Chung,Y.C.,Neethling,J.B. (1988) ATP as a measurement of anaerobic sludge digester activity.
Dolfin,J.P., Bloenen,WG (1985) Activity measurements as a tool to characterize the microbial composition of methanogenic environments. J.Microbiol.Methods **4**, 1-12
Dolfin,J. (1987) Microbiological aspects of granular methanogenic sludge. PhD thesis. DrukCo Pudoc, Wageningen, The Netherlands.
Fenchel,T., Ramsing,N.B. (1992) Identification of sulfate reducing ectosymbiotic bacteria from anaerobic ciliates using 16SrRNA binding oligonucleotides probes. Arch.Microbiol **158**, 394-397.
Ferry, James.(1993) Methanogenesis. Ecology, physiology, biochemistry, and genetics. ed Chapman - Hall, New York.
García, J.L. Taxonomy and ecology of methanogens. FEMS Microbiology Reviews (1990) 297-308.
Grotenhuis,J.T.C., Smit,M., Plugge,C.M., Yuangsheng,X., van Lammeren,A.A.M., Stams, A.J.M., Zehnder, A.J.B. (1991) Bacterial composition and structure of granular sludge adapted to different substrates. Appl.Environ.Microbiol **57**,7,1942-1949.
Hungate,R.E. (1969) A roll tube method for the cultivation of strict anaerobes. Methods in Microbiology, 3B, 117-119.
Lowe,S.E., Jain,M.K., Zeikus,J.G. (1993) Biology and biotechnological applications of anaerobic bacteria adapted to environmental stresses in temperature, pH, salinity and substrates. Microbiol.Review **57**,2,451-509
Macario,A.J.L., Conway de Macario,E.(1985) Antidodies for methanogenic biotechnology. Trends in Biotechn. 3,8,204-208.
Maestrojuan, G., Boone, J., Mah, R., Menaia, J., Sachs, M., Boone, D.(1992). Taxonomy and halotolerance of mesophilic Methanosarcina strains, assignment of strains to species, and synonymy of Methanosarcina mazei and Methanosarcina frisia. Int. J. Syst. Bacteriol. **42**, 4, 561-567.
Matthies,C., Schink,B. (1993) Anaerobic degradation of longchain dicarboxilic acids by methanogenic enrichment cultures. FEMS Microbiol.Lett. **100**,221-226.
Muxi,L., Zunino,L., Tarlera, S., Soubes, M. (1992) Characterization of a methanogenic sludge to be used as inoculum for a high-rate reactor. World Journal of Microbiology and Biotechnology, **8**, 632-634.
Ni, S., Boone, D. (1991). Isolation and characterization of a dimethyl sulfide-degrading methanogen, Methanolobus siciliae HI350, from an oil well, characterization of M. siciliae T4/M, and emendation of M. siciliae.(1991) Int. J. Syst. Bacteriol. **41**, 410-416.
Shnell, S., Schink, B. (1992) Anaerobic degradation of 3 amino-benzoate by a newly isolated sulfate reducer and a methanogenic enrichment culture. Arch Microbiol **158**:328-334.
Schink,B.(1994).Energetics of interespecies hydrogen transfer in methanogenic degradation. VI Anaerobic Digestion Symposium. South Africa.
Soubes, M., Muxi, L., Fernánd4ez, A., Tarlera, S.(1994) Inhibition of methanogenesis from acetate by Cr+3 and ammonia. Biotecnol. Letters. **16**,2, 195-200.
Stams, A.J.M., van Dick,J.B., Dijkema,C., Plugge,C. (1993). Growth of syntrophic propionate oxidizing bacteria with fumarate in the absence of methanogenic bacteria. Appl. Environ.Microbiol. **59**, 4, 114-119.
Thauer, R.K. Jungermann,K., Decker,K. (1977) Energy conservation in chemotrophic anaerobic bacteria.Bacteriol.Rev.**4**,1,100-180.
Visser, A.. Beeksma,F.,van der Zee,F., Stams,A.J.M., Lettinga, G. (1993) Anaerobic degradation of volatile fatty acids at different sulphate concentrations. Appl. Microbiol. Biotechnol. **40**,549-556
Zitomer,D.H., Speece,R.(1993) Sequencial environments for enhanced biotransformation of aqueous contaminants. Environ.Sci.Technol. **27**, 2,227-244

MICROBIOLOGIA DA DIGESTÃO ANAERÓBIA TERMOFÍLICA

Rosana Filomena Vazoller

INTRODUÇÃO

O campo da biotecnologia apresenta atualmente, a forte tendência em usar a engenharia genética de microrganismos, para a geração de uma variedade de produtos passíveis de aplicação prática e econômica. Entretanto, existe um crescente interesse na descoberta de novas linhagens microbianas na natureza, cujas características permitam sua exploração a nível industrial, na direção de fornecer resultados úteis a sociedade.

Entre os diferentes habitats ou ecossistemas naturais pesquisados, se inserem aqueles em que microrganismos capazes de crescer sob condições extremas, tais como: elevadas temperaturas, altas pressões e baixos pHs, são encontrados. Essas condições mostram, no mínimo, comportamentos peculiares do metabolismo microbiano, ressaltando a existência de mecanismos intrigantes em relação a estabilidade de moléculas frente por exemplo, a temperaturas bastante superiores a 50°C. A tolerância de moléculas proteícas a elevadas temperaturas suscita uma variedade de dúvidas a serem esclarecidas, e enormes possibilidades para estudos da biologia molecular (Kelly & Deming, 1988; Lowe et al. 1993).

Os microrganismos que se desenvolvem a temperaturas acima ou igual a 50°C, conhecidos por termófilos, compreendem espécies de protozoários, algas, fungos e, principalmente, bactérias. Células bacterianas podem ser encontradas em locais com temperaturas tão altas como 100°C. Nos últimos anos, a obtenção de várias espécies de bactérias termófilas, encontradas no meio aquático e terrestre, revelou o potencial desses microrganismos na produção de combustíveis, gases, ácidos orgânicos e na estabilização biológica de rejeitos (Brock, 1986; Lowe et al., 1993).

Algumas vantagens operacionais dos bioprocessos termofílicos que têm sido desenvolvidos, incluem: redução da viscosidade e tensão superficial da água, com o aumento das taxas de difusão e solubilidade de muitos compostos não gasosos; maiores velocidades de reação; habilidade na fermentação de materiais poliméricos; diminuição da solubilidade do oxigênio, o que é particularmente importante para processos anaeróbios. Os processos termofílicos que empregam culturas microbianas puras estão sujeitos ainda, a uma menor contaminação por outros microrganismos (Brock, 1986; Lowe et al., 1993).

