



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ACRE - UFAC
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE
E BIOTECNOLOGIA - REDE BIONORTE



**PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE PONTOS QUÂNTICOS DE
GRAFENO A PARTIR DA CELULOSE E NANOCRISTAIS DE
CELULOSE DE BAMBU (*Guadua weberbaueri* Pilger)**

MARCELO RAMON DA SILVA NUNES

Rio Branco – AC

2023

MARCELO RAMON DA SILVA NUNES

**PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE PONTOS QUÂNTICOS DE
GRAFENO A PARTIR DA CELULOSE E NANOCRISTAIS DE
CELULOSE DE BAMBU (*Guadua weberbaueri* Pilger)**

Tese de doutorado apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia - Rede BIONORTE, na Universidade Federal do Acre, como requisito parcial para a obtenção do Título de Doutor em Biodiversidade e Biotecnologia.

Orientador(a): Prof. Dr. Fernando Sérgio Escócio Drummond Viana de Faria.

Coorientador (a): Prof. Dr. Anselmo Fortunato Ruiz Rodriguez.

Rio Branco – AC

MAIO/2023

MARCELO RAMON DA SILVA NUNES

**PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE PONTOS QUÂNTICOS DE
GRAFENO A PARTIR DA CELULOSE E NANOCRISTAIS DE
CELULOSE DE BAMBU (*Guadua weberbaueri* Pilger)**

Tese de doutorado apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia - Rede BIONORTE, na Universidade Federal do Acre, como requisito parcial para a obtenção do Título de Doutor em Biodiversidade e Biotecnologia.

Aprovada em 31 / 05 / 2023

Banca examinadora



Prof. Dr. Fernando Sérgio Escócio Drummond Viana de Faria
Universidade Federal do Acre


Prof. Dr. Antônio Alves de Melo Filho
Universidade Federal de Roraima
Departamento de Ciências
Professor Titular

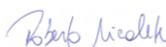
Prof. Dr. Antônio Alves de Melo Filho
Universidade Federal de Roraima


Prof. Dr. Luis Eduardo Maggi

Prof. Dr. Luis Eduardo Maggi
Universidade Federal do Acre



Prof. Dr. Moisés Barbosa de Souza
Universidade Federal do Acre



Prof. Dr. Roberto Nicolete
Fundação Oswaldo Cruz - Ceará

DEDICATÓRIA

A minha mãe de criação, Luzinete Bruno da Silva (*in memoriam*), pelo amor, incentivo e apoio incondicional na realização dos meus sonhos;

A minha mãe biológica, Maria Raquel da Silva, pelo amor, incentivo e apoio incondicional na realização dos meus sonhos;

À minha irmã, Marcela Patrícia da Silva Nunes, pelo apoio espiritual e por cuidar tão bem da nossa mãe durante o período em que precisei estar ausente.

AGRADECIMENTOS

À Deus, que me guia e me fortalece sempre;

Ao Prof. Dr. Fernando Sérgio Escócio Drummond Viana de Faria, meu orientador, pelas orientações, apoio e confiança;

À minha mãe de criação (*in memoriam*) Luzinete Bruno da Silva, que não mediu esforços para me apoiar durante a realização do doutorado e torcia muito para a finalização do meu curso, mas não teve tempo para comemorar o nosso título;

À minha mãe biológica Maria Raquel da Silva, que não mediu esforços para me apoiar durante a realização do doutorado;

À minha irmã Marcela Patrícia Nunes Pereira, que não mediu esforços para me apoiar durante a realização do doutorado;

Ao Prof. Dr. Anselmo Fortunato Ruiz Rodriguez pelas palavras de incentivo quando pensei em desistir de tudo e pela coorientação na pesquisa;

Ao Prof. Dr. César Arruda Meschiari pela paciência, apoio e auxílio nos experimentos celulares;

Aos Professores Dr. Moises Barbosa de Souza, Dr. Antônio Alves de Melo Filho, Dr. Luis Eduardo Maggi, Dr. Jamal da Silva Chaar e Dr. Marcos Silveira, por deixarem suas atribuições diárias para participar da minha banca de qualificação;

À professora Dra. Adriana Santos Ribeiro, por sua amizade e por acreditar em mim;

À professora Dra. Rosanny Christinny da Silva, por sua amizade e por acreditar em mim;

Aos meus professores do doutorado, pelo comprometimento e trocas de conhecimentos;

Aos colegas deste Programa de Doutorado, por nossas trocas de experiências, conhecimentos e sorrisos, e, em especial, aos amigos que ganhei neste percurso: Dawerson da Paixão Ramos, Katiúcia Shiota Imada, Anderson Luis Ramos e Guaracy Barbosa dos Santos Maia que sempre estiveram ao meu lado, me ajudando, e me erguendo a todo momento;

À Universidade Federal do Acre e ao PPG Bionorte - Acre pela oportunidade de aprendizado e qualificação profissional;

Enfim a todos que contribuíram diretamente e indiretamente para a realização deste trabalho, meus sinceros agradecimentos.

RESUMO

Os nanomateriais são especialmente interessantes devido às suas propriedades físicas, químicas e eletrônicas, ajustáveis. Os pontos quânticos de grafeno ou carbono, por exemplo, são nanoestruturas de carbono com diâmetro esférico abaixo de 10 nm com propriedades físico-químicas e estruturais ideais para aplicação em tecnologia de biosondas para detecção de células tumorais. Essas nanopartículas detêm excelente fluorescência, síntese relativamente simples, baixa toxicidade, boa biocompatibilidade e baixo custo em comparação com as nanopartículas inorgânicas fluorescentes. Desse modo, este trabalho objetivou preparar e caracterizar pontos quânticos de grafeno a partir de um abundante recurso amazônico: o bambu da espécie *Guadua weberbaueri* Pilger. Para tanto, foi selecionada a rota sintética hidrotermal a partir de um reator autoclavado e dos solventes água e dimetilformamida, nos intervalos de tempo de 4 h, 6 h e 8 h. Os materiais precursores e os nanomateriais foram submetidos a caracterizações, tais como: microscopia eletrônica de varredura, microscopia eletrônica de transmissão, difração de raio X, técnica de espalhamento de luz dinâmica, espectroscopia na região do infravermelho, potencial zeta size, espectrofotometria de fluorescência e espectroscopia UV-Vis. De modo geral, foram obtidos pontos quânticos de grafeno com diâmetro médio em torno de 5 nm. Tanto as amostras preparadas com dimetilformamida quanto com água, o rendimento quântico foi proporcional ao tempo de reação, porém, sem diferença significativa entre 6 h e 8 h. O rendimento quântico para amostras preparadas com dimetilformamida foi de 0,71%, 1,1% e 1,2% nos tempos de reação de 4 h, 6 h e 8 h, respectivamente. Em contrapartida, as amostras preparadas com água apresentaram rendimento de 0,69%, 1,2% e 1,3% nos tempos de reação de 4 h, 6 h e 8 h, respectivamente. Todas as amostras emitiram luz na região do espectro de cores que abrange todos os tons de azul até o esverdeado (411 nm a 538 nm). Entretanto, o maior rendimento quântico se deu quando o nanomaterial foi excitado com comprimento de onda de 320 nm, emitindo luz entre 418 nm e 439 nm. De modo geral, todas as amostras tiveram rendimento quântico semelhantes que variaram de 0,69% a 1,3%. Em suma, foi possível obter pontos quânticos de carbono, com rendimento quântico de até 1,3%, a partir de bambu com DMF ou água que fluoresceram entre 411 nm e 538 nm quando excitados com energia de 320 nm.

Palavras-Chave: Polpa Celulósica de Bambu; Nanocristais de Celulose; Reação Hidrotermal; Fluorescência; Pontos Quânticos de Carbono.

ABSTRACT

Nanomaterials are especially interesting due to their tunable physical, chemical and electronic properties. Graphene or carbon quantum dots, for example, are carbon nanostructures with a spherical diameter below 10 nm with physical-chemical and structural properties ideal for application in bioprobe technology for detecting tumor cells. These nanoparticles have excellent fluorescence, relatively simple synthesis, low toxicity, good biocompatibility and low cost compared to fluorescent inorganic nanoparticles. Thus, this work aimed to prepare and characterize graphene quantum dots from an abundant Amazonian resource: the bamboo of the *Guadua weberbaueri* Pilger species. For that, the hydrothermal synthetic route was selected from an autoclaved reactor and the solvents water and dimethylformamide, in the time intervals of 4 h, 6 h and 8 h. Precursor materials and nanomaterials were subjected to characterizations, such as: scanning electron microscopy, transmission electron microscopy, X-ray diffraction, dynamic light scattering technique, infrared spectroscopy, zeta size potential, fluorescence spectrophotometry and UV-Vis spectroscopy. In general, graphene quantum dots with an average diameter of around 5 nm were obtained. Both the samples prepared with dimethylformamide and with water, the quantum yield was proportional to the reaction time, however, with no significant difference between 6 h and 8 h. The quantum yield for samples prepared with dimethylformamide was 0.71%, 1.1% and 1.2% in reaction times of 4 h, 6 h and 8 h, respectively. On the other hand, the samples prepared with water showed a yield of 0.69%, 1.2% and 1.3% in the reaction times of 4 h, 6 h and 8 h, respectively. All samples emitted light in the region of the color spectrum covering all shades from blue to greenish (411 nm to 538 nm). However, the highest quantum yield occurred when the nanomaterial was excited with a wavelength of 320 nm, emitting light between 418 nm and 439 nm. In general, all samples had similar quantum yields ranging from 0.69% to 1.3%. In short, it was possible to obtain carbon quantum dots, with a quantum yield of up to 1.3%, from bamboo with DMF or water that fluoresced between 411 nm and 538 nm when excited with energy of 320 nm.

Keywords: Cellulosic Bamboo Pulp; Cellulose Nanocrystals; Hydrothermal Reaction; Fluorescence; Carbon Quantum Dots.

LISTA DE FIGURAS E TABELAS

Figura 1 - Morfologia do crescimento de uma planta de bambu	18
Figura 2 - Distribuição geográfica dos bambus lenhosos no mundo	21
Figura 3 - Distribuição geográfica dos bambus no sudoeste da Amazônia.....	23
Figura 4 - Imagem representativa da estrutura de celulose.....	26
Figura 5 - Nanotubo de carbono apresentado em uma imagem de alta resolução.....	28
Figura 6 - Nanotubo de carbono apresentado em uma imagem de alta resolução.....	29
Figura 7 - Estrutura do grafeno	30
Figura 8 – MEV dos NCC	31
Figura 9 – Nanopartículas de carbono fluorescentes	33
Figura 10 – Representação esquemática da estrutura química de PCs	35
Figura 11 - Comparação das células HeLa coradas com PCs.....	39
Figura 12 - Ilustração esquemática da detecção fluorescente de dupla emissão de Cu^{2+}	40
Figura 13 - Imagens de fluorescência in vivo de um rato injetado com PCs.....	42
Figura 14 - Imagens <i>in vivo</i> obtidas a partir da injeção de PCs derivados da fuligem de pneus em camundongos	43
Figura 15 - Imagens de microscopia confocal de varredura a laser das células HeLa marcadas com PCs.....	44
Figura 16 Injeção intravenosa de solução de PCs em camundongos.....	45
Figura 17 – Imagem do bambu <i>Guadua weberbaueri</i>	58
Figura 18 - Imagens de polpa celulósica de bambu	59
Figura 19 – Imagens de NCC.....	60
Figura 20 – Imagem birrefringente de NCC	62
Figura 21 - Gráficos de FTIR das amostras de polpa celulósicas.....	63
Figura 22 - Gráficos de FTIR para as amostras de NCC.....	64
Figura 23 – Curvas de TGA das amostras de polpa branqueada.....	65
Figura 24 – Curva de TGA das amostras de NCC.....	65

