

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE FÍSICA
BACHARELADO EM ENGENHARIA FÍSICA

Fábio Figueira de Godoi

**Redes biopoliméricas semi-interpenetradas entre β -glucana e
poli(líquidos iônicos) como suporte de imobilização de
microalgas**

São Carlos, SP

2026

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE FÍSICA
BACHARELADO EM ENGENHARIA FÍSICA

Fábio Figueira de Godoi

**Redes biopoliméricas semi-interpenetradas entre β -glucana e
poli(líquidos iônicos) como suporte de imobilização de
microalgas**

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação em Engenharia
Física, do Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia da
Universidade Federal de São Carlos, como requisito para a
obtenção do título de bacharel em Engenharia Física.

Orientador: Prof. Dr. Hugo Miguel Preto de Moraes Sarmiento

Coorientadora: Dra. Rafaella Ferreira Fernandes

São Carlos, SP

2026

Godoi, Fabio Figueira de

Redes biopoliméricas semi-interpenetradas entre β -glucana e poli(líquidos iônicos) como suporte de imobilização de microalgas / Fabio Figueira de Godoi -- 2026.
68f.

TCC (Graduação) - Universidade Federal de São Carlos, campus São Carlos, São Carlos

Orientador (a): Hugo Miguel Preto de Moraes Sarmento

Banca Examinadora: Artino Quintino da Silva Filho,

Crisiane Aparecida Marangon

Bibliografia

1. Géis iônicos. 2. β -glucana. 3. Cultivo de microalgas. I. Godoi, Fabio Figueira de. II. Título.

Ficha catalográfica desenvolvida pela Secretaria Geral de Informática
(SIn)

DADOS FORNECIDOS PELO AUTOR

Bibliotecário responsável: Arildo Martins - CRB/8 7180

*Dedico este trabalho à minha mãe,
Fátima, ao meu pai, Jair, e aos meus
irmãos Felipe, Fabrício e Alisson.*

“Lembre-se de que as pessoas podem tirar tudo de você, menos o seu conhecimento.”

— Albert Einstein

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus pela vida, pela saúde e pela oportunidade de concluir mais esta etapa fundamental: a graduação em Engenharia Física.

Aos meus pais, Jair e Fátima, agradeço por todo o apoio incondicional durante a graduação; sempre estiveram à disposição e ao meu lado nas maiores dificuldades enfrentadas ao longo desses 6 anos. Agradeço à minha namorada por todo o suporte emocional, pelo incentivo constante e pela compreensão em todos os momentos, especialmente nos períodos de maior dedicação e dificuldade.

Gostaria de expressar minha mais profunda gratidão aos meus orientadores. Ao prof. Dr. Caio Otoni e à Dra. Rafaella Fernandes, agradeço a oportunidade da bolsa científica, a qual foi estendida, o que me levou a este estudo atual para o Trabalho Final de Curso. Meu agradecimento ao prof. Dr. Hugo Sarmento pela disponibilidade para me ajudar e para embarcar neste novo desafio e ao meu amigo de turma Eduardo Mendes que me ajudou diretamente nessa jornada em momentos desafiadores. Além disso, agradeço a todos pela disposição constante em ouvir e solucionar os desafios que surgiram ao longo do processo. À minha coorientadora, Dra. Rafaella Fernandes, agradeço o acompanhamento integral e por me ensinar desde o manuseio correto dos equipamentos de laboratório até as técnicas de polimerização e de otimização dos líquidos iônicos.

Aos professores e amigos de curso, agradeço pelos conhecimentos compartilhados, pelas trocas de experiências e pelo convívio ao longo da graduação. Um agradecimento especial às pessoas com quem me relacionei durante essa jornada; o auxílio e as informações trocadas foram essenciais para que eu jamais me sentisse desamparado.

A todos aqueles que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho, meus sinceros agradecimentos.

Ao CNPq, pela bolsa de iniciação científica concedida.

Resumo

Os polissacarídeos destacam-se como polímeros ecoamigáveis devido às suas características típicas de biodegradabilidade e biocompatibilidade, desejáveis para aplicações em biomateriais. O uso destes como materiais biodegradáveis tem aumentado continuamente nas últimas décadas, devido às suas aplicações em produtos farmacêuticos, biomédicos, alimentares e cosméticos. Na busca pela bioeconomia circular, os recursos biorrenováveis são estratégias de vasto potencial para viabilizar o atendimento à demanda atual por novas opções de materiais tecnologicamente avançados derivados de biomassas. Neste contexto, os líquidos iônicos (LI) – considerados “solventes verdes” – oferecem soluções para diversos problemas no processamento de biomassas. Porém, atualmente, sua aplicabilidade tem sido extrapolada também para a geração de novos materiais tecnologicamente relevantes em áreas relativas ao armazenamento de energia, ao tratamento de água e ao transporte e armazenamento de gases, como o CO₂. O escopo deste projeto tem por finalidade a busca por géis iônicos como materiais de suporte para o crescimento de microalgas. Assim, objetiva-se que os materiais constituam uma plataforma inovadora para o cultivo de microalgas. Os géis construídos são formados por redes semi-interpenetradas (semi-IPN) entre o biopolímero β -glucana – extraído de uma biomassa abundante, porém pouco convencional: os líquens – e líquidos iônicos polimerizáveis. A otimização de reações de polimerização é um dos focos deste trabalho, bem como a caracterização química por meio de técnicas espectroscópicas.

Palavras-chave: géis iônicos, β -glucana, líquidos iônicos, cultivo de microalgas.

Abstract

Polysaccharides stand out as eco-friendly polymers due to their inherent biodegradability and biocompatibility, which are desirable for biomaterial applications. The use of these as biodegradable materials has increased continuously in recent decades due to their applications in pharmaceutical, biomedical, food, and cosmetic products. In the pursuit of a circular bioeconomy, biorenewable resources offer vast potential to meet current demand for new, technologically advanced material options derived from biomass. In this context, ionic liquids (IL) – considered "green solvents" – offer solutions to various problems in biomass processing. However, their applicability has been extended to the generation of new technologically relevant materials for energy storage, water treatment, and gas transport and storage, including CO₂. The scope of this project aims to search for ionic gels as support materials for microalgae growth. Thus, the objective is for the materials to constitute an innovative platform for microalgae cultivation. The gels constructed are formed by semi-interpenetrated networks (semi-IPN) between the biopolymer β -glucan – extracted from an abundant, yet unconventional biomass: lichens – and polymerizable ionic liquids. The optimization of polymerization reactions is one of the focuses of this work, along with chemical characterization using spectroscopic techniques.

Keywords: ionic gels, β -glucan, ionic liquids, microalgae cultivation.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Representação esquemática da síntese de poli(líquidos iônicos).....	15
Figura 2: Imagem do líquen <i>Usnea</i> sp	16
Figura 3: Representação dos níveis de energia vibracional	20
Figura 4: Comparação entre o potencial harmônico e o potencial de Morse	21
Figura 5: Esquema da técnica ATR	23
Figura 6: Comparação entre os critérios de atividade no infravermelho	24
Figura 7: (A) Ilustração molecular comparativa entre o espalhamento elástico (Rayleigh) e o espalhamento inelástico (Raman Stokes e anti-Stokes),	26
Figura 8: Diagrama esquemático dos componentes ópticos de um espectrômetro Raman	27
Figura 9: Monitoramento cinético da fotopolimerização por espectroscopia Raman	28
Figura 10: Esquema de funcionamento de um microscópio eletrônico de varredura (MEV)	29
Figura 11: Comparação entre as propriedades ondulatórias da luz visível e as dos elétrons.	31
Figura 12: Volume de interação e da profundidade de escape.	32
Figura 13: Diagrama esquemático do caminho óptico estrutural	35
Figura 14: Esquema representativo da síntese de um polímero reticulado	37
Figura 15: Rota sintética de um poli(líquido iônico) reticulado	38
Figura 16: Imagens dos materiais poliméricos	43
Figura 17: Imagens das semi-IPNs obtidas com o uso de (A) β -glucana, (B) β -glucana cationizada	45
Figura 18: Espectros de absorção no infravermelho obtidos para o MBA	46
Figura 19: Espectros FT-Raman obtidos para o MBA.	47
Figura 20: Espectros FT-IR obtidos para o polímero de líquido iônico	47
Figura 21: Micrografias eletrônicas de varredura	48
Figura 22: Demonstração da metodologia empregada na tentativa I	49
Figura 23: Resultado pós-incubação das amostras 1, 2 e 3 por 24 horas	51
Figura 24: Controle inicial ($t = 0$) da curva de sobrevivência de <i>S. aureus</i> , evidenciando a carga bacteriana basal antes da exposição aos géis iônicos.	52

Figura 25: Ensaio de atividade antimicrobiana após 4 horas de incubação.....	52
Figura 26: Placas de atividade antimicrobiana após 24 horas de incubação	53
Figura 27: Gráfico do crescimento de colônia de bactéria com o tempo	54
Figura 28: Crescimento médio das microalgas.....	58
Figura 29: Micrografias ópticas da colonização de microalgas.....	60

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Descrição química dos líquidos iônicos inicialmente estudados.....	41
Tabela 2: Experimentos para otimização da metodologia.....	42
Tabela 3: Experimentos referentes após encontrar a polimerização do LI.....	43
Tabela 4: Tentativa de construção de semi-IPNs com β -glucana e β -glucana cationizada.....	44
Tabela 5: Concentração de clorofila total extraída dos géis iônicos após 7 dias de cultivo de microalgas.....	55
Tabela 6: Concentração de clorofila total extraída dos géis iônicos após 14 dias de cultivo de microalgas.....	56
Tabela 7: Concentração de clorofila total extraída dos géis iônicos após 21 dias de cultivo de microalgas.....	56
Tabela 8: Concentração média de clorofila total extraída dos géis iônicos nos diferentes intervalos temporais (7, 14 e 21 dias).....	57

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
ACVA	Iniciador químico (4,4'-Azobis(4-cyanovaleric acid))
ATCC	American Type Culture Collection
BSE	Elétrons Retroespalhados
CNPq	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
DMF	Dimetilformamida
DO	Densidade Óptica
EDS	Espectroscopia de Energia Dispersiva
FDM	Modelagem por Deposição Fundida
FTIR / FT-IR	Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier
FTIR-ATR	Espectroscopia de Absorção no Infravermelho com Transformada de Fourier por Reflexão Total Atenuada
FT-Raman	Espectroscopia Raman com Transformada de Fourier
GTMAC	Cloreto de glicidiltrimetilamônio
IPN	Rede Polimérica Interpenetrada
LI / LIs	Líquidos Iônicos
MBA	N,N'-metilenobiscacrilamida
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
pLIs	Líquidos Iônicos Polimerizados
SE	Elétrons Secundários
semi-IPN	Redes biopoliméricas semi-interpenetradas
TSA	Ágar Triptona de Soja
TSB	Caldo Triptona de Soja
UFC	Unidade Formadora de Colônias
UFSCar	Universidade Federal de São Carlos
UV	Ultravioleta
UV-Vis	Espectrofotometria de Absorção no Ultravioleta-Visível

Sumário

Resumo	7
Abstract.....	8
1. Introdução e Justificativa.....	14
2. Objetivos e Hipóteses	17
3. Fundamentação Teórica.....	19
3.1 Espectroscopia de Absorção no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR-ATR).....	19
3.1.1 Física das Vibrações Moleculares	19
3.1.2 Fenomenologia da Reflexão Total Atenuada (ATR).....	22
3.2 Espectroscopia Raman.....	23
3.2.1 Tensor de Polarizabilidade Raman e Espalhamento Inelástico de Fótons	24
3.2.2 Espectroscopia Raman com Transformada de Fourier (FT-Raman)	26
3.3 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	28
3.3.1 Dualidade Onda-Partícula e Resolução	29
3.3.2 Interação Elétron-Matéria e Geração de Sinais	31
3.4. Espectrofotometria de Absorção no Ultravioleta-Visível (UV-Vis)	33
3.4.1 Princípios Físicos da Interação Radiação-Matéria	33
3.4.2 A Lei de Beer-Lambert.....	34
3.4.3. Instrumentação Analítica	35
3.4.4. Aplicação no Monitoramento de Crescimento de Algas	36
4. Metodologia.....	36
5. Discussão de Resultados.....	41
Conclusão	61
Referências Bibliográficas	63

1. Introdução e Justificativa

A trajetória histórica dos Líquidos Iônicos (LIs) remonta ao início do século XX, tendo como marco inicial a síntese do nitrato de etilamônio ($[\text{EtNH}_3][\text{NO}_3]$) por Paul Walden em 1914. Este composto, com ponto de fusão de 12 °C, desafiou as concepções da época sobre a natureza dos sais (WALDEN, 1914). Entretanto, o interesse científico por esses materiais permaneceu latente até meados da década de 1940, quando surgiram os primeiros sistemas baseados em cloroaluminatos, inicialmente voltados para aplicações em galvanoplastia e em baterias (HURLEY; WIER, 1951).

Um avanço significativo ocorreu na década de 1970, com os trabalhos de Chum e colaboradores, que exploraram sais de alumínio líquidos à temperatura ambiente para o desenvolvimento de eletrólitos (CHUM et al., 1975). Todavia, a sensibilidade extrema desses compostos à umidade limitava severamente sua aplicabilidade industrial. A "revolução" da química dos LIs aconteceu, de fato, em 1992, quando Wilkes e Zaworotko sintetizaram os primeiros sais de imidazólio estáveis ao ar e à água, utilizando ânions como tetrafluoroborato e acetato (WILKES; ZAWOROTKO, 1992). Essa descoberta abriu caminho para o que hoje se define como "solventes projetados" ou *task-specific ionic liquids*, permitindo a modulação de propriedades físico-químicas para aplicações que vão da catálise à biotecnologia e à manufatura aditiva (PLECHKOVA; SEDDON, 2008).

Nos últimos anos, esta classe de materiais tem recebido destaque (LEI et al., 2017) por sua ampla aplicabilidade, a saber: armazenamento de energia (baterias e supercapacitores), processamento de biomassas e de fluidos funcionais (lubrificantes, fluidos hidráulicos e surfactantes) (OLASUPO; CORBIN; SHIFLETT, 2026). Inicialmente, os líquidos iônicos foram promovidos a “solventes verdes” devido a propriedades como: pressão de vapor desprezível, alta estabilidade térmica e não inflamabilidade, o que os torna alternativas mais seguras aos compostos orgânicos voláteis (HOLBREY; TURNER; ROGERS, 2003). Assim, esses solventes são frequentemente usados em processos de extração, separação e reação, embora seu status de "verde" seja debatido devido a preocupações com toxicidade e biodegradabilidade, aspectos que geram amplo debate científico (JESUS; MACIEL FILHO, 2022).

LIs podem ser sintetizados a partir da combinação de diferentes cátions e ânions, possibilitando a obtenção de uma notável variedade dessas substâncias (ZHU et al., 2009), o que favorece sua versatilidade e considerável potencial de aplicação. Com a

obtenção de novas gerações de LIs, notou-se que suas propriedades físico-químicas podem ser moduladas com base nas estruturas de seus íons a fim de projetar um LI voltado a tarefas específicas, o que talvez seja a principal razão de sua vasta popularidade em várias áreas científicas (MACFARLANE; TACHIKAWA, 2014).

Avançando em seu campo de aplicação, os LIs polimerizados (pLIs) referem-se a uma subclasse de polieletrólitos (ou polímeros iônicos) que apresentam uma espécie de LI (principalmente cátions) como unidade repetitiva de sua arquitetura molecular, ou seja, como monômero em uma reação de polimerização. A Figura 1 ilustra a construção do *backbone* polimérico a partir de uma reação genérica de polimerização do LI.

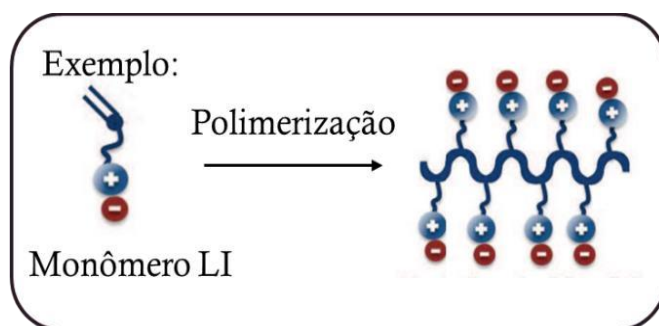


Figura 1: Representação esquemática da síntese de poli(líquidos iônicos) por meio da polimerização de monômeros de líquidos iônicos, ilustrando a formação da cadeia polimérica a partir de unidades iônicas repetitivas.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

A Figura 1 ilustra o mecanismo de polimerização radicalar por abertura de anel do monômero de líquido iônico imidazolínico. O processo inicia-se com a ativação térmica do iniciador, seguida da propagação das cadeias por meio da interação entre os centros ativos e as insaturações vinílicas dos precursores. Visualmente, observa-se a transição de unidades discretas para uma rede polimérica ordenada, mantendo o caráter iônico intrínseco. Esta transformação físico-química é fundamental para a estabilidade estrutural do material, resultando em um polieletrólito de alta densidade de carga e morfologia controlada.

Um grande interesse na obtenção de polímeros de LIs é a combinação das propriedades únicas destes, como alta condutividade iônica, ampla janela eletroquímica, estabilidades térmica e química e funcionalidade ajustável em sinergia com propriedades intrínsecas de estruturas macromoleculares, a saber: processabilidade versátil, alta resistência mecânica e fácil funcionalização. Tais propriedades dos poli(LIs) – ou pLIs –

e técnicas avançadas de polimerização criaram um campo emergente para o desenvolvimento de novos materiais versáteis.

Considerando esse conjunto de propriedades, abre-se uma oportunidade relevante para empregar pLIs em aplicações ambientais, como a imobilização de microalgas.

