

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA PARA A SUSTENTABILIDADE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA
E MONITORAMENTO AMBIENTAL

Rafael Vinícius de Oliveira

**FORMAÇÃO DE HIDROGEL DE ALGINATO DE CÁLCIO POR
CONGELAMENTO E SUA APLICAÇÃO NA CAPTURA DE MICROPLÁSTICOS**

Sorocaba

2025

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA PARA A SUSTENTABILIDADE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA
E MONITORAMENTO AMBIENTAL

Rafael Vinícius de Oliveira

**FORMAÇÃO DE HIDROGEL DE ALGINATO DE CÁLCIO POR
CONGELAMENTO E SUA APLICAÇÃO NA CAPTURA DE MICROPLÁSTICOS**

Trabalho de Conclusão de Dissertação apresentado
ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia e
Monitoramento Ambiental para obtenção do título
de Mestre em Biotecnologia e Monitoramento
Ambiental da Universidade Federal de São Carlos.

Orientação: Prof. Dr. Walter Ruggeri Waldman

Financiamento: Coordenação de Aperfeiçoamento
de Pessoal de Nível Superior (Auxílio:
88887.838492/2023-00)

Sorocaba
2025

Oliveira, Rafael Vinícius de

Formação de hidrogel de alginato de cálcio por congelamento e sua aplicação na captura de microplásticos / Rafael Vinícius de Oliveira -- 2025. 52f.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de São Carlos, campus Sorocaba, Sorocaba
Orientador (a): Walter Ruggeri Waldman
Banca Examinadora: Daniel Komatsu, Maira de Lourdes Rezende
Bibliografia

1. Hidrogéis. 2. Microplásticos. 3. Congelamento. I. Oliveira, Rafael Vinícius de. II. Título.

Ficha catalográfica desenvolvida pela Secretaria Geral de Informática
(SIn)

DADOS FORNECIDOS PELO AUTOR

Bibliotecário responsável: Maria Aparecida de Lourdes Mariano -
CRB/8 6979



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

Centro de Ciências e Tecnologias Para a Sustentabilidade
Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia e Monitoramento Ambiental

Folha de Aprovação

Defesa de Dissertação de Mestrado do candidato Rafael Vinícius de Oliveira, realizada em 07/03/2025.

Comissão Julgadora:

Prof. Dr. Walter Ruggeri Waldman (UFSCar)

Profa. Dra. Maíra de Lourdes Rezende (Fatec-SO)

Prof. Dr. Daniel Komatsu (PUC)

O Relatório de Defesa assinado pelos membros da Comissão Julgadora encontra-se arquivado junto ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia e Monitoramento Ambiental.

Dedico este trabalho à minha família, namorada, amigos e orientador que me apoiaram neste caminho, inspirando-me a explorar, questionar e a seguir em frente com determinação.

AGRADECIMENTOS

Durante toda a minha trajetória, sempre contei com pessoas extraordinárias, que me ensinaram tanto as lições mais simples quanto as mais complexas que experienciamos ao longo da vida. Sou grato a cada um que cruzou o meu caminho, pois este trabalho não seria possível sem o apoio de vocês.

Agradeço imensamente à família à qual pertenço, especialmente aos meus pais, José e Mônica, que sempre me apoiaram em minhas decisões, não apenas oferecendo suporte, mas também me encorajando, acalmando e amando em todos os momentos. À minha irmã Natália, agradeço por ter sido uma referência e ter despertado em mim o interesse pela universidade pública; tê-la como irmã é, sem dúvida, uma parceria para toda a vida. Também sou profundamente grato à minha incrível companheira, Giulia, nesta bela e breve jornada que é a vida. Obrigado por me ensinar todos os dias sobre o amor, companheirismo e dedicação, sempre me mostrando os melhores caminhos e colaborando para que eu me torne uma pessoa melhor.

Aos meus amigos de longa data, que sempre estiveram na torcida independente da distância, deixo meu sincero agradecimento. Aos amigos que a UFSCar me proporcionou durante a graduação, iniciação científica e na pós-graduação, sou grato por me mostrarem diariamente, que a ciência, embora desafiadora, pode ser trilhada com leveza e alegria.

Agradeço ao meu orientador, Walter, por todo suporte e por mudar a perspectiva que eu tinha sobre a ciência. Seu carisma e apreço pelo nosso bem-estar inspiram-nos a sermos mais do que simples reprodutores de conhecimento, incentivando-nos a desenvolver um pensamento crítico e reflexivo.

Por fim, deixo meu agradecimento ao Universo por tudo o que já me proporcionou, proporciona e ainda proporcionará. Farei sempre o meu melhor, sempre sendo grato e confiante de que tudo já deu certo!

"Quando você deseja algo, todo o universo conspira para que você o realize."

— Paulo Coelho, O Alquimista.

Essa frase resume bem minha jornada e todo o esforço dedicado para as conquistas e realizações até aqui.

RESUMO

Empregados em diversos setores como saúde e agricultura, os hidrogéis vêm se destacando por suas propriedades, sobretudo por sua alta capacidade de reter líquidos sem comprometimento de sua estrutura. Entre os diferentes polímeros que podem constituir os hidrogéis, destaca-se para este estudo o alginato, um biopolímero extraído de algas marrons. O alginato apresenta a capacidade de gelificar ao interagir com íons divalentes, como, por exemplo, os íons cálcio. Essa interação resulta na formação de um hidrogel de alginato de cálcio, quando há concentrações adequadas de ambos os componentes envolvidos. Os estudos apresentados nesta dissertação propõem uma técnica inovadora para formação de hidrogéis em concentrações subgelificantes — concentrações onde o hidrogel não é formado em temperatura ambiente. A metodologia desenvolvida fundamenta-se em dois conceitos principais: o congelamento lento e a técnica de *ice-template*. O congelamento lento promove o aumento das concentrações dos solutos no meio, favorecendo a interação entre o alginato e os íons cálcio, enquanto os cristais de gelo formados perfuram o hidrogel, dando uma característica porosa ao material. Os resultados obtidos mostraram como as diferentes concentrações de cálcio e alginato interferem na formação dos hidrogéis e trouxeram algumas informações quanto às interações dos componentes em concentrações subgelificantes. Além da eficiência desta metodologia na produção de hidrogéis irreversíveis por congelamento, foi demonstrado seu potencial em capturar partículas, como microplásticos de tinta spray, algo inédito até o momento. Com os estudos realizados, espera-se oferecer uma nova visão sobre os hidrogéis, abrindo caminhos para futuras pesquisas, potencializando a compreensão do uso dos hidrogéis e a escalabilidade da técnica.

Palavras-chave: alginato; captura; congelamento; hidrogéis; microplásticos.

ABSTRACT

Employed in various sectors such as health and agriculture, hydrogels have been gaining prominence for their properties, especially for their high capacity to retain liquids without compromising their structure. Among the different polymers that can constitute hydrogels, alginate stands out in this study, a biopolymer extracted from brown algae. Alginate has the ability to gel when interacting with divalent ions, such as calcium ions. This interaction results in the formation of a calcium alginate hydrogel when there are adequate concentrations of both components involved. The studies presented in this dissertation propose an innovative technique for forming hydrogels at sub-gelling concentrations — concentrations where the hydrogel does not form at room temperature. The methodology developed is based on two main concepts: slow freezing and the ice-template technique. Slow freezing promotes an increase in the concentration of solutes in the medium, favoring the interaction between alginate and calcium ions, while the ice crystals formed perforate the hydrogel, giving the material a porous characteristic. The results obtained showed how the different concentrations of calcium and alginate interfere with hydrogel formation and raised some questions regarding the interactions of the components at sub-gelling concentrations. In addition to the efficiency of this methodology in producing irreversible hydrogels by freezing, its potential to capture particles, such as spray paint microplastics, was demonstrated, something unprecedented so far. With the studies carried out, it is expected to offer a new perspective on hydrogels, opening paths for future research, enhancing the understanding of the use of hydrogels, and the scalability of the technique.

Keywords: alginate; capture; freezing; hydrogels; microplastics.

SUMÁRIO

RESUMO	7
ABSTRACT	8
1. CAPÍTULO 1: INTRODUÇÃO	12
1.1. Hidrogéis: Definição, aplicações e classificações	12
1.2. Biopolímero utilizado e fundamentos da técnica desenvolvida	13
1.3. Microplásticos e seus impactos	13
1.4. Aplicação da técnica inovadora para captura de particulados	14
1.5. Objetivos dos trabalhos realizados	14
2. CAPÍTULO 2: ARTIGO 1	15
RESUMO	15
2.1. INTRODUÇÃO	16
2.2. MÉTODOS	17
2.2.1. Escolha do alginato e do cloreto de cálcio	17
2.2.2. Seleção de concentrações para o processo de congelamento	17
2.2.3. Varredura no DLS:	17
2.2.4. Procedimento de congelamento da solução	18
2.2.5. Determinação da área	18
2.2.6. Determinação da massa molhada e seca do hidrogel	18
2.2.7. Teste de força do hidrogel	18
2.2.8. Registro e análise de imagens	19
2.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	20
2.3.1. Varredura do tamanho hidrodinâmico no DLS	20
2.3.2. Formação do hidrogel de alginato de cálcio por congelamento	22
2.3.3. Variações das áreas dos hidrogéis	24
2.3.4. Variação da massa molhada e massa seca dos hidrogéis	25
2.3.5. Variação das forças dos hidrogéis	26
2.3.6. Fotografia do hidrogel liofilizado no MEV sem MPs	26
2.4. CONCLUSÃO	27
2.5. AGRADECIMENTOS	28
REFERÊNCIAS	28
3. CAPÍTULO 3: ARTIGO 2	30
3.1. INTRODUÇÃO	31
3.2. MÉTODOS	32
3.2.1. Escolha do alginato e cloreto de cálcio	32
3.2.2. Determinação da concentração de alginato e cloreto de cálcio	32
3.2.3. Determinação do MP a ser utilizado	33
3.2.4. Produção dos MPs	33
3.2.5 Seleção das partículas de interesse	33

	10
3.2.6. Submissão ao processo de congelamento	35
3.2.7. Precauções com contaminação	35
3.2.8. Controles	35
3.2.9. Filtração da solução em membranas	36
3.2.10. Quantificação de partículas e determinação da área das partículas	37
3.2.11. Fotografias do MEV	37
3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
3.3.1. Formação do hidrogel	38
3.3.2. Hidrogel com coloração azulada	39
3.3.3. Análises qualitativas entre os tratamentos	40
3.3.4. Análise quantitativa entre os tratamentos	42
3.3.5. Fotografias do MEV	44
3.4. CONCLUSÃO	45
3.5. AGRADECIMENTOS	45
REFERÊNCIAS	45
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS	48
REFERÊNCIAS	49

PREÂMBULO

Esta dissertação está organizada em três capítulos, sendo finalizada com as considerações finais referentes aos dois trabalhos realizados durante o mestrado. No capítulo 1, é apresentada uma introdução geral explicando os fundamentos da técnica inovadora desenvolvida para formação de hidrogéis irreversíveis de alginato de cálcio, com baixo custo e sustentável. Ademais, aborda-se o que são os microplásticos e sua relação com a técnica desenvolvida, finalizando com os objetivos que motivaram estes estudos.

No segundo capítulo, é apresentado o primeiro artigo, que trata da produção de hidrogéis pela técnica adaptada de *ice-template*, com a variação das concentrações de alginato e cálcio.

O terceiro capítulo traz o segundo artigo, intitulado: *Plasticatch: Freezing to capture dispersed particles like microplastics*, o qual traz os resultados da aplicação da metodologia desenvolvida na captura de particulados, como microplásticos.

Por fim, a dissertação é concluída com as considerações finais, que oferecem uma visão geral dos trabalhos realizados.

1. CAPÍTULO 1: INTRODUÇÃO

1.1. Hidrogéis: Definição, aplicações e classificações

Os hidrogéis são materiais poliméricos hidrofílicos capazes de absorver grandes quantidades de água sem comprometer sua integridade estrutural (1,2). Essa característica decorre das ligações cruzadas que formam a estrutura de sua rede tridimensional, podendo ocorrer diretamente entre os grupos funcionais das cadeias poliméricas ou serem mediadas por agentes reticulantes (1,2).

Devido às suas propriedades, os hidrogéis são materiais com aplicações em diferentes áreas (3). Na saúde, são utilizados no encapsulamento de medicamentos, no tratamento de queimaduras e no cultivo celular (4,5,6). Na agricultura, são empregados para a liberação controlada de insumos agrícolas e na retenção de água (7,8,9). Para atender a essas diferentes funções, os hidrogéis podem ser formulados a partir de variados tipos de polímeros e agentes reticulantes, permitindo a modulação de suas propriedades conforme a necessidade (10).

Os hidrogéis podem ser classificados com base na origem do polímero que os constituem, sendo categorizados como naturais, sintéticos e híbridos (2,10). Os hidrogéis naturais são obtidos a partir de polímeros como alginato, quitosana e colágeno, apresentando uma excelente biocompatibilidade e biodegradabilidade (11,12,13). Já os hidrogéis sintéticos são feitos a partir de polímeros sintetizados em laboratório, dentre eles a poli(acrilamida) e o polietilenoglicol (11). Esse tipo de hidrogel permite um maior controle sobre suas propriedades estruturais e mecânicas, possibilitando ajustes conforme a necessidade para a qual deseja aplicá-los (11). Os hidrogéis híbridos combinam vantagens de ambos os anteriores, associando a biocompatibilidade e a possibilidade de modulação das propriedades físico-químicas (2).

