

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA**  
**CAMPUS GOVERNADOR VALADARES**  
**MESTRADO PROFISSIONAL EM ENSINO DE BIOLOGIA - PROFBIO**

**Daniel de Lima Ferreira**

**Elaboração de material para aulas práticas voltadas ao ensino de microbiologia  
para alunos do ensino médio**

Governador Valadares  
2019

Daniel de Lima Ferreira

**Elaboração de material para aulas práticas voltadas ao ensino de microbiologia para  
alunos do ensino médio**

Dissertação apresentada ao Programa Nacional de Mestrado Profissional em Ensino de Biologia da Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF - Instituição Associada), campus Governador Valadares, e da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG – Instituição sede) para a obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Nagem Valério de Oliveira

Co-orientadora: Prof<sup>fa</sup>. Dr<sup>a</sup> Lívia Tavares Colombo

Governador Valadares

2019

Ficha catalográfica elaborada através do programa de geração automática da Biblioteca Universitária da UFJF, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

de Lima Ferreira, Daniel.

Elaboração de material para aulas práticas voltadas ao ensino de microbiologia para alunos do ensino médio / Daniel de Lima Ferreira. -- 2020.

108 f.

Orientador: Marcelo Nagem Valério de Oliveira

Coorientadora: Livia Tavares Colombo

Dissertação (mestrado profissional) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Universidade Federal de Viçosa, Instituto de Ciências da Vida - ICV. Programa de Pós-Graduação em Ensino de Biologia em Rede Nacional, 2020.

1. Ensino . 2. Microbiologia. 3. Aulas práticas. 4. Projetos biotecnológicos. I. Nagem Valério de Oliveira, Marcelo , orient. II. Tavares Colombo, Livia, coorient. III. Título.

**Daniel de Lima Ferreira**

**Elaboração de material para aulas práticas voltadas ao ensino de microbiologia para  
alunos do ensino médio**

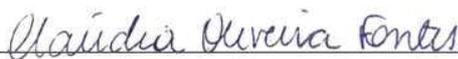
Dissertação apresentada ao PROGRAMA NACIONAL de MESTRADO PROFISSIONAL EM ENSINO DE BIOLOGIA da Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF - Instituição Associada), campus Governador Valadares, e da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG – Instituição sede) para a obtenção do título de Mestre.

Aprovada em 12 de julho de 2019

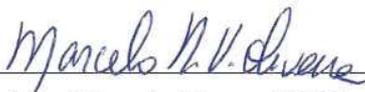
BANCA EXAMINADORA



Dr. Paulo Sérgio Balbino Miguel  
Universidade Federal de Viçosa



Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Cláudia Oliveira Fontes  
Universidade Federal de Juiz de Fora – campus Governador Valadares



Prof. Dr. Marcelo Nagem Valério de Oliveira.  
Universidade Federal de Juiz de Fora – campus Governador Valadares

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço ao diretor pedagógico do colégio Tiradentes, unidade Manhauçu, por ter disponibilizado as dependências do colégio e por apoiar a o projeto desenvolvido. Agradeço aos professores de Biologia, Carlos Leandro de Souza Mendes e Mara Karina de Souza, por contribuírem ministrando aulas teóricas e práticas em laboratório de biologia. Especialmente, agradeço ao professor orientador, Marcelo Nagem Valério de Oliveira, pelo apoio e confiança.

## RESUMO

O distanciamento que existe entre o conteúdo de microbiologia e o cotidiano do corpo discente dificulta a compreensão e visualização da importância dos microrganismos por parte dos alunos. Assim, o objetivo geral deste trabalho foi desenvolver metodologias alternativas funcionais e viáveis financeiramente para o ensino prático de microbiologia nas escolas em nível médio e fundamental. As aulas práticas foram aplicadas no colégio Tiradentes da Polícia militar de Minas Gerais. Os dados obtidos foram analisados e as médias foram comparadas pelo teste Qui-quadrado. Cinco roteiros de aulas práticas foram elaborados sendo que, destes, quatro foram aplicadas. Todas as aulas foram estruturadas contendo embasamento teórico para o professor, detalhamento do desenvolvimento e preparo da aula, e o roteiro para guiar os alunos durante a execução da aula. Nossos resultados evidenciaram que os alunos têm a idéia de que aulas práticas são importantes, mesmo nos grupos que não participaram das práticas de Microbiologia. Visualizamos ganho no desempenho escolar quando comparamos os diferentes grupos, indicando maior imersão dos alunos no assunto abordado utilizando-se a metodologia prática aplicada. Foram desenvolvidos dois projetos biotecnológicos, Vermecompostagem e biodigestor anaeróbico. Segundo relato dos próprios alunos, esta metodologia favorece a visualização de processos biológicos, complementam as aulas teóricas e facilitam a compreensão. O material obtido e exposto nos resultados, exceto o tópico sobre a aplicação dos questionários, representa em um manual de práticas e metodologias fundamentadas que servirá como instrumento norteador para professores que desejem abordar o conteúdo de Microbiologia de maneira prática, sem grandes investimentos.

Palavras-chave: Ensino. Microbiologia. Aulas práticas. Projetos biotecnológicos.

## ABSTRACT

The distance that exists between the microbiology content and the daily life of the student body makes it difficult for students to understand and visualize the importance of microorganisms. Thus, the general objective of this work was to develop functional and financially viable alternative methodologies for practical teaching of microbiology in middle and elementary schools. The practical classes were applied at the Tiradentes College of the Military Police of Minas Gerais. The obtained data were analyzed and the averages were compared by the Chi-square test. Five scripts of practical classes were elaborated and, of these, four were applied. All classes were structured containing theoretical basis for the teacher, detailing the development and preparation of class, and a script to guide students during the execution of the class. Our results showed that students recognized the importance of practical classes, even in groups that did not participate in microbiology practices. We visualized improvements in school performance when comparing the different groups, indicating greater immersion of students in the subject approached using the applied practical methodology. Two biotechnological projects were developed: Vermecomposting and anaerobic biodigester. According to the students' own reports, this methodology favors the visualization of biological processes, complement the theoretical classes and facilitate understanding. The material obtained and exposed in the results, except the topic on the application of the questionnaires, represents a manual of practices and grounded methodologies that will serve as a guiding instrument for teachers who wish to approach the content of microbiology in a practical way, without major investments.

Key-words: microbiology teaching; practical classes; biotechnology projects

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 Representação esquemática do projetor de gotas. A figura mostra como a luz do laser é refratada na gota de modo a formar uma imagem maior e invertida, típica de lentes esféricas. .... 15
- Figura 2 Equipamento montado para a aplicação da aula Laser sobre Gotas. Uma simples garrafa pode ser empregada para apoiar a seringa contendo a amostra de água. Duas janelas devem ser feitas no recipiente de modo a permitir a passagem do feixe luminoso proveniente do laser que irá incidir na gota de água que deve ser mantida na ponta da seringa. .... 16
- Figura 3 Imagem demonstrando a projeção do laser sobre gota. A imagem demonstra microrganismos se movimentando na água. A água foi coletada, mantida na seringa para formar uma gota na qual incidiu o laser verde. 17
- Figura 4 Classificação dos microrganismos quanto à fonte de Carbono e de Energia para o seu crescimento. .... 21
- Figura 5 Foto demonstrando a aplicação da aula sobre Metabolismo Microbiano. Diferentes meios nutritivos podem ser preparados para suportar o crescimento da levedura. Como pode ser visto, um balão foi colocado na abertura de cada tubete. A fermentação será observada por meio do balão, este irá inflar pela pressão dos gases proveniente do processo fermentativo. .... 24
- Figura 6 Foto demonstrando a aplicação da aula sobre Metabolismo Microbiano. O balão inflado é evidência da produção de CO<sub>2</sub> pela fermentação pelas leveduras presentes no meio nutritivo utilizado. O tubo a foi exposto à temperatura ambiente e o balão do tubo b ficou mergulhado em água morna a 37°C. Como evidenciado acima, a temperatura influenciou no resultado, visto que o balão do tubo b inflou em um tempo bem menor quando comparado com o tubo a. .... 24
- Figura 7 Desenvolvimento da aula prática sobre Cultivo de Microrganismos. Foto demonstrando os meios de cultura preparados para a aula sobre Cultivo de Microrganismos. Placas de Petri e recipientes plásticos tipo sobremesa com meio de cultura solidificado prontos para inoculação. Os potes plásticos foram adquiridos em loja de embalagens e substituem muito bem as placas de Petri. Como são de plástico devem ser esterilizados com álcool 70% ou água sanitária (hipoclorito de sódio). A bancada deve ser desinfetada com hipoclorito de sódio. .... 31
- Figura 8 Desenvolvimento da aula prática sobre Cultivo de Microrganismos. Meios de cultura solidificados e prontos para a inoculação. Meio a enriquecido com ½ cubo de Caldo Knorr para 250ml de água. Meio b enriquecido com 2,5 ml de peito de frango triturado e coado para 250ml de água. Ambos os meios foram solidificados com 2% de ágar. .... 32

|           |   |
|-----------|---|
| Figura 9  | Desenvolvimento da aula prática sobre Cultivo de Microrganismos. Demonstração da aplicação da aula sobre Cultivo de Microrganismos - Fungos Anemófilos. O dispositivo mostrado é um retentor de partículas (Bandeirinhas). Eles foram confeccionados com palitos de picolé e tiras de filtro de papel para café. As tiras de papel possuem dimensões de 10 x 20 cm. Uma das faces foi impregnada com cola do tipo bastão. O suporte deve ser exposto em diferentes locais para captar esporos de fungos anemófilos. .... 33 |
| Figura 10 | Desenvolvimento da aula prática sobre Cultivo de Microrganismos. a. Inoculação do meio de cultura por meio do dispositivo retentor de partículas (bandeirinhas). b. Resultado três dias após a inoculação. .... 34  |
| Figura 11 | Demonstração da montagem do experimento da aula sobre Decomposição de Resíduos Orgânicos. Cada unidade experimental foi construída com uma embalagem descartável e um frasco de refrigerante onde seu gargalo foi recortado e seu fundo perfurado para permitir a drenagem de chorume. A embalagem descartável servirá como coletor de chorume. .... 44   |
| Figura 12 | Demonstração da montagem do experimento da aula sobre Decomposição de Resíduos Orgânicos. Substratos submetidos a condições diferentes. A amostra b foi submetida à temperatura ambiente e a amostra a foi exposta a baixas temperaturas. Amostras de pão foram utilizadas..... 45  |
| Figura 13 | Montagem do experimento da aula sobre “Decomposição de Resíduos Orgânicos”. Os alunos montaram uma composteira em escala reduzida confeccionada com materiais descartáveis em recipientes plásticos, seguindo as instruções disponíveis no roteiro de práticas fornecido. .... 46   |
| Figura 14 | Desenvolvimento da prática de Minhocário Horizontal. A foto mostra a base de madeira que acomodará o minhocário horizontal..... 50  |
| Figura 15 | Desenvolvimento da prática de minhocário horizontal. A foto mostra o conjunto base e recipiente que será cortado para receber o substrato e a montagem do minhocário. .... 51   |
| Figura 16 | Desenvolvimento da prática de Minhocário Vertical. A foto mostra a montagem de um minhocário vertical utilizando-se baldes. Os baldes 2 e 3 irão receber o substrato e as minhocas, o balde 1 servirá para armazenamento e drenagem de chorume. .... 52   |
| Figura 17 | Desenvolvimento da prática de minhocário vertical. A foto mostra os materiais utilizados para confecção do minhocário vertical e detalhes do corte das tampas. .... 53  |
| Figura 18 | Desenvolvimento da prática de Minhocário Vertical. A foto mostra o recorte no registro para facilitar a drenagem do chorume. Este registro foi deve ser instalado no balde de número 1..... 54  |

|           |   |    |
|-----------|---|----|
| Figura 19 | Esquema demonstrando as etapas que compõem o processo de biodigestão anaeróbia.....   | 58 |
| Figura 20 | Esquema demonstrando a etapa de Acetogênese que acontece durante biodigestão anaeróbia. O acetato e hidrogênio molecular (H <sub>2</sub> ) são produzidos a partir de piruvato. Observe como a produção de acetato promove a síntese de ATP pela hidrólise de acetil-fosfato. ....        | 62 |
| Figura 21 | Representação esquemática simplificada de um reator anaeróbio de fluxo ascendente. Fonte: adaptado de PINTO (1999).....   | 65 |
| Figura 22 | Desenvolvimento do projeto biotecnológico Biodigestor. Esquema simplificado de montagem do Biodigestor realizado neste trabalho. O biodigestor foi construído com dois decantadores. Na figura estão identificadas cada parte do biodigestor. ....  | 66 |
| Figura 23 | Desenvolvimento do projeto biotecnológico Biodigestor. A foto mostra o biodigestor experimental montado neste trabalho. O biodigestor possui dois reservatórios decantadores e diversas conexões para permitir o seu correto funcionamento.....   | 67 |
| Figura 24 | Desenvolvimento do projeto biotecnológico Biodigestor. A foto mostra a parte inicial de desenvolvimento do biodigestor, que requer o furo dos recipientes que serão usados como decantadores. Duas perfurações feitas em cada tambor com serra tipo copo 56 mm adaptada em furadeira..... | 68 |
| Figura 25 | Desenvolvimento do projeto biotecnológico Biodigestor. Colocação de flanges de 50 mm em cada perfuração. Observe que a borracha do flange fica para o lado externo. Para uma perfeita vedação é necessário colocar silicone nos filetes antes de acomodar a porca. ....                   | 68 |
| Figura 26 | Desenvolvimento do projeto biotecnológico Biodigestor. A foto mostra a colocação dos adaptadores internos de flange que receberão a tubulação que irá até o fundo.....  | 69 |
| Figura 27 | Desenvolvimento do projeto biotecnológico Biodigestor. A foto mostra a montagem dos joelhos internos que levarão o material que entra no sistema para o fundo do tambor 1 e leva o material que sai do tambor 1 para o fundo do tambor 2. ....  | 70 |
| Figura 28 | Desenvolvimento do projeto biotecnológico Biodigestor. A foto mostra os joelhos internos montados no adaptador do flange de entrada do decantador.....  | 70 |
| Figura 29 | Desenvolvimento do projeto biotecnológico Biodigestor. A foto mostra o coletor de gás do biodigestor, montado por meio de tubulações e conexões que, basicamente une as tampas dos tambores 1 e 2.....  | 71 |
| Figura 30 | Desenvolvimento do projeto biotecnológico Biodigestor. A foto mostra os materiais usados no borbulhador que irá compor o biodigestor. ....  | 72 |

- Figura 31 Desenvolvimento do projeto biotecnológico Biodigestor. A foto mostra o conjunto do borbulhador montado. Para unir as partes foram usados pedaços de PVC, em destaque. Foi utilizado duas luvas roscadas azuis 25 x 1/2 para acomodar as espigas que receberão as mangueiras. .... 73
- Figura 32 Desenvolvimento do projeto biotecnológico Biodigestor. A foto mostra o conjunto do registro regulador da saída do coletor de gás. Observe que o “T” azul, divide o fluxo de gás entre a câmara de gás e o registro 8 que controlará a entrada do borbulhador. .... 74
- Figura 33 Gráfico representando a frequência de respostas referente à questão 1: “*Você gosta (gostaria) de ter aulas práticas em laboratório de biologia?*”. O questionário foi aplicado a três turmas do ensino médio Colégio Tiradentes da Polícia Militar no município de Manhuaçu – Minas Gerais. Cada turma foi dividida em dois grupos: Grupo APT, com aulas práticas e teóricas; e Grupo AT, somente com aulas teóricas. .... 76
- Figura 34 Gráfico representando a frequência de respostas referente à questão 2: “*As aulas práticas contribuem (contribuirão) para uma melhor compreensão do conteúdo abordado?*”. O questionário foi aplicado a três turmas do ensino médio Colégio Tiradentes da Polícia Militar no município de Manhuaçu – Minas Gerais. Cada turma foi dividida em dois grupos: Grupo APT, com aulas práticas e teóricas; e Grupo AT, somente com aulas teóricas. .... 77
- Figura 35 Gráfico representando a frequência de respostas referente à questão 3: “*Os processos biológicos são melhor compreendidos por meio de aulas práticas?*”. O questionário foi aplicado a três turmas do ensino médio Colégio Tiradentes da Polícia Militar no município de Manhuaçu – Minas Gerais. Cada turma foi dividida em dois grupos: Grupo APT, com aulas práticas e teóricas; e Grupo AT, somente com aulas teóricas. .... 78
- Figura 36 Gráfico representando a frequência de respostas referente à questão 4: “O que é melhor?”. a) Aulas práticas somente. b) Aulas teóricas somente. c) Mais aulas teóricas que práticas. d) Mais aulas práticas que teóricas. e) Ambos. O questionário foi aplicado a três turmas do ensino médio Colégio Tiradentes da Polícia Militar no município de Manhuaçu – Minas Gerais. Cada turma foi dividida em dois grupos: Grupo APT, com aulas práticas e teóricas; e Grupo AT, somente com aulas teóricas. .... 79
- Figura 37 Gráfico representando a porcentagem de acertos e erros referente à questão 5. Cada turma (1º, 2º e 3º ano) responderam a uma questão discursiva relacionada aos conteúdos abordados: Quantidade de alunos do ensino médio que acertaram ou erraram a pergunta discursiva número cinco. ”. O questionário foi aplicado a três turmas do ensino médio Colégio Tiradentes da Polícia Militar no município de Manhuaçu – Minas Gerais. Cada turma

foi dividida em dois grupos: Grupo APT, com aulas práticas e teóricas; e Grupo AT, somente com aulas teóricas..... 81

Figura 38

Respostas mais frequentes para a questão número seis: “Comente como aulas práticas em laboratório de Biologia poderiam contribuir para facilitar a compreensão dos conteúdos”. O questionário foi aplicado a três turmas do ensino médio Colégio Tiradentes da Polícia Militar no município de Manhuaçu – Minas Gerais. Cada turma foi dividida em dois grupos: Grupo APT, com aulas práticas e teóricas; e Grupo AT, somente com aulas teóricas..... 82

## SUMÁRIO

|   |           |
|---|-----------|
| <b>1 INTRODUÇÃO REFERENCIADA.....</b>   | <b>1</b>  |
| 1.1 DEPOIMENTO .....  | 1         |
| 1.2 A IMPORTÂNCIA DOS MICRORGANISMOS .....                                    | 2         |
| 1.3 O ENSINO DE MICROBIOLOGIA NAS ESCOLAS.....                                | 4         |
| <b>2 OBJETIVOS .....</b>  | <b>10</b> |
| 2.1 OBJETIVO GERAL: .....   | 10        |
| 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....   | 10        |
| <b>3 METODOLOGIA .....</b>  | <b>11</b> |
| 3.1 ELABORAÇÃO DE AULAS PRÁTICAS.....   | 11        |
| 3.2 AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES.....   | 12        |
| 3.3 ELABORAÇÃO DE MANUAL DE PRÁTICAS E METODOLOGIAS.....                      | 12        |
| 3.4 APROVAÇÃO DO PROJETO NO COMITÊ DE ÉTICA .....                             | 13        |
| <b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>  | <b>14</b> |
| 4.1 AULA PRÁTICA: LASER SOBRE GOTA PARA OBSERVAÇÃO DE<br>MICRORGANISMOS. .... | 14        |
| <b>4.1.1 Fundamentação teórica para o professor.....</b>                      | <b>14</b> |
| <b>4.1.2 Desenvolvimento da prática.....</b>                                  | <b>16</b> |
| <b>4.1.3 Aplicação da prática em sala de aula.....</b>                        | <b>17</b> |
| 4.2 AULA PRÁTICA: METABOLISMO MICROBIANO.....                                 | 20        |
| <b>4.2.1 Fundamentação teórica para o professor. ....</b>                     | <b>20</b> |
| <b>4.2.2 Desenvolvimento da prática. ....</b>                                 | <b>23</b> |
| <b>4.2.3 Aplicação da prática em sala de aula.....</b>                        | <b>25</b> |
| 4.3 AULA PRÁTICA: CULTIVO DE MICRORGANISMOS .....                             | 27        |
| <b>4.3.1 Fundamentação teórica para o professor.....</b>                      | <b>27</b> |
| <b>4.3.2 Desenvolvimento da prática. ....</b>                                 | <b>29</b> |
| <b>4.3.3 Aplicação da prática em sala de aula.....</b>                        | <b>32</b> |
| 4.4 AULA PRÁTICA: DECOMPOSIÇÃO DE RESÍDUOS ORGÂNICOS.....                     | 39        |
| <b>4.4.1 Fundamentação teórica para o professor.....</b>                      | <b>39</b> |
| <b>4.4.2 Desenvolvimento da prática.....</b>                                  | <b>42</b> |
| <b>4.4.3 Aplicação da prática em sala de aula.....</b>                        | <b>45</b> |
| 4.5 PROJETO BIOTECNOLÓGICO: VERMICOMPOSTAGEM.....                             | 48        |
| <b>4.5.1 Fundamentação teórica para o professor .....</b>                     | <b>48</b> |

|  |           |
|--|-----------|
| <b>4.5.2 Desenvolvimento da prática.....</b>   | <b>49</b> |
| <b>4.6 PROJETO BIOTECNOLÓGICO: BIODIGESTÃO ANAERÓBICA.....</b>                             | <b>56</b> |
| <b>4.6.1 Fundamentação teórica para o professor.....</b>                                   | <b>56</b> |
| <b>4.6.2 Desenvolvimento da prática.....</b>   | <b>66</b> |
| <b>4.7 AVALIAÇÃO DAS AULAS PRÁTICAS – APLICAÇÃO DE QUESTIONÁRIO ...<br/>.....</b>          | <b>75</b> |
| <b>5 CONCLUSÕES.....</b>   | <b>84</b> |
| <b>6 REFERÊNCIAS.....</b>  | <b>85</b> |
| <b>ANEXO 1 TERMO DE CONSENTIMENTO ASSENTIMENTO LIVRE<br/>ESCLARECIDO/RESPONSÁVEIS.....</b> | <b>91</b> |
| <b>ANEXO 2 TERMO DE ASSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO.....</b>                              | <b>92</b> |
| <b>ANEXO 3 QUESTIONÁRIO PARA ALUNOS ANTES DAS AULAS<br/>PRÁTICAS.....</b>                  | <b>93</b> |
| <b>ANEXO 4 QUESTIONÁRIO PARA ALUNOS APÓS AULAS PRÁTICAS.....</b>                           | <b>94</b> |

# 1 INTRODUÇÃO REFERENCIADA

## 1.1 DEPOIMENTO

A natureza me encanta desde criança. Sua infinidade de cores, padrões e formas são encantadores. Com isso, prematuramente já analisava e tentava catalogar o que observava mesmo sem ao menos saber o que era Biologia. Com o tempo e o aprendizado, veio a maturidade intelectual que auxiliou na resolução de problemas e o desenvolvimento de temas cada vez mais complexos e aprofundado. Vi na educação uma forma de saciar minha curiosidade que aumentava exponencialmente. Depois de me formar no ensino médio não tinha ideia do que seria, mas minha segunda vontade de conhecer melhor o ambiente que nos cerca, optei pela Biologia. E foi nessa área que me encontrei. A maior parte dos temas desperta a minha curiosidade e instiga cada vez mais a vontade de saber. Concluí minha faculdade de Ciências Biológicas no ano de 2015 na cidade de Cataguases e então assumi a cadeira de Biologia no Colégio Tiradentes da Polícia Militar de Minas Gerais na cidade de Manhuaçu. A partir desse ponto passei a ensinar o conteúdo que tanto amo e tanto marcou minha trajetória. Em 2017 tive a oportunidade de ingressar no mestrado profissional em ensino de biologia na cidade de Governador Valadares, desta forma, pude aprimorar as metodologias de ensino e ampliar meus conhecimentos. O curso se mostrou uma ferramenta hábil que sanou várias de minhas dúvidas, mediante professores bem qualificados e com boa didática. Com bons professores, a falta de recurso se mostrou um mero detalhe. Vários temas atuais nos foram apresentados com o intuito de atualizar o conhecimento, sempre ministrados com carinho e dedicação.

A demanda de trabalhar e estudar em outra cidade não foi tarefa fácil, acordei pela madrugada toda sexta e via o dia amanhecer na estrada para poder dar andamento ao curso. Retornava para casa muitas vezes exausto, embora com o sentimento de missão cumprida e o desejo de me tornar um professor melhor. A cada aula ministrada por meio de metodologias ativas era aproveitada ao máximo, visto que os professores depositavam toda confiança em nós.

Este curso é de extrema importância para o aprimoramento de professores. Sua abordagem didática é clara e objetiva, fundamentada por meio de metodologias diversificadas que garantem uma nova visão do aprendizado, garantindo que estas metodologias possam ser aplicadas em escolas de nível fundamental e médio. Apesar

das dificuldades encontradas por vários motivos, consegui concluir o curso e ministrar várias atividades nas turmas que leciono. E em especial, pude trabalhar conteúdos de microbiologia em turmas do ensino médio de forma simples e objetiva por meio de projetos trabalhados em atividades práticas.

Por fim, quero agradecer o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) pelo apoio concedido para realização deste mestrado profissional. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

## 1.2 A IMPORTÂNCIA DOS MICRORGANISMOS

Microbiologia é a área da ciência que se dedica ao estudo de microrganismos, seres que podem ser vistos em sua maior parte por meio de microscópios. São formas de vida muito minúsculas, que não podem ser vistos a olho nu, embora alguns organismos, como os fungos, sejam macroscópicos e podem ser vista sem o auxílio de um microscópio. Sua complexa diversidade abrange os vários grupos de organismos unicelulares como algas, protozoários e bactérias; organismos pluricelulares como fungos e acelulares como os vírus. A influência destes seres vivos não se restringe apenas às doenças e prejuízo econômico, sendo relevantes nos diversos ciclos biogeoquímicos, participando da ciclagem de nutrientes, e podem ser empregados na produção de medicamentos, alimentos, combustíveis entre outros. Microrganismos afetam a vida de todos os outros organismos, portanto, conhecer a vida microscópica e seus impactos é importante para inteirar a população acerca deste assunto, muitas vezes negligenciado no ensino fundamental e médio. Desta forma, o estudo mais aprofundado e prático dessa ciência viria a enfatizar a extrema importância dos microrganismos. Este trabalho tem a missão de apresentar este tema de forma prática e intuitiva para os alunos do ensino médio e possivelmente para o ensino fundamental.

A importância dos microrganismos vai muito além dos danos à saúde e a degradação de alimentos. Estes organismos compreendem muito da biodiversidade da terra (TORSVIK *et al.*, 2002) e apenas a minoria é capaz de provocar doença no homem, a maioria prestam serviço na manutenção dos ecossistemas (TORTORA *et al.*, 2017). Fazem parte da microbiota intestinal e seu desequilíbrio pode provocar doenças. Dentre os organismos que colonizam o intestino de mamíferos, existem os benéficos chamados

probióticos que favorecem inúmeros processos essenciais ao hospedeiro. Alguns benefícios da utilização de probióticos em humanos podem ser descritos como: indução do sistema imunológico (DWIVEDI *et al.*, 2016), para tratamento de doenças dermatológicas (FUCH-STARLOVSKY *et al.*, 2016), no tratamento de diarreia aguda (ZUPPA *et al.*, 2016), na redução da diarreia associada a antibióticos (OUWEHAND; TENNILÄ, 2016), no controle da obesidade (ROUXINOL-DIAS *et al.*, 2016), na prevenção de infecções virais no sistema respiratório (AHANCHIAN; JAFARI, 2016), nas disfunções intestinais como constipação (HOD; RINGEL, 2016), e na prevenção de câncer colorretal (AMBALAM *et al.*, 2016).