A imobilização de microalgas emergiu como uma técnica útil em aplicações ambientais, como a remoção de compostos indesejáveis da água, o manuseio de coleções de culturas para a captura de CO₂, o desenvolvimento de biossensores e a produção de energia limpa, entre outras. Neste trabalho, a polimerização de LIs, com subsequente formação de redes poliméricas interpenetradas com β -glucana e β -glucana modificada, é avaliada para a obtenção de materiais propícios à imobilização de microalgas. No escopo deste projeto, vislumbra-se que os monômeros de LIs sejam polimerizados pela ação de um iniciador e gelificados por meio de uma reação de reticulação. Numa segunda abordagem, a interpenetração dos pLIs (antes da reticulação) com um polímero natural, a β -glucana, e com β -glucana quimicamente modificada por meio de uma reação de cationização. Este polissacarídeo, de arranjos variáveis de glicose (meros), será quimicamente isolado e purificado a partir da biomassa liquênica do líquen *Usnea sp.* (Figura 2).



Figura 2: Imagem do líquen *Usnea sp* usado como fonte do polímero β -glucana para este projeto.

Fonte: DreamStime, acesso em 16 de maio de 2026.

Os líquens são associações simbióticas entre um organismo micobionte (fúngico) e um ou mais parceiros fotobiontes que resultam, dessa forma, em um talo. Assim, os fungos que formam os líquens são majoritariamente ascomicetos (98%), sendo o restante basidiomicetos; as algas envolvidas nesta associação são as clorofíceas e as cianobactérias (SPRIBILLE *et al.*, 2016).

As glucanas são os principais polissacarídeos encontrados em líquens e estão entre os mais abundantes na natureza. Este polissacarídeo possui propriedades biológicas interessantes. Em uma revisão de 30 anos de literatura sobre o tema, Olafsdottir e Ingólfsdottir (OLAFSDOTTIR; INGÓLFSDOTTIR, 2001) mostraram que os polissacarídeos liquênicos, incluindo as glucanas, podem apresentar atividades antitumoral, antivirais e imunológicas, com baixo nível de toxicidade.

Assim, a fim de estudar os mecanismos de adesão das microalgas ao novo material projetado, realiza-se uma reação química de cationização nos grupos -OH da β -glucana, para elucidar o efeito da carga na estrutura polimérica. A estratégia aqui conduzida tem potencial para explorar géis formados por pLIs e por um biopolímero, com características que atendem às premissas da química verde, principalmente no que tange à biodegradabilidade e à baixa toxicidade.

2. Objetivos e Hipóteses

2.1 Objetivo Geral:

Neste contexto, objetiva-se, nesta pesquisa, desenvolver, caracterizar, otimizar e prospectar aplicações de géis poliméricos formados pela combinação de pLIs e β -glucana de origem liquênica, com o foco na construção de materiais para a imobilização de microalgas.

2.2 Objetivos Específicos:

- Realizar a otimização das reações de polimerização de líquidos iônicos, em termos de: solventes empregados, tempo e temperatura de reação, reatividade dos monômeros, proporções de agente reticulante, de iniciador químico de reação, monômero e solvente;
- Construir as redes poliméricas interpenetradas com o polímero β -glucana e β -glucana cationizada;
- Caracterizar química dos géis iônicos obtidos;

- Avaliar a atividade antimicrobiana dos géis;
- Avaliar a adesão da cepa selecionada de microalga.

2.3 Hipóteses:

Vislumbra-se que as cadeias dos pLIs se entrelacem em nível molecular com as da β -glucana, formando uma rede que, apesar de não se estruturar covalentemente no âmbito intermolecular, mantém sua coesão a menos que as ligações covalentes intermoleculares sejam suprimidas (DRAGAN, 2014).

Dessa forma, a principal hipótese deste trabalho é que, na presença de outro polímero, mais especificamente um polissacarídeo emergente, este processo leve à formação de redes poliméricas interpenetradas (*IPN*, do inglês *interpenetrating polymer network*). Esta hipótese é amparada por alguns trabalhos que relatam *IPNs* contendo pLIs (SHAPLOV, 2009; BECHT, 2011; SHAPLOV, 2015).

A hipótese também considera a literatura bem estabelecida acerca da solubilização de vários biopolímeros (e.g., celulose, fibroína, quitina) com LIs, permitindo a funcionalização e o processamento em objetos 1D (e.g., fibras), 2D (e.g., filmes finos) e 3D (por meio de *FDM*) (KOSAN, 2008; CAO, 2009; SUNDBERG, 2013; SWEELY, 2014).

Hipotetiza-se que a presença de β -glucana e, principalmente, sua cationização nos géis semi-IPN modifique as propriedades da superfície e de adesão celular dos materiais. Especificamente, espera-se que a amostra contendo apenas poli(líquido iônico) apresente menor adesão de microalgas em comparação com as semi-IPNs de β -glucana e poli(líquido iônico), sendo a adesão ainda mais pronunciada na semi-IPN contendo β -glucana cationizada. Esta progressão reflete a hipótese de que a incorporação de polissacarídeos, particularmente na forma funcionalizada (cationizada), aumenta a biocompatibilidade e favorece interações celulares benéficas ao cultivo de microalgas.

Adicionalmente, hipotetiza-se que os géis iônicos desenvolvidos, particularmente as semi-IPNs de β -glucana cationizada e poli(líquido iônico), constituam uma plataforma tecnologicamente viável e sustentável para aplicações em biorreatores e em sistemas de cultivo de microalgas em larga escala. Esta hipótese fundamenta-se na combinação de características desejáveis: (i) biocompatibilidade comprovada; (ii) origem de matérias-primas renováveis; (iii) estabilidade em meios aquosos; e (iv) potencial de integração em

processos de bioeconomia circular, viabilizando a produção de biomassa microalgal para aplicações em alimentos, cosméticos e biocombustíveis.

3. Fundamentação Teórica

3.1 Espectroscopia de Absorção no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR-ATR)

A espectroscopia no infravermelho fundamenta-se na interação da radiação eletromagnética com os modos vibracionais quantizados das moléculas no estado fundamental (SKOOG; HOLLER; CROUCH, 2009). No estudo das redes biopoliméricas interpenetradas (IPNs), esta técnica permite a identificação de grupos funcionais do material polimérico e o monitoramento da dinâmica de reticulação entre a β -glucana e os poli(líquidos iônicos).

3.1.1 Física das Vibrações Moleculares

Do ponto de vista da mecânica clássica, uma molécula com N átomos possui $3N$ graus de liberdade (CALLISTER JR.; RETHWISCH, 2016). Subtraindo-se os movimentos translacionais e rotacionais em torno do centro de massa da molécula, restam $3N-6$ graus de liberdade vibracionais possíveis, ou $3N-5$ para moléculas lineares (SMITH, 2011). Cada modo normal de vibração pode ser modelado como um oscilador harmônico quântico, cuja energia é dada pela Eq. 1 abaixo:

$$E_v = h\nu \left(v + \frac{1}{2} \right) \quad (1)$$

onde v é o número quântico vibracional, h é a constante de Planck e ν é a frequência de vibração (SALA, 2008).

A Figura 3 apresenta um diagrama do oscilador harmônico quântico, um modelo fundamental utilizado na física e na química para descrever a vibração de moléculas diatômicas. No centro, destaca-se uma curva parabólica que representa a energia potencial do sistema, definida pela fórmula $1/2 kx^2$, em que o eixo horizontal indica a separação internuclear e o vertical, a energia total. Abaixo do gráfico, uma ilustração de duas esferas conectadas por uma mola simboliza os núcleos atômicos em vibração, reforçando visualmente que a posição $x = 0$ corresponde à distância de equilíbrio estável entre os átomos na ligação química.

Dentro do poço de potencial, o diagrama ilustra a natureza quantizada da energia por meio de níveis discretos, de $n = 0$ a $n = 4$. A equação 1 descreve esses estados, evidenciando que, mesmo no nível fundamental ($n = 0$), o sistema possui uma energia residual, conhecida como energia de ponto zero, de valor $1/2 \hbar\omega$. Na figura, as setas verticais entre os níveis indicam transições energéticas, destacando que a energia necessária para a transição entre estados adjacentes é constante e igual a $\hbar\omega$, o que caracteriza o espaçamento uniforme e previsível típico deste modelo mecânico-quântico.

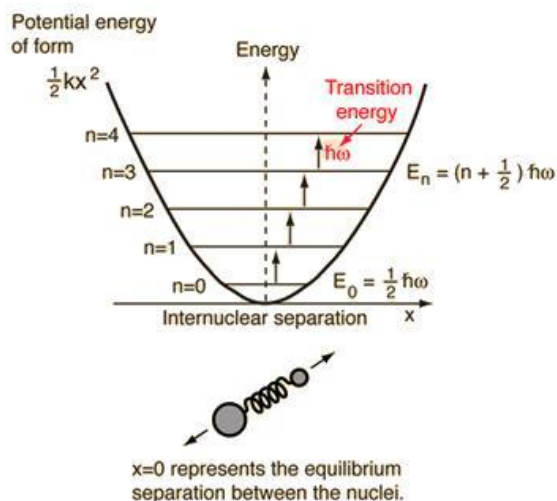


Figura 3: Representação dos níveis de energia vibracional no modelo de oscilador harmônico aplicado à vibração de uma molécula diatômica, exibindo os níveis de energia quantizados e o espaçamento uniforme entre eles.

Fonte: Nave (2026)

Porém, uma parábola não pode ser correta em todas as extensões, pois não permite que uma ligação se dissocie. Em excitações vibracionais elevadas, a separação dos átomos (mais precisamente, a dispersão da função de onda vibracional) permite que a molécula explore regiões da curva de energia potencial em que a aproximação parabólica se mostra inadequada. O movimento, então, torna-se anarmônico, no sentido de que a força restauradora deixa de ser proporcional ao deslocamento. Como a curva real é menos confinante do que a de uma parábola, pode-se prever que os níveis de energia fiquem mais próximos entre si em estados altamente excitados.

Uma abordagem para o cálculo dos níveis de energia na presença de anarmonicidade é usar uma função que se assemelhe à energia potencial real. Um exemplo é a função de energia potencial de Morse (Figura 4) (LARKIN, 2017):

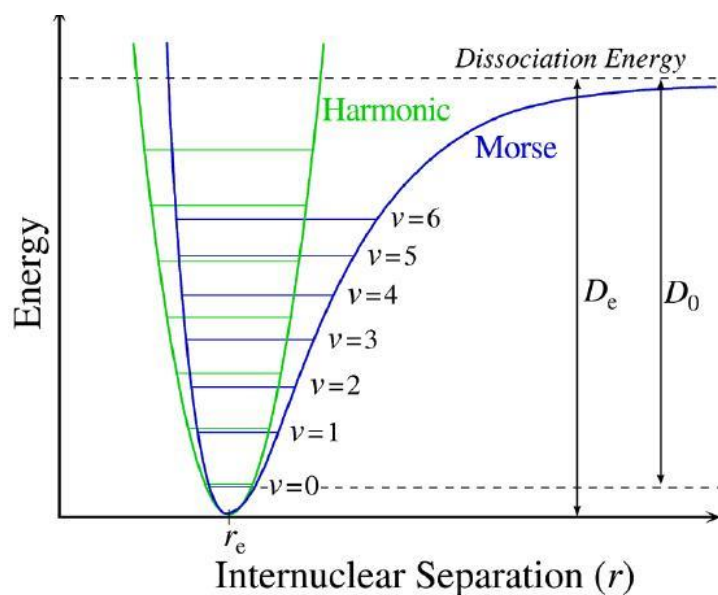


Figura 4: Comparação entre o potencial harmônico (em verde) e o potencial de Morse (em azul) para a vibração molecular, evidenciando a anarmonicidade e a dissociação da ligação.

Fonte: Somoza (2006).

Classicamente, a absorção (ou emissão) de radiação por um sistema é devida à variação periódica de seu momento de dipolo elétrico, sendo a frequência absorvida (ou emitida) idêntica à da oscilação do dipolo. Assim, se o momento de dipolo μ (ou um de seus três componentes) oscilar à mesma frequência da radiação incidente, a molécula absorverá essa radiação.

O momento de dipolo é determinado pela configuração nuclear; quando a molécula vibra, esse momento pode variar. Para moléculas diatômicas, a única coordenada normal do sistema coincide com a coordenada interna da ligação, q . Portanto, podemos expandir o momento de dipolo em série de Taylor da coordenada q , expressa na equação 2, para cada um dos componentes μ_x , μ_y e μ_z ou em forma condensada:

$$\mu = \mu_0 + \left(\frac{d\mu}{dq} \right)_0 q + \dots \quad (2)$$

onde μ_0 é o vetor do momento de dipolo permanente e a derivada é considerada na posição de equilíbrio. Para pequenos deslocamentos em relação a esta posição, podemos desprezar os termos de ordem mais alta. A condição de variação do momento de dipolo

com a vibração, para haver absorção no infravermelho, implica em $\left(\frac{d\mu}{dq}\right)_0 \neq 0$ (SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2006). A intensidade da banda de absorção é proporcional ao quadrado da derivada do dipolo em relação à coordenada normal de vibração (Q), observado pela equação 3:

$$I \propto (\partial\mu/\partial Q)^2 \quad (3)$$

Assim, no infravermelho, o estudo das vibrações moleculares revela diretamente constantes de força, massas reduzidas, momentos de dipolo e até interações intermoleculares - ligando teoria quântica e caracterização experimental. Dessa forma, a espectroscopia molecular ocupa posição central na Físico-Química de Materiais, pois estabelece uma ligação direta entre a estrutura da matéria e suas propriedades macroscópicas observáveis. Por meio da interação da radiação eletromagnética com os constituintes atômicos e moleculares, é possível determinar parâmetros fundamentais, informações essenciais para compreender o comportamento eletrônico e dinâmico de materiais - desde gases e moléculas simples até polímeros, catalisadores e sólidos cristalinos.

3.1.2 Fenomenologia da Reflexão Total Atenuada (ATR)

A técnica de Refletância Total Atenuada (ATR) baseia-se no fenômeno da reflexão interna total na interface entre um cristal de alto índice de refração (n_1) e a amostra (n_2), sendo $n_1 > n_2$ (STUART, 2004).

Quando a radiação incide com um ângulo superior ao ângulo crítico (θ_c), as equações de Maxwell preveem a formação de uma onda evanescente que se propaga na interface e penetra na amostra, como demonstrado na figura 5 (GRIFFITHS; DE HASETH, 2007).

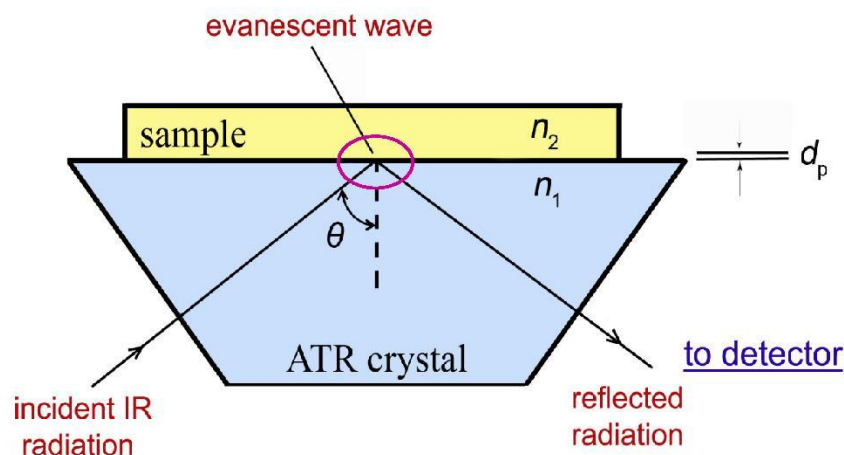


Figura 5: Esquema da técnica ATR evidenciando a reflexão interna total destacando a formação da onda evanescente na interface entre o cristal e a amostra.

Fonte: PIKE Technologies (2011).

A profundidade de penetração (d_p), parâmetro essencial na análise de filmes finos e materiais porosos, é dada pela equação 4:

$$d_p = \lambda / \left(2\pi n_1 \sqrt{(\sin^2 \theta - (n_2/n_1)^2)} \right) \quad (4)$$

3.2 Espectroscopia Raman

A espectroscopia de absorção no infravermelho e a espectroscopia Raman (Figura 6) são métodos vibracionais complementares que exploram a interação da radiação eletromagnética com as ligações químicas para identificar a estrutura molecular. O princípio fundamental da técnica no infravermelho, como dito, baseia-se na absorção direta de fótons: quando a frequência da radiação incidente coincide com a frequência vibracional de uma ligação, ocorre a transferência de energia.

Em contraste, a espectroscopia Raman fundamenta-se no fenômeno do espalhamento inelástico da luz, conhecido como Efeito Raman. Ao contrário da absorção, aqui a molécula é excitada por radiação monocromática (geralmente um laser) que não precisa corresponder a uma frequência de ressonância específica. A interação distorce a nuvem eletrônica da molécula, e a luz é reemitida com frequência alterada. Esse processo exige que a vibração molecular provoque uma mudança na polarizabilidade da molécula,

ou seja, na facilidade com que seus elétrons podem ser deslocados por um campo elétrico externo.

A complementaridade entre as duas técnicas é regida por regras de seleção distintas, o que as torna ferramentas indispensáveis na caracterização química. Enquanto a técnica no infravermelho é altamente sensível a grupos funcionais polares e a vibrações assimétricas, o Raman destaca-se na detecção de ligações apolares e de estruturas simétricas, como cadeias de carbono e ligações entre átomos idênticos. Juntas, elas permitem mapear o "espectro vibracional" completo de uma substância, em que as bandas de absorbância ou de intensidade de espalhamento funcionam como uma impressão digital molecular única, revelando a força das ligações e a geometria da amostra.