Além dessa classificação, os hidrogéis também podem ser diferenciados quanto ao tipo de reticulação. Quando as cadeias poliméricas são conectadas por ligações covalentes, a estrutura do hidrogel apresenta uma alta estabilidade e tende a ser um hidrogel permanente (14). Em contrapartida, aqueles onde a interação entre as cadeias ocorre por ligações de força iônica, ligações de hidrogênio e interações de Van der Waals são menos estáveis, e em alguns casos, podem apresentar uma estrutura reversível (14).

1.2. Biopolímero utilizado e fundamentos da técnica desenvolvida

Neste trabalho, buscou-se desenvolver um hidrogel através de uma metodologia inovadora, a partir do biopolímero denominado alginato, que é obtido principalmente de algas marrons e apresenta a capacidade de gelificação (15). A gelificação ocorre quando as cadeias do alginato interagem com íons divalentes, como o Ca^{2+} , conforme o modelo *egg-box* (16). No entanto, para que essa interação ocorra, as soluções de alginato e cloreto de cálcio devem estar em concentrações adequadas para promover a reticulação. Aqui entra um dos pontos inovadores e diferenciais do trabalho, onde as concentrações utilizadas para formação de um hidrogel irreversível são de subgelificação — concentrações insuficientes para a formação do hidrogel em temperatura ambiente.

Para induzir a gelificação nessas condições, foi desenvolvida uma técnica, que se baseia em dois conceitos principais: o aumento da concentração por congelamento (17,18) e a técnica de *ice-template* (19,20). Em resumo, o congelamento eleva as concentrações dos solutos, resultando na formação de um hidrogel irreversível. Enquanto os cristais de gelo que atuam como um molde, ao derreterem, deixam a estrutura do hidrogel porosa, algo característico de materiais feitos com a técnica de *ice-template* (19,20). Os detalhes dessa metodologia adaptada do *ice-template* são abordados nos próximos capítulos de uma forma mais aprofundada.

1.3. Microplásticos e seus impactos

Para compreender a relevância dessa técnica e uma de suas aplicações apresentada adiante, é fundamental conhecer as características dos microplásticos, contaminantes que vêm ganhando destaque devido à sua persistência e ampla dispersão, sendo encontrados em locais remotos, na água consumida e no corpo humano (21,22).

Os microplásticos (MPs) são partículas plásticas com dimensões entre 1µm e 5mm, tendo uma distribuição ubíqua devido às suas propriedades (23). Eles podem ser produzidos intencionalmente nesse tamanho para aplicações específicas ou originar-se da fragmentação de plásticos maiores (24). Quando os MPs são fabricados intencionalmente dessa forma, são

classificados como microplásticos primários. Já quando a fonte desses particulados é a fragmentação de outros plásticos maiores, são denominados de MPs secundários (24).

Neste trabalho foram utilizados MPs provenientes de tinta spray azul metálica. As tintas contêm polímeros em sua composição, que são responsáveis pela formação do filme de tinta após o processo de cura. Por serem aplicadas em diferentes tipos de superfícies e acabarem sendo expostas a radiação solar, ventos e chuvas, as tintas representam uma grande fonte de contaminação de MPs no meio ambiente, sendo muitas vezes negligenciadas (25). Além disso, muitas tintas apresentam metais potencialmente tóxicos e outros aditivos em sua composição, podendo afetar a biota quando expostos a partículas provenientes desses materiais (26). Devido à relevância ambiental dos MPs provenientes de tinta e às suas propriedades, escolheu-se esse tipo de MP para o trabalho.

1.4. Aplicação da técnica inovadora para captura de particulados

O crescente problema dos MPs faz com que estudos voltados à mitigação desses particulados no ambiente aquático avancem cada vez mais. Neste contexto, a técnica adaptada de *ice-template* desenvolvida foi aplicada em uma solução de alginato e cloreto de cálcio contendo MPs de tinta spray azul, visando retirar essas partículas da solução. Todo o processo e resultados são detalhados no artigo: *Plasticatch: Freezing to capture dispersed particles like microplastics*.

1.5. Objetivos dos trabalhos realizados

Os objetivos centrais dos trabalhos apresentados nessa dissertação foram: (1) determinar a influência das diferentes concentrações de alginato e cálcio na formação do hidrogel por meio do congelamento lento; (2) colaborar para enriquecer o conhecimento sobre a interação do alginato e do cálcio em concentrações de subgelificação, um aspecto pouco abordado na literatura; (3) apresentar uma metodologia inovadora para síntese de hidrogéis; (4) demonstrar o potencial dos hidrogéis como uma ferramenta para captura de MPs em pequena escala de soluções aquosas, (5) contribuindo para o desenvolvimento de uma matriz para análise de particulados acessível e ambientalmente amigável.

2. CAPÍTULO 2: ARTIGO 1

Uma nova abordagem para formação de hidrogéis de alginato de cálcio: Gelificação induzida por congelamento em concentrações subgelificantes

A new approach to calcium alginate hydrogel formation: Freeze-induced gelation at sub-gelling concentrations

RESUMO

O alginato é um biopolímero extraído principalmente de algas marrons que apresenta a característica de gelificação quando interage com íons divalentes, como o Ca^{2+} , tornando-o especialmente interessante para aplicações em diversos setores. A interação entre alginato e íons divalentes em temperatura ambiente é bem estabelecida e, para que ela ocorra, certas concentrações de ambos os componentes precisam ser atingidas. Neste estudo, utilizaram-se concentrações subgelificantes de alginato e cálcio, ou seja, condições que não levam à formação de hidrogéis em temperatura ambiente. A formação do hidrogel foi induzida pela técnica adaptada de *ice-template*, onde o congelamento lento da solução contendo alginato e cálcio leva ao aumento da concentração desses componentes no meio, resultando na formação de um hidrogel irreversível e poroso. Foi realizada uma varredura com a técnica *Dynamic Light Scattering* (DLS), para seleção das concentrações que não levam à formação de estruturas e hidrogéis em temperatura ambiente. Determinadas as concentrações a serem submetidas ao congelamento, os hidrogéis formados após esse processo foram analisados em tamanho, estrutura, massa molhada, massa seca e resistência mecânica. Os resultados indicaram que o aumento da concentração de Ca^{2+} impacta significativamente na variação do tamanho hidrodinâmico e na força do hidrogel. Ademais, notou-se que os hidrogéis maiores não necessariamente são os mais resistentes. Esses resultados contribuem para a compreensão das interações entre alginato e cálcio, evidenciando a capacidade da técnica inovadora em formar hidrogéis, o que pode revelar novas perspectivas de aplicações de hidrogéis.

Palavras-Chave: alginato; cálcio; *Dynamic Light Scattering* (DLS); congelamento; hidrogéis; interação.

2.1. INTRODUÇÃO

O alginato é um biopolímero extraído principalmente de algas marrons, destacando-se por seu custo relativamente baixo e biodegradabilidade (1). Este polímero natural tem uma grande versatilidade, sendo aplicado em diferentes setores, devido à sua capacidade de gelificação (1,2,3).

As cadeias do alginato são constituídas por dois monômeros de ácido urônico (1,4): o β -D-manurônico (M) e o α -L-gulurônico (G). Esses monômeros podem interagir com íons divalentes, como o Ca^{2+} , que se ligam preferencialmente aos grupos carboxilatos dos blocos G, resultando na estrutura denominada egg-box (4,5). Esse mecanismo leva à formação de um hidrogel quando ambos os componentes estão em concentrações adequadas. Embora o processo de reticulação seja bem conhecido, a produção desse hidrogel de forma irreversível por congelamento, proposta neste trabalho, representa uma abordagem inovadora.

Neste estudo, utilizaram-se diferentes concentrações subgelificantes de alginato e cloreto de cálcio — concentrações que não levam à formação do hidrogel em temperatura ambiente. Para promover o aumento das concentrações desses componentes, foram utilizados os conceitos de aumento da concentração por congelamento, amplamente empregado para produção de bebidas concentradas (6,7), e a técnica de *ice-template* aplicada para produção de materiais porosos (8,9).

Durante o congelamento, os cristais de gelo tendem a se organizar predominantemente por moléculas de água, excluindo os solutos dissolvidos durante o processo e, consequentemente, levando a um aumento de sua concentração na parte líquida remanescente (10,11). Esse processo promoveu a interação entre o alginato e os íons cálcio, resultando na formação do hidrogel. Além disso, a metodologia proposta se baseia na técnica de *ice-template* (8,9), mas com adaptações como a eliminação da necessidade do controle do congelamento para um crescimento unidirecional dos cristais de gelo e a liofilização. Dessa forma, o método desenvolvido pode ser realizado em um refrigerador comum, tornando-o mais acessível e prático. Essa abordagem permitiu a obtenção de hidrogéis porosos irreversíveis de alginato de cálcio de uma maneira inovadora, com baixo custo e ambientalmente amigável.

Os objetivos deste estudo foram compreender como as diferentes concentrações de alginato e cloreto de cálcio podem influenciar nas características do hidrogel formado pela técnica

inovadora adaptada de *ice-template*. Além disso, buscou-se desenvolver uma metodologia acessível e sustentável para a produção de materiais porosos, com potenciais aplicações em áreas de análise. Adicionalmente, os dados obtidos na varredura realizada com técnica a *Dynamic Light Scattering* (DLS) permitiram um melhor entendimento da interação entre os componentes do hidrogel em concentrações de subgelificação.

2.2. MÉTODOS

2.2.1. Escolha do alginato e do cloreto de cálcio

O alginato e o cloreto de cálcio foram escolhidos para compor o hidrogel deste estudo devido à sua interação bem documentada, custo relativamente acessível e características ambientalmente amigáveis. Além disso, trabalhos anteriores desenvolvidos pelo Grupo de Pesquisa em Poluição Plástica demonstraram a capacidade de biopolímeros, incluindo o alginato, em formar hidrogéis a partir da técnica adaptada de *ice-template* (12,13), quando combinados com cloreto de cálcio.

2.2.2. Seleção de concentrações para o processo de congelamento

A formação do hidrogel neste trabalho ocorre exclusivamente durante o congelamento. Logo, foi necessário determinar quais concentrações resultam na gelificação em temperatura ambiente para que fossem retiradas dos experimentos. Para isso, foi realizada uma varredura das potenciais concentrações a serem testadas utilizando a técnica de *Dynamic Light Scattering* (DLS), a partir do equipamento Litesizer DLS 500 (Anton Paar).

2.2.3. Varredura no DLS:

O DLS foi utilizado para determinar o tamanho hidrodinâmico das partículas em suspensão e sua polidispersividade. As leituras foram realizadas em dois momentos: imediatamente após a mistura das soluções e após três horas de interação. A partir dos resultados obtidos, foram selecionadas faixas de concentrações que permaneceram relativamente com pouca variação do tamanho hidrodinâmico. O que sugere uma menor chance da formação de estruturas e hidrogéis em temperatura ambiente.

2.2.4. Procedimento de congelamento da solução

Após a definição das concentrações a serem trabalhadas, iniciou-se o processo de submissão ao congelamento. O freezer utilizado foi o de uma geladeira comum do modelo Electrolux DC35A/127V, sem o sistema *frost free*. Foram realizados testes para compreender a variação da temperatura do freezer e constatou-se que a solução demorava cerca de três horas para congelar completamente dentro de uma caixa de isopor, que visou promover um congelamento lento. Os dados relacionados ao tempo de congelamento da solução estão disponibilizados no material suplementar.

2.2.5. Determinação da área

Após o descongelamento da solução, foram retiradas fotografias dos hidrogéis. Então, as imagens foram processadas no software Fiji (ImageJ), onde determinaram-se as áreas dos hidrogéis manualmente. As imagens das áreas analisadas dos hidrogéis podem ser encontradas no material suplementar.

2.2.6. Determinação da massa molhada e seca do hidrogel

A massa molhada dos hidrogéis foi obtida com uma balança analítica (Shimadzu AUY220). Antes da pesagem, era retirado o excesso de água com auxílio de um papel filtrante, posteriormente o hidrogel era pesado. Para a massa seca, os hidrogéis molhados foram colocados em uma estufa por 24h a 45°C. Após esse período, esperava-se o resfriamento em temperatura ambiente do recipiente de vidro contendo os hidrogéis. Por fim, realizava-se a pesagem da massa seca, retirando, com auxílio de uma espátula, o hidrogel do recipiente no qual ele secava e tendia a grudar.

2.2.7. Teste de força do hidrogel

O teste de força consistiu em avaliar a capacidade dos hidrogéis de se manterem íntegros ou pouco deformados sob diferentes pressões de sucção e diâmetro de abertura (ponta da pipeta). Para isso foram utilizadas uma micropipeta de 1 mL, pipeta Pasteur de 2 mL, pipeta Pasteur de 3 mL e pipeta Pasteur de 2 mL adaptada (com a ponta cortada para aumentar a espessura de abertura).