Apesar das indicações promissoras do emprego industrial dos termófilos, algumas desvantagens dificultam sua implantação em setores de produção, quais sejam : pouco conhecimento sobre as variáveis físicas e químicas que norteiam o projeto de um reator termofílico, danos frequentes nos reatores causados por corrosão, necessidade de melhor compreensão dos aspectos do metabolismo microbiano termofílico e resistência das culturas microbianas termófilas a esterilização tradicional (Weimer, 1986).

Uma das finalidades atraentes para o uso de microrganismos termófilos é a estabilização biológica de resíduos orgânicos. Dos processos biológicos de tratamento de resíduos sob condições termofílicas, o que conduz a geração biogênica anaeróbia do metano é um dos mais promissores, sendo empregado com relativo sucesso em vários países (Weimer, 1986; Zinder, 1986; Ahring, 1991).

Desde o primeiro estudo sobre a metanização termofílica de resíduos, em 1930, realizado por Rudolfs & Heukelekian, *in* Zinder (1988), até os recentes resultados obtidos em escala semi-industrial e industrial (Zinder, 1986; De Baere et al., 1988; Ahring et al.,1991; Souza et al., 1992 e 1993), tem-se observado que algumas das propriedades inerentes ao processo termofílico foram alcançadas, notadamente

diminuição do tempo de detenção hidráulico, destruição de patógenos, redução da viscosidade do lodo e boa eficiência no tratamento de resíduos gerados a temperaturas elevadas.

Do mesmo modo que os sistemas mesofílicos anaeróbios de digestão de resíduos envolvem diferentes espécies bacterianas, os processos termofílicos também possuem representantes similares aos tipos não-metanogênicos e metanogênicos mesófilos. No entanto, a distinção das espécies mesófilas e termófilas reside, entre outros fatores, nas diferentes velocidades de crescimento que apresentam frente ao mesmo substrato. Os termófilos metanogênicos podem crescer duas a quatro vezes mais rapidamente que os seus homólogos mesófilos.

MICRORGANISMOS TERMÓFILOS ANAERÓBIOS - CONSIDERAÇÕES GERAIS

As primeiras bactérias termófilas aeróbias e anaeróbias foram isoladas nos anos 40, eram bacilos formadores de esporos, oriundos de solos naturalmente aquecidos. O genêro *Bacillus* e a espécie *Clostridium thermocellum*, são exemplos dos primeiros termófilos isolados (Wiegel, 1990).

A arquebactéria *Methanobacterium thermoautotrophicum* foi a primeira espécie anaeróbia não formadora de esporo isolada de um biodigestor municipal de lodo de esgoto (Zeikus & Wolfe, 1972).

Estudos realizados sobre a diversidade e a ecologia dos termoanaeróbios foram intensificados nos últimos anos da década de 70. Nessa época, habitats com temperaturas extremas, entre 65 e 100°C, foram localizados como fonte de muitas espécies termófilas (Wiegel, 1990). Os termófilos anaeróbios são versáteis quanto a sua capacidade nutricional, com representantes autótrofos e heterótrofos, utilizando fontes de energia química ou luminosa (Sundaram, 1986).

Os ecossistemas anaeróbios termofílicos naturais são encontrados em regiões hidrotermais, pântanos e fendas vulcânicas. A presença de arquebactérias termoanaeróbias produtoras do gás metano pode ser verificada em várias dessas regiões, especialmente as hidrotermais (Lowe et al., 1993).

Os termófilos são genericamente definidos, como "organismos que vivem sob elevadas temperaturas". Quão elevadas são essas temperaturas ? Tal resposta, certamente, dependerá do grupo de organismos em questão. Assim, segundo Brock (1986), a melhor definição a ser adotada é : "o termófilo é um organismo capaz de viver próximo ou a temperatura máxima do grupo taxonômico do qual faz parte". Essa colocação, tem a vantagem de enfatizar a distinção taxonômica dos termófilos nos diferentes grupos de organismos, apesar de nada indicar sobre as faixas de temperatura mais adequadas ao crescimento específico dos grupos.

Recentemente foram determinados os limites superior e inferior de temperatura com ocorrência de atividade microbiana, respectivamente de 100°C e -14°C, constatando-se uma diversidade enorme de microrganismos termófilos. A classificação microbiana com base nas temperaturas cardinais de crescimento, segundo Wiegel (1990), é mostrada na Tabela 1. Nela se observam os grupos de microrganismos capazes de crescer a temperaturas próximas e no intervalo entre 45 e 70°C : os termotolerantes, os termófilos tolerantes, os termófilos, os termófilos tolerantes extremos e os termófilos extremos. Não estão indicados na Tabela 1, mas aqueles microrganismos capazes de se desenvolverem a temperaturas em torno de 100°C, são chamados de barotermotolerantes e barotermófilos. A faixa de temperatura destinada aos psicrófilos e mesófilos está definida entre temperaturas inferiores a 0 e inferiores a 50°C.

Os limites de temperatura apresentados na Tabela 1 podem ser considerados artificiais, porém, auxiliam na indicação de um certo intervalo de temperaturas onde o crescimento de uma determinada espécie de

microrganismo pode ocorrer. Além disso, torna evidente a habilidade de um microrganismo em crescer sob certas oscilações de temperatura, dentro dos limites cardinais.

TABELA 1. Definição dos organismos de acordo com suas temperaturas cardinais de crescimento (°C)

Grupos	*Tmínima* (°C)	*Tótima* (°C)	*Tmáxima* (°C)
psicrófilos	<0	<15	<20
mesófilos tolerantes	<5	>15	>20
mesófilos	>5	>15	>20
termotolerantes	-	<45	>50
termófilos tolerantes	<25	>45	>50
termófilos	>25	>45	>50
termófilos tolerantes extremos	<45	>65	>70
termófilos extremos	>45	>65	>70

Fonte : **Wiegel**, 1990.

Em alguns casos, verifica-se a enorme tolerância de uma mesma espécie de microrganismo à oscilações de temperatura superiores a 30°C. Esse comportamento é observado, por exemplo, na espécie metanogênica *Methanobacterium thermoautotrophicum*, que é capaz de crescer a temperaturas mesofílicas da ordem de 22°C, tendo uma temperatura ótima entre 68 e 69°C, e uma máxima de 78°C. Assim, essa bactéria suporta uma oscilação de temperatura de cerca 55°C. Genericamente, fica relativamente fácil explicar, como bactérias termófilas podem ser encontradas em habitats mesofílicos (Wiegel, 1990).

