



**Nayara Araújo Cardoso  
Renan Rhonalty Rocha  
Maria Vitória Laurindo  
(Organizadores)**

**As Ciências Biológicas e da  
Saúde na Contemporaneidade 2**

**Atena**  
Editora  
Ano 2019

Nayara Araújo Cardoso  
Renan Rhonaly Rocha  
Maria Vitória Laurindo  
(Organizadores)

# As Ciências Biológicas e da Saúde na Contemporaneidade 2

Atena Editora  
2019

2019 by Atena Editora

Copyright © da Atena Editora

**Editora Chefe:** Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

**Diagramação e Edição de Arte:** Natália Sandrini e Lorena Prestes

**Revisão:** Os autores

### Conselho Editorial

- Prof. Dr. Alan Mario Zuffo – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul  
Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas  
Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília  
Profª Drª Cristina Gaio – Universidade de Lisboa  
Prof. Dr. Constantino Ribeiro de Oliveira Junior – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Profª Drª Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná  
Prof. Dr. Darllan Collins da Cunha e Silva – Universidade Estadual Paulista  
Profª Drª Deusilene Souza Vieira Dall’Acqua – Universidade Federal de Rondônia  
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul  
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria  
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná  
Profª Drª Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia  
Profª Drª Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionele delle Figlie de Maria Ausiliatrice  
Profª Drª Juliane Sant’Ana Bento – Universidade Federal do Rio Grande do Sul  
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense  
Prof. Dr. Jorge González Aguilera – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul  
Profª Drª Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins  
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte  
Profª Drª Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão  
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará  
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista  
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará  
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas  
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande  
Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

#### **Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)**

C569 As ciências biológicas e da saúde na contemporaneidade 2 [recurso eletrônico] / Organizadores Nayara Araújo Cardoso, Renan Rhonalty Rocha, Maria Vitória Laurindo. – Ponta Grossa (PR): Atena Editora, 2019. – (As Ciências Biológicas e da Saúde na Contemporaneidade; v. 2)

Formato: PDF

Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader.

Modo de acesso: World Wide Web.

Inclui bibliografia

ISBN 978-85-7247-216-6

DOI 10.22533/at.ed.166192803

1. Ciências biológicas. 2. Biologia – Pesquisa – Brasil. 3. Saúde – Brasil. I. Cardoso, Nayara Araújo. II. Rocha, Renan Rhonalty. III. Laurindo, Maria Vitória. IV. Série.

CDD 574

**Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422**

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores.

2019

Permitido o download da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

## APRESENTAÇÃO

A obra “As Ciências Biológicas e da Saúde na Contemporaneidade” consiste de uma série de livros de publicação da Atena Editora, em seus 22 capítulos do volume II, apresenta a importância do desenvolvimento de novas pesquisas nos âmbitos da saúde e da natureza e ainda a relevância da busca de novas terapias para o tratamento de variadas patologias.

O desenvolvimento de pesquisas no campo da saúde representa uma ferramenta importante para a busca de novas estratégias para o diagnóstico, acompanhamento do curso e tratamento de doenças. É na área da saúde que a biotecnologia encontra algumas de suas aplicações mais benéficas e abrangentes. Por meio de diferentes vertentes biotecnológicas, como a produção e atuação de organismos geneticamente modificados; a engenharia genética, que permite qualquer tipo de alteração em nível de DNA e experimentos empregando espécies vegetais e/ou compostos isolados para o desenvolvimento de terapias alternativas e aprimoramento das terapias convencionais.

Atualmente a busca por novos compostos com atividade terapêutica é feita majoritariamente através da experimentação de produtos naturais, uma vez que muitos destes têm comprovadas cientificamente suas propriedades antimicrobianas, antioxidantes, anti-inflamatórias, antineoplásicas, analgésicas, entre outras.

Desse modo, este volume II apresenta artigos que tratam: das propriedades antioxidantes de espécies vegetais como o alecrim e o chá verde; estudos microbiológicos e de toxicidade de espécies vegetais e animais; caracterização de ácidos nucleicos e proteínas; emprego da engenharia genética para elucidação de mecanismos de ação e desenvolvimento e experimentação de alimentos funcionais. Assim, esta obra é dedicada aos pesquisadores da área de saúde, que buscam reciclar seus conhecimentos por meio de pesquisas relevantes e se atualizar perante às novas tecnologias e descobertas científicas e biotecnológicas aplicadas às áreas da saúde.

Portanto, esperamos que este livro possa estimular outros estudantes e profissionais de saúde ao desenvolvimento de pesquisas e estudos a fim de incorporar à literatura referências atualizadas e possibilitar a aplicabilidade dos resultados dessas pesquisas às práticas profissionais diárias.

Nayara Araújo Cardoso  
Renan Rhonalty Rocha  
Maria Vitória Laurindo

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO 1</b> .....	<b>1</b>
A BIOLOGIA SINTÉTICA E ENGENHARIA METABÓLICA PARA DESENVOLVIMENTO DE SOLUÇÕES EM BIOTECNOLOGIA	
Mauricio Schiavo Gabriel Dall'Alba Mauricio Moura da Silveira Sergio Echeverrigaray	
<b>DOI 10.22533/at.ed.1661928031</b>	
<b>CAPÍTULO 2</b> .....	<b>18</b>
A CONSTRUÇÃO DE MODELOS DIDÁTICOS DA ESTRUTURA DO DNA COM MATERIAIS ALTERNATIVOS: CRIANDO E APRENDENDO	
Maria da Conceição dos Reis Leal João Gabriel Rangel Gonçalves	
<b>DOI 10.22533/at.ed.1661928032</b>	
<b>CAPÍTULO 3</b> .....	<b>28</b>
ALECRIM ( <i>Rosmarinus officinalis</i> L.): EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS ANTIOXIDANTES E SUA IMPORTÂNCIA NO CONTROLE DA DOENÇA MANCHA FOLIAR EM PLANTAS DE CEVADA	
Fernando Luquis Brenda Mery Santos de Godoy Cristiane Santana Garcia Victor Alves Franklin Luciana Leite Oliveira Nilsa Sumie Yamashita Wadt Vinicius de Oliveira Cardoso Erna Elisabeth Bach	
<b>DOI 10.22533/at.ed.1661928033</b>	
<b>CAPÍTULO 4</b> .....	<b>37</b>
ALELOPATIA DE EXTRATOS AQUOSOS DE <i>Eragrostis lugens</i> Nees. NA GERMINAÇÃO E CRESCIMENTO INICIAL DE <i>Oryza sativa</i> L	
Daniela Sponchiado Jéssica Cezar Cassol Douglas de Lima Righi Lucas Menezes Jorge Eduarda Mena Barreto Juçara Terezinha Paranhos	
<b>DOI 10.22533/at.ed.1661928034</b>	