Inicialmente, o hidrogel era succionado utilizando uma micropipeta de 1 mL. Caso sua estrutura permanecesse preservada, o teste prosseguia com a pipeta Pasteur de 2 mL e, posteriormente, com as de maior volume até o último teste com a pipeta Pasteur adaptada.

As notas atribuídas variaram de 0 a 4, seguindo os seguintes critérios apresentados abaixo no quadro 1:

Quadro 1 - Lista de critérios com as notas atribuídas a cada concentração de hidrogel. As notas variaram de 0 a 4, sendo o 0 aquele hidrogel mais fraco e 4 o hidrogel mais resistente.

Nota	Classificação	Crítérios
0	Extremamente Fraco (Inviável)	- Hidrogel quebrou ou ficou inviável na retirada com a espátula. - Foi sugado totalmente ou em grande parte por micropipeta de 1 mL. - Foi muito deformado pela micropipeta de 1 mL.
1	Fraco	- Hidrogel quebrou, mas ainda permitiu o teste com pipeta Pasteur de 2 mL. - Foi sugado totalmente ou em grande parte pela pipeta Pasteur de 2 mL. - Hidrogel bastante deformado pela Pasteur de 2 mL.
2	Médio	- Hidrogel não quebrou ao ser retirado com a espátula. - Foi pouco sugado pela pipeta Pasteur de 2 mL. - Sugado parcialmente pela Pasteur de 2 mL, mas pouco deformado. - Não foi possível testar com a pipeta Pasteur de 3 mL.
3	Forte	- Hidrogel íntegro para teste com a Pasteur de 3 mL, apesar de ter reduzido de tamanho. - Sugado parcialmente ou totalmente pela pipeta Pasteur de 3 mL. - Não pegou pressão na pipeta Pasteur adaptada.
4	Muito Forte	- Hidrogel pouco sugado pela Pasteur de 3 mL. - Pegou pressão e foi sugado totalmente pela pipeta cortada.

2.2.8. Registro e análise de imagens

As fotografias dos hidrogéis formados após a técnica de *ice-template* foram realizadas com uma câmera digital Nikon D3200. Todas as imagens retiradas podem ser acessadas no material suplementar. Já as imagens do hidrogel liofilizado (Liofilizador - Liotop K105) foram feitas no Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV), no LNNano, em Campinas, São Paulo.

2.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.3.1. Varredura do tamanho hidrodinâmico no DLS

O DLS foi utilizado para determinar o tamanho hidrodinâmico das partículas em suspensão e sua polidispersividade. A técnica baseia-se no espalhamento da luz emitida por um laser dentro do equipamento, causado pelo movimento browniano das partículas em suspensão, o que permite a estimativa do seu tamanho médio (14). Quando há muitas partículas com tamanhos variados nas soluções analisadas pelo DLS, a polidispersividade é alta, ou seja, a população de partículas está com tamanhos muito dispersos. Neste caso, uma polidispersividade alta pode indicar a formação de agregados ou estruturas gelificantes.

As leituras no DLS foram feitas em dois momentos: a primeira logo após a mistura das soluções e a segunda após três horas de interação, visto que o tempo de contato entre o alginato e o cloreto de cálcio está relacionado com a capacidade de reticulação e intumescimento dos hidrogéis (15).

Os resultados revelaram que as concentrações mais elevadas de cloreto de cálcio e alginato resultam em tamanhos hidrodinâmicos que chegavam a escalas micrométricas, com uma polidispersividade alta, sugerindo a formação de hidrogel ou estruturas que impactam consideravelmente na leitura feita. Assim, como é apresentado no quadro 2 (destacadas em vermelho), essas concentrações foram desconsideradas para o congelamento e os dados obtidos de suas leituras no DLS, por serem muito dispersos, não foram considerados para composição do gráfico da figura 1.

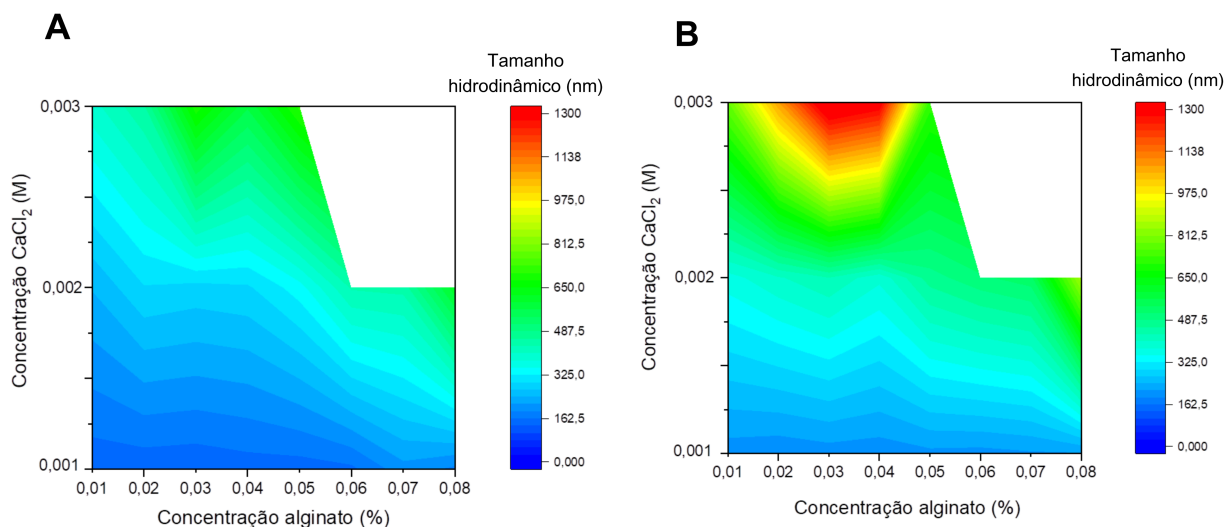
As concentrações selecionadas para o congelamento (destacadas em verde no quadro 2) foram aquelas que resultaram em leituras no DLS relativamente estáveis após a mistura das soluções. Dentro dessa faixa de concentrações selecionadas, as combinações de 0,06% e 0,05% de alginato e 0,003M de CaCl_2 tiveram uma variação um pouco mais elevada no tamanho hidrodinâmico das partículas após três horas de interação, quando comparadas com as demais. Mesmo assim, essas concentrações foram analisadas e considerados os limites para o congelamento, pois, apesar de apresentar indícios de estruturas gelificantes em temperatura ambiente, seu congelamento foi realizado para uma avaliação comparativa do hidrogel formado.

Os resultados do DLS, quanto à interação inicial, mostraram que o aumento na concentração de cloreto de cálcio tem um impacto mais relevante no tamanho hidrodinâmico do que o aumento da concentração de alginato (figura 1). Ademais, passadas as três horas de interação, houve um aumento do tamanho hidrodinâmico em todas as concentrações testadas, possivelmente causado pelas interações entre o alginato e os íons cálcio, mas não necessariamente resultando em um hidrogel em temperatura ambiente. Além disso, após três horas de interação, observa-se um aumento mais acentuado do tamanho hidrodinâmico nas concentrações mais elevadas de cálcio.

Quadro 2 - Concentrações de alginato e cloreto de cálcio analisadas durante a varredura. As concentrações em verde, são aquelas que foram submetidas ao processo de congelamento para formação do hidrogel. As concentrações em vermelho são aquelas que tiveram um indicativo da formação de hidrogel pela técnica de DLS e foram descartadas.

Concentração de Alginato (%)	CaCl ₂ 0,001M	CaCl ₂ 0,002M	CaCl ₂ 0,003M	CaCl ₂ 0,004M	CaCl ₂ 0,005M
0,01	✓	✓	✓	✗	✗
0,02	✓	✓	✓	✗	✗
0,03	✓	✓	✓	✗	✗
0,04	✓	✓	✓	✗	✗
0,05	✓	✓	✓	✗	✗
0,06	✓	✓	✓	✗	✗
0,07	✓	✓	✗	✗	✗
0,08	✓	✓	✗	✗	✗

Figura 1 - A: Gráfico de calor da variação do tamanho hidrodinâmico no momento inicial, ou seja, imediatamente após a mistura das soluções de alginato e cloreto de cálcio. B: Gráfico de calor da variação do tamanho hidrodinâmico após três horas da mistura das soluções de alginato e cloreto de cálcio.



2.3.2. Formação do hidrogel de alginato de cálcio por congelamento

Após a seleção das faixas de concentrações de alginato e cloreto de cálcio que seriam submetidas à técnica derivada do *ice-template*, iniciaram-se os processos de submissão das soluções ao congelamento lento.

O congelamento lento promove o progressivo aumento das concentrações dos solutos. Durante esse processo, os cristais de gelo tendem a ser formados majoritariamente de moléculas de água (11). Logo, os solutos dispersos no meio, incluindo o alginato e os íons Ca^{+2} , são expulsos no processo de formação do retículo cristalino e acabam se acumulando nas regiões ainda líquidas da solução. O crescimento contínuo dos cristais de gelo reduz as áreas não congeladas no recipiente, resultando em um aumento da concentração dos solutos, o que induz a interação entre o alginato e os íons cálcio. Dessa forma, ocorre a reticulação iônica das cadeias do alginato, mediadas pelos íons Ca^{2+} , acarretando na formação do hidrogel.

O processo de aumento da concentração e a consequente formação do hidrogel estão ilustrados na figura 2. Enquanto a figura 3 apresenta fotografias dos hidrogéis de algumas das concentrações testadas, evidenciando que a técnica funciona e esses são os hidrogéis resultantes.

Figura 2 - Esquema ilustrativo da formação do hidrogel poroso de alginato de cálcio por congelamento lento. A) Solução com concentrações subgelificantes de alginato e cloreto de cálcio; B) Início da formação de cristais de gelo; C) Aumento dos cristais de gelo, resultando no aumento da concentração da solução; D) Concentração de gelificação atingida, ocorrendo a formação do hidrogel; E) Os cristais de gelo perfuram o hidrogel formado, criando uma estrutura porosa; F) Descongelamento da solução, resultando em um hidrogel estável, com densidade menor que a da solução.

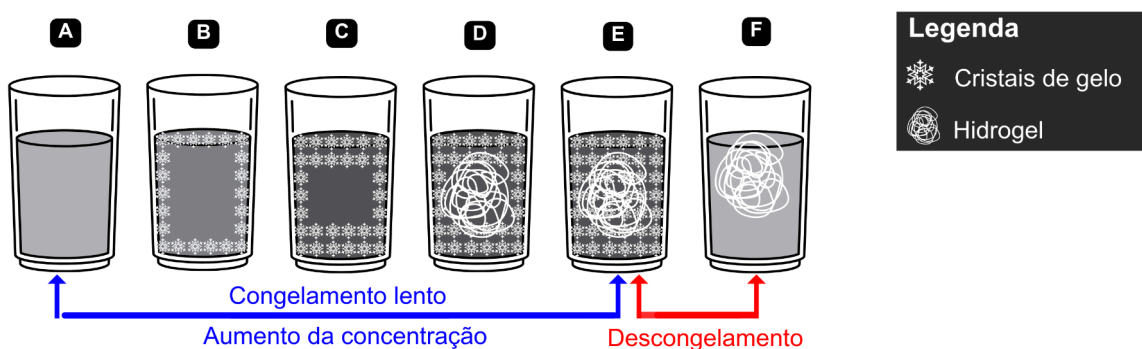
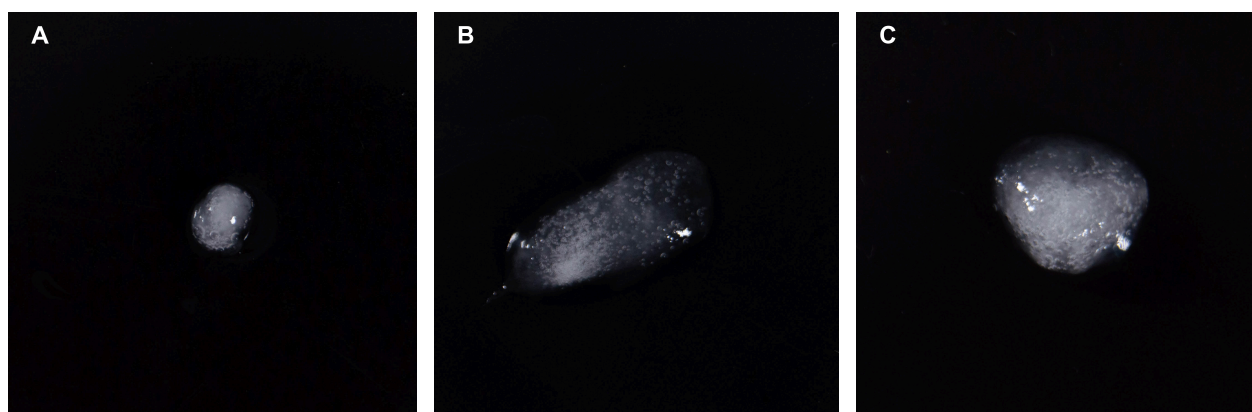


Figura 3 - Fotografias dos hidrogéis de algumas das concentrações testadas, mostrando que a técnica funciona. A: Concentração de 0,01% de alginato e 0,001M de CaCl_2 ; B: Concentração de 0,04% de alginato e 0,001M de CaCl_2 ; C: Concentração de 0,08% de alginato e 0,002M de CaCl_2 .