Além de auxiliar e favorecer o estado saudável do homem, os microrganismos contribuem também para o equilíbrio dos ecossistemas. Elementos essenciais à vida, como carbono, hidrogênio, enxofre e fósforo são abundantes, entretanto, muitas vezes compõem moléculas que não são passíveis de serem aproveitadas por animais e plantas, necessitando, portanto, de agentes modificadores que as transformarão em compostos assimiláveis. Desta forma, seres como bactérias e fungos desempenham papel importante nos ciclos biogeoquímicos (BELL *et al.*, 2005) para tornar cada elemento químico importante à vida em forma assimilável na natureza. A matéria orgânica, ao ser decomposta, tem seus componentes modificados ao serem metabolizados pela microbiota local, desta forma há um equilíbrio que permite o fluxo de matéria entre os seres vivos e o ambiente. O nitrogênio é um dos elementos mais requisitados pelas plantas e outros organismos, pois compõe proteínas, enzimas e ácidos nucléicos. Desta forma, a quantidade deste nutriente no solo é um fator limitante para os sistemas agroflorestais e frequentemente é adicionado de forma artificial ao solo podendo comprometer seu equilíbrio em sistemas naturais (TORTORA *et al.*, 2017).

Visando contribuir para a redução do impacto ambiental em extensas áreas de cultivo comercial como a cana, estão sendo desenvolvidos estudos com Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN) com o auxílio de bactérias fixadoras (PERIN, 2007). O nitrogênio é um nutriente com alta exigência no ciclo de produção. Além do alto custo econômico, é facilmente perdido por volatilização e lixiviação. Atualmente, sabe-se que algumas plantas se associam com bactérias diazotróficas, que podem suprir até 70% do nitrogênio necessário para seu desenvolvimento, no entanto, a eficiência da FBN sofre influência do genótipo da planta e manejo da cultura que pode ser consorciada com o cultivo de leguminosas, como o amendoime o feijão (PERIN, 2007).

Os microrganismos possuem grande potencial tecnológico, tais como, bioinoculantes para produção agroflorestal, controle biológico, biorremediação, produção de fármacos como antibióticos, enzimas, corantes entre outras substâncias químicas (GOI; SOUZA, 2016). A estratégia de biorremediação consiste na utilização de processo ou atividade biológica por meio de organismos vivos, que possuam a capacidade de modificar ou decompor determinados poluentes, transformando, assim, contaminantes em substâncias inertes e outras formas estáveis.

A importância dos fungos em processos de biorremediação de áreas degradadas por mineração foi bem evidenciado por BERTOLAZZI em seu trabalho publicado em 2010. A associação de fungos ectomicorrízicos com plantas demonstrou-se uma alternativa promissora para restaurar áreas contaminadas com metais pesados como o cobre. Esses fungos apresentam alguns mecanismos de tolerância a metais, e a produção de pigmentos extracelulares como mecanismo de precipitação extracelular de metais pesados, sendo relacionada principalmente à adsorção de cobre. O cobre é considerado um elemento essencial para a formação da melanina e, na falta desse elemento, a síntese de melanina poderá ser bloqueada. Quando o cobre faz parte da molécula melanina, não está sendo apresentado na forma iônica no solo e, portanto, está bioestabilizado, não sendo possível sua absorção por outras plantas (BERTOLAZZI, 2010).

Alguns microrganismos podem, ainda, serem utilizados como bioindicadores da qualidade da água e do solo. Algumas espécies, como *Escherichia coli* e a levedura *Candida albicans*, são bem conhecidas. Alguns trabalhos utilizaram o isolamento e a densidade de microrganismos para verificar a qualidade de áreas recreacionais marinhas e de água doce. VIEIRA e colaboradores (2011) averiguaram a presença de coliformes termotolerantes, *Salmonella* sp, *Vibrio parahaemolyticus* e *Candida albicans* nas águas costeiras de Fortaleza.

### 1.3 O ENSINO DE MICROBIOLOGIA NAS ESCOLAS

O distanciamento que existe entre o conteúdo de microbiologia e o cotidiano do corpo discente dificulta a compreensão e visualização da importância dos microrganismos por parte dos alunos. Esta lacuna pode ser preenchida pelo desenvolvimento de atividades práticas que são essenciais para a construção do pensamento científico e permitem ao aluno conhecer novos assuntos que, associados à consolidação do conhecimento teórico, contribuirão para a construção dos conceitos acerca da íntima relação destes organismos

com o ser humano. Entretanto, a falta de equipamentos e insumos, e a falta de treinamento por parte dos educadores, torna desafiador executar atividades práticas deste conteúdo. BARBOSA; BARBOSA (2010) relatam que os custos referentes à manutenção de laboratórios de microbiologia juntamente com equipamentos, vidraria e insumos vêm inviabilizando o ensino desta intrigante área. CASSANTI *et al.* (2008) enfatizam que em muitos casos a microbiologia é negligenciada pelos professores devido às dificuldades no desenvolvimento deste tema de forma experimental, restringindo o ensino a aulas expositivas.

O ensino de Microbiologia necessita de técnicas e metodologias inovadoras que despertem o interesse dos alunos trazendo-os para um novo universo de descobertas, construído de forma experimental. Desta forma, torna-se indispensável a aplicação de metodologias ativas com o intuito de buscar novos processos de ensino e aprendizagem que contribuam para a construção do conhecimento entre professor e os alunos. O método expositivo tem sido aplicado exageradamente nas diversas etapas do ensino, colocando o professor como centro do processo de ensino-aprendizagem (BERBEL, 1995), O professor é o detentor do saber e transmite o que sabe, enquanto o aluno que não sabe ouve e reproduz a informação quando solicitado. Ao analisar a educação “bancária”, termo proposto por FREIRE (1996), onde segundo o autor, na visão “bancária” da educação, o “saber” é uma doação dos que se julgam sábios aos que julgam nada saber”. Nesta visão o aluno é passivo, grande tomador de nota e exímio memorizador e teoricamente este aluno terá facilidade em trabalhar conceitos abstratos e conteúdos, mas, por outro lado, terá dificuldade em solucionar problemas (BORDENAVE; PEREIRA, 1982). Segundo FREIRE (1996), a narração e o monólogo, que são características da educação tradicional transformam os educandos em “vasilhas”, em recipientes a serem preenchidos pelo educador. O bom professor é aquele que consegue preencher os jarros, o bom educando é aquele que se deixa levar, se deixa preencher pela narração do educador e se compõe um exímio dissertador, registra e memoriza tudo que lhe é lançado. Deste modo, não há transformação na educação. Só existiria saber na mudança, na invenção, na reinvenção e na busca inquieta pelo conhecimento.

As aulas expositivas não estimulam efetivamente a autonomia intelectual e o senso crítico, apenas treinam o indivíduo para situações e padrões definidos. Qualquer situação fora dos padrões predefinidos pode ser até ignorada devido à ausência de habilidade para solucionar tal fato (BERBEL, 1998). Deste modo, o educando tenderá a se adaptar passivamente às várias condições que lhes são impostas, apresentando

dificuldades em transformá-las segundo suas necessidades, entretanto, a educação libertadora promoverá a autonomia e o poder de transformação (FREIRE, 1996). Contudo, em algumas situações o método expositivo é eficaz, mas em outras é necessário empregar a problematização para consolidar e tornar as informações significativas (BERBEL, 1998).

A comparação dos métodos expositivo tradicional de ensino e das metodologias investigativas inovadoras mostra e permite avaliar a contribuição de cada um no processo de ensino-aprendizagem. WELKER (2007) afirma que em uma metodologia de ensino tradicional os alunos permanecem passivos e, em grande parte dos casos, as informações e conteúdos transmitidos pelo professor não são realmente compreendidos por eles. Os alunos geralmente acabam obrigados a decorar conceitos e nomes que para eles não fazem sentido, repetem a teoria apresentada, sem uma reflexão ou um verdadeiro entendimento da mesma e, portanto, sem aprendizado significativo. LIMBERGER *et al.* (2009), relatam que o ensino nas escolas vem sendo realizado de forma muito teórica e com pouca experimentação. Desta forma, observa-se uma dificuldade no aprendizado adequado de microbiologia, bem como na aplicação dos conceitos relacionados a este tema.

Por outro lado, benefícios proporcionados por metodologias e práticas inovadoras são evidentes, fato este relatado por BARBOSA e colaboradores (2010) que afirmam que as aulas expositivas podem ser enriquecidas com atividades e práticas que ajudem os alunos a familiarizarem-se com os microrganismos, despertando o interesse por temas atuais ligados à Microbiologia, colaborando na fixação e no entendimento de conceitos. Desta forma o aprendizado se torna mais marcante e significativo, indo além de apenas “memorizar” o conteúdo para as avaliações. BARBOSA; OLIVEIRA (2015), observaram que para os alunos de sexto ano, as aulas diferenciadas, usando diferentes estratégias de ensino como a aula prática, o vídeo e a paródia funcionam como uma ótima ferramenta para despertar o interesse dos alunos.

Despertar o interesse do aluno é um dos maiores desafios do educador e metodologias diversificadas podem contribuir para uma maior sua imersão ao conteúdo tornando-o significativo. Segundo ALMEIDA; VALENTE (2012), métodos tradicionais que privilegiam a transmissão de informações pelos professores fazem sentido quando o acesso à informação é limitado. Com o advento da tecnologia, a informação tornou-se globalizada e de fácil acesso e a internet vem proporcionando enorme diversidade de material, livros e cursos gratuitos que podem ser acessados de qualquer lugar, a qualquer momento. Em uma sociedade altamente conectada, métodos conteudistas de ensino

tornam-se defasados, uma vez que a informação está disponível e pode ser acessada rapidamente pelo aluno. Portanto, cabe ao professor incentivar a pesquisa e a investigação, e orientá-lo na caminhada ativa de construção do conhecimento. Segundo ANTUNES (2014), “Nos últimos trinta anos o mundo mudou, a medicina evoluiu, a tecnologia avançou, os transportes se aceleraram. Mas ainda existem aulas que o professor ainda é o centro do processo de aprendizagem. Nem todos os dinossauros foram extintos”. Neste contexto, é necessário aplicar abordagens libertadoras, e deste modo, levar a modelo de ensino e aprendizagem a um novo patamar onde os alunos se tornem autônomos e exímios indagadores e transformadores da realidade.

A dúvida, a pergunta, a incerteza e a problematização incentivam o senso crítico e a autonomia, e caracteriza, portanto, uma proposta libertadora em que o aluno passa a ser agente ativo do processo, toma suas próprias conclusões, e torna-se construtor do próprio conhecimento por meio das experiências adquirida durante o percurso. E para isso é preciso adotar metodologias que exponham os alunos a atividades cada vez mais complexas, que envolvam tomadas de decisões e avaliações de resultado (MORÁN, 2015). Ao fomentar o discente com iniciativas investigativas, o professor passaria a exercer o papel de mediador, analisando a adequação metodológica e promovendo aporte e apoio intelectual. O professor deixa de ser o centro do processo de ensino e aprendizagem e passa a conduzir o processo investigativo, ou seja, o aluno será proativo, autônomo, experimentará inúmeras possibilidades e tomará suas próprias conclusões que serão discutidas posteriormente com o professor e demais alunos para se chegar a um resultado consistente (MORÁN, 2015).

No contexto exposto anteriormente, as aulas práticas são de extrema importância devido ao fato de transporem os alunos da posição de meros expectadores a agentes que passarão a investigar e testar os fatos a sua volta. HOFSTEIN; LUNETTA (1982), destacam que as aulas de laboratório têm a função de despertar e manter o interesse dos alunos e os envolvem em investigação científica. PENICK (1998), afirma que as aulas práticas têm o objetivo de complementar as aulas teóricas. Segundo “A aprendizagem significativa efetiva-se quando o professor leva em consideração que o aluno não entra para a escola desprovido de conceitos, isto é, o aluno leva estruturas cognitivas, conceitos já apreendidos, denominados subsunçores”. O emprego desta metodologia permite melhor visualização do conteúdo que antes estaria apenas no imaginário do aluno, desperta a motivação e o interesse acerca do conteúdo DALZOTO (2014).

A educação científica contribui para a melhoria no desempenho escolar, mas também torna os alunos cidadãos críticos, com uma visão diferenciada do mundo a sua volta. As atividades práticas podem ser divididas em categorias, conforme classificação proposta por CAMPOS; NIGRO (1999): (i) demonstrações práticas; (ii) experimentos ilustrativos; (iii) experimentos descritivos, e (iv) experimentos investigativos. Considerando-se que alguns conteúdos são mais bem assimilados quando vivenciados, todas estas modalidades de atividades são importantes para o ensino-aprendizagem e cada uma pode ser aplicada em situações específicas conforme necessidade do tema trabalhado. Em uma aula prática, o aluno terá a oportunidade de experimentar de forma concreta certos conteúdos que somente em teoria seriam vagos. Dentre as categorias citadas, os experimentos investigativos são de grande relevância, exigem alto grau de participação dos alunos e diferem de outras atividades por estimularem discussões de ideias e questionamentos, bem como a necessidade de levantar hipóteses. Nessa abordagem, os alunos têm a oportunidade de discutir, questionar suas hipóteses e ideias iniciais, confirmá-las ou refutá-las, coletar e analisar dados para encontrar possíveis soluções para o problema em questão.

A dificuldade que os professores encontram para ministrar aulas práticas de Microbiologia pode ser resultado de alguns fatores, como o tempo de aula; o cronograma do plano de curso ou mesmo a motivação dos alunos. Esta última pode estar relacionada à predisposição da geração atual pelo uso da tecnologia, que tende a desejar informações prontas e que não demandam esforços, fazendo com que os alunos não se preocupem em construir solução para problemas nem enfrentar desafios por si só. Neste contexto é importante empregar metodologias diversificadas para tornar o processo de ensino mais agradável e significativo. Uma alternativa é se apoderar de atividades práticas investigativas associadas às metodologias ativas. Desta forma o aluno será constantemente motivado a problematizar situações, enfrentar desafios, levantar hipóteses e testá-las, analisar dados e propor soluções.

O estudo prático de microrganismos na educação básica é de suma importância devido às funções ecológicas e aplicabilidade biotecnológica dos microrganismos, mas o alto custo dos insumos e equipamentos, associados à falta de experiência dos professores nesta área, torna a prática de microbiologia inviável em muitos casos, especialmente em escolas públicas. Portanto, diante da demanda existente, este projeto tem o objetivo de atender a esta demanda e contribuir com métodos inovadores de ensino em Microbiologia por meio da elaboração de um manual técnico para instruir na confecção de meios de

culturas e atividades práticas funcionais e viáveis financeiramente, na análise dos resultados, na elaboração de projetos e planos de aulas, fornecendo apoio teórico e pedagógico.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 OBJETIVO GERAL:**

Desenvolver metodologias alternativas funcionais e viáveis financeiramente para ensino prático de Microbiologia nas escolas em nível fundamental e médio.

### **2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

1. Desenvolver meios de cultura acessíveis financeira e operacionalmente para o emprego em aulas práticas de Microbiologia.
2. Desenvolver/adaptar metodologias alternativas que não necessitem de equipamentos sofisticados para o estudo dos diferentes grupos de microrganismos.
3. Desenvolver propostas orientadas de projetos biotecnológicos que envolvam a microbiologia, como biodigestores, fermentação e compostagem.
4. Confeccionar um manual de práticas e metodologias a serem aplicadas em escolas para o ensino de Microbiologia, contendo informações detalhadas sobre os procedimentos, assim como indicação bibliográfica para suporte

### 3 METODOLOGIA

#### 3.1 ELABORAÇÃO DE AULAS PRÁTICAS

Para alcançar os objetivos propostos neste projeto de Trabalho de Conclusão de Mestrado, foi realizado, inicialmente, levantamento bibliográfico de métodos e protocolos de procedimento referentes à cultura de microrganismos e suas aplicações biotecnológicas. A partir do levantamento bibliográfico, foi feita análise de viabilidade técnica e financeira para sua aplicação mediante a realidade das escolas públicas. As atividades práticas selecionadas foram adaptadas com o intuito de adequá-las à realidade da escola pública, facilitando os procedimentos e reduzindo os custos.

A partir do levantamento inicial, foram elaboradas e adaptadas aulas práticas para abordar temas relacionados à microbiologia geral e também temas associados ao papel dos microrganismos na natureza para que os alunos possam estudar o tema Microbiologia e aplicar os conceitos aprendidos em processos de relevância ambiental e biotecnológica para a sociedade. Portanto, as aulas práticas selecionadas foram:

- **Laser sobre gotas para visualização de microrganismos**
- **Decomposição de resíduos orgânicos**
- **Fermentação Alcólica microbiana**
- **Meios de cultura para avaliar processo de higienização das mãos**
- **Compostagem termófila em leiras fixas com aeração passiva**
- **Vermecompostagem**
- **Biodigestão anaeróbica**

Para cada aula prática, foram selecionados materiais acessíveis aos professores e alunos de escolas públicas e desenvolvidos/adaptados procedimentos viáveis de serem executados mesmo na ausência de infraestrutura de laboratório de Biologia. Para garantir a funcionalidade das aulas propostas, todas foram testadas e seu procedimento detalhado.

Foram elaborados roteiros de aulas práticas com as seguintes divisões:

- a) ***Introdução com questões problematizadoras.*** Estas questões tem a finalidade de apresentar aos alunos questões, induzindo-os a pensar sobre o assunto e responder utilizando uma abordagem prática.

- b) *Objetivos*. A inserção deste tópico é importante para deixar claro aos alunos o que eles devem aprender com a aula que está sendo executada
- c) *Materiais necessários* – lista os materiais que os alunos irão utilizar na aula
- d) *Procedimento*. Seção com o procedimento experimental de maneira clara e sucinta, para orientar o aluno durante a execução da aula prática
- e) *Resultados*. Seção elaborada para que o aluno tenha a oportunidade de descrever o que está sendo observado após a realização dos procedimentos práticos.
- f) *Questões*. Elaboradas para que o aluno possa aplicar o conhecimento obtido durante a aula, e também para servir como instrumento avaliativo par ao professor.

### 3.2 AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES

Todas as atividades elaboradas e experimentadas foram avaliadas por meio da aplicação de questionário aos alunos participantes. As aulas foram aplicadas em três turmas, 1º ano, 2º ano e 3º ano do Ensino Médio do turno da manhã do Colégio Tiradentes da Polícia Militar no município de Manhuaçu – Minas Gerais. Cada turma foi dividida em dois grupos. O grupo APT foi composto pelos alunos que tiveram o assunto Microbiologia abordado por aulas práticas e teóricas, enquanto o grupo AT foi composto pelos alunos que tiveram o assunto Microbiologia abordado somente com aulas teóricas expositivas.

Foram avaliados diferentes aspectos, tais como: apresentação da aula; organização do roteiro de atividade; interesse do aluno pelo tema; conhecimento adquirido pelo aluno. Os questionários foram distribuídos aleatoriamente entre os discentes de cada classe e os dados obtidos foram analisados quanto à frequência por grupo estudado por meio do teste de Qui-quadrado de comparação de proporções. Os resultados das avaliações foram expostos em gráficos e tabelas para posteriormente serem discutidos.

### 3.3 ELABORAÇÃO DE MANUAL DE PRÁTICAS E METODOLOGIAS

As informações referentes a todas as atividades práticas desenvolvidas, adaptadas e executadas estão compiladas em um manual de aulas práticas, o qual é composto, para cada atividade, de um breve embasamento teórico, os objetivos da aula, os procedimentos a serem executados, área para o aluno descrever os resultados, questões para serem respondidas e bibliografia recomendada. Adicionalmente, para cada prática foi

desenvolvida uma seção de fundamentação teórica para o professor, além da descrição detalhada do desenvolvimento da aula prática.

#### 3.4 APROVAÇÃO DO PROJETO NO COMITÊ DE ÉTICA

Para realização da pesquisa foi solicitada a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) pelos responsáveis (Anexo 1) pelos alunos menores e um Termo de Assentimento Livre e Esclarecido (TALE) (Anexo 2) pelos alunos menores, esclarecendo acerca dos objetivos científicos do trabalho. A execução do projeto foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa Humana da Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF) com número de CAAE: 99912818.9.0000.5147.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O trabalho foi desenvolvido conforme a metodologia descrita e esta sessão foi estruturada de forma que, para cada aula prática desenvolvida, foi elaborado um embasamento teórico para o professor, a descrição do desenvolvimento da prática para orientar o professor e uma sessão para discutir sobre a aplicação de cada aula nas turmas, ressaltando pontos positivos, negativos, facilidades e dificuldades. Esta estrutura foi pensada para facilitar o entendimento e a orientação do professor que optar por utilizar as práticas aqui selecionadas e adaptadas.

Todos os tópicos a seguir, exceto o tópico 5.7, compilados, formam o manual de aula prática proposto a ser construído neste trabalho. Este manual é indicado para os professores de escola interessados em abordar a Microbiologia de maneira prática, sem gastos significativos. O manual visa dar ao professor todas as informações necessárias, bem como o roteiro, que poderá ser copiado e distribuído aos alunos para a aplicação das aulas.

### 4.1 AULA PRÁTICA: LASER SOBRE GOTA PARA OBSERVAÇÃO DE MICRORGANISMOS.

#### 4.1.1 Fundamentação teórica para o professor

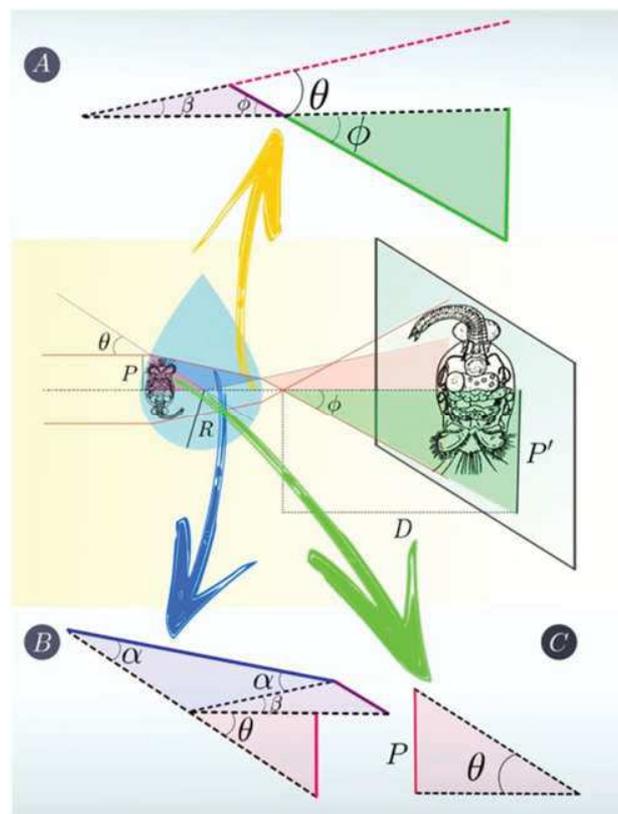
O experimento em questão leva o nome de projetor de gotas, e foi primeiramente descrito no trabalho de PLANINSIC (2001). Os principais conceitos teóricos envolvidos no experimento para a formação das imagens se fundamentam na óptica geométrica. A gota formada no bico da seringa possui uma região mais afastada pode ser tratada como uma lente esférica. Esse tipo de lente se forma quando uma superfície esférica de raio  $R$  se encontra na interface de dois materiais com índice de refração diferentes,  $n_1$  e  $n_2$ . De acordo com a Figura 1, o feixe laser sofre refração duas vezes ao passar pela gota. A primeira refração ocorre na interface ar-água quando o feixe entra na gota, na qual se encontram diversos microrganismos flutuando, a uma distância  $P$  do eixo principal. Ao atravessar a gota, o feixe refrata novamente, na interface água-ar, para formar a imagem na tela a uma distância  $P$  do eixo principal (DORTA *et al.*, 2016).

A gota de água funciona como uma lente esférica, desta forma, a óptica geométrica pode ser aplicada para determinação da formação da imagem no anteparo. A imagem

formada é típica de uma lente convergente (real, invertida e maior que objeto), na situação onde o objeto se encontra entre o ponto antiprincipal e o foco. Nos detalhes, especificados em (A), (B) e (C) é possível ter uma visão ampliada dos ângulos formados pelos raios incidentes e refratados com o eixo principal e com a projeção das normais, todos no mesmo plano da superfície da gota (DORTA *et al.*, 2016).

Dessa forma, para uma gota com 2 mm de diâmetro ( $R = 1$  mm), a sombra da imagem formada em uma tela à 2 m de distância,  $D$ , do aparato experimental produz um aumento de aproximadamente 1000 vezes com relação ao objeto. Observe que a gota deve estar a uma distância de 2 metros da parede para termos um aumento de 1000x.

**Figura 1** – Representação esquemática do projetor de gotas. A figura mostra como a luz do laser é refratada na gota de modo a formar uma imagem maior e invertida, típica de lentes esféricas.



Fonte: DORTA *et al.*, 2016.

#### 4.1.2 Desenvolvimento da prática

O aparato experimental consiste basicamente de uma fonte laser de 50 mW de potência, seringa plástica descartável, suporte confeccionado em madeira ou material similar para a seringa e, por fim, amostras de água contendo os microrganismos a serem estudados. O interessante é coletar amostras de microrganismo vivos, para que no momento da ampliação da imagem seja possível visualizar seu movimento. As amostras de água podem conter microrganismos com tamanhos médios em torno de 0.1 mm a 0.3 mm. A figura 1 ilustra a montagem do aparato experimental. Nessa ilustração, temos um suporte de madeira no qual a seringa fica presa com o bico suspenso para baixo. Pode-se utilizar diversos outros tipos de suportes para apoiar a seringa, tais como: livros, copos, caixas, garrafas pet furadas, etc. O imprescindível é manter a altura da seringa estável durante a realização do experimento. A fonte laser é apoiada no furo de central de uma garrafa de plástico (Figura 2). Durante a realização do experimento foi utilizada a fonte laser que possui comprimento de onda de 532 nm (cor verde). O suporte do laser pode ser feito de diversas formas, desde que o laser fique o mais fixo e imóvel possível. Cabe ressaltar que o professor deve tomar cuidado para que os alunos fiquem sempre atrás do laser como medida de precaução para evitar eventuais acidentes que pode ocorrer pela interação com o laser.

**Figura 2-** Equipamento montado para a aplicação da aula Laser sobre Gotas. Uma simples garrafa pode ser empregada para apoiar a seringa contendo a amostra de água. Duas janelas devem ser feitas no recipiente de modo a permitir a passagem do feixe luminoso proveniente do laser que irá incidir na gota de água que deve ser mantida na ponta da seringa.