Figura 25 – Difratoograma de Raios-x do BT.....	66
Figura 26 – Difratoograma de Raios-x da polpa de bambu.....	67
Figura 27 – Difratoograma de Raios-x dos NCC.....	68
Figura 28 – Distribuição de tamanho de NCC obtida por DLS.....	69
Figura 29 – Imagens da fibra branqueada de bambu obtidas por MEV.....	70
Figura 30 – Imagens dos NCC obtidas por MEV.....	71
Figura 31 – Fluorescência dos PCs de polpa celulósica com DMF.....	72
Figura 32 – Fluorescência dos PCs de polpa celulósica com água.....	73
Figura 33 - Fluorescência dos PCs de NCC com DMF.....	74
Figura 34 - Fluorescência dos PCs de NCC com água.....	75
Figura 35 – Fluorescência dos PCs produzidos com polpa celulósica e DMF.....	77
Figura 36 – Fluorescência dos PCs produzidos com polpa celulósica e água.....	79
Figura 37 – Fluorescência dos PCs produzidos com NCC e DMF.....	81
Figura 38 – Fluorescência dos PCs produzidos com NCC e água.....	82
Figura 39 – Distribuição de tamanho de PCs	84
Figura 40 – Imagens dos PCs obtidas por MET.....	86
Figura 41. Gráfico de FTIR dos PCs.....	88
Tabela 1 – Resultado da análise do teor de celulose a partir do método FDN/FDA.....	61
Tabela 2 – Dados de RQ das amostras obtidas.....	83
Tabela 3. Dados de análise antimicrobiana frente a PCs.....	88

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

DMF	Dimetilformamida
DRX	Difração de raio x
FDA	Fibra em detergente ácido
FDN	Fibra em detergente neutro
FTIR	Espectroscopia no infravermelho com transformada de fourier
MEV	Microscopia eletrônica de varredura PCs Pontos quânticos de carbono
NCC	Nanocristais de celulose
PCBL1	Polpa de celulose de bambu lavada uma vez
PCBL4	Polpa de celulose de bambu lavada quatro vezes
PCBL4Br1	Polpa de celulose de bambu lavada quatro vezes e branqueada uma vez
PCBL4Br2	Polpa de celulose de bambu lavada quatro vezes e branqueada duas vezes
PCBL4Br3	Polpa de celulose de bambu lavada quatro vezes e branqueada três vezes
PCs	Pontos quânticos de carbono
SQ	Sulfato de quinina monohidratado
TGA	Análise termogravimétrica
UV - Vis	Ultravioleta visível

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
1.1	OBJETIVOS	13
1.2	Geral.....	13
1.3	Específicos	13
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	14
2.1	BIOMASSA.....	14
2.2	BAMBU.....	16
2.2.1	BAMBU COMPARADO COM ÁRVORES (MADEIRA).....	19
2.2.2	DIFERENÇAS NAS CARACTERÍSTICAS DOS RIZOMAS E RAÍZES DE BAMBU E ÁRVORES	19
2.2.3	ORIGEM DO BAMBU E SEUS HABITATS	20
2.2.4	O BAMBU NO BRASIL.....	21
2.2.5	O POTENCIAL ECONÔMICO DO BAMBU	24
2.3	CELULOSE.....	25
2.4	MUNDO NANO E PRINCIPAIS DESCOBERTAS	27
2.4.1	BIONANOSSONDAS	35
2.5	BACTÉRIAS	44
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 (AS).....	45
	<i>Salmonella enterica</i> serovar <i>Typhimurium</i> ATCC 14028 (ST).....	46
	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	47
2.6	MÉTODOS DE PREPARAÇÃO DE PCs.....	48
2.5.1	CARBONIZAÇÃO HIDROTÉRMICA	50
3	MATERIAIS E MÉTODOS	53
3.1	MATERIAIS.....	53
3.2	PREPARAÇÃO DO MATERIAL PRECURSOR E AMOSTRAS.....	53
3.2.1	COLETA E IDENTIFICAÇÃO DA ESPÉCIE DO BAMBU	53
3.2.2	PREPARAÇÃO DE POLPA DE CELULOSE BRANQUEADA	53
3.2.3	PREPARO DE NANOCRISTAIS DE CELULOSE.....	54
3.2.4	PREPARO DOS PONTOS QUÂNTICOS DE CARBONO.....	54
3.3	CARACTERIZAÇÃO DOS MATERIAIS	54
3.3.1	ANÁLISE DO TEOR DE CELULOSE.....	54
3.3.2	MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA	55
3.3.3	MICROSCOPIA LETRÔNICA DE TRANSMISSÃO.....	55
3.3.4	BIRREFRINGÊNCIA DE FLUXO.....	55

3.3.5	ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)	55
3.3.6	TERMOGRAVIMETRIA (TGA)	55
3.3.7	DIFRAÇÃO DE RAIOS X (DRX).....	56
3.3.8	POTENCIAL ZETA.....	56
3.3.9	ABSORÇÃO NA REGIÃO DO UV-VIS	56
3.3.10	ESPECTROFOTOMETRIA DE FLUORESCÊNCIA	56
3.3.11	AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA	57
4	RESULTADOS E DISCUSSÕES	58
4.1	IDENTIFICAÇÃO DA ESPÉCIE DO BAMBU.....	58
4.2	CARACTERIZAÇÃO DA CELULOSE E NANOCRISTAIS DE CELULOSE	58
4.2.1	TEOR DE CELULOSE	58
4.2.2	BIRREFRINGÊNCIA DE FLUXO.....	61
4.2.3	ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)	62
4.2.4	TERMOGRAVIMETRIA (TGA)	64
4.2.5	DIFRAÇÃO DE RAIOS X (DRX).....	66
4.2.6	POTENCIAL ZETA SIZE	68
4.2.7	MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA E TRANSMISSÃO	69
4.3	CARACTERIZAÇÃO DOS PCs.....	71
4.3.1	IRRADIAÇÃO POR LUZ ULTRAVIOLETA.....	71
4.3.2	PROPRIEDADES ÓTICAS	75
4.3.3	POTENCIAL ZETA SIZE	84
4.3.4	MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO	85
4.3.5	ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)	87
4.3.6	AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA	88
5	CONCLUSÕES.....	90
	REFERÊNCIAS	91
	ANEXO I.....	101

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da UFAC

N972p Nunes, Marcelo Ramon da Silva, 1988 -
Preparação e caracterização de pontos quânticos de grafeno a partir da celulose e nanocristais de celulose de bambu (*Guadua weberbaueri Pilger*) / Marcelo Ramon da Silva Nunes; orientador: Prof. Dr. Fernando Sérgio Escócio Drummond Viana de Faria e coorientador: Prof. Dr. Anselmo Fortunato Ruiz Rodriguez. – 2023.
119 f.: il.; 30 cm.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Acre, Programa de Pós-Graduação em Rede de Biodiversidade e Biotecnologia da Rede BIONORTE, Rio Branco, 2023.

Inclui referências bibliográficas e anexos.

1. Polpa Celulósica de Bambu. 2. Nanocristais de celulose. 3. Reação hidrotermal. I. Faria, Fernando Sérgio Escócio Drummond Viana de. (orientador). II. Rodriguez, Anselmo Fortunato Ruiz. (coorientador). III. Título.

1 INTRODUÇÃO

Os nanomateriais são especialmente interessantes devido às suas propriedades físicas, químicas e eletrônicas, ajustáveis. A partir de 1985 algumas nanoestruturas de carbono foram descobertas. Os nanomateriais baseados em carbono fullereno, os nanotubos de carbono, o grafeno, os pontos quânticos de grafeno ou carbono (PCs) e os nanodiamantes foram e continuam sendo estudados extensivamente devido às suas propriedades intrínsecas ajustáveis (MATHUR e SINGH, 2017; JELINEK, 2017).

Os PCs só foram descobertos, e de forma acidental, em 2004. Desde então, muitas pesquisas têm sido realizadas a fim de encontrar aplicações tecnológicas. Esse nanomaterial tem atraído enorme atenção para aplicações bioanalíticas devido à sua facilidade de funcionalização para a detecção de analitos de interesses (MATHUR e SINGH, 2017; GONÇALVES et al, 2016; JELINEK, 2017).

Vale ressaltar que nos últimos anos, o número de artigos publicados sobre uso e aplicação de PCs em diversas áreas tecnológicas cresceu de forma exponencial (CHENG, et. al., 2019; WHANG, 2019), levando a várias áreas de conhecimento e diversas utilidades para essas nanopartículas, indo desde a medicina (GONÇALVES et al., 2016), passando pela engenharia elétrica (MATHUR e SINGH, 2017) e de materiais, chegando à engenharia ambiental (SHARON e MEWDA, 2018).

Para obtenção de PCs por métodos relativamente fáceis e econômico são requeridas fontes de carbono acessíveis e baratas, por exemplo, proteínas, celuloses e carboidratos, as quais já foram extensivamente explorados nos últimos anos. Outros exemplos são: seda natural, albumina de soro bovino, fibra capilar, gelatina, glicerol, quitosana e sacarose (SATTLER, 2016; JALINEK, 2017). Além disso, produtos alimentares (por exemplo, caramelos, mel e pimentão) e biomassa (tais como, grama, folhas de plantas e cinzas de papel) também foram explorados como diversos precursores de reação para a síntese de PCs (LOSS, 2014).

Os métodos de preparação de PCs são bem diversificados, entre eles, destacam-se os hidrotermais, devido a possibilidade de aquecimento simultâneo, homogêneo e rápido, manipulação simples, relativo baixo consumo de energia e boa seletividade, resultando em PCs fotoluminescentes sem a necessidade de mais funcionalização ou passivação (JALINEK, 2017).

A versatilidade dos pontos de grafeno oferece enormes possibilidades em uma ampla gama de aplicações de imagem *in vitro* e *in vivo*, incluindo rastreamento de células em tempo real,

imagem vascular multiplexada em alta resolução, orientação intra-operatória de imagens e assim por diante.

Para expandir a funcionalidade dos pontos de grafeno, é muito importante projetar nano dispositivos multifuncionais baseados em pontos de grafeno que possam integrar a imagem, a carga de medicamentos e até as capacidades de detecção em uma única nanopartícula. Apesar de os PCs apresentarem grande potencial para aplicação e desenvolvimento de estratégias na nanomedicina para teranósticos avançados, as sondas de pontos de grafeno existentes ainda não são ideais o suficiente, deixando muito espaço para o avanço da nova engenharia para a superfície funcional dessas nanopartículas.

Além disso, melhorias recentes no design e na fabricação de sondas de pontos de grafeno, juntamente com a virtude potencial dessa tecnologia, mudaram o foco da preparação de sondas de componente único para a fabricação de nanoestruturas híbridas compostas por vários módulos de direcionamento, imagem e terapêuticos. Por exemplo, quando integrados a medicamentos ou terapêutica de ácidos nucleicos, os pontos de grafeno podem atuar como veículos de entrega rastreáveis.

Desse modo, este trabalho objetivou preparar e caracterizar, de modo prático e econômico, PCs a partir de um abundante recurso amazônico: o bambu da espécie *Guadua weberbaueri* Pilger. Para tanto, foi selecionada a rota sintética hidrotermal a partir de um reator autoclavado e dos solventes água e dimetilformamida (DMF). Resultados de caracterizações dos nanomateriais produzidos, mostraram que a fonte de carbono selecionada, bem como o método de síntese e os solventes utilizados foram eficientes para obtenção de PCs com expressivo rendimento quântico.

1.1 OBJETIVOS

1.2 Geral

Preparar e caracterizar pontos quântico de grafeno a partir da polpa e nanocristais de celulose do bambu *Guadua weberbaueri* Pilger por meio do método de carbonização hidrotérmica.

1.3 Específicos

- Preparar e caracterizar polpa de celulose e nanocristais de celulose a partir do bambu *Guadua weberbaueri* Pilger;
- Preparar e caracterizar PCs a partir da polpa de celulose e nanocristais de celulose do bambu usando água e dimetilformamida como solventes;
- Avaliar e comparar o rendimento quântico dos pontos de grafeno obtidos a partir da utilização de água e dimetilformamida como solventes;
- Avaliar e comparar o rendimento quântico dos pontos de grafeno obtidos a partir da polpa de celulose e nanocristais de celulose;
- Avaliar o efeito do tempo de reação hidrotérmica em função do rendimento quântico dos pontos de grafeno.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 BIOMASSA

A biomassa é um recurso natural dos ecossistemas, que provém de matéria orgânica, seja ela de origem vegetal ou animal (DEMIRBAS e ARIN, 2002). Este é o nome dado à matéria vegetal que é criada pela fotossíntese, em que a energia do sol converte CO₂ e água em matéria orgânica. Assim, a biomassa é direta ou indiretamente resultado do crescimento das plantas. É composta por elementos como carbono, hidrogênio, oxigênio e nitrogênio. Em menores proporções, pode-se encontrar enxofre na composição, ou até mesmo porções significantes de substâncias inorgânicas (GUEDES, 2010). Alguns exemplos de fontes de biomassa são os resíduos agrícolas, industriais, agropecuários e urbanos ou culturas plantadas exclusivamente para a obtenção de biomassa, como as plantações de eucalipto cultivadas por algumas indústrias de papel e celulose. Os combustíveis fósseis também podem ser chamados de biomassa, uma vez que são os restos fossilizados de plantas que cresceram alguns milhões de anos atrás (DEMIRBAS e ARIN, 2002).