A seguinte questão pode ser feita: "Como uma espécie bacteriana pode tolerar uma oscilação tão ampla de temperatura ?" Não há ainda, uma explicação única que encerre todas as alterações metabólicas das células bacterianas que suportem tal variação. Algumas respostas incluem as características celulares que governam as temperaturas cardinais, tais como : - componentes das membranas celulares, estruturas proteícas, sistemas regulatórios de enzimas e ácidos nucleicos, e transporte de substratos. A partir dessa lista ampla de parâmetros, fica evidente que qualquer mudança de solutos, força iônica e pH da célula bacteriana, pode provocar um efeito drástico nas temperaturas cardinais. A energia requerida para a estabilização de enzimas termoestáveis é baixa, menor que 13 kJ, e portanto, uma pequena alteração nas características mencionadas pode afetar as temperaturas mínima e máxima (Sundaram, 1986; Wiegel, 1990).

O meio possui uma forte influência na definição das temperaturas cardinais de um microrganismo. Determinados componentes de crescimento de uma espécie bacteriana, se retirados ou adicionados ao meio de cultivo poderão alterar as temperaturas cardinais de crescimento. Assim, se a síntese celular de um aminoácido é bloqueada em função da temperatura, mas esse composto é adicionado ao meio, a espécie bacteriana poderá crescer. No caso da *Methanobacterium thermoautotrophicum*, o crescimento incomum a 22°C, foi possível quando extrato de levedura ou extratos de lodos anaeróbios eram adicionados ao meio de cultivo. As temperaturas cardinais de um microrganismo, que auxiliam em sua classificação, podem portanto, sofrer modificações circunstanciais, revelando a tolerância desses seres a grandes oscilações de temperatura em função das condições disponíveis para o crescimento (Wiegel, 1990).

Uma das grandes curiosidades em relação ao comportamento dos termófilos reside na compreensão da estabilidade das proteínas frente a temperaturas elevadas. A chave do conhecimento de como uma proteína reage a elevadas temperaturas deve estar na relação entre sua estrutura e função. No entanto, os fatores intrínsecos a propriedade de termoestabilidade de uma dada proteína frequentemente são desconhecidos. Nos trabalhos que procuram comparar as proteínas termofílicas com as suas homólogas mesofílicas, tem-se verificado que a termoestabilidade pode ser o resultado de diferenças sutis, como o aumento das interações intermoleculares entre resíduos de aminoácidos específicos e ligação com diferentes cofatores (Kelly& Deming, 1988).

A análise dos tempos de geração dos termófilos também constitui um aspecto importante na compreensão da estabilidade do metabolismo bacteriano a temperaturas elevadas. Em muitos casos, as velocidades de crescimento dos termófilos são similares as dos mesófilos, e em outros distintamente mais rápidas. Consideradas as diferenças entre as temperaturas de crescimento dos dois tipos de bactérias, parece que os termófilos não crescem tão eficientemente como diagnosticado pela teoria. Como pode ser observado na Figura 1, um diagrama de Arrhenius obtido a partir das velocidades de crescimento, sob condições ótimas, de bactérias mesófilas e termófilas, mostra que pequenas variações de temperatura influenciam marcadamente o tempo de geração dos mesófilos, o que não se verifica para os termófilos. Considerando que a diferença de temperatura de crescimento entre ambos pode ser de 50°C, seria de esperar, baseado na teoria do aumento da velocidade de reações químicas em função do aumento da temperatura, que os termófilos apresentassem tempos de geração bem menores do que os geralmente verificados. Evidentemente, a teoria que se aplica para reações químicas quaisquer não pode ser integralmente extrapolada para o crescimento bacteriano que está limitado pela capacidade de reação de suas enzimas. Ao que tudo indica as enzimas dos termófilos apenas suportam as elevadas temperaturas a que estão submetidas, e esta aparente perda de eficiência é o preço que as bactérias termófilas pagam para viverem em habitats com menor concorrência (Sundaram, 1986).

FIGURA 1 . Diagrama de Arrhenius das velocidades de crescimento de bactérias mesófilas e termófilas. A. Crescimento da espécie *E. coli* a várias temperaturas. B. Diagrama composto do crescimento de diferentes espécies bacterianas, em suas temperaturas ótimas. Cada ponto representa uma espécie de bactéria. (Reproduzido de **Brock *in* Sundaram**, 1986).

Sem dúvida, a explicação mais plausível para as relativamente baixas velocidades de crescimento dos termófilos, segundo Brock *in* Sundaram (1986), é a baixa eficiência catalítica das enzimas. A atividade reduzida das enzimas não é necessariamente uma característica imutável de todas as enzimas termofílicas.

No entanto, as baixas velocidades de crescimento observadas se justificam, se um número pequeno de enzimas chaves for menos eficiente.

ARCHAEBACTERIA E EUBACTERIA NA BIODIGESTÃO TERMOFÍLICA

A ocorrência do processo de digestão anaeróbia se dá em duas faixas distintas de temperatura: mesofílica, de 35 a 40°C, e termofílica, de 45 a 65°C. Bactérias dos reinos Archaebacteria e Eubacteria são os principais agentes do processo, onde os substratos orgânicos poliméricos são degradados a compostos mais simples, com posterior formação do metano.

Assim, a biogenêse do metano resulta de reações bioquímicas complexas, envolvendo diversas espécies de bactérias, que em sua maioria, são anaeróbias estritas e, portanto, são mais facilmente encontradas nos ecossistemas com potenciais de oxi-redução bastante baixos, da ordem de - 300 mV.

Cerca de 30 espécies de bactérias termoanaeróbias envolvidas com a degradação de materiais poliméricos e produção de metano têm sido relacionadas, e na sua maioria consideradas como termófilos moderados (Tabela 1). Nas Tabelas 2 e 3 observam-se as espécies de arquebactérias e eubactérias termófilas isoladas de sistemas metanogênicos. A descrição detalhada de populações termófilas presentes em biodigestores ainda se faz necessária. Porém, Soutschek et al *in* Winter & Zellner (1990), verificaram que a população termófila de um biodigestor de lodo de esgoto operado na faixa termofílica, não continha a mesma variedade de espécies que em geral, caracteriza os digestores mesofílicos de lodo de esgoto. O fluxo de carbono durante a degradação anaeróbia mesofílica é o mesmo para a termofílica, onde a complexidade dos produtos intermediários é mediada pela eficiência da transferência do hidrogênio entre espécies bacterianas (Bryant,1979).