**CAPÍTULO 5 ..... 45**

AVALIAÇÃO DA GENOTOXICIDADE DE *COMBRETUM LEPROSUM MART.*: TESTE *ALLIUM CEPA*

Raidan Costa Rodrigues  
Valéria Moura de Carvalho  
Jadielson da Silva Santos  
Brenda Lois Barros dos Santos  
Andressa Jordanne Pereira Ramos  
Cairo Hilbert Santos de Melo  
Juliane Moreira Ramos  
Elizângela de Carvalho Nunes  
Sâmya Katya Barros Guimarães  
Wanderson Ferreira Martins  
Adão Correia Maia  
Kelly Maria Rêgo da Silva  
Mateus Sávio Amorim  
Antonio Lima Braga

**DOI 10.22533/at.ed.1661928035**

**CAPÍTULO 6 ..... 50**

AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTIOXIDANTE DOS EXTRATOS DE ALECRIM (*ROSMARINUS OFFICINALIS*) E CHÁ VERDE (*CARMELLIA SINENSIS*) EM LINGUIÇAS FRESCAL BOVINA

Thaísia Cidarta Melo Barbosa  
Juliana Nobrega Clemente  
Karina da Silva Chaves  
Sthelio Braga da Fonseca  
Bruno Raniere Lins de Albuquerque Meireles

**DOI 10.22533/at.ed.1661928036**

**CAPÍTULO 7 ..... 61**

AVALIAÇÃO DO USO DE AÇÚCAR NA TERAPIA TÓPICA DE FERIDAS

Ingrid dos Santos Farias  
Emanuelle Karine Frota Batista  
Hebelys Ibiapina da Trindade  
Janayna Batista Barbosa de Sousa Muller  
Maria José Lima Nascimento  
Evanita da Rocha Luz  
Maria do Carmo de Souza Batista

**DOI 10.22533/at.ed.1661928037**

**CAPÍTULO 8 ..... 71**

AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA VITAMINA C SOBRE A DEFESA ANTIOXIDANTE ENZIMÁTICA NA FASE AGUDA DA DOENÇA DE CHAGAS EM CAMUNDONGOS EXPERIMENTALMENTE INFECTADOS COM A CEPA QM2 DE *Trypanosoma cruzi*

Patrícia Milani de Moraes  
Bruna de Lima Pereira  
Ludmyla Toller Cocco  
Luciamare Perinetti Alves Martins

**DOI 10.22533/at.ed.1661928038**

**CAPÍTULO 9 ..... 84**

AValiação DOS ÍndICES DE REGENERAÇÃO HEPÁTICA NO MODELO EXPERIMENTAL DE HEPATECTOMIA A 70%

Luz Marina Gonçalves de Araujo Oliveira  
Pedro Luiz Squilacci Leme  
Maria Cristina Chavantes

**DOI 10.22533/at.ed.1661928039**

**CAPÍTULO 10 ..... 94**

BIOTECNOLOGIA NO CONTROLE DE MOSQUITOS TRANSMISSORES DE ARBOVIROSES: BIOENSAIOS PARA AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE INSETICIDA EM MOSQUITOS ADULTOS

Fabíola da Cruz Nunes  
Louise Helena Guimarães de Oliveira  
Patrícia Alexandria Paiva Silva de Sousa  
Hyago Luiz Rique

**DOI 10.22533/at.ed.16619280310**

**CAPÍTULO 11 ..... 103**

COMPOSTOS BIOATIVOS E POTENCIAL NUTRACÊUTICO DO FRUTO DE BURITI (*Mauritia flexuosa* L) NA TERAPIA COADJUVANTE EM PORTADORES DE DISLIPIDEMIA

Joilane Alves Pereira-Freire  
Vivianne Rodrigues Amorim  
Fernanda Maria de Carvalho Ribeiro  
Stella Regina Arcanjo Medeiros  
Jurandy do Nascimento Silva  
Paulo Michel Pinheiro Ferreira

**DOI 10.22533/at.ed.16619280311**

**CAPÍTULO 12 ..... 116**

DESENVOLVIMENTO DE MICROPARTÍCULAS DE ALGINATO DE CÁLCIO PARA IMOBILIZAÇÃO DE *Chlorella vulgaris*

Felipe de Albuquerque Santos  
Eduardo Bittencourt Sydney  
Alessandra Cristine Novak Sydney

**DOI 10.22533/at.ed.16619280312**

**CAPÍTULO 13 ..... 127**

DESENVOLVIMENTO DE PÃO DE FORMA CONTENDO FARINHA MISTA DE MARACUJÁ E JABUTICABA

Jamilly Salustiano Ferreira Constantino  
Julice Dutra Lopes

**DOI 10.22533/at.ed.16619280313**

**CAPÍTULO 14 ..... 143**

DETERMINAÇÃO DO EHL (EQUILÍBRIO-HIDROFÍLICO LIPOFÍLICO) DO ÓLEO DE ABACATE

Laíssa Aparecida Praxedes dos Reis  
Alessandra Cristine Novak Sydney

**DOI 10.22533/at.ed.16619280314**

**CAPÍTULO 15 ..... 150**

ESTUDO DA TOXICIDADE DE *Combretum leprosum* Mart.: TESTE *ALLIUM CEPA*

Valéria Moura de Carvalho  
Raidan Costa Rodrigues  
**Kelly Maria Rêgo da Silva**  
Elizângela de Carvalho Nunes  
Sâmya Katya Barros Guimarães  
Brenda Lois Barros dos Santos  
Cairo Hilbert Santos de Melo  
Juliane Moreira Ramos  
Wanderson Ferreira Martins  
Gabrielle Costa Bento Campos  
Adão Correia Maia  
Antonio Lima Braga  
Jadielson dos Santos

**DOI 10.22533/at.ed.16619280315**

**CAPÍTULO 16 ..... 155**

ESTUDO E MODELAGEM CINÉTICA HETEROGÊNEA DA REAÇÃO DE CETALIZAÇÃO DO GLICEROL COM ACETONA UTILIZANDO ZEÓLITAS DO TIPO H-BEA E H-FER COMO CATALISADORES

Vinicius Rossa  
Gisel Chenard Díaz  
Yordanka Reyes Cruz  
Sibele Berenice Castellã Pergher  
Donato Alexandre Gomes Aranda

**DOI 10.22533/at.ed.16619280316**

**CAPÍTULO 17 ..... 171**

ESTUDOS MICROBIOLÓGICOS DAS FOLHAS DA *Eugenia uniflora* Linn. (PITANGA)

Giovanna Gabrielly Alves da Silva Fraga  
Maria Gabrielle de Oliveira Tabosa  
Emilay Lira de Freitas  
Leticia Vieira dos Santos Beserra  
Arquimedes Fernandes Monteiro de Melo  
Risonildo Pereira Cordeiro

**DOI 10.22533/at.ed.16619280317**

**CAPÍTULO 18 ..... 177**

NEW PROCESS FOR OBTAINING NANOCHITOSAN / BURITI OIL (*Mauritia flexuosa*) BIOCOSMOSITE: A BIOMATERIAL FOR REGENERATIVE MEDICINE AND TISSUE ENGINEERING

Júlia Silveira Broquá  
Luciano Pighinelli  
Magda Comoretto Gall  
Jader Figueiredo  
Giovani André Piva  
Lucas Eduardo Lopes  
Machado, Pamela Persson  
Anderson Rockenbach  
Renata Pospichil  
Luan Rios Paz  
Fernando Guimarães  
Gabrielle Zanin  
Marzena Kmiec Pighinelli

**DOI 10.22533/at.ed.16619280318**



**CAPÍTULO 19 ..... 192**

*PORPHYROMONAS GINGIVALIS* NA PERIODONTITE: POR QUE ESTUDAR SEUS FATORES DE VIRULÊNCIA COM FERRAMENTAS *IN SILICO*?