Os principais constituintes moleculares da biomassa são hemicelulose, celulose e lignina. Estruturalmente, as cadeias de celulose (polissacarídeo formado por moléculas de glicose ligadas através de ligações β -1,4-glicosídicas) são unidas entre si por ligações de hidrogênio. Essas cadeias são, por sua vez, recobertas por hemiceluloses (polissacarídeos ramificados formados principalmente por D-xilose, com pequenas quantidades de L-arabinose, D-glicose, D-manose, D-galactose, ácido glucurônico e ácido manurônico) e ligninas (redes poliméricas tridimensionais formadas por unidades fenilpropano interligadas) (OGEDA e PETRI, 2010).

A aplicação da biomassa estende-se desde a possibilidade de reutilização para aproveitamento de seu potencial energético até a preparação de materiais tecnológicos com aplicações específicas. A grande disponibilidade de biomassa oriunda de inúmeras fontes, aliada à disponibilidade de variadas tecnologias, acarreta na possibilidade de adquirirmos materiais e moléculas úteis para processos industriais e laboratoriais diversos. Seu processamento térmico pode, por exemplo, produzir óleo fenólico, um produto químico usado para fazer adesivos para madeira, plástico moldado e espuma de isolamento (DEMIRBAS, 2004).

As ideias e as ferramentas que a nanotecnologia dispõe transformam substâncias simples e matérias-primas em novos materiais com propriedades extremamente atraentes. Um exemplo é a produção de material carbonoso mesoporoso a partir de carboidratos, que fornece material

para catálise heterogênea, purificação de água e desenvolvimento de aplicações para geração e armazenamento de energia. Isto cria oportunidades excelentes para agregar valor à recursos naturais de todos os tipos (GALEMBECK, 2009). O progresso no desenvolvimento de alternativas para a energia de biomassa, além de diminuir a demanda de consumo de recursos finitos (combustíveis fósseis), pode reduzir os custos de mitigação de emissões de carbono (GOLDEMBERG, 2009).

As diversas tecnologias para os processos de conversão de biomassa variam desde uma simples combustão para a obtenção da energia térmica, até processos mais elaborados, físico-químicos e bioquímicos, promovendo a produção de combustíveis sólidos, líquidos e/ou gasosos, como a pirólise, gaseificação, carbonização hidrotérmica, fermentação, entre outros (DEMIRBAS, 1997). A biomassa é uma fonte de energia limpa e renovável, que pode melhorar o nosso ambiente, a economia e a segurança energética. A energia da biomassa gera menos emissões de poluentes no ar comparado aos combustíveis fósseis, reduz a quantidade de resíduos enviados para aterros sanitários e diminui a dependência do petróleo (DEMIRBAS, 2004).

O carvão produzido a partir de material lignocelulósico da biomassa é chamado de biocarvão ou biochar, composto por carbono estável (carbono fixo) e uma porção que sofre degradação com maior facilidade (DEMIRBAS, 1997). O mesmo vem recebendo muita atenção da comunidade científica nos últimos anos, para diversas aplicações. A literatura apresenta estudos em que o biocarvão foi aplicado ao solo de forma intencional, visando obter estoque de carbono resistente à degradação no solo e benefícios agrícolas e florestais, como melhoria das características químicas, físicas e biológicas do solo, melhoria na capacidade de retenção hídrica e diminuição de perdas de nutrientes por lixiviação (ALHO, 2012; SOHI, 2010; LEHMANN, 2009).

No contexto da agricultura brasileira, a biomassa proveniente de resíduos agrícolas da produção de açúcar e etanol é um material com grande potencial de aplicação. O Brasil é um importante produtor de cana de açúcar e o bagaço pode ser aproveitado para gerar energia através do processamento em caldeiras. Na produção do álcool combustível, em média, cada tonelada de cana-de-açúcar produz 140 kg de bagaço e 140 kg de palha como resíduo (GUEDES, 2010). Além disso, outros resíduos também merecem destaque, como a casca de arroz, cascas de castanhas, côco da bahia, côco de babaçu e dendê, cascas de laranjas, resíduos florestais e madeira etc.

Bilba e Ouensanga (1996) estudaram as modificações estruturais do bagaço de cana por meio de pirólise, entre 200 e 800°C em atmosfera de N₂(g), e aplicação de diferentes taxas de aquecimento. O material carbonizado foi caracterizado por análise elementar e espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier. Os pesquisadores observaram que em 200°C já é possível verificar alterações estruturais em relação ao precursor. As principais transformações ocorreram na faixa entre 300 e 400°C, através da degradação dos constituintes do bagaço de cana. O tratamento térmico em temperaturas mais altas promoveu a formação de estruturas aromáticas, ruptura de ligações C-C e rearranjos na estrutura da lignina e liberação de compostos voláteis formados (BILBA, 1996).

Fengyi e colaboradores (2014) estudaram a carbonização hidrotérmica do bagaço de cana para obtenção de pontos quânticos de grafeno ou carbono (PCs). O material foi submetido a 180°C durante três horas, em autoclave de aço inox, na presença de solução aquosa de hidróxido de sódio 1 mol.L⁻¹. Foi possível obter nanopartículas com tamanho variando entre 1,2 e 3 nm, e rendimento quântico de 9%, em comprimento de onda de excitação de 360 nm (FENGYI, 2014).

2.2 BAMBU

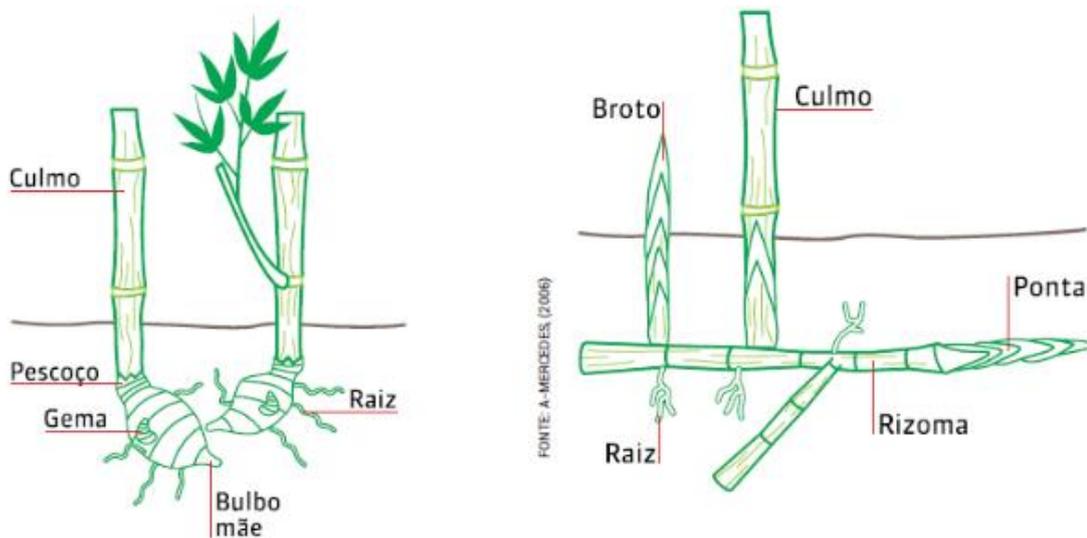
O bambu tem significado cultural e ecológico em muitos países da África, América e Ásia, onde fornece benefícios ambientais, sociais e econômicos (GRATANI et al. 2008). A distribuição de diferentes espécies de bambu nas regiões tropicais e subtropicais depende naturalmente de certas condições, como tipo de solo, precipitação, temperatura e altitude. As gramíneas de bambu crescem naturalmente em áreas que recebem uma precipitação de chuva anual variando de 1200 a 4000 mm, com temperatura média anual variando de 8 a 36 °C. Eles também crescem bem em diferentes tipos de solos, variando de aluvião rico a solos lateríticos duros, solo argiloso e solos arenosos (JANSSEN, 1991).

O uso multifuncional do bambu, levando em consideração sua resiliência, taxas de crescimento rápidas e a possibilidade de colheita múltipla em poucos anos, são vantagens significativas em relação às outras espécies florestais. O uso polivalente do bambu como substituto da madeira tem muitos benefícios devido aos seus colmos lignificados, crescimento rápido, sistemas de rizoma complexo e suas características sustentáveis e regenerativas. O bambu tem um valor de conservação e pode aliviar fenômenos que emanam das mudanças climáticas globais (LONDOÑO, 1992).

O bambu é uma planta composta versátil que abrange diferentes espécies, sendo difíceis de identificar ou classificar. No entanto, dada a sua importância ecológica e econômica, a identificação correta é fundamental para sua conservação e desenvolvimento. Isso é possível porque essas plantas possuem um robusto sistema de classificação filogenética que sustenta sua identificação. Existem aproximadamente 1100 a 1500 espécies diferentes de bambu que foram identificadas e classificadas em uma variedade de mais de 115 espécies de gêneros em todo o mundo (ZHAOHUA e WEI, 2018). Eles são classificados como grama, e não como árvores, com doze grandes subfamílias (*Anomochlooideae*, *Arundinoideae*, *Aristidoideae*, *Danthonioideae*, *Ehrhartoideae*, *Micrairoideae*, *Poaceae*, *Pharoidaeae*, *Puelioideae*, *Pooideae*, *Chloridodeae* e *Panicoideae*). O bambu como grama pertence ao grupo e a ordem angiospermas e monocotiledôneas, respectivamente. As gramíneas de bambu são um membro da subfamília *Poaceae* (*Gramineae*). (LONDOÑO, 1992; OSEI et al., 2019; ZHAOHUA e WEI, 2018).

O bambu é dividido em duas partes principais, os rizomas e os colmos, conforme observa-se na figura 1. A parte subterrânea do colmo (caule) é conhecida como rizoma. Os rizomas armazenam os nutrientes para o crescimento e protegem a planta no solo para seu sustento. Os rizomas consistem em botões que se desenvolvem em brotos que emergem do solo para formar um grupo de colmos. O colmo, propriamente dito, é a parte superior da grama de bambu que contém a maior parte do material lenhoso. (SMITH e NELSON, 2011).

Figura 1 – Morfologia do crescimento de uma planta de bambu



Fonte: Drumond e Wiedman (2017, p. 29)

O colmo de um bambu é cilíndrico e subdividido em seções por diafragmas ou nós. A seção entre dois nós ao longo do colmo é conhecida como internódio (ALEXOPOULOU, 2018). O colmo por natureza é oco, com um diâmetro variando de 0,64 cm a 30,48 cm, mas possui uma parede espessa, o que o torna ideal para a produção de componentes estruturais, e uma altura de 0,30m a 36m. No entanto, o bambu não possui casca, mas possui uma pele externa dura e macia devido à presença de sílica (ZHOU et al., 2005).

Os sistemas de galhos, bainha, folhas de folhagem e flores complementam o colmo do bambu. As espécies de bambu diferem umas das outras em características, como o estilo de crescimento do colmo, que pode ser principalmente ereto ou ereto com pontas caídas, escaladas ou arqueadas. O bambu possui um material compósito natural de fibras de celulose imersas em uma matriz de lignina com uma resistência à tração média de cerca de 700 MPa. Possui maior resistência à tração, relação resistência/peso e capacidade específica de suporte de carga em comparação com o aço maciço. No entanto, menos energia é necessária para o seu processamento (ALEXOPOULOU, 2018).

2.2.1 BAMBU COMPARADO COM ÁRVORES (MADEIRA)

O bambu é uma das plantas que cresce mais rapidamente no planeta, com taxas de crescimento mais altas relatadas em regiões climáticas tropicais e subtropicais, se comparado com árvores de extração de madeira. Todo bambu amadurece rapidamente e pode ter de 40 a 50 caules em um grupo, o que adiciona 10 a 20 colmos por ano (SMITH e NELSON, 2011), em comparação com a madeira que não adiciona uma única sessão. O bambu pode atingir sua altura máxima em quatro a seis meses com incrementos diários de 15 a 18 cm, enquanto a madeira leva anos. A característica de rápido crescimento do bambu oferece uma vantagem adicional para sua utilização, pois é um recurso renovável de alto rendimento, barato e abundante em todo o mundo para múltiplas aplicações industriais (SMITH e NELSON, 2011).

Existem várias características diferentes entre bambu e madeira (JANSSEN, 1991). As características dimensionais do bambu, como diâmetro, espessura e comprimento internodal, são estruturalmente macroscopicamente graduadas, enquanto a distribuição da fibra tem uma arquitetura microscopicamente graduada, o que leva a propriedades muito mais desejáveis (LONDOÑO, 1992).