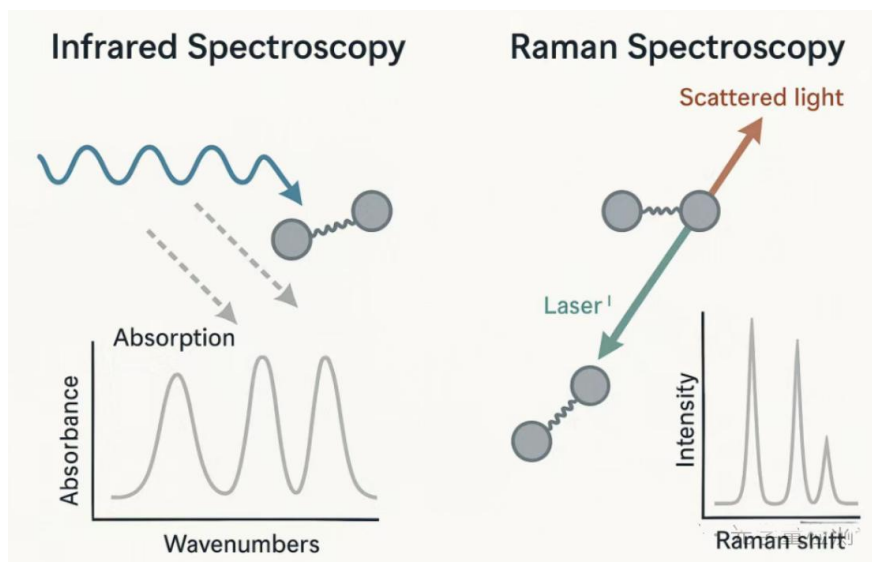


Figura 6: Comparação entre os critérios de atividade no infravermelho (variação do dipolo) e Raman (variação da polarizabilidade) para a obtenção de um espectro vibracional.

Fonte: <https://www.edinst.com/>; acesso em 16 de maio de 2026.

3.2.1 Tensor de Polarizabilidade Raman e Espalhamento Inelástico de Fótons

O princípio físico central é a indução de um momento de dipolo elétrico instantâneo (P) na nuvem eletrônica da molécula pela incidência de um campo elétrico oscilante (E), como demonstrado na equação 5:

$$P = \alpha E \quad (5)$$

onde α representa o tensor de polarizabilidade.

Uma vibração é considerada ativa no Raman quando ocorre variação da polarizabilidade durante o movimento vibracional, equação 6, ou seja:

$$\frac{\partial \alpha}{\partial Q} \neq 0 \quad (6)$$

O espalhamento inelástico pode ocorrer em dois regimes principais:

- I. Stokes, no qual o fóton incidente perde energia para a molécula;
- II. Anti-Stokes, no qual o fóton ganha energia da molécula.

A Figura 7 ilustra os processos de interação entre a radiação eletromagnética e os níveis de energia molecular, diferenciando o espalhamento elástico do inelástico. No espalhamento Rayleigh, o fóton incidente do laser colide com a molécula e é reemitido com a mesma energia e o mesmo comprimento de onda, indicando que não houve troca líquida de energia com os modos vibracionais (Figura 7A). Teoricamente, como mostrado no diagrama de níveis de energia, isso ocorre quando a molécula é excitada para um estado de energia virtual e retorna exatamente ao mesmo nível vibracional de origem, preservando a energia do fóton.

O efeito Raman manifesta-se por meio do espalhamento inelástico, subdividido em Stokes e anti-Stokes, no qual ocorre uma troca efetiva de energia entre o fóton e a molécula. No espalhamento Stokes, o fóton cede parte de sua energia à molécula, resultando em um fóton espalhado com menor energia e, consequentemente, maior comprimento de onda, deixando a molécula em um estado vibracional excitado. Já no espalhamento anti-Stokes, o fóton colide com uma molécula previamente em estado excitado e "retira" dela essa energia vibracional, sendo reemitido com maior energia e menor comprimento de onda.

O diagrama de níveis de energia (Figura 7B) contextualiza esses fenômenos em relação à absorção de infravermelho, que envolve transições diretas e ressonantes entre níveis vibracionais. Enquanto a absorção no infravermelho exige que a energia do fóton seja igual à diferença entre os níveis, o espalhamento Raman utiliza estados virtuais como intermediários, permitindo o uso de lasers de alta energia (como os do visível ou do UV). É importante notar que o espalhamento anti-Stokes é intrinsecamente menos intenso que o espalhamento Stokes, pois sua ocorrência depende da população de moléculas que já

ocupam estados excitados, a qual é estatisticamente menor em equilíbrio térmico, de acordo com a distribuição de Boltzmann.

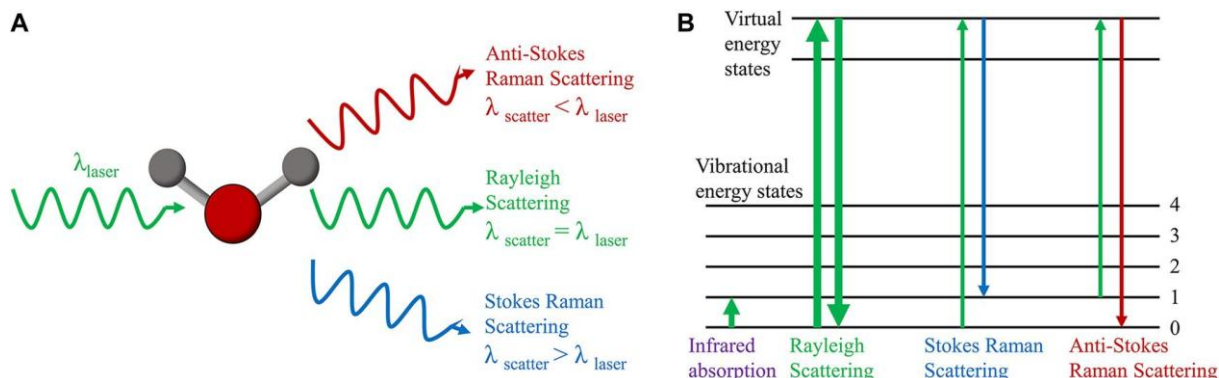


Figura 7:(A) Ilustração molecular comparativa entre o espalhamento elástico (Rayleigh) e o espalhamento inelástico (Raman Stokes e anti-Stokes), destacando a relação entre os comprimentos de onda incidente e espalhado; (B) Diagrama de níveis de energia correlacionando a absorção de infravermelho com os mecanismos de espalhamento, evidenciando as transições eletrônico-vibacionais por meio de estados virtuais e a conservação de energia nos processos Stokes e anti-Stokes.

Fonte: Adaptado de Smith e Jones (2020).

3.2.2 Espectroscopia Raman com Transformada de Fourier (FT-Raman)

Neste estudo, o uso de um sistema FT-Raman é essencial para contornar o problema da fluorescência, fenômeno comum em biopolímeros extraídos de fontes naturais como o líquen *Usnea sp.* (LARKIN, 2017).

A espectroscopia Raman por Transformada de Fourier (FT-Raman) é uma técnica avançada que utiliza um interferômetro de Michelson, em vez de um monocromador convencional, para processar o sinal luminoso (Figura 8). O princípio teórico fundamental baseia-se na modulação da luz espalhada pela amostra por meio do movimento de um espelho, gerando um interferograma que é posteriormente convertido em um espectro de frequências por meio da transformada de Fourier. Esta configuração permite o uso de lasers de excitação no infravermelho próximo (como o Nd:YAG a 1064 nm), o que reduz drasticamente a interferência da fluorescência, um problema comum em amostras biológicas ou orgânicas analisadas por Raman convencional. Além disso, a técnica beneficia-se das vantagens de multiplex (Fellgett) e de *throughput* (Jacquinot), resultando em uma relação sinal-ruído maior e em maior precisão na calibração do número de onda.

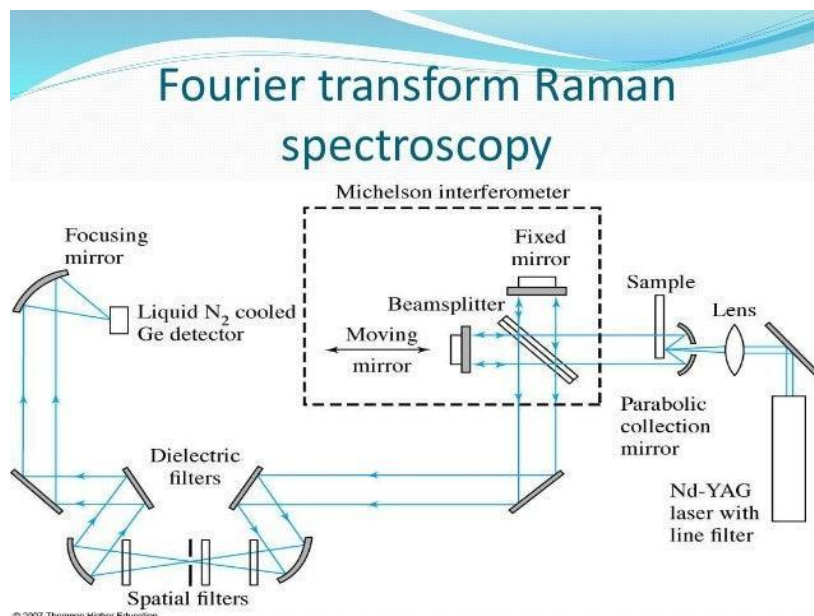


Figura 8: Diagrama esquemático dos componentes ópticos de um espectrômetro Raman por transformada de Fourier, destacando o uso de um laser Nd:YAG como fonte de excitação, o interferômetro de Michelson para modulação do sinal e o detector de germânio resfriado a nitrogênio líquido, evidenciando o caminho óptico desde a amostra até o processamento final do sinal.

Fonte: Skoog, Holler e Crouch (2007).

A Figura 9 ilustra a aplicação da espectroscopia Raman no monitoramento *in situ* de reações químicas, especificamente a fotopolimerização. O princípio teórico baseia-se na proporcionalidade entre a intensidade de uma banda Raman e a concentração da espécie química correspondente. Durante a irradiação UV, os monômeros são convertidos em polímeros por meio do consumo de ligações duplas (geralmente C=C), o que provoca uma diminuição progressiva da intensidade dos picos característicos dessas ligações no espectro.

Ao normalizar a área desses picos em relação a uma banda interna de referência (que não varia durante a reação), é possível calcular o grau de conversão ou a extensão da cura. Esse método é fundamental para determinar a cinética da reação, otimizar os tempos de exposição e garantir as propriedades mecânicas finais do material polimerizado.

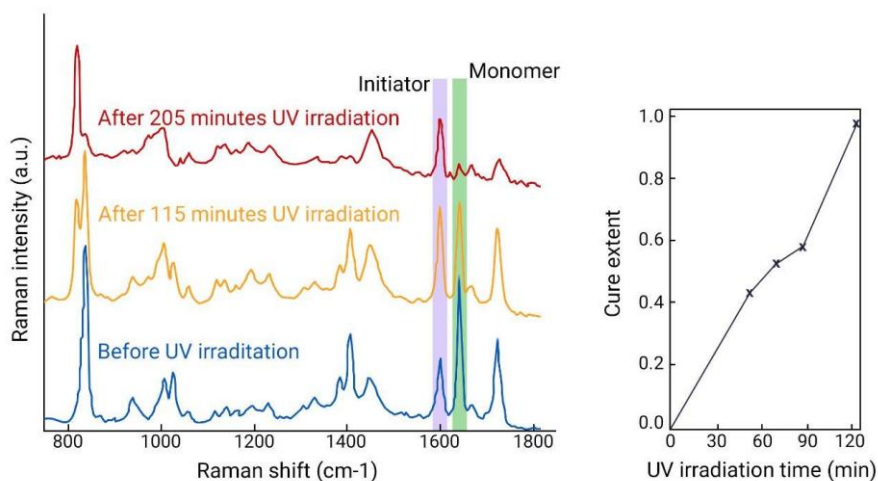


Figura 9: Monitoramento cinético da fotopolimerização por espectroscopia Raman. À esquerda, os espectros mostram a variação da intensidade das bandas vibracionais do iniciador (barra roxa) e do monômero (barra verde) em diferentes tempos de irradiação por UV. À direita, a curva de *cure extent* (grau de cura) correlaciona o consumo dos grupos funcionais reativos ao tempo de exposição, permitindo quantificar a eficiência da reação de polimerização.

Fonte: Adaptado de HORIBA Scientific.

3.3 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) é uma técnica amplamente utilizada para a caracterização morfológica de materiais, permitindo correlacionar a estrutura obtida por meio de rotas de síntese com aspectos topográficos e microestruturais das amostras (GOLDSTEIN et al., 2018).

A microscopia eletrônica de varredura baseia-se na interação entre um feixe de elétrons de alta energia e a superfície de uma amostra sólida, gerando imagens de alta resolução e informações composicionais (Figura 10). O princípio teórico fundamental envolve a emissão de elétrons que, ao serem acelerados e focalizados em um feixe extremamente fino, varrem a superfície da amostra ponto a ponto. Essa interação gera diversos sinais: os elétrons secundários fornecem informações detalhadas sobre a topografia e a morfologia superficial; os elétrons retroespalhados são sensíveis ao número atômico, permitindo distinguir variações na composição química; e a emissão de raios X característicos possibilita a análise química elementar por EDS (Espectroscopia de Energia Dispersiva). Todo o processo ocorre em uma câmara de vácuo para evitar o

espalhamento dos elétrons pelas moléculas de ar, garantindo a integridade e a precisão do feixe.

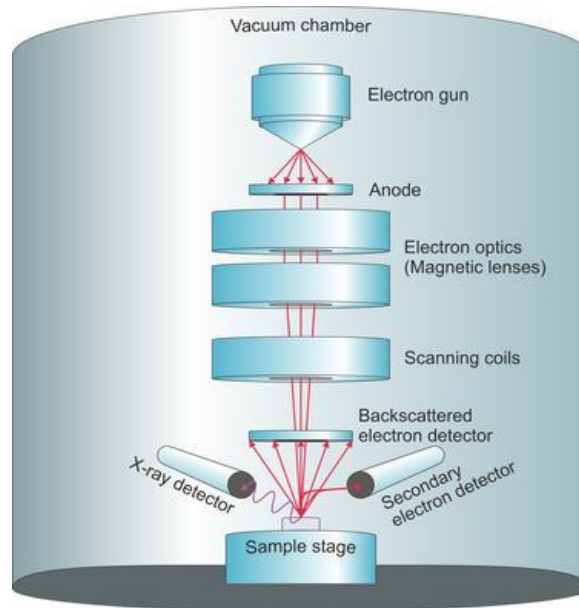


Figura 10: Esquema de funcionamento de um microscópio eletrônico de varredura (MEV). O esquema detalha a geração do feixe de elétrons pelo canhão de elétrons, sua colimação e foco por meio de lentes eletromagnéticas e bobinas de varredura, e a detecção de diferentes sinais resultantes da interação entre o feixe e a amostra, incluindo elétrons secundários, elétrons retroespalhados e raios X característicos.

Fonte: Adaptado de Science Learning Hub (2025)

3.3.1 Dualidade Onda-Partícula e Resolução

A resolução de um sistema óptico é limitada pelo comprimento de onda da radiação utilizada (REIMER, 1998). No MEV, elétrons são acelerados por potenciais elétricos v , adquirindo um comprimento de onda de de Broglie (λ) extremamente reduzido, calculado pela expressão relativística a seguir (CALLISTER JR.; RETHWISCH, 2016):

$$\lambda = h / \sqrt{2m_e eV(1 + eV/2m_e c^2)} \quad (7)$$

A equação 7 descreve o comprimento de onda de de Broglie relativístico de um elétron acelerado por um potencial elétrico. Em termos simples, ela explica que elétrons em alta velocidade se comportam como ondas e que, quanto maior a voltagem de aceleração, menor é o comprimento de onda. Na microscopia eletrônica, comprimentos

de onda menores permitem observar detalhes muito mais finos do que os observados com a luz visível.

O diferencial desta fórmula está no termo final, que incorpora uma correção relativística. Isso é necessário porque, em microscópios de alta performance, os elétrons atingem velocidades próximas às da luz, o que faz com que sua massa efetiva aumente. Sem essa correção, o cálculo do poder de resolução do microscópio seria incorreto.

A equação de de Broglie relativística é composta pelos seguintes parâmetros físicos:

- **λ (comprimento de onda de de Broglie):** Representa a natureza ondulatória do elétron. Quanto menor este valor, menor é o limite de difração e, consequentemente, maior é o poder de resolução do microscópio (REIMER, 1998).
- **h (constante de Planck):** $6,626 \times 10^{-34} \text{ J} \cdot \text{s}$. É a constante fundamental que relaciona a energia de um fóton à sua frequência e, no caso de partículas, o momento linear ao seu comprimento de onda.
- **m_e (massa de repouso do elétron):** $9,109 \times 10^{-31} \text{ kg}$. Representa a massa da partícula quando sua velocidade é desprezível em comparação à da luz.
- **e (carga elementar do elétron):** $1,602 \times 10^{-19} \text{ C}$.
- **V (potencial de aceleração):** Diferença de potencial (geralmente entre 1 e 30 kV) aplicada no canhão de elétrons para acelerar as partículas em direção à amostra.
- **c (velocidade da luz no vácuo):** $2,998 \times 10^8 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$.

O termo entre parênteses na equação 7, $\left(1 + \frac{eV}{2m_e c^2}\right)$, é o fator de correção relativística. Na engenharia de instrumentação e na caracterização de materiais, essa distinção é crucial tanto para o projeto óptico das lentes eletromagnéticas quanto para a calibração precisa do limite teórico de resolução do equipamento, por exemplo. Assim:

1. **Regime Clássico:** Em baixas voltagens, a energia cinética do elétron ($K = eV$) é muito menor que sua energia de repouso ($m_e c^2 \approx 511 \text{ keV}$). Nesse caso, o termo de correção aproxima-se de 1.
2. **Regime Relativístico:** À medida que o potencial de aceleração V aumenta, a velocidade do elétron torna-se uma fração significativa de c . Sem essa correção, o comprimento de onda calculado seria maior do que o real, o que levaria a erros

na estimativa do limite teórico de resolução do equipamento utilizado para analisar a rugosidade dos géis.