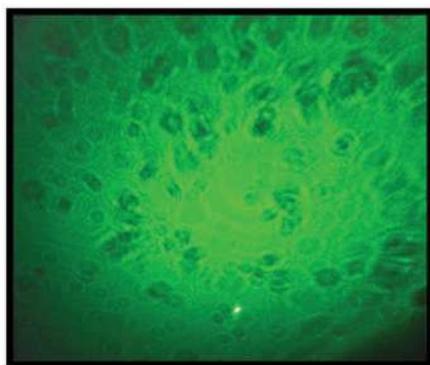


Fonte: elaborado pelo autor.

Observe que na Figura 2 foram utilizados materiais de fácil aquisição. Repare que existe uma seringa encaixada no gargalo da garra. Foi cortado duas janelas nas laterais da garrafa de modo a permitir que o laser passe pela gota de água de ribeirão contida na ponta da seringa e forme a imagem mostrada na Figura 3. A amostra de água deve ser coletada em ribeirão ou em açude. É interessante fazer com que os organismos contidos nessa água se proliferem para facilitar a visualização. Basta adicionar material nutritivo no recipiente e deixar descansar por uma semana, uma folha de alface é o bastante.

Baseado no processo de desenvolvimento e teste da aula, foi elaborado o Roteiro 1.

**Figura 3-** Imagem demonstrando a projeção do laser sobre gota. A imagem demonstra microrganismos se movimentando na água. A água foi coletada, mantida na seringa para formar uma gota na qual incidiu o laser verde.



Fonte: elaborado pelo autor.

#### 4.1.3 Aplicação da prática em sala de aula

O experimento foi aplicado para duas turmas do segundo ano do ensino médio no período de uma aula. Metade dos alunos de cada turma participaram das atividades, totalizando trinta e três alunos. O dispositivo foi montado no laboratório de ciências do Colégio Tiradentes em Manhuaçu. A seringa e o laser foram montados em suporte apropriado disponível no laboratório e foram utilizadas três amostras de água. Uma amostra foi composta de água filtrada, a segunda foi coletada de um recipiente onde vários alunos lavaram as mãos e a terceira foi coletada em um açude. Todas as amostras foram

submetidas ao laser e as projeções observadas. Com esta atividade, vários pontos podem ser levantados como o tamanho dos microrganismos, água potável, importância da higiene pessoal, bem como aspecto do comportamento da luz, refração, difração e tipos de lente.

Os principais desafios enfrentados pelos alunos foram a falta de conhecimento sobre óptica, disponibilidade de um ambiente o mais escuro possível, montagem e o ajuste do dispositivo. A seringa deve ser fixada de modo que o laser passe por uma gota em seu bico, a gota funcionará como uma lente de aumento, os organismos e partículas em seu interior serão ampliados e projetados em uma superfície. A posição da seringa deve ser ajustada sempre que for retirada para inserir uma nova amostra, portanto, o planejamento deve ser elaborado contando com esta variável.

Caso não haja este tipo de suporte na escola, materiais alternativos podem ser usados (ver Figura 2). Uma simples garrafa pequena pode servir como suporte para a seringa que deve ser encaixada em seu gargalo, janelas devem ser cortadas de modo que fiquem alinhadas com o bico da seringa. O feixe emitido pelo laser deve passar pela gota sem nenhum obstáculo.

Os alunos puderam observar que mesmo em água aparentemente limpa e translúcida, há partículas e organismos vivendo naquele ambiente. Esta ponte levanta questões acerca da importância do tratamento de água e uso de fontes seguras. Doenças como hepatite, febre tifoide e cólera podem ser veiculadas por cursos hídricos, mesmo estes sendo aparentemente seguros.

Os alunos tiveram dúvidas sobre o que é um laser, como a luz se comporta em diferentes meios e o que acontece quando a luz muda de um meio físico para o outro. Para um melhor entendimento, antes desta atividade, seria adequado que o professor de física aplicasse uma prévia em sala de aula acerca do comportamento da luz e fenômenos ópticos. Ao ser trabalhar de forma interdisciplinar, esta atividade poderá ser analisada e verificada do ponto de vista físico e biológico.

## Roteiro 1: Laser sobre uma gota

**Nome:**

**Turma:**

**Data:**

**1-INTRODUÇÃO:** Os microrganismos podem ser constituídos de células eucariotas ou procariotas e, em sua maioria, são microscópicos. Existe uma grande variedade de organismos que não podem ser vistos e estão presentes em toda parte. Podem ser úteis ao homem, fundamentais na natureza ou provocarem doenças em várias espécies de animais. São capazes de sobreviver em condições extremas e explorar os mais diversos tipos de substrato. Para nos inteirarmos desse fascinante mundo, seguiremos os passos a seguir.

**2-OBJETIVOS:** apresentar aos alunos a existência de microrganismo que se acumulam em nossas mãos na pele ou em frutas, para então enfatizar a diversidade de microrganismos e sua importância.

### **3-MATERIAIS:**

3 seringas de 20 ml;

Laser verde;

1 bacia.

**3-PROCEDIMENTOS:** Monte o equipamento conforme sugerido anteriormente. Utilizaremos três amostras de água, uma limpa e filtrada, uma obtida diretamente de um ribeirão e a terceira será recolhida da vasilha onde 4 alunos lavaram as mãos. Cada amostra deve ser recolhida em uma seringa, totalizando três amostras.

Observe a imagem (deverá ser semelhante à Figura 6).

### **4-RESULTADOS:**

O tamanho reduzido e a simplicidade dos microrganismos são desvantagens evolutivas?

|  |
|--|
|  |
|  |

Foi possível observar pequenos organismos nas imagens formadas a partir das três amostras? Quais tipos de microrganismos?

|  |
|--|
|  |
|  |

A água colhida em ribeirão aparentemente está isenta de partículas e organismos quando olhada a olho nu. Está realmente limpa? (Comente com a turma)

## 4.2 AULA PRÁTICA: METABOLISMO MICROBIANO

### 4.2.1 Fundamentação teórica para o professor.

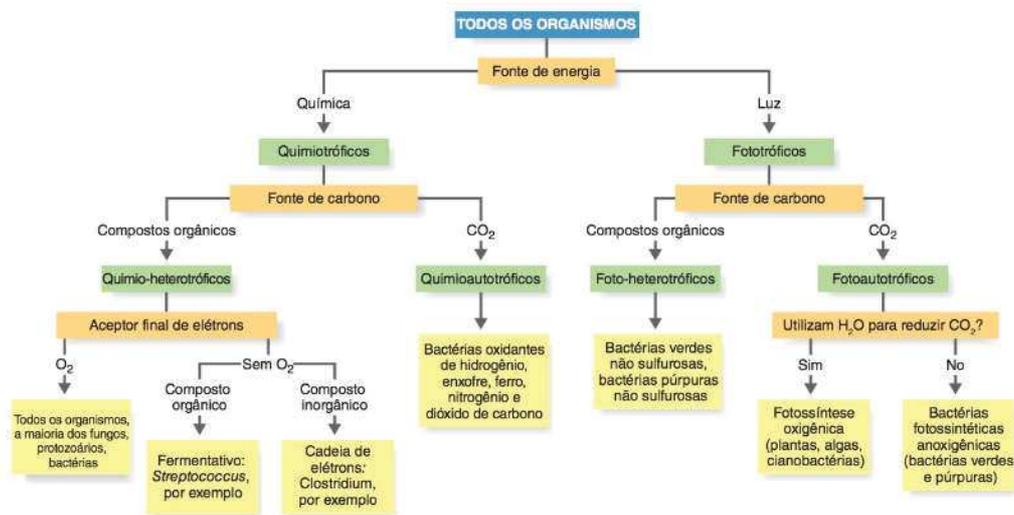
A grande variedade de microrganismos inclui desde procariotos como bactérias e arqueas, a eucariotos, como algas e fungos, além de organismos acelulares, como os vírus. Cada espécie pertencente a estes grupos tem seus próprios requisitos nutricionais e condições adequadas que serão discutidos a seguir. É importante ressaltar que todos os organismos necessitam de energia e matéria-prima para manter sua organização e vias metabólicas. Em geral, os organismos evoluíram para aproveitar de forma eficiente a energia disponível no ambiente. Fazem isso por meio de mecanismos como quimiossíntese, fotossíntese, respiração e fermentação, e podem ser divididos em dois grandes grupos, autotróficos e heterotróficos (Figura 4) (TORTORA *et al.*, 2016).

As inter-relações entre os diferentes tipos nutricionais são de suma importância no funcionamento do ecossistema. Os fototróficos (à semelhança das algas e dos vegetais) são produtores de compostos orgânicos e oxigênio por meio da oxidação da molécula de água e redução do dióxido de carbono. Os organismos quimio-heterotróficos (como os animais) se aproveitam dos produtos da fotossíntese via cadeia trófica. Por outro lado, nosso planeta seria completamente diferente se as carcaças de animais e plantas se acumulassem no solo. Entretanto, os quimio-heterotróficos, decompositores saprofiticos como fungos e bactérias, degradam a matéria orgânica morta em compostos orgânicos e inorgânicos menores (dióxido de carbono, nitratos, fosfatos) que serão depositados no solo, na água e no ar. Estes compostos são, em seguida, utilizados e reciclados pelos quimiotróficos (TORTORA *et al.*, 2016).

Outros organismos, como os fungos micorrízicos, formam associações mutualísticas com plantas, sendo alguns simbioses obrigatórios, não vivendo fora do hospedeiro. Tais microrganismos são capazes de criar associações mutualísticas com as raízes da maioria das plantas onde as mesmas suprem o fungo com energia para crescimento e manutenção via produtos fotossintéticos, enquanto o fungo provê a planta com nutrientes e água (BERBARA *et al.*, 2006). Dentro destes benefícios pode-se destacar o aumento de crescimento de plantas (COSTA *et al.*, 2001), melhoria das condições nutricionais, em especial de fósforo (CARNEIRO *et al.*, 2004) maior produção de matéria seca (COSTA *et al.*, 2001) e tolerância a estresses diversos principalmente hídrico (CARNEIRO *et al.*, 2004; CAVALCANTE *et al.*, 2001). Entretanto, a diferença

nas respostas de crescimento entre plantas micorrizadas e não micorrizadas depende de fatores tais como a disponibilidade de nutrientes no solo, nível de colonização da raiz (MOREIRA; OLIVEIRA, 2010) e também pela eficiência do fungo em colonizar a raiz bem como dependência da planta, sendo modulado pelo ambiente (SIQUEIRA *et al.*, 2010). As condições do ambiente podem influenciar no nicho nutricional do organismo.

**Figura 4** - Classificação dos microrganismos quanto à fonte de Carbono e de Energia para o seu crescimento.



Fonte: TORTORA *et al.* (2016).

A presença de oxigênio é um fator primordial que interfere diretamente na variedade de microrganismos. Na sua ausência haverá predominantemente organismos anaeróbicos, capazes de realizar respiração anaeróbica ou fermentação. Fermentação é um termo que deriva do latim *fervere* (ferver), em decorrência do aparecimento de bolhas promovido pela produção de dióxido de carbono resultante da ação de micro-organismos (leveduras ou bactérias) sobre o material orgânico. Segundo FERREIRA (2007), existem dois tipos de fermentação: Fermentação aeróbica: ocorre na presença de oxigênio do ar. Exemplo: fermentação do ácido cítrico; Fermentação anaeróbica: ocorre na ausência de oxigênio. Exemplo: na fermentação da cerveja. Na ausência de oxigênio estes organismos quebram moléculas orgânicas como a glicose para adquirir energia. Como não há participação do oxigênio nesse processo, após a fosforilação e quebra da glicose em duas moléculas de ácido pirúvico, os elétrons são entregues à molécula de piruvato via NADH, reduzindo e a convertendo em outros compostos.

Microrganismos diferentes podem apresentar vias fermentativas distintas, as quais são classificadas conforme seus produtos finais, que possuem muitas aplicações industriais. Por exemplo, certas leveduras (*Saccharomyces spp.*) e bactérias (*Zymomonas spp.*) convertem ácido pirúvico em álcool etílico (etanol) e CO<sub>2</sub>. Tais leveduras são utilizadas para a fabricação de vinho, cerveja e outras bebidas alcoólicas, além do pão (TORTORA *et al.*, 2016). Um grupo de bactérias Gram-positivas, chamadas bactérias do ácido láctico, converte ácido pirúvico em ácido láctico. Essas bactérias são utilizadas para a fabricação de vários produtos alimentícios, incluindo queijos, iogurte, picles e salsichas curadas. Em células musculares humanas, a falta de oxigênio durante exercício extremo, exercícios que exijam alto consumo de energia em um curto período de tempo, resultam na conversão do ácido pirúvico em ácido láctico. A presença do ácido láctico no tecido muscular é a causa da dor que se desenvolve nos músculos exaustos. Várias espécies de *Streptococcus sp.*, bactérias da cavidade oral, convertem a glicose em ácido láctico, que ataca o esmalte dentário, causando cárie (ENGELKIRK *et al.*, 2012). Aditivos usados na indústria alimentícia, como o ácido cítrico (empregado como intensificador de sabor, antioxidante em óleos e gordura e agente tamponante de geléias e gelatinas) podem ser obtidos por oxidação parcial aeróbica de carboidratos (principalmente sacarose) e pela ação de certos fungos, entre os quais *Aspergillus niger*, *Aspergillus wentii*, *Mucor spp.* (FERREIRA, 2007). Este insumo é muito utilizado nas indústrias de alimentos, refrigerantes, medicamentos, tintas e outras.

**Quadro 1** – Lista de exemplos de microrganismos associados a determinados tipos de fermentação e seus produtos finais. TORTORA *et al.*, 2016.

| <b>Tipo de fermentação</b> | <b>Produto final</b>    | <b>Exemplos</b>                                      |
|----------------------------|-------------------------|--|
| <b>Alcoólica</b>           | Álcool etílico (etanol) | Leveduras. Fabricação de vinho e pão.                |
| <b>Lática</b>              | Ácido láctico           | Bactérias. Fabricação de iogurte.                    |
| <b>Acética</b>             | Ácido acético           | Bactérias. Fabricação do vinagre.                    |
| <b>Butírica</b>            | Ácido butírico          | Bactérias. Modificam as características da manteiga. |

#### 4.2.2 Desenvolvimento da prática.

A fermentação pode ser utilizada facilmente como ferramenta pedagógica. Nesta atividade podemos perceber os produtos metabólicos e discutir as respectivas utilidades, importância e aplicação dos organismos envolvidos. Basicamente, fornecemos nutrientes e condições adequadas para que leveduras possam metabolizar os compostos orgânicos contidos na solução oferecida. Nesta atividade oferecemos leite e amido de milho para atender às necessidades nutricionais da levedura *Saccharomyces cerevisiae* e observarmos a velocidade de seu metabolismo pela formação do gás carbônico (CO<sub>2</sub>). A levedura *Saccharomyces cerevisiae* é um microrganismo aeróbio facultativo, que tem a capacidade de se ajustar metabolicamente a ambiente que contenha oxigênio ou em ambientes anaeróbicos.

Os produtos finais do metabolismo do açúcar dependem das condições ambientais em que a levedura se encontra. Na presença de oxigênio, o açúcar é transformado em biomassa, CO<sub>2</sub> e água. Na ausência de oxigênio, a maior parte da glicose será convertida em etanol e CO<sub>2</sub>, em um processo chamado de fermentação alcoólica (TORTORA *et al.*, 2016).

Estas leveduras apresentam forma elípticas, medindo entre 6 a 8 µm de comprimento por 5 µm de largura. Podem se reproduzir rapidamente de forma assexuada, por brotamento (ou gemulação), incorporando os carboidratos em sua biomassa. Algumas condições devem ser atendidas: a melhor temperatura para o seu crescimento é entre 20 e 30°C, com o pH entre 4,5 e 5,5 (SILVA *et al.*, 2001). Como visto anteriormente, esta levedura é um organismo mesófilo, dependente de glicose para seu metabolismo, e que, de maneira geral, prefere meios ácidos.

A atividade foi preparada por meio da adição do meio de cultura, com as leveduras em tubetes, que foram fechados com uma bexiga, conforme Figura 5. O meio é de simples preparação: basta adicionar leite até preencher 1/3 do tubete, 3g de sacarose, 3 gramas de amido e 5g de levedura *Saccharomyces cerevisiae*. É interessante que condições diferentes sejam exploradas e comparadas, expondo os meios a variação de temperatura e pH, conforme exemplo mostrado na Figura 6. Observe que existem diferentes tipos e marcas de leveduras disponíveis no mercado. É necessário testar o experimento antes de levar para os alunos, visto que a quantidade de levedura necessária pode variar e influenciará no tempo que o balão será inflado.

**Figura 5:** Foto demonstrando a aplicação da aula sobre Metabolismo Microbiano.

Diferentes meios nutritivos podem ser preparados para suportar o crescimento da levedura. Como pode ser visto, um balão foi colocado na abertura de cada tubete. A fermentação será observada por meio do balão, este irá inflar pela pressão dos gases proveniente do processo fermentativo.



Fonte: elaborado pelo autor.

**Figura 6:** Foto demonstrando a aplicação da aula sobre Metabolismo Microbiano. O

balão inflado é evidência da produção de CO<sub>2</sub> pela fermentação pelas leveduras presentes no meio nutritivo utilizado. O tubo a foi exposto à temperatura ambiente e o balão do tubo b ficou mergulhado em água morna a 37°C. Como evidenciado acima, a temperatura influenciou no resultado, visto que o balão do tubo b inflou em um tempo bem menor quando comparado com o tubo a.



Fonte: elaborado pelo autor.

### 4.2.3 Aplicação da prática em sala de aula.

Esta atividade foi aplicada para trinta e um alunos de duas turmas do terceiro ano, apenas metade de cada turma participou. Todos os alunos receberam o Roteiro 2 para guiá-los durante a prática.

Durante a prática, os alunos foram separados em equipes de 5 e cada equipe recebeu o material necessário, bem como um roteiro a ser seguido. Cada equipe norteou-se pelo roteiro e não tiveram maiores problemas em montar o experimento.

A maior dificuldade é adequar corretamente a quantidade de levedura, o fermento biológico que deve ser em torno de duas gramas. Existem no mercado diversas marcas e tipos diferentes de fermento biológico que podem ser adquiridos em supermercados ou padarias. A escolha do fermento influencia no tempo necessário para que a fermentação ocorra e crie pressão para inflar o balão. Portanto, faz-se necessário a execução prévia da aula, por parte do professor, para adequar a quantidade de fermento, sendo que uma quantidade maior de levedura irá produzir mais gás e o balão inflará mais rápido. Deve-se atentar também à temperatura, que não deve estar muito elevada e nem muito baixa. Pode ser usado leite morno e leite em temperatura ambiente, sem necessidade de banho-maria. As adequações devem ser feitas para que a fermentação ocorra no período de uma aula de cinquenta minutos.

Esta prática abre um leque de discussões sobre a importância, as aplicações de microrganismos, sua nutrição e necessidades fisiológicas. O emprego biotecnológico de microrganismo é um assunto que geralmente desperta interesse nos alunos. Portanto, algumas questões podem ser discutidas:

- Meios de processamento e beneficiamento de alimentos; embutidos, vinho, pão, cerveja, dentre outros.
- Produção de combustíveis e energias renováveis.
- Tratamento de efluentes e resíduos industriais.
- Conservação de alimentos.
- Influência da temperatura e pH no metabolismo de microrganismos.

Outras questões podem ser levantadas para despertar o senso crítico dos alunos. Eles devem ser capazes de analisar situações do cotidiano e identificar processos tecnológicos que envolvam processos fermentativos.

Esta atividade pode ser trabalhada de forma interdisciplinar com conteúdos de química.

## Roteiro 2: Fermentação

Nome:

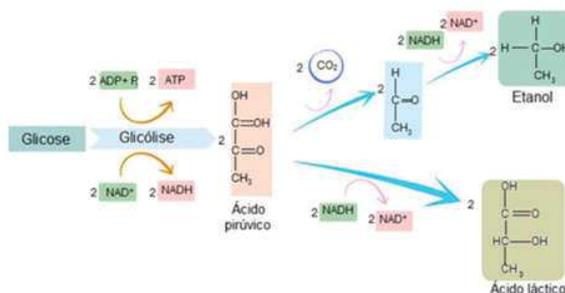
Turma:

Data:

### 1. INTRODUÇÃO

A fermentação compreende um conjunto de reações enzimaticamente controladas, através das quais uma molécula orgânica é degradada em compostos mais simples, liberando energia. *Saccharomyces cerevisiae* é um organismo eucarioto unicelular que pertence ao reino dos Fungos. Esta levedura utilizada na produção do pão e também da cerveja, além de ser usada para a produção de etanol.

**2-OBJETIVO:** Demonstrar o processo de fermentação em leveduras e associá-lo com o crescimento microbiano



### 3-MATERIAIS:

Béquer.  
colher.  
balança.  
Amido.  
Azul de metileno  
Açúcar.  
Leite.  
*Saccharomyces cerevisiae* (fermento biológico).  
2 Tubetes.  
2 Balões de festa.

### 4-PROCEDIMENTOS/METÓDOS:

Fermentação

- Coloque 5g de levedura, 3g de amido e 3g de açúcar em dois tubetes.
- Acrescente leite até completar 1/3 do tubete.
- Encaixe uma bexiga em cada tubete e coloque um deles em banho Maria a aproximadamente 37°C. Deixe o outro em temperatura ambiente.

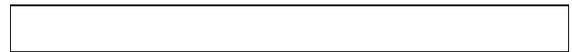
### 5-RESULTADOS

A) Qual gás é expelido? Em qual dos tubetes a bexiga encheu mais rápido? Explique!

|  |
|--|
|  |
|  |
|  |
|  |
|  |
|  |

C) Descreva as principais características das leveduras observadas e a importância ecológica dos fungos e as vantagens comerciais do processo de fermentação.

|  |
|--|
|  |
|  |
|  |
|  |
|  |
|  |



### 4.3 AULA PRÁTICA: CULTIVO DE MICRORGANISMOS

#### 4.3.1 Fundamentação teórica para o professor

Microrganismos podem ser cultivados em ambiente controlado para fins de estudo, diagnósticos ou biotecnologia. É necessário criar condições nutricionais físicas e químicas que favoreçam seu desenvolvimento. Os meios de cultura devem ser constituídos de substâncias que possam ser utilizadas como fonte nutricional pelos diversos tipos de microrganismos ou deve-se selecionar os nutrientes para favorecer o desenvolvimento de apenas um grupo ou uma espécie. Deve ser fornecido de fontes de carbono (proteínas, açúcares), fontes de nitrogênio (peptonas) e fontes de energia. São também necessários alguns sais inorgânicos, vitaminas e outras substâncias favorecedoras do crescimento (SILVA, 1999).

Existem vários tipos de meios de cultura que serão descritos a seguir:

#### **Classificação dos Meios de Cultura:**

Classificação quanto à natureza:

- **Animado:** São constituídos por células vivas em animais de laboratório, tecidos vivos, etc.
- **Naturais, inanimados e semi-sintéticos:** Não possuem células vivas, mais possuem componentes da natureza, e são preparados por diversas misturas de nutrientes. Exemplos de substâncias naturais: Extratos de carne (proteínas solúveis, carboidratos, sais), Peptonas, Extratos de levedura, sangue, soro, leite, extrato de solo, fluido de rumem bovino, etc.
- **Sintético ou Artificiais:** também são meios inanimados que são formados por substâncias químicas preparadas em laboratório. Exemplos: MAS (ágar Macconkey sorbitol 5-bromo 4-cloro 3indoxil  $\beta$ -D-glucoronídeo) é um meio de cultura seletivo diferencial para plaqueamento diferencial de *E. coli* O157:H7.

Classificação quanto à consistência (SILVA, 1999):

- **Meios líquidos:** Neste meio os nutrientes estão dissolvidos em solução aquosa. O crescimento bacteriano pode ser identificado pela turvação e alteração do seu aspecto turvo.

- **Meios semi-sólidos:** Estes possuem em sua composição nutrientes, uma pequena porcentagem de um polissacarídeo proveniente de algas marinhas, chamado ágar. São comercializados e utilizados em tubos a partir desse tipo de cultura, permitindo observar a motilidade bacteriana.
- **Meios sólidos:** são aqueles que apresentam uma concentração maior de ágar, além dos nutrientes. Encontramos esses meios dispostos em tubos ou em placas de Petri, dependendo da sua finalidade. No cultivo realizado em meios sólidos, a bactéria se desenvolve formando colônias, permitindo então o seu isolamento e estudo morfológico, como visto na Figura 4.3. Já a cultura em ágar inclinado (tubo) fornece somente o crescimento bacteriano com a obtenção de uma biomassa de microrganismos.

Classificação quanto à função (Adaptado de SALVATIERRA, 2014):

- **Meios simples:** Possuem apenas os componentes essenciais para o crescimento de microrganismos pouco exigentes. Por exemplo, caldo simples;
- **Meios de enriquecimento:** Substâncias enriquecem o meio simples. Estas substâncias enriquecedoras que são frequentemente utilizadas para produção desses meios são o sangue, o soro, o ovo, o extrato de leveduras etc. Como exemplo de ágar rico podemos citar o ágar sangue e o ágar chocolate;
- **Meios seletivos:** Favorecem o desenvolvimento de microrganismos específicos não favorecendo outras espécies, comumente são adicionadas substâncias inibidoras. São exemplos de ágar seletivo o ágar *Salmonella Shigella* e o ágar manitol;
- **Meios diferenciais:** Alguns grupos de microrganismos com características definidas e semelhantes tem seu desenvolvimento favorecido, este mecanismo permite diferenciar um grupo ou uma espécie de microrganismo. Podem ser citados como exemplos de ágar diferencial o ágar MacConkey e o ágar CPS;
- **Meios de manutenção:** Esses são desenvolvidos com a finalidade de manter a viabilidade de uma cultura bacteriana. Pode ser citado como exemplo o ágar nutriente (conservantes de cepas bacterianas).

### 4.3.2 Desenvolvimento da prática.

Os microrganismos podem ser constituídos de células eucariotas ou procariotas e, em sua maior parte, só podem ser vistos por microscópio. As células procariotas são menores e muito mais simples quanto à complexidade e presença de estruturas especializadas quando comparadas com as células eucarióticas. Em contrapartida, as células procarióticas têm uma relação superfície-volume, que auxilia a difusão dos nutrientes para todas as partes da célula. Portanto, ser menor e mais simples não representa necessariamente uma desvantagem evolutiva, dependendo, portanto, do nicho explorado e das condições ambientais a que são expostas.