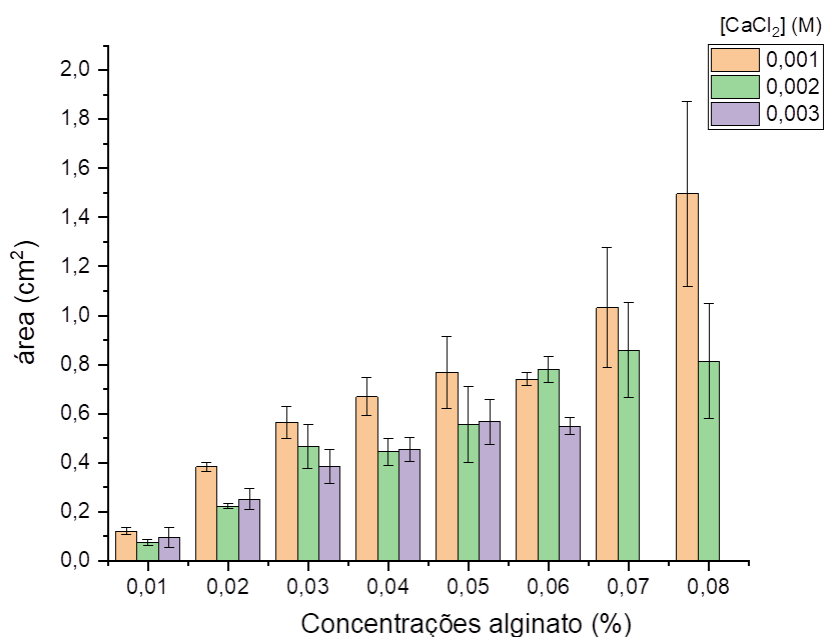
2.3.3. Variações das áreas dos hidrogéis

Durante os experimentos com as diferentes combinações de concentrações de alginato e cloreto de cálcio, observou-se uma tendência de aumento do tamanho do hidrogel conforme

as concentrações dos componentes eram elevadas (figura 4). Também é possível notar, que as maiores áreas de hidrogel ocorreram nas concentrações de 0,001M de cloreto de cálcio, destacando-se a combinação de concentrações de 0,001M de cloreto de cálcio com 0,08% de alginato. Acredita-se que isso pode estar relacionado à menor quantidade de íons Ca^{2+} disponíveis para reticulação, fazendo com que o hidrogel tenha maior espaço entre as cadeias de alginato e, conseqüentemente, possa reter uma maior quantidade de água, aumentando seu volume (16,17).

No entanto, como será demonstrado nos próximos resultados, uma área maior de hidrogel não implica necessariamente em uma maior quantidade de massa seca ou em uma maior resistência do material.

Figura 4 - Este gráfico apresenta a variação de tamanho dos hidrogéis com as diferentes combinações das concentrações de alginato e cloreto de cálcio.



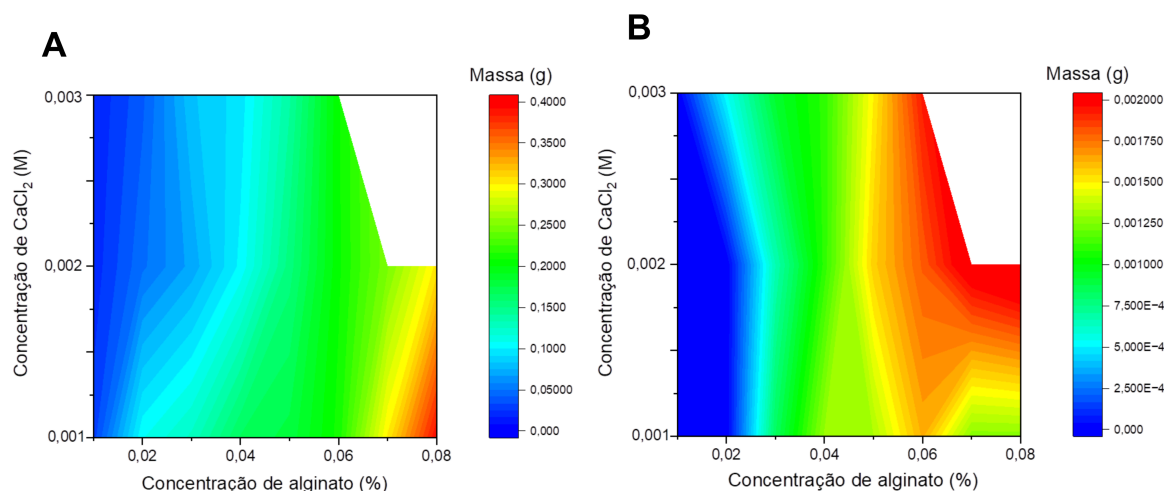
2.3.4. Variação da massa molhada e massa seca dos hidrogéis

Os gráficos A e B da figura 5 apresentam, respectivamente, a massa molhada e a massa seca dos hidrogéis. Observa-se que a massa molhada é muito maior do que a seca (escalas dos gráficos A e B muito diferentes). Esse resultado ocorre porque cerca de 99% da massa dos hidrogéis é composta por água.

Ademais, percebe-se que, apesar da variação de massa seca ser pequena, uma maior massa é observada nas concentrações mais elevadas de alginato e cloreto de cálcio. Isso pode ser explicado pelo fato de que concentrações mais elevadas resultam em uma maior quantidade de reagentes dispersos no meio. Assim, uma maior quantidade de íons cálcio e alginato podem interagir, formando uma rede polimérica tridimensional mais densa.

Adicionalmente, quando comparam-se os dois gráficos de massa, nota-se que, apesar da massa molhada ter sido maior em algumas concentrações, como por exemplo, na concentração de 0,08% de alginato junto a 0,001M de CaCl_2 , a massa seca não foi maior nessa concentração. Provavelmente, como sugerido na análise das áreas dos hidrogéis, a menor quantidade de íons cálcio faz com que a reticulação entre as cadeias poliméricas do alginato e os íons tenham mais espaçamento, resultando em uma reticulação menos densa e compacta, permitindo uma maior absorção de água, aumentando o tamanho do hidrogel e sua massa molhada, sem necessariamente levar a uma maior quantidade de massa de gel (16,17).

Figura 5 - Gráfico A: gráfico de calor da massa molhada dos hidrogéis de alginato de cálcio. Gráfico B: gráfico de calor da massa seca dos hidrogéis de alginato de cálcio.



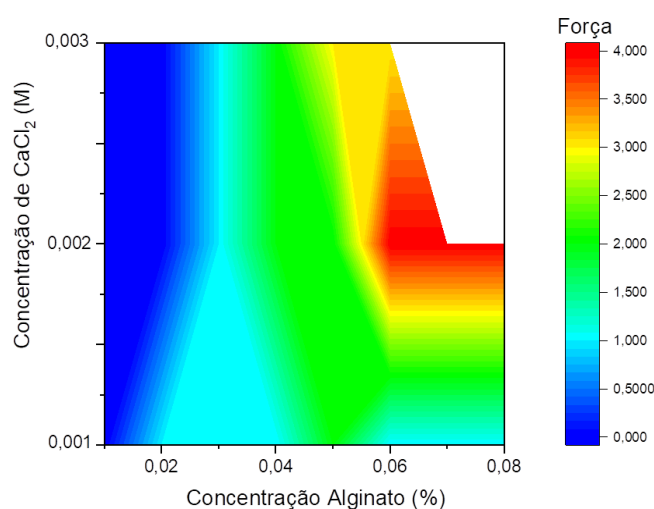
2.3.5. Variação das forças dos hidrogéis

A figura 6 apresenta uma relação entre as diferentes concentrações testadas e a força do hidrogel formado. Observa-se que os hidrogéis com maior integridade estrutural são aqueles produzidos a partir das maiores concentrações de cálcio e alginato, corroborando com os resultados de massa seca. Isso se deve ao fato de que, quanto mais alginato for reticulado

pelos íons Ca^{2+} na rede tridimensional formada, mais robusta e íntegra tende a ser a estrutura do material.

Enquanto isso, os hidrogéis resultantes da mistura do alginato com a concentração de 0,001M de CaCl_2 apresentaram um grau de força muito baixo. Esse resultado é consistente com os demais dados obtidos, já que uma menor quantidade de reticulante no meio, leva à formação de uma rede tridimensional com mais espaço entre as cadeias, tornando-o mais frágil.

Figura 6 - Gráfico de calor da força dos hidrogéis nas diferentes concentrações de alginato e cloreto de cálcio analisadas.

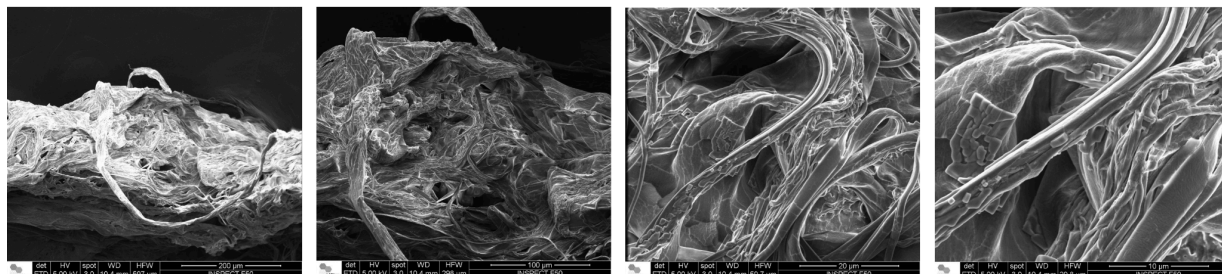


2.3.6. Fotografia do hidrogel liofilizado no MEV sem MPs

As fotografias da figura 7 mostram que o hidrogel apresenta uma estrutura porosa e rugosa. Essas características são típicas de materiais submetidos à técnica de *ice-template*, na qual os cristais de gelo formados durante o processo de congelamento servem como moldes, sendo eles os principais responsáveis pela arquitetura do material. Nesta técnica adaptada, após a concentração atingir o nível necessário para formação do hidrogel, os cristais de gelo continuam crescendo, perfurando a matriz polimérica em múltiplas direções, resultando nas características estruturais observadas.

Além disso, nota-se que as fibras e poros do hidrogel estão dispostos de uma maneira bem compactada. Essa proximidade pode ser atribuída ao colapso parcial da estrutura do hidrogel após sua liofilização ou durante o processo de preparo da amostra para fotografias no MEV.

Figura 7 - Fotografias realizadas no MEV do hidrogel liofilizado, obtido a partir da técnica adaptada de ice-template, em diferentes magnificações nas concentrações de 0,04% de alginato e 0,002M de CaCl_2 .



2.4. CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo foram satisfatórios e demonstraram que a técnica de baixo custo e ambientalmente amigável desenvolvida para a produção de hidrogéis irreversíveis funciona. Além disso, demonstrou-se que as variações nas concentrações de alginato e cloreto de cálcio impactam significativamente a formação de hidrogel pela técnica adaptada de *ice-template*. Verificou-se que a variação da quantidade de cálcio parece impactar mais na formação de estruturas como as egg-boxes, de acordo com as leituras realizadas pelo DLS, do que a variação da concentração de alginato. Também foi possível constatar que um hidrogel com maiores dimensões e massa molhada não necessariamente corresponde a um hidrogel resistente. Esses resultados contribuem para uma melhor compreensão da interação entre o alginato e o cloreto de cálcio em concentrações de subgelificação, associadas à técnica adaptada de *ice-template*. Acredita-se que este estudo possa colaborar para aplicações inovadoras do uso dos hidrogéis, como o apresentado no artigo *Plasticatch: Freezing to capture dispersed particles like microplastics*, onde a formação do hidrogel por congelamento resultou na captura de microplásticos.

2.5. AGRADECIMENTOS

Capes (Processo: 88887.838492/2023-00) pela bolsa de estudo; FAPESP 2022/12104-4; FAPESP 2023/18229-6; FAPESP 2022/12104-4; 2022/11983-4; PPGBMA pelo suporte; GPPP pela ajuda e sugestões durante o trabalho; UFSCar por proporcionar o ambiente para realização da pesquisa; LNNano pelo uso do MEV; Prof^ª. Dr^ª Eliane Arruda pelo uso do estereomicroscópio; Prof. Dr. Airton Natanael Coelho Dias pelo uso do microscópio óptico; Prof. Dr. Francisco Strixino pelo uso da balança analítica e estufa; Prof^ª. Dr^ª Eliane Duek e

Dr. Rodrigo Gomes pelo uso do liofilizador. Dr. Sylvain Deville pela inspiração para a ideia do trabalho.