TABELA 2: Características das arquebactérias presentes nos processos anaeróbios termofílicos

Organismos	Origem	Substratos	pH	T*ótim*(°C)
Methanobacterium CB12	biodigestor[1]	H_2/CO_2, F	7,4	56
Methanobacterium FTF	biodigestor[2]	F, H_2/CO_2	7,5	55
M. thermoaggregans[3]	estrume	H_2/CO_2	7,0-7,5	65
M. thermoalcaliphilum[3]	biodigestor	H_2/CO_2	7,5-8,5	60
M. thermoautotrophicum[3]	lodo de esgoto	H_2/CO_2	7,2-7,6	65-75
M. thermoformicicum	biodigestor[2]	H_2/CO_2, F	7,0-8,0	55
M. wolfei[3]	lodo de esgoto, sedimentos	H_2/CO_2	7,0-7,5	55-65
Methanogenium thermophilum UCLA	biodigestor, sedimentos	F, H_2/CO_2	7,2	55-60
Methanosarcina CHTI 55	biodigestor[2]	A.Met, Metil	6,8	57
Methanosarcina thermophila	biodigestor[2]	A,Met,Metil, Trimetil, H_2/CO_2	6,0-7,0	50
Methanothrix[4] ***thermoacetophila***	solo, lodo, termas	ND	ND	62
Methanothrix CALS-1	biodigestor[2]	H_2/CO_2	6,5	60-62
Methanosaeta[4]PT	biodigestor[2]	H_2/CO_2	6,7	55

Legendas : [1]mesofílico; [2]termofílico; [3]autótrofos obrigatórios; [4]nova denominação, segundo o International Journal of Systematic Bacteriology; A- Acetato; F- Formiato; Met-Metanol; ND-não determinado.
Fonte : **Zinder** et al., 1987; **Winter & Zellner**, 1990; **Patel & Sprott** ,1990; **Kamagata & Mikami**, 1991; **Lowe** et al., 1993.

TABELA 3. Características das eubactérias presentes nos processos anaeróbios termofílicos

Organismo	Origem	Substratos	Produtos	pH	*Tótim*(°C)
Acetobacterium faecalis	lodo de esgoto	açúcares	A,L,E,H_2/CO_2	6,5-7,0	70-73
Acetomicrobium flavidum	biodigestor de lodo de esgoto[1]	açúcares	A, H_2/CO_2	6,2-8,0	58
Acetothermus paucivorans	lodo de esgoto	açúcares	A, H_2/CO_2	7,0-8,0	58
Clostridium stercorarium	composto	celulose, xilana, açúcares	A,L,E, H_2/CO_2	7,3	65
C. thermoaceticum	estrume	piruvato,glicose,	A, CO_2 H_2/CO_2, CO	ND	55-60
C. thermoautotrophicum	sedimentos	açúcares	A, H_2 H_2/CO_2, CO	5,7	55-60
C. thermobutyricum	estrume	açúcares	B, H_2/CO_2, A,L	6,8-7,1	55
C. thermocellum	biodigestor de lodo de esgoto	celulose, hemicel., açúcares, meta nol, glicerato, formiato	A,L,E, H_2/CO_2	7,0	60-64
C. thermohydrosulfuricum	usinas de açúcar	amido,açúcares, sulfito, tiossulfato	E,L,A, H_2/CO_2, H_2S	6,9-7,5	68
C. thermolacticum	biodigestor[1], estrume	carboidratos	L,E,A, H_2CO_2	7,0-7,2	60-65
C. thermosaccharolyticum	solo, usina de açúcar	dextrina, pectina sulfito, tiossulfato	A,B,L,E, H_2/Suc, H_2S	ND	55-62
C. thermosuccinogenes	estrume	açúcares	F,A,L,Suc,H_2	7,6	58
Desulfotomaculum nigrificans	biodigestor[1], termas, solos	L,P,H_2,sulfato	H_2S	ND	55
D. thermoacetoxidans	biodigestor[1]	L,P,A,E,H_2/CO_2 sulfato, tiossulfato,S^0	A,H_2S	6,5	55-60
D. thermobenzoicum	biodigestor[1]	Ben, ácidos graxos; sulfato,sulfito,tiossulfato	A,CO_2	7,2	6,2
Desulfovibrio thermophilus	NI	H_2L,Pir	NI	NI	65
Selenomonas acidominovorans	biodigestor	Aminoácidos, açúcares,glicerol	ácidos graxos, P	ND	55
Thermoanaerobacter ethanolicus	sedimentos	Glicose	E,L,CO_2, A,H_2,i-But	ND	69
Thermobacteroides proteolyticus	biodigestor[1]	proteínas,peptídeos, extrato de levedura	A, H_2/CO_2	7,5	63

Legendas : [1]Termofílico; A- Acetato; B- Butirato; Ben- Benzoato; E- Etanol; F- Formiato; hemicel. - hemicelulose; i-But - isobutirato; L- Lactato; Pir- Piruvato; P- Propionato; Suc- Succinato; ND- não determinado; NI - não indicado
Fonte : **Winter & Zellner**, 1990; **Min & Zinder**,1990; **Guangsheng** et al., 1992; **Lowe** et al., 1993

Dentre os anaeróbios termófilos fermentativos, o genêro *Clostridium* compreende a maioria das espécies isoladas. Na degradação de açúcares, seus principais produtos são precurssores diretos do metano, como o acetato, o hidrogênio e o dióxido de carbono, ou indiretos, como o etanol, o lactato e o butirato. Nehuma espécie isolada até o momento, mostrou habilidade em produzir o propionato (Winter & Zellner, 1990).

Duas espécies termófilas, *Acetomicrobium flavidum* e *Acetothermus paucivorans*, obtidas de um digestor temofílico de lodo de esgoto, fermentam a glicose exclusivamente a acetato, hidrogênio e dióxido de carbono (reação 1). Essa transformação da glicose parece característica da ação dessas culturas termófilas. Representantes mesófilos fermentam a glicose em produtos semelhantes, porém acrescidos de etanol (Winter & Zellner, 1990).

$$\text{Glicose} + 4H_2O \Rightarrow 2\ \text{acetato}^- + 2HCO_3^- + 4H^+ + 4H_2 \qquad \Delta Go' = -206{,}3\ \text{kJ/mol} \quad (1)$$

A reação (1) indica a importância da transferência de hidrogênio inter-espécies sob condições termofílicas. Estudos realizados por Zinder (1986a), com o isótopo da glicose- [^{14}C], mostraram que a glicose era metabolizada diretamente a acetato e hidrogênio por populações termófilas, oriundas de um biodigestor termofílico alimentado com resíduos ligno-celulósicos. O fluxo do carbono nos experimentos indicou o elevado grau de acoplamento entre a fermentação da glicose e o consumo do hidrogênio à temperatura de 58°C.