Uma das dificuldades de se estudar o mundo microbiológico é o tamanho reduzido dos organismos. Devem ser empregados equipamentos de valor elevado e técnicas refinadas tornando algumas destas práticas inviáveis no âmbito escolar. A aula prática sobre Meios de Cultura foi elaborada para contornar essas limitações. Os materiais e a maneira como a aula prática foi desenvolvida está descrita abaixo:

Na elaboração da aula, vários tipos de meios de cultura foram testados, utilizando os materiais listados:

- Béquer ou copo com capacidade para 250 ml;
- Colher ou bastão;
- Filtro para café;
- Isqueiro;
- Vela;
- Placas de Petri ou vasilha plástica conforme a Figura 7
- Filme de PVC;
- Papel alumínio;
- 250ml de Água filtrada ou destilada;
- 2,5g Sacarose (Açúcar);
- 1g de Sal;
- ½ cubo de Caldo Knorr ou 2,5 g caldo de peito de franco batido e coado;
- 5g de Ágar ou 15g de gelatina incolor.

Considerando-se que os meios de cultura devem ser esterilizados, e que este processo envolve altas temperaturas e fogo, é necessário que o meio de cultura seja preparado antes da aula, pelo professor, e levado aos alunos no dia da prática. O preparo dos meios de cultura foi realizado da seguinte maneira:

- Colocar 250 mL de água filtrada em um copo ou béquer e deixá-lo em banho-maria por cerca de 5 minutos;
- Juntar o 2,5% (5g) de ágar-ágar ou ágar nutriente, 1/2 cubo de caldo Knorr ou 2,5g de peito de frango batido. Utilizar uma colher para mexer e ajudar a diluir o ágar-ágar. O meio também pode ser solidificado com 15g de gelatina incolor.
- Adicionar 1g de sal e 2,4 g de açúcar.
- Retirar do banho-maria após 10 minutos e tampar o copo com filme de PVC e papel alumínio.
- Esterilização do material em panela de pressão (baseado em Silva, 2009):
- Em uma panela de pressão de tamanho médio, colocar no fundo pequenas bolas amassadas de papel alumínio, procurando deixá-las niveladas (planas) e encher com água até mais ou menos a metade da altura do papel alumínio. As bolas de papel servirão para estabilizar a vidraria enquanto ferve e evitarão o contato com o fundo da panela que está com a temperatura mais elevada;
- Colocar os potes, placas de Petri caso sejam de vidro (tampas separadas), o meio de cultura no copo e o que mais precisar ser esterilizado, envoltos em papel alumínio, tomando cuidado para não deixar derramar o meio de cultura durante o processo. É recomendável que os potes ou placas de Petri não sejam vedados e sejam apenas embalados, pois, estes materiais podem se quebrar com a pressão dentro da panela;
- Caso seja utilizado recipientes de plástico conforme a Figura 7, basta esterilizá-los com álcool 70% ou água sanitária. Os recipientes plásticos não devem ser esterilizados em panela de pressão, visto que o calor pode derrete-los.
- Tampar bem a panela (deve estar bem vedada) e ligar o fogo. Espere até que o vapor comece a sair pela válvula;
- Assim que começar a sair vapor, aguarde por 15 minutos.
- Após 15 minutos, desligar o fogo e aguarde a panela perder a pressão para abri-la.
- Distribuição dos meios de cultura nos recipientes.
- Retirar o meio da panela de pressão, pôr em banho-maria (o meio assim que esfria se solidifica) ainda tampado e aguardar cerca de 10 minutos, até que o meio fique líquido;
- Acender uma vela e dispor os potes e placas estéreis, ainda embalados, próximos à chama; A chama cria um fluxo de ar quente ascendente que evita a queda de microrganismos no material esterilizado.

- Tirar o meio do banho-maria e distribuir nas placas e potes estéreis, tomando cuidado para não contaminar o meio e os recipientes.
- Tampar as placas e potes, de modo que estes permitam uma visualização clara do meio de cultura. Guarde-os com a tampa para baixo após a solidificação do meio. Após todos os passos descritos acima, seu material já está pronto para a aula prática.

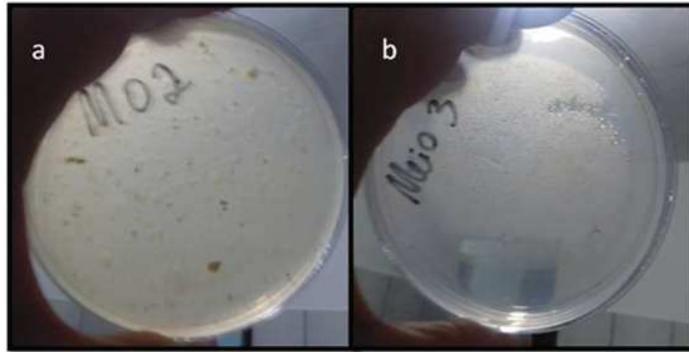
**Figura 7** – Desenvolvimento da aula prática sobre Cultivo de Microrganismos. Foto demonstrando os meios de cultura preparados para a aula sobre Cultivo de Microrganismos.

Placas de Petri e recipientes plásticos tipo sobremesa com meio de cultura solidificado prontos para inoculação. Os potes plásticos foram adquiridos em loja de embalagens e substituem muito bem as placas de Petri. Como são de plástico devem ser esterilizados com álcool 70% ou água sanitária (hipoclorito de sódio). A bancada deve ser desinfetada com hipoclorito de sódio.



Fonte: elaborado pelo autor.

**Figura 8** -. Desenvolvimento da aula prática sobre Cultivo de Microrganismos. Meios de cultura solidificados e prontos para a inoculação. Meio **a** enriquecido com ½ cubo de Caldo Knorr para 250ml de água. Meio **b** enriquecido com 2,5 ml de peito de frango triturado e coado para 250ml de água. Ambos os meios foram solidificados com 2% de ágar.



Fonte: elaborado pelo autor.

Na Figura 8 estão ilustrados dois meios de cultura preparados. Observe que a placa **a** apresenta aspecto ligeiramente amarelado contendo vestígios de ervas, contudo, transparência satisfatória. O meio **b** é praticamente transparente e incolor, entretanto, apresenta pequenas fibras visíveis, aparentemente feixe de miócitos que passaram pela malha do coador.

As duas composições de meio de cultura exposta acima apresentaram crescimento microbiano satisfatório. Contudo o meio contendo Caldo Knorr apresentou maior número de unidades formadoras de colônia por área em um período de três dias de incubação à temperatura ambiente. Entretanto, o meio enriquecido por extrato de peito de frango apresentou maior transparência, isso facilitou a contagem das colônias. Os meios solidificados com gelatina incolor apresentaram características semelhantes ao exposto acima, contudo, este liquefaz após quatro dias de incubação.

Conforme será descrito a seguir, dois roteiros são propostos baseados na produção dos meios de cultura acima.

#### **4.3.3 Aplicação da prática em sala de aula.**

Esta atividade foi aplicada para os alunos do primeiro ano abrangendo duas turmas do ensino médio, utilizamos duas aulas. Metade dos alunos de cada turma participou, a outra metade será o grupo controle. Cada turma foi atendida separadamente, 32 alunos no total. Cada aluno recebeu o Roteiro 3 para guiá-lo durante a aula prática.

Há várias possibilidades de atividades e abordagens que podem ser aplicadas com o uso de diferentes tipos de meio de cultura. Os alunos estavam estudando ciclos Biogeoquímicos em sala de aula, isto incluía poluição e doenças veiculadas pelo ar, portanto, optamos por trabalhar com fungos anemófilos cujos esporos são veiculados pelo ar. Segundo SIQUEIRA *et al.* (2010), a germinação de esporos de fungos necessita basicamente de umidade e temperatura adequada visto que já possuem componentes metabólicos e informações genéticas indispensáveis para a germinação.

Durante a primeira aula os alunos confeccionaram dispositivos que capturam partículas do ar. Os dispositivos consistem basicamente de pequenas bandeirinhas feitas de palitos de madeira e filtro de papel para café. Retângulos de papel de filtro devem ser cortado com dimensões de 10 x 20 cm. Cola deve ser espalhada por toda uma face, dê preferência para cola bastão, pois esta reterá partículas por mais tempo. O palito deve ser colado em uma das bordas menores conforme mostrado na Figura 9.

**Figura 9** – Desenvolvimento da aula prática sobre Cultivo de Microrganismos. Demonstração da aplicação da aula sobre Cultivo de Microrganismos - Fungos Anemófilos. O dispositivo mostrado é um retentor de partículas (Bandeirinhas). Eles foram confeccionados com palitos de picolé e tiras de filtro de papel para café. As tiras de papel possuem dimensões de 10 x 20 cm. Uma das faces foi impregnada com cola do tipo bastão. O suporte deve ser exposto em diferentes locais para captar esporos de fungos anemófilos.

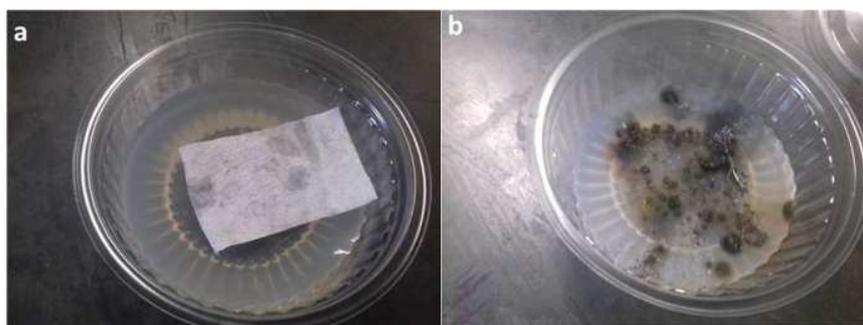


Fonte: elaborado pelo autor.

As bandeirinhas foram espalhadas pela escola e ficaram expostas durante uma semana. Durante alguns dias, a cola reteve partículas e esporos suspensos no ar até a cola secar. A porosidade do filtro de papel também ajudou no processo. A cola bastão foi utilizada visto que esta demora mais para secar quando comparada às colas convencionais. Durante o processo de montagem do experimento com os alunos, pode ser discutido a respeito da qualidade do ar em um recinto fechado com grande movimentação de pessoas, a importância dos fungos para os processos naturais e também sobre a importância do método de dispersão de esporos pelo ar.

Durante a segunda aula, as bandeirinhas foram analisadas segundo modificações visíveis à olho nu, como mudança de tonalidade e macro partículas retidas. Os esporos de fungos não podem ser vistos diretamente com facilidade, entretanto sua presença pode ser confirmada por métodos indiretos. Meios de cultura preparados previamente foram empregados, conforme descrito no desenvolvimento da prática. Algumas bandeirinhas foram retiradas do palito e colocadas sobre um dos meios de cultura e retirada após dez segundos. Este procedimento foi efetuado sob a chama de uma vela para evitar contaminação externa. A inoculação descrita está exposta na imagem a seguir (Figura 10).

**Figura 10** – Desenvolvimento da aula prática sobre Cultivo de Microrganismos. **a.** Inoculação do meio de cultura por meio do dispositivo retentor de partículas (bandeirinhas).  
**b.** Resultado três dias após a inoculação.



Fonte: elaborado pelo autor.

Nesta atividade foi utilizado meio de cultura solidificado e acondicionado em recipientes descartáveis com tampa e esterilizados por meio de hipoclorito de sódio (água sanitária). Após a solidificação do meio de cultura, os recipientes devem ser tampados e mantidos com a tampa para baixo até o momento da inoculação, este procedimento dificultará a contaminação. Alguns dias após a inoculação, podemos observar o crescimento de fungos

justamente onde o papel filtro tocou, repare que as colônias estão dentro de um retângulo delimitado pelas dimensões do papel filtro. Isto confirma que houve retenção de esporos de fungo pelo dispositivo (bandeirinhas).

Uma das dificuldades enfrentadas foi relacionada à administração do tempo. Deve-se levar um meio já inoculado que apresente crescimento fúngico. O professor deverá preparar previamente os meios de cultura e realizar a inoculação em alguns para que na segunda aula os alunos possam ter a oportunidade de realizar a inoculação em alguns meios e analisar o resultado em outros. As colônias de fungos levaram cerca de três dias após a inoculação para aparecerem.

Os alunos apresentaram dificuldade em determinar o que seria esporos de fungos e como são dispersados e germinam no ambiente. Perguntaram o que há de especial no meio de cultura aplicado que proporciona a germinação dos esporos fúngicos.

### Roteiro 3: Isolamento de fungos anemófilos.

Nome:

Turma:

Data:

**1-INTRODUÇÃO:** A poluição do ar acontece quando o lançamento de alguma substância na atmosfera, por ação antrópica (do homem) ou natural, torna-a direta ou indiretamente prejudicial à saúde humana ou ao meio ambiente. Como exemplo, o SO<sub>2</sub> lançado no ar, por veículos ou instalações industriais, pode provocar ou agravar problemas respiratórios ao serem inalados, além de contribuir para a formação da chuva ácida. O ar está repleto de partículas que podem ser apenas pó ou esporos de fungos.

#### 2-OBJETIVOS

Nesta atividade iremos investigar a qualidade do ar e a possível presença de esporos de fungos.

#### 3-MATERIAIS:

Filtro de papel  
Palitos de picolé ou churrasco.  
Cola bastão.  
Tesoura.  
Régua

#### 4-PROCEDIMENTOS:

1. Recorte o papel filtro no tamanho de 3 cm por 5cm.
2. Passe cola por toda superfície de um dos lados.
3. Cole o palito na borda menor do papel.
4. Coloque as folhas em locais de movimentação de pessoas.
5. Lâminas poderão ser preparadas pelo professor.

#### -RESULTADOS

1. Como ficaram as folhas após uma semana de exposição?

|  |
|--|
|  |
|  |
|  |
|  |
|  |
|  |

2. Esporos de fungo germinaram no meio de cultura?

Sim ( )                      Não ( )

3. Quais as condições para os esporos germinem?

|  |
|--|
|  |
|  |
|  |

4. Qual a vantagem de esporos serem dispersados pelo ar?

|  |
|--|
|  |
|  |
|  |

Sugerimos a seguir um segundo roteiro (Roteiro 4) para ser trabalhado com meios de cultura. Trata-se de uma prática referente aos bons hábitos de higiene. Segundo a ANVISA, várias doenças, como hepatite, gripe e várias parasitoses poderiam ser evitadas pelo simples ato de lavar as mãos corretamente, principalmente antes de comer. O manuseio de qualquer material pode contaminar as mãos com uma série de microrganismos que podem ser inofensivos ou patogênicos. Vivemos compartilhando objetos, no trabalho, escola transporte público e vias públicas. É inevitável viver em ambientes livres de contaminantes potencialmente nocivos, entretanto, a pele e outras barreiras que protegem o organismo evitam que patógenos invadam o corpo. Contudo, a boca e outras mucosas são áreas que servem de entrada para estes hóspedes indesejáveis.

Nesta atividade os alunos poderão observar como o hábito de lavar as mãos pode interferir na quantidade e diversidade dos microrganismos que crescerão no meio de cultura. Deve-se preparar meios de cultura como descrito anteriormente. Dois alunos irão lavar as mãos normalmente (assumindo que eles não realizam a técnica correta de lavagem em seu cotidiano) e outros dois utilizando a técnica correta. Cada aluno irá tocar um meio de cultura com dois dedos durante três segundos. Após este procedimento, os meios devem ser mantidos fechados com a tampa para baixo em temperatura ambiente até o momento de análise das colônias. O tempo de incubação é em média três dias, portanto é necessário separar duas aulas com intervalo de alguns dias entre elas ou fazer a inoculação e a análise dos resultados no mesmo dia, levando-se meios já inoculados com crescimento de colônia observável e meios a serem inoculados.

Pode-se discutir a importância de manter hábitos saudáveis de higiene e sobre os organismos que provocam doenças. Espera-se que os meios inoculados pelos alunos que não higienizaram as mãos adequadamente, tenham maior número de colônias e maior diversidade.

#### Roteiro 4: Importância da higienização das mãos

Nome:

Turma:

Data:

**1-INTRODUÇÃO:** Existe uma grande variedade de microrganismos que muitas vezes agem silenciosamente ao nosso redor. São conhecidos mundialmente por provocarem doenças e causar perdas econômicas devido à degradação de alimentos e equipamentos, entretanto, sua importância vai muito além dos prejuízos e dos danos à saúde. Participam ativamente nos ciclos biogeoquímicos, ciclagem de nutriente, produção de alimentos como iogurte, queijos e cerveja, produção combustíveis e remédios, dentre outros. Estes organismos não devem ser menosprezados e devem ser entendidos como mantenedores da vida, trabalham em conjunto para manter as condições ambientais favoráveis.

**2-OBJETIVO:** Avaliar a eficiência de diferentes meios de higienização das mãos. Evidenciar a importância das boas práticas de higiene pessoal.

**3-MATERIAIS:** Recipientes contendo meio de cultura.

#### 4-PROCEDIMENTOS

- Inoculação:
  - Separe cinco potes contendo o meio de cultura solidificado.
  - Oriente dois alunos a lavar as mãos com a técnica adequada.
  - Chame outros dois alunos que não lavaram as mãos.
  - Cada um dos quatro alunos deverá inocular no meio de cultura encostando suavemente o dedo durante três segundos.
  - Tampe bem os recipientes e mantenha-os com a tampa para baixo.
  - Um recipiente deve ser mantido sem inoculação. Este será o controle para averiguar a esterilização.

Espera-se que os microrganismos se multipliquem no meio. Leva cerca de três dias.

#### 5-RESULTADOS:

- Observe o que aconteceu. Anote se houve ou não crescimento microbiano.
- Compare o crescimento dos diferentes tratamentos das mãos (limpas x mãos sujas).
- O resultado obtido pode ser aplicado na conservação de alimentos? Justifique!

|  |
|--|
|  |
|  |
|  |
|  |
|  |

- Qual a importância de se lavar as mãos da maneira correta?

|  |
|--|
|  |
|  |
|  |
|  |

#### 4.4 AULA PRÁTICA: DECOMPOSIÇÃO DE RESÍDUOS ORGÂNICOS.

##### **4.4.1 Fundamentação teórica para o professor.**

A ciclagem de nutrientes é um dos temas abordados ao longo do ciclo regular de ensino. Este conteúdo é abordado quase em sua totalidade apenas de forma teórica, havendo pouca ou nenhuma atividade prática. Portanto, se torna necessário a elaboração e aplicação de atividades práticas que abordem a ciclagem biológica de nutrientes. A estrutura de todo ecossistema depende de organismos produtores e organismos decompositores como fungos e bactérias. Os decompositores não são capazes de fixar dióxido de carbono como as plantas fazem, portanto, depende de outras fontes orgânicas de carbono como folhas, troncos, frutos e carcaças de animais. Os decompositores desempenham papel muito importante nos ambientes, liberam para o ambiente vários elementos químicos que estavam presentes nos restos dos seres vivos. Caso estes elementos não se tornarem disponíveis novamente para os produtores, todo o equilíbrio do ambiente seria afetado.

No Brasil há uma enorme produção de resíduo, visto que cada habitante é responsável pelo descarte de quase um quilo de lixo por dia, chegando a um total de cerca de 180 mil toneladas diárias. Desse montante, aproximadamente 76% são descartados a céu aberto; 10%, em aterros sanitários; menos de 2% do lixo vai para usinas de compostagem e incineração; 13% vão para aterros controlados; e apenas 3% deste montante é reciclado. AMORIM; MOREAU (2003) destacam que os livros de biologia e geografia voltados ao ensino fundamental e médio, geralmente associam o solo com atividades agrícolas, não relacionam o solo como integrante do ambiente urbano e os impactos promovidos pelas modificações humanas. Muitos alunos vivem em áreas urbanas, portanto, este tipo de abordagem não está contextualizado ao modo de vida e a localidade. O professor deve fazer essa aproximação por meio de questionamentos e atividades, a seguir serão sugeridas algumas atividades práticas que abordam sobre microrganismos e suas interações para favorecer a dinâmica do solo.

Sugerimos nesse material algumas atividades que evidenciam o tempo de decomposição dos diferentes materiais e a importância de se utilizar meios de conservação dos alimentos.

Uma parte dos resíduos domésticos é composta por lixo orgânico que acaba sendo descartado no ambiente sem nenhum tipo de tratamento. Embora o lixo úmido seja composto por material orgânico, quando levamos em conta a quantidade desse resíduo produzido por uma cidade e que seu descarte acontece muitas vezes de forma irregular e no mesmo local, acaba sendo danoso para a natureza. Existem alternativas para que residências e instituições tratem de forma sustentável seus resíduos orgânicos (ZAPPAROL, 2008).

A separação dos resíduos em pelo menos duas frações é um modelo que atende bem às necessidades atuais de destinação de resíduos. Desta forma os resíduos orgânicos são valorizados, facilitando o processo de compostagem o que garante a qualidade do adubo final. Também diminui a contaminação dos resíduos recicláveis secos (papel, plástico, vidro, metal entre outros, geralmente são encaminhados para centrais de triagem de resíduos. Nessas centrais, catadores separam os diferentes tipos de resíduo que pode ser encaminhado para as indústrias de reciclagem. Não é interessante que uma grande quantidade de resíduos orgânicos chegue às usinas de triagem, dificulta a separação dos resíduos e as condições de trabalho dos catadores serão prejudicadas. Além disso, a separação dos resíduos permite reduzir a quantidade de lixo enviada aos aterros, será enviado apenas o que realmente não pode ser aproveitado. Infelizmente as políticas públicas voltadas à destinação correta dos resíduos urbanos ainda são deficientes. As cidades ainda enviam este material para aterros sanitários onde há enorme desperdício de matéria prima que poderia ser reintroduzida no ciclo produtivo poupando recursos naturais, aproveitando os resíduos orgânicos para fornecer energia na forma de biogás bem como fertilizantes naturais. Com isso seria possível reduzir o enorme aporte de resíduos que são descartados diariamente por todo o mundo (ZAPPAROL, 2008).

A fertilização do solo por meio da compostagem é um processo natural que se inicia, por exemplo, quando uma folha cai no solo e se mistura com outros vestígios de matéria orgânica como galhos, fezes, restos de animais dentre outros. O ambiente é capaz de reciclar os nutrientes retidos na matéria orgânica para o meio de intrincados processos que envolvem animais e vários microrganismos. A matéria orgânica antes de ser decomposta é reduzida em partes menores por insetos como as formigas e anelídeos como as minhocas, isso facilita a ação de bactérias, protozoários e enzimas de fungos devido ao menor tamanho das partículas. Este material pode passar pelo trato digestivo de organismos como cupins onde será degradado por sua microbiota intestinal resultando em excremento decomposto e após a ação dos microrganismos do solo, os nutrientes

estarão disponíveis para as plantas. A compostagem é um processo em que a matéria orgânica é degradada, são observadas grandes transformações biológicas e a ação de várias reações químicas que resultam em composto orgânico usado para fertilizar e melhorar as qualidades físico-químicas do solo, sem prejudicar o meio ambiente e melhorando. Os microrganismos encontrados no solo, como fungos e bactérias, promovem tais transformações. Através da degradação da matéria orgânica, esses organismos retiram o carbono e os demais nutrientes necessários para seu desenvolvimento e sobrevivência (CAMATTI SARTORI *et al.*, 2012).

A compostagem é uma atividade prática de baixo custo, que apresenta aos alunos funções benéficas desempenhadas pelos microrganismos na ciclagem de nutrientes no solo, auxiliando a compreensão do papel microbiano na ecologia. Vários estudos mostram que atividades práticas associadas ao ensino de Biologia são capazes de aproximar os conteúdos da sala de aula aos fenômenos naturais. Muitas vezes os conteúdos abordados estão distantes da realidade dos alunos, e acabam por se tornar superficiais, não sendo assimilados e não gerando agentes modificadores (BARBÊDO; MONERAT, 2014). A melhor abordagem dos conteúdos de Biologia depende prioritariamente do comprometimento dos professores na tentativa de superar algumas das dificuldades de aprendizagem dos estudantes ao utilizar alternativas didáticas que possam tornar as aulas mais agradáveis, interessantes e dinâmicas (OLIVEIRA, 2016). As aulas práticas de Microbiologia com a utilização de materiais de baixo custo e a abordagem de conteúdos presentes no cotidiano são alternativas que aperfeiçoam o processo de ensino-aprendizagem nesta área, enfatizando as funções microbianas no ambiente e no organismo humano (BARBÊDO; MONERAT, 2014). Nesse sentido, um trabalho realizado em escolas públicas de Araguari (MG), mostrou resultados satisfatórios do envolvimento dos alunos no tratamento de resíduos sólidos por meio da compostagem, o que permitiu a construção de conceitos e valores sobre o ambiente (SANTOS; FEHR, 2017). Tal fato, pode suavizar a falta de conexão entre os conteúdos trabalhados na sala de aula com o ambiente natural, reforçando a contextualização como mecanismos para difundir a Ciência e proporcionar a construção de uma identidade ambiental (TUGURIAN; CARRIER, 2016). Outro estudo realizado em escolas de Portugal mostrou que integrar a compostagem doméstica com hortas pedagógicas potencializa a prática de ensino-aprendizagem (CARVALHO; LIMA, 2010). Este tipo de abordagem aproxima os discentes do objeto físico de estudo, fazendo com que eles possam ver na prática o que aprenderam nas aulas. Desta forma podem vivenciar alguns processos biológicos que

envolvem microrganismos, sedimentar o aprendizado e se envolver emocionalmente acerca de problemas comuns presente em seu cotidiano.

Diferentes métodos de compostagem buscam controlar e favorecer o processo natural de degradação da matéria orgânica, dentre eles se destaca a compostagem termófila em leiras fixas com aeração passiva por ser uma alternativa barata de atividade prática que emprega a ação dos microrganismos nos ciclos naturais. Consiste basicamente na montagem de leiras em camadas dos diferentes materiais orgânicos resíduos vegetais, esterco, resíduos orgânicos industriais, serragens, entre outros, com revolvimentos ou aeração passiva ou forçada. A seguir será sugerida uma proposta de aula prática por meio da construção de composteiras. A compostagem sofre diferentes estágios como fase termófila, mesófila e maturação (KIEHL, 2002).

#### **4.4.2 Desenvolvimento da prática**

Esta atividade pode ser desenvolvida utilizando-se materiais que estão disponíveis em casa ou na escola. Em suma, se trata da observação de um processo que ocorre espontaneamente na natureza. Pode ser executada em diferentes proporções a compostagem é ecologicamente correto, portanto, busca-se enfatizar a importância e a facilidade de empregar esse processo no âmbito familiar.

Para o preparo da atividade usamos recipientes como garrafas de refrigerante e embalagens descartáveis. É necessário coletar material seco como folhas, podas de árvores ou poda de grama de jardins. O material seco servirá para forrar o fundo do recipiente para facilitar a drenagem do chorume, forrará também a superfície do solo para evitar que moscas, insetos e outros animais revirem o experimento. Deve-se usar um solo inoculante facilmente obtido em jardins ou área de mata onde há matéria orgânica em decomposição a qual é realizada eficientemente por microrganismos.

Para montar o experimento, os seguintes passos devem ser seguidos:

- Utilizar recipientes plásticos (embalagens de achocolatado e garrafas de refrigerante com o gargalo cortado) todos com o fundo perfurado para drenar o excesso de líquido.
- Cada recipiente deve conter três camadas;
  1. Uma de material seco no fundo,
  2. Uma camada de material contendo uma mistura de 300g de solo inoculante e 100g de material a ser decomposto seguindo a proporção de 3:1.