REFERÊNCIAS

- [1] ABKA-KHAJOU EI, R. et al. Structures, Properties and Applications of Alginates. **Marine Drugs**, v. 20, n. 6, p. 364, jun. 2022.
- [2] LEE, K. Y.; MOONEY, D. J. Alginate: Properties and biomedical applications. **Progress in Polymer Science**, v. 37, n. 1, p. 106–126, 1 jan. 2012.
- [3] SONG, B. et al. Hydrogel synthesis based on lignin/sodium alginate and application in agriculture. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 144, p. 219–230, 1 fev. 2020.
- [4] HU, C. et al. Ions-induced gelation of alginate: Mechanisms and applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 177, p. 578–588, 30 abr. 2021.
- [5] MAKAROVA, A. O. et al. Ion-Induced Polysaccharide Gelation: Peculiarities of Alginate Egg-Box Association with Different Divalent Cations. **Polymers**, v. 15, n. 5, p. 1243, jan. 2023.
- [6] HALDE, R. Concentration of impurities by progressive freezing. **Water Research**, v. 14, n. 6, p. 575–580, 1 jan. 1980.
- [7] SÁNCHEZ, J. et al. Progressive freeze concentration of orange juice in a pilot plant falling film. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 11, n. 4, p. 644–651, 1 out. 2010.
- [8] DINU, M. V. et al. Ice-templated hydrogels based on chitosan with tailored porous morphology. **Carbohydrate Polymers**, v. 94, n. 1, p. 170–178, 15 abr. 2013.
- [9] LI, M. et al. Ice-Templated Fabrication of Porous Materials with Bioinspired Architecture and Functionality. **Accounts of Materials Research**, v. 3, n. 11, p. 1173–1185, 25 nov. 2022.
- [10] VUIST, J.-E.; BOOM, R. M.; SCHUTYSER, M. A. I. Solute inclusion and freezing rate

- during progressive freeze concentration of sucrose and maltodextrin solutions. **Drying Technology**, v. 39, n. 10, p. 1285–1293, 12 jul. 2021.
- [11] MINATOVIĆ, B. et al. Freeze-concentration of solutes during bulk freezing and its impact on protein stability. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 58, p. 101703, 1 ago. 2020.
- [12] GONÇALVES, J. S. Produção de géis porosos por congelamento. 22 jun. 2018.
- [13] CÉSAR, N. R. Géis, nanocompósitos e compósitos de pectina preparados utilizando a técnica adaptada de ice template. 20 maio 2020.
- [14] HASSAN, P. A.; RANA, S.; VERMA, G. Making Sense of Brownian Motion: Colloid Characterization by Dynamic Light Scattering. **Langmuir**, v. 31, n. 1, p. 3–12, 13 jan. 2015.
- [15] RAMDHAN, T. et al. Time dependent gelling properties of cuboid alginate gels made by external gelation method: Effects of alginate-CaCl₂ solution ratios and pH. **Food Hydrocolloids**, v. 90, p. 232–240, 1 maio 2019.
- [16] SAVIĆ GAJIĆ, I. M.; SAVIĆ, I. M.; SVIRČEV, Z. Preparation and Characterization of Alginate Hydrogels with High Water-Retaining Capacity. **Polymers**, v. 15, n. 12, p. 2592, jan. 2023.
- [17] LI, J. et al. A new insight to the effect of calcium concentration on gelation process and physical properties of alginate films. **Journal of Materials Science**, v. 51, n. 12, p. 5791–5801, jun. 2016.

3. CAPÍTULO 3: ARTIGO 2

Plasticatch: Congelamento para capturar partículas dispersas como os microplásticos

Plasticatch: Freezing to capture dispersed particles like microplastics

Resumo

Os microplásticos (MPs) tornaram-se um problema ambiental global com grande dispersibilidade, sendo encontrados em diferentes locais. Entre as diversas fontes de MPs estão as tintas, que contêm em sua composição ligantes poliméricos responsáveis pela formação do filme de tinta após o processo de cura. Esses materiais são utilizados em diversas superfícies e acabam expostos a intempéries e processos abrasivos, levando à sua fragmentação e contaminação de ambientes aquáticos e terrestres, com potenciais impactos ecotoxicológicos. Este estudo apresenta uma metodologia inovadora para remoção de particulados em suspensão de uma solução aquosa, como os MPs de tintas, utilizando hidrogéis de alginato de cálcio formados exclusivamente por congelamento. Baseando-se nos conceitos do aumento da concentração por congelamento e na formação de hidrogéis porosos com a técnica de *ice-template*, a metodologia utilizou concentrações de alginato e cloreto de cálcio que não formam hidrogel em temperatura ambiente. Para promover a formação de um hidrogel irreversível e capaz de reter partículas, utilizou-se uma técnica adaptada de *ice-template*. Para isso, aplicou-se o congelamento lento na solução contendo os componentes do hidrogel e os MPs, esse processo levou ao aumento da concentração dos solutos no meio, resultando na formação do hidrogel, o qual foi perfurado pelos cristais de gelo em crescimento, ocasionando a captura dos MPs presentes na solução. O método mostrou-se eficaz na captura de MPs, sugerindo um potencial para remoção em pequena escala dessas partículas. Além disso, observou-se uma melhor eficiência na captura de MPs pequenos, indicando a possibilidade do uso do hidrogel como uma matriz de análise para outros tipos de particulados, incluindo nanopartículas.

Palavras-chave: Microplásticos, hidrogel, alginato, congelamento.

3.1. INTRODUÇÃO

Devido às suas características, os microplásticos (MPs) – partículas com tamanho de 5mm a 1µm – são facilmente transportados para diversos locais (1,2). Esses particulados podem ser fabricados com esse design para serem utilizados em produtos cosméticos, tintas e fibras têxteis ou provenientes da fragmentação de plásticos maiores, sendo classificados como MPs primários e secundários, respectivamente (3).

Dentre os diferentes tipos de MPs encontrados, destacam-se para este estudo os provenientes de tinta. As tintas são compostas por quatro componentes principais: solvente, pigmentos, aditivos e ligantes, também conhecidos como resinas. Os ligantes são polímeros responsáveis pela fixação dos pigmentos, que ocorre durante o processo de cura da tinta, levando à formação de um filme seco (4). Com o tempo e a exposição constante a intempéries, luz UV e processos abrasivos, esses filmes de tinta aplicados nas mais diversas superfícies começam a se degradar e a fragmentar, liberando partículas poliméricas que são transportadas para ambientes aquáticos e terrestres (5,6).

Diante do agravamento da poluição por partículas plásticas e dos impactos ecotoxicológicos que podem causar, diferentes estudos e abordagens vêm sendo desenvolvidos buscando mitigar os impactos causados por esses contaminantes (7,8). Seguindo essa linha, este trabalho busca desenvolver uma técnica para captura em pequena escala de particulados que fiquem em suspensão em soluções aquosas, a partir de um hidrogel feito com uma técnica adaptada de *ice-template*, de baixo custo e ambientalmente amigável.

A metodologia proposta neste estudo baseia-se no aumento da concentração de solutos a partir do congelamento e na técnica de *ice-template* para formação de um hidrogel irreversível. O aumento da concentração por congelamento é utilizado em processos como a concentração de sucos, vinhos e leite (9,10). Esse fenômeno ocorre pois, durante a formação dos cristais de gelo, os solutos dispersos na solução são excluídos do retículo cristalino em formação, fazendo com que os componentes se acumulem nas áreas ainda líquidas da solução, resultando no aumento da concentração no meio (11,12,13). Já a técnica convencional de *ice-template*, quando aplicada para fazer hidrogéis, envolve a solidificação controlada e unidirecional de uma solução homogênea, obtendo-se uma estrutura polimérica porosa que é submetida à liofilização para remoção dos cristais de gelo por sublimação,

preservando a forma do material. Após essas etapas, a rede polimérica formada é estabilizada por meio da adição de um agente reticulante (14,15).

Neste trabalho, a técnica adaptada de *ice-template* desenvolvida, foi realizada sem a necessidade de congelamento controlado e unidirecional, liofilização ou outras etapas que tornariam o processo mais complexo e oneroso. A metodologia consistiu no congelamento, em um refrigerador comum, de uma solução contendo MPs e as concentrações subgelificantes dos componentes que compõem o hidrogel após o congelamento. Dessa forma, induziu-se a interação das cadeias poliméricas do alginato com os íons cálcio, resultando na formação de um hidrogel irreversível, tridimensional e poroso, de baixo custo e sustentável. Durante esse processo, os cristais de gelo perfuraram multidirecionalmente o material formado, aprisionando os MPs em sua matriz.

Este estudo abre um caminho inovador para o uso de hidrogéis irreversíveis formados por congelamento, oferecendo uma solução criativa e de baixo custo, que pode estimular novas ideias e aplicações no campo da remediação ambiental e análises de partículas. Os objetivos do estudo são aplicar essa derivação da técnica de *ice-template* para formação de hidrogéis e avaliar sua eficácia na captura de particulados, destacando sua capacidade de retenção e imobilização de partículas em uma matriz fina e translúcida de hidrogel para possíveis análises.

3.2. MÉTODOS

3.2.1. Escolha do alginato e cloreto de cálcio

A escolha por esses componentes foi devido à capacidade apresentada do alginato em formar hidrogéis porosos e ambientalmente amigáveis, com um custo relativamente baixo e de simples obtenção, alinhando-se aos objetivos desta pesquisa. Além disso, estudos anteriores iniciados no Grupo de Pesquisa em Poluição Plástica, demonstraram a capacidade deste biopolímero em formar hidrogel pela técnica adaptada de *ice-template* (16,17).

3.2.2. Determinação da concentração de alginato e cloreto de cálcio

As concentrações de alginato e cloreto de cálcio foram determinadas a partir de um experimento piloto, no qual foram testadas combinações das concentrações variando de 0,01% a 0,2% de alginato e 0,001 mol/L a 0,5 mol/L de CaCl₂. Com base nos resultados,

selecionaram-se as concentrações de 0,04% de alginato e 0,002 mol/L de CaCl_2 . Essas concentrações resultaram em um hidrogel com boa resistência para manipulação e não apresentaram a formação de hidrogel em temperatura ambiente.

3.2.3. Determinação do MP a ser utilizado

Além dos impactos ecológicos citados anteriormente que os particulados de tintas podem causar, a tinta spray azul da marca Luxens foi selecionada após alguns testes que tinham como objetivo observar a capacidade das partículas permanecerem em suspensão por três horas, que é o tempo necessário para o congelamento completo da solução e consequente formação do hidrogel, conforme determinado em experimentos preliminares. Além disso, foi avaliada a visualização das partículas em um microscópio, e os MPs provenientes da tinta de spray azul destacaram-se por serem mais visíveis nas membranas.

3.2.4. Produção dos MPs

Para a obtenção das partículas de tinta spray, foi realizada a pulverização da tinta no ar em um ambiente fechado, higienizado e vazio. Após a pulverização, o ambiente foi deixado fechado por 5 dias para que as partículas em suspensão se depositassem. Então, as partículas foram coletadas e armazenadas em um recipiente de vidro. Posteriormente, os MPs foram peneirados em malhas com aberturas entre 53 e 25 μm .

3.2.5. Seleção das partículas de interesse

Após a produção dos MPs, iniciou-se um processo de seleção das partículas de interesse. Para isso, 0,2 gramas de MPs foram pesados em um béquer, ao qual se adicionou 1 mL de detergente Tween 20 a 0,4% de concentração, visando romper a tensão superficial e garantir a distribuição homogênea das partículas na solução. Então, foram adicionados, neste mesmo béquer, 50 mL de cada uma das soluções de alginato e cloreto de cálcio, nas concentrações previamente selecionadas, obtendo-se uma solução com 0,4% de alginato e 0,002M CaCl_2 , totalizando 100 mL da mistura. O objetivo desta etapa foi selecionar, por decantação, as partículas que permanecem em suspensão por pelo menos três horas.

Essa etapa baseou-se na Lei de Stokes, que descreve o comportamento de partículas esféricas em uma solução viscosa, de acordo com a equação (18):

$$v_L = \frac{2R^2(\rho_e - \rho_f)g}{9\mu}$$

v_L : Velocidade limite

ρ_e : Densidade da partícula

ρ_f : Densidade do fluido

g : Aceleração devido à gravidade

Essa equação indica que, quanto menor a partícula, maior o tempo para que ocorra a sua decantação, pois menor é a força de arrasto que essa sofre. Assim, como experimentos prévios mostraram que a solução levava cerca de três horas para congelar completamente, era essencial selecionar partículas que permanecessem, no mínimo, esse mesmo tempo em suspensão.

Passadas as três horas de decantação, onde as partículas maiores e mais densas tendem a sedimentar (figura 1), eram retirados 5 mL do meio com auxílio de uma micropipeta de 10 mL. Durante o processo de pipetagem, teve-se o cuidado de retirar amostras sempre a partir de uma mesma altura, buscando selecionar uma população de partículas com uma faixa de tamanho aproximada. Para tal, foi estabelecida uma referência com uma etiqueta branca, destacada com a seta vermelha na figura 1, da qual sempre se pipetava a partir dessa região.

Figura 1 - Variação da tonalidade da solução após 3 horas, mostrando um menor número de particulados da tinta spray azul com o passar do tempo. A seta vermelha indica a etiqueta utilizada como referência para coleta da amostra.