3. **Impacto na Resolução do MEV:** Fisicamente, a aceleração dos elétrons reduz seu comprimento de onda para a escala de picômetros (muito menor que os 400-700 nm da luz visível, como mostrado na Figura 11). Isso permite que o feixe seja focado em um *spot* extremamente estreito, gerando o volume de interação a partir do qual emergem os elétrons secundários (SE) e os retroespalhados (BSE). No caso das amostras de β -glucana, essa alta resolução permite identificar se a porosidade é superficial ou se estende pela macroarquitetura do gel.

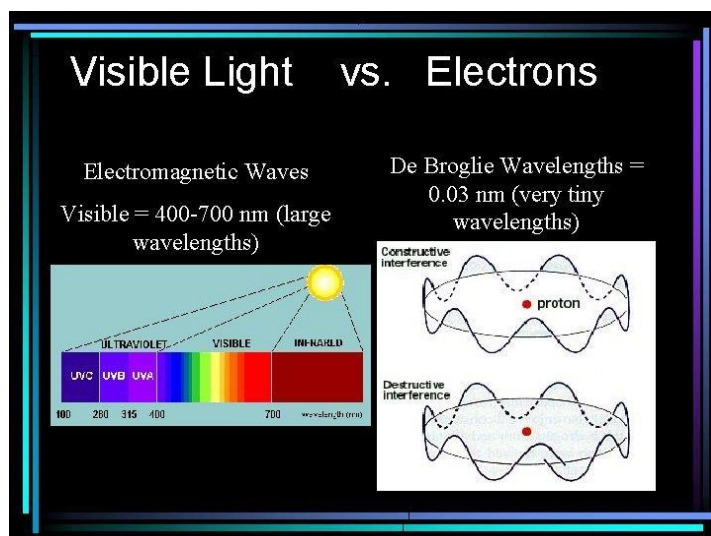


Figura 11: Comparação entre as propriedades ondulatórias da luz visível e as dos elétrons. À esquerda, o espectro eletromagnético destaca a faixa do visível com comprimentos de onda relativamente longos (400-700 nm). À direita, ilustra-se o comportamento ondulatório do elétron por meio do comprimento de onda de de Broglie, evidenciando a escala significativamente menor e os fenômenos de interferência construtiva e destrutiva.

Fonte: Adaptado de Reimer (1998).

3.3.2 Interação Elétron-Matéria e Geração de Sinais

Quando o feixe de elétrons incide sobre a amostra, forma-se um volume de interação no qual ocorrem processos de espalhamento elástico e inelástico (GOLDSTEIN et al., 2018). Como resultado dessas interações, diferentes tipos de sinais podem ser gerados, sendo os principais:

- **Elétrons Secundários (SE):** possuem baixa energia e são provenientes das camadas mais externas da amostra, sendo altamente sensíveis à topografia superficial;
- **Elétrons Retroespalhados (BSE):** resultam de colisões elásticas com o núcleo atômico, apresentando intensidade proporcional ao número atômico (Z^2), o que permite a obtenção de contraste composicional.

O conceito de volume de interação é fundamental para compreender a resolução e a profundidade de análise na microscopia eletrônica (Figura 12). Quando o feixe de elétrons atinge a amostra, ele não para na superfície, mas penetra e se espalha em uma região tridimensional cujo tamanho depende da energia do feixe e do número atômico do material. Teoricamente, cada sinal detectado provém de uma profundidade específica: os elétrons secundários e Auger possuem baixa energia e só conseguem escapar das camadas mais superficiais (nanômetros), o que proporciona alta resolução topográfica. Já os elétrons retroespalhados e os raios X emergem de regiões muito mais profundas e laterais (micrômetros), o que significa que a informação química obtida por esses sinais representa uma média de um volume maior da amostra, resultando em uma resolução espacial inerentemente menor do que a das imagens de elétrons secundários (GOLDSTEIN et al., 2018).

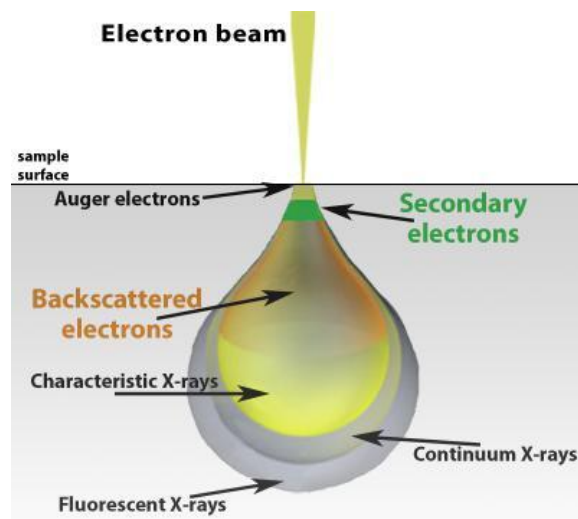


Figura 12: Representação do volume de interação e da profundidade de escape dos sinais gerados pelo feixe de elétrons em uma amostra sólida. O diagrama em formato de "pera" ilustra as diferentes regiões de onde emergem os sinais: elétrons Auger e secundários (superfície), elétrons retroespalhados (região intermediária) e raios X

característicos, contínuos e fluorescentes (regiões mais profundas), evidenciando como a resolução espacial e a profundidade de análise variam conforme o tipo de detector.

Fonte: Adaptado de Goldstein et al. (2018).

Com base nesses conceitos teóricos, a técnica MEV permite a análise detalhada da morfologia superficial e da heterogeneidade estrutural de materiais poliméricos. Em sistemas como redes poliméricas e biopolímeros, essa técnica é particularmente relevante para a identificação de características como rugosidade, porosidade e organização estrutural.

De forma geral, a análise morfológica obtida por MEV pode fornecer indícios importantes sobre a arquitetura interna e possíveis implicações no comportamento físico-químico dos materiais, sendo frequentemente utilizada como ferramenta complementar às técnicas espectroscópicas.

3.4. Espectrofotometria de Absorção no Ultravioleta-Visível (UV-Vis)

3.4.1 Princípios Físicos da Interação Radiação-Matéria

A espectrofotometria de absorção na região do ultravioleta e do visível (UV-Vis) baseia-se na interação entre a radiação eletromagnética e os elétrons de valência de átomos, moléculas ou íons. O intervalo espectral abrangido por essa técnica estende-se de aproximadamente 200 nm a 400 nm na região do ultravioleta próximo e de 400 nm a 800 nm na região do visível (SKOOG et al., 2014).

Do ponto de vista quântico, a absorção de um fóton por uma espécie química ocorre quando a energia do fóton incidente (E) coincide exatamente com a diferença de energia entre o estado fundamental e um estado eletrônico excitado da molécula. Essa relação é governada pela equação de Planck (equação 8):

$$E = h\nu = \frac{hc}{\lambda} \quad (8)$$

onde h representa a constante de Planck ($6,626 \times 10^{-34} \text{ J}\cdot\text{s}$), ν é a frequência da radiação (s^{-1}), c denota a velocidade da luz no vácuo ($\sim 3,00 \times 10^8 \text{ m/s}$) e λ corresponde ao comprimento de onda da radiação (m).

Nas moléculas orgânicas e nos complexos iônicos, os elétrons envolvidos nas transições ocupam orbitais moleculares ligantes (σ , π) ou não-ligantes (n). Ao absorverem energia radiante suficiente, esses elétrons são promovidos para orbitais antiligantes (σ^* , π^*). As transições energeticamente favoráveis na região do UV-Vis tipicamente envolvem transições do tipo $\pi \rightarrow \pi^*$ e $n \rightarrow \pi^*$, que requerem menor quantidade de energia em comparação às transições $\sigma \rightarrow \sigma^*$, que ocorrem preferencialmente no ultravioleta de vácuo ($\lambda < 200$ nm) (PAVIA et al., 2015).

3.4.2 A Lei de Beer-Lambert

A radiação absorvida por um meio homogêneo é descrita matematicamente pela Lei de Beer-Lambert. Quando um feixe de luz monocromática de intensidade inicial I_0 atravessa um meio contendo uma espécie absorvente de espessura b (caminho óptico) e concentração c , a intensidade da radiação transmitida I decresce exponencialmente em função do número de partículas absorvedoras.

Dessa relação, define-se a transmitância (T) como a fração da radiação incidente que atravessa a amostra, expressa por:

$$T = \frac{I}{I_0} \quad (9)$$

A absorbância (A), por sua vez, é definida pela equação 10 como o logaritmo negativo, na base 10, da transmitância, estabelecendo uma relação linear direta com a concentração do analito:

$$A = -\log_{10}(T) = \log_{10}(I_0/I) \quad (10)$$

A expressão matemática formal e unificada da Lei de Beer-Lambert é dada por:

$$A = \varepsilon \cdot b \cdot c \quad (11)$$

Onde A é a absorbância (adimensional), ε representa a absorvidade molar ($\text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$), uma propriedade intrínseca da espécie química que varia em função do

comprimento de onda, do solvente e da temperatura, b é o caminho óptico percorrido pela luz na amostra (cm) e c é a concentração molar da espécie absorvente ($\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$).

3.4.3. Instrumentação Analítica

O arranjo instrumental de um espectrofotômetro de duplo feixe convencional opera de modo a isolar comprimentos de onda específicos e a medir a atenuação da luz após a interação com a amostra. O sistema é constituído pelos seguintes componentes essenciais, os quais serão representados pelo diagrama da Figura 13:

1. **Fontes de Radiação:** Utilizam-se uma lâmpada de deutério para emissão contínua na região do ultravioleta (190 nm - 350 nm) e uma lâmpada de filamento de tungstênio para a região do visível (350 nm - 1100 nm).
2. **Monocromador:** Dispositivo mecânico-óptico composto por fendas de entrada/saída, espelhos colimadores e um elemento de dispersão (rede de difração). Sua função é decompor a luz policromática da fonte e seleccionar um feixe com largura de banda espectral estreita (monocromática).
3. **Compartimento de Amostras:** Local onde são posicionadas as cubetas. Para análises na região do UV, exige-se o uso de cubetas de quartzo, uma vez que o vidro convencional e o policarbonato absorvem fortemente comprimentos de onda inferiores a 350 nm.
4. **Detector:** Transdutores (como tubos fotomultiplicadores ou arranjos de fotodiodos de silício) que convertem a energia dos fótons transmitidos em um sinal elétrico proporcional à intensidade da luz (I).

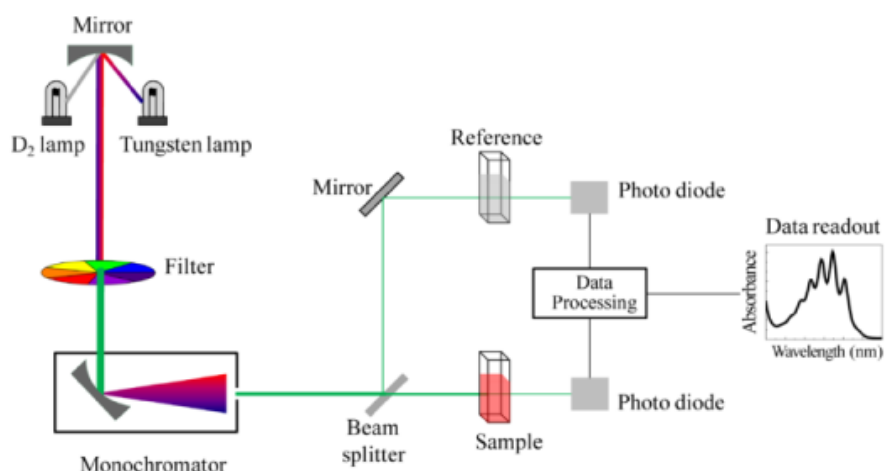


Figura 13: Diagrama esquemático do caminho óptico estrutural de um espectrofotômetro de duplo feixe.

Fonte: Adaptado de SKOOG, D. A.; WEST, D. M.; HOLLER, F. J. Fundamentos de Química Analítica. 9. ed. São Paulo: Cengage Learning, 2014.

3.4.4. Aplicação no Monitoramento de Crescimento de Algas

Em matrizes complexas, como géis sintetizados a partir de líquidos iônicos, a espectrofotometria UV-Vis atua como ferramenta de monitoramento indireto da biomassa por meio do fenômeno de espalhamento de luz (turbidimetria) e da absorção molecular direta dos pigmentos fotossintéticos.

O crescimento populacional de microalgas em suspensão ou dispersas em matrizes poliméricas altera as propriedades ópticas do meio. O monitoramento é realizado sob dois princípios:

- **Densidade Óptica (DO) por Espalhamento de Luz:** Ao incidir radiação em comprimentos de onda fora da banda de absorção principal dos pigmentos celulares (tipicamente em 600 nm ou 750 nm), a redução da intensidade da luz transmitida (I) não decorre de absorção eletrônica pura, mas sim do espalhamento físico dos fótons (efeito Tyndall) provocado pelas paredes celulares e pelas estruturas das algas em suspensão (MYERS et al., 2013). A atenuação medida, registrada instrumentalmente como "absorbância", é proporcional à densidade celular no meio.
- **Absorção por clorofila:** Microalgas possuem pigmentos fotossintéticos ativos, predominantemente a clorofila-*a*, que apresentam picos máximos de absorção característicos nas regiões do azul (~430 nm) e do vermelho (~660 - 680 nm) (GREENBERG et al., 2017). O surgimento e a elevação de picos de absorbância nessas bandas espectrais específicas confirmam qualitativamente a proliferação celular no interior dos géis de líquidos iônicos, permitindo avaliar a biocompatibilidade ou a atividade antialgal do biomaterial desenvolvido.

4. Metodologia

A metodologia deste projeto pode ser descrita, em etapas, da forma como segue:

- i. Extração do polímero β -glucana;
- ii. Reação de cationização da β -glucana;
- iii. Construção de géis iônicos de pLIs;
- iv. Construção de redes semi-interpenetradas dos polímeros e pLIs;
- v. Caracterização dos materiais obtidos;

- vi. Avaliação da atividade antimicrobiana;
- vii. Avaliação da adesão de microalgas aos materiais obtidos.
- i. Extração do polímero β -glucana

Primeiramente, foi realizada a extração do polímero da biomassa liquênica de *Usnea* sp., coletada no Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais, Brasil (21°42'36,8"S, 43°53'44,7"W, 1346 m). A metodologia de extração, purificação e caracterização química faz parte do projeto de pós-doutorado da Dra. Rafaella F. Fernandes, coorientadora deste projeto.

- ii. Reação de cationização da β -glucana:

Com o polímero de interesse extraído, purificado e corretamente caracterizado, grupos de amônio quaternário carregados positivamente foram introduzidos por meio da reação com GTMAC (cloreto de glicidiltrimetilamônio) em meio alcalino, modificando o procedimento proposto por Zaman *et al.* (2012). Resumidamente, 500 mg de β -glucana foram solubilizadas, à quente, em 15 mL de NaOH 1 mol/ L. Em seguida, estabelecida a proporção molar entre glicose e GTMAC de 1:5, a reação foi aquecida até 65 °C em banho de ultrassom por 4 h. Ao final desta, foram feitas sucessivas centrifugações e lavagens com soluções de etanol e HCl 0,02 M. O produto obtido foi dialisado contra água Milli- Q até o teste com solução de AgNO₃ ser negativo.

- iii. Construção de géis iônicos

A Figura 14 apresenta a primeira etapa a ser desenvolvida neste projeto. Esta consiste na obtenção de líquidos iônicos poliméricos por meio de reações de polimerização. Assim, os líquidos iônicos polimerizáveis (1) e o agente reticulante (2), N,N'-metilenobiscacrilamida (MBA), foram reagidos em condições otimizadas, a fim de obter um gel iônico.

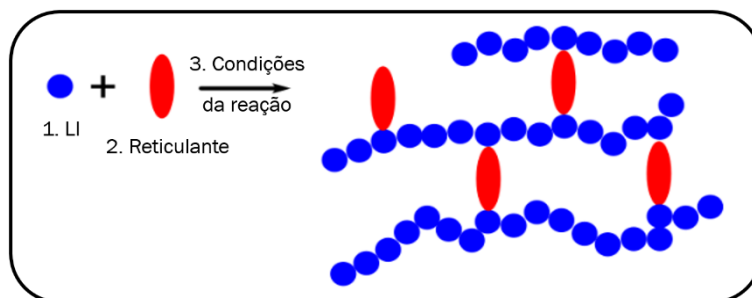


Figura 14: Esquema representativo da síntese de um polímero reticulado. O diagrama detalha a reação entre o monômero de líquido iônico (1) e o agente reticulante

(2) sob condições específicas, resultando na formação de uma rede tridimensional estável. As esferas azuis representam as unidades repetitivas da cadeia polimérica, enquanto as elipses vermelhas indicam as pontes de reticulação que conectam as cadeias adjacentes.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

Em suma, a reação de polimerização dos LIs ocorre com a ação de um iniciador (ACVA) a 70 °C e pela escolha do reticulante MBA. A reação ocorre em atmosfera livre de O₂, por meio de saturação com argônio no meio reacional. A Figura 15 ilustra o princípio de copolimerização esperado para a polimerização do líquido iônico – neste exemplo, o brometo de 1-butil-3-vinylimidazólio.