Ellen Karla Nobre dos Santos-Lima  
Larissa de Mattos Oliveira  
Michelle Miranda Lopes Falcão  
Manoelito Coelho dos Santos Junior  
Márcia Tosta Xavier  
Soraya Castro Trindade

**DOI 10.22533/at.ed.16619280319**

**CAPÍTULO 20 ..... 211**

PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE BIOSURFACTANTES PRODUZIDOS POR *Bacillus subtilis* A PARTIR DO EXTRATO AQUOSO DA ALGAROBA [*Prosopis juliflora* (SW) DC] COMO SUBSTRATO NÃO CONVENCIONAL

Adrielly Silva Albuquerque de Andrade  
Emanuele Cardoso Dias  
Napoleão José de Oliveira Neto  
Graciana Clécia Dantas  
Adna Cristina Barbosa de Sousa  
Andréa Farias de Almeida

**DOI 10.22533/at.ed.16619280320**

**CAPÍTULO 21 ..... 224**

SUPLEMENTAÇÃO COM DIFERENTES NUTRACÊUTICOS ATENUA PARÂMETROS COMPORTAMENTAIS CARACTERÍSTICOS DO TRANSTORNO DO ESPECTRO AUTISTA

Ana Olívia Martins Laurentino  
Naiana da Rosa  
Tamires Mateus Gomes  
Eduardo de Medeiros Peretti  
Fabiana Durante de Medeiros  
Jucélia Jeremias Fortunato

**DOI 10.22533/at.ed.16619280321**

**CAPÍTULO 22 ..... 231**

USO DO EXTRATO DE *Ganoderma lucidum* NO CONTROLE DA MANCHA FOLIAR EM PLANTAS DE CEVADA PROTEGENDO O MEIO AMBIENTE

Ricardo Zanirato da Costa Fernandes  
Lorena de Cássia Barboza Pires  
Jessica Pojato da Silva  
Joseanne Meira Cambuí  
Edgar Matias Bach Hi  
Vinicius de Oliveira Cardoso  
Erna Elisabeth Bach

**DOI 10.22533/at.ed.16619280322**

**SOBRE OS ORGANIZADORES..... 239**

## DESENVOLVIMENTO DE MICROPARTÍCULAS DE ALGINATO DE CÁLCIO PARA IMOBILIZAÇÃO DE *Chlorella vulgaris*

### Felipe de Albuquerque Santos

Universidade Tecnológica Federal do Paraná,  
Ponta Grossa – Paraná

### Eduardo Bittencourt Sydney

Universidade Tecnológica Federal do Paraná,  
Ponta Grossa – Paraná

### Alessandra Cristine Novak Sydney

Universidade Tecnológica Federal do Paraná,  
Ponta Grossa – Paraná

**RESUMO:** A microalga *Chlorella vulgaris* é amplamente estudada e comercializada. Os custos de produção de microalgas devem ser continuamente reduzidos, visando aumentar a sua competitividade. O objetivo do presente estudo foi analisar a viabilidade de crescimento da microalga *Chlorella vulgaris*, aspirando diminuir os custos com a recuperação das suas células, que poderiam ser simplesmente filtradas ao invés de centrifugadas (método convencional). Uma das alternativas para recuperação das células é o método de imobilização celular. Dentre os métodos de imobilização, o método de gelificação iônica é baseado no gotejamento de alginato de sódio sobre solução de cloreto de cálcio, formando alginato de cálcio, que produz uma estrutura em rede tridimensional. A estabilidade, rigidez e esfericidade adequadas das partículas são condições fundamentais para o fluxo de nutrientes entre o meio e as células.

O procedimento foi realizado em fluxo laminar com uma bomba peristáltica a 31 rpm, com saída da solução para gotejamento por ponteira de micropipeta de 200 $\mu$ L, inclinada 45° sobre a solução de cloreto de cálcio 125mM, e fluxo de ar proveniente do biorreator com vazão de 10L. min<sup>-1</sup>. Depois de encapsuladas, as partículas obtidas foram colocadas em frasco Erlenmeyer contendo meio de cultivo (MBM – Meio Bristol modificado), e outro frasco, contendo apenas células livres e meio de cultivo, foi utilizado como controle. Os cultivos foram mantidos a 25°C, em fotoperíodo 12h:12h durante 7 dias. O desenvolvimento de micropartículas para imobilização de *Chlorella vulgaris* possibilita estudos sobre a aplicação da mesma no tratamento de resíduos, suplementação alimentar e produção de energia.

**PALAVRAS-CHAVE:** Imobilização, *Chlorella vulgaris*, Downstream.

**ABSTRACT:** The microalgae *Chlorella vulgaris* is widely studied and commercialized. The costs of producing microalgae should be continuously reduced in order to increase their competitiveness. The objective of the present study was to analyse the viability of growth of the microalga *Chlorella vulgaris*, in order to reduce the costs of recovering its cells, which could be simply filtered instead of centrifuged (conventional method). One of the alternatives

for cell recovery is the cell immobilization method. Among the immobilization methods, the ionic gelling method is based on the drip of sodium alginate on calcium chloride solution, forming calcium alginate, which produces a three-dimensional network structure. Suitable stability, stiffness and sphericity of the particles are fundamental conditions for the flow of nutrients between the medium and the cells. The procedure was carried out in laminar flow with a peristaltic pump at 31 rpm, with solution outlet for dripping by a micropipette tip of 200 $\mu$ L, inclined 45° on the solution of calcium chloride 125mM, and air flow from the bioreactor at 10 L.min<sup>-1</sup>. After encapsulation, the obtained particles were placed in a flask containing culture medium (MBM), and another flask, containing only free cells and culture medium, was used as a control. Cultures were maintained at 25°C, in photoperiod 12h: 12h for 7 days. The development of microparticles for immobilization of *Chlorella vulgaris* enables studies on its application in waste treatment, food supplementation and energy production.