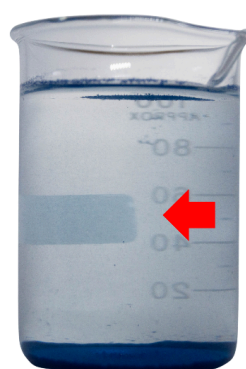
Após 10 minutos



Após 1h30



Após 3h



3.2.6. Submissão ao processo de congelamento

Os 5 mL pipetados da solução contendo os MPs e dos controles sem MPs foram transferidos para recipientes plásticos de 10 mL. Esses recipientes foram colocados em um sistema isolante (caixa de isopor) e levados ao freezer de um refrigerador comum, onde permaneceram por no mínimo três horas, até o congelamento completo da solução. O tratamento e o controle que não foram submetidos ao processo de congelamento ficaram armazenados na geladeira até a retirada dos demais recipientes que foram colocados no freezer.

3.2.7. Precauções com contaminação

Estudos envolvendo MPs enfrentam o constante desafio da contaminação. Para minimizar esse risco, todo o experimento, exceto a pesagem dos materiais e o processo de congelamento, foi conduzido em uma sala de acesso controlado, onde a entrada só era permitida com o uso de roupas e jaleco de algodão, e as manipulações ocorreram dentro de uma câmara de fluxo laminar.

As soluções de alginato e cloreto de cálcio foram preparadas utilizando água Mili-Q (Milli UNI), filtrada três vezes em membranas de éster misto de celulose, com poros de 0,45 µm, dentro da câmara de fluxo laminar citada anteriormente. Além disso, todos os materiais utilizados foram previamente lavados com água e sabão, enxaguados novamente com água Mili-Q e, por fim, enxaguados uma última vez com água Mili-Q filtrada três vezes. A primeira lavagem com água e sabão, seguida de enxágue com água Mili-Q, foram realizadas no laboratório. O último enxágue com a água Mili-Q filtrada, foi feito na sala de entrada controlada, dentro da câmara de fluxo laminar.

3.2.8. Controles

Apesar de todas as precauções tomadas, sabe-se que a contaminação muitas vezes é inevitável. Por isso, foram adotados dois controles, como pode ser observado na figura 2. O primeiro controle foi projetado para monitorar a contaminação do tratamento que não passa pelo congelamento e que contém apenas a adição de MPs. Para isso, preparou-se uma solução com as concentrações determinadas de alginato e cloreto de cálcio, seguindo os mesmos passos do tratamento com MPs, mas sem a adição de MPs e sem congelamento; ficando

armazenado na geladeira. Enquanto o segundo controle consistiu em seguir os passos do tratamento com MPs que passou pelo processo de congelamento.

Figura 2 - Esquema do processo de preparo dos controles e pipetagem dos tratamentos. À esquerda, os copos que representam os recipientes contendo a solução sem MPs (controle) e com MPs após a decantação. A fita branca, destacada pelo quadrado vermelho, serviu como referência para retirada de amostras de uma mesma altura. À direita estão as representações dos recipientes que foram usados para os controles e os tratamentos.



3.2.9. Filtração da solução em membranas

Após o congelamento das soluções, elas eram mantidas cobertas com papel alumínio e deixadas para descongelar na sala controlada, dentro da capela de fluxo laminar. Juntamente com elas, os outros recipientes que não estavam congelados também foram deixados pelo mesmo período. Todos os tratamentos e controles foram filtrados na capela de fluxo laminar, utilizando as membranas de poro 0,45 μm , conforme citado anteriormente. Para garantir que a maioria dos particulados não ficasse retida nos recipientes, estes eram lavados com água Mili-Q filtrada três vezes e, em seguida, o líquido era despejado juntamente com o tratamento que estava sendo filtrado. Em seguida, as membranas eram armazenadas em placas de Petri para as análises necessárias.

3.2.10. Quantificação de partículas e determinação da área das partículas

Para a quantificação e análise dos tamanhos das partículas, foram selecionados e fotografados, em um microscópio óptico (Leica DM3000), cinco pontos das membranas. Com o auxílio de um molde colocado atrás das membranas após a filtração, foram determinados os pontos para contagem, buscando uma distribuição representativa. As membranas foram cortadas e posicionadas sobre uma lâmina para análise no microscópio óptico. Uma imagem ilustrativa deste procedimento está disponível no material suplementar.

Então, com o software ImageJ (Fiji) e o plug-in de segmentação *Trainable Weka Segmentation*, que utiliza *machine learning* para segmentação de imagens, as fotografias tiradas no microscópio óptico tiveram as partículas quantificadas e medidas. Para cada ponto da membrana em cada triplicata, foi realizado um treinamento individual do modelo. Esse treinamento consistiu em selecionar diferentes áreas correspondentes ao fundo das membranas, que não deveriam ser contadas, e definir as regiões correspondentes às partículas para que o programa as contabilizasse. Nos pontos onde não havia partículas visíveis, o treinamento do modelo não foi realizado. Nestes casos, considerou-se que o número de partículas foi zero.

Após a segmentação, foi realizado o *threshold* e, com a ferramenta *Analyze Particles*, as partículas foram quantificadas e medidas. A quantidade de partículas em cada ponto foi extrapolada pela área da membrana, chegando a um valor estimado da quantidade total de MPs.

As fotografias capturadas, o empilhamento/compósito das imagens de cada ponto analisado e os modelos utilizados para contagem em cada ponto analisado estão disponíveis no material suplementar.

3.2.11. Fotografias do MEV

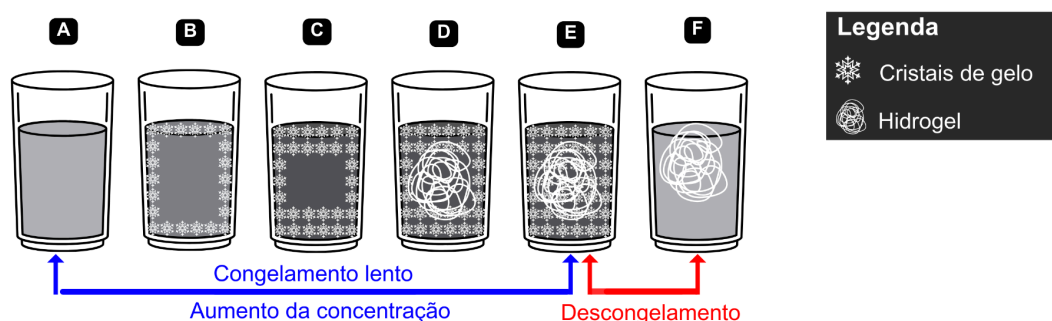
Além da análise quantitativa, os hidrogéis liofilizados também foram analisados no Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV) no LNNano, em Campinas, São Paulo, para uma análise qualitativa. Nele foram observadas as estruturas do hidrogel e observações de partículas que podem ser os MPs da tinta azul.

3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.3.1. Formação do hidrogel

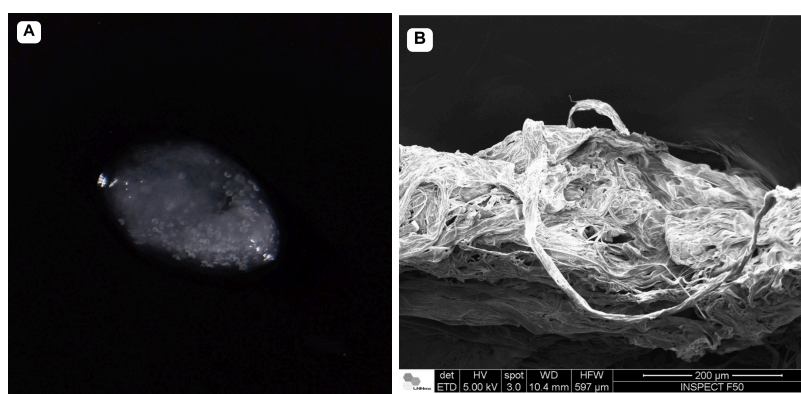
Para a obtenção do hidrogel pela técnica adaptada de *ice-template*, inicia-se o processo com a preparação de soluções de alginato de sódio e cloreto de cálcio em concentrações de subgelificação, ou seja, concentrações tão baixas que não ocorrem reações entre as cadeias poliméricas do alginato e os íons de cálcio à temperatura ambiente. Para promover a interação entre as cadeias poliméricas do alginato e os íons dispersos na solução, a mistura preparada é colocada para congelar em um sistema isolante (caixa de isopor), garantindo um congelamento mais lento. Assim, o processo de nucleação e, conseqüentemente, a formação de cristais de gelo ocorre gradualmente, fazendo com que as impurezas dispersas na solução sejam “expulsas” da estrutura cristalina de gelo em formação, resultando em cristais de gelo mais puros (11,12,13). Isso faz com que os solutos dispersos no meio se concentrem à medida que o congelamento avança, resultando na formação do hidrogel, conforme ilustrado na figura 3.

Figura 3 – Esquema ilustrativo da formação do hidrogel poroso de alginato de cálcio por congelamento lento. A) Solução com concentrações subgelificantes de alginato e cloreto de cálcio; B) Início da formação de cristais de gelo; C) Formação dos cristais de gelo, resultando no aumento da concentração da solução; D) Concentração de gelificação atingida, ocorrendo a formação do hidrogel; E) Os cristais de gelo perfuram o hidrogel formado, criando uma estrutura porosa; F) Descongelamento da solução, resultando em um hidrogel estável, com densidade menor que a da solução.



O hidrogel de alginato de cálcio, formado por congelamento, pode ser observado na figura 4A. Além disso, a imagem feita no Microscópio Eletrônico de Varredura do hidrogel liofilizado (figura 4B) mostra que ele apresenta alta porosidade, aumentando sua superfície de contato, tornando-o interessante para diferentes aplicações, dentre elas a captura de partículas.

Figura 4 - A: Fotografia do hidrogel molhado de alginato de cálcio sem a presença de microplásticos. B: Fotografia realizada no MEV do hidrogel liofilizado com a magnificação de 500x.



3.3.2. Hidrogel com coloração azulada

Após confirmar que a técnica funcionava para a formação do hidrogel nas concentrações de alginato e cloreto de cálcio determinadas, iniciaram-se os testes para remoção de MPs.

Como apresentado nas fotografias da figura 5, houve uma mudança visual entre as triplicatas dos tratamentos que não passaram por congelamento (figura 5 tratamento 3A) e os que passaram (figura 5 tratamento 4A). Ambos tratamentos apresentaram um discreto corpo de fundo azulado, devido à presença de MPs de tinta azul, que mesmo após a seleção de partículas que permanecem em suspensão por três horas, decantaram. No entanto, as triplicatas do tratamento congelado resultaram na formação de um hidrogel que flutuou na superfície da solução e adquiriu uma leve coloração azulada. Isso pode ser explicado devido à porosidade e bolsões de ar que foram gerados durante a formação do hidrogel, tornando-o menos denso que a solução. Já a cor azulada adquirida foi ocasionada pela captura dos MPs de tinta azul, mostrando a capacidade do hidrogel de capturar não só partículas em suspensão, como aquelas que decantam.

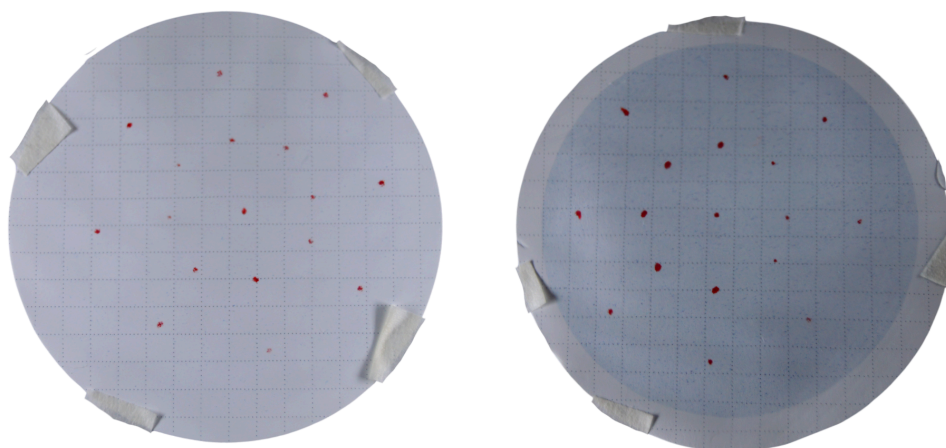
Figura 5 - Fotografias do tratamento 3A, o qual continha MPs e não passou pelo processo de congelamento (Sem congelar: momento inicial da transferência da solução para o recipiente; Sem congelar após 3h: fotografia após 3h que a solução ficou parada). Abaixo, está o tratamento 4A com MPs antes do congelamento e após o congelamento.