Algumas espécies prosperam em climas temperados na África, Ásia e Américas. Diz-se que a planta de bambu é um dos mais antigos materiais de construção e reforço. Eles crescem em planícies, colinas e regiões montanhosas de alta altitude, e na maioria dos tipos de solos, exceto em alcalinos, desertos e pântanos. Eles podem crescer do nível do mar até os 4300 m. O crescimento do bambu é adequado em solo argiloso, bem drenado, arenoso a argila, ou solo derivado de rochas subjacentes com um pH de 5,0-6,5 (JANSSEN, 1991).

2.2.2 DIFERENÇAS NAS CARACTERÍSTICAS DOS RIZOMAS E RAÍZES DE BAMBU E ÁRVORES

As árvores não têm rizomas e possuem raízes apenas subterrâneas, enquanto os colmos de bambu consistem em rizomas e raízes dentro de sua parte subterrânea (JANSSEN, 1991; SMITH e NELSON, 2011). Segue abaixo algumas comparações entre árvores (madeira) e bambu:

- As hastes das árvores são principalmente de natureza sólida, enquanto as hastes de bambu são ocas e segmentadas.

- O caule da árvore tem como parte mais rígido a parte central, enquanto o bambu tem como seção mais rígida o caule que é a periferia do colmo.
- Pode-se dizer que as hastes de bambu não têm cobertura de casca em comparação com as hastes das árvores.
- Os caules das árvores crescem lentamente em altura e diâmetro por várias estações, enquanto os colmos de bambu crescem extremamente rápido em altura, variando até 36 m em seis meses, atingindo a altura máxima em uma estação de crescimento.
- As hastes das árvores crescem como entidades independentes, enquanto as hastes de bambu crescem em associação a partir de uma rede de rizomas, de modo que cada colmo depende dos outros em um grupo.
- A colheita do caule de uma árvore não influencia diretamente as árvores remanescentes dentro da plantação, por outro lado, no caso da colheita de caules de bambu, há um efeito direto no restante das hastes da comunidade.
- Há comunicação radial (lateral) através das hastes das árvores, enquanto no bambu não há trocas radiais (laterais) nas hastes, exceto nos nós.

2.2.3 ORIGEM DO BAMBU E SEUS HABITATS

A grama de bambu floresce com três ou mais lodículos, geralmente com seis estames, e seus frutos possuem um pequeno embrião e hilo linear. Nos últimos anos, algumas das espécies de bambu conseguiram crescer em habitats abertos, gramíneos ou arbustos em altas altitudes nos trópicos (LONDOÑO, 1992). A planta de bambu é distribuída globalmente em todos os continentes, exceto na Antártica e na Europa (figura 2). No entanto, algumas espécies foram introduzidas na Europa há alguns anos.

Figura 2 – Distribuição geográfica dos bambus lenhosos no mundo.



Fonte: Adaptado de Zhaohua e Wei (2018).

As principais espécies estão distribuídas na Ásia (China com cerca de 626 espécies, Índia com 102 espécies, Japão com 84, Mianmar 75 e Malásia com 50 espécies). Também na América do Sul, o Brasil possui 134 espécies, Venezuela 68, Colômbia 56, enquanto a África possui cerca de cinco espécies. É distribuído da latitude 47°N a 50° 30'N. O bambu ocupa uma ampla variedade de tipos de habitat de gramíneas, especialmente em florestas, desde as zonas climáticas temperadas até as tropicais, onde geralmente são dominantes e são elementos altamente visíveis da vegetação (ZHAOHUA; WEI, 2018).

2.2.4 O BAMBU NO BRASIL

O Brasil possui a maior diversidade de bambu das Américas, com 89% dos gêneros e 65% das espécies conhecidas de bambu representadas. Essas espécies estão distribuídas na Mata Atlântica, no Cerrado e na Amazônia (ABREU et al., 2014; BONILLA et al., 2010). Apesar da representação do bambu na estrutura e composição dos biomas brasileiros e em sua ampla gama de aplicações, pouca atenção acadêmica, ecológica ou comercial foi dada a esse grupo de plantas. Abaixo está listado três dos diversos gêneros de bambu mais presentes no Brasil:

- *Aulonemia* Goudot é um gênero de bambu lenhoso tropical que compreende pelo menos 40 espécies. O gênero é distribuído do México ao sul do Brasil, com quase todas as espécies

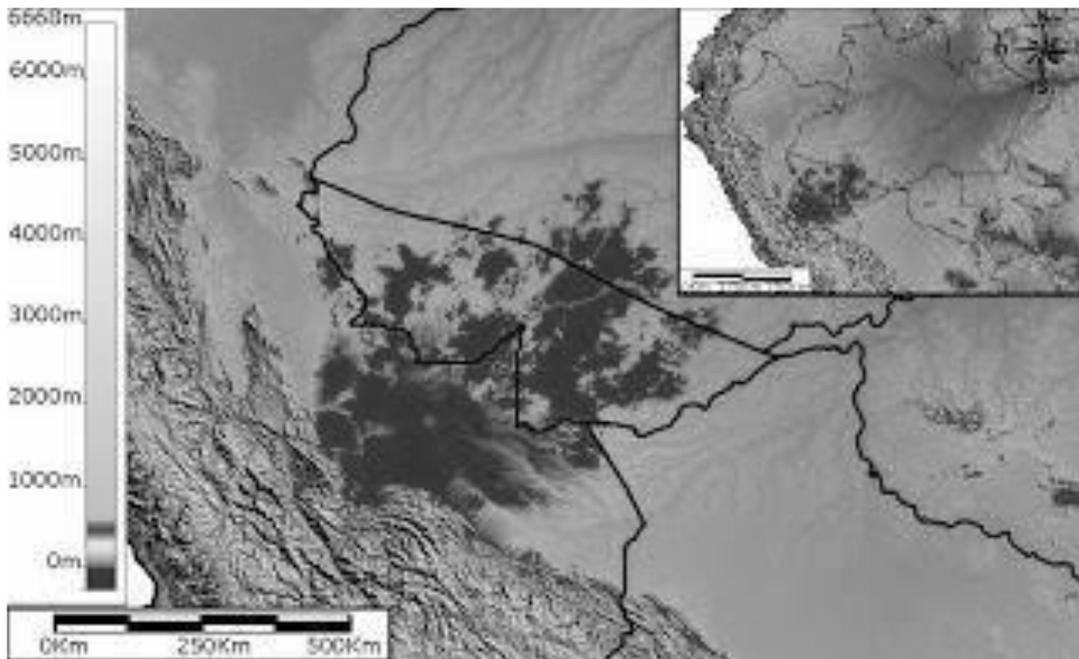
encontradas em locais úmidos e de alta elevação. No Brasil, 15 espécies de *Aulonemia* foram formalmente descritas, quase todas ocorrendo na Mata Atlântica, um hotspot de biodiversidade (JANSSEN, 1991);

- *Aulonemia aristulata* (Déll) McClure (subtribo *Bambuseae*) é endêmica no Brasil. É tipicamente encontrado nas florestas atlânticas das regiões sudeste e centro-leste como um componente não dominante do sub-bosque. Recentemente, foi demonstrado o potencial farmacológico dessa espécie como antioxidante, devido à presença de compostos fenólicos (ROKWELL e KAINER, 2015) e

A *Aulonemia aristulata* é considerada vulnerável à extinção, de acordo com a lista oficial de espécies ameaçadas de extinção em São Paulo. Esta espécie mostra populações descontínuas e de baixa densidade, mas pode atingir altas densidades nas bordas da floresta e pode dominar o sub-histórico de fragmentos de florestas perturbados pelo dossel (RIBERIO et al., 2018). Muitas das florestas brasileiras dominadas por bambu foram possivelmente incentivadas pela ocupação indígena histórica. No entanto, poucos pesquisadores que trabalham na América Latina avaliaram o conhecimento ecológico local da floresta de bambu e as práticas de manejo aplicadas pelos pequenos agricultores (DALAGNOL et al., 2018).

Após longas pesquisas Londoño e Peterson (1991) concluíram que a paisagem da região sudoeste da bacia amazônica era dominada pela espécie *Guadua weberbaueri*, que se estendia desde a porção sul da Amazônia peruana até o estado do Acre, no Brasil, e também para partes isoladas do norte da Bolívia (LONDOÑO e PETERSON, 1991; RIBEIRO, 2018; SIVIERO et al., 2019; SILVEIRA, 2001) (figura 3). A espécie *Guadua* desempenha um papel dominante e frequentemente invasivo na dinâmica dos ecossistemas regionais, dificultando a regeneração e o recrutamento de espécies arbóreas (SILVEIRA, 2001; SMITH e NELSON, 2011).

Figura 3 – Densidade da distribuição geográfica dos bambus no sudoeste da Amazônia (sombra mais escura).



Fonte: Silveira (2001)

Embora o mecanismo de direcionamento para o estabelecimento e persistência desse tipo de floresta ainda seja debatido, Smith e Nelson (2011) postulam que os incêndios florestais (cada vez mais frequentes no sudoeste da Amazônia) (BARBOSA, 2019; NÚMERO DE INCÊNDIOS, 2019; MENDES, 2019; CASTRO, 2019) estão favorecendo a disseminação e o domínio de *Guadua*. Esse domínio só é abandonado em períodos de 25 a 30 anos quando os bambus adultos florescem sincronicamente, dão frutos e morrem em grandes áreas (RIBEIRO, 2018; SIVIERO et al., 2019; SILVEIRA, 2001). As florestas dominadas por *Guadua* cobrem uma área contígua de pelo menos 161.000 km² no sudoeste da Amazônia (RIBEIRO, 2018; SIVIERO et al., 2019; SILVEIRA, 2001), sugerida por alguns como a maior floresta de bambu do mundo (LONDOÑO, 2001).

2.2.5 O POTENCIAL ECONÔMICO DO BAMBU

As regiões tropicais, principalmente a América do Sul e a África, estão enfrentando a maior perda de floresta do mundo, principalmente devido ao aumento da demanda por recursos florestais, agricultura e expansão de assentamentos (ZHOU et al., 2005). Infelizmente, a degradação florestal acelera a perda de biodiversidade e afeta negativamente os meios de subsistência dependentes da floresta (SIVIERO et al., 2019). Por outro lado, projeta-se que a pressão sobre as florestas aumente porque a demanda por madeira e outros produtos de base florestal está ligada ao rápido crescimento populacional e industrialização (ZHOU et al., 2005). Portanto, é fundamental uma busca por recursos naturais alternativos que possam melhorar o meio ambiente e aumentar a renda das comunidades locais (ROCKWELL e KAINER, 2015).

Nas últimas décadas, uma onda de interesse em florestas de bambu gerou informações científicas valiosas sobre a ecologia da floresta neotropical dessa planta, definida como tendo dez ou mais colmos de bambu por 100 m² de floresta (LONDOÑO; PETERSON e 1991; CASAGRANDE JR., 2005; D'OLIVEIRA et al., 2013; DELAGNOL et al., 2018; SMITH e NELSON 2011).

Nas áreas tropicais e subtropicais, os bambus representam entre 20% e 25% da biomassa total, o que contribui para seu status como um dos recursos renováveis mais importantes. Portanto, é necessário aprimorar a pesquisa sobre o bambu para criar um vínculo sólido entre o desenvolvimento econômico e as estratégias de conservação ambiental (CARVALHO et al., 2013).

O bambu é uma das plantas que tem o potencial de substituir as árvores por iniciativas de desenvolvimento (OSEI et al. 2019). A grama tem sido usada para controlar a erosão, proteger as margens dos rios, conservar a biodiversidade e para inúmeras iniciativas de adaptação e mitigação das mudanças climáticas (LONDOÑO e PETERSON, 1991; SMITH e NELSON, 2011). Em muitas partes da região asiática, o bambu é considerado um importante recurso socioeconômico devido à sua abundância e forte uso tradicional.

Na Amazônia brasileira o bambu é pouco explorado, sendo tratado ainda por diversos extrativistas como uma praga a ser combatida. Porém, pela grande extensão que a floresta de bambu do tipo *Guadua weberbaueri* ocupa, suas aplicações comerciais e industriais são muitas, principalmente em função da grande quantidade de matéria prima disponível e pela forma acelerada com que as florestas de bambu crescem (BONILLA et al., 2010).