A degradação da celulose pela espécie fermentativa *C. thermocellum*, também evidenciou os compostos acetato e hidrogênio como os principais produtos gerados, desde que na presença da espécie metanogênica *M. thermoautotrophicum*, uma termófila hidrogenotrófica obrigatória (Winter & Zellner, 1990).

Em estudos realizados com culturas mistas, a quebra do butirato a acetato e hidrogênio (reação 2) foi verificada em ação conjunta com a *M. thermoautotrophicum* (reação 3). O comportamento da cultura responsável pela reação (1) procedeu de modo muito similar a atuação da bactéria mesófila acetogênica sintrófica obrigatória *Syntrophomonas wolfei* (Winter & Zellner, 1990). A transformação total do butirato a metano e dióxido de carbono, a 60°C, pode ser vista na reação (4), em que o consumo do acetato é levado em conta, através da atividade de uma metanobactéria acetoclástica.

$$2CH_3\text{-}CH_2\text{-}CH_2\text{-}COO^- + 4H_2O \Rightarrow 4CH_3\text{-}COO^- + 2H^+ + 4H_2 \qquad \Delta G^{o'} = +48{,}1\ \text{kJ/mol} \quad (2)$$

$$4H_2 + CO_2 \Rightarrow CH_4 + H_2O \qquad \Delta G^{o'} = -135{,}6\ \text{kJ/mol} \quad (3)$$

$$2CH_3\text{-}CH_2\text{-}CH_2\text{-}COO^- + 4H_2O \Rightarrow 5CH_4 + CO_2 + HCO_3^- \qquad \Delta G^{o'} = -81{,}7\ \text{kJ/mol} \quad (4)$$

O propionato é um composto intermediário importante no equilíbrio do processo de digestão anaeróbia. A via de síntese do propionato parece seguir, preferencialmente, a descarboxilação do succinato, durante a degradação de carboidratos, lactato e aminoácidos. Poucas espécies fermentativas conduzem essa reação. Recentemente, Guangsheng et al. (1992) isolaram de um lodo anaeróbio granulado a espécie termófila *Selenomonas acidaminovorans*, capaz de fermentar diferentes aminoácidos a propionato, utilizando a rota da descarboxilação oxidativa do α-cetoglutarato a succinil-CoA.

A oxidação do propionato a acetato, dióxido de carbono e hidrogênio, sob condições padrão, é endergônica ($\Delta G^{o'} = +78{,}1$ kJ/mol), e a reação somente ocorre se a pressão parcial de hidrogênio é mantida muito baixa pelas metanobactérias hidrogenotróficas. Sob condições termofílicas a quebra do propionato ocorre com maior dificuldade, pois a maioria dos passos metabólicos envolvidos na sua oxidação são termodinamicamente desfavoráveis, como poder visto na Figura 2. Houwen (1990) verificou experimentalmente que a degradação do propionato na faixa termofílica por populações bacterianas adaptadas de lodos anaeróbios granulados mesofílicos, se processava muito lentamente, mas que era estimulada quando da adição do fumarato. Foi possível inferir que a presença desse composto permitia a degradação do propionato, superando uma etapa altamente endergônica (Figura 2).

Uma bactéria acetogênica oxidadora do propionato presente em lodos granulados de um biodigestor operado a 55°C com uma mistura de ácidos voláteis, foi obtida através de isolamentos em co-cultivos com metanogênicas hidrogenotróficas (*M. thermoautotrophicum* ΔH e *M. thermoformicicum*). O crescimento dessas culturas ocorreu dentro de faixas definidas de pressões parcias de hidrogênio, da ordem de 6 a 34 Pa, e mais uma vez foi verificado o efeito estimulatório do fumarato. Os co-cultivos não

só foram importantes em relação ao estudo do hidrogênio, mas também revelaram que o formiato quando adicionado ao meio, direcionava o metabolismo da bactéria oxidadora do propionato no sentido da redução do fumarato a succinato, por uma via exergônica ($\Delta G^{o'}$ = -79,5 kJ/mol) a 55°C, inibindo portanto, a degradação do propionato (Stams et al.,1992). Velocidades específicas máximas de crescimento em propionato da ordem de 0,72 d^{-1} foram medidas para lodos granulados metanogênicos, como indicado por Wiegant et al. *in* Stams et al. (1992).

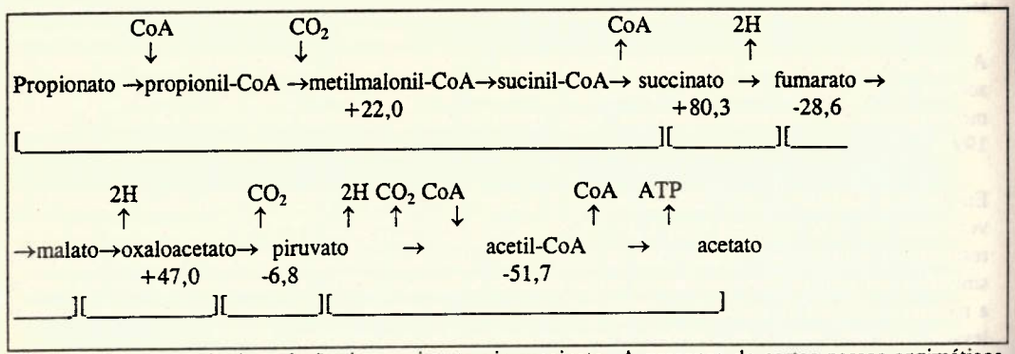

Figura 2. Esquema da degradação do propionato via succinato. A presença de certos passos enzimáticos não foram confirmados. Os valores de $\Delta G^{o'}$(kJ/mol) a 55°C foram calculados segundo a equação de van't Hoff (Fonte: **Houwen**,1990)

As bactérias redutoras do íon sulfato em condições termofílicas de crescimento, e em conjunto com as metanobactérias, agem como acetogênicas redutoras de prótons. Embora, esse comportamento ainda necessite de maiores comprovações, sabe-se que a degradação do lactato por essas bactérias, nos sistemas termofílicos, se processa em direção a produção do metano, desde que na ausência do sulfato. Similarmente a muitas culturas redutoras de sulfato mesófilas, as redutoras de sulfato termófilas podem crescer tanto em lactato, como em piruvato, e exceto pela espécie *Desulfovibrio thermophilus*, também crescem autotroficamente no hidrogênio. Não é comum entre as espécies termófilas redutoras do íon sulfato utilizar o acetato como fonte de carbono e energia. A espécie *Desulfotomaculum thermoacetoxidans* possui habilidade em usar o acetato na presença do sulfato, porém, com tempo de geração superior aos encontrados para os substratos hidrogênio e lactato (Min & Zinder,1990).