**KEYWORDS:** Immobilization, *Chlorella vulgaris*, Downstream.

## 1 | INTRODUÇÃO

A biotecnologia consiste em um vasto campo que estuda a utilização de sistemas e constituintes celulares para serem aplicados na indústria e, posteriormente, em produtos do cotidiano das pessoas. Dessa maneira, torna-se um ramo essencial no desenvolvimento econômico<sup>1</sup>.

Acada dia que passa, aumenta-se a necessidade do uso de ativos biotecnológicos para diversos fins, seja para tratamento de efluentes, fixação de CO<sub>2</sub> proveniente de termoelétricas, produção de biocombustíveis, suplementos nutritivos, utilização de microrganismos geneticamente modificados, dentre outros. Porém, esses ativos são muitas vezes perdidos durante os processos, ou então têm baixo reaproveitamento devido às dificuldades de se trabalhar com os microrganismos livres. Devido a esse fato, busca-se novos meios de reutilizar os ativos biotecnológicos e, por isso, é necessário desenvolver e aplicar técnicas eficazes de reaproveitamento desses ativos, sem que haja danos aos mesmos.

Dentre os ativos biotecnológicos em evidência atualmente, encontra-se a microalga *Chlorella vulgaris*. Possui alto potencial econômico, pois é utilizada para produção de suplementos alimentares ricos em ferro e no tratamento de resíduos abundantes em nitrogênio e fósforo. Particularmente, a *Chlorella vulgaris* é uma espécie unicelular de água doce pertencente à classe *Chlorophyceae*, ordem *Chlorococcales* e família *Oocystaceae*. Pode acumular pigmentos como clorofila a e b,  $\beta$ -caroteno e xantofilas<sup>2</sup>. Visto que a microalga em estudo é amplamente comercializada, um dos grandes desafios é reduzir os custos de sua obtenção para aumentar sua competitividade no mercado.

O método tradicional de obtenção *Chlorella vulgaris* é por meio da centrifugação. Entretanto, esse é um método relativamente dispendioso. Além disso, apresenta

reaproveitamento baixo, pois há perda de biomassa durante o processo.

Um dos meios alternativos de obtenção e reaproveitamento da *Chlorella vulgaris* é através da imobilização celular. O processo de imobilização é caracterizado pela restrição da mobilidade do ativo em um espaço confinado, suportando assim altas concentrações celulares, implicando em maiores velocidades de processamento <sup>3</sup>. Algumas vantagens da imobilização celular são a eliminação do uso de métodos de ciclos externos para obtenção do ativo, possibilitando, por exemplo, ciclos simples como a filtração. Além disso, há maior proteção das células de estresse ambiental, como altas concentrações de pH, substrato e cisalhamento <sup>4</sup>. A imobilização de células consiste no contato entre o material imobilizador e as células vivas, sob condições controladas. Existem basicamente três métodos de imobilização celular: adsorção, ligação covalente e envolvimento.

Devido ao baixo custo e menor complexidade, o método de imobilização mais utilizado é por envolvimento. Este método fundamenta-se no princípio de gotejamento de uma solução polimérica acrescida de células vivas sobre uma solução de  $\text{CaCl}_2$  <sup>4</sup>.

Dentre as soluções poliméricas, também chamadas de suporte, encontra-se o alginato. O alginato é um polímero natural e, atualmente, um dos mais utilizados para encapsulamento de células vivas. Não possui toxicidade, é biocompatível e apresenta elevada resistência mecânica <sup>5</sup>. O alginato comercial é extraído de algas marrons, principalmente de diferentes espécies do gênero *Laminaria* (*L. hyperborea*, *L. digitata*, *L. japonica*) e do gênero *Sargassum* (*Macrocystis pyrifera*, *Ascophillum nodosum*, *Lesonia negrescens*). O alginato de sódio é um polímero linear composto por ácido  $\beta$ -D-manurônico (M) e ácido  $\alpha$ -L-gulorônico (G). M e G são as unidades monoméricas. Os monômeros se agrupam em séries de MM, GG e MG <sup>6</sup>.

Quando a solução de alginato contendo células de *Chlorella vulgaris* cai sobre a solução de  $\text{CaCl}_2$ , formam-se gotas insolúveis em água e de alta viscosidade. Apesar disso, as condições de sobrevivência do ativo imobilizado são mantidas, visto que há o fluxo de substâncias e a conservação metabólica <sup>7</sup>.

Quando as estruturas gulorônicas reagem com íons  $\text{Ca}^{2+}$ , forma-se uma espécie de caixa de ovos. Essa espécie de “egg-box” foi assim denominada por Grant, seu descobridor <sup>8</sup>. O alginato modifica sua forma linear ao reagir com íons cálcio divalentes, gerando uma rede tridimensional, ampliando a possibilidade de mais íons cálcio reagirem com o alginato, formando estruturas cada vez mais complexas, assim como representado na figura 1.

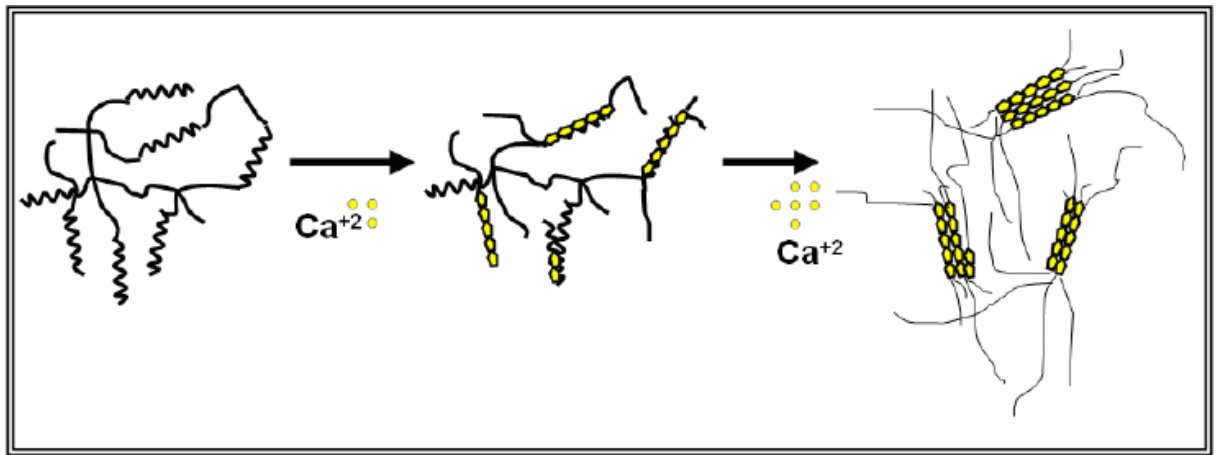


Figura 1. Modelo “egg-box” do alginato.