2.3 CELULOSE

Também conhecida por ser o principal constituinte da biomassa, a celulose é um polímero estrutural natural, abundante, acessível e biodegradável. Vegetais e algas são capazes de sintetizar a celulose por meio da fotossíntese. No que diz respeito à parede celular da espécie, a proporção entre celulose, hemicelulose e lignina depende do tipo de vegetal, das condições de crescimento, da parte do vegetal escolhida, da idade de colheita etc (OGEDA, 2010; DE MESQUITA, 2012). Além disso, cianobactérias, algas, fungos, amebas e invertebrados marinhos também podem praticar a biossíntese da celulose (MOON, 2011).

A celulose é um polímero estrutural linear, e não ocorre de forma isolada. A polimerização é obtida através de ligações glicosídicas β -1,4 entre unidades D-glicopiranosose. A unidade de repetição é composta por um dímero chamado celobiose. Os grupos hidroxilas da estrutura polimérica geram interações intermoleculares do tipo ligações de hidrogênio intramoleculares, as quais são responsáveis pela rigidez das cadeias unitárias e interações intermoleculares, responsáveis pela formação da fibra vegetal (MOON, 2011).

Cadeias de celulose nas paredes celulares de vegetais apresentam diferentes graus de polimerização, na faixa de 5.000 u a 7.500 u, podendo chegar a 10.000 u na madeira ou 15.000 u no algodão (DE MESQUITA, 2012). À temperatura ambiente, os anéis de glicose encontram-se em conformação cadeira mais estável, não fazendo transições para outra conformação cadeira ou para várias possíveis formas barco-deformado. Com os anéis nesta conformação, os grupos hidroxilas ligados por ligações de hidrogênio e os substituintes hidroximetilas dos anéis de piranose são equatoriais, direcionados à periferia do anel, enquanto os hidrogênios estão em posições axiais, apontando tanto para cima quanto para baixo, em relação ao plano médio dos anéis (OGEDA, 2010; DE MESQUITA, 2012).

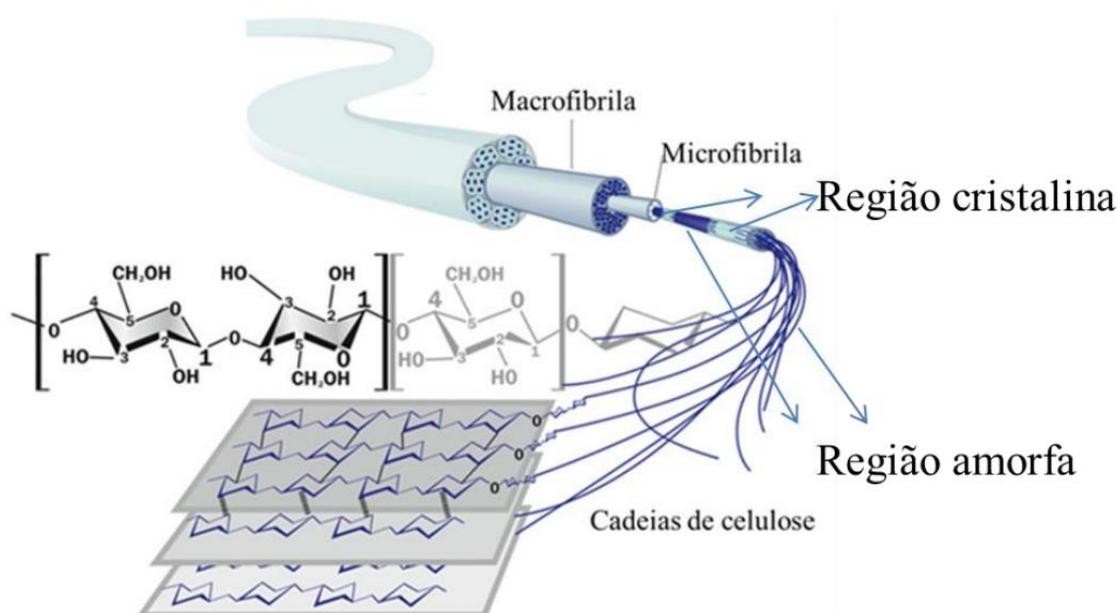
A parede celular dos vegetais é um tecido semipermeável, composto de depósitos em camadas de celulose fibrilar, em que são incorporados mais polímeros amorfos, incluindo polissacarídeos neutros e ácidos, glicoproteínas, e substâncias cerosas aromáticas. Além da função estrutural, a parede celular tem um papel fundamental na proteção dos vegetais frente ao ataque de microrganismos (RAVEN, 2001).

O papel estrutural da celulose tem sido comparado a fios de nylon, fibra de vidro ou às hastas de suporte dentro do concreto reforçado. Fibrilas de celulose são insolúveis, inelásticas e sua configuração molecular faz com que as fibrilas apresentem resistência à tração

comparável à do aço. A celulose confere uma combinação única de resiliência química, flexibilidade e suporte mecânico para os tecidos em que reside (ROSS, 1991).

A composição estrutural da celulose é organizada em macrofibrilas e microfibrilas. As macrofibrilas são formadas por conjuntos de muitas microfibrilas. Por sua vez, as microfibrilas são constituídas por regiões cristalinas, com maior organização (micelas), e regiões amorfas (Figura 4). A produção das microfibrilas de celulose é um processo de várias etapas, bastante específico do organismo produtor. Variações neste processo influenciam a morfologia, a estrutura cristalina, e as dimensões das fibrilas resultantes (MOON, 2011).

Figura 4 – Imagem representativa da estrutura de celulose.



Fonte: http://www.jrs.eu/jrs_en/innovative-funktionen/uebersicht-funktionen-jrs-produkte/index.php

As regiões amorfas são mais susceptíveis a reações e processos de hidrólise. A geometria espacial deste arranjo covalente de cadeias poliméricas paralelas não ramificadas dá origem a estruturas fibrilares estendidas, com grupos hidroxilas disponíveis para estabelecer interações intermoleculares com os filamentos adjacentes. Surge dessa forma um grau de ordenamento suficientemente elevado para ser detectado por difração de raios X (ROSS, 1991).

O grau de cristalinidade da celulose refere-se à quantidade relativa de celulose na região ordenada da estrutura fibrilar. A alta organização da estrutura cristalina da celulose e as interações intermoleculares e intramoleculares conferem às fibras de celulose uma alta

resistência à tração, à elongação e à solvatação (DA SILVA, 2008). As cadeias poliméricas são coesas devido ao estabelecimento de uma rede de interações intramoleculares, instituídas entre um oxigênio O (6) ligado ao carbono 6 e a hidroxila O (2)H ligada ao carbono 2 da molécula de glicose adjacente, e a hidroxila ligada ao carbono 3, O (3)H com o oxigênio no anel da molécula adjacente (SJOSTROM, 1981).

2.4 MUNDO NANO E PRINCIPAIS DESCOBERTAS

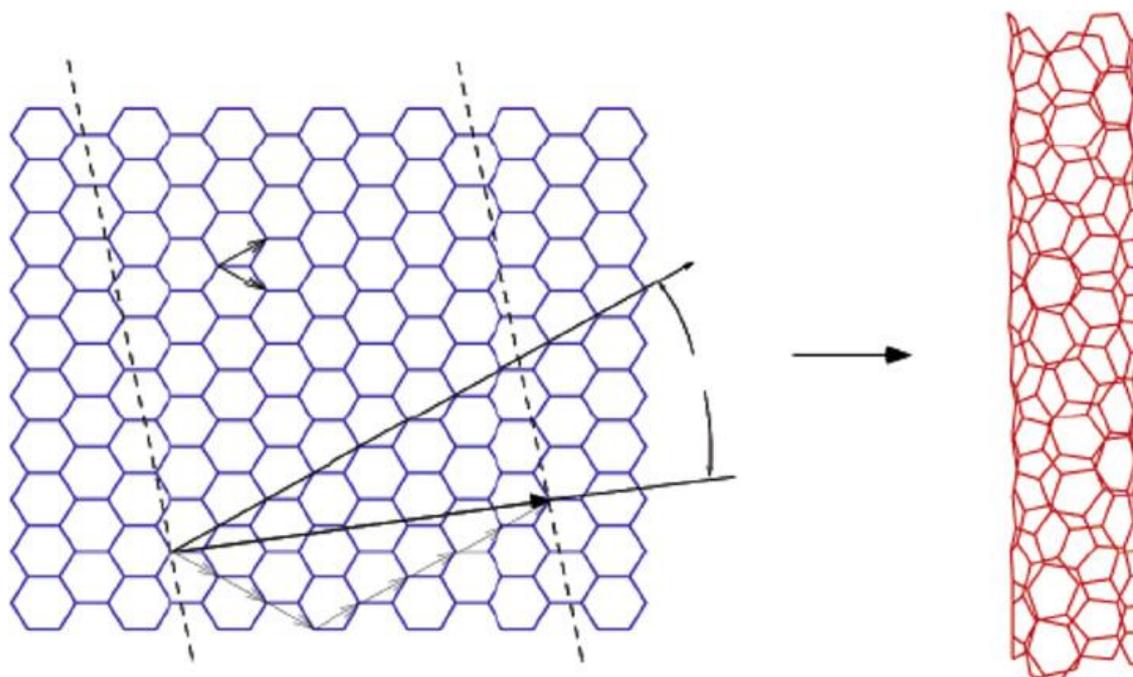
NANOTUBOS DE CARBONO

Por volta de 1990, enquanto se explorava novas formas de fulerenos, Smalley (ANO) sugeriu a possibilidade de fulereno tubular: um segmento reto de tubo de carbono tampado, talvez por dois hemisférios de C_{60} nas duas extremidades do tubo. Em geral os fulerenos são sólidos de cor preta e quando dispersos em determinados solventes formam suspensões coloridas. O C_{60} , por exemplo, forma uma suspensão magenta, o C_{70} uma suspensão vinho e o C_{76} amarelo/esverdeado. Existem também o C_{84} , o C_{92} e o C_{540} . O fulereno C_{20} apresenta apenas 12 pentágonos não possuindo hexágonos. O fulereno C_{70} , assemelha-se a uma bola de futebol, com mais hexágonos, porém com o mesmo número de pentágonos (JELINEK, 2017).

Embora a ideia de Smalley possa ou não estar diretamente relacionada à grande entrada de nanotubos de carbono (NTCs) no mundo científico, certamente quando o pesquisador japonês Sumio Iijima, relatou a primeira observação de NTCs de paredes múltiplas (JELINEK, 2017) no ano seguinte (1991), o mundo foi trazido para testemunhar mais uma onda de outra nova forma de carbono (HUI ET al., 2019).

Iijima foi capaz de demonstrar claramente a presença de nanotubos concêntricos produzidos por evaporação de grafite por descarga de arco, cada um composto de 2 a 50 camadas de folhas de carbono. Dois anos depois, em 1993, o nanotubo de carbono de parede única (NTPU) (figura 5) foi identificado pela primeira vez em um laboratório por Iijima e Ichihashi e, independentemente, por Bethune et al. (JELINEK, 2017).

Figura 5 - Nanotubo de carbono de parede única formado a partir de folha de carbono.



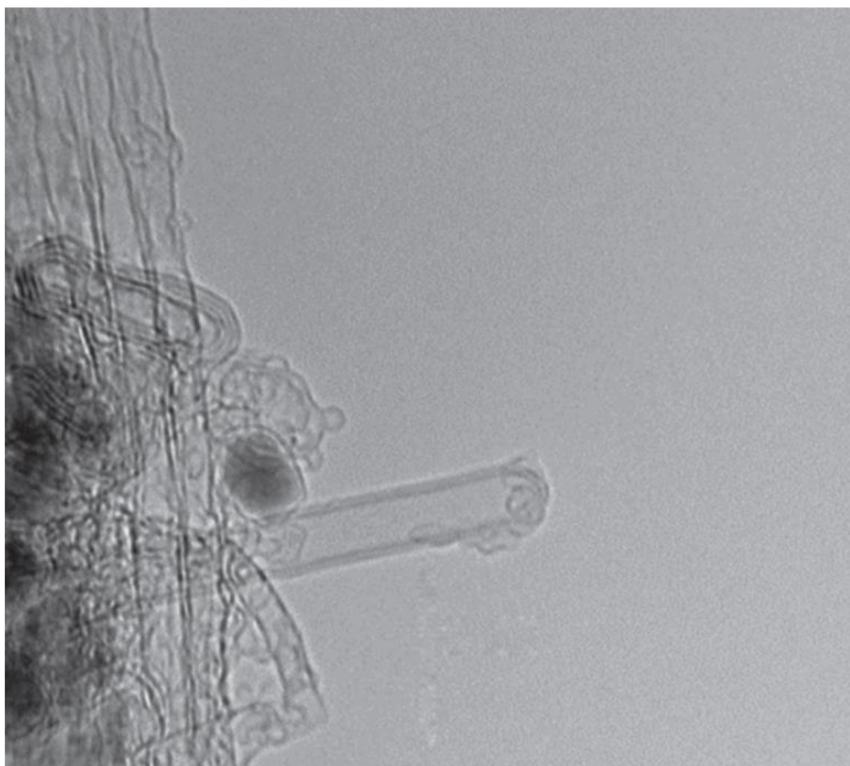
Fonte: Hui et al. (2019, p. 7)

O NTPU é composto de uma única camada de átomos de carbono em formato de uma folha, arranjados numa configuração sp^2 , cilíndrica e com diâmetro variando de poucos angstroms a nanômetros, tudo dependendo do método e condições particulares de síntese. O comprimento normalmente varia de centenas de nanômetros a micrômetros (CHENG e et. al., 2019; KLINGELER e SIM, 2011; RAY e JANA, 2017).