3. A terceira camada ficará no topo servirá de cobertura que protegerá o experimento e permitirá a entrada de ar.

Vários materiais podem ser utilizados como fonte para decomposição, analisando vários parâmetros, o tempo de decomposição dependerá da natureza, da concentração de polímeros biológicos como a lignina e suberina e também do tamanho da partícula. Adicionalmente pode-se verificar a influência de fatores como temperatura e déficit hídrico no metabolismo microbiano e no processo de decomposição. Usamos pão e arroz cozido onde duas situações foram comparadas, temperatura ambiente e em baixas, zero grau. Escolhemos estes materiais devido à sua rápida de composição, isto facilita as análises em tempo hábil.

Seis recipientes como mostrado na (Figura 11). As amostras podem ser submetidas à diferentes situações, tais como privação de água e oxigênio, exposição a temperaturas inadequadas, bem como exposição à substâncias nocivas aos microrganismos. Neste experimento expomos uma amostra a baixas temperaturas e as demais deixamos à temperatura ambiente. A Figura 11 ilustra uma amostra que recebeu 100 ml de água três a cada dois dias e foi exposta à temperatura ambiente. Uma semana após a montagem do experimento, podemos notar a formação de fungos formando hifas nos caroços de arroz cozido.

**Figura 11** – Demonstração da montagem do experimento da aula sobre Decomposição de Resíduos Orgânicos. Cada unidade experimental foi construída com uma embalagem descartável e um frasco de refrigerante onde seu gargalo foi recortado e seu fundo perfurado para permitir a drenagem de chorume. A embalagem descartável servirá como coletor de chorume.



Fonte: elaborado pelo autor.

Posteriormente, as hifas ficaram menos evidentes e o solo mais uniforme, o material já foi decomposto e se transformou em solo, como mostra a Figura 12. Uma amostra, contendo pedaços de pão, foi deixada na geladeira. A decomposição neste caso não ocorreu da mesma forma que as amostras expostas à temperatura ambiente. É nítida a influência da temperatura no processo de decomposição. Partindo desta observação podemos levantar uma discussão acerca dos diferentes processos de conservação de alimentos. Podemos também escolher uma amostra e deixá-la sem água para futuras comparações. A atividade microbiana pode ser averiguada pela temperatura do substrato, naturalmente a temperatura aumenta na fase termófila.

**Figura 12** - Demonstração da montagem do experimento da aula sobre Decomposição de Resíduos Orgânicos. Substratos submetidos a condições diferentes. A amostra b foi submetida à temperatura ambiente e a amostra a foi exposta a baixas temperaturas.

Amostras de pão foram utilizadas.



Fonte: elaborado pelo autor.

Foi observado que a temperatura influenciou no resultado, uma vez que a amostra submetida a baixas temperaturas praticamente não sofreu decomposição. A amostra **a** apresenta pedaços de pão que não foram degradados devido a baixas temperaturas (observe a seta). A amostra b, pelo contrário, houve degradação completa do material. O substrato está aparentemente homogêneo e não é possível diferenciar o material colocado para ser degradado.

#### **4.4.3 Aplicação da prática em sala de aula**

Os alunos tiveram a oportunidade de construir uma composteira em escala reduzida (Figura 13) seguindo as instruções do Roteiro 5, o qual foi disponibilizado no início da aula. A partir deste experimento, os alunos observaram os fatores que favorecem ou prejudicam a decomposição e também a influência da água no processo e a ação de fungos filamentosos que cresceram sobre o substrato. Desta forma, vários pontos foram discutidos: A importância da microbiota do solo como operadora da ciclagem de nutrientes; tempo de decomposição de diferentes materiais; e influência de fatores abióticos como temperatura, pH do substrato e suprimento de água.

**Figura 13** - Montagem do experimento da aula sobre “Decomposição de Resíduos Orgânicos”. Os alunos montaram uma composteira em escala reduzida confeccionada com materiais descartáveis em recipientes plásticos, seguindo as instruções disponíveis no roteiro de práticas fornecido.



Fonte: elaborado pelo autor.

## **Roteiro 5: Decomposição de Resíduos**

**Nome:**

**Turma:**

**Data:**

**1-INTRODUÇÃO:** O processo de decomposição da matéria orgânica necessita basicamente que três fatores sejam atendidos: umidade, calor e oxigênio. A umidade garante a proliferação dos microrganismos e permite que alguns esporos germinem. Já a temperatura adequada acelera as enzimas que mantem esse processo, aumentando consideravelmente o número de micro-organismos em pouco tempo. Por fim, a presença do oxigênio é necessária para a realização da respiração celular. Quando algum dos componentes citados acima não está disponível, o processo de decomposição torna-se lento e pode até mesmo não ocorrer. A formação dos fósseis é um exemplo claro de como esses fatores atuam na decomposição. A conservação em gelo, por exemplo, faz com que micro-organismos não se desenvolvam e, conseqüentemente, restos de seres vivos fiquem preservados por milhares de anos.

**2-OBJETIVO:** Analisar o tempo de decomposição da matéria orgânica no solo.

**3-MATERIAIS:** Seis recipientes plásticos reutilizados como potes de sorvete; balança; água e solo. O material orgânico a ser testado que pode ser a critério do professor.

O material que será submetido ao experimento de ser variado, alguns de rápida decomposição como partes de vegetais, e animais, outros devem ser de degradação extremamente lenta como plástico e vidro.

### **4-PROCEDIMENTOS:**

**Pesagem:** A massa das amostras dos resíduos deve ser padronizada para facilitar a comparação. Os materiais selecionados devem ser pesados antes de serem enterrados.

**Acomodação nos recipientes:** Cada amostra deve ser colocada em um recipiente plástico e recoberta com solo.

**Identificação:** Posteriormente cada recipiente deve ser devidamente identificado para posterior comparação.

Cada recipiente deverá receber diariamente 100 ml de água e os resíduos devem ficar cobertos por solo durante o período de um mês.

**5-RESULTADOS:** Após a retirada dos resíduos dos recipientes é necessário que se faça uma comparação do aspecto dos resíduos antes e depois do processo. Arquivos fotográficos dos resíduos antes do processo podem facilitar a comparação. Quais foram as mudanças averiguadas?

## 4.5 PROJETO BIOTECNOLÓGICO: VERMICOMPOSTAGEM

### 4.5.1 Fundamentação teórica para o professor

Trabalhar temas como o tempo de decomposição dos materiais e a consequência da permanência destes resíduos na natureza pode criar nos alunos um pensamento crítico acerca do uso de recurso e descarte de resíduos. Ao se comparar o tempo de degradação dos resíduos, o material orgânico levava cerca de um ano para ser decomposto, sacolas plásticas podem levar 100 anos. Outros materiais como pneus e o vidro têm tempos de decomposição indeterminados, podendo levar centenas de anos. No Brasil, uma pequena parte dos resíduos é efetivamente reciclada, a grande maioria acaba sendo destinada a aterros sanitários, lixões ou simplesmente dispostos ao ar livre, incluindo a fração orgânica que corresponde em torno de 60% (SILVA, 2008).

A vermicompostagem é uma alternativa viável de tratamento desses resíduos e de baixo custo. Esta alternativa promove a ciclagem de nutrientes da matéria orgânica que mantém os solos vivos e produtivos e há possibilidade de aplicação desse processo em pequenas áreas. É um tratamento ecologicamente correto, de baixo custo e os produtos gerados podem ser utilizados em diferentes áreas da agricultura (TEIXEIRA, 2004). A vermicompostagem é uma biotecnologia que transforma resíduos orgânicos em um material benéfico ambientalmente. A maioria dos resíduos orgânicos é lançada em locais impróprios que favorecem o desenvolvimento de micro-organismos indesejáveis que podem trazer riscos à saúde humana, dependendo do nível da contaminação Orgânico reciclável e rejeito. Outra alternativa de tratar resíduos orgânicos é a vermicompostagem (CARLESSO *et al.*, 2011).

O processo de vermicompostagem é semelhante a compostagem, entretanto, quando as minhocas são empregadas, são capazes de acelerar o processo de degradação da matéria orgânica, ao fim do processo as minhocas enriquecerão o solo com húmus (CORREA, *et al.* 2015). O húmus de minhoca é cerca de 70% mais rico em nutrientes que o húmus tradicional obtido por meio de composteira. Além disso, possuem pH neutro, visto que as minhocas possuem glândulas calcíferas que corrigem a acidez do substrato (LONGO, 1987).

Na vermicompostagem as minhocas exercem ações mecânicas e biológicas sobre a matéria orgânica e, ao se alimentarem, rasgam folhas e pequenos gravetos, reduzindo-os em fragmentos menores. Durante a busca por alimento, as minhocas revolvem o solo

e acabam misturando diferentes camadas. As minhocas também contribuem bioquimicamente ao ingerirem partículas orgânicas, as quais são decompostas, por microrganismos presentes no intestino das minhocas, em resíduos facilmente assimiláveis pelas plantas, processo que levaria meses ou anos no solo. A matéria humificada e o chorume produzidos na vermicompostagem podem ser utilizados na agricultura (GARG; YADAY, 2011).

#### **4.5.2 Desenvolvimento da prática**

Sugerimos a seguir duas propostas de atividades práticas, acessíveis e de baixo custo para se trabalhar na escola conteúdos relacionados à Microbiologia, Ecologia, Preservação dos ambientes e Química. Será necessária a disponibilidade de uma pequena área e de materiais de fácil aquisição que podem ser reutilizados para compor uma simples estrutura que pode durar anos.

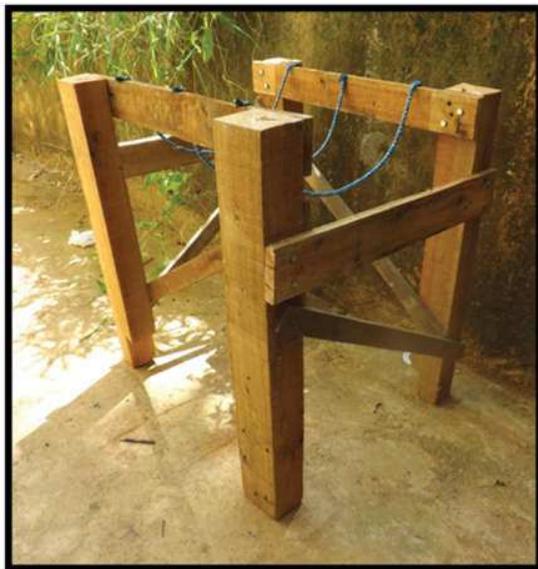
A escolha do local é essencial, uma vez que as minhocas são sensíveis a altas ou baixas temperaturas, grandes variações de temperatura durante o dia, exposição direta ao sol, e à toxicidade associada ao excesso de alguns alimentos, como frutos cítricos e carne. Os materiais necessários podem ser facilmente obtidos ou simplesmente reaproveitados.

- **Atividade de vermicompostagem 1 – minhocário horizontal**

No primeiro modelo proposto utilizamos recipiente plástico de 60L, madeira de palete obtido em supermercado, madeira de viga de telhado, pregos, parafusos sextavados número 8 e corda.

Primeiramente fizemos uma base de madeira montada com ajuda dos pregos e parafusos (Figura 14). Fizemos furos para a passagem dos pregos e parafusos nas réguas retiradas dos paletes devido à sua fragilidade. O processo de furação é fundamental, caso contrário, as réguas se racharão. A base será empregada para manter o recipiente contendo o substrato e as minhocas afastado do chão. Sua confecção não é complicada, basta seguir as dimensões do recipiente escolhido.

**Figura 14** – Desenvolvimento da prática de Minhocário Horizontal. A foto mostra a base de madeira que acomodará o minhocário horizontal.



Fonte: elaborado pelo autor.

Na Figura 14 podemos ver uma base de madeira capaz de acomodar o recipiente que acomodará o substrato. Esta possui 1,1m de altura, sua largura e comprimento foi dimensionado a partir das medidas do recipiente que ficará suspenso por corda. Escolhemos cordas para sustentar o recipiente devido ao fato de que estas são resistentes e se moldam à circunferência. Na Figura 15 está demonstrado o conjunto montado.

**Figura 15** - Desenvolvimento da prática de minhocário horizontal. A foto mostra o conjunto base e recipiente que será cortado para receber o substrato e a montagem do minhocário.



Fonte: elaborado pelo autor

O recipiente deve ser cortado no sentido longitudinal de modo que forme dois recipientes exatamente iguais. Esses recipientes devem receber furos para instalação das alças de corda e no fundo. As alças irão facilitar o manuseio dos recipientes cheios de substrato.

- **Atividade de vermicompostagem 2 – minhocário vertical**

A segunda atividade proposta requer, basicamente, três baldes empilhados, sendo que dois receberão as minhocas e o substrato e o balde do fundo será o coletor de chorume. Este tipo de dispositivo é simples e prático, pode ser operado sem dificuldades, ocupa uma área reduzida e seus componentes são de fácil aquisição. A Figura 16 mostra o minhocário vertical pronto.

**Figura 16** - Desenvolvimento da prática de Minhocário Vertical. A foto mostra a montagem de um minhocário vertical utilizando-se baldes. Os baldes 2 e 3 irão receber o substrato e as minhocas, o balde 1 servirá para armazenamento e drenagem de chorume.



Fonte: elaborado pelo autor.

Para sua construção serão necessários três baldes com tampa e uma torneira para filtro. Utilizamos neste trabalho recipientes que acomodaram substâncias que não apresentam toxicidade, como os baldes de margarina adquiridos em padarias. Recipientes que transportaram substâncias tóxicas mesmo depois de lavadas e limpas podem afetar o desenvolvimento dos microrganismos do solo e a aptidão das minhocas.

Para a construção do minhocário é necessário lavar os recipientes e recortar duas tampas, conforme a Figura 17.

**Figura 17** - Desenvolvimento da prática de minhocário vertical. A foto mostra os materiais utilizados para confecção do minhocário vertical e detalhes do corte das tampas.



Fonte: elaborado pelo autor.

Duas tampas devem ser recortadas próximo à borda como exposto acima. Com este procedimento os baldes podem ser encaixados de modo que não encostem no fundo do balde inferior. Com isso, conseguimos espaço para acomodar o substrato ou o chorume. Vários furos devem ser feitos com broca número 6 nos baldes 2 e 3. Estes furos servem para a passagem das minhocas de um balde para o outro e facilitam a drenagem de chorume para o balde coletor de chorume que fica na base. Deve-se dar atenção ao tamanho dos furos, que não devem ser muito grandes ou muito pequenos. Devem ter tamanho adequado para a passagem das minhocas (8 mm), mas devem evitar a passagem de detritos. O balde número 2 deve apresentar poucos furos, visto que apenas chorume deve passar pelos furos deste recipiente. No recipiente número 1 deve ser feito um furo próximo a base para a instalação da torneira que fará a drenagem de chorume. O tamanho do furo bem justo para a acomodação da torneira. Tivemos que cortar uma parte da rosca para facilitar a drenagem do líquido contido no balde 1 conforme mostrado na Figura 18 a seguir.

**Figura 18** - Desenvolvimento da prática de Minhocário Vertical. A foto mostra o recorte no registro para facilitar a drenagem do chorume. Este registro foi deve ser instalado no balde de número 1.



Fonte: elaborado pelo autor.

O recipiente número 3 acomodará a tampa que não foi cortada. Esta tampa deve receber pequenos furos para favorecer o fluxo de ar. Para isolar completamente e evitar o acesso de insetos ao recipiente 3, é necessário que se coloque um sombrite ou uma malha fina abaixo da tampa.

A operação e manutenção deste dispositivo é muito simples. Os recipientes 2 e 3 receberão o substrato e as minhocas.

- **Preparação do substrato para o minhocário vertical**

O material para ser adicionado aos minhocários, vertical ou horizontal, deve ser composto de 2/3 de solo e 1/3 de matéria a ser decomposta como casca de frutas, resíduos de poda, folhas e restos de alimentos. Grandes quantidades de carne podem aumentar a toxidade do solo devido à acumulação de compostos nitrogenados. Antes de acomodar o substrato nos recipientes, é necessário misturá-los e colocar uma camada de material poroso no fundo do recipiente. O material poroso do fundo pode ser constituído de ramos e folhas. Este procedimento é fundamental para melhorar a drenagem de chorume e evitar a passagem de substrato. Tenha cuidado com a umidade do substrato, não pode estar muito úmido e nem ressecado.

As minhocas não podem ficar sem alimento, portanto, deve-se manter uma constante fonte nutritiva. Caso falte, pode haver uma queda na população de anelídeos. Portanto, as

minhocas devem ser colocadas apenas o recipiente 2, o recipiente 3 deve conter apenas o substrato conforme exposto acima. Quando a fonte alimentar se exaurir no recipiente 2, as minhocas migrarão para o recipiente 3 e consumirão o material nutritivo deste. Quando a migração estiver completa, deve-se retirar o recipiente 2 cuja degradação do material já foi concluída e substituir o húmus formado, que poderá ser usado como fertilizante, por novo substrato nutritivo. Este recipiente com novo material a ser degradado deverá ocupar agora o topo do dispositivo. Em suma, o recipiente inferior, acima do coletor de chorume 1, conterà as minhocas que migrarão para os recipientes superiores assim que a fonte alimentar acabar. Após a migração, o recipiente contendo o material abandonado pelas minhocas deve ter seu conteúdo substituído por novo substrato e colocado no topo do da coluna de recipiente, reiniciando assim o processo.

O material que sai deste sistema é enriquecido pelo húmus produzido pelas minhocas. Tanto o húmus quanto o chorume apresentam elevada concentração de nutrientes que favorecem o crescimento vegetal. São completamente estabilizados e praticamente sem cheiro podendo ser aplicados diretamente como fertilizantes. No caso do chorume, aconselha-se diluir em água na proporção de 1:3.

## 4.6 PROJETO BIOTECNOLÓGICO: BIODIGESTÃO ANAERÓBICA

### 4.6.1 Fundamentação teórica para o professor

O Brasil é reconhecido mundialmente como produtor de petróleo em águas profundas como fonte de combustíveis fósseis, e pela utilização de hidrelétrica e pela produção de etanol como fonte energética renovável. A sustentabilidade energética de uma nação fundamenta-se em garantir a logística energética de modo que atenda às necessidades operacionais (TOLMASQUIM, 2012). Devido sua vasta extensão e abundância de recursos, o Brasil destaca-se pelo desenvolvimento e utilização de fontes energéticas renováveis como as citadas, mas também o biodiesel, aerogeradores e biogás. A biodigestão anaeróbica pode ser uma alternativa de obtenção de energia por meio da produção de biogás usando-se resíduos orgânicos (TOLMASQUIM, 2012).

Segundo o IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística), a população brasileira ultrapassou 208 milhões de habitantes. Um país com enorme população e escalas continentais acaba gerando enorme quantidade de resíduos orgânicos e a significativa produção agrícola produz, anualmente, enormes quantidades de resíduos que podem ser direcionados para a geração de energia.

Legalmente, as agroindústrias devem apresentar um sistema de gerenciamento ambiental demonstrando como seus subprodutos serão reaproveitados, entretanto, o descarte de rejeitos ainda pode trazer impactos ambientais. Geralmente, as indústrias queimam estes subprodutos ou são simplesmente dispostos no ambiente de forma inapropriada (SATER *et al.*, 2011). O crescimento populacional e o avanço da tecnologia trouxeram benefícios que refletiram na qualidade de vida, entretanto, com o aumento das cidades, diariamente são descartadas enormes quantidades de efluentes e toneladas de resíduos sólidos.

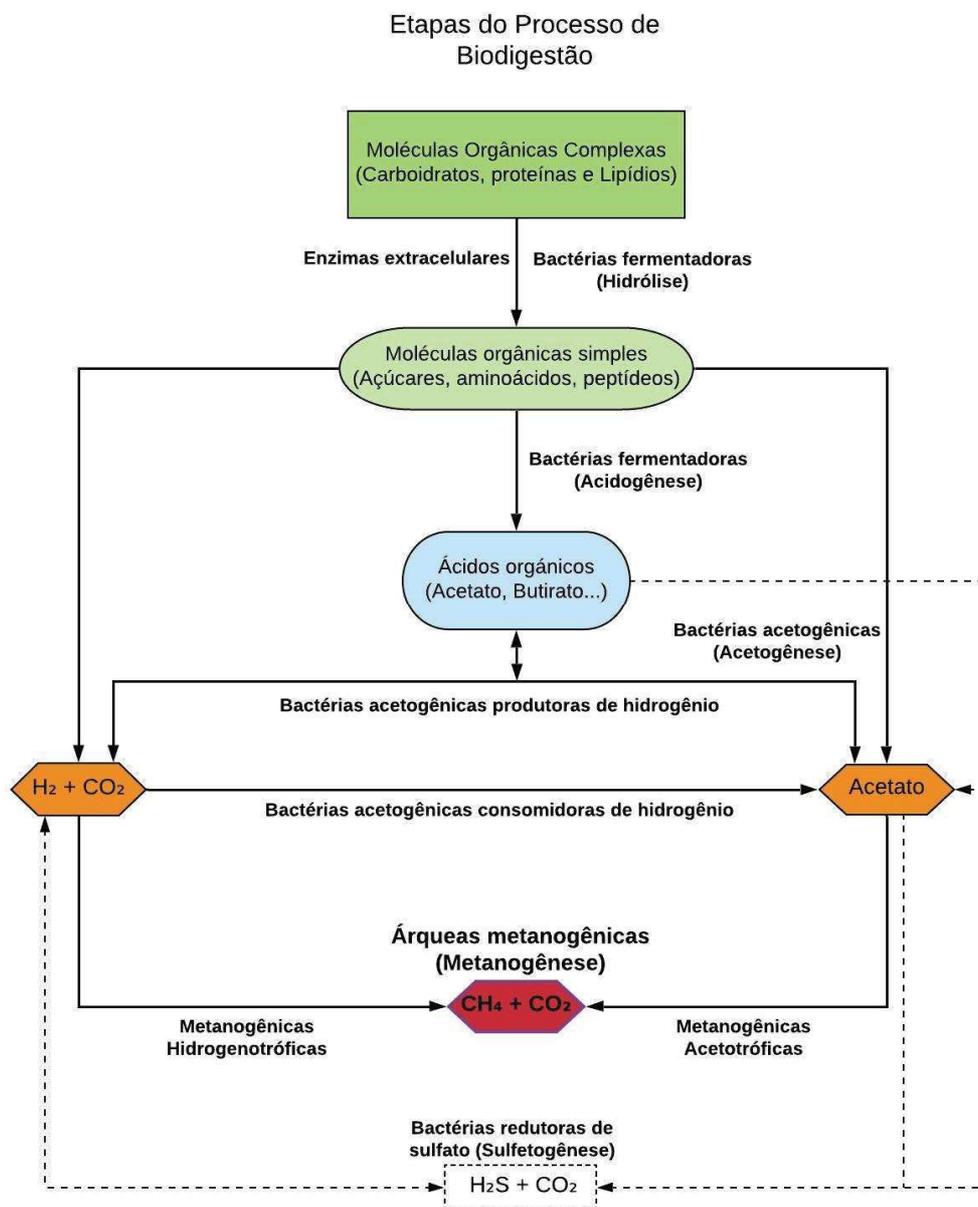
A biodigestão anaeróbica é uma alternativa para reduzir o descarte de resíduos orgânicos e assim reduzir a quantidade de lixo que acaba sendo enviada para os aterros sanitários. O processo de biodigestão anaeróbia ocorre pela degradação, transformação ou decomposição da biomassa, os microrganismos interagem entre si de modo que o produto ou resíduo gerado por um grupo de organismo servirá como fonte nutricional para outro grupo de organismo. Alguns produtos sintéticos também podem ser digeridos, os quais são conhecidos como produtos biodegradáveis (OLIVEIRA, 2005). Trata-se de um processo complexo, caro e que demanda controle e cuidados, entretanto, existem

alternativas acessíveis e viáveis que podem ser aplicadas em domicílios, escolas ou no campo. A biodigestão anaeróbica ocorre em três etapas distintas, nas quais há o envolvimento direto de microrganismos: hidrólise; acidogênese; acetogênese; e metanogênese (Figura 19).

A Figura 19 mostra que os compostos orgânicos mais complexos como os carboidratos, proteínas e lipídios são degradados em compostos orgânicos mais simples, como açúcares, aminoácidos e peptídeos. Em seguida, estes compostos são metabolizados pelas bactérias fermentativas em um processo chamado acidogênese onde são formados vários ácidos orgânicos como o ácido acético, o butírico e o propiônico. Os produtos da acidogênese são convertidos em  $H_2$ ,  $CO_2$  e acetato pelas bactérias acetogênicas em seguida a metanogênese promoverá a formação do  $CH_4$  por meio das bactérias metanogênicas acetoclásticas que utilizam o acetato e o metanol e as hidrogenotróficas que metabolizam o  $H_2$  e o  $CO_2$ . No processo de digestão anaeróbica também ocorre a sulfetogênese promovida por bactérias redutoras de sulfato que resultará em sulfeto de hidrogênio  $H_2S$ . O sulfeto, dependendo de como o biodigestor será empregado, deve ser removido devido seu poder de corrosão. O sulfeto de hidrogênio além de possuir odor desagradável, é tóxico e pode danificar componentes metálicos como motores bicos e válvulas (BALDACIN *et al.*, 2015)

A produção e utilização de biogás pode ser vantajoso devido ao fato de que este é um combustível ecológico, renovável e de ótimo rendimento energético. Quando o biogás é formado, outros compostos, tais como gás carbônico, vapor de água e sulfeto de hidrogênio, formam uma solução com o gás metano. Dependendo da diluição do metano nesta solução, o valor do Poder Calorífico Inferior (PCI) pode variar de 13.720 a 27.440  $kJ/m^3$ , enquanto que o metano tratado e livre de impurezas apresenta PCI de 34.300  $kJ/m^3$ , quando verificado em pressão e temperatura normais (WALSH *et al.*, 1989).

**Figura 19.** Esquema demonstrando as etapas que compõem o processo de biodigestão anaeróbia.



Fonte: portalbiogás.com e BALDACIN *et al.*, (2015)

## Hidrólise

A primeira etapa do processo de biodigestão anaeróbica é a Hidrólise. Vários resíduos, como restos de comida, casca e bagaço de frutas, verdura e até materiais celulósicos como folhas e palhas podem ser usados como matéria-prima para produção de biogás por meio do processo de biodigestão anaeróbica. A matéria orgânica complexa que chega ao biodigestor é degradada em substâncias mais simples por meio de enzimas extracelulares sintetizadas por microrganismos que hidrolisam compostos orgânicos. As bactérias não são capazes de absorver moléculas grandes, portanto, as cadeias carbônicas de proteínas, lipídios e carboidratos são quebradas dando origem a compostos mais simples como aminoácidos, açúcares, glicerol e ácidos graxos (VAN HAANDEL; LETTINGA, 1994). A hidrólise de materiais que contenham lignina e celulose ocorre de forma lenta e incompleta se compararmos com outras substâncias orgânicas, portanto, deve-se manter concentrações baixas de materiais celulósicos (DEUBLEIN, 2011). Segundo MACHADO; GLEYSSON (2016), vários grupos de bactérias estão envolvidos nesta etapa, podemos dividir as que mais se destacam em três categorias:

1. Produtoras de lipase para degradação de lipídeos e ácidos graxos: *Clostridium*, *Micrococcus* e *Staphylococcus*;
2. Produtoras de proteases para degradação de proteínas e peptídeos: *Bacteroides*, *Clostridium*, *Butyrivibrio*, *Lactobacillus*, *Fusobacterium*, *Selenomonas*, *Streptococcus*, *Proteus*, *Peptococcus* e *Bacillus*;
3. Produtoras de amilases para degradação de polissacarídeos e açúcares menores: *Clostridium*, *Staphylococcus*, *Eubacterium* e *Acetivibrio*.

