XXV Congresso de Iniciação Científica da Unicamp

18 a 20 Outubro Campinas | Brasil

Métodos de recuperação de micropartículas de alginato obtidas por microfluídica de gotas.

Renata R. B. Barreto

Resumo

Micropartículas de alginato de cálcio foram produzidas através da microfluídica de gotas com a finalidade de imobilizar biocatalisadores. Identificou-se que as condições que produzem micropartículas mais resistentes com poros que permitem a passagem de nutrientes envolvem o emprego de solução de cloreto de cálcio a 30 e 40 mM e fase contínua com tensoativo PGPR 4% (m/m). Posteriormente, métodos de recuperação por centrifugação e filtração por membrana hidrofílica foram analisados visando a melhor separação da fase oleosa que mantém a integridade da microcápsula.

Palavras-chave:

Microfluídica, bioprocessos, recuperação.

Introdução

Em bioprocessos, a alta produtividade está diretamente relacionada às condições adequadas para o crescimento e metabolismo microbiano e/ou atividade enzimática¹. Com isso, estratégias que permitem a proteção de biocatalisadores tornam-se interessantes para aplicações industriais¹.

Nesse contexto, a microfluídica de gotas como técnica de imobilização de biocatalisadores surge como uma alternativa promissora. As micropartículas poliméricas monodispersas são geradas em microcanais podendo então ser utilizadas como material para a encapsulação de biocatalisadores³. Dentre os polímeros que podem ser empregados, destaca-se o alginato devido ao seu baixo custo².

Contudo, a formação de micropartículas de alginato dentro do sistema microfluídico consiste num processo de emulsão, em que uma fase oleosa promove a formação das micropartículas. Para que não haja prejuízos quanto à passagem de nutrientes e produtos através dos poros da micropartícula, faz-se necessária a separação da fase oleosa². Desta forma, a busca de diferentes métodos de separação mantendo a integridade do material biológico a ser encapsulado é um desafio a ser explorado.

Resultados e Discussão

Foram produzidas micropartículas de alginato de cálcio em sistema microfluídico de gotas. A fase dispersa que compõe as gotas foi formada por uma solução de alginato de sódio (2% m/v), suspensão celular e solução de cloreto de cálcio a 30, 40, 50 e 100 mM. A fase contínua foi composta por óleo de milho contendo tensoativo Span 80 2% (m/m) e, posteriormente, poliglicerol polirricinoleato (PGPR) a 4% (m/m).

Primeiramente foi estudado a melhor composição de microcápsula que evita a quebra das partículas e permite a passagem de nutrientes através dos poros, ambos afetados pela escolha do tensoativo e concentração do cloreto de cálcio. Para isso, foram investigadas propriedades da partícula através da redução de volume, resistência mecânica e estabilidade da emulsão. Os melhores resultados indicam que a produção deve ser feita com uma solução de cloreto de cálcio de 30 ou 40 mM e emprego do tensoativo PGPR.

Micropartículas de diâmetro médio de 100 μm foram produzidas após a definição da composição ideal da micropartícula. Posteriormente, métodos de separação da fase oleosa foram estudados.

Método de centrifugação: As micropartículas foram centrifugadas a uma temperatura de 26°C por 2 min com uma rotação de 500 min^{-1} . A cada centrifugação, a fase oleosa era retirada e água destilada era adicionada. De forma geral, observa-se que não há preservação da integridade da micropartícula, ou seja, a polidispersidade aumenta conforme as etapas de centrifugação avançam. Esse comportamento segue o esperado, uma vez que micropartículas vizinhas colidem devido à força centrífuga e quebram devido às colisões com a parede e com outras micropartículas. Sendo assim, esse método não é satisfatório pois não forma micropartículas monodispersas de alginato de cálcio para encapsulação celular.

Método de separação por membrana hidrofílica: Micropartículas polidispersas produzidas com CaCl_2 30 mM foram filtradas usando apenas força gravitacional. Após 1h de filtração a membrana hidrofílica de diâmetro 0.22 μm permitiu a passagem de grande parte do óleo anteriormente impregnado na micropartícula devido a sua característica hidrofílica. Além disso, como não há forças externas que sejam capazes de romper a micropartícula possivelmente a monodispersidade da micropartícula se mantém.

Conclusões

Para a produção das micropartículas através da microfluídica de gotas, os melhores resultados indicam que deve-se empregar uma solução de cloreto de cálcio de 30 ou 40 mM e o tensoativo PGPR a 4% (m/m).

Em relação aos métodos de separação da fase oleosa, o método de separação por membrana hidrofílica mostrou-se superior ao método de centrifugação pois manteve a integridade da partícula e possivelmente mantém sua monodispersidade.

¹ ZHU, Y. Immobilized Cell Fermentation for Production and Fuels. Bioprocessing for Value-Added Products from Renewable Resources. Elsevier Ltd, Chapter 14, p. 373-396, 2007.

² TAN, W.H; TAKEUCHI, S. Monodisperse Alginate Hydrogel Microbeads for Cell Encapsulation. Advanced Materials, v 19, n.18, p. 2696-2701, setembro, 2007

³ TEH, S.Y, et al. Droplet microfluidics. Lab on a chip, v.8, n.2, p.198-220, fevereiro, 2008