As fortes ligações carbono-carbono e a rede que eles formam tornam os NTCs (figura 6) 375 vezes mais fortes do que o aço e apenas 1/16 mais densos. Como resultado, os NTCs encontraram seu uso comercial facilmente em aplicações leves, como quadros de bicicletas e tacos de golfe (RAY e JANA, 2017).

Com sua enorme área de superfície específica $> 1600 \text{ m}^2/\text{g}$, o NTC mostra uma extraordinária capacidade de adsorção de superfície comparável ou, em alguns casos, melhor que o carvão ativado como material de adsorção, tudo por causa de sua estrutura altamente incomum (CHENG et. al., 2019).

Figura 6 - Nanotubo de carbono apresentado em uma imagem de alta resolução.



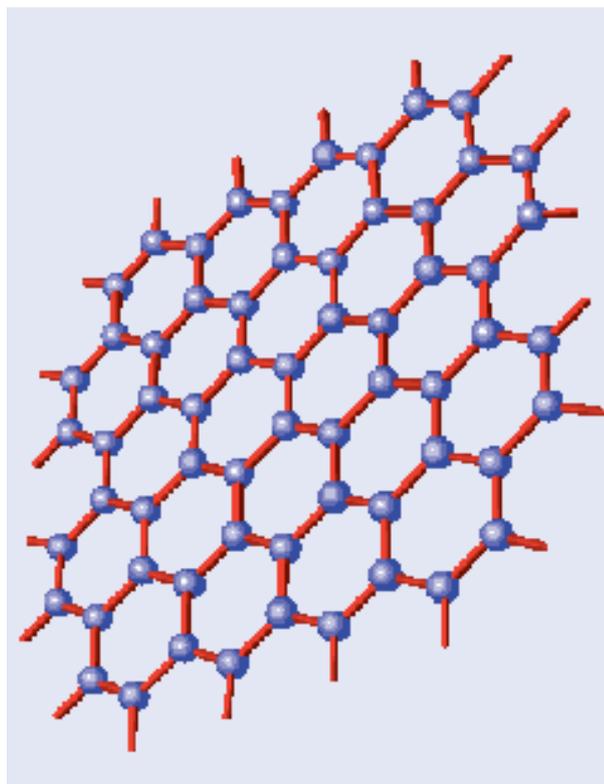
Fonte: Sattler (2016, p. 342)

GRAFENO

Pelo que sabemos, o grafeno pode estar ao nosso redor há séculos. No entanto, foi somente em 2004 que Konstantin Novoselov e Andre Geim isolaram (usando fita adesiva) uma única camada e poucas camadas de grafeno “suspenso” de grafite pirolítica altamente orientada (JELINEK, 2017). O grafeno é caracterizado como folhas empilhadas individuais ou de poucas camadas de átomos de carbono hibridizado com sp^2 , onde o número de folhas não excede 10 (MATHUR e SINGH, 2017). A estrutura do grafeno é referida como hidrocarbonetos aromáticos policíclicos infinitos, contendo um número incontável de anéis de benzeno fundidos (MATHUR e SINGH, 2017; ZHANG et al., 2016).

O grafeno é o primeiro nanomaterial bidimensional conhecido por existir em forma suspensa (figura 7), desafiando o conhecimento convencional anterior de que o material bidimensional seria termodinamicamente instável demais para existir. De fato, com força intrínseca de 130 GPa, módulo de Young por camada de 350 N/m e força de ruptura de 42 N/m, em sua forma tridimensional o grafeno é um dos materiais mais fortes do mundo já descobertos e, portanto, garante um título como supercarbono (JELINEK, 2017; LOSS, 2014; RAY e JANA, 2017).

Figura 7 – Estrutura do grafeno.



Fonte: Zhang et al. (2016, p. 32)

Como uma membrana cristalina 2D, o grafeno possui, coletivamente, um conjunto de propriedades únicas, superando qualquer outro material conhecido atualmente. Essas propriedades incluem uma área superficial específica extremamente grande ($2630 \text{ m}^2/\text{g}$), baixa densidade ($<1 \text{ g/cm}^3$), mobilidade de carga ultra alta ($> 2 \times 10^5 \text{ cm}^2/\text{Vs}$), excelente condutividade elétrica (10^4 S/cm) e boa condutividade térmica ($> 5000 \text{ W/mK}$) comparado ao do cobre (400 W/m.K), uma absorção óptica de banda larga uniforme que varia de UV ultravioleta ao infravermelho distante (FIR) e excelente resistência mecânica e flexibilidade incomum (MATHUR e SINGH, 2017; GONÇALVES et al., 2016; JELINEK, 2017).

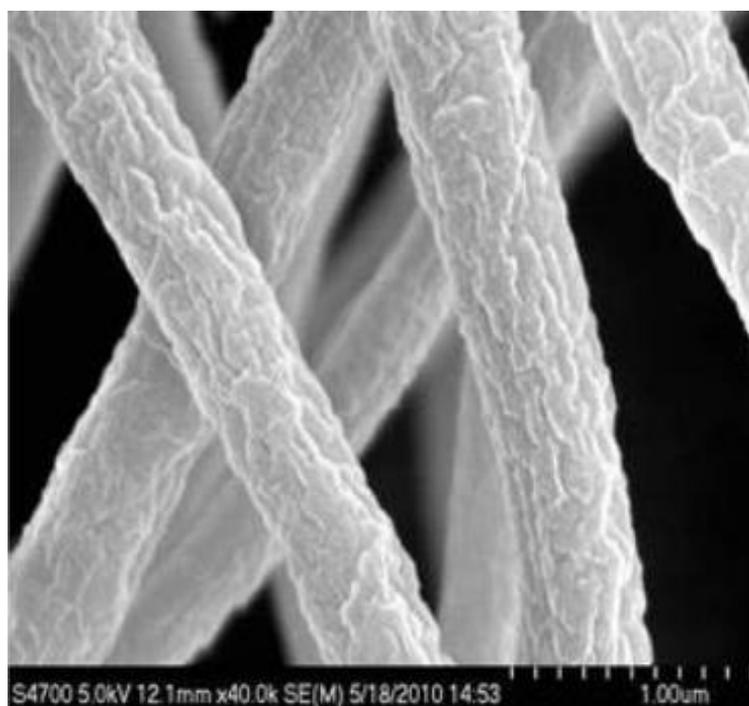
NANOCRISTAIS DE CELULOSE

Materiais à base de celulose, como madeira, algodão, cânhamo, linho, dentre outros, têm sido utilizados há séculos. Esses materiais de primeira geração, no entanto, não apresentam a durabilidade, uniformidade e funcionalidade para suprir as necessidades cada vez crescentes de materiais tecnológicos de alta performance, e atender às demandas atuais. As nanoestruturas

rígidas presentes no interior da celulose, os nanocristais de celulose (NCC), também chamados de *nanowhiskers* de celulose ou nanocelulose, são a base ideal para a indústria moderna de biopolímeros (MOON, 2011).

Com formato de bastões (figura 8), os NCC apresentam propriedades mecânicas, térmicas, óticas, dentre outras, que possibilitam sua utilização para diversas aplicações. A literatura apresenta algumas dessas possibilidades: reforço em material polimérico, filmes transparentes, filmes antimicrobianos, displays flexíveis, implantes biomédicos, supercapacitores, templates de dispositivos eletrônicos, elevada fonte de carbono para produção de materiais nanocarbonosos, etc (MOON, 2011).

Figura 8 – Imagem de microscopia eletrônica de varredura e NCC.



Fonte: USDA/FPL

A sua elevada cristalinidade relativa, fortes interações intermoleculares do tipo ligações de hidrogênio e forças de van der Waals, e sua estrutura de cadeia rígida dão origem a propriedades mecânicas que rivalizam com os de fibras sintéticas de aramida tais como Kevlar (SINKO, 2015).

A superfície das nanoestruturas contém grupos hidroxila que participam de reações químicas, portanto, existem inúmeras possibilidades de modificação da superfície deste material. Os NCC apresentam alta razão de aspecto e baixa densidade, em torno de $1,6\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$

(MOON, 2011). A razão de aspecto é a razão entre comprimento e largura (L/D , onde L é o comprimento e D o diâmetro) e depende do precursor celulósico utilizado para extração (SOUZA, 2017).

A literatura apresenta diversas rotas para extração e purificação dos NCC. O modo clássico de obtenção é através do processo de hidrólise ácida controlada da celulose, em temperaturas moderadas. A hidrólise ácida ocorre inicialmente com a protonação do oxigênio glicosídico. Em seguida, observa-se a quebra da ligação C1-O. O carbocátion gerado é estabilizado pela deslocalização do par de elétrons existente sobre o oxigênio do anel glicosídico, adjacente a C1. Ocorre um ataque nucleofílico da água sobre C1, promovendo a regeneração do ácido, encerrando a etapa de despolimerização (OGEDA, 2010).

Preferencialmente, as reações de hidrólise acontecem nas regiões amorfas, enquanto as regiões cristalinas permanecem intactas. O empacotamento das cadeias poliméricas nessas regiões é menos compacto, as interações intermoleculares são menos intensas, e por isso essas regiões são degradadas mais facilmente (OGEDA, 2010). NCC podem ser extraídos de diversas fontes, como algodão (DONG, 1998), rami (HABIBI, 2008), sisal (SIQUEIRA, 2009), tunicados (LIMA, 2002), celulose bacteriana (HIRAI, 2009), trigo (HELBERT, 1996), linho (CAO, 2008), entre outras.

As condições de tempo, velocidade de agitação, temperatura e concentração do ácido empregado no processo determinam as características apresentadas pelas estruturas nanocristalinas resultantes. A natureza do ácido utilizado e a proporção entre a quantidade de ácido e fibras celulósicas também é um parâmetro essencial. As suspensões aquosas resultantes contendo os NCC são subsequentemente diluídas e lavadas com ciclos sucessivos de centrifugação. A diálise também pode ser utilizada para remover o excesso de ácido das dispersões (OGEDA, 2010).

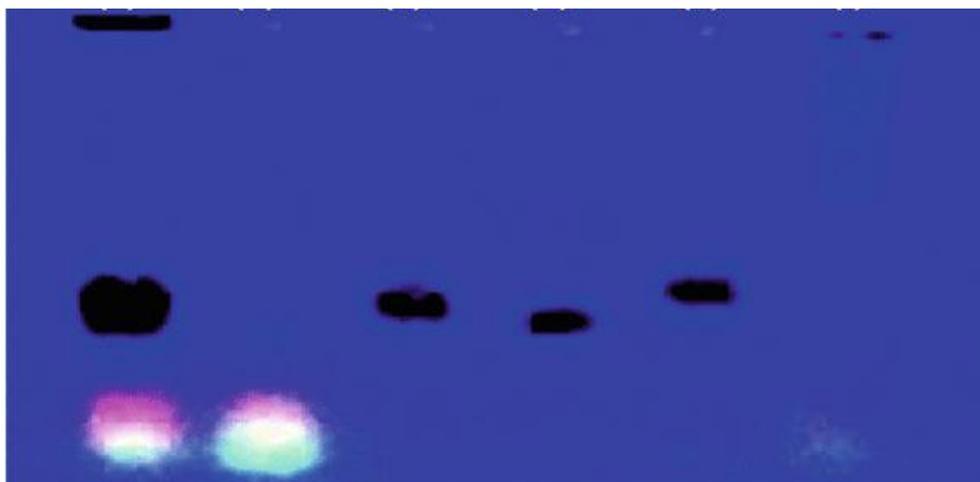
PONTOS QUÂNTICOS DE CARBONO (PCs)

Também conhecidos como carbon dots ou pontos quânticos de grafeno por possuir propriedades físicas, químicas e estruturas similar aos óxidos de grafeno, os PCs se diferenciam do grafeno em termo de tamanho, possuindo forma quase esférica com diâmetro abaixo de 10 nm (ARNAULT, 2017).

