01	<0,01	<0,01

Para compor um meio adequado é necessário conhecer a fisiologia dos microrganismos de estudo.

**Não existe um meio de cultura universal!!!**

Basicamente existe dois grandes grupos de meios de cultura:

Meios sintéticos

Meios complexos



## Meios sintéticos

São os meios em que a composição química é qualitativa e quantitativamente conhecida.

Tabela 1 – Meio sintético para crescimento de *Escherichia coli*

Componente	Quantidade
Glicose	5,0 g
Fosfato de amônia monobásico ( $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ )	1,0 g
Cloreto de sódio (NaCl)	5,0 g
Sulfato de magnésio ( $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ )	0,2 g
Fosfato de potássio dibásico ( $\text{KHPO}_4$ )	1,0 g
Água	1 litro



## Meios complexo

São meios compostos de nutrientes como extrato de levedura, de carne e peptona, que não tem composição química perfeitamente definida.

Tabela 1 – Meio complexo para produção de celulases por *Trichoderma reesei*

Reagentes	(g/L)
Lactose	30
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	5
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	5
CaCl <sub>2</sub>	0,8
MgSO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O	0,6
Peptona	0,75
Extrato de levedura	0,30
Tween 80	0,2mL/L
Solução estoque*	10 mL/L

Solução estoque	
Reagentes	(g/L)
FeSO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O	0,5
CoCl <sub>2</sub> . 6H <sub>2</sub> O	0,2
MnSO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O	0,16
ZnSO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O	0,14

## Estado físico dos meios de cultura

Os meios de cultura podem ser sólidos ou líquidos.

Geralmente os microrganismos tem maior facilidade de iniciar o crescimento em meio líquido.

O meio sólido facilita a identificação do microrganismo e permite o cultivo de “cultura pura”.

O agente solidificador mais utilizado é o ágar, polissacarídeo extraído das algas, que funde a 100°C e solidifica ao redor de 45°C, geralmente se adiciona de 1,5 a 2,0%.

## Meios Seletivos e Diferenciais

Os meios seletivos são elaborados com o objetivo de favorecer o crescimento do microrganismo de interesse e impedir o crescimento dos outros microrganismos.

O ágar sulfeto de bismuto é utilizado para o isolamento da bactéria causadora do tifo, a *Salmonella typhi*.



Meios diferenciais são aqueles que conferem características especiais às colônias que, em condições normais, seriam idênticas.

No meio ágar sangue, a bactéria *Streptococcus pyogenes*, causadora de infecções da garganta, lisa as células sanguíneas apresentando um anel claro característicos em torno de sua colônia.



Em alguns casos, as características dos meios seletivos e diferenciais podem estar combinadas no mesmo meio de cultivo.

O meio agar sal monitol 7,5% de cloreto de sódio, é seletivo para *Staphylococcus aureus*, porque nesta concentração de cloreto de sódio impede o crescimento de organismos competidores e contém um indicador de pH, que altera sua cor quando o monitol é fermentado produzindo ácido.



# Conservação dos microrganismos

Isolado um microrganismo em cultura pura, é de interesse conservá-lo no laboratório para uso futuro.

➤ Semear em meio sólido distribuído em tubos e, periodicamente transferi-lo para novo meio

- Conservar em geladeira
- Recobrir a cultura com uma camada de óleo mineral



- Liofilização – os microrganismos são suspenso em meio adequado, congela a  $-30^{\circ}\text{C}$  e secagem por sublimação da água.
- Conservação em temperatura de nitrogênio líquido ( $-179^{\circ}\text{C}$ ).
- Solo e areia – somente para fungos.