Durante a alimentação do biodigestor ocorre a entrada de pequena quantidade de oxigênio. Grandes quantidades de oxigênio podem reduzir ou inibir o processo de biodigestão. Entretanto, segundo PARAWIRA (2004), as bactérias hidrolíticas e fermentativas possuem membros anaeróbios facultativos e anaeróbios obrigatórios, são responsáveis pela remoção das pequenas quantidades de O<sub>2</sub> introduzidos no reator.

## **Acidogênese**

Os produtos formados na etapa anterior, como açúcares, aminoácidos e ácidos graxo de cadeia curta, são absorvidos e metabolizados por bactérias fermentativas que os convertem em compostos mais simples que acabam sendo secretados pelas células.

Boa parte dos produtos excretados pelas células é de ácidos graxos voláteis (AGV) como o ácido acético, butírico e propiônico, bem como outros ácidos de cadeia longa. Desta forma, esse grupo de bactérias recebe o nome de bactérias fermentativas acidogênicas. Outros compostos como ácido lático, álcoois, gás carbônico, sulfeto de hidrogênio também são produzidos nesta etapa (FARIA, 2012). Parte da energia e da matéria orgânica é utilizada na formação de novas células. Este processo garante considerável aumento na quantidade de células bacterianas acidogênicas e os produtos formados como o CO<sub>2</sub> e o H<sub>2</sub>, que podem ser usados diretamente pelas arqueas metanogênicas (SCHINK, 1997). Segundo LUCENA 2018, a atividade excessiva das bactérias acidogênicas pode resultar em problemas para o reator, deve ser observada a relação entre as concentrações de AGV no reator e a aptidão dos microrganismos envolvidos, as condições devem ser favoráveis. A metabolização dos ácidos orgânicos promoverá a produção de CH<sub>2</sub>, entretanto, altas concentrações destes compostos podem ocasionar estresse aos microrganismos o que resultará em colapso em cadeia, afetando todas as etapas. A inibição do consumo de hidrogênio pelas metanogênicas resultará em um aumento da pressão parcial de hidrogênio no reator, deste modo, a degradação de ácido graxo de cadeia longa será inibida. A concentração de ácido graxo irá aumentar o que provocará redução no pH. O biodigestor entrará em colapso (AQUINO; CHERNICHARO, 2005).

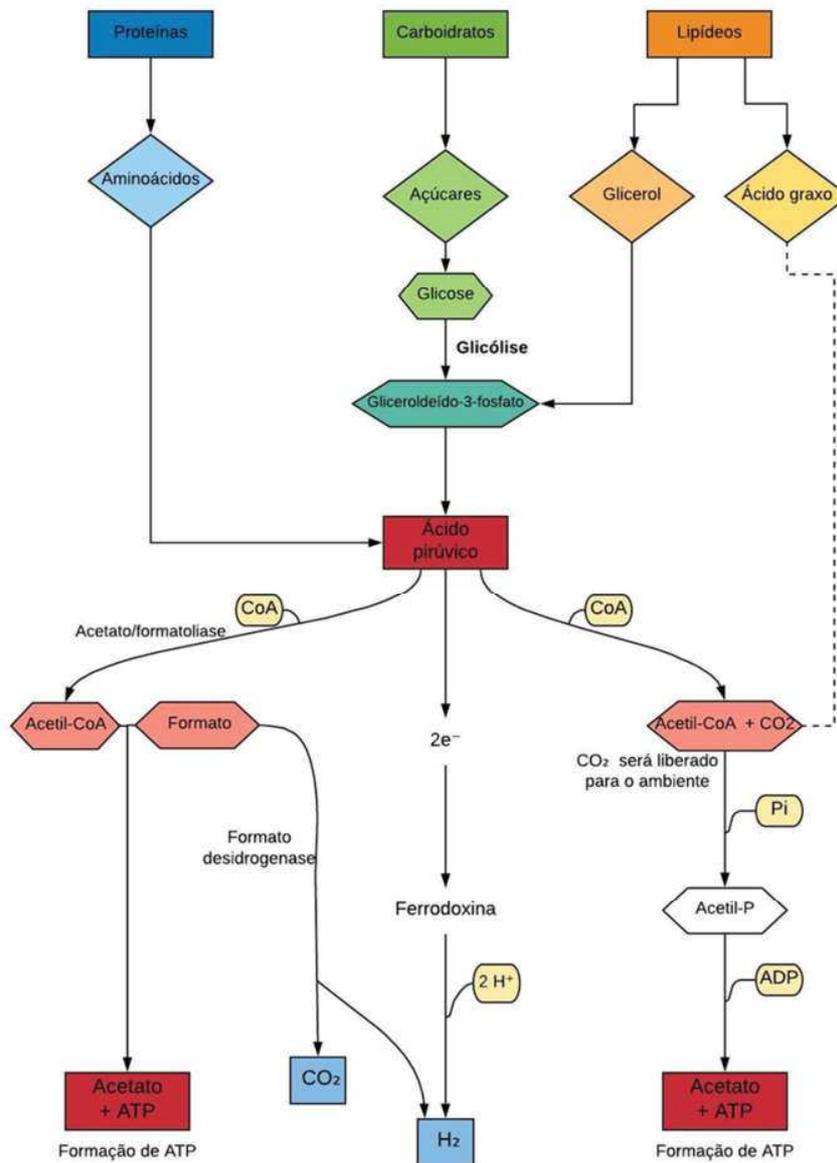
## **Acetogênese**

A segunda etapa do processo de biodigestão anaeróbica é a Acetogênese. Várias bactérias anaeróbicas produzem acetato como produto principal ou secundário da fermentação. A produção de acetato e de alguns ácidos graxos conserva energia, visto que promove a síntese de ATP pela fosforilação a nível de substrato. Um intermediário chave gerado na produção de acetato é o piruvato, que, posteriormente, será convertido em acetil-CoA, um composto rico em energia que após alguns processos bioquímicos será convertido em acetato (Figura 20) (AQUINO; CHERNICHARO, 2005).



propionato pode ser inibida em baixas concentração de hidrogênio dissolvido e de acetato, consequentemente o desempenho do biodigestor será afetado (AQUINO; CHERNICHARO, 2005).

**Figura 20** - Esquema demonstrando a etapa de Acetogênese que acontece durante biodigestão anaeróbia. O acetato e hidrogênio molecular ( $H_2$ ) são produzidos a partir de piruvato. Observe como a produção de acetato promove a síntese de ATP pela hidrólise de acetil-fosfato.



Fonte: TORTORA *et al.* (2016) e MADIGAN *et al.* (2014).

Alguns gêneros de microrganismos são reconhecidos como produtores de acetato: *Syntrophomonas*, que utilizam valerato e butirato como substrato e *Syntrophobacter*, que utilizam propionato como substrato (KARNHOLZ *et al.*, 2002).

## **Metanogênese**

Esta é a última etapa do processo de biodigestão anaeróbica de compostos orgânicos, resulta na formação de CH<sub>4</sub> e CO<sub>2</sub> pelas archaeas metanogênicas. Dentre os substratos que podem ser utilizados estão, H<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, Metanol e formato podem ser utilizado como matéria-prima para a produção de metano (VAN HAANDEL; LETTINGA, 1994; CHERNICHARO, 1997). Outros compostos como metanol, ácido acético, ácido fórmico e metilaminas (LUCENA, 2008; FARIA, 2012).

As metanogênicas podem ser divididas em dois grupos de acordo com sua preferência por substrato:

**Metanogênicas acetoclásticas.** Utilizam o acetato em seu metabolismo para produzirem metano. São responsáveis pela maior parte do volume de metano produzido (AQUINO; CHERNICHARO, 2005). Apesar de produzirem muito metano, apresentam crescimento lento com tempo de geração que pode levar dois dias (LUCENA, 2008). Estas Arqueas são muito sensíveis, não são resistentes às condições adversas como choques orgânicos, hidráulicos ou substâncias tóxicas (CAVALEIRO, 1999).

**Metanogênicas hidrogenotróficas.** Produzem metano a partir de hidrogênio e gás carbônico e são responsáveis por cerca de 30% do biogás produzido (LUCENA, 2008). Representam um dos poucos organismos que podem usar o gás carbônico com como acceptor de elétrons. As hidrogenotróficas crescem rapidamente, seu tempo de geração mínimo é de 6 horas. Sua presença é fundamental para manter as concentrações de hidrogênio dissolvido baixas nos reatores anaeróbios e contribuem para a degradação de propionato e butirato (AQUINO; CHERNICHARO, 2005).

Alguns compostos inseridos para tratamento no reator podem ter enxofre em sua composição. Neste caso, o processo de biodigestão terá uma etapa adicional, a sulfetogênese (LUCENA, 2008).

## **Sulfetogênese**

A sulfetogênese converte sulfato, sulfitos e outros compostos sulfonados em sulfeto. Neste processo, o substrato a base de enxofre servirá como aceptor de elétrons no metabolismo energético, portanto, serão reduzidos. Estas bactérias são anaeróbicas res conhecidas como bactérias redutoras de sulfato (B.R.S) ou sulforredutoras (ALESSI, 2005). As bactérias sulforredutoras podem competir por substrato com as arqueas metanogênicas e com as bactérias acetogênicas visto que podem oxidar vários tipos de compostos como toda a cadeia de ácidos graxos voláteis, vários ácidos aromáticos, hidrogênio, metanol, etanol, glicerol, açúcares, aminoácidos e vários compostos fenólicos. Esta competição se torna mais acentuada em abundante disponibilidade de íon sulfato do meio (ALESSI, 2005).

## **Tipos de biodigestores**

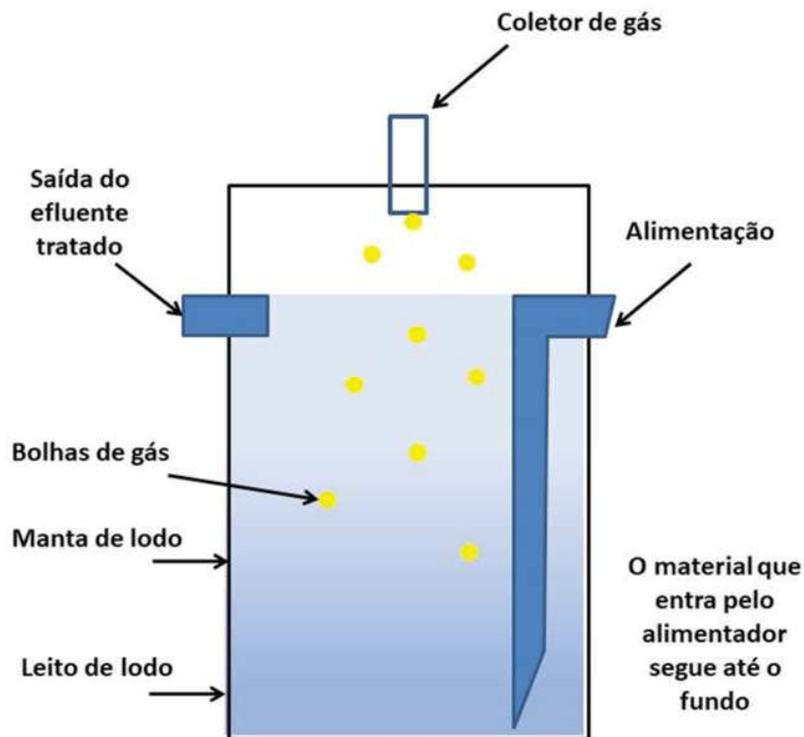
Existem vários tipos de biodigestores, entretanto, iremos expor apenas o reator anaeróbico de fluxo ascendente (RAFA) (Figura 21). Este processo foi desenvolvido por GATZE LETTINGA e sua equipe em 1970 na Holanda, chamado inicialmente de reatores (UASB) *Upflow Anaerobic Sludge Blanket*, que significa reator anaeróbico de fluxo ascendente em manta de lodo. Este tipo de reator foi escolhido devido à sua simplicidade de montagem e operação

Neste modelo a matéria orgânica é degradada ao longo de um leito de lodo denso e de elevada atividade. As características dos sólidos dentro do reator variam bastante, visto que, próximo ao fundo do reator está o leito de lodo, que é constituído de partículas mais densas possuindo partículas granulares que se sedimentam facilmente. Mais próximo ao topo do reator estão as partículas menos densas. As camadas médias e superficiais são chamadas de manta de lodo, esta é menos densa mais dispersa e mais leve que o leito de lodo do fundo (CHERNICHARO, 2007).

O material a ser tratado entra no reator pelo fundo e o efluente tratado sai pela parte superior depois do processo de decantação das partículas (Figura 21). Um dispositivo coletará os gases presentes na mistura líquida e os canaliza para fora do reator, desta forma o metano poderá ser tratado e utilizado como combustível. As partículas seguem o fluxo ascendente da base para o topo do biodigestor, este fluxo é mantido pela diferença de densidade das partículas, não necessita de bombeamento. O material mais

leve que consegue chegar ao topo do reator será descartado. Este material permanecerá o tempo necessário no reator para favorecer o crescimento dos micro-organismos produtores de metano. Com este método, as arqueas metanogênicas conseguem crescer mesmo com baixo tempo de detenção hidráulica (PINTO, 1999).

**Figura 21** - Representação esquemática simplificada de um reator anaeróbico de fluxo ascendente.



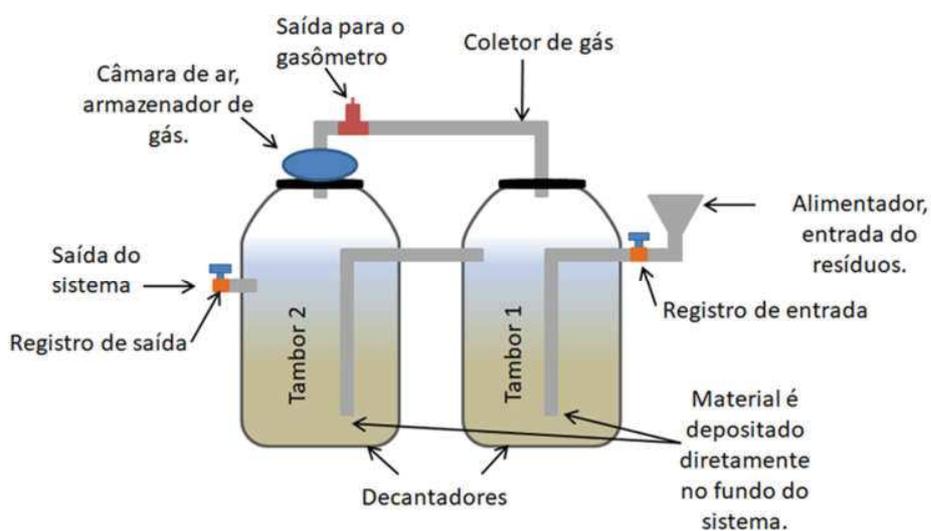
Fonte: adaptado de PINTO (1999).

Como visto na Figura 21, o reator anaeróbico de fluxo ascendente é relativamente simples e de fácil operação. Necessita basicamente de um recipiente que servirá de decantador, tubulações, conexões e registros. O material a ser tratado entrará pelo alimentador e seguirá pelo fundo via tubulações. Ao chegar ao fundo do reator, as partículas mais densas permanecerão na parte inferior do reator formando o leito de lodo e as partículas menos densas seguirão para o topo, formarão a manta de lodo e o material superficial será drenado.

#### 4.6.2 Desenvolvimento da prática

Construímos um biodigestor com dois decantadores. O primeiro recebe o material a ser tratado e inicia a decomposição, parte do material decantado localizado na região da manta de lodo seguirá para o fundo do segundo decantador onde terminará sua decomposição (Figura 22). O biodigestor montado está mostrado na Figura 23.

**Figura 22** – Desenvolvimento do projeto biotecnológico Biodigestor. Esquema simplificado de montagem do Biodigestor realizado neste trabalho. O biodigestor foi construído com dois decantadores. Na figura estão identificadas cada parte do biodigestor.



Fonte: elaborado pelo autor.

**Figura 23** - Desenvolvimento do projeto biotecnológico Biodigestor. A foto mostra o biodigestor experimental montado neste trabalho. O biodigestor possui dois reservatórios decantadores e diversas conexões para permitir o seu correto funcionamento.



Fonte: elaborado pelo autor.

Para montagem dos decantadores e do coletor de gás utilizamos dois tambores de 120 litros cada e outros materiais descritos a seguir:

Observação: Todos os tubos e conexões serão de 50mm.

- joelhos
- flanges
- 2 registros
- 2 adaptadores para flanges
- 1 T
- 1 redução de 200 mm para 100 mm
- 1 redução de 100 mm para 50 mm
- Meia vara de pvc 50 mm
- 1 vidro de cola para pvc
- 1 bisnaga de silicone.

Observação: Todos os tubos e conexões serão de 50mm.

Primeiramente foi feita a lavagem e furação (Figura 24). Caso seja usado tambores reaproveitados, dê preferência para recipientes que transportaram substâncias de baixa toxicidade, substâncias tóxicas deixam resíduos mesmo após a lavagem e podem prejudicar o desenvolvimento dos microrganismos desejáveis. Cada tambor foi acomodado e nivelado sobre paletes de madeira.

**Figura 24** - Desenvolvimento do projeto biotecnológico Biodigestor. A foto mostra o a parte inicial de desenvolvimento do biodigestor, que requer o furo dos recipientes que serão usados como decantadores. Duas perfurações feitas em cada tambor com serra tipo copo 56 mm adaptada em furadeira.



Fonte: elaborado pelo autor.

Foram feitos dois furos em cada tambor 35cm abaixo da borda superior, estes furos servirão para a acomodação dos flanges e tubulação que promoverão o fluxo de material a ser decomposto entre os dos reservatórios. Cada tampa recebeu um furo bem no centro que servirá para a montagem dos flanges e da tubulação do coletor de gás (Figura 25).

**Figura 25** - Desenvolvimento do projeto biotecnológico Biodigestor. Colocação de flanges de 50 mm em cada perfuração. Observe que a borracha do flange fica para o lado externo. Para uma perfeita vedação é necessário colocar silicone nos filetes antes de acomodar a porca.



Fonte: elaborado pelo autor.

A furação e montagem dos flanges devem seguir alguns critérios. Deve-se utilizar uma serra tipo copo que seja do tamanho do flange, não deve haver folga. Os dois furos do tambor de entrada do material devem estar alinhados a 35 cm da borda superior e devem ter a mesma altura em relação ao chão. No segundo tambor, o tambor de saída do material tratado, um furo deve seguir os mesmos parâmetros do reservatório anterior e o segundo furo deve estar 15 cm mais baixo. O furo mais baixo servirá como saída do sistema sem que haja perda de gás. Os flanges de entrada do primeiro e do segundo tambor devem receber adaptadores como mostrado na Figura 26.

**Figura 26** - Desenvolvimento do projeto biotecnológico Biodigestor. A foto mostra a colocação dos adaptadores internos de flange que receberão a tubulação que irá até o fundo.



Fonte: elaborado pelo autor.

Com os adaptadores dos flanges instalados, deve ser colocada a tubulação que levará o material até o fundo do decantador de entrada e do decantador de saída (Figura 27). Com isso, o material que chega no tambor 1 e o material que sai do tambor 1 para o tambor 2 irão direto para o fundo conforme exposto na Figura 23. Primeiro monte a tubulação fora dos recipientes. Constituída simplesmente de duas peças de PVC com diâmetro de 50 mm, Comprimento de 15 cm e 50cm. Para unir as duas peças em um ângulo de 90 graus usamos um joelho. As peças devem ser lixadas com lixa 220 e coladas com adesivo para PVC.

**Figura 27** - Desenvolvimento do projeto biotecnológico Biodigestor. A foto mostra a montagem dos joelhos internos que levarão o material que entra no sistema para o fundo do tambor 1 e leva o material que sai do tambor 1 para o fundo do tambor 2.



Fonte: elaborado pelo autor.

**Figura 28** - Desenvolvimento do projeto biotecnológico Biodigestor. A foto mostra os joelhos internos montados no adaptador do flange de entrada do decantador.



Fonte: elaborado pelo autor.

Os joelhos internos devem ser montados na entrada do tambor 1 e na entrada do tambor 2 como mostrado nas Figuras 26 -28. A montagem destes dispositivos garante que todo material que chegue no tambor 1 e no tambor 2, vá direto para o fundo. Isto favorece a ação dos microrganismos anaeróbico, visto que o material a ser decomposto que chega ao sistema vai direto ao fundo, uma região com lodo mais denso e reduzida concentração de oxigênio. Ao longo do processo de biodigestão, a matéria orgânica é degradada em substâncias mais simples e menos densas, portanto, sobem na manta de lodo para os níveis

superiores. O material menos denso do tambor 1 que permanece no topo da coluna de lodo, ainda tem potencial energético para produção de biogás, este é conduzido para o fundo do tambor 2 que continuará o processo de biodigestão.

A parte superior do biodigestor contará com um coletor de gás montado nas tampas do tambor 1 e tambor 2. As conexões foram feitas com dois flanges, canos, dois joelhos e um “T”. Todos com diâmetro de 50mm. Basicamente deve-se interligar as duas tampas do reservatório como mostrado na Figura 29.

**Figura 29** - Desenvolvimento do projeto biotecnológico Biodigestor. A foto mostra o coletor de gás do biodigestor, montado por meio de tubulações e conexões que, basicamente une as tampas dos tambores 1 e 2.



Fonte: elaborado pelo autor.

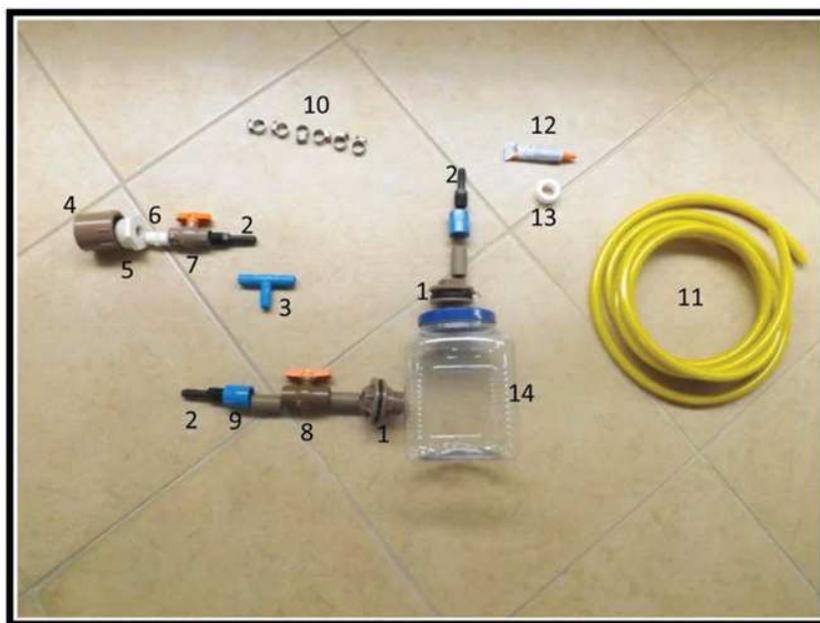
Observe que a câmara de ar que servirá de reservatório de gás deve ser colocada antes da colagem da tubulação, caso a câmara de ar não passe pela tampa. Os flanges devem estar bem vedados com silicone.

Após a montagem do coletor de gás nos tambores, deve-se acoplar o borbulhador. Para montagem destes dispositivos usamos os materiais listados abaixo e mostrados na Figura 30:

1. 02 flanges de 25mm.
2. 03 espigas de 1/2 para 3/8.
3. 01 tê de 1/2.
4. 01 luva LR de 50mm.
5. Redução roscada de 50mm para 1/2.
6. 01 niple de 1/2.

- |   |                                     |
|---|-------------------------------------|
| 7. 01 registro de 1/2; saída do coletor.      | 10. 07 abraçadeiras.                |
| 8. 01 registro de 25 mm; entrada borbulhador. | 11. 6 metros de mangueira para gás. |
| 9. 02 luvas roscadas azuis 25 x 1/2.          | 12. Cola para PVC                   |
|   | 13. Veda rosca.                     |
|   | 14. Recipiente plástico.            |

**Figura 30** - Desenvolvimento do projeto biotecnológico Biodigestor. A foto mostra os materiais usados no borbulhador que irá compor o biodigestor.



Fonte: elaborado pelo autor.

Para a montagem do borbulhador, basta ligar os tubos e conexões, tome cuidado com os encaixes, vedações e passe veda rosca em todas as roscas. Recorte com uma serra tipo copo a lateral do recipiente (14) e sua tampa para acomodar os flanges de 25mm. Com os flanges instalados, monte o conjunto do registro (8) de 25 mm no flange da lateral do recipiente plástico. Este registro irá regular a entrada de gás no borbulhador. Monte o conjunto do flange da tampa do recipiente plástico, este conjunto conduzirá o gás para o queimador. O conjunto montado pode ser observado na Figura 31:

**Figura 31** - Desenvolvimento do projeto biotecnológico Biodigestor. A foto mostra o conjunto do borbulhador montado. Para unir as partes foram usados pedaços de PVC, em destaque. Foi utilizado duas luvas roscadas azuis 25 x 1/2 para acomodar as espigas que receberão as mangueiras.



Fonte: elaborado pelo autor.

O registro número 7, mostrado na Figura 30 irá controlar o fluxo de gás do coletor para um “T” que o direcionará para uma câmara de borracha que servirá de reservatório, a outra saída do “T” direcionará para o registro número 8. O registro 8 irá controlar a passagem do gás para dentro do borbulhador com solução de NaOH a 30%. O conjunto Montado do registro 7 pode ser observado na Figura 32.

**Figura 32** - Desenvolvimento do projeto biotecnológico Biodigestor. A foto mostra o conjunto do registro regulador da saída do coletor de gás. Observe que o “T” azul, divide o fluxo de gás entre a câmara de gás e o registro 8 que controlará a entrada do borbulhador.



Fonte: elaborado pelo autor.

O conjunto do registro 7, mostrado na Figura 32, apresenta conexões de rosca. Deve-se atentar com a vedação de todas as roscas, vazamentos podem diminuir a pressão do sistema tornando o dispositivo ineficaz. A aplicação de veda-rosca nas conexões evitará vazamentos. Observe que as mangueiras são conectadas em espigas e ao “T” com o auxílio de braçadeiras de metal. Atente-se para encaixar as mangueiras até o fim das espigas e prenda firmemente com as braçadeiras, coloque silicone se necessário. Para facilitar a entrada do gás produzido na câmara de ar, a válvula foi retirada e a mangueira acoplada diretamente em seu bico.