A primeira descoberta relatada dos PCs foi o resultado de um aparecimento acidental dessas nanopartículas fluorescentes como subproduto durante a purificação de NTCPU por Xu

e colaboradores no ano de 2004. Esta fração fluorescente separada durante a purificação foi identificada como uma mera impureza na fuligem do nanotubo bruto que em análises posteriores exibiu fluorescência na luz UV (Figura 9) (JELINEK, 2017).

Figura 9 – Nanopartículas de carbono: pontos brancos fluorescentes excitados com luz UV-vis e pontos pretos não excitados com qualquer tipo de luz.



Fonte: Jelinek (2017, p. 6)

A descoberta de PCs, que revelou uma nova forma de nanoestrutura de carbono fluorescente, atraiu os pesquisadores para explorar essas nanopartículas recém-encontradas e entender sua síntese e propriedades (MATHUR e SINGH, 2017; GONÇALVES et al., 2016; HUI et al., 2019). Posteriormente, essas nanopartículas de carbono foram denominadas Pontos Quânticos de Carbono devido às suas semelhanças impressionantes com pontos quânticos semicondutor inorgânico, como tamanho, propriedades e fotoatividade (JELINEK, 2017). Ainda em comparação com os semicondutores inorgânicos, os PCs mostram propriedades superiores por não possuir toxicidade *in vivo* (biocompatibilidade), resistência ao clareamento fotográfico, solubilidade em água e protocolo de síntese comparativamente barato (MATHUR e SINGH, 2017).

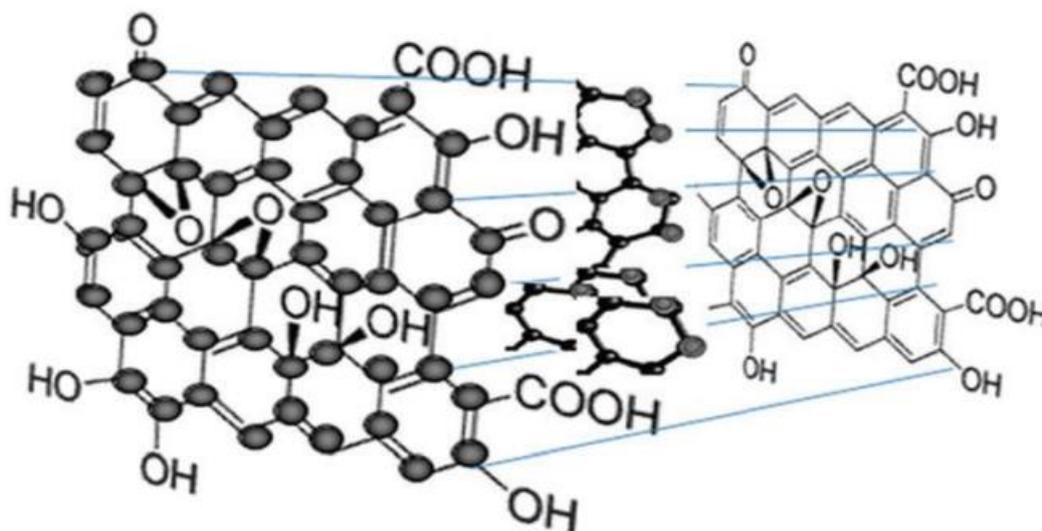
Os PCs detêm excelente fluorescência, síntese simples e baixo custo em comparação a nanopartículas inorgânicas fluorescentes. Numerosos estudos avaliaram a síntese em larga escala, propriedades e aplicações de PCs. A partir disso, foram demonstradas aplicações abrangentes desses nanomateriais, incluindo seu uso como biossensores, sondas de bioimagem e catalisadores (SHARON e MEWADA, 2018).

Além disso, as propriedades de fluorescência dos PCs os tornam úteis para aplicação em química analítica, particularmente na detecção de poluição ambiental e na bioimagem

(SHARON e MEWADA, 2018). Vários métodos analíticos para a detecção de compostos tóxicos baseados em biossensores ou eletroquímica foram propostos (LOSS, 2014); no entanto, a maioria desses métodos é imprecisa ou demorada em aplicações práticas (MATHUR e SINGH, 2017).

Diversos grupos químicos, incluindo nitrogenados, oxigenados e sulfonados, compõem a superfície dos PCs. Juntamente a isso, suas excelentes características de fluorescência, levaram esses nanomateriais ao desenvolvimento de sensores biológicos, como os para a detecção de contaminantes químicos industriais [p-nitrofenol (p-NP), 4-clorofenol (4-CP), fenol e 2,4,6-triclorofenol (2,4,6-TCP)]. Além disso, a boa fotoestabilidade e as propriedades ópticas, bem como a falta de fotodegradação, tornam os PCs adequados para a visualização de organismos *in vitro* e *in vivo*, como confirmado por vários pesquisadores (ATCHUDAN et al., 2019; CHENG et al., 2019; ROY et al., 2019; QIN et al., 2020; QU et al., 2020; ZHANG et al., 2020). A figura 10 mostra uma representação esquemática da estrutura química de um PC.

Figura 10 – representação esquemática da estrutura química de um PC.



Fonte: DEMCHENKO e DEKALIUK (2013).

Yang et al. (2020) estabeleceram a viabilidade de PCs para imagens *in vivo* em camundongos, com emissão detectável de fluorescência brilhante. Zhang et al. (2020) revelaram que, sob excitação a 405 nm, 488 nm e 543 nm, os PCs cultivados em células emitem forte fluorescência azul, verde e vermelha, respectivamente. Portanto, os PCs mostram um grande potencial para geração de imagens de células, imagens de bactérias e rotulagem como

nanomateriais fluorescentes biocompatíveis.

2.4.1 BIONANOSSONDAS

Para criar uma representação precisa de objetos e/ou processos biológicos, uma série de tecnologias de imagem de última geração foi desenvolvida para aprimorar a resolução da imagem óptica, incluindo microscopia de depleção de emissão estimulada, microscopia de reconstrução óptica estocástica, microscopia de localização fotoativada e microscopia de fluorescência de reflexão interna total, todas com maior sensibilidade e maior resolução (ZHANG et al., 2016). Essas tecnologias se mostram mais vantajosas quando utilizadas para observar estruturas celulares e para visualizar eventos dinâmicos que ocorrem em uma célula viva.

As sondas fluorescentes, também chamadas de nanofósforos, com alto brilho e fotoestabilidade são necessárias a todas as modalidades de imagem. As técnicas de imagem por fluorescência estão sendo cada vez mais exploradas por cientistas, graças a seus benefícios distintos, como a disponibilidade de agentes de imagem biocompatíveis, instrumentos manobráveis e alta resolução temporal com boa sensibilidade. Sem dúvida, a imagem por fluorescência deu um passo altamente significativo na pesquisa básica em ciências da vida para aplicações clínicas, uma vez que é não invasiva, rápida, altamente sensível e relativamente barata (SATTLER, 2016; JALINEK, 2017).

As sondas fluorescentes são fundamentais para aplicações de bioimagem, como rotular as moléculas alvo, investigar comportamentos *in vitro* e *in vivo* de espécies químicas e biológicas e diagnosticar doenças (Gonçalves et al., 2016). Concorde-se que a sonda fluorescente determine em grande medida a qualidade da imagem por fluorescência (JELINEK, 2017). Como resultado, sondas fluorescentes de alta qualidade são basicamente essenciais e devem possuir: expressiva fluorescência, dispersibilidade em água, estabilidade química, fotoestabilidade e biocompatibilidade (MATHUR e SINGH, 2017).

A fim de obter uma saída de sinal favorável, uma ampla gama de sondas fluorescentes baseadas em vários tipos de moléculas e nanopartículas coloidais foram investigadas (JELINEK, 2017). Especificamente, as pequenas moléculas (por exemplo, proteínas fluorescentes e corantes orgânicos) apresentam excelente biocompatibilidade e tamanhos relativamente pequenos, que são mais apropriados para a marcação intracelular de alvos (RAY e JANA, 2017; MATHUR e SINGH, 2017; SHARON e MEWADA, 2018).

Durante muito tempo proteínas fluorescentes e corantes orgânicos, serviram como biossondas fluorescentes e foram amplamente utilizadas para pesquisas biológicas e biomédicas. No entanto, seu fotobranqueamento grave limitou severamente suas aplicações, especialmente para bioimagem a longo prazo (RAY e JANA, 2017; ZHANG et al., 2016).

Em contraste com as proteínas fluorescentes e os corantes orgânicos, os pontos quânticos inorgânicos possuem excelente fotoestabilidade com espectros de emissão estreita e fotoexcitação ampla, alta fluorescência e comprimentos de onda de emissão ajustáveis em tamanho, o que os tornam ideais para imagens multiplexadas por longos períodos (ZHANG et al., 2016). Sua única desvantagem é que a maioria dos pontos quânticos inorgânicos contém íons de metais pesados (por exemplo, Cd^{2+} , Te^{2-} etc.), o que apresenta grande preocupação de segurança, apesar de uma série de estratégias de modificação da superfície (por exemplo, revestimento ZnS/revestimento de sílica/polímero) disponíveis que reduzem a toxicidade até certo ponto (JELINEK, 2017).

É importante notar que os nanofósforos de conversão ascendente, compostos por nanocristais dopados com lantanídeos, podem converter vários fótons de infravermelho próximo em um fóton de luz visível através de processos de transferência de energia, que são resistentes à fotodegradação quando comparados a proteínas fluorescentes e orgânicos (ZHANG et al., 2016).

Com as vantagens de auto-fluorescência mínima (ruído de fundo), baixa toxicidade, altos rendimentos quânticos, linhas de absorção e emissão nítidas e vida útil longa, os nanofósforos de conversão ascendente estão abrindo novas portas para uma próxima geração de possíveis modalidades de bioimagem. (RAY e JANA, 2017; ZHANG et al., 2016).

Recentemente, as nanopartículas de silício demonstraram ser biodegradáveis e podem ser facilmente excretadas do corpo por meio de depuração renal. Sem toxicidade detectável *in vivo*, essas nanopartículas fluorescentes são caracterizadas por biocompatibilidade favorável e propriedades ópticas únicas, como alta fluorescência e fotoestabilidade robusta. As nanopartículas de silício fluorescentes também têm sido extensivamente investigadas como um novo tipo de nanossonda de alta qualidade para aplicações de bioimagem (SATTLER, 2016).

Enquanto isso, há outra nova geração de sondas promissoras que inspiram grande interesse devido a sua longa vida útil de fluorescência, emissão prolongada no infravermelho distante (600-800 nm), excelente fotoestabilidade e facilidade na funcionalização da superfície: os nanodiamantes fluorescentes contendo centros de vacância de nitrogênio com carga negativa

como fluoróforos (SATTLER, 2016).

Semelhante aos nanodiamantes, os PCs estão atraindo interesses mundiais por si só. Em comparação com as nanossondas fluorescentes baseadas em pontos quânticos inorgânicos, PCs, que são feitos de elemento de carbono biocompatível, sem metais pesados ou tóxicos, são considerados uma alternativa fascinante (SUN et al., 2009a; TAO et al., 2011; QU et al., 2011; ZHU et al., 2012; ZHANG et al., 2020; YANG et al., 2020). Esses pontos quânticos carbonáceos contêm várias características favoráveis dos pontos quânticos tradicionais baseados em semicondutores, incluindo facilidade de bioconjugação, resistência à fotodegradação, emissão de luminescência dependente do tamanho e do comprimento de onda e ausência de toxicidade intrínseca (RAY e JANA, 2017; MATHUR e SINGH, 2017; SHARON e MEWADA, 2018).

Portanto, na última década, os PCs têm sido intensamente explorados como um novo tipo de nanossonda fluorescente, aproveitando suas propriedades ópticas exclusivas, sua biocompatibilidade favorável e amplitude para aplicações de bioimagem *in vitro* e *in vivo* (SUN et al., 2009a; TAO et al., 2011; QU et al., 2011; ZHU et al., 2012; ZHANG et al., 2020; YANG et al., 2020).