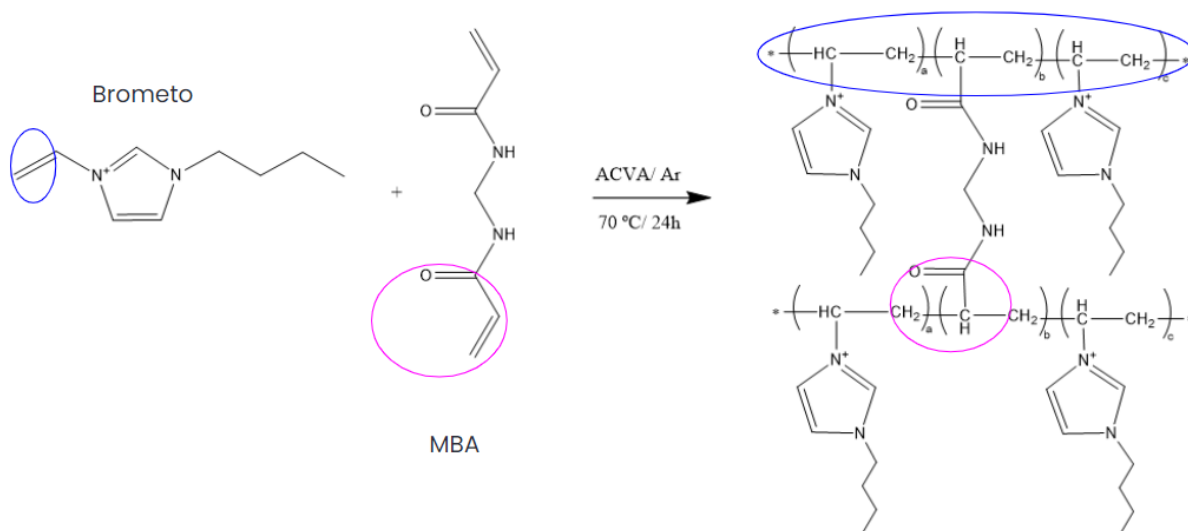


Figura 15: Rota sintética para a obtenção de um poli(líquido iônico) reticulado. A reação ocorre entre o monômero 1-vinil-3-butilimidazólio e o agente reticulante MBA, na presença do iniciador ACVA. Os destaques em azul e rosa indicam, respectivamente, os grupos vinílicos reativos nos precursores e a sua incorporação na estrutura da rede polimérica final, evidenciando a formação das cadeias principais e das pontes de reticulação.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

iv. Construção das redes semi-interpenetradas

A formação das redes interpenetradas ocorre por meio da polimerização dos LIs, cuja síntese foi descrita anteriormente, porém acrescida da etapa de compatibilização do biopolímero na microarquitetura. Em suma, o biopolímero é solubilizado a quente no

próprio líquido iônico e, posteriormente, realiza-se a reação de polimerização com a adição de ACVA e MBA a 70 °C, sob atmosfera inerte.

Foram produzidos três géis iônicos, a saber: 1) copolímero de líquido iônico, cujo monômero é 1-vinil-3-butilimidazólio; 2) rede semi-interpenetrada de “1” com β -glucana; e 3) rede semi-interpenetrada de “1” com β -glucana cationizada quimicamente.

v. Caracterização dos géis formados:

Os espectros ATR-FTIR (64 varreduras, resolução espectral de 4 cm^{-1}) foram obtidos em um equipamento Bruker Vertex 70 acoplado a um acessório ATR.

Os espectros FT-Raman (1024 varreduras, resolução espectral de 4 cm^{-1}) foram obtidos em um espectrômetro Bruker MultiRAM, operando com um laser $\text{Nd}^{3+}/\text{YAG}$ (20 mW) e equipado com um detector de Ge resfriado a nitrogênio líquido.

As imagens MEV foram obtidas com um Microscópio Eletrônico de Varredura do modelo Philips FEG XL30, a 10,0 kV e com distância de trabalho na faixa de 8,8–10,5 mm; a ampliação variou de $\times 1000$ a $\times 10000$. As amostras foram recobertas com Au para eliminar os efeitos eletrostáticos adversos.

vi. Avaliação da atividade antimicrobiana:

As linhagens bacterianas foram obtidas de uma coleção de culturas padrão (ATCC – *American Type Culture Collection*). A bactéria empregada como modelo foi *S. aureus* ATCC 25923. A linhagem foi mantida em caldo triptona de soja (TSB) com adição de 6 g L^{-1} de extrato de levedura e 30% de glicerol e armazenada em freezer a -80 °C. Os ensaios de atividade antimicrobiana foram realizados a partir das culturas-estoque armazenadas a -80 °C.

Previamente à utilização nos ensaios, a linhagem de *S. aureus* foi semeada em placas de ágar triptona de soja (TSA) com a adição de 6 g L^{-1} de extrato de levedura e incubada por 24 h a 37 °C. Para a determinação da atividade antimicrobiana, foram preparadas suspensões em solução salina esterilizada a 0,86%, utilizando como padrão a escala 0,5 de McFarland, que corresponde a aproximadamente $1,5 \times 10^8$ UFC mL^{-1} (Unidade Formadora de Colônias por mL) (CLSI, 2018).

Foram realizadas 3 metodologias para a avaliação da atividade antimicrobiana:

1ª) Metodologia descrita por Zheng et al. (2018);

2^a) Determinação da atividade antimicrobiana através da técnica de disco de difusão (CLSI, 2018);

3^a) Determinação da atividade antimicrobiana através da técnica de curva de sobrevivência;

vii. Géis iônicos como suporte de imobilização de microalgas

Para a avaliação dos géis iônicos como matrizes de suporte destinadas à imobilização de microalgas, o procedimento experimental compreendeu as etapas de cultivo/imobilização e a posterior extração e quantificação dos pigmentos fotossintéticos. As etapas para esta avaliação podem ser divididas como segue:

- Cultivo e Imobilização das Microalgas

Inicialmente, os géis foram seccionados em formatos e diâmetros padronizados de modo a garantir a reprodutibilidade das unidades experimentais. Em cada aquário, adicionou-se uma alíquota de aproximadamente 150 mL de água contendo microalgas, e o volume final do sistema foi ajustado para 300 mL. Para o aporte nutricional e a indução do crescimento celular, adicionou-se 1 mL de meio de cultura Guillard's F/2 a cada sistema. Os aquários foram mantidos em ambiente com temperatura estabilizada 25 °C e sob regime de iluminação constante.

- Extração e Quantificação de Clorofila

A quantificação da biomassa algal associada aos suportes foi realizada por meio de protocolo de extração com solvente orgânico, baseado na metodologia descrita por Rowan (1989). Os géis foram coletados e transferidos, individualmente, para tubos de ensaio contendo 3 mL de etanol a 99%. A lise celular e a consequente liberação dos pigmentos, especialmente clorofila, foram promovidas pela submissão do sistema à agitação em vórtex e ao banho de sonicação por 5 minutos, seguidos por tratamento térmico em banho-maria a 65 °C durante 15 minutos.

O extrato líquido resultante foi transferido para uma cubeta de quartzo para a realização das leituras espectrofotométricas em um espectrofotômetro Edinburgh Instruments, modelo FS5. Para a determinação analítica das concentrações de clorofila *a*

(C_a) e clorofila *b* (C_b), expressas em mg L⁻¹, utilizaram-se as equações (12) e (13) (Rowan, 1989):

$$C_a = 13.7 \cdot (A_{665}) - 5.7 \cdot A_{649} \quad (12)$$

$$C_b = 25.8 \cdot (A_{665}) - 7.6 \cdot A_{649} \quad (13)$$

A concentração de clorofila total foi determinada pela soma das concentrações de clorofila *a* e *b*. A determinação da massa total de clorofila retida no substrato polimérico foi realizada pelo produto da concentração total final (em mg L⁻¹) pelo volume de solvente extrator empregado no ensaio.

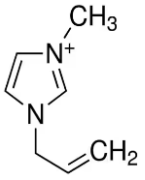
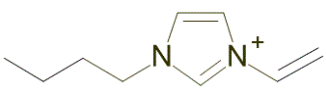
Esta metodologia foi empregada utilizando espaçamento de 1 semana para observar um possível crescimento das microalgas nos géis, logo, o período de teste foi feito em 3 tomadas de tempo de crescimento: 7 dias, 14 dias e 21 dias.

5. Discussão de Resultados

A discussão dos experimentos deste projeto dar-se-á na mesma ordem de descrição da seção metodológica.

Inicialmente, os LIs descritos na tabela 1 foram o foco deste estudo, com o objetivo de otimizar as condições reacionais de polimerização.

Tabela 1: Descrição química dos líquidos iônicos inicialmente estudados.

Líquido iônico		Estado-físico	MM (g/mol)
Cátion	Ânion		
1-alil-3-metilimidazólio 	Iodeto, I ⁻	Sólido	205,08
	Dicianoamida, N(CN) ₂	Líquido	189,22
	bis(trifluorometilsulfonil)imida, [NTF ₂]	Líquido	419,36
1-butil-3-vinylimidazólio 	Brometo, Br ⁻	Sólido	219,12

Assim, buscou-se na literatura científica as adequações para o sucesso das reações de polimerização – basicamente concentradas nos seguintes fatores: i) solventes empregados, ii) tempo e temperatura de reação, iii) reatividade dos monômeros, iv) proporções (em massa) de reticulante, iniciador, monômero e solvente.

A Tabela 2 a seguir exibe as tentativas realizadas envolvendo os parâmetros citados acima e, para facilitar o entendimento, os LIs utilizados são apresentados de acordo com o respectivo ânion.

Tabela 2: Experimentos para otimização da metodologia.

	LI	Reticulante	Iniciador	Solvente	
Tentativas	MBA	ACVA	DMF	Água	
1	0,25g N(CN) ₂	0,0025g 1% (m/m)	0,005g 2% (m/m)	6 mL	X
2	0,25g N(CN) ₂	0,0025g 1% (m/m)	0,005g 2% (m/m)	3 mL	X
3	0,25g N(CN) ₂	0,005g 2% (m/m)	0,005g 2% (m/m)	1 mL	X
4	0,25g N(CN)₂	0,005g 2% (m/m)	0,0025g 1% (m/m)	X	0,75mL (3:1)
5	0,25g [NTF ₂]	0,005g 2% (m/m)	0,0025g 1% (m/m)	0,75 mL	X
6	0,25g I ⁻	0,005g 2% (m/m)	0,0025g 1% (m/m)	X	0,5 mL (2:1)
7	0,25g Br⁻	0,005g 2% (m/m)	0,0025g 1% (m/m)	X	0,5 mL (2:1)

Após a realização de todos os testes descritos na Tabela 2, nota-se que o quarto e o sétimo experimento (Figura 16), destacados em negrito, indicam condições ótimas de polimerização; assim, foram mantidos para os demais testes descritos a seguir.



Figura 16: Imagens dos materiais poliméricos obtidos a partir de (A) brometo de 1-butil-3-vinylimidazólio e (B) 1-alil-3-metilimidazólio, com ânion dicianoamida.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

Após a obtenção das duas amostras descritas anteriormente, foram realizados novos testes para polimerização dos LIs com as concentrações variáveis de MBA, ACVA e volume de solvente (H_2O), como demonstrado na Tabela 3.

Tabela 3: Experimentos referentes após encontrar a polimerização do LI

	<i>LI</i>	<i>Reticulante</i>	<i>Iniciador</i>	<i>Solvente</i>
<i>Tentativas</i>		MBA	ACVA	Água
8	0,5g $N(CN)_2$	0,005g 1% (m/m)	0,010g 2% (m/m)	1 mL (2:1)
9	0,5g Br ⁻	0,005g 1% (m/m)	0,010g 2% (m/m)	1mL (2:1)
10	0,25g $N(CN)_2$	X	0,005g 2% (m/m)	0,5mL (2:1)
11	0,25 $N(CN)_2$	0,005g 2% (m/m)	0,0025g 1% (m/m)	0,5mL (2:1)
12	0,25g Br ⁻	0,005g 2% (m/m)	0,0025g 1% (m/m)	0,5mL (2:1)
13	0,15g Br ⁻	0,003g 2% (m/m)	0,0015g 1% (m/m)	0,3 mL (2:1)

Pela descrição dos dados da tabela acima, foi possível notar que as tentativas com o líquido iônico de dicianoamida ($N(CN)_2$) foram finalizadas sem sucesso. O fato da reação de polimerização não ter ocorrido como o esperado pode ser justificado pelo tamanho do ânion que, espacialmente, pode ter impedido a propagação da reação.

Foram feitas mais algumas tentativas buscando otimizar a produção do líquido iônico de ânion brometo e, no 13º experimento, confirmaram-se as condições ideais para a polimerização do líquido iônico de brometo de 1-alil-3-metilimidazólio, a seguir:

- Reticulante: 2%, em massa, em relação ao monômero;
- Iniciador: 1%, em massa, em relação ao monômero;
- Solvente: água (2:1), em relação ao monômero.

Após o sucesso na formação do polímero de líquido iônico, julgou-se propício o início dos testes de construção das semi-IPNs com a β -glucana e a β -glucana cationizada. A Tabela 4 resume os testes citados.

Tabela 4: Tentativa de construção de semi-IPNs com β -glucana e β -glucana cationizada

	LI	Reticulante	Iniciador	Solvente	Polímero	
Tentativa		MBA	ACVA	Água	β -glucana	β -glucana cationizada
14	0,25g	0,005g	0,010g	0,75 mL	0,0125g	x
	Br-	1% (m/m)	2% (m/m)	(3:1)	5% (m/m)	
15	0,25g	0,005g	0,010g	0,5 mL	x	0,0125g
	Br-	1% (m/m)	2% (m/m)	(2:1)		5% (m/m)

Com a metodologia para polimerização dos LIs já bem estabelecida, aplicou-se aos parâmetros já mencionados anteriormente para a construção das semi-IPNs. A rigor de detalhe, apenas procedeu-se à solubilização prévia dos biopolímeros nas quantidades fixas de água e LI, tendo como resultado a polimerização dada Figura 17 a seguir.

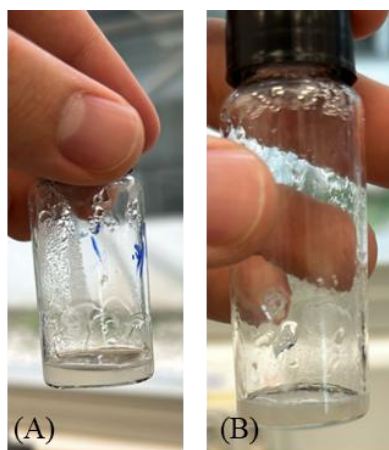


Figura 17: Imagens das semi-IPNs obtidas com o uso de (A) β -glucana, (B) β -glucana cationizada.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

A caracterização química dos géis obtidos realizou-se por meio da obtenção dos espectros de absorção no infravermelho (Figura 18). Para verificar o sucesso da polimerização utilizando o líquido iônico de brometo de 1-butil-3-vinylimidazólio, obtiveram-se os espectros das moléculas isoladas de MBA (em preto), do monômero do LI (em vermelho) e, por fim, do produto da polimerização (em azul).

A análise dos espectros vibracionais confirma a polimerização. A presença da banda referente ao modo vibracional $\nu(\text{C-C})$ em 3130 cm^{-1} pode indicar copolimerização e, em seguida, a banda em 1650 cm^{-1} pode ser atribuída ao modo $\nu(\text{C=O})$ da molécula de MBA. Por fim, o espectro do líquido iônico polimerizado apresentou bandas características relacionadas à vibração de estiramento C-N em 1159 cm^{-1} e a vibração da estrutura do anel de imidazólio em 1540 cm^{-1} , que são consistentes com o monômero.

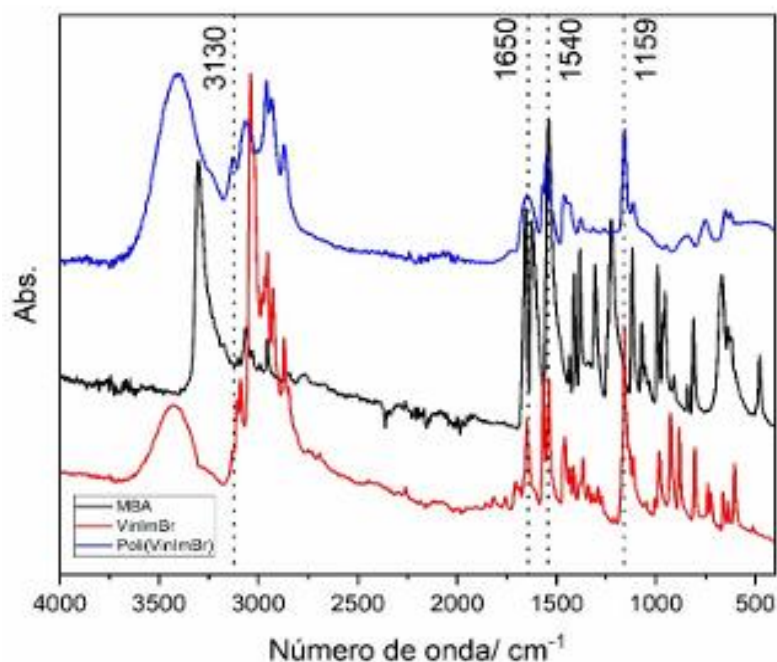


Figura 18: Espectros de absorção no infravermelho obtidos para o MBA (em preto), monômero do LI (em vermelho) e do polímero (em preto), na região espectral de 4000-500 cm^{-1} .

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

O espectro Raman (Figura 19) do polímero de líquido iônico evidencia uma informação importante para a sua caracterização – a ausência das bandas em 1630 e 1244 cm^{-1} , do monômero e do MBA em seu espectro. Enquanto a primeira pode ser atribuída ao $\nu(\text{C}=\text{C})$, a última deve-se ao $\delta(\text{CH}_2)$ do grupo vinílico. Dessa forma, tais ausências no espectro do polímero iônico corroboram para a copolimerização com o MBA pela quebra da ligação $\text{C}=\text{C}$ vinílica.

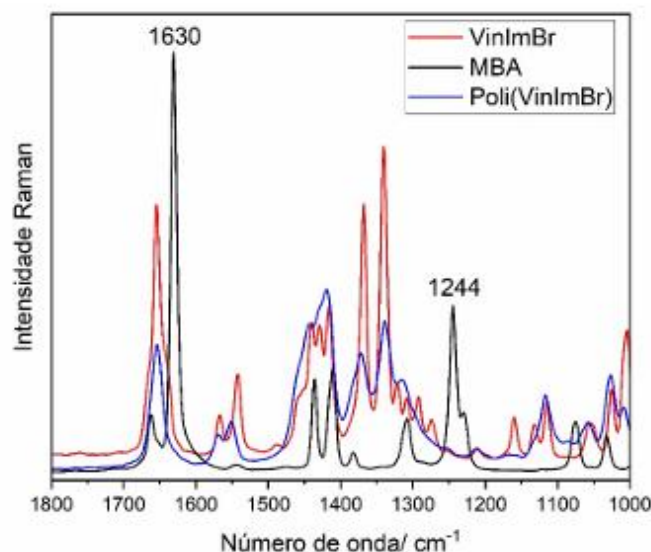


Figura 19: Espectros FT-Raman obtidos para o MBA (em preto), o monômero do LI (em vermelho) e o polímero (em preto), nas regiões espectrais de 1800-1000 cm^{-1} .