3.3.3. Análises qualitativas entre os tratamentos

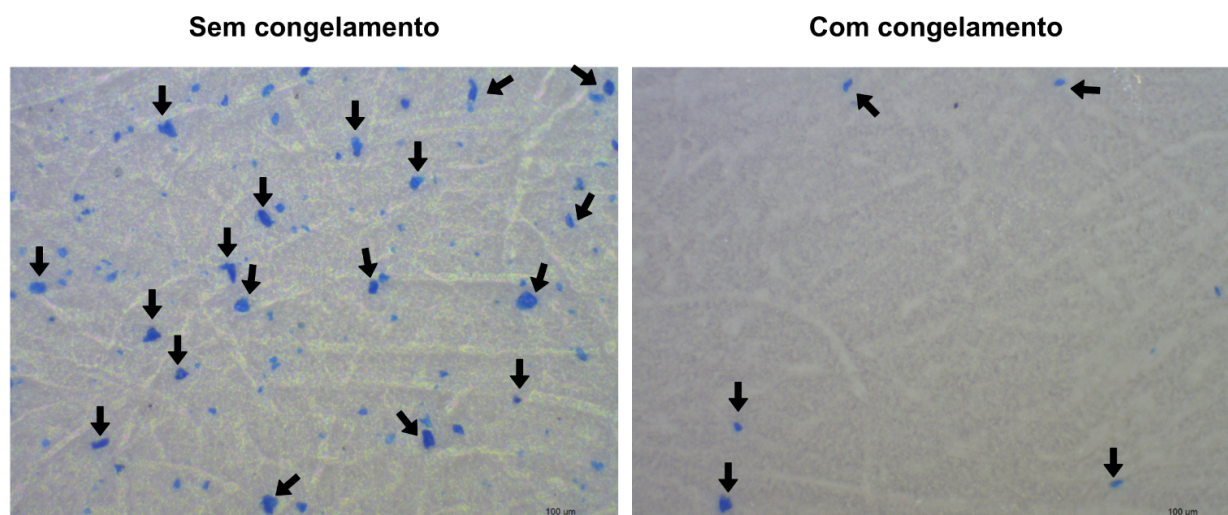
Além das fotografias dos recipientes e do hidrogel formado, as imagens das membranas trouxeram resultados fundamentais. Observando as imagens da figura 6, nota-se uma diferença visual nas cores da membrana que passou pelo processo de congelamento (figura 6 - membrana à esquerda), quando comparada com a membrana que não passou pelo processo (figura 6 - membrana à direita).

Figura 6 – **Membrana esquerda:** uma das triplicatas onde houve formação de hidrogel, com consequente captura de MPs; **Membrana direita:** uma das triplicatas onde não houve formação de hidrogel. Os pontos vermelhos foram feitos usando o molde como referência, para auxiliar no processo de análises que seriam realizadas posteriormente.



Reforçando esse resultado observado, as fotografias tiradas no microscópio óptico com magnificação de vinte vezes apresentadas na figura 7, mostram uma quantidade significativamente menor de partículas no tratamento que passou pelo processo de congelamento, quando comparado ao outro tratamento sem congelamento. Além disso, um ponto que chamou a atenção nas fotografias da figura 7 está relacionado às partículas maiores. Nas imagens, as setas pretas destacam as partículas que visualmente foram consideradas maiores. Nota-se que aparentemente não houve uma redução tão expressiva quanto nas partículas menores. Essa diferença sugere que o hidrogel tem maior eficácia para retirar partículas menores.

Figura 7 - Imagens de um dos pontos das membranas das triplicatas dos tratamentos sem congelamento e com congelamento. As fotografias foram realizadas em um microscópio óptico com magnificação de 20x. As setas pretas, destacam algumas das partículas consideradas maiores.

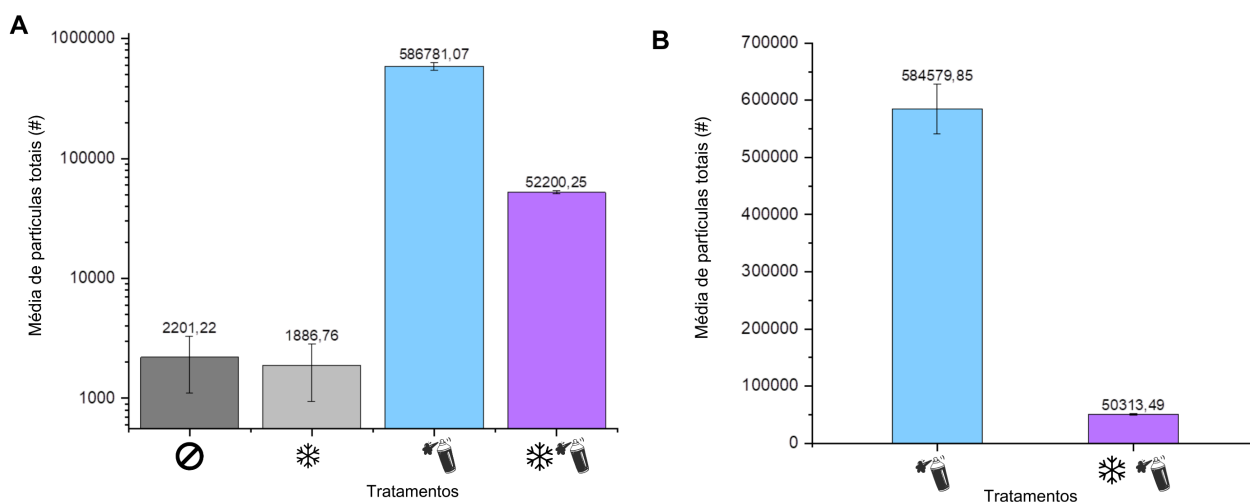


3.3.4. Análise quantitativa entre os tratamentos

Para validar essas observações, foram realizadas análises quantitativas. A primeira análise feita, é referente à quantidade de partículas antes e depois do congelamento. Nos gráficos apresentados na figura 8, observa-se a média estimada de partículas totais (#). Nos controles (figura 8 A), a quantidade média de partículas contaminantes foi de 2.201,21 no primeiro e 1.886,76 no segundo. Já no tratamento com adição de MPs, a quantidade estimada de partículas totais foi de 586.781,07, enquanto no tratamento em que houve adição de MPs seguido pelo processo de congelamento, a quantidade de partículas foi de 52.200,25.

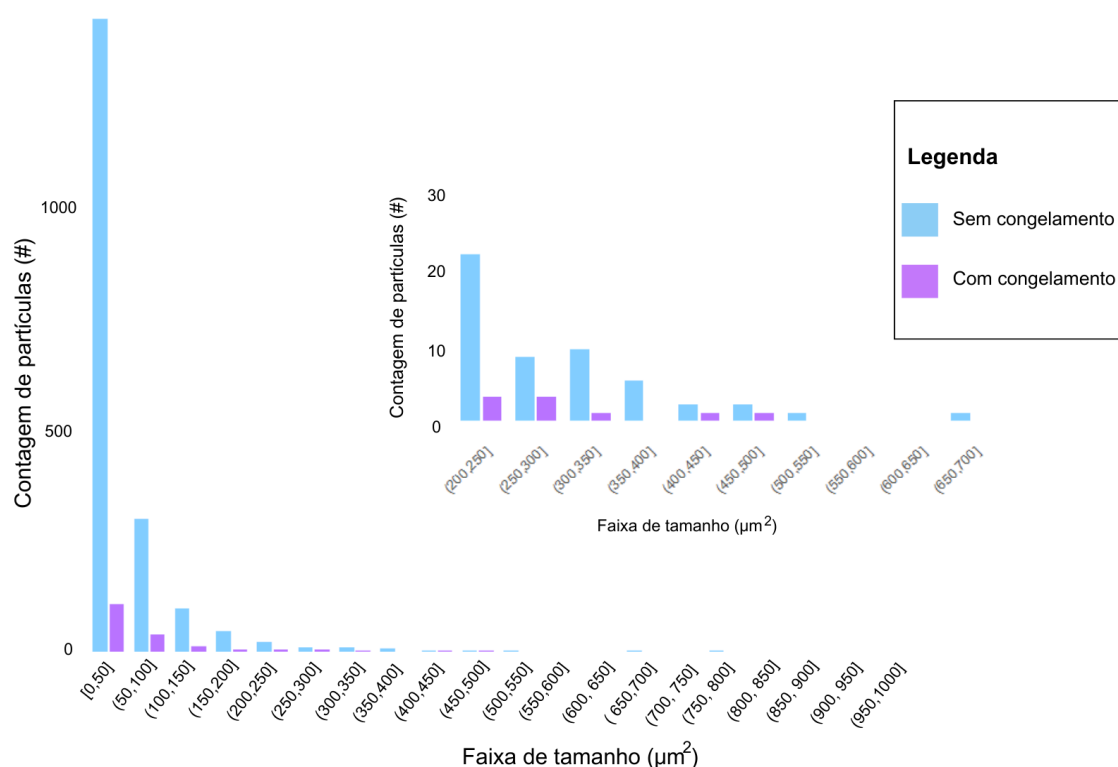
Portanto, o método de congelamento para formação do hidrogel apresentou uma eficiência de mais de 90% na captura de MPs, o que fica mais claro com o gráfico B da figura 8, o qual apresenta os valores de partículas totais estimadas após a subtração dos contaminantes do valor total. A subtração realizada da quantidade estimada de partículas nos controles, menos a quantidade total estimada nos tratamentos com congelamento e sem congelamento, não causou alterações relevantes nos resultados.

Figura 8 - **A**: Gráfico de barras em escala logarítmica mostrando os valores calculados por extrapolação da quantidade de particulados nos tratamentos e nos controles. As duas primeiras barras são referentes aos controles, enquanto a terceira barra representa o tratamento com MPs sem congelamento. Por fim, a última barra representa o tratamento com MPs e congelamento. **B**: O gráfico traz os valores da extrapolação feita do número de partículas, subtraindo-se os valores da extrapolação dos controles.



A outra análise realizada traz os dados referentes à eficiência na captura de MPs menores (figura 9). A análise feita revelou uma contagem de partículas menores substancialmente alta no tratamento sem congelamento. Enquanto no tratamento submetido ao congelamento, houve uma queda acentuada na contagem de partículas nesta faixa de tamanho (até 50 μm). Por outro lado, as partículas maiores sofreram uma redução menos expressiva. Esses resultados corroboram o que foi observado qualitativamente na figura 7, de que há uma maior eficiência do hidrogel na remoção de partículas menores. Uma possível explicação para isso é o fato de que quanto maior a partícula, maior é a resistência ao arrasto mecânico. Logo, a força mecânica gerada pelo processo de congelamento não é suficiente para empurrar partículas maiores para dentro do hidrogel, justificando a sua menor retenção.

Figura 9 - Este gráfico apresenta a contagem de partículas por faixa de tamanho. Nele, é possível observar que as partículas menores predominam, com uma queda significativa na quantidade dessas partículas após o congelamento, especialmente nas menores.



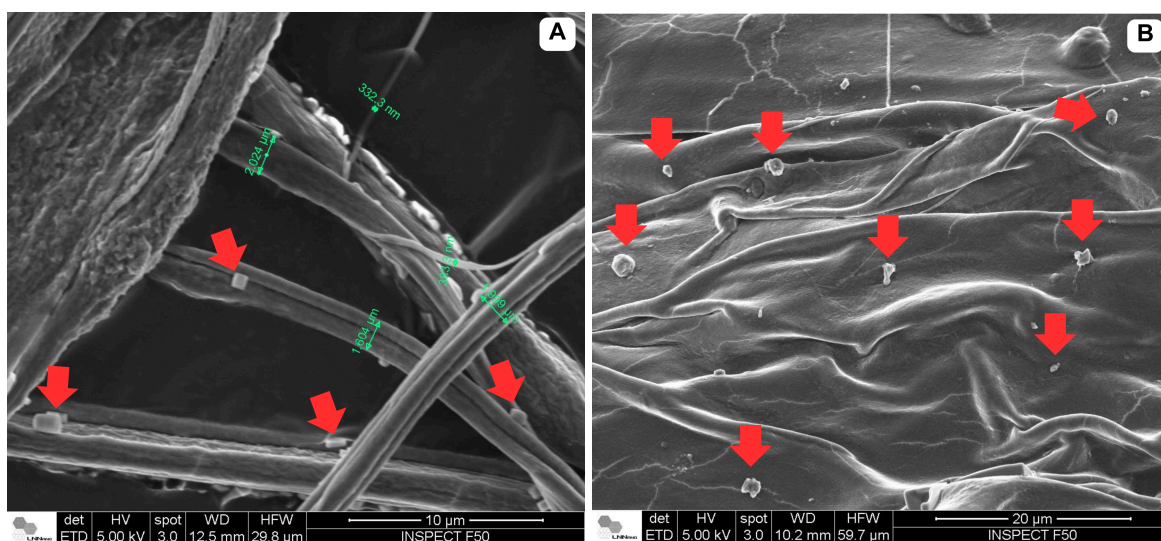
3.3.5. Fotografias do MEV

Foram realizadas fotografias no Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV) para analisar a estrutura do hidrogel e identificar possíveis partículas de MPs. Os resultados reforçaram a

hipótese de que partículas menores são melhor capturadas, visto que foi observada a presença de partículas suspeitas de serem MPs, destacadas pelas setas vermelhas na figura 10 B.

Acredita-se que esses particulados sejam os MPs, pois, na Fotografia 13 A, que representa o controle sem MPs, essas partículas não foram observadas. Apenas a presença de possíveis sais foi detectada, destacada com setas vermelhas na figura 10 A. Além disso, os filamentos extremamente finos na malha do hidrogel liofilizado, chegando a escalas nanométricas (figura 10 A), associados ao tamanho dos poros, podem facilitar a captura de partículas pequenas.