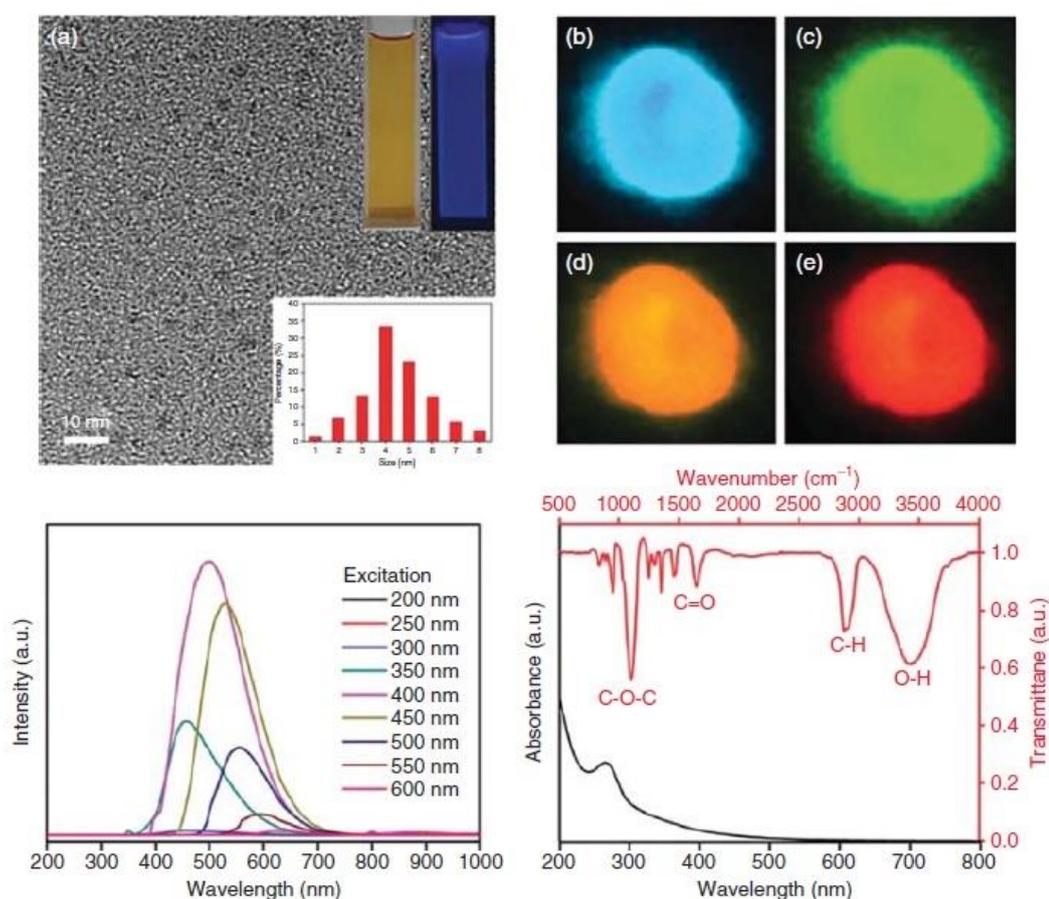
OBTENÇÃO DE IMAGENS *IN VITRO*

Sun et al. (2009a; 2009b), foram os pioneiros na utilização de PCs para aplicações de bioimagem. Eles indicaram a possibilidade de pontos de carbono funcionalizados com poli(propioniletilenoimina-co-etilenoimina) (PPEI-EI) para microscopia de luminescência de dois fótons usando células MCF-7 de câncer de mama humano como modelo celular. Quando incubadas com PCs por 2 h em temperatura ambiente, as células mostraram luminescência verde brilhante nas regiões da membrana celular e citoplasma após serem lavadas para remover quaisquer PCs extracelulares e observadas por um microscópio de fluorescência com excitação de 800 nm (SUN et al., 2009a). Seu trabalho inspirou cientistas de todo o mundo a utilizar PCs como sondas fluorescentes na bioimagem.

Em 2014, Kong e colaboradores sintetizaram PCs por refluxo em Polietilenoglicol (PEG), que exibiam excelente biocompatibilidade, forte fotoluminescência e propriedades estáveis de fluorescência, mesmo quando expostas a diferentes temperaturas, forças iônicas e tempos (figura 11a). Além disso, os PCs foram capazes de marcar o núcleo celular sozinho, sem manchar outras partes da célula, permitindo a seleção eficiente de organelas e a localização

subcelular precisa das sondas fluorescentes, conforme observado na figura 11 (11b, 11c, 11d e 11e). Portanto, é razoável considerar PCs como um alvo ideal em imagens celulares, em vez de corantes disponíveis comercialmente.

Figura 11 – Células HeLa coradas com PCs.



Fonte: Kong et al. (2014)

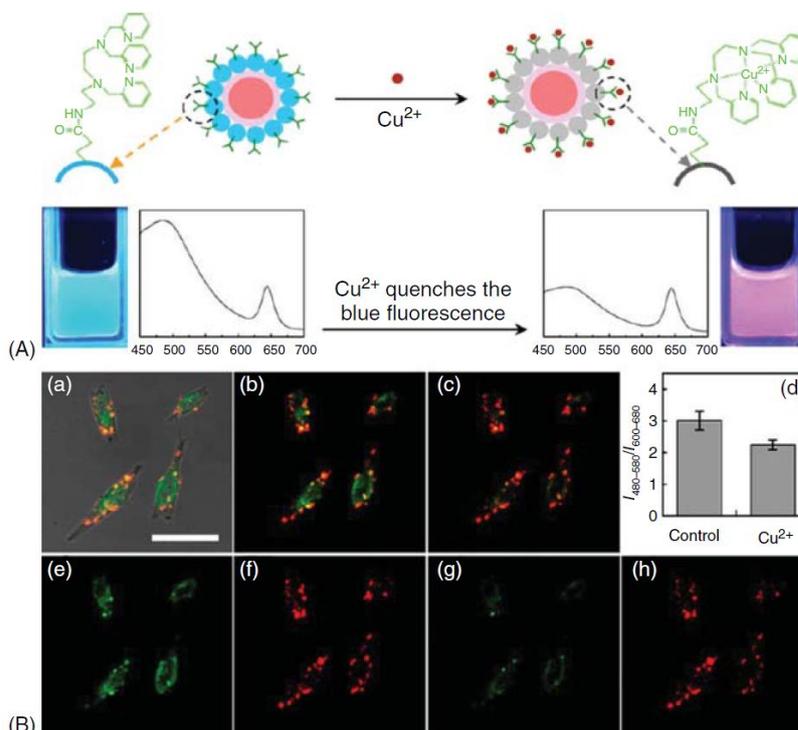
Apesar das vantagens fundamentais dos PCs para aplicações de bioimagem, incluindo uma ampla possibilidade de funcionalização da superfície, emissão multicolor e excelente biocompatibilidade, há relatos limitados sobre imagens de super-resolução com pontos de carbono (LEMÉNAGER et al., 2014). Leménager et al. (2014) empregaram com sucesso a microscopia de depleção via emissão estimulada para observar PCs em células com uma resolução de até 30 nm, alcançando uma melhoria de mais de seis vezes a resolução espacial nas células fixas e vivas em comparação com a microscopia confocal convencional.

Nesse caso, eles produziram as nanopartículas de carbono por ablação a laser de uma fonte de carbono e as passivaram com o oligômero polietilenoglicol ($C_{2n}H_{4n}+2O_{n+1}$)

(PEG1500N) finalizado com diamina. Notavelmente, a aplicação bem-sucedida de PCs para imagens de depleção via emissão estimulada de alta resolução abriria uma ampla gama de aplicações e proporcionaria mais possibilidades nas ciências da vida (LEMÉNAGER et al., 2014).

A bioimagem de PCs se torna mais significativa quando elas são úteis na bioanálise. Por exemplo, em 2011, Zhu e colaboradores utilizaram sensores ratiométricos para detectar Cu^{2+} *in vitro*, integrando PCs revestidos com uma molécula orgânica específica N-(2-aminoetil)-N,N,N'-tris(piridin-2-metil)etano-1,2-diamina (AE-TPEA) e CdSe/ZnS QDs (ZHU et al., 2012). Observa-se na figura 12a a sobreposição de imagens de campo claro e fluorescência de células HeLa. Em 12b e 12c são observadas imagens resultantes da fluorescência confocal das células HeLa antes e após o tratamento exógeno da fonte de Cu^{2+} , respectivamente. Em (d) é mostrado o gráfico de barras representando a intensidade integrada de 480 nm a 580 nm sobre a intensidade de fluorescência integrada de 600 nm a 680 nm. Frise-se que os valores apresentados são a proporção média gerada a partir da intensidade de três campos selecionados aleatoriamente em ambos os canais. Em (e, g) observa-se imagens de fluorescência confocal obtidas de 480nm a 580 nm antes e após o tratamento exógeno da fonte de Cu^{2+} , enquanto (f, h) são de 600nm a 680 nm (ZHU et al., 2011).

Figura 12 – Ilustração esquemática da detecção fluorescente de dupla emissão de Cu^{2+} .



Fonte: ZHU et al. (2011)

A sonda fluorescente pôde detectar Cu^{2+} em concentrações que variam de 5 μM a 200 μM por mL em pH fisiológico. Após a absorção, como indicado na Figura 12, as nanopartículas residiam em diversos compartimentos intracelulares: quando tratadas por uma fonte exógena de Cu^{2+} , a cor da emissão de fluorescência da sonda passou de verde-amarelado para vermelho (somente CdSe/ZnS QDs emite) que, usando a bioimagem, os sensores híbridos de emissão dupla baseados em PCs podem oferecer grandes promessas para a investigação de processos biológicos fundamentais (ZHU et al., 2012).

IMAGENS *IN VIVO*

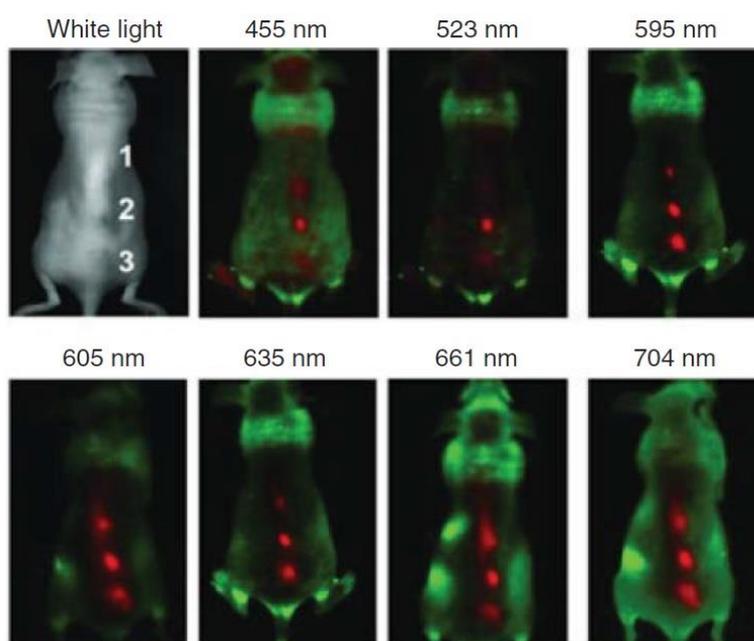
Além de relatórios relativamente abundantes relacionados a biosondas à base de PCs para bioimagem *in vitro*, tem havido vários estudos pioneiros sobre a obtenção de bioimagens *in vivo* nos últimos anos. Em 2009 Yang e outros pesquisadores, pressionaram a quente uma mistura de pó de grafite e cimento, PCs sintetizados via ablação a laser (usando um laser Nd:YAG com comutação Q que emite a 1064 nm, 10Hz) com passivação da superfície com diamina e PEG.

Em 2011, Tao et al. prepararam PCs a partir de nanotubos de carbono e grafite por um

tratamento com ácido misto, com o qual a bioimagem de fluorescência *in vivo* foi realizada (Figura 13). Os pesquisadores usaram diversos comprimentos de onda de excitação (por exemplo, 455 nm, 523 nm, 595 nm, 605 nm, 635 nm, 661 nm e 704 nm) e diferenciaram a autofluorescência de fundo (verde) por desmistificação espectral.

Os pontos injetados subcutaneamente (vermelho) exibiram imagens de fluorescência brilhantes, entre as quais aquelas tomadas sob excitação de comprimento de onda maior (595 nm e além) apresentaram uma separação muito melhor entre sinal e fundo, à medida que o fundo de autofluorescência tecidual diminuiu em comprimentos de onda mais longos. Além disso, não foi encontrada toxicidade perceptível dos PCs nos animais tratados, mostrando assim que os PCs detêm um potencial excepcional na aplicação de imagens biomédicas como nanossondas ópticas (TAO et al., 