Fonte: Bressel, 2007.

Entretanto, sabe-se que quanto menor a partícula, mais organizada torna-se essa estrutura tridimensional <sup>9</sup>. Portanto, há melhor fluxo de nutrientes do meio de cultura para as células e maior sobrevivência das mesmas. Daí decorre a importância em desenvolver micropartículas capazes de assegurar o crescimento celular, uma vez que a faixa de tamanhos de micropartículas oscila de  $1\mu\text{m}$  a  $999\mu\text{m}$  <sup>10</sup>.

O desenvolvimento de micropartículas não é simples, visto que a solução de alginato acrescida de células é altamente viscosa, além do que, requer materiais sofisticados e caros. Portanto, adaptou-se um sistema gerador de micropartículas utilizado em uma tese de doutorado da UFRGS <sup>6</sup>, com algumas modificações a fim de produzir micropartículas para imobilizar a microalga *Chlorella vulgaris*.

Com o intuito de desenvolver micropartículas estáveis e uniformes, vários fatores precisam ser levados em consideração, como: concentração do alginato, altura de gotejamento, diâmetro da ponteira, fluxo de gotejamento da bomba peristáltica <sup>11</sup>. O fluxo de ar constante é outro fator que influencia na formação de micropartículas <sup>6</sup>.

O objetivo principal desse estudo é desenvolver partículas de alginato de cálcio entre  $1\mu\text{m}$  a  $999\mu\text{m}$  capazes de permitirem o desenvolvimento celular da microalga *Chlorella vulgaris*. Os objetivos particulares do estudo são: propor uma altura de gotejamento adequada para formação de partículas esféricas; formular, baseado na literatura, a concentração ideal da mistura alginato de sódio e cloreto de cálcio para formar esferas rígidas; demonstrar o crescimento do cultivo do ativo imobilizado.

## 2 | MATERIAIS E MÉTODOS

A pesquisa foi realizada no laboratório de Fermentações na Universidade Tecnológica Federal do Paraná, câmpus Ponta Grossa.

**Cultivo de cultura de células.** As células da microalga *Chlorella vulgaris* foram cultivadas em MBM (Meio Bristol Modificado) à temperatura de  $25\pm 1^\circ\text{C}$ , sob iluminação de 2 lâmpadas fluorescentes de 15W, fluxo luminoso de 788,8 lux cada, em uma sala

do laboratório de Fermentações da UTFPR, câmpus Ponta Grossa em um erlenmeyer de 6L.

**Centrifugação das células de *Chlorella vulgaris*.** No fluxo laminar, foi retirada uma alíquota de 800mL de um Erlenmeyer contendo 6L do cultivo de cultura inicial. Essa alíquota foi distribuída em 16 tubos Falcon e centrifugada a 5000 rpm durante 30 minutos. Esse método foi baseado na literatura, com a diferença no tempo de centrifugação<sup>12</sup>. Descartou-se o sobrenadante, deixando 12,5mL em cada tubo Falcon. De cada tubo, retirou-se uma amostra de 6,25mL para adicionar na solução de 100mL de alginato 3%, totalizando uma solução de alginato acrescida do ativo 1,5%. Ainda foram misturados 6,25mL restantes do ativo de cada tubo Falcon a 100mL de água destilada. Dessa maneira, preparou-se a solução para produzir micropartículas e a solução de controle.

**Preparação de micropartículas com *Chlorella vulgaris* imobilizada.** No fluxo laminar, foi montado um sistema contendo uma solução 1,5% de alginato acrescida de células de *Chlorella vulgaris* à uma altura de 33cm que passava pela mangueira da bomba peristáltica à 31rpm e caía sobre uma solução de  $\text{CaCl}_2$  125mM, através de uma ponteira de micropipeta 200 $\mu\text{L}$  inclinada a 45° e inserida dentro do tubo de fluxo de ar proveniente do biorreator. A distância da mangueira proveniente do biorreator até o béquer contendo a solução de  $\text{CaCl}_2$  é de 1,5m. A altura da seringa até a superfície da solução de  $\text{CaCl}_2$  foi de 3cm. O esquema do sistema foi baseado na literatura<sup>6</sup> e está representado na figura 2. A montagem do sistema está apresentado na figura 3.

As microalgas encapsuladas foram deixadas em banho iônico ( $\text{CaCl}_2$ ) por 30 minutos para cura<sup>13</sup>. Posteriormente, as micropartículas foram filtradas com peneira metálica, lavadas com água destilada para remover  $\text{CaCl}_2$  não-ligado e colocadas em 750mL de MBM.

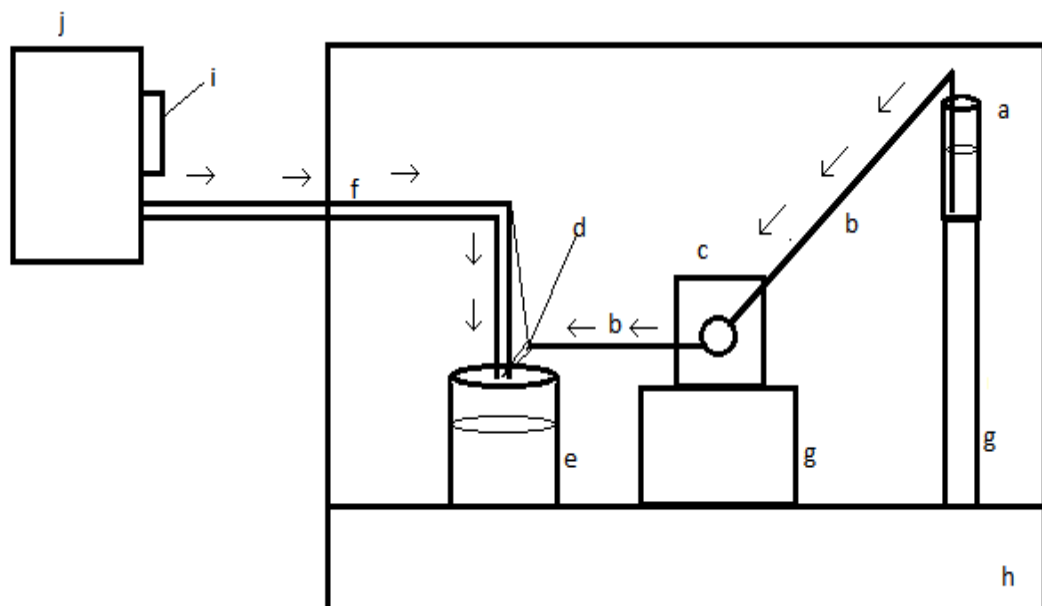


Figura. 2. Sistema gerador de micropartículas. a) Solução de alginato de sódio acrescida de *Chlorella vulgaris* (1,5%). b) Mangueira da bomba peristáltica. c) Bomba peristáltica Watson-

Marlow modelo 120S. d) Ponteira de micropipeta 200 $\mu$ L. e) Solução de CaCl<sub>2</sub> 125mM. f) Mangueira de 1,5m provinda do biorreator. g) Suportes auxiliares. h) Câmara de fluxo laminar. i) Rotâmetro. j) Biorreator.