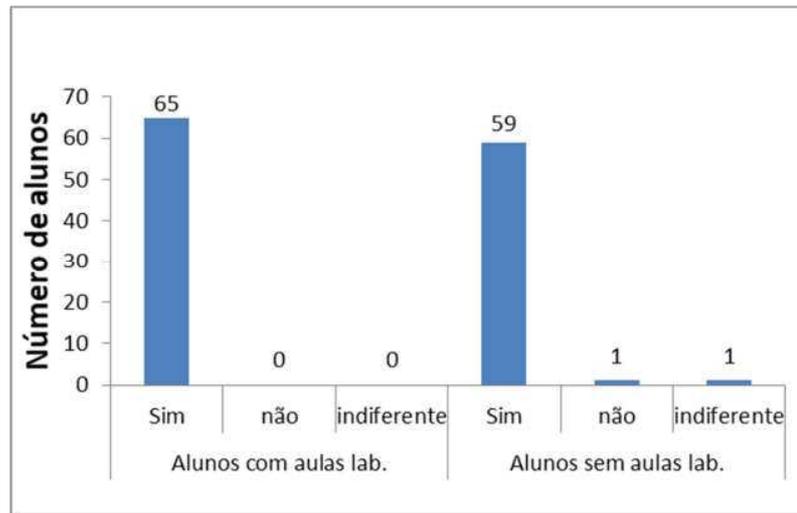
#### 4.7 AVALIAÇÃO DAS AULAS PRÁTICAS – APLICAÇÃO DE QUESTIONÁRIO

Por meio da aplicação de questionários aos alunos do ensino médio (anexos 3 e 4), buscamos evidenciar se o ensino de biologia foi favorecido por aulas experimentais e se há ou não divergências estatisticamente significativas nas opiniões dos alunos que tiveram aulas práticas quando comparadas com as opiniões dos alunos que assistiram apenas aulas teóricas. As análises estatísticas foram efetuadas por meio de gráficos contendo o percentual de cada tratamento e as amostras foram comparadas por meio do teste Qui-quadrado a 5% de significância. Conforme descrito anteriormente, os questionários foram aplicados em três turmas, sendo que cada turma foi dividida em dois grupos: grupo APT, para o qual as aulas práticas desenvolvidas neste trabalho foram aplicadas; e grupo AT, para o qual o assunto Microbiologia foi abordado somente com aulas teóricas expositivas.

##### ***Questão 1: “Você gosta ou gostaria de ter aulas em laboratório de Biologia?”***

Para esta pergunta, 100% dos alunos do grupo APT disseram gostar das atividades aplicadas em laboratório. No grupo AT, 96,7% dos alunos disseram que gostariam de tê-las, um aluno disse que não gostaria e um aluno foi indiferente em relação ao assunto. Os dados estão expostos no gráfico a seguir (Figura 33). Não houve diferença estatisticamente significativa entre os alunos que disseram sim nos dois tratamentos  $P_{calc} = 0,586$  a 5%.

**Figura 33** - Gráfico representando a frequência de respostas referente à questão 1: “*Você gosta (gostaria) de ter aulas práticas em laboratório de biologia?*”. O questionário foi aplicado a três turmas do ensino médio Colégio Tiradentes da Polícia Militar no município de Manhuaçu – Minas Gerais. Cada turma foi dividida em dois grupos: Grupo APT, com aulas práticas e teóricas; e Grupo AT, somente com aulas teóricas.



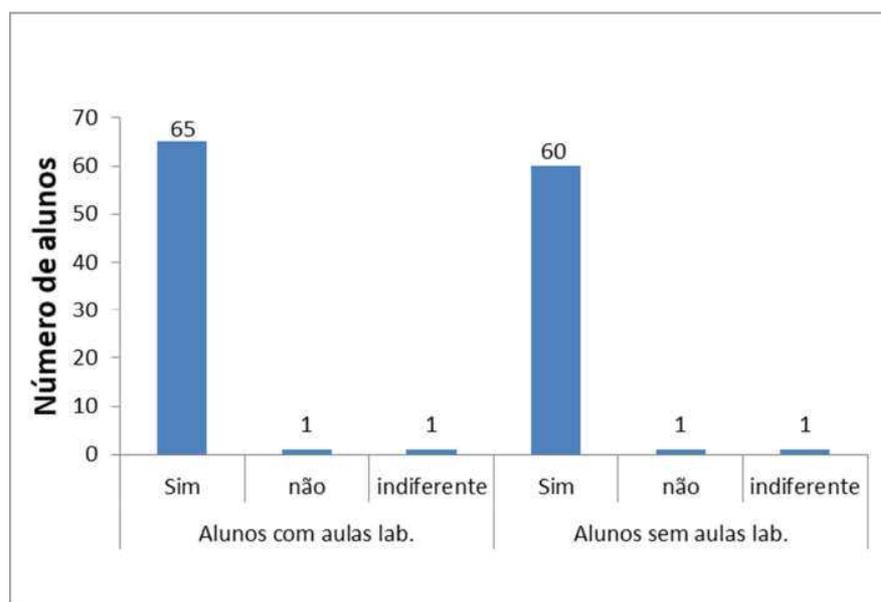
Fonte: elaborado pelo autor.

**Questão 2 - As aulas práticas contribuem (contribuirão) para uma melhor compreensão do conteúdo abordado?**

Para esta pergunta, 97% dos alunos do grupo APT afirmaram que esta metodologia contribui para uma melhor percepção dos processos biológicos, um aluno afirmou que aulas experimentais não contribuem e um aluno foi indiferente. 96,7% dos alunos do grupo AT foram favoráveis a esta questão, um aluno afirmou que não contribui e um aluno afirmou que aulas práticas não interferem no aprendizado. Os dados estão expostos no gráfico a seguir (Figura 34). Não houve diferença estatisticamente significativa entre os alunos que disseram sim nos dois tratamentos,  $P_{calc} = 0,654$  a 5%.

**Figura 34** - Gráfico representando a frequência de respostas referente à questão 2: “*As aulas práticas contribuem (contribuirão) para uma melhor compreensão do conteúdo abordado?*”.

O questionário foi aplicado a três turmas do ensino médio Colégio Tiradentes da Polícia Militar no município de Manhuaçu – Minas Gerais. Cada turma foi dividida em dois grupos: Grupo APT, com aulas práticas e teóricas; e Grupo AT, somente com aulas teóricas.

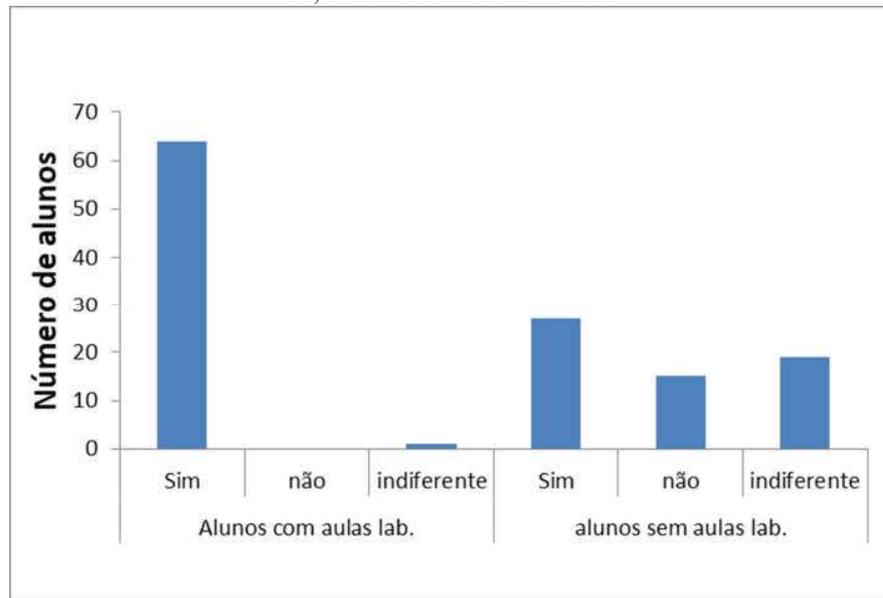


Fonte: elaborado pelo autor.

### ***Questão 3 – Os processos biológicos são melhor compreendidos por meio de aulas práticas?***

Para esta pergunta, 98% dos alunos do grupo APT concordam que os processos biológicos são assimilados com mais clareza quando trabalhados de forma prática, um aluno se mostrou indiferente a essa proposta. O grupo AT foi divergente quanto às opiniões: 44,2% concordam que sem aulas práticas o aprendizado seria prejudicado, 24,5% entendem que apenas aulas teóricas são suficientes e 31,1% se mostraram indiferentes. Entre os alunos que concordam, houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos com e sem aulas práticas,  $P_{calc} = 0,000105$  a 5%. Os dados estão expostos na Figura 35).

**Figura 35** - Gráfico representando a frequência de respostas referente à questão 3: “*Os processos biológicos são melhor compreendidos por meio de aulas práticas?*”. O questionário foi aplicado a três turmas do ensino médio Colégio Tiradentes da Polícia Militar no município de Manhuaçu – Minas Gerais. Cada turma foi dividida em dois grupos: Grupo APT, com aulas práticas e teóricas; e Grupo AT, somente com aulas teóricas.

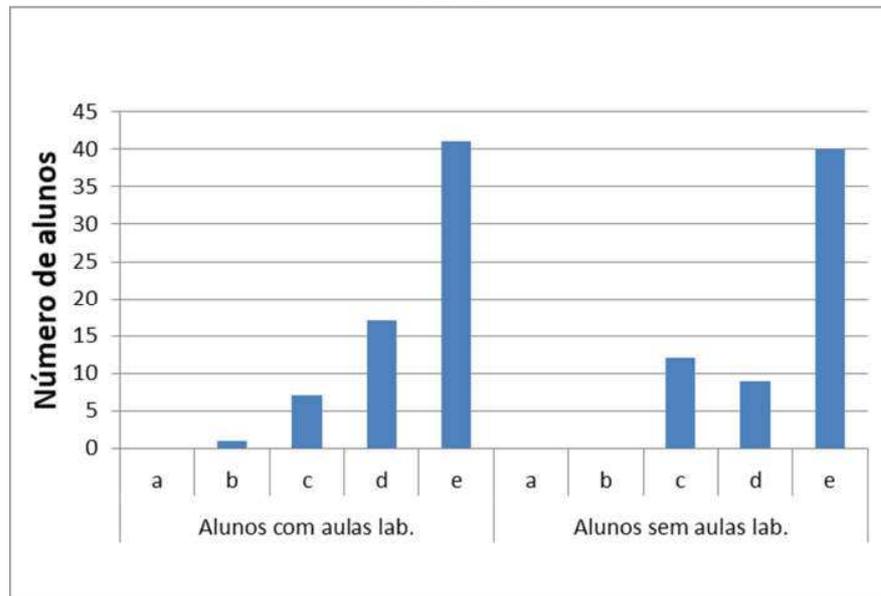


Fonte: elaborado pelo autor.

#### **Questão 4 – O que é mais importante?**

Com relação à importância das aulas práticas, a maior parte dos alunos dos dois grupos marcaram a letra (e), ou seja, concordam que é importante conciliar aulas práticas e teóricas. Os dados estão expostos na Figura 36.

**Figura 36** - Gráfico representando a frequência de respostas referente à questão 4: “O que é melhor?”. a) Aulas práticas somente. b) Aulas teóricas somente. c) Mais aulas teóricas que práticas. d) Mais aulas práticas que teóricas. e) Ambos. O questionário foi aplicado a três turmas do ensino médio Colégio Tiradentes da Polícia Militar no município de Manhuaçu – Minas Gerais. Cada turma foi dividida em dois grupos: Grupo APT, com aulas práticas e teóricas; e Grupo AT, somente com aulas teóricas.



Fonte: elaborado pelo autor.

Os resultados mencionados acima demonstram que os alunos são conscientes acerca da importância de aulas práticas para complementar e consolidar o conteúdo trabalhado em sala de aula. Trata-se de um instrumento facilitador da aprendizagem. Como visto na questão 1 (Figura 33), as aulas práticas são consideradas prazerosas e colocam o aluno como papel de investigador. O mesmo resultado foi observado por LIMA; GARCIA (2011), a maior parte dos alunos afirmaram que gostariam de ter aulas práticas. O envolvimento dos alunos promove a retenção do conhecimento e desenvolvem habilidades de uma forma mais adequada e prazerosa (PENICK, 1998).

De acordo com a questão 2 Figura 34, as aulas práticas são um meio facilitador do aprendizado e contribuem para uma melhor assimilação do conteúdo. Desta forma os alunos podem aplicar o conteúdo abordado ajudando no desenvolvimento de conceitos científicos, permitem aos estudantes abordar e intervir no mundo a sua volta desenvolvendo soluções para problemas complexos (LUNETTA, 2008). O ganho é imensurável, o conhecimento abordado de forma concisa e com bases sólidas em práticas inovadoras favorece a curiosidade e o protagonismo discente.

Os resultados obtidos por meio da questão 3 (Figura 35), ressaltam que os alunos submetidos às aulas práticas entendem que o aprendizado seria prejudicado caso não tenham aulas práticas, entretanto, no grupo sem aulas práticas, a frequência de resposta foi divergente sendo que 31% dos alunos mostraram-se indiferente. Aparentemente por não terem argumentos, pois não participaram de aulas práticas.

Com relação à questão 4 (Figura 36), ao responderem: “o que é mais importante?”, ambos os tratamentos, apresentaram elevada frequência favorável à alternativa d, ou seja, concordam que é necessário ter aulas práticas e teóricas para uma melhor consolidação do conteúdo.

Em relação aos resultados obtidos no que diz respeito à similaridade das respostas dos grupos APT e AT para as questões 1, 2, e 4, é importante ressaltar que a escola em que este trabalho foi aplicado possui aulas práticas de várias matérias em sua grade curricular. Este fato incentiva os alunos a terem e aulas práticas e reconhecer que esta atividade é importante e diferenciada no processo de ensino aprendizagem, o que pode justificar a percepção similar entre ambos os grupos trabalhados em relação às aulas práticas.

#### ***Questão 5 – Questão teórica sobre o conteúdo abordado em aula prática.***

Para avaliar o efeito das aulas práticas na consolidação do conteúdo de microbiologia e na capacidade de associar o estudo a questões práticas, foi aplicada uma questão genérica de microbiologia para cada ano do ensino médio. Os alunos com e sem aulas de laboratório responderam a mesma pergunta.

Os alunos do primeiro ano do ensino médio, que participaram ou não das aulas práticas, responderam a seguinte pergunta: “Água de córregos e nascentes, aparentemente limpa, pode apresentar riscos à saúde se ingerida. Em uma amostra de água, o que seria capaz de prejudicar a saúde? Quais procedimentos tornariam esta amostra segura para consumo?”.

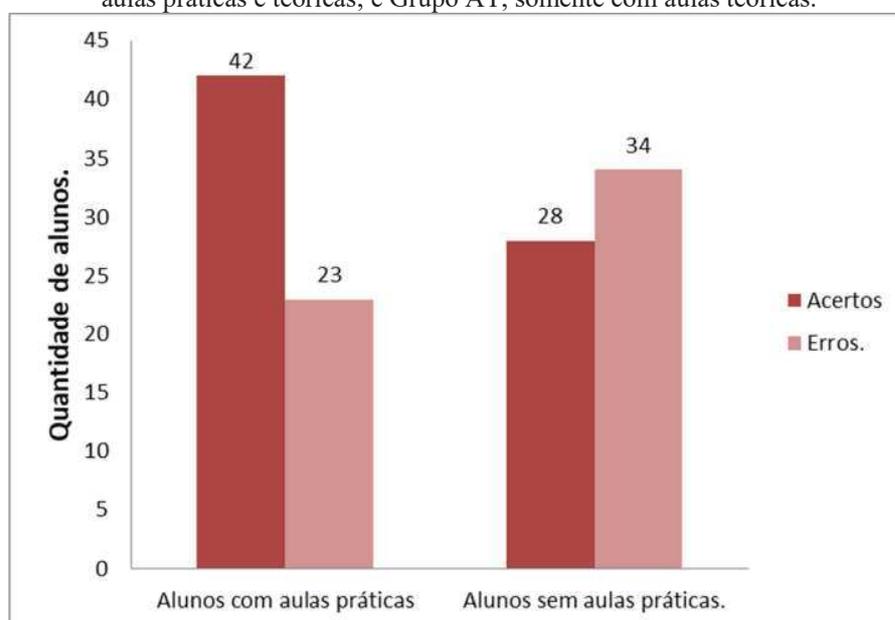
Os alunos do segundo ano do ensino médio, que participaram ou não das aulas práticas, responderam a seguinte pergunta: “No cotidiano devemos manter hábitos saudáveis de higiene e conservar cuidadosamente os alimentos. Quais métodos são adequados para conservar adequadamente os alimentos? Justifique!”.

Os alunos do terceiro o ano do ensino médio, que participaram ou não das aulas práticas, responderam a seguinte pergunta: “Os microrganismos desempenham vários papéis no

ambiente. A sociedade moderna se apropriou destas funções para empregá-las em vários setores. Descreva duas aplicações dos microrganismos no cotidiano”.

Como pode ser visto (Figura 37), 42 alunos (70%) no ensino médio que tiveram aulas práticas acertaram a pergunta discursiva específica. No grupo sem aulas práticas, apenas 28 alunos (45%) acertaram. As questões aplicadas são passíveis de serem respondidas apenas com aulas prática, portanto, os resultados obtidos acima demonstram que as aulas em laboratório reforçaram o conteúdo abordado em sala de aula e este fato refletiu positivamente no desempenho dos alunos. Este é um eficaz instrumento de aprendizagem que favorece diversos pontos de vista e uma maior imersão no assunto abordado complementando as aulas teóricas. Ressalto que no sistema de ensino do Colégio Tiradentes, os alunos participam de aulas práticas regularmente de diversas disciplinas como Biologia, Física e Química, mas o resultado do questionário mostra que o maior índice de acertos no grupo APT pode ser atribuído às aulas práticas aplicadas, demonstrando a utilidade da estratégia de ensino utilizada.

**Figura 37** – Gráfico representando a porcentagem de acertos e erros referente à questão 5. Cada turma (1º, 2º e 3º ano) responderam a uma questão discursiva relacionada aos conteúdos abordados: Quantidade de alunos do ensino médio que acertaram ou erraram a pergunta discursiva número cinco. ”. O questionário foi aplicado a três turmas do ensino médio Colégio Tiradentes da Polícia Militar no município de Manhuaçu – Minas Gerais. Cada turma foi dividida em dois grupos: Grupo APT, com aulas práticas e teóricas; e Grupo AT, somente com aulas teóricas.

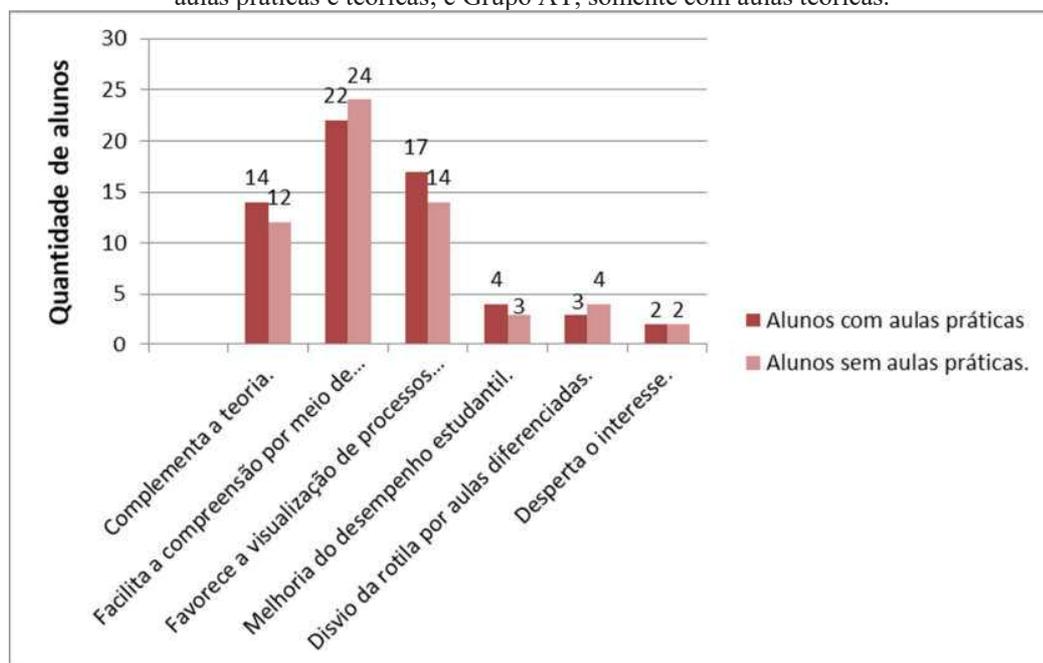


Fonte: Elaborado pelo autor

**Questão 6 – Comente como as aulas práticas em laboratório poderiam contribuir para facilitar a compreensão dos conteúdos de Biologia.**

Para esta questão, foram agrupadas as questões mais frequentes entre os dois grupos com e sem aulas práticas. Os resultados estão expostos no gráfico a seguir (Figura 38).

**Figura 38** – Respostas mais frequentes para a questão número seis: “Comente como aulas práticas em laboratório de Biologia poderiam contribuir para facilitar a compreensão dos conteúdos”. O questionário foi aplicado a três turmas do ensino médio Colégio Tiradentes da Polícia Militar no município de Manhuaçu – Minas Gerais. Cada turma foi dividida em dois grupos: Grupo APT, com aulas práticas e teóricas; e Grupo AT, somente com aulas teóricas.



Fonte: elaborado pelo autor.

As respostas mais frequentes para a questão seis foram:

- Aulas práticas complementam as aulas teóricas;
- Facilitam a compreensão do conteúdo abordado;
- Favorece a visualização de processos biológicos;
- Melhoram o desempenho estudantil;
- Tiram da rotina por meio de metodologias diferenciadas;
- Despertam o interesse.

As respostas mais frequentes encontradas fornecem evidências das aulas práticas pelo ponto de vista dos alunos. Os fatos apresentados reforçam a ideia de um ensino, em parte, livre de preocupações com conceitos, noções, termos científicos e teorias abstratas, que seja capaz de trabalhar em sala de aula discussões que prestigiem o fazer científico e a associação do conhecimento adquirido na escola com a vida da sociedade e desta forma promover a alfabetização científica (SASSERON, 2008). O conteúdo programático de Ciências e Biologia deve manter uma relevância para o cotidiano, e não se ater somente à aquisição de notas e processos seletivos, como o vestibular. A metodologia deve ser ajustada cuidadosamente para diversificar as habilidades e fomentar a curiosidade dos alunos. Ao fornecer aos alunos a oportunidade de pensar, eles terão uma ferramenta para toda a vida (LIMA; GARCIA, 2011), o que irá despertar a autonomia para seus próprios pontos de vistas e recursos para intervenções em suas próprias realidades.

## 5 CONCLUSÕES

Foram adaptadas e desenvolvidas quatro aulas práticas relacionadas ao conteúdo de Microbiologia para serem aplicadas no ensino médio. Estas aulas foram adaptadas a partir da literatura disponível, são plenamente funcionais e, segundo os resultados obtidos, tiveram impacto positivo sobre o aprendizado dos alunos. A aplicação das aulas, por parte de professores da rede pública de ensino, tem potencial de promover maior aporte metodológico desse conteúdo que, a princípio, é negligenciado.

Foram elaborados vários meios de cultura, líquidos ou sólidos, de fácil preparo e custo baixo que podem ser aplicados a grande variedade de aulas práticas, incluindo as duas aulas práticas adaptadas neste trabalho.

Dois projetos biotecnológicos viáveis de serem executados em escolas foram desenvolvidos. Os projetos sobre minhocário e biodigestor podem ser usados pelo professor para abordar inúmeros assuntos, não somente dentro da Microbiologia, mas da Biologia em geral. O preparo é relativamente simples, mas devido a questões operacionais eles não puderam ser aplicados neste trabalho.

As aulas práticas, conforme demonstrado pela aplicação de questionários e da percepção do professor, promoveu um maior envolvimento e interesse dos alunos por aulas práticas e pelo assunto trabalhado, com impactos positivos na consolidação do conteúdo abordado e na capacidade de transpor os conhecimentos.

Foram desenvolvidas metodologias alternativas funcionais e viáveis financeiramente para o ensino prático de microbiologia nas escolas em nível médio e fundamental. O material obtido e exposto nos resultados, exceto o tópico sobre a aplicação dos questionários, representa em um manual de práticas e metodologias fundamentadas que servirá como instrumento norteador para professores.

## REFERÊNCIAS

- AHANCHIAN, H.; JAFARI, S.A. Probiotics and Prebiotics for Prevention of Viral Respiratory Tract Infections. In: **Probiotics, Prebiotics, And Synbiotics**, p.575-583, 2016.
- ALESSI, M.C.M. **Avaliação da hidrólise alcalina da gordura sobre a biodegradação anaeróbia de soro de queijo**. 2005. Dissertação de mestrado (Engenharia Química). Universidade Federal de Uberlândia. Uberlândia 2005.
- ALMEIDA, M.E.B.; VALENTE, J.A. Integração currículo e tecnologias e a produção de narrativas digitais. **Curriculo sem Fronteiras**, v.12, p.57-89. 2012.
- AMBALAM, P. Probiotics, prebiotics and colorectal cancer prevention. **Best Practice & Research Clinical Gastroenterology**, v.30, p.119-131, 2016.
- AMORIM, R.R.; MOREAU, A.M.S.S. Avaliação do conteúdo da ciência do solo em livros didáticos de geografia do Ensino Médio. In: Anais do Simpósio Brasileiro de Geografia Física Aplicada, Florianópolis, SC. 2003
- ANTUNES, C. **Professores e Professores: Reflexões sobre a aula e práticas pedagógicas diversas**. 9ª ed., Petrópolis: Vozes, 2014.
- AQUINO, S.F.; CHERNICHARO, C.A.L.; FORESTI, E. Metodologias para determinar atividade metanogênica específica em lodos anaeróbios. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v.12, 2007.
- BARBOSA, F.H.F.; BARBOSA, L.P.J.L. Alternativas metodológicas em Microbiologia - viabilizando atividades práticas. **Revista de biologia e ciência da terra**, v.10, p.134-143, 2010.
- BARBOSA, F.G.; OLIVEIRA, N.C. Estratégias para o Ensino de Microbiologia: uma Experiência com Alunos do Ensino Fundamental em uma Escola de Anápolis-GO. *Revista de Ensino, Educação e Ciências Humanas*, v.16, p.5-13, 2015.
- BALDACIN, A.C.S.; PINTO, G.M.F. Biodigestão anaeróbica da vinhaça: Aproveitamento energético do biogás. **Revista Eletrônica FACP**. Ano III – nº 07, 2015.
- BARBÊDO, G.T.; MONERAT, C.A. Microbiologia no ensino fundamental: como os livros didáticos abordam essa temática. **Revista Ensino, Saúde e Ambiente**, v.7, p.1-12, 2014.
- BELL, T.; NEWMAN, J.A.; SILVERMAN, B.W.; TURNER, S.I.; LILEY, A.K. The contribution of species richness and composition to bacterial services. **Nature**, v.436, p.1157-1160, 2005.
- BERBARA, R.L.L; SOUZA; F.A; FONSECA, H.M.A.C. Fungos micorrízicos arbunsculares: Muito além da nutrição. In: **Nutrição mineral de plantas Viçosa, Sociedade Brasileira de Ciências do Solo**, p.53-88, 2006.
- BERBEL, N.A.N. A problematização e a aprendizagem baseada em problemas: Diferentes termos ou diferentes caminhos. **Interface - Comunicação, Saúde, Educação**, v.2, 1998.