Figura 10 - Fotografias com aumento de 5.000 vezes tiradas no Microscópio de Varredura Eletrônica (MEV). A) Fotografia do hidrogel liofilizado, com setas vermelhas destacando possíveis sais presentes no hidrogel. B) Fotografia do hidrogel liofilizado com MPs, onde as setas vermelhas indicam partículas suspeitas de serem os MPs menores que são capturados.



3.4. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos demonstram que a técnica de congelamento para a formação de hidrogéis é altamente eficaz na captura de MPs em suspensão, com maior eficiência na remoção de partículas menores. Esses dados apontam para um grande potencial em estudos futuros, que explorem a aplicação dessa técnica na captura e análise de micropartículas e, potencialmente, nanopartículas. O hidrogel pode ser utilizado como uma matriz fina e translúcida de imobilização desses particulados, algo que não é tão simples de se obter, ainda

mais com um baixo custo e ambientalmente amigável. Com isso, acredita-se que a aplicação de técnicas como microtomografia e alguns tipos de microscopia avançada possam se beneficiar da metodologia apresentada. Por fim, embora existam limitações, como a baixa escalabilidade, essa abordagem traz uma estratégia inovadora envolvendo o uso de hidrogéis na captura de particulados, como os microplásticos.

3.5. AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer à Capes (Processo: 88887.838492/2023-00) pela concessão da bolsa de estudo, e à FAPESP (2022/12104-4, 2023/18229-6, 2022/11983-4) pelo suporte financeiro. Também sou grato ao PPGBMA pelo apoio institucional e ao GPPP pelas sugestões durante o desenvolvimento do estudo. A UFSCar proporcionou a infraestrutura necessária para esta pesquisa, e o LNNano que permitiu o uso do MEV. Agradecimentos à Profa. Dra. Eliane Arruda pelo acesso ao estereomicroscópio, ao Prof. Dr. Airtton Natanael Coelho Dias pelo uso do microscópio óptico, e ao Prof. Dr. Francisco Strixino pelo fornecimento da balança analítica e da estufa. Além disso, agradecemos à Profa. Dra. Eliane Duek e ao Dr. Rodrigo Gomes pelo acesso ao liofilizador. Por fim, um agradecimento especial ao Dr. Sylvain Deville, cujo blog inspirou este trabalho.

REFERÊNCIAS

- [1] GIGAULT, J. et al. Current opinion: What is a nanoplastic? **Environmental Pollution (Barking, Essex: 1987)**, v. 235, p. 1030–1034, abr. 2018.
- [2] LIM, X. Microplastics are everywhere — but are they harmful? **Nature**, v. 593, n. 7857, p. 22–25, 4 maio 2021.
- [3] SONG, J.; WANG, C.; LI, G. Defining Primary and Secondary Microplastics: A Connotation Analysis. **ACS ES&T Water**, v. 4, n. 6, p. 2330–2332, 14 jun. 2024.
- [4] FANG, C. et al. Paint has the potential to release microplastics, nanoplastics, inorganic nanoparticles, and hybrid materials. **Environmental Sciences Europe**, v. 36, n. 1, p. 17, 22 jan. 2024.
- [5] GALGANI, F. et al. Marine litter within the European Marine Strategy Framework Directive. **ICES Journal of Marine Science**, v. 70, n. 6, p. 1055–1064, 1 set. 2013.

- [6] AN, L. et al. Sources of Microplastic in the Environment. Em: HE, D.; LUO, Y. (Eds.). **Microplastics in Terrestrial Environments: Emerging Contaminants and Major Challenges**. Cham: Springer International Publishing, 2020. p. 143–159.
- [7] PADERVAND, M. et al. Removal of microplastics from the environment. A review. **Environmental Chemistry Letters**, v. 18, n. 3, p. 807–828, 1 maio 2020.
- [8] MUTHULAKSHMI, L.; MOHAN, S.; TATARCHUK, T. Microplastics in water: types, detection, and removal strategies. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 30, n. 36, p. 84933–84948, 1 ago. 2023.
- [9] DESHPANDE, S. S. et al. Freeze concentration of fruit juices. **C R C Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 20, n. 3, p. 173–248, jan. 1984.
- [10] SÁNCHEZ, J. et al. Progressive freeze concentration of orange juice in a pilot plant falling film. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 11, n. 4, p. 644–651, 1 out. 2010.
- [11] HALDE, R. Concentration of impurities by progressive freezing. **Water Research**, v. 14, n. 6, p. 575–580, 1 jan. 1980.
- [12] MINATOVICZ, B. et al. Freeze-concentration of solutes during bulk freezing and its impact on protein stability. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 58, p. 101703, 1 ago. 2020.
- [13] VUIST, J.-E.; BOOM, R. M.; SCHUTYSER, M. A. I. Solute inclusion and freezing rate during progressive freeze concentration of sucrose and maltodextrin solutions. **Drying Technology**, 12 jul. 2021.
- [14] DINU, M. V. et al. Ice-templated hydrogels based on chitosan with tailored porous morphology. **Carbohydrate Polymers**, v. 94, n. 1, p. 170–178, 15 abr. 2013.
- [15] LI, M. et al. Ice-Templated Fabrication of Porous Materials with Bioinspired Architecture and Functionality. **Accounts of Materials Research**, v. 3, n. 11, p. 1173–1185, 25 nov. 2022.
- [16] GONÇALVES, J. S. Produção de géis porosos por congelamento. 22 jun. 2018.

- [17] CÉSAR, N. R. Géis, nanocompósitos e compósitos de pectina preparados utilizando a técnica adaptada de ice template. 20 maio 2020.
- [18] SIQUEIRA, A. M. DE O. et al. Aplicação da Lei de Stokes: um experimento didático em Fenômenos de Transporte. **The Journal of Engineering and Exact Sciences**, v. 8, n. 5, p. 14140– 01e, 16 abr. 2022.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Esta dissertação teve como objetivo contribuir com uma abordagem inovadora para produções de hidrogéis, trazendo novas perspectivas sobre a interação do alginato com os íons cálcio em concentrações de subgelificação. Adicionalmente, buscou-se formas de aplicações da técnica desenvolvida para formação de hidrogéis por congelamento, alcançando resultados inusitados (captura de MPs), conforme demonstrado no terceiro capítulo.

O primeiro trabalho evidenciou que a variação das concentrações de alginato e cálcio influencia diretamente as propriedades dos hidrogéis. A varredura realizada demonstrou que é possível investigar as interações entre o alginato e os íons Ca^{2+} em concentrações inferiores às normalmente empregadas para formação de hidrogéis em temperatura ambiente. Essa abordagem traz uma nova perspectiva sobre as interações do alginato e cálcio, visto que a literatura existente concentra-se em condições que levam à formação do hidrogel em temperatura ambiente. Porém, compreender a partir de qual ponto esse polímero e íons divalentes começam a interagir de uma maneira relevante pode trazer novidades e melhorar o entendimento dos mecanismos que regem a interação relatada no modelo egg-box.

No segundo trabalho, observou-se uma aplicação inédita dos hidrogéis feitos a partir da técnica proposta, demonstrando pela primeira vez a capacidade da formação de hidrogéis por congelamento, alinhado à capacidade de captura de MPs. Os resultados indicaram uma retenção de aproximadamente 90% dos MPs, evidenciando a eficácia da metodologia desenvolvida e seu potencial, não apenas para a produção de hidrogéis, mas também na retenção de partículas em pequena escala e uso da matriz resultante em análises.

Por fim, os estudos apresentados nesta dissertação trazem um olhar diferenciado sobre os hidrogéis, possibilitando que novas ideias possam emergir dessa pesquisa nas áreas de análise de partículas e até mesmo no monitoramento ambiental. A utilização de uma matriz translúcida, ambientalmente amigável e acessível, para retenção de partículas em suspensão, demonstra o potencial desta abordagem em aplicações práticas. Com as contribuições aqui presentes, espera-se inspirar futuras pesquisas, as quais possam colaborar com a escalabilidade da técnica e ampliar o uso da mesma em contextos mais complexos.

REFERÊNCIAS

- [1] MEHTA, P.; SHARMA, M.; DEVI, M. Hydrogels: An overview of its classifications, properties, and applications. **Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials**, v. 147, p. 106145, 1 nov. 2023.
- [2] BASHIR, S. et al. Fundamental Concepts of Hydrogels: Synthesis, Properties, and Their Applications. **Polymers**, v. 12, n. 11, p. 2702, nov. 2020.
- [3] YUAN, Z.-Z. et al. A bibliometric analysis of hydrogel research in various fields: the trends and evolution of hydrogel application. **Journal of Nanobiotechnology**, v. 23, n. 1, p. 1–21, dez. 2025.
- [4] LEE, K. Y.; MOONEY, D. J. Alginate: Properties and biomedical applications. **Progress in Polymer Science**, v. 37, n. 1, p. 106–126, 1 jan. 2012.
- [5] SHU, W. et al. Functional Hydrogel Dressings for Treatment of Burn Wounds. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 9, 6 dez. 2021.
- [6] HUANG, Y. et al. Improved Loading Capacity and Viability of Probiotics Encapsulated in Alginate Hydrogel Beads by In Situ Cultivation Method. **Foods**, v. 12, n. 11, p. 2256, jan. 2023.
- [7] ANTUNES, D. R. et al. Polysaccharide-based sustainable hydrogel spheres for controlled release of agricultural inputs. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 279, p. 135202, 1 nov. 2024.
- [8] LIU, C. et al. Borax crosslinked fenugreek galactomannan hydrogel as potential water-retaining agent in agriculture. **Carbohydrate Polymers**, v. 236, p. 116100, 15 maio 2020.
- [9] VEDOVELLO, P. et al. An Overview of Polymeric Hydrogel Applications for Sustainable Agriculture. **Agriculture**, v. 14, n. 6, p. 840, jun. 2024.
- [10] TRIPATHY, D. B. Hydrogels: multifunctional biomaterials with versatile applications. **Polymer-Plastics Technology and Materials**, v. 62, n. 18, p. 2403–2433, 12 dez. 2023.
- [11] GYLES, D. A. et al. A review of the designs and prominent biomedical advances of

- natural and synthetic hydrogel formulations. **European Polymer Journal**, v. 88, p. 373–392, 1 mar. 2017.
- [12] LIANG, X. et al. Natural hydrogel dressings in wound care: Design, advances, and perspectives. **Chinese Chemical Letters**, v. 35, n. 10, p. 109442, 1 out. 2024.
- [13] TANWAR, M.; GUPTA, R. K.; RANI, A. Natural gums and their derivatives based hydrogels: in biomedical, environment, agriculture, and food industry. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 44, n. 2, p. 275–301, 17 fev. 2024.
- [14] ULLAH, F. et al. Classification, processing and application of hydrogels: A review. **Materials Science and Engineering: C**, v. 57, p. 414–433, 1 dez. 2015.
- [15] ABKA-KHAJOU EI, R. et al. Structures, Properties and Applications of Alginates. **Marine Drugs**, v. 20, n. 6, p. 364, jun. 2022.
- [16] HU, C. et al. Ions-induced gelation of alginate: Mechanisms and applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 177, p. 578–588, 30 abr. 2021.
- [17] HALDE, R. Concentration of impurities by progressive freezing. **Water Research**, v. 14, n. 6, p. 575–580, 1 jan. 1980.
- [18] SÁNCHEZ, J. et al. Progressive freeze concentration of orange juice in a pilot plant falling film. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 11, n. 4, p. 644–651, 1 out. 2010.
- [19] DINU, M. V. et al. Ice-templated hydrogels based on chitosan with tailored porous morphology. **Carbohydrate Polymers**, v. 94, n. 1, p. 170–178, 15 abr. 2013.
- [20] LI, M. et al. Ice-Templated Fabrication of Porous Materials with Bioinspired Architecture and Functionality. **Accounts of Materials Research**, v. 3, n. 11, p. 1173–1185, 25 nov. 2022.
- [21] LIM, X. Microplastics are everywhere — but are they harmful? **Nature**, v. 593, n. 7857, p. 22–25, 4 maio 2021.
- [22] WONG, J. K. H. et al. Microplastics in the freshwater and terrestrial environments:

Prevalence, fates, impacts and sustainable solutions. **Science of The Total Environment**, v. 719, p. 137512, 1 jun. 2020.

- [23] FRIAS, J. P. G. L.; NASH, R. Microplastics: Finding a consensus on the definition. **Marine Pollution Bulletin**, v. 138, p. 145–147, 1 jan. 2019.
- [24] SONG, J.; WANG, C.; LI, G. Defining Primary and Secondary Microplastics: A Connotation Analysis. **ACS ES&T Water**, v. 4, n. 6, p. 2330–2332, 14 jun. 2024.
- [25] XU, Y.; RILLIG, M. C.; WALDMAN, W. R. New separation protocol reveals spray painting as a neglected source of microplastics in soils. **ENVIRONMENTAL CHEMISTRY LETTERS**, v. 20, n. 6, p. 3363–3369, dez. 2022.
- [26] GAYLARDE, C. C.; NETO, J. A. B.; DA FONSECA, E. M. Paint fragments as polluting microplastics: A brief review. **Marine Pollution Bulletin**, v. 162, p. 111847, 1 jan. 2021.