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

Após o sucesso da formação do polímero de líquido iônico, julgou-se propícia a construção das semi-IPNs com a β -glucana e β -glucana cationizada. Os géis obtidos foram caracterizados por espectroscopia de absorção no IR (Figura 20). Nos espectros, é possível avaliar as principais bandas características do polímero de líquido iônico, bem como as bandas dos polímeros de β -glucana ou de β -glucana cationizada.

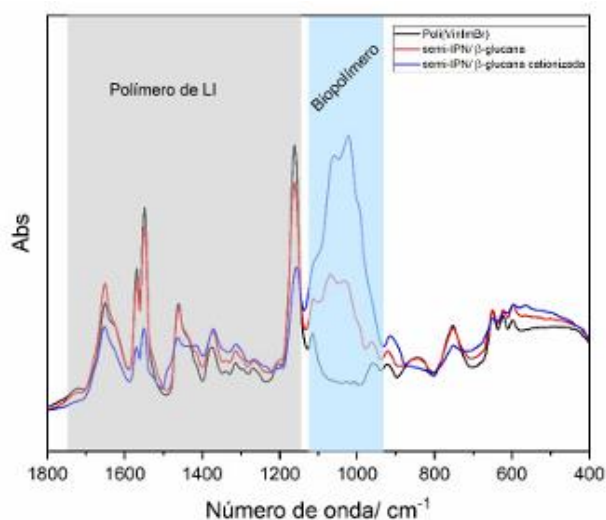


Figura 20: Espectros FT-IR obtidos para o polímero de líquido iônico (em preto), semi-IPN com β -glucana (em vermelho) e semi-IPN com β -glucana cationizada (em azul).

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

A morfologia das amostras foi analisada por imagens MEV (Figura 21), onde é possível avaliar a rugosidade dos géis de polímero iônico, demonstrando ter superfície pouco uniforme e uma porosidade superficial de destaque para a semi-IPN de β -glucana e β -glucana cationizada. Essas informações são relevantes para que aplicações tecnológicas sejam corretamente direcionadas a tais características, como mecanismos de adsorção, adesão e entrega controlada de moléculas de interesse biológico.

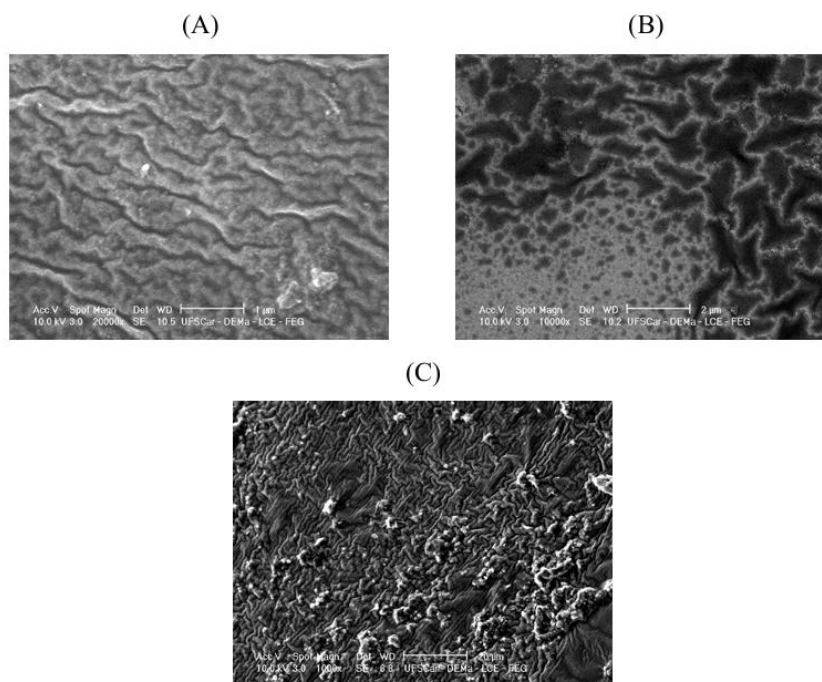


Figura 21: Micrografias eletrônicas de varredura obtidas para (A) polímero de líquido iônico, (B) semi-IPN líquido iônico/ β -glucana e (C) semi-IPN líquido iônico/ β -glucana cationizada.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

No decorrer do projeto, julgou-se apropriada a avaliação da atividade antimicrobiana das amostras obtidas. Baseando-se em metodologias já descritas na literatura (ZHENG, 2016; MUÑOZ-BONILLA, 2018), foram feitos testes microbiológicos em parceria com o Instituto de Química da USP (Campus São Carlos), no grupo da profa. Marcia Nitschke, com colaboração da Dra. Crisiane Marangon. Os testes foram realizados utilizando cepas de *Staphylococcus aureus*, cujas tentativas são detalhadas a seguir. Para melhor compreensão, os géis iônicos obtidos são nomeados como:

- Amostra 1: Polímero do LI (brometo de 1-butil 3-vinylimidazólio) – Amostra padrão;

- Amostra 2: Semi-IPN de polímero do LI (brometo de 1-butil 3-vinilimidazólio) + β -Glucana;
- Amostra 3: Semi-IPN de polímero do LI (brometo de 1-butil-3-vinilimidazólio) + β -Glucana cationizada.

Antes dos procedimentos de avaliação da atividade antimicrobiana dos materiais obtidos, adotam-se alguns cuidados prévios. O primeiro é a lavagem das amostras com água para eliminar monômeros residuais do LI ; a lavagem é feita até que o teste com solução diluída de AgNO_3 se torne negativo, evidenciando a não formação de AgBr , diretamente relacionada à ausência do íon brometo do LI. Em seguida, a autoclavagem das amostras por 20 min a 121 °C é necessária para esterilizá-las antes do teste pelos métodos descritos a seguir.

Tentativa I: Metodologia descrita por Zheng et al. (2018)

A metodologia inicialmente adotada para este ensaio apresentou divergências em relação ao protocolo descrito por Zheng. Seguindo o procedimento padrão, utilizou-se um inóculo composto por uma suspensão bacteriana em baixa concentração salina. Um volume de 100 μL dessa suspensão foi depositado sobre a superfície de membranas poliméricas, com dimensões aproximadas de $2,5 \times 2,5 \text{ cm}^2$, dispostas em placas de cultura.

As amostras foram incubadas a 37 °C por 4 horas. A disposição e a proporção do volume aplicado às amostras são ilustradas na Figura 22.



Figura 22: Demonstração da metodologia empregada na tentativa I tornando perceptível a dimensão da gota de 100 μL de inóculo de *S. aureus*.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

Decorrido o tempo de incubação, o protocolo previa a coleta de uma alíquota de 20 µL do material sobrejacente para a realização de diluições seriadas, utilizando a Amostra 1 como controle (padrão).

Contudo, observou-se uma limitação técnica nesta etapa do procedimento: determinadas amostras apresentaram elevada capacidade de absorção, o que impossibilitou a recuperação do volume residual de 20 µL necessário às diluições e à posterior contagem de unidades formadoras de colônias. Este fenômeno de absorção inviabilizou a coleta de dados. Conforme discutido anteriormente, foi possível coletar a alíquota de 20 µL das amostras 1 e 2. Os resultados obtidos não indicaram crescimento bacteriano em nenhuma das concentrações semeadas em placas de Petri contendo o inóculo de *S. aureus*.

Embora tais resultados sugiram, preliminarmente, uma elevada atividade antimicrobiana pelos materiais produzidos, a ausência de crescimento exigiu uma verificação mais rigorosa. Para confirmar se a inibição decorre efetivamente das propriedades das redes poliméricas semi-interpenetradas desenvolvidas, e não de possíveis interferências no processo de coleta ou de diluição, propôs-se uma segunda tentativa experimental com adequações na metodologia.

Tentativa II: Determinação da atividade antimicrobiana através da técnica de difusão em disco (CLSI,2018)

Com auxílio de um *swab*, uma alíquota do inóculo de *S. aureus* padronizado foi espalhada em placas de TSA e, então, as amostras hidratadas (esterilizadas previamente em autoclave) e, posteriormente, liofilizadas foram distribuídas sobre a superfície das placas com auxílio de pinça esterilizada. Foram utilizadas como controle positivo de crescimento placas de TSA contendo o inóculo bacteriano e, como controle negativo de esterilidade, placas contendo apenas as amostras. As placas foram incubadas por 18-24 h a 37 °C (Figura 23).

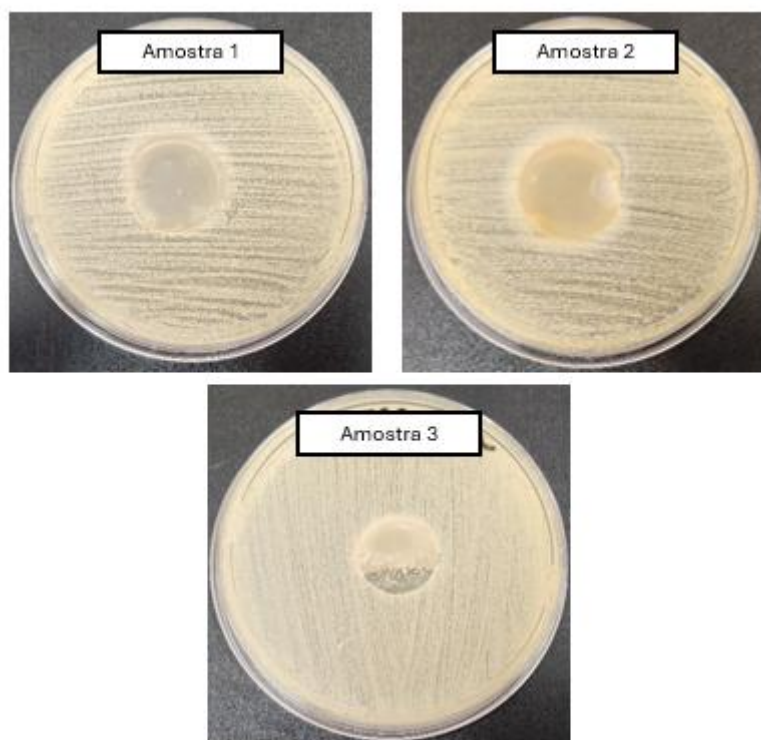


Figura 23: Resultado pós-incubação das amostras 1, 2 e 3 por 24 horas em meio de cultura, demonstrando estabilidade e integridade dos géis.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

Os resultados obtidos (Figura 23) demonstram que os géis iônicos de β -glucana apresentam indefinição quanto ao potencial antimicrobiano contra *S. aureus*, já que não são nitidamente observadas as formações de halos de inibição após 24 horas de incubação. Assim, a zona de inibição observada não permite conclusões definitivas sobre o mecanismo de ação envolvido, podendo estar associada a fatores como efeitos físicos da estrutura polimérica, alterações locais de pH ou anaerobiose. Portanto, é necessária uma alternativa adicional para confirmar e elucidar a atividade antimicrobiana específica destes materiais, detalhada a seguir.

Tentativa III: Determinação da atividade antimicrobiana através da técnica de curva de sobrevivência

Após a padronização do inóculo conforme descrito nos procedimentos prévios, uma alíquota de 0,3 mL foi adicionada a placas de 12 poços contendo as amostras hidratadas e 2,7 mL de TSB, de modo a obter uma concentração de aproximadamente $5,0 \times 10^5$ UFC mL⁻¹. Foram incluídos controles positivos (meio + bactéria) e negativos (somente meio de cultura). Os tratamentos foram incubados a 37 °C. Nos intervalos de

tempo selecionados (0, 4 e 24 h), uma alíquota de 0,1 mL de cada tratamento foi retirada e adicionada a 0,9 mL de NaCl a 0,86% para a realização de diluições seriadas. Para determinar o número de células viáveis, foram feitas gotas de 15 μL de cada diluição foram semeadas em TSA e incubadas a 37 °C por 24 h para determinação do número de UFC mL^{-1} (MILES; MISRA; IRWIN, 1938)).

Análise da quantidade de colônias, separadas em concentrações distintas, desenvolvidas nos seguintes tempos, 0, 4 horas e para 24 horas, podem ser visualizados nas Figuras 24, 25 e 26, abaixo.

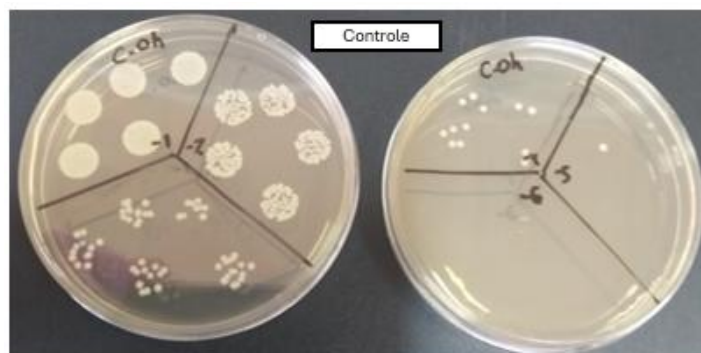


Figura 24: Controle inicial ($t = 0$) da curva de sobrevivência de *S. aureus*, evidenciando a carga bacteriana basal antes da exposição aos géis iônicos.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

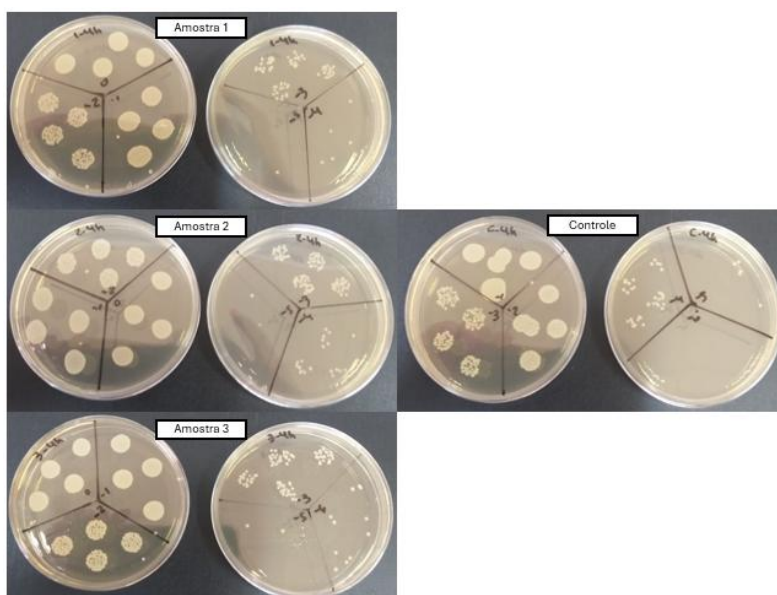


Figura 25: Ensaio de atividade antimicrobiana após 4 horas de incubação ($t = 4$ h): placas contendo diluições seriadas de *S. aureus* expostas aos géis iônicos (Amostra 1 - poli(LI); Amostra 2 - semi-IPN β -glucana/poli(LI); Amostra 3 - semi-IPN β -glucana

cationizada/poli(LI)) e controle sem géis, evidenciando as diferenças de crescimento bacteriano entre os tratamentos.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

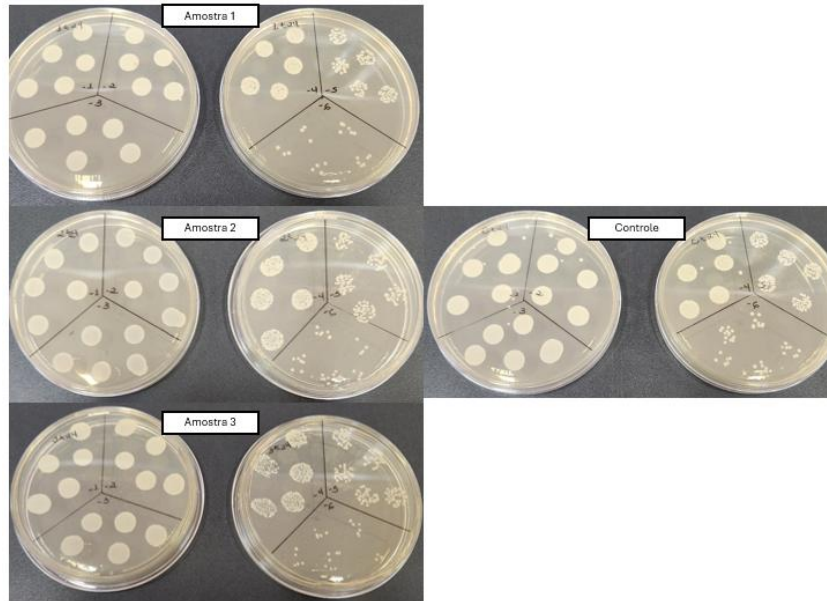


Figura 26: Placas de atividade antimicrobiana após 24 horas de incubação ($t = 24$ h), comparando a população de *S. aureus* no controle com as três amostras de géis semi-IPN, em diferentes diluições, evidenciando a biocompatibilidade dos materiais pela ausência de inibição bacteriana.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

Das Figuras 24-26 foi possível contabilizar a quantidade de colônias que cresceram durante as 24 horas e plotar um gráfico representado na Figura 27.