BERTOLAZZI, A.A.; CANTON, G.C.; AZEVEDO, I.G.; CRUZ, Z.M.A.; SOARES, D.N.E.S.; CONCEIÇÃO, J.M.; SANTOS, W.O.; RAMOS, A.C. O papel das ectomicorrizas na biorremediação de metais pesados no solo. **Natureza on line**, Santa Teresa, v.8, p.24-31, 2010.

BORDENAVE, J.D.; PEREIRA, A.M. **Estratégias de ensino e aprendizagem**. 4.ed. Petrópolis: Vozes, 1982.

CAMATTI-SARTORI, V.; RIBEIRO, R.T.S.; SCUR, L.; VENTURIN, L.; RUPP, L.C.D. Cartilha para agricultores: adubação verde e compostagem. **Estratégias de manejo do solo para conservação das águas**. / org. Valdirene Camatti Sartori... [et al.]. - Dados eletrônicos. - Caxias do Sul, RS: Educs, 2011.

CAMPOS, M.C.C.; NIGRO, R.G. **Didática de ciências: o ensino-aprendizagem como investigação**. São Paulo: FTD, 1999.

CARLESSO, W.M; RIBEIRO, R; HOEHNE, L. Tratamento de resíduos a partir de compostagem e vermicompostagem. **Revista destaques acadêmicos**, ano 3, n.4, 2011.  
CARNEIRO, M.A.C.; SIQUEIRA, J.O.; DAVIDE, A.C. Fósforo e inoculação com fungos micorrízicos arbusculares no estabelecimento de mudas. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v.34, p.119-125, 2004.

CARVALHO, S.; LIMA, N. Compostagem doméstica em educação ambiental: potencial de uma abordagem holística. **Captar ciência e ambiente para todos**, v.2, p.40-54, 2010.  
CASSANTI, A. C. *et al.* Microbiologia democrática: estratégias de ensino-aprendizagem e formação de professores. In: **Enciclopédia Biosfera**, v., p.1-27, 2008.

CAVALCANTE, U.M.T; MAIA, L.C.; NOGUEIRA, R.J.M.C.; SANTOS, V.F. Respostas fisiológicas em mudas de maracujazeiro amarelo (*Passiflora Edulis sims.F. flavicarpa deg.*) inoculadas com fungos micorrízicos arbusculares e submetidas a estresse hídrico. **Acta botanica Brasilica**, v.15, p.379-390, 2001.

CAVALEIRO, A.J.V. **Efeito de sobrecargas de ácido oléico na atividade de consórcios microbianos anaeróbios desenvolvidos em processos de leito fixo**. Dissertação de Mestrado em tecnologia do ambiente, Universidade do Minho, Braga, PORTUGAL, 2000.

CHERNICHARO, C.A.L. **Princípios do tratamento biológico de águas residuárias – Reatores anaeróbios**, v. 5. Belo Horizonte , MG , DESA/UFMG. 1997.

CORRÊA C.T.; SANTOS J.S. Vermicompostagem no tratamento de resíduos orgânicos domésticos. In: **XI SEMANA DE EXTENSÃO, PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO SEPESQ**, n.11, 19 a 23 de outubro de 2015.

COSTA, C.M.C.; MAIA, L.C; CAVALCANTE, U.M.T; NOGUEIRA, R.J.M.C. Influência de fungos micorrízicos arbusculares sobre o crescimento de dois genótipos de aceroleira (*Malpighia emarginata* D.C.). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.36, p.893-901, 2001.  
DALZOTO, G. **Fundamentos e metodologia de ensino para as ciências biológicas**. Editora Intersaberes, 2014.

DEUBLEIN, D.; STEINHAUSER, A. **Biogas from waste and renewable resources: an Introduction**. 2nd edition. Germany: Wiley VCH. 2011.

DORTA M.P; SOUSA E.C.P; MURAMATSU M. O projetor de gotas e suas diversas abordagens interdisciplinares no Ensino de Física. **Revista Brasileira de Ensino de Física**, v.38, e4503. 2016.

DWIVEDI, Mi. et al. Induction of regulatory T cells: A role for probiotics and prebiotics to suppress autoimmunity. **Autoimmunity Reviews**, v.15, p.379-392, 2016.

ENGELKIRK, P.G.; DUBEN-ENGELKIRK, J. BURTON: **Microbiologia para as ciências da saúde**. 9ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2012.

FARIA, R. A. P. **Avaliação do potencial de geração de biogás e de produção de energia a partir da remoção da carga orgânica de uma estação de tratamento de esgoto** – Estudo de caso. 63 f. 2012. (Dissertação de Mestrado), Universidade Estadual do Oeste do Paraná. Cascavel, PR, 2012.

FERREIRA, J. **Fermentação**. Salvador, BA, 2007. Disponível em: <<http://julia3mcesb.blogspot.com/>>. Acesso em: 15 jul. 2018.

FREIRE, Paulo – **Pedagogia do Oprimido**. São Paulo: Paz e Terra, p.57-76, 1996.  
FUCHS-TARLOVSKY, V; MARQUEZ, BARBA, M.F; SRIRAM, K. Probiotics in dermatologic practice. **Nutrition**, v.32, p.289-295, 2016.

GARG, V. K.; YADAY, A. Vermicomposting: An effective tool for the management of invasive weed *Parthenium hysterophorus*. **Bioresource Technology**, v.102, p.5891-5895, 2011.

GOI. S.R; SOUZA. F.A. Diversidade de microrganismos do solo. **Floresta e ambiente**. V.13, p.46-65, 2006.

HOD, K; RINGEL, Y. Probiotics in functional bowel disorders. **Best Practice & Research Clinical Gastroenterology**, v.30, p.89-97, 2016.

HOFSTEIN, A.; LUNETTA, V.A. The role of the laboratory in science teaching: neglected aspects of research. **Review of Educational Research**, v.52, 1982.

KARNHOLZ, A.; KUSEL, K.; GOSSNER, A.; SCRAMM, A.; DRAKE, H.L. Tolerância e resposta metabólica de bactérias acetogênicas em oxigênio direcionado. **Microbiologia ambiental aplicada**, v.68, p.1005-1009, 2002.

KIEHL, E. J. Manual de Compostagem: maturação e qualidade do composto. 3. ed. 2012.  
LIMA, D.B. & GARCIA, R. N. **Uma investigação sobre a importância das aulas práticas de Biologia no Ensino Médio**. Cadernos do Aplicação, Porto Alegre, v. 24, 2011.

LIMBERGER, K. M.; SILVA, R. M.; ROSITO, B. A. **Investigando a contribuição de atividades experimentais nas concepções sobre microbiologia de alunos do ensino fundamental**. X Salão de Iniciação Científica, 2009. PUCRS.

LONGO, A.D. **Minhoca: de fertilizadora do solo a fonte alimentar**. São Paulo: Ícone, 79p. 1987.

LUCENA, R. M. **Identificação molecular da diversidade microbiana em reator UASB de estação de tratamento de esgoto**. 63 f. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal de Pernambuco. Recife, PE, 2008.

LUNETTA, V.N. Atividades práticas no ensino da Ciência. **Revista Portuguesa de Educação**, v. 2, p.81-90, 1991. apud LEITE, A.C.S.; SILVA, P.A.B.; VAZ, A.C.R.. A importância das aulas práticas para alunos jovens e adultos: uma abordagem investigativa sobre a percepção dos alunos do PROEF II. **Ensaio-Pesquisa em Educação em Ciências**, n.7, p.1-16, 2008.

LYBERATOS G. Modelagem da digestão anaeróbia - uma revisão. **Departamento de Engenharia Química**, Universidade de Patras, Grécia, v.1, p.63-76, 1999.

MACHADO, B.; GLEYSSON. Geração e Aproveitamento Energético do Biogás, **Projeto Probiogás 2016**.

MADIGAN, M.T.; STAHL, D.A.; BUCKLEY, D.H.; BENDER, K.S.; MARTINKO, J.M. **Microbiologia de Brock**. 14ª edição. Porto Alegre: ArtMed, 2014.

MORAES, F. P., & COLLA, L. M. Alimentos funcionais e nutracêuticos: definições, legislação e benefícios à saúde. **Revista Eletrônica de Farmácia**, 3(2), 109-122. 2006.

MORAN, J. M. **Mudando a educação com metodologias ativas**. In: *Convergências Midiáticas, Educação e Cidadania: aproximações jovens*. Coleção Mídias Contemporâneas. 2015. Disponível em: [http://www2.eca.usp.br/moran/wp-content/uploads/2013/12/mudando\\_moran.pdf](http://www2.eca.usp.br/moran/wp-content/uploads/2013/12/mudando_moran.pdf).

MOREIRA, F.; OLIVEIRA, L. Micorrizas arbusculares e composição mineral dos solos e das folhas de espécies exóticas e nativas cultivadas em clareiras da Província de Urucu, *Amazonas*. In: **III Reunião Científica da Rede Ctpetro Amazônia** – Manaus, 4-5/11/2010. Manaus AM, 2010.

OLIVEIRA, et al. Concepções alternativas sobre micro-organismos: alerta para a necessidade de melhoria no processo de ensino-aprendizagem de biologia. **Revista Brasileira de Ensino de Ciência e Tecnologia**, v.9, p.260-276, 2016.

OLIVEIRA, L.R.P. Dejetos de suínos fermentados em biodigestor. In: **VII Simpósio Goiano de Avicultura e II Simpósio Goiano de Suinocultura**, p.4-8, 2005.

OUWEHAND, A.C.; TENNILÄ, J. Probiotics and Antibiotic Use. **Probiotics, Prebiotics, And Synbiotics**, Elsevier, p.271-277, 2016.

PARAWIRA, W. **Tratamento Anaeróbico de Resíduos Agrícolas e Águas Residuais**. (Dissertação de doutorado). Departamento de Biotecnologia. Universidade de Lund. Suíça. 2004.

PENICK, J.E. **Ensinando “Alfabetização Científica”**. *Educar*, Curitiba, p.91-113. 1998.

PERIN, L.. **Estudo da comunidade de bactérias diazotróficas do gênero *Burkholderia* em associação com cana-de-açúcar e descrição de *Burkholderia silvatlantica*.** Tese (doutorado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Instituto de Agronomia. Rio de Janeiro 2007.

PINTO, C.P. **Tecnologia da digestão anaeróbia da vinhaça e desenvolvimento sustentável.** 1999. Tese (Mestrado em planejamento de sistemas energéticos) – Faculdade de engenharia mecânica, universidade de campinas São Paulo, São Paulo, 1999.

PLANINSIC G. **Water drop projector.** THE PHYSICS TEACHER Vol. 39, Fevereiro, 2001.

ROUXINOL. D., Ana Lúcia et al. Probiotics for the control of obesity – Its effect on weight change. **Porto Biomedical Journal**, v. 1, n. 1, p.12-24, mar. Porto, 2016.

SALVATIERRA, C.M. **Microbiologia.** Aspectos morfológicos, bioquímicos e metodológicos. São Paulo : Érica, 2014.

SANTOS, H. M. N.; FEHR, M. Educação Ambiental por meio da compostagem de resíduos sólidos orgânicos em escolas públicas de Araguari-MG. **Caminhos de Geografia**, Uberlândia, v. 8, n. 24, p.163-183, 2007.

SASSERON, L.H., CARVALHO, A.M.P. Almejando a alfabetização científica no ensino fundamental: a proposição e a procura de indicadores do processo. **Investigações em Ensino de Ciências**, v.13, p.333-352, 2008.

SATER, O.; SOUZA, N.D.; OLIVEIRA, E.A.G.; ELIAS, T. de F.; TAVARES, R. Estudo comparativo da carbonização de resíduos agrícolas e florestais visando à substituição da lenha no processo de secagem de grãos de café. **Rev. Ceres**, Viçosa, v.58, n.6, p. 717-722. 2011.

SCHINK, B. Energética da Cooperação Sintética na Degradação Metanogênica. **Revisões de Microbiologia e Biologia Molecular**, n.61, 262-280. 1997.

SILVA, CHPM. **Bacteriologia: um texto ilustrado.** Teresópolis: Eventos; 1999.

SILVA, M. S. **Biodigestão anaeróbia no saneamento rural.** Lavras: UFLA/FAEPE, 71p. (Textos Acadêmicos). 2001.

SILVA. C. A. Uso de Resíduos Orgânicos na agricultura. In: **SANTOS, G. Fundamentos da matéria orgânica do solo: ecossistemas tropicais e subtropicais.** 2. ed. Porto Alegre: Gênese, 2008.

SIQUEIRA, J.O; SOUZA, F.A; CARDOSO, E.J.B.N & TSAI, S.M. Livro: **Micorrizas: 30 anos de pesquisas no Brasil.** Lavras UFLA: 716p, 2010.

TEIXEIRA, L. B. Processo de compostagem a partir de lixo orgânico urbano em leira estática com ventilação natural. Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental, Embrapa Amazônia Oriental. **Circular técnica, Belém**, n.33, 2004.

TOLMASQUIM, M.T. Perspectivas e Planejamento do Setor energético no Brasil. **Estudos Avançados**, v.26, n.74, 2012.

TORTORA, Gerard J.; FUNKE.; CASE, CC.L. **Microbiologia**. 12. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

TORVISK, V .; OVREAS, L. **Diversidade microbiana e sua diversidade no solo ; De genes a ecossistemas**. Currente opinion in Microbiology, Londres, V.5. 2002.

TUGURIAN, L.P.; CARRIER, S.J. Children's environmental identity and the elementary Science classroom. **The Journal of Environmental Education**, v. 1, n.1, p. 1-11, 2016.

VAN HAANDEL, A. C.; LETTINGA, G. **Tratamento Anaeróbio de Esgotos. Um Manual para Regiões de Clima Quente**. Universidade Federal da Paraíba, cap. 2, 1994.

VIEIRA R.H.S.F.; RODRIGUES, D.P.; MENEZES E.A., EVANGELISTA N.S.S.; REIS, E.M.F.; BARRETO, L.M.; GONÇALVES, F.A. Microbial contamination of sand from major beaches in Fortaleza, Ceará State, Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.32, p.32:77-80, 2001.

WALSH, J.L.; ROSS, C.C.; SMITH, M.H.; HARPER,S.R. Utilization of biogas. **Biomass**, v.20, p.277–290.1989.

WELKER, Cassiano Aimberê Dorneles. **Estudo de bactérias e protistas no ensino médio: uma abordagem menos convencional**. In: Experiências em Ensino de Ciências. v.2, nº2, p.69-75.Porto Alegre: 2007.

ZUPPA, M. A.; **Adolescent health promotion scale: tradução, adaptação e validade para uso em adolescentes brasileiros**. / Marizete Arenhart Zuppa. Londrina: [s.n], 2017. WALSH, J.L.; ROSS,C.C.; SMITH,M.H.; HARPER,S.R. Utilization of biogas. Biomass, v.20, p.277–290.1989.

## ANEXO 1 – TERMO DE CONSENTIMENTO ASSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO/RESPONSÁVEIS



### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO/RESPONSÁVEIS

O menor \_\_\_\_\_, sob sua responsabilidade, está sendo convidado (a) como voluntário (a) a participar da pesquisa **“MÉTODOS ALTERNATIVOS NO ENSINO DE MICROBIOLOGIA”**. O motivo que nos leva a realizar esta pesquisa é: “O estudo prático de microrganismos na educação básica é de suma importância devido às funções ecológicas e aplicabilidade biotecnológica dos microrganismos. Existe demanda por materiais direcionados ao ensino de microbiologia nas escolas. O alto custo dos insumos e equipamentos, associados à falta de experiência dos professores nesta área, torna a prática de microbiologia inviável em muitos casos, especialmente em escolas públicas. Este projeto tem o objetivo de atender a esta demanda e contribuir com métodos inovadores de ensino em Microbiologia por meio da elaboração de um manual técnico para instruir na confecção de meios de culturas e atividades práticas funcionais e viáveis financeiramente, na análise dos resultados, na elaboração de projetos e planos de aulas, fornecendo apoio teórico e pedagógico.”

Caso você concorde na participação do menor vamos fazer as seguintes atividades com ele **“Ministrar aulas teóricas e práticas de microbiologia com materiais simples, sem risco, e/ou virtuais, para ampliação na qualidade do ensino do estudante”**”. Esta pesquisa se classifica em tendo riscos mínimos, inerentes a possibilidade de identificação dos participantes. Entretanto, a forma de abordagem e de tratamento das informações será criteriosa, anônima e de forma a proteger os participantes. Serão utilizados alguns insumos contaminados, tais como alimento em decomposição e meio de cultura com microrganismos crescidos. Não serão utilizados insumos e metodologias que impliquem em risco químico ou físico aos alunos, tendo suas atividades desenvolvidas dentro do espaço escolar e sob acompanhamento direto do professor. A pesquisa pode ajudar na **“Melhoria do ensino de microbiologia em escolas públicas por meio do desenvolvimento de apostila com práticas que não demandem estrutura ou insumos complexos para serem executadas”**. Também será aplicado um questionário para avaliar o seu conhecimento teórico sobre a matéria ministrada e também sua percepção sobre a metodologia de aula utilizada.

Para participar desta pesquisa, o menor sob sua responsabilidade e você não irão ter nenhum custo, nem receberão qualquer vantagem financeira. Apesar disso, se o menor tiver algum dano por causa das atividades que fizermos com ele nesta pesquisa, ele tem direito a indenização.

Ele terá todas as informações que quiser sobre esta pesquisa e estará livre para participar ou recusar-se a participar. Você como responsável pelo menor poderá retirar seu consentimento ou interromper a participação dele a qualquer momento. Mesmo que você queira deixá-lo participar agora, você pode voltar atrás e parar a participação a qualquer momento. A participação dele é voluntária e o fato em não deixá-lo participar não vai trazer qualquer penalidade ou mudança na forma em que ele é atendido. Os resultados da pesquisa estarão à sua disposição quando finalizada. O nome ou o material que indique a participação do menor não será liberado sem a sua permissão. O menor não será identificado em nenhuma publicação.

Este termo de consentimento encontra-se impresso em duas vias originais, sendo que uma será arquivada pelo pesquisador responsável e a outra será fornecida a você. Os dados coletados na pesquisa ficarão arquivados com o pesquisador responsável por um período de 5 (cinco) anos, e após esse tempo serão destruídos. Os pesquisadores tratarão a sua identidade com padrões profissionais de sigilo, atendendo a legislação brasileira (Resolução Nº 466/12 do Conselho Nacional de Saúde), utilizando as informações somente para os fins acadêmicos e científicos.

Declaro que concordo em deixá-lo participar da pesquisa e que me foi dada à oportunidade de ler e esclarecer as minhas dúvidas.

Assinatura do (a) Responsável

Governador Valadares, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 20\_\_.

Prof. Dr. Marcelo Nagem Valério de Oliveira:  
Campus Avançado Governador Valadares da UFJF  
CEP: 35010-173 Fone: 33 999128607  
E-mail: marcelo.oliveira@ufjf.edu.br

Em caso de dúvidas, com respeito aos aspectos éticos desta pesquisa, você poderá consultar:  
CEP - Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos - UFJF  
Campus Universitário da UFJF  
Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa  
CEP: 36036-900  
Fone: (32) 2102- 3788 / E-mail: cep.propesq@ufjf.edu.br

- 1

## ANEXO 2 – TERMO DE ASSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO



### TERMO DE ASSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Gostaríamos de convidar você a participar como voluntário (a) da pesquisa **“MÉTODOS ALTERNATIVOS NO ENSINO DE MICROBIOLOGIA”**. O motivo que nos leva a realizar esta pesquisa é “O estudo prático de microrganismos na educação básica é de suma importância devido às funções ecológicas e aplicabilidade biotecnológica dos microrganismos. Existe demanda por materiais direcionados ao ensino de microbiologia nas escolas. O alto custo dos insumos e equipamentos, associados à falta de experiência dos professores nesta área, torna a prática de microbiologia inviável em muitos casos, especialmente em escolas públicas. Este projeto tem o objetivo de atender a esta demanda e contribuir com métodos inovadores de ensino em Microbiologia por meio da elaboração de um manual técnico para instruir na confecção de meios de culturas e atividades práticas funcionais e viáveis financeiramente, na análise dos resultados, na elaboração de projetos e planos de aulas, fornecendo apoio teórico e pedagógico.”. Nesta pesquisa pretendemos **“desenvolver uma apostila com aulas práticas para o ensino de microbiologia”**.

Caso você concorde em participar, vamos fazer as seguintes atividades com você **“Você será convidado a participar, na própria escola, de uma aula prática que consistirá em: explicação inicial sobre o assunto da aula, execução ou visualização de técnicas para perceber os microrganismos no ambiente e em outras amostra. Você também será estimulado a construir um raciocínio sobre a importância dos microrganismos na sua vida, na natureza e na sociedade. Também será aplicado um questionário para avaliar o seu conhecimento teórico sobre a matéria ministrada e também sua percepção sobre a metodologia de aula utilizada.**

Esta pesquisa tem alguns riscos, que são: **“Esta pesquisa se classifica em tendo riscos mínimos, inerentes a possibilidade de identificação dos participantes. Entretanto, a forma de abordagem e de tratamento das informações será criteriosa, anônima e de forma a proteger os participantes. Serão utilizados alguns insumos contaminados, tais como alimento em decomposição e meio de cultura com microrganismos crescidos. Não serão utilizados insumos e metodologias que impliquem em risco químico ou físico aos alunos, tendo suas atividades desenvolvidas dentro do espaço escolar e sob acompanhamento direto do professor.”** Mas, para diminuir a chance desses riscos acontecerem, **“todo o procedimento será acompanhado de perto pelo professor, e toda a aula será organizada de maneira a manter a organização e a segurança do aluno, impedindo-o de executar tarefas que não tenham sido explicadas”**. A pesquisa pode ajudar **“Melhoria do ensino de microbiologia em escolas públicas por meio do desenvolvimento de apostila com práticas que não demandem estrutura ou insumos complexos para serem executadas”**.

Para participar desta pesquisa, o responsável por você deverá autorizar e assinar um termo de consentimento. Para participar deste estudo você não vai ter nenhum custo, nem receberá qualquer vantagem financeira. Apesar disso, se você tiver algum dano por causadas atividades que fizermos com você nesta pesquisa, você tem direito a indenização. Você terá todas as informações que quiser sobre esta pesquisa e estará livre para participar ou recusar-se a participar. Mesmo que você queira participar agora, você pode voltar atrás ou parar de participar a qualquer momento. A sua participação é voluntária e o fato de não querer participar não vai trazer qualquer penalidade ou mudança na forma em que você é atendido (a). O pesquisador não vai divulgar seu nome. Os resultados da pesquisa estarão à sua disposição quando finalizada. Seu nome ou o material que indique sua participação não será liberado sem a permissão do responsável por você.

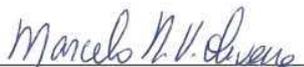
Você não será identificado (a) em nenhuma publicação que possa resultar. O responsável por você poderá retirar o consentimento ou interromper a sua participação a qualquer momento.

Este termo de consentimento encontra-se impresso em duas vias originais, sendo que uma será arquivada pelo pesquisador responsável e a outra será fornecida a você. Os dados coletados na pesquisa ficarão arquivados com o pesquisador responsável por um período de 5 (cinco) anos, e após esse tempo serão destruídos. Os pesquisadores tratarão a sua identidade com padrões profissionais de sigilo, atendendo a legislação brasileira (Resolução Nº 466/12 do Conselho Nacional de Saúde), utilizando as informações somente para os fins acadêmicos e científicos.

Sei que a qualquer momento poderei solicitar novas informações, e o meu responsável poderá modificar a decisão de participar se assim o desejar. Tendo o consentimento do meu responsável já assinado, declaro que concordo em participar da pesquisa e que me foi dada a oportunidade de ler e esclarecer as minhas dúvidas.

Governador Valadares, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 20\_\_\_\_.

Assinatura do (a) menor

  
Prof. Dr. Marcelo Nagem Valério de Oliveira  
Campus Avançado Governador Valadares da UFJF  
CEP: 35010-173  
Fone: 33 999128607  
E-mail: marcelo.oliveira@ufjf.edu.br

Em caso de dúvidas, com respeito aos aspectos éticos desta pesquisa, você poderá consultar:  
CEP - Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos - UFJF  
Campus Universitário da UFJF  
Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa  
CEP: 36036-900  
Fone: (32) 2102-3788 / E-mail: cep.propesq@ufjf.edu.br

### ANEXO 3 - QUESTIONÁRIO PARA ALUNOS ANTES DAS AULAS PRÁTICAS

Idade: \_\_\_\_\_ Sexo: ( ) Feminino ( ) Masculino  
Série: \_\_\_\_\_

1. Você gostaria de ter aulas práticas (em laboratório) de Biologia?

( ) Sim ( ) Não ( ) Indiferente

2. A compreensão dos conteúdos de biologia abordados em sala de aula seria facilitada pelas práticas em laboratório?

( ) Sim ( ) Não ( ) Indiferente

3. Caso você não tenha aulas práticas, isso prejudicaria sua aprendizagem?

( ) Sim ( ) Não ( ) Indiferente

4. O que é você julga ser importante?

(a) Aulas práticas somente.

(b) Aulas teóricas somente.

(c) Mais aulas teóricas do que práticas.

(d) Mais aulas práticas do que teóricas.

(e) Ambas são importantes.

5. Comente como as aulas práticas em laboratório poderiam contribuir para facilitar a compreensão dos conteúdos de biologia.

#### ANEXO 4 - QUESTIONÁRIO PARA ALUNOS APÓS AULAS PRÁTICAS

Idade: \_\_\_\_\_ Sexo: ( ) Feminino ( ) Masculino

Série: \_\_\_\_\_

1. Você gosta das aulas práticas em laboratório de Biologia?

( ) Sim ( ) Não ( ) Indiferente

2. As aulas práticas contribuíram para uma melhor compreensão dos conteúdos abordados em sala de aula?

( ) Sim ( ) Não ( ) Indiferente

3. Os processos biológicos são mais bem visualizados por meio das aulas práticas em laboratório de biologia?

( ) Sim ( ) Não ( ) Indiferente

4. O que você julga ser mais importante?

(a) Aulas práticas somente.

(b) Aulas teóricas somente.

(c) Mais aulas teóricas do que práticas.

(d) Mais aulas práticas do que teóricas.

(e) Ambas são importantes.

5. Comente como as aulas práticas em laboratório contribuíram para facilitar a compreensão do conteúdo de Biologia