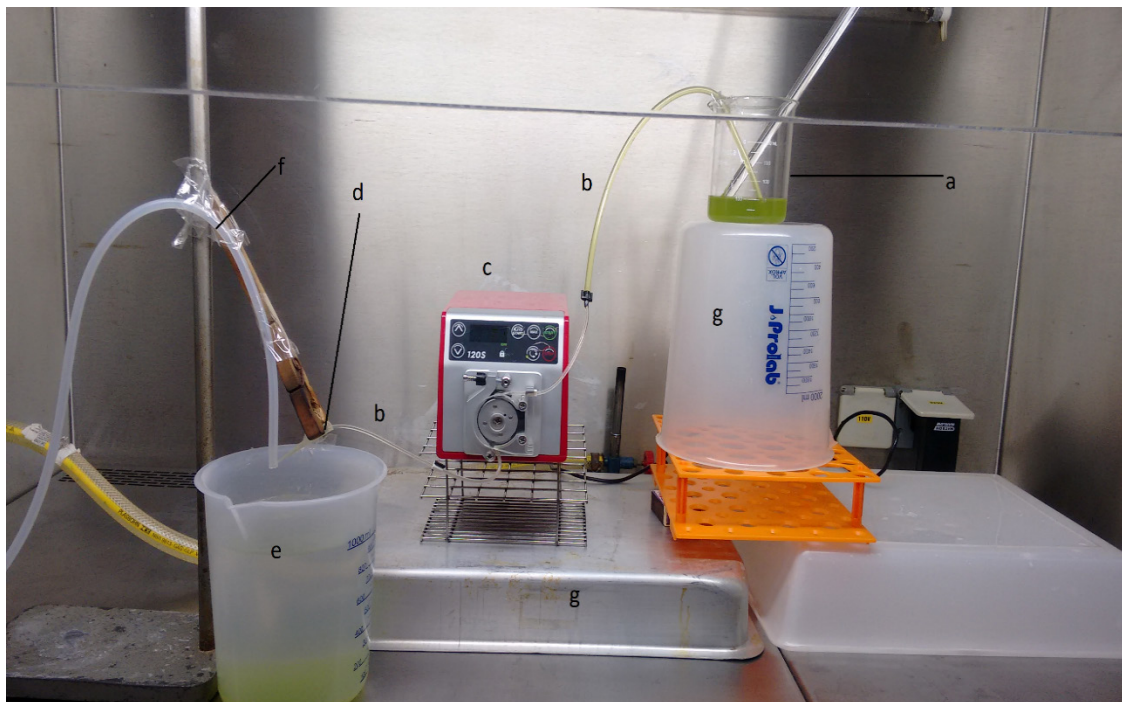


Figura 3. Montagem do sistema gerador de micropartículas.

**Cultivo das micropartículas imobilizadas e da solução de controle.** As micropartículas foram filtradas com auxílio de uma peneira metálica autoclavada e colocadas em um Erlenmeyer contendo 750mL de MBM. A solução de controle (100mL de células livres + 100mL de água destilada) foi adicionada em outro Erlenmeyer contendo 750mL de MBM. Ambas as amostras foram expostas às mesmas condições: temperatura de  $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ , sob iluminação de 2 lâmpadas fluorescentes de 15W, fluxo luminoso de 788,8 lux cada, em uma sala do laboratório de Fermentações da UTFPR, câmpus Ponta Grossa.

**Redissolução das micropartículas.** As células de *Chlorella vulgaris* imobilizadas foram redissolvidas com citrato de sódio 50mM<sup>9</sup> e centrifugadas durante 30 minutos à 5000rpm para posterior realização de contagem do número de células.

**Contagem do número de células.** A contagem de células foi realizada na Câmara de Neubauer através do microscópio óptico com aumento final de 400x durante 7 dias.

**Medição do tamanho das micropartículas.** A medição do diâmetro médio das partículas foi feita com o auxílio de um micrômetro digital Western MC-3.

### 3 | RESULTADOS E DISCUSSÕES

Para realizar a imobilização da microalga, baseou-se no sistema gerador de microcápsulas da fig. 2, porém com algumas mudanças.

O sistema montado na literatura<sup>6</sup> propõe a altura do suporte 50cm acima da bomba peristáltica. No presente estudo, posicionou-se o copo de béquer contendo

alginate de sódio acrescido de *Chlorella vulgaris* à uma altura de 33cm acima da bomba peristáltica, devido às limitações físicas da câmara de fluxo laminar. Entretanto, verificou-se um fluxo constante da solução até a bomba peristáltica.

Outra mudança foi a ponteira de gotejamento. A literatura sugere a utilização de agulhas de 22G (0,7mm) <sup>14</sup> à 25G (0,5mm) <sup>6</sup>. No entanto, notou-se que a utilização de uma ponteira autoclavada de micropipeta de 200 $\mu$ L deixaria o sistema mais rígido e com a mesma eficiência do uso de uma agulha, pois o diâmetro da ponteira usada foi de 0,65mm, estando dentro dos diâmetros sugeridos pela literatura.

No sistema proposto por <sup>6</sup>, utilizou-se um cilindro de ar comprimido conectado a uma agulha com distância de 80cm entre esses. Neste estudo, utilizou-se fluxo de ar proveniente do biorreator disponível no laboratório de Fermentações da UTFPR - câmpus Ponta Grossa, com uma distância de saída da mangueira do biorreator até o local de gotejamento de 150cm.

Foram realizados alguns testes experimentais para analisar as melhores condições de formação de micropartículas esféricas e estáveis. Para propósitos práticos, considera-se que micropartículas rígidas são indicadas para imobilização de células vivas <sup>7</sup>. A necessidade de produzir micropartículas esféricas e estáveis reside no fato de que há melhor distribuição de células e melhor difusão de oxigênio. Quando não há distribuição uniforme de oxigênio, as células da superfície migram para o meio externo, ocasionando o rompimento da matriz <sup>15</sup>.

Sabe-se que a altura da ponteira até a superfície da solução de CaCl<sub>2</sub> influencia no formato da partícula <sup>16</sup>. Foram realizadas três tentativas de alturas diferentes para definir a micropartícula mais esférica.

A tabela 1 apresenta a esfericidade das partículas de acordo com a altura de gotejamento (desde a extremidade da ponteira até a superfície da solução de CaCl<sub>2</sub>).

Altura de gotejamento (cm)	Esfericidade
7	Partícula achatada
5	Partícula com cauda
3	Partícula esférica

Tabela 1. Esfericidade da micropartícula em função da altura do bico gotejador.