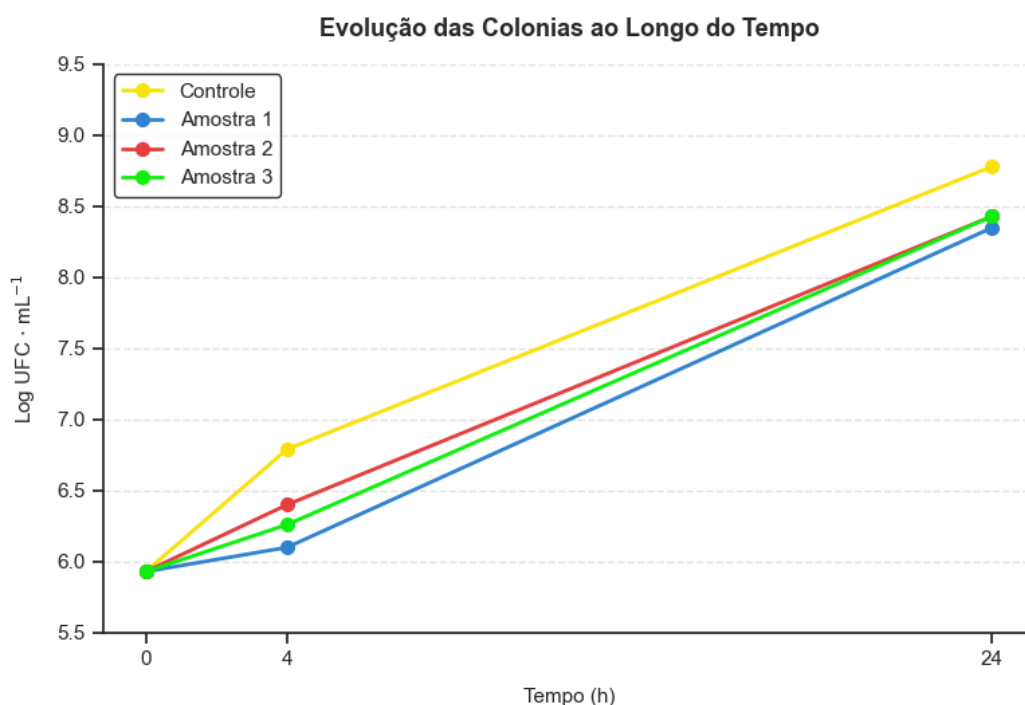


Figura 27: Quantificação de células viáveis de *S. aureus* após 4 e 24 horas de tratamento com os géis iônicos (poli(LI), semi-IPN β -glucana/poli(LI) e semi-IPN β -glucana cationizada/poli(LI)), além de um controle para fins de comparações finais.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

Os resultados da curva de sobrevivência demonstram a ausência de atividade antimicrobiana dos géis iônicos de β -glucana contra *S. aureus*, com crescimento bacteriano praticamente idêntico ao do controle ao longo de 24 horas. Este achado corrobora a hipótese de que os halos de inibição observados nas placas de cultura resultam de inibição por contato físico e não de atividade antimicrobiana real.

Mais importante, a biocompatibilidade demonstrada pelos géis, evidenciada pela ausência de toxicidade para as células bacterianas, indica que estes materiais apresentam boa adesão e compatibilidade biológica, características essenciais para sua aplicação como plataforma de suporte ao cultivo de microalgas. Portanto, os géis iônicos desenvolvidos constituem um biomaterial promissor que não compromete a viabilidade celular e permite o crescimento controlado de microrganismos fotossintéticos.

Assim, na sequência dos experimentos, investigou-se a capacidade de adesão e colonização de microalgas nos géis iônicos, avaliando-se se as propriedades físico-químicas dos materiais – particularmente a presença de β -glucana e sua cationização – favorecem as interações celulares necessárias a um cultivo eficiente. Os testes de adesão

com microalgas constituem, assim, a validação prática da hipótese de que estes biomateriais podem funcionar como plataformas inovadoras para o crescimento controlado de microrganismos fotossintéticos em sistemas de bioeconomia circular.

Para esta aplicação utilizaram-se 3 amostras para os géis iônicos, os quais podem ser identificados como:

- Amostra 1: Polímero do LI (brometo de 1-butil 3-vinilimidazólio) – Amostra padrão/controle;
- Amostra 2: Semi-IPN de polímero do LI (brometo de 1-butil 3-vinilimidazólio) + β -Glucana;
- Amostra 3: Semi-IPN de polímero do LI (brometo de 1-butil-3-vinilimidazólio) + β -Glucana cationizada.

Como os géis foram previamente padronizados em massa seca, a determinação da massa de clorofila por substrato mostrou-se a abordagem mais adequada para avaliar o crescimento das microalgas em cada amostra. Para tanto, fez-se necessária a estimativa inicial do volume de cada gel (em cm³), realizada com o auxílio do *software* Image-J v.6.2.0.

A análise realizada permitiu a conversão do volume de centímetros cúbicos (cm³) para litros (L), devido a literatura estudar os resultados da clorofila em mg.L. Desse modo, obtiveram-se as variáveis necessárias para a determinação da massa de clorofila por substrato (mg), calculada conforme a Equação (14):

$$Clr_{substrato} = Clr_{total} \cdot V_{substrato} = (Clr a + Clr b) \cdot V_{substrato} \quad (14)$$

As tabelas a seguir apresentam os resultados do monitoramento do crescimento de microalgas em géis iônicos ao longo de 21 dias de cultivo. Os dados foram coletados em três intervalos temporais estratégicos (dias 7, 14 e 21), permitindo avaliar a dinâmica de colonização e crescimento celular ao longo do tempo. Para garantir a confiabilidade e a reprodutibilidade dos resultados, todas as medições foram realizadas em triplicata.

Tabela 5: Concentração de clorofila total extraída dos géis iônicos após 7 dias de cultivo de microalgas, refletindo a biomassa algal colonizada nos materiais

Amostras	Absorção λ (665 nm)	Absorção λ (649 nm)	Chl a (mg/L)	Chl b (mg/L)	Clorofila total (mg/L)
Amostra 1	0,010	0,008	0,091	0,130	0,221
Amostra 1	0,022	0,018	0,198	0,297	0,495
Amostra 1	0,011	0,010	0,093	0,174	0,267
Amostra 2	0,174	0,099	1,814	1,232	3,045
Amostra 2	0,101	0,049	1,101	0,497	1,598
Amostra 2	0,113	0,061	1,197	0,715	1,912
Amostra 3	0,065	0,040	0,660	0,538	1,198
Amostra 3	0,058	0,024	0,656	0,178	0,835
Amostra 3	0,105	0,050	1,150	0,492	1,642

Tabela 6: Concentração de clorofila total extraída dos géis iônicos após 14 dias de cultivo de microalgas, refletindo a biomassa algal colonizada nos materiais

Amostras	Absorção λ (665 nm)	Absorção λ (649 nm)	Chl a (mg/L)	Chl b (mg/L)	Clorofila total (mg/L)
Amostra 1	0,033	0,028	0,291	0,472	0,762
Amostra 1	0,070	0,049	0,677	0,732	1,409
Amostra 1	0,042	0,033	0,385	0,532	0,918
Amostra 2	0,062	0,039	0,625	0,535	1,160
Amostra 2	0,061	0,041	0,600	0,594	1,194
Amostra 2	0,054	0,036	0,532	0,518	1,051
Amostra 3	0,155	0,103	1,530	1,479	3,010
Amostra 3	0,161	0,130	1,457	2,130	3,587
Amostra 3	0,124	0,096	1,146	1,534	2,680

Tabela 7: Concentração de clorofila total extraída dos géis iônicos após 21 dias de cultivo de microalgas, refletindo a biomassa algal colonizada nos materiais

Amostras	Absorção λ (665 nm)	Absorção λ (649 nm)	Chl a (mg/L)	Chl b (mg/L)	Clorofila total (mg/L)
Amostra 1	0,097	0,062	0,972	0,862	1,834
Amostra 1	0,085	0,056	0,842	0,799	1,641
Amostra 1	0,123	0,076	1,247	1,026	2,273
Amostra 2	0,032	0,027	0,283	0,453	0,736
Amostra 2	0,040	0,031	0,369	0,496	0,865
Amostra 2	0,032	0,021	0,317	0,299	0,616
Amostra 3	0,075	0,053	0,722	0,797	1,520
Amostra 3	0,045	0,034	0,421	0,535	0,956
Amostra 3	0,068	0,048	0,655	0,722	1,377

A partir dos resultados de concentração de clorofila obtidos para cada substrato, calculou-se a média aritmética das triplicatas para cada amostra de gel iônico, permitindo avaliar a dinâmica de crescimento das microalgas ao longo do período experimental. Os dados consolidados, que refletem a biomassa algal colonizada em cada material, são apresentados na Tabela 8 a seguir.

Tabela 8: Concentração média de clorofila total extraída dos géis iônicos nos diferentes intervalos temporais (7, 14 e 21 dias), calculada a partir da média aritmética das triplicatas técnicas de cada amostra, refletindo a biomassa algal colonizada nos materiais.

Tempo/ dias	Amostra 1/ mg	Amostra 2/ mg	Amostra 3/ mg
0	0.00000000	0.00000000	0.00000000
7	0.00005375	0.00020886	0.00013313
14	0.00014357	0.00013167	0.00026710
21	0.00014318	0.00006289	0.00014771

Os dados consolidados na Tabela 8 foram utilizados para a construção de um gráfico (figura 28) que ilustra a dinâmica de crescimento das microalgas nos diferentes géis iônicos (poli(LI), semi-IPN β -glucana/poli(LI) e semi-IPN β -glucana

cationizada/poli(LI)) ao longo dos 21 dias de cultivo, permitindo comparar a eficiência de colonização entre os materiais.

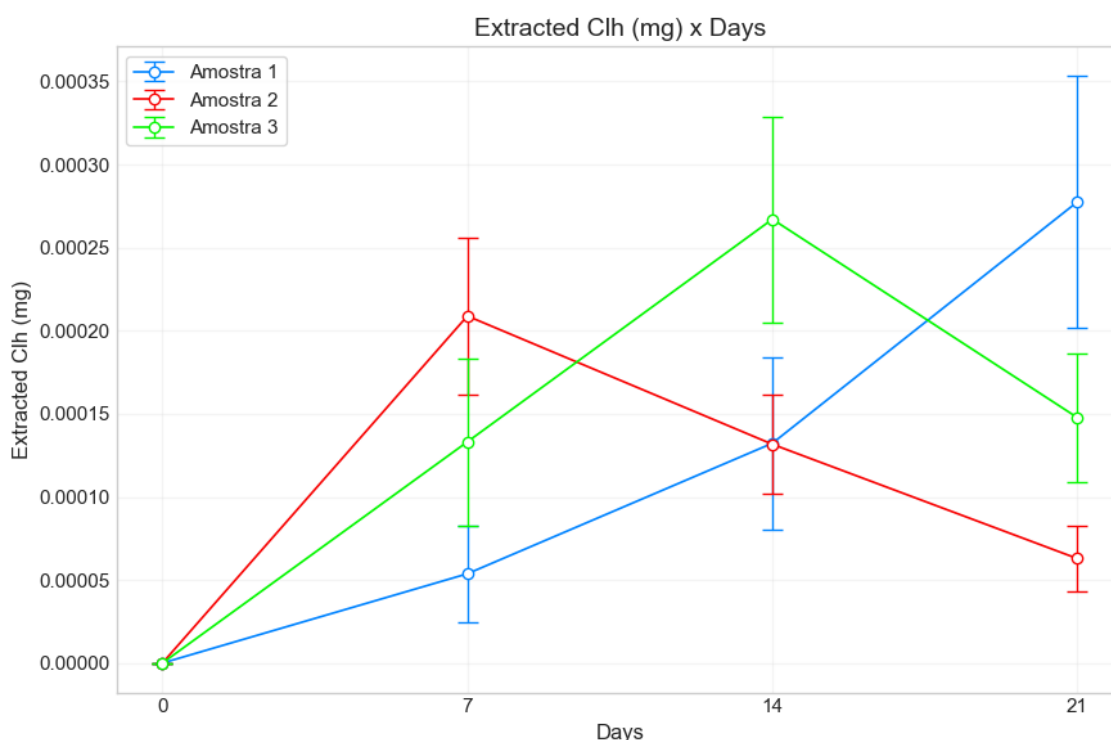


Figura 28: Crescimento médio das microalgas em contato com os diferentes géis iônicos (poli(LI), semi-IPN β -glucana/poli(LI) e semi-IPN β -glucana cationizada/poli(LI)) durante 21 dias de cultivo, avaliado através da concentração de clorofila total extraída. As barras representam o desvio padrão da média (conforme dados detalhados nas Tabelas 6, 7 e 8).

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

Os resultados obtidos demonstram padrões distintos de crescimento das microalgas nos diferentes géis iônicos ao longo dos 21 dias de cultivo. A amostra 2 (β -glucana) apresentou crescimento inicial mais pronunciado, atingindo a concentração máxima de clorofila no dia 7 (aproximadamente 0,00020 mg), seguida de um declínio gradual até o dia 21. Em contraste, o gel β -glucana cationizada/poli(LI) apresentou um padrão de crescimento mais progressivo, com aumento contínuo até o dia 14 (aproximadamente 0,00027 mg), seguido de redução até o dia 21. O controle apresentou crescimento inicial semelhante ao da β -glucana, porém permaneceu o crescimento nos dias seguintes, atingindo aproximadamente 0,00027 mg no dia 21.

Estes resultados sugerem que a incorporação de β -glucana, particularmente em sua forma cationizada, favorece a colonização e o crescimento das microalgas nos géis iônicos. A maior concentração de clorofila observada na amostra 3 até o dia 14 indica que a cationização da β -glucana confere propriedades de superfície mais adequadas à adesão e à proliferação celulares, possivelmente por meio de interações eletrostáticas favoráveis entre as cargas positivas do gel e as células microalgais. A redução observada após o dia 14 em todas as amostras pode estar relacionada a limitações nutricionais ou ao acúmulo de metabólitos secundários no meio de cultivo, fenômenos comuns em sistemas de cultivo em batch.

As imagens microscópicas (Figura 29) revelam diferenças significativas na colonização e na adesão de microalgas entre os três géis iônicos testados. A Amostra 1 (poli(LI), controle) apresenta uma distribuição esparsa de células microalgais sobre a superfície do gel, com baixa densidade de colonização. As células aparecem isoladas e dispersas, indicando adesão limitada ao substrato polimérico. Este padrão corrobora os dados quantitativos de clorofila, que mostraram concentrações reduzidas nesta amostra, sugerindo que o poli(LI), isoladamente, apresenta propriedades superficiais inadequadas para favorecer a colonização microbiana.

Em contraste, a Amostra 2 (β -glucana/poli(LI)) apresenta uma colonização significativamente mais densa, com células microalgais distribuídas de forma mais uniforme na superfície do gel. Observa-se a formação de agregados celulares e de biofilmes incipientes, o que indica que a incorporação de β -glucana melhora substancialmente a adesão das microalgas. A presença de estruturas polissacarídicas na superfície do gel provavelmente facilita interações celulares por meio de ligações de hidrogênio e interações hidrofóbicas, o que favorece a colonização.

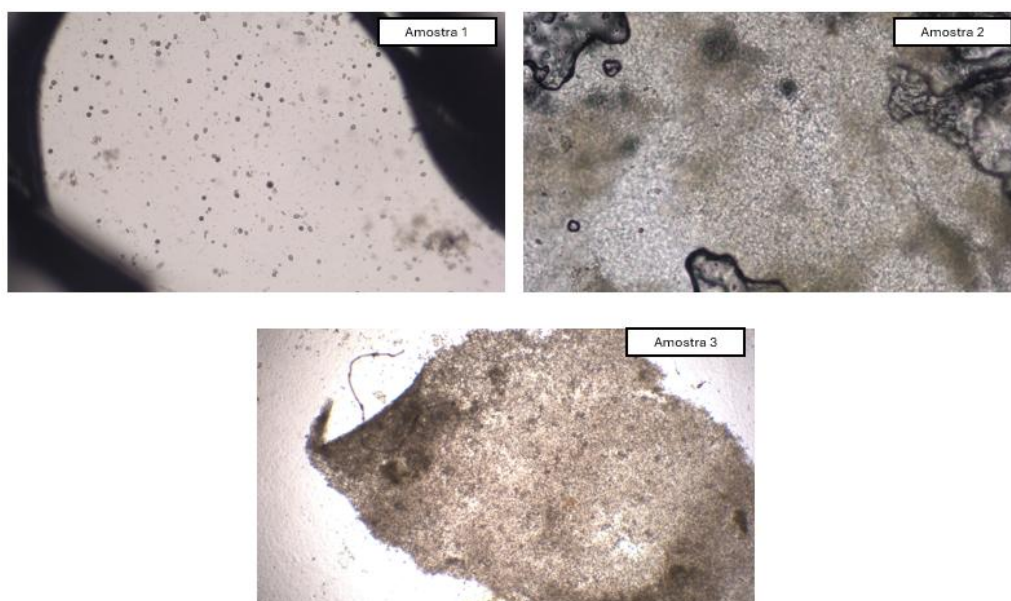


Figura 29: Micrografias ópticas da colonização de microalgas nos diferentes géis iônicos após 21 dias de cultivo: Amostra 1 (poli(LI), controle) mostrando baixa densidade de colonização; Amostra 2 (semi-IPN β -glucana/poli(LI)) apresentando colonização moderada, com formação de agregados celulares; Amostra 3 (semi-IPN β -glucana cationizada/poli(LI)), exibindo cobertura densa e contínua, com biofilmes bem estruturados.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

Por fim, a amostra 3 apresenta o padrão de colonização mais pronunciado, com cobertura densa e contínua de células microalgais em toda a superfície do gel. Observa-se a formação de biofilmes bem estruturados, com múltiplas camadas celulares e distribuição altamente uniforme. A pigmentação mais escura (verde-acinzentada) é evidente, o que indica a alta concentração de clorofila nesta amostra. Este resultado demonstra que a cationização da β -glucana cria um ambiente superficial particularmente favorável à adesão microbiana, possivelmente por meio de interações eletrostáticas entre as cargas positivas do gel cationizado e as cargas negativas das paredes celulares das microalgas.

6. Conclusão

Este projeto investigou a formação de géis iônicos a partir de redes semi-interpenetradas (semi-IPNs) entre β -glucana e líquidos iônicos polimerizáveis, com foco no desenvolvimento de uma plataforma inovadora para o cultivo de microalgas em sistemas de bioeconomia circular. A estratégia de funcionalização da β -glucana por cationização foi implementada com o objetivo de otimizar as propriedades de superfície dos géis e favorecer a adesão de microrganismos fotossintéticos.