Os organismos mais intensamente estudados na degradação termofílica da matéria orgânica têm sido as metanobactérias. Como mostrado na Tabela 3, alguns genêros foram isolados em culturas puras, constatando-se que o metabolismo autótrofo metanogênico parece dominar a maioria das espécies termófilas obtidas. Embora o metabolismo preferencial necessite de hidrogênio e dióxido de carbono, nos processos de digestão anaeróbia mesofílicos e termofílicos, o substrato quantitativamente mais importante e disponível para a produção do metano, é o acetato. A produção do metano a partir do acetato em digestores de resíduos rurais termofílicos, por exemplo, foi encontrada em torno de 75 a 86% (Peterssen & Ahring, 1991). Boa parte dos trabalhos sobre o comportamento das metanobactérias nos sistemas anaeróbios termofílicos são relacionados a ação acetoclástica e produção de metano.

Nos útlimos anos, notadamente Stephen Zinder e vários colaboradores (1984a, 1984b, 1984c, 1986, 1987, 1988 e 1990) definiram o grupo de metanobactérias responsáveis pela degradação do acetato, presentes em lodos de biodigestores convencionais, operados em escala de laboratório. Da mesma forma, Ahring & Westermann (1984 e 1985) obtiveram isolados metanogênicos oxidadores do acetato, denominado-os por organismos TAM (Thermophilic Acetate-utilizing Methanogen). A degradação do

acetato com produção de metano, sob elevadas temperaturas (reação 5), não é atribuição exclusiva de espécies puras de metanobactérias, como é o caso dos genêros *Methanosarcina* e *Methanothrix* (ou, *Methanosaeta*). Zinder & Koch (1984c) fizeram uma descoberta bastante interessante para desvendar a rota do acetato a metano nos sistemas de biodigestão termofílicos. Esse é o caso da cultura denominada A.O.R. (Acetate Oxidizing Rod) que degrada o acetato a hidrogênio e dióxido de carbono, que então é levado a metano pela ação de uma espécie metanogênica hidrogenotrófica, a *Methanobacterium* THF (reações 6, 7 e 8). Nos experimentos de Zinder & Koch (1984c), realizados a 60°C, verificou-se que as reações (6) e (7) ocorriam, desde que a pressão parcial de hidrogênio fosse mantida baixa, a um tempo de geração da co-cultura da ordem de 36 h. Lee & Zinder, *in* Zinder (1988), encontraram os valores para a pressão parcial de hidrogênio nessa co-cultura, de 20 a 40 Pa, a 60°C, considerados superiores aos normalmente medidos no metabolismo de transferência anaeróbia do hidrogênio entre espécies bacterianas.

$$CH_3COO^- + 2H_2O \Rightarrow CH_4 + HCO_3^- \qquad \Delta G^{o'} = -31 \text{ kJ/reação} \qquad (5)$$

$$CH_3COO^- + 4H_2O \Rightarrow 2HCO_3^- + 4H_2 + H^+ \qquad \Delta G^{o'} = +105 \text{ kJ/reação} \qquad (6)$$

$$4H_2 + HCO_3^- + H^+ \Rightarrow CH_4 + 3H_2O \qquad \Delta G^{o'} = -136 \text{ kJ/reação} \qquad (7)$$

$$CH_3COO^- + H_2O \Rightarrow CH_4 + HCO_3^- \qquad \Delta G^{o'} = -31 \text{ kJ/reação} \qquad (8)$$

A bactéria *Methanosarcina thermophila* foi a primeira espécie metanogênica utilizadora de acetato isolada. O tempo de geração medido na cultura a 50°C, e no substrato acetato, foi de 12 h. Quando cultivadas em metanol, o tempo de geração decrescia a 4,5h (Zinder, 1988). Uma outra espécie acetoclástica, a *Methanosarcina* CALS-1, com crescimento ótimo a 55°C, foi obtida por Zinder et al. (1984 b) de um biodigestor termofílico.

O genêro *Methanothrix thermoacetophila* foi descrito por Nozhevnikova e Yagodina *in* Zinder (1988), originado de lodos anaeróbios cultivados em um biodigestor termofílico a 60°C. Zinder et al. (1984a) também isolaram de um biodigestor termofílico uma espécie de *Methanothrix* (CALS-1), cujo tempo de geração em acetato a 60°C, era de 24 h.

Estudos sobre a cinética de consumo do acetato entre culturas como *Methanosarcina* CALS-1 e *Methanothrix* CALS-1, realizados a 58°C em meio mineral e acetato, revelaram que a velocidade de utiilização do substrato, da primeira espécie, era independente da concentração a valores de 3mM, e quando esses valores atingiam 1mM a degradação do substrato cessava. Por sua vez, a velocidade de utilização do substrato da espécie *Methanothrix* CALS-1 foi independente a valores de 0,1 a 0,2 mM, com limites para a degradação do substrato entre 12 a 21 µM. As velocidades de utilização do substrato obtidas foram de 210 e 130 $nmol.min^{-1}.mg$ de porteína^{-1}, respectivamente para a primeira e a segunda espécies. Os resultados revelaram que a degradação do acetato obedeceu o modelo já conhecido para espécies de *Methanosarcina* e *Methanothrix*, onde baixas concentrações de acetato favorecem as espécies de *Methanothrix* . Em um biodigestor operado a 58°C, foi verificado que quando acetato se encontrava na faixa de 2 a 5 mM, *Methanosarcina* spp predominava no lodo anaeróbio, ao passo que, se as concentrações estavem entre 0,3 e 1,5 mM, o aparecimento da *Methanothrix* spp era favorecido (Min & Zinder, 1989; Zinder et al., 1984a).

Das diferentes espécies hidrogenotróficas atuantes nos sistemas de biodigestão, a *M. thermoautorophicum* é frequentemente o organismo predominante, sendo sua faixa de tolerância a temperaturas elevadas

superior a das bactérias acetoclásticas, e da ordem de 65 a 75°C (Zinder et al.,1984b; Zinder, 1988). A espécie *Methanothermus fervidus* parece participar nos sistemas de biodigestão na redução do dióxido de carbono a metano, além dos tipos hidrogenotróficos relacionados na Tabela 3.