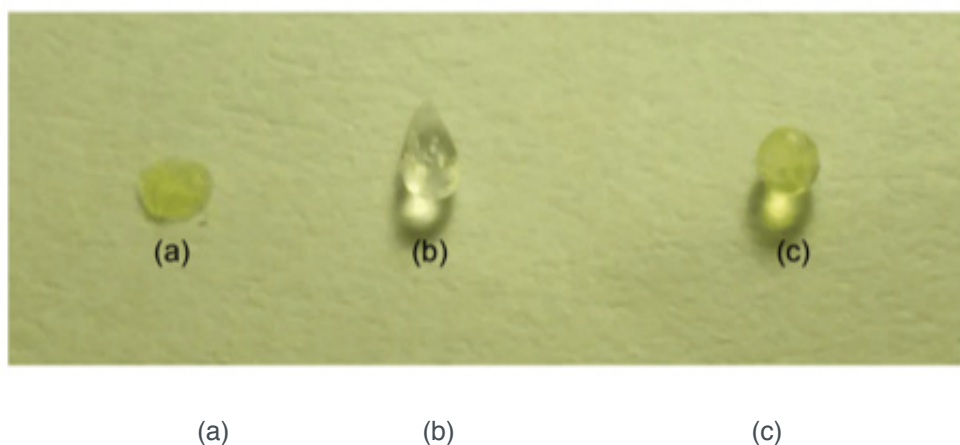




Figura. 4. Micropartículas com diferentes alturas de gotejamento: (a) com altura de 7cm; (b) com altura de 5cm; (c) com altura de 3cm.

A micropartícula (b) da figura 4 foi produzida sem microalga imobilizada para melhor representação da cauda produzida. Os resultados demonstram que quanto maior a altura da ponteira, mais irregular o formato da micropartícula. Isso pode ser explicado pelo fato de que quanto maior a altura, maior a velocidade de impacto da gota com a superfície de  $\text{CaCl}_2$  <sup>16</sup>.

No presente estudo, a esfericidade ideal da micropartícula foi encontrada a uma altura de 3cm desde a ponteira até a superfície da solução de  $\text{CaCl}_2$ .

O fluxo da bomba peristáltica é outro fator influencia diretamente no formato das micropartículas <sup>16</sup>. Quanto maior o fluxo da bomba peristáltica, mais irregulares se tornam as micropartículas <sup>13</sup>. Foram realizados testes anteriores e decidiu-se utilizar o fluxo constante de  $140 \text{ mL.h}^{-1}$  na bomba peristáltica como uma média dos fluxos sugeridos por <sup>13</sup>. Intercalou-se diferentes fluxos de ar provenientes do biorreator para analisar a esfericidade das micropartículas.

A tabela 2 mostra as combinações testadas do fluxo de ar e fluxo da bomba peristáltica.

Fluxo de ar ( $\text{L.min}^{-1}$ )	Fluxo da bomba peristáltica ( $\text{mL.h}^{-1}$ )	Esfericidade das micropartículas
8,0	140	Micropartículas com cauda
8,5	140	Micropartículas com cauda
9,0	140	Micropartículas com leve formato de gota
9,5	140	Micropartículas com leve formato de gota
10,0	140	Micropartículas esféricas

Tabela 2. Relação do fluxo de ar e da bomba peristáltica com a esfericidade das micropartículas.

A literatura sugere testar fluxos de ar de até  $15 \text{ L.min}^{-1}$  <sup>13</sup>, porém o biorreator utilizado neste estudo tem um fluxo de ar máximo de  $10 \text{ L.min}^{-1}$ . Portanto, não foram testadas vazões volumétricas acima desse valor.

O fluxo constante de  $140 \text{ mL.h}^{-1}$  foi utilizado porque notou-se que ao aumentar o fluxo da bomba peristáltica acima de  $140 \text{ mL.h}^{-1}$ , as partículas começaram a assumir formato achatado e irregular. Além disso, pelo esquema proposto, ao ultrapassar a vazão de  $140 \text{ mL.h}^{-1}$ , começa-se respingar alginato no tubo de fluxo de ar. Isso pode ocasionar a secagem e acúmulo do alginato na saída do tubo durante o tempo de produção das micropartículas, ocasionando diferenças significativas no tamanho e na forma das mesmas.

Outro ponto fundamental a ser analisado para obtenção de partículas esféricas e rígidas foi a utilização de diferentes combinações de concentrações de alginato

de sódio e cloreto de cálcio <sup>16</sup>. Concentrações de alginato de 1% até 4% em água são sugeridas e para CaCl<sub>2</sub> concentrações de 0,05M a 0,5M <sup>4</sup>. Decidiu-se fixar a concentração de 125mM para o CaCl<sub>2</sub> e testar diferentes concentrações de alginato de sódio. A resistência das micropartículas consta na Tabela 3.

Concentração de Alg. De sódio (%)	Concentração de Cloreto de Cálcio (M)	Resistência
1%	0,125	Micropartículas muito frágeis
2%	0,125	Micropartículas Estáveis
3%	0,125	Micropartículas resistentes

Tabela 3. Combinações de concentração de Alginato de sódio e Cloreto de Cálcio.

Três soluções distintas de alginato 1%, 2% e 3% foram preparadas e deixadas em três Erlenmeyer distintos contendo NaCl 5% durante 10 dias. Notou-se que as micropartículas contendo alginato 1% e 2% rompiam-se mais facilmente do que a solução de alginato 3% ao aplicar pressão mecânica. Isso se deve ao fato de que concentrações mais elevadas de alginato tornam a micropartícula mais rígida devido à formação de redes tridimensionais mais complexas <sup>17</sup>.

Retirou-se uma amostra com 100 micropartículas. Realizou-se uma média aritmética, que resultou no diâmetro médio de 890µm.

Para comprovar a eficácia da técnica de imobilização, foram realizadas contagens diárias de células durante 7 dias. Foram contadas células das micropartículas, células da microalga livre e possíveis células do meio de cultivo ao qual estavam inseridas as micropartículas.

O gráfico comparativo da concentração de células pelo tempo da microalga imobilizada com a microalga livre está expresso logo abaixo na Figura 5.

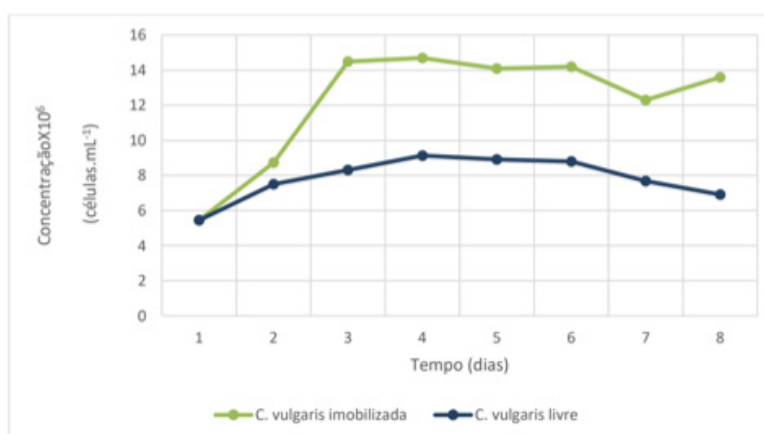


Figura. 5. Gráfico comparativo da microalga imobilizada com a microalga livre.