Os testes de atividade antimicrobiana realizados contra *Staphylococcus aureus*, por meio de curva de sobrevivência, revelaram que os géis iônicos não apresentam atividade antimicrobiana intrínseca, confirmando a ausência toxicidade dos materiais desenvolvidos. Este resultado é particularmente relevante, pois garante que os géis não serão tóxicos para as células de microalgas, o que é essencial para sua aplicação como plataforma de suporte. A ausência de toxicidade validou a hipótese de que estes biomateriais podem servir como substratos seguros para o cultivo controlado de microrganismos fotossintéticos.

Subsequentemente, investigou-se a capacidade de adesão e de colonização de microalgas nos diferentes géis iônicos. Os resultados demonstraram que a incorporação de β -glucana nos géis semi-IPN aumenta significativamente a adesão de microalgas em comparação com o poli(LI) puro. Mais importante, a cationização da β -glucana resultou em melhor desempenho de colonização, com concentração máxima de clorofila de aproximadamente 0,00027 mg no dia 14, superando as demais amostras. Este resultado confirma a hipótese de que a funcionalização da β -glucana por cationização favorece as interações eletrostáticas com as células microalgais, promovendo adesão e proliferação celulares mais eficientes. As análises microscópicas corroboraram estes achados, revelando uma progressão clara na colonização: Amostra 1 (baixa densidade) < Amostra 2 (colonização moderada) < Amostra 3 (biofilmes densos e bem estruturados). A formação de biofilmes estruturados no gel com β -glucana cationizada indica que o material proporciona um microambiente favorável ao crescimento sustentado de microalgas, a cationização de um substrato favorece a captura das micro-algas assim como demonstrado em demais literaturas (BLOCKX *et al.*, 2019). Portanto, este trabalho valida a hipótese central de que os géis iônicos de β -glucana cationizada constituem uma plataforma inovadora, atóxica e eficiente para o cultivo de microalgas.

Para perspectivas futuras, podemos citar: (i) testes em meios celulares para comprovar a biocompatibilidade dos géis desenvolvidos (ii) otimização dos parâmetros de cultivo (pH, nutrientes, luminosidade, aeração) para maximizar o crescimento de microalgas nos géis; (iii) avaliar a produtividade de biomassa e síntese de metabólitos secundários (lipídios, carotenoides, proteínas) em cultivos prolongados; (iv) expandir os testes de adesão para outras cepas de microalgas comercialmente relevantes; (v) investigar a reutilização dos géis em ciclos sucessivos de cultivo; (vi) desenvolver protótipos de biorreatores utilizando os géis de β -glucana cationizada como matriz de suporte em diferentes configurações (leito fixo, leito fluidizado); e (vii) avaliar a escalabilidade do processo para aplicações industriais. Estas investigações complementares consolidarão a relevância dos géis biopoliméricos no desenvolvimento de novos materiais com propriedades avançadas para aplicações em biotecnologia sustentável e na produção de biomassa microalgal.

Referências Bibliográficas

BECHT, G. A. et al. Formation of a liquid-crystalline interpenetrating poly(ionic liquid) network hydrogel. *Macromolecules*, v. 44, p. 1421–1428, 2011.

BOYDE, A. Scanning electron microscopy of biological materials. *Micron*, v. 27, p. 343–351, 1996.

BROWN, G. D.; GORDON, S. Immune recognition of fungal β -glucans. *Cell Microbiology*, v. 7, p. 471–479, 2005.

CAO, Y. et al. Room temperature ionic liquids (RTILs): A new and versatile platform for cellulose processing and derivatization. *Chemical Engineering Journal*, v. 147, p. 13–21, 2009.

CALLISTER JR., W. D.; RETHWISCH, D. G. *Ciência e engenharia de materiais: uma introdução*. 9. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2016.

CARBONERO, E. R. *Polissacarídeos de fungos liquenizados contendo diferentes fotobiontes*. 2005. Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005.

CHUM, H. L. et al. Electrochemical studies of organometallic compounds. I. Iron tricarbonyl complexes and the 1-butylpyridinium chloride-aluminum chloride solvent system. *Journal of the American Chemical Society*, v. 97, n. 11, p. 3264–3265, 1975.

COATES, J. Interpretation of infrared spectra, a practical approach. In: MEYERS, R. A. (ed.). *Encyclopedia of Analytical Chemistry*. Chichester: Wiley, 2000.

DISASA IRGE, D. Ionic liquids: a review on greener chemistry applications, quality ionic liquid synthesis and economical viability in chemical processes. *American Journal of Physical Chemistry*, v. 5, p. 74–75, 2016.

DRAGAN, E. S. Design and applications of interpenetrating polymer network hydrogels: a review. *Chemical Engineering Journal*, v. 243, p. 572–590, 2014.

EGERTON, R. F. *Physical principles of electron microscopy*. New York: Springer, 2005.

ELLIOTT, G. D. et al. The development of ionic liquids for biomedical applications – prospects and challenges. In: *Ionic liquids: from knowledge to application*. Washington: ACS, 2009. p. 95–105. DOI: 10.1021/bk-2009-1030.ch006.

FERRARO, J. R.; NAKAMOTO, K.; BROWN, C. W. *Introductory Raman spectroscopy*. 2. ed. San Diego: Academic Press, 2003.

- FORT, D. A. et al. Can ionic liquids dissolve wood? *Green Chemistry*, v. 9, p. 63–69, 2007.
- GHANDI, K. A review of ionic liquids, their limits and applications. *Green and Sustainable Chemistry*, v. 4, p. 44–53, 2014.
- GOLDSTEIN, J. I. et al. *Scanning electron microscopy and X-ray microanalysis*. 4. ed. New York: Springer, 2018.
- GORIN, P. A. J.; IACOMINI, M. Polysaccharides of the lichens *Cetraria islandica* and *Ramalina usnea*. *Carbohydrate Research*, v. 128, p. 1–12, 1984.
- GRIFFITHS, P. R.; DE HASETH, J. A. *Fourier transform infrared spectrometry*. 2. ed. Hoboken: John Wiley & Sons, 2007.
- HOFFMAN, A. S. Hydrogels for biomedical applications. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 64, p. 18–23, 2012.
- HURLEY, F. H.; WIER, T. P. Electrodeposition of metals from fused quaternary ammonium salts. *Journal of the Electrochemical Society*, v. 98, n. 5, p. 203–206, 1951.
- ISAZA, A. F.; AUMUND-KOPP, P. C. Additive manufacturing approaches. In: *Structural materials and processes in transportation*. Weinheim: Wiley-VCH, 2013. p. 549–566. DOI: 10.1002/9783527649846.ch18.
- KAZARIAN, S. G.; CHAN, K. L. A. Applications of ATR-FTIR spectroscopic imaging. *Vibrational Spectroscopy*, v. 40, p. 161–176, 2006. DOI: 10.1016/j.vibspec.2006.03.012.
- KIM, Y. T. et al. Structural characterization of β -glucans. *Carbohydrate Research*, v. 343, p. 87–94, 2008.
- KOSAN, B. et al. Dissolution and forming of cellulose with ionic liquids. *Cellulose*, v. 15, p. 59–66, 2008.
- LARKIN, P. J. Infrared and Raman spectroscopy: principles and spectral interpretation. 2. ed. Amsterdam: Elsevier, 2017.
- LEI, Z. et al. Introduction: ionic liquids. *Chemical Reviews*, v. 117, p. 6633–6635, 2017.
- MACDONALD, E. et al. Fabricating patch antennas within complex dielectric structures through multi-process 3D printing. *Journal of Manufacturing Processes*, v. 34, p. 197–203, 2018.
- MACFARLANE, D. R. et al. Energy applications of ionic liquids. *Energy & Environmental Science*, v. 7, p. 232–250, 2014.

MCCREERY, R. L. *Raman spectroscopy for chemical analysis*. New York: Wiley-Interscience, 2000.

MIGLIORINI, L. et al. All-printed green micro-supercapacitors based on a natural-derived ionic liquid. *Advanced Functional Materials*, v. 31, p. 1–10, 2021.

MILES, A. A.; MISRA, S. S.; IRWIN, J. O. The estimation of the bactericidal power of the blood. *Journal of Hygiene*, v. 38, p. 732–749, 1938.

MIRJAFARI, A. Ionic liquid syntheses via click chemistry. *Chemical Communications*, v. 54, p. 2944–2961, 2018.

MUÑOZ-BONILLA, A.; FERNÁNDEZ-GARCÍA, M. Poly(ionic liquid)s as antimicrobial materials. *European Polymer Journal*, v. 105, p. 135–149, 2018.

NAKAMOTO, K. Infrared and Raman spectra of inorganic and coordination compounds. 6. ed. New Jersey: Wiley, 2009.

NOSHADI, I. et al. Engineering biodegradable bio-ionic liquid hydrogels. *Scientific Reports*, v. 7, p. 4345, 2017.

PARVULESCU, V. I.; HARDACRE, C. Catalysis in ionic liquids. *Chemical Reviews*, v. 107, p. 2615–2665, 2007.

PEPPAS, N. A. et al. Hydrogels in biology and medicine. *Advanced Materials*, v. 18, p. 1345–1360, 2006.

PLECHKOVA, N. V.; SEDDON, K. R. Applications of ionic liquids in the chemical industry. *Chemical Society Reviews*, v. 37, p. 123–150, 2008.

QIAN, W.; TEXTER, J.; YAN, F. Frontiers in poly(ionic liquid)s syntheses and applications. *Chemical Society Reviews*, v. 46, p. 1124–1159, 2017.

QIAN, L. et al. Poly(ionic liquid)-functionalized cellulose aerogel. *Carbohydrate Polymers*, v. 218, p. 154–162, 2019.

REIMER, L. Scanning electron microscopy: physics of image formation and microanalysis. Berlin: Springer, 1998.

ROGERS, R. D.; SEDDON, K. R. Ionic liquids—solvents of the future? *Science*, v. 302, p. 792–793, 2003.

SALA, O. Fundamentos da espectroscopia Raman e no infravermelho. 2. ed. São Paulo: UNESP, 2008.

SCHULTZ, A. R. et al. 3D printing phosphonium ionic liquid networks. *ACS Macro Letters*, v. 3, p. 1205–1209, 2014.

SHAPLOV, A. S. et al. Ionic IPNs as conductive polymer electrolytes. *Journal of Polymer Science Part A*, v. 47, p. 4245–4266, 2009.

SHAPLOV, A. S. et al. Ionic semi-interpenetrating networks. *Journal of Materials Chemistry A*, v. 3, p. 21882–21898, 2015.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. *Identificação espectrométrica de compostos orgânicos*. 7. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2006.

SINGH, B.; SHARMA, N. Interpenetrating polymer networks: a review. *Journal of Macromolecular Science*, v. 50, p. 1–26, 2011.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; CROUCH, S. R. *Princípios de análise instrumental*. 6. ed. Porto Alegre: Bookman, 2009.

SMITH, B. C. *Fundamentals of Fourier transform infrared spectroscopy*. 2. ed. Boca Raton: CRC Press, 2011.

SPARRMAN, B. et al. Printed silicone pneumatic actuators. *Additive Manufacturing*, v. 40, p. 101860, 2021.

STONE, B. A.; CLARKE, A. E. *Chemistry and biology of (1→3)- β -glucans*. Melbourne: La Trobe University Press, 1992.

STUART, B. H. *Infrared spectroscopy: fundamentals and applications*. Chichester: John Wiley & Sons, 2004.

SUNDBERG, J. et al. Moisture induced plasticity of cellulose films. *Polymer*, v. 54, p. 6555–6560, 2013.

SWATLOSKI, R. P. et al. Dissolution of cellulose with ionic liquids. *Journal of the American Chemical Society*, v. 124, p. 4974–4975, 2002.

SWEELY, K. D. et al. Inkjet printing ionic liquids. *ECS Transactions*, v. 64, p. 575–582, 2014.

WALDEN, P. Über die Molekulargröße und elektrische Leitfähigkeit. *Bulletin de l'Académie Impériale des Sciences de St.-Petersbourg*, v. 8, p. 405–422, 1914.

WILKES, J. S.; ZAWOROTKO, M. J. Air and water stable ionic liquids. *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications*, p. 965–967, 1992.

ZAMAN, M. et al. Synthesis and characterization of nanocrystalline cellulose. *Carbohydrate Polymers*, v. 89, p. 163–170, 2012.

ZHANG, S. et al. Ionic liquid-based green processes. *Chemical Reviews*, v. 117, p. 6755–6833, 2017.

ZHENG, Z. et al. Structure–antibacterial activity relationships of ionic liquids. *ACS Applied Materials & Interfaces*, v. 8, p. 12684–12692, 2016.

ZHU, S. et al. A mini-review on greenness of ionic liquids. *Chemical and Biochemical Engineering Quarterly*, v. 23, p. 207–211, 2009.

NAVE, Rod. Quantum Harmonic Oscillator. HyperPhysics, [2026]. Disponível em: <<http://hyperphysics.phy-astr.gsu.edu/hbase/quantum/hosc.html>>. Acesso em: 24 maio de 2026.

SOMOZA, Mark. Morse-potential. Wikimedia Commons, 2006. Disponível em: <https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Morse-potential.svg>. Acesso em: 16 de maio de 2026.

PIKE TECHNOLOGIES. ATR: Theory and Applications. Madison: PIKE Technologies, 2011. Disponível em: <https://www.piketech.com>. Acesso em: 16 de maio de 2026.

EDINBURGH INSTRUMENTS. The Difference Between Raman and IR Spectroscopy. Kirkton Campus: Edinburgh Instruments. Disponível em: <https://www.edinburghinstruments.com>. Acesso em: 16 de maio de 2026.

HORIBA SCIENTIFIC. Monitoring the UV Curing Process by Raman Spectroscopy. Kyoto: Horiba Instruments, [2019]. Disponível em: <<https://www.horiba.com>>. Acesso em: 16 de maio de 2026.

SCIENCE LEARNING HUB. Scanning Electron Microscope (SEM) diagram. Hamilton: The University of Waikato, [2025]. Disponível em: <https://www.sciencelearn.org.nz>. Acesso em: 24 maio 2026.

REIMER, Ludwig. Scanning Electron Microscopy: Physics of Image Formation and Microanalysis. 2. ed. Berlin: Springer-Verlag, 1998.

GREENBERG, A. E.; REED, S. F.; EATON, A. D. (Ed.). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 23. ed. Washington: American Public Health Association, 2017.

MYERS, J. A.; CURTIS, B. S.; CURTIS, W. R. Improving accuracy of start-of-culture definition for green algae photobioreactors using optical density. *Algal Research*, v. 2, n. 3, p. 268-273, 2013.

PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S.; VYVYAN, J. A. Introdução à Espectroscopia. 5. ed. São Paulo: Cengage Learning, 2015.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J.; BRYCE, D. L. Spectrometric Identification of Organic Compounds. 8. ed. Hoboken: John Wiley & Sons, 2014.

SKOOG, D. A.; WEST, D. M.; HOLLER, F. J.; CROUCH, S. R. Fundamentos de Química Analítica. 9. ed. São Paulo: Cengage Learning, 2014.

HOLBREY, J. D.; TURNER, M. B.; ROGERS, R. D. Selection of Ionic Liquids for Green Chemical Applications. [S. l.]: ACS Publications, 2003. Disponível em: <https://pubs.acs.org/sharingguidelines>.

JESUS, S. S. de; MACIEL FILHO, R. Are ionic liquids eco-friendly? Renewable and Sustainable Energy Reviews, [S. l.], v. 157, 112039, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.rser.2021.112039>.

OLAFSDOTTIR, E. S.; INGÓLFSDOTTIR, K. Polysaccharides from lichens: structural characteristics and biological activity. Planta Medica, [S. l.], v. 67, n. 3, p. 199-208, 2001. Disponível em: <https://doi.org/10.1055/s-2001-12012>.

OLASUPO, A.; CORBIN, D. R.; SHIFLETT, M. B. Applications of ionic liquids: fate, prospects, and perspectives. Cleaner Materials, [S. l.], v. 19, 100379, 2026. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.clema.2026.100379>.

SPRIBILLE, T. et al. Basidiomycete yeasts in the cortex of ascomycete macrolichens. Science, [S. l.], v. 353, p. 488-492, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1126/science.aaf8287>.

CHOWDHURY, R. I. et al. A Rapid Approach to Measure Extracted Chlorophyll-a from Lettuce Leaves using Electrical Impedance Spectroscopy. Water, Air, & Soil Pollution, v. 232, n. 50, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11270-021-05036-z>. Acesso em: 26 de maio 2026.

ROWAN, K. S. Photosynthetic pigments of algae. Cambridge: Cambridge University Press, 1989. 334 p.

ZOLOTUKHINA, A. et al. Extraction of chlorophyll concentration maps from AOTF hyperspectral imagery. Frontiers in Environmental Science, v. 11, art. 1152450, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fenvs.2023.1152450>. Acesso em: 26 maio 2026.

BLOCKX, Jonas et al. Cationic Cellulose Nanocrystals for Flocculation of Microalgae: Effect of Degree of Substitution and Crystallinity. ACS Applied Nano Materials, [s. l.], v. 2, n. 6, p. 3394-3403, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acsanm.9b00315>. Acesso em: 15 jun. 2026.

SMITH, John; JONES, Laura. Raman scattering mechanisms in molecular systems. *Journal of Molecular Spectroscopy*, v. 45, n. 3, p. 210–225, 2020.

HORIBA SCIENTIFIC. *Raman Spectroscopy for Photopolymerization Monitoring*. Kyoto: HORIBA Scientific, 2020. Disponível em: <<https://www.horiba.com>>. Acesso em: 09 jul. 2026.

ZHENG, Z.; GUO, J.; MAO, H.; XU, Q.; QIN, J.; YAN, F. Metal-containing poly(ionic liquid) membranes for antibacterial applications. *ACS Applied Materials & Interfaces*, v. 10, n. 1, p. 1–10, 2018.