POTENCIAL DA BIODIGESTÃO TERMOFÍLICA

A digestão anaeróbia termofílica vem sendo empregada com sucesso, na estabilização biológica de resíduos orgânicos agrícolas e domésticos (DeBaere et al., 1985; Wiegant et al., 1985; Zinder, 1986a; Ahring, 1991; Souza, 1991). Particularmente na indústria sucro-alcooleira, os resultados são bastante promissores (Souza, 1991 e 1993). Nesses trabalhos, uma variedade de tipos de reatores anaeróbios foram adotados, como os biodigestores de mistura completa operando com lodo de esgoto, o reator com leito fluidificado operando com águas oriundas da indústria de papel (Zinder et al., 1986b) e o reator de fluxo ascendente e manta de lodo operando com vinhaça (Souza, 1991). Além disso, sistemas de compostagem de lixo municipal como os desenvolvidos por DeBaere et al. (1985), o conhecido Processo Dranco, também operam a temperaturas da ordem de 55°C.

Em escala de laboratório várias pesquisas foram realizadas, não somente para verificação do potencial dos microrganismos anaeróbios termófilos na degradação de um determinado resíduo, como também para a obtenção de uma maior compreensão do comportamento da metanização controlada sob elevadas temperaturas (Varel, 1977; Ahring & Westermann, 1984, 1985; Zinder et al., 1984a e 1984b; Wiegant et al., 1985; Wiegant & Lettinga, 1985; Zinder, 1986b, 1988).

Os resultados obtidos nos estudos efetuados em laboratório e na operação de plantas piloto e em escala real, permitiram a realização de algumas generalizações sobre as vantagens e desvantagens do processo termofílico. Das vantagens, anteriormente citadas na introdução do presente texto, aquela de maior destaque é o decréscimo do tempo de detenção hidráulico, ao passo que a necessidade de aquecimento do reator e a baixa estabilidade do processo, em função de controle inadequado da temperatura, são as desvantagens atribuídas aos sistemas termofílicos (Zinder, 1986b, 1988).

O decréscimo no tempo de detenção hidráulico é possível nos processos termofílicos devido às reações químicas e bioquímicas se processarem mais rapidamente. Isso não significa que, necessariamente, os termófilos devam crescer mais rápido que os seus homólogos mesófilos. Como se sabe, os anaeróbios podem ter seu crescimento limitado pela baixa produção de energia do catabolismo de seus substratos, e não pela velocidade de seu metabolismo de síntese; assim, os termófilos anaeróbios podem ser capazes de imprimir velocidades maiores no catabolismo dos substratos, e portanto, serem mais rápidos. Então, mesmo atribuindo baixas eficiências ao metabolismo enzimático termofílico, tem-se verificado que o potencial de reação durante a digestão anaeróbia termofílica aumenta, permitindo um melhor desempenho do processo se comparado as condições mesofílicas.

A determinação de faixas de temperatura para a operação dos sistemas de digestão é extremamente importante, pois as metanobactérias podem provocar um colapso no sistema se inibidas por oscilações de temperatura. Zinder et al. (1984b) mostraram que em um biodigestor termofílico com predomínio de *Methanosarcina* spp, oscilações de temperatura de 58 a 64°C, em menos de 24 h, provocaram decréscimos sensíveis na produção de metano. Já, quando a espécie *Methanothrix* spp prevalecia, distúrbios de temperatura entre 58 e 65°C foram menos deletérios. Contudo, a análise em relação a oscilações de temperatura, como vimos anteriormente, não deve ser feita sem levar as demais condições de crescimento das culturas. Dados controlados sobre tolerância de variações de temperatura em biodigestores carecem de confirmações.

Uma das preocupações quando do emprego de reatores anaeróbios termofílicos é a partida dos sistemas. Sabe-se que bactérias termófilas podem viver em ambientes mesofílicos, pela tolerância a variações de temperatura, dentro de determinados limites. Portanto, é muito comum que o inóculo de biodigestores termofílicos seja originado de lodos anaeróbios mesofílicos. As primeiras indicações dessa possibilidade foram observadas em trabalhos como os de Varel (1977) e Chen (1983), onde estrume de bovinos e lodo de esgoto doméstico, respectivamente, foram lentamente adaptados, por períodos não superiores a 10 dias, a temperaturas de 60°C e em substratos como carboidratos e proteínas. Chen (1983) verificou também, que em um reator mesofílico de lodo de esgoto cerca de 9% da população eram termófilos anaeróbios tolerantes e 1% termófilos obrigatórios (extremos). Reatores de fluxo ascendente e manta de lodo foram operados entre 46 e 64°C, tendo como inóculo lodo granulado mesofílico (van Lier et al.,1992). Foi possível a adaptação do lodo granulado em um período não superior a 2 semanas, elevando-se abruptamente a temperatura. A bactéria metanogênica predominante no lodo adaptado era semelhante ao genêro *Methanothrix*. A manutenção da granulação do lodo não foi estável.

A discussão sobre o potencial dos microrganismos termófilos para a digestão anaeróbia parece desnecessária frente aos resultados já alcançados. É certo porém, que alguns pontos sobre o metabolismo e a estabilidade dos microrganismos termófilos permanecem obscuros, mas a busca da luz sobre várias questões está em andamento. Provavelmente, em função dessa busca, tem-se observado nos últimos anos descobertas interessantes a cerca dos anaeróbios termófilos, como a sua aplicação na degradação de compostos perigosos ao meio-ambiente, tal como o pentaclorofenol. Apesar dos longos tempos de incubação (8 meses) necessários ao desaparecimento desse organoclorado pela atividade de lodos anaeróbios termofílicos, Larsen et al. (1991) demonstraram que a desalogenação termofílica foi possível e mediada por duas populações diferentes.

Referências Bibliográficas

Ahring, B. & Westermann, P. *FEMS Microbiol. Letters*, 25: 47-52, 1984

Ahring, B. & Westermann, P. *FEMS Microbiol. Letters*, 28: 15-19, 1985

Ahring, B.; Angelidaki, I. & Johansen, K. *Proceedings of 6th International Symposium on Anaerobic Digestion*, p. 309-316, São Paulo, Brasil, 1991.

Brock, T.D. *In: Termophiles - General, Molecular and Applied Microbiology*. 305p. 1986

Bryant, M.P. *J. Anim. Sci.*, 48: 193-201, 1979

De Baere, L. & Six, W. *Anais do Seminário de Energia de Biomassa e Resíduos* - CCE - CEMIG, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil, 1988.