Nota-se através da Figura 5 que a partir do mesmo inóculo, as microalgas imobilizadas apresentaram maior crescimento celular em relação às microalgas livres. No último dia de contagem, as microalgas imobilizadas apresentaram valor de 1,36 x

$10^7$  células.mL<sup>-1</sup>, enquanto que na contagem das microalgas livres foram contabilizadas  $6,91 \times 10^6$  células.mL<sup>-1</sup>. Esse fato corrobora a transferência adequada de nutrientes e de oxigênio do meio para as micropartículas.

Além disso, foi analisado macro e microscopicamente o meio de cultivo das células imobilizadas, e não foi constatada nenhuma célula livre, o que evidencia que as partículas de alginato aprisionaram corretamente as células, não permitindo o seu escape pelos poros.

O pH ideal de crescimento da microalga *Chlorella vulgaris* fica em torno de 5,5 a 8,0 e qualquer mudança afeta diretamente na sua curva de crescimento<sup>2</sup>. O pH medido do meio de cultivo foi 7,0. O resultado da curva seguiu a tendência de crescimento da microalga *Chlorella vulgaris* inserida em um meio com esse pH.

## 4 | CONCLUSÕES

De maneira geral, as micropartículas produzidas obtiveram o tamanho de diâmetro médio de  $890\mu\text{m}$ , estando dentro da faixa de  $1\mu\text{m}$  a  $999\mu\text{m}$ . A busca de uma concentração de alginato e cloreto de cálcio, além de uma altura de gotejamento ideal, permitiram a formação de micropartículas esféricas e rígidas e proporcionaram o correto crescimento da microalga. A comprovação desse fato está no crescimento da microalga imobilizada.

O método de imobilização da microalga *Chlorella vulgaris* foi eficaz para sua obtenção e reutilização, visto que as micropartículas puderam ser facilmente peneiradas sem custos além dos materiais utilizados. Nessa perspectiva, o uso deste método propicia a aplicação da microalga imobilizada para fins de tratamento de resíduos, nutricionais, produção de energia, dentre outros, com custos mais baixos, pois o custo de obtenção e reutilização do microrganismo é significativamente menor.

## REFERÊNCIAS

1 BORZANI, W.; SCHMIDELL, W; LIMA, U.A.; AQUARONE, E. **Biotecnologia Industrial: Fundamentos**. V.1. São Paulo: Edgard Blücher, 2001.

2 **Avaliação do crescimento da *Chlorella vulgaris* em diferentes pH objetivando sua inserção na matéria-prima do biodiesel**. XVII Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão. Universidade Federal Rural de Pernambuco. 2017.

3 GUISAN, J. M. **Immobilization of Ezymes and Cells**. Totowa: Humana Press: p.1-13. 2006.

4 BORZANI, W.; SCHMIDELL, W; LIMA, U.A.; AQUARONE, E. **Biotecnologia Industrial: Fundamentos**. V.2. São Paulo: Edgard Blücher, 2001.

5 LIMA, A. M. F.; ANDREANI, L.; SOLDI, V. **Influência da adição de plastificante e do processo de reticulação na morfologia, absorção de água e propriedades mecânicas de filmes de alginato de sódio**. Química Nova, v. 30, No. 4, p. 832-837, 2007.

- 6 BRESSEL, T.A.B. **Sistema gerador de microcápsulas de alginato. Tese de Doutorado em Genética e Biologia Molecular** – UFRGS. Porto Alegre, p. 56, 2007.
- 7 MARTINSEN, A.; SKJÄK-BRAEK, G.; SMIDSRØD, O. **Alginate as immobilization material: I. Correlation between chemical and physical properties of alginate gel beads.** *Biotechnology and Bioengineering*, v. 33, p. 79 – 89, 1989.
- 8 GRANT, G.T.; MORRIS, E.R.; REES, D.A.; SMITH, P.J.C.; THOM, D.. **Biological interactions between polysaccharides and divalent cations: The egg-box model.** *FEBS Letters*, v. 32, p. 195-198, 1973.
- 9 SIMPSON, N. E.; GRANT, S. C.; BLACKBAND, S. J.; CONSTANTINIDIS I. **NMR properties of alginate microbeads.** *Biomaterials*, v. 24, p. 4941-4948, 2003.
- 10 DIAS, J. A. C. **Nanopartículas poliméricas com aplicação na administração pulmonar de proteínas.** Dissertação em Ciências Farmacêuticas – Universidade do Algarve. Faro, p. 20, 2013.
- 11 FUNDUEANU, G., NASTRUZZI, C., CARPOV, A., DESBRIERES, J., RINAUTO, M.. **Physico-chemical characterization of Ca-alginate microparticles produced with different methods.** *Biomaterials*, v. 20, p. 1427-1435, 1999.
- 12 MARCON, A. E. **Remoção de coliformes fecais com microalgas (*Chlorella*) imobilizadas em matriz de alginato de cálcio.** Dissertação em Engenharia Sanitária – UFRN. Natal, p. 31, 2005.
- 13 COSTA, B. S. **Micropartículas produzidas por gelificação iônica recobertas com gelatina de peixe e isolado proteico de soja.** Dissertação em Engenharia de Alimentos – UNICAMP. Campinas, p. 49, 2014.
- 14 **Esferas (Beads) de Alginato como Agente Encapsulante de Óleo de *Croton zehntneri* Pax et Hoffm.** *Polímeros*, vol. 20, nº 2, p. 112-120, 2010.
- 15 GIESE, E. C. **Potencial Biotecnológico do Uso de Micro-organismos Imobilizados em Gel de Alginato de Cálcio.** CETEM/MCTI : Rio de Janeiro, 2015.
- 16 TEIXEIRA, V. F. T. **Estudo da obtenção de biocatalisadores com matrizes de alginato de cálcio visando a produção de biodiesel.** Dissertação em Ciências e Tecnologias Agropecuárias – UENF. Campos dos Goytacazes, p.15, 2011.
- 17 ZIMMERMANN, A. L. S. **Desenvolvimento e avaliação de micropartículas contendo microrganismos viáveis utilizados como bioinseticida.** Tese de doutorado em Produção e Controle Farmacêuticos – USP. São Paulo, p.14, 2001.

Agência Brasileira do ISBN  
ISBN 978-85-7247-216-6