Chen, M. *Appl. Environ. Microbiol.*, 45:1271-1276, 1983

Guangsheng, C.; Plugge,C.M.; Roelofsen, W.; Houwen, F.P. & Stams, A.J.M. *Arch. Microbiol.*, 157:169-175, 1992

Houwen, F.P. *PhD Thesis University of Wageningen - Dept. of Microbiology*, Netherlands, Wageningen,135 p. 1990

Kamagata, Y. & Mikami, E. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 41: 191-196, 1991

Kelly, R.M. & Deming, J.D. *Biotechnol. Progress*, 4:47-62, 1988

Larsen,S.; Hendriksen, H.V. & Ahring, B.K. *Appl. Environ. Microbiol.*, 57:2085-2090, 1991

Lowe, S.E.; Mahendra, K.J. & Zeikus, J.G. *Microbiological Reviews*, 57: 451-509, 1993

McInerney, M.J.; Bryant, M.P.; Hespell, R.B. & Costerton, J.W. *Appl.Environ. Microbiol.*, 41: 1029-1039, 1981

Min, H. & Zinder, S.H. *Appl.Environ. Microbiol.*, 55: 488-491, 1989

Min, H. & Zinder, S.H. *Arch. Microbiol.*, 153: 399-404, 1990

Patel, G.B. & Sprott, D. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 40: 79-82, 1990

Petersen, S.P. & Ahring, B.K. *FEMS Microbiology Ecology*, 86: 149-158, 1991

Souza, M.E.; Fuzaro, G. & Polegato, A.R. *Water Scien. Technol.*, 25: 213-222, 1992

Souza, M.E.; Fuzaro, G. & Furco, A.M. *Anais do 5° Congresso STAAB* -22-26 Agosto, Águas de São Pedro, São Paulo, Brasil , 1993
Stams, A.J.M.; Grolle, K.C.F.; Frijters, C.T.M.J. & van Lier, J.B. *Appl. Environ. Microbiol.*, 58:346-352, 1992
Sundaram, T.K. *In: Termophiles - General, Molecular and Applied Microbiology*. 305p. 1986
van Lier J.B.; Grolle, K.C.F.; Stams, A.J.M.; Macario, E.C. & Lettinga, G. *Appl .Microbiol. Biotechnol.*, 37: 130-135, 1992
Varel, V.H., Issacson, H.R. & Bryant, M.P. *Appl. Environ. Microbiol.*, 33: 298-307, 1977
Weimer, P.J. *In: Termophiles - General, Molecular and Applied Microbiology*. 305p. 1986
Wiegant, W.M., Claassen, J.A. & Lettinga, G. *Biotechnol. Bioeng.*, 27: 1374-1381, 1985
Wiegant, W.M. & Lettinga, G. *Biotechnol. Bioeng.*, 27: 1603-1607, 1985
Wiegel, J. *FEMS Microbiology Reviews*, 75: 155-170, 1990
Winter, J. & Zellner, G. *FEMS Microbiology Reviews*, 75 :139-154, 1990
Zeikus, J.G. & Wolfe, R.S. *J. Bacteriol.*, 109: 707-713, 1972
Zellner, G. & Winter, J. *FEMS Microbiol. Letters*, 44: 323-328, 1987
Zinder, S.H.; Cardwell, S.C.; Anguish, T.; Lee, M. & Koch, M. *Appl. Environ. Microbiol.*, 47: 796-807, 1984a
Zinder, S.H.; Anguish, T. & Cardwell, S.C. *Appl. Environ. Microbiol.*, 47: 808-813, 1984b
Zinder, S.H. & Koch, M. *Arch. Microbiol.*, 138: 263-272, 1984c
Zinder, S.H. *FEMS Microbiology Ecology*, 38: 243-250, 1986a
Zinder, S.H. *In: Termophiles - General, Molecular and Applied Microbiology*. 305p. 1986b
Zinder, S.H.; Anguish, T. & Lobo, A.L. *Arch. Microbiol.*, 146: 315-322, 1987
Zinder, S.H. *Proceedings of 5th International Symposium on Anaerobic Digestion*, p.1-12, Bologna, Itália, 1988.
Zinder, S.H. & Min, H. *Appl. Environ. Microbiol.*, 55: 488-491, 1989
Zinder, S.H. *FEMS Microbiol. Reviews*, 75: 125-138, 1990

Thermophilic Anaerobic Bacteria: Ecology and Biotechnological Applications

Bernard OLLIVIER and Jean-Luc CAYOL

Laboratoire de microbiologie ORSTOM, Université de Provence, 3 place Victor Hugo, 13331 Marseille Cedex 03, France.

Abstract

The paper briefly reviews strict thermophilic anaerobic miroorganisms able to grow optimally at temperatures ranging from 60°C to 80°C, and hyperthermophiles having their optimum temperature for growth above 80°C. Strict thermophiles include microorganisms from the Bacteria and the Archaea domains, while hyperthermophiles are only affiliated to Archaea. Such organisms are widespread in typical thermophilic environments including terrestrial solfataras, different kinds of marine vents, and bioreactors operating at high temperature. They are also found in mesophilic biotopes, especially soils. They possess thermostable enzymes which have high potential applications in the industry. Thermophilic processes exhibit advantages, as compared with mesophilic processes for metabolites production and waste treatment.

Introduction

During the last decade, scientific interest in extremophilic bacteria has increased since most of them have potential applications in the industry (1, 2, 3). Among the extremophiles, thermophiles and mainly hyperthermophiles are probably the most studied, as their enzymes exhibit enhanced thermostability as compared with the enzymes so far available (4). The high temperatures required in many industrial processes, e.g., biobleaching of wood pulps, or fructose corn syrup manufactoring, and the need to avoid chemical polluants use, will probably be incitative in thermostable enzymes utilization in the future.

Thermophiles range from moderate to hyperthermophiles. The latter include about 20 genera among which *Pyrodictium* exhibits the highest temperature for growth [113°C, (5)]. Hyperthermophiles belong to the Archaea domain. They are not only studied because of their specific temperature range for growth but also with regard to their importance in the origin of life. The analysis of their 16S rRNA sequences cataloging indicates that they are probably the most ancient extant life (5).

This paper considers the major features of obligate thermophilic anaerobic bacteria that grow optimally at/or above 60°C, but do not grow at temperatures lower than 42°C. Their ecology and their possible involvement in future industrial processes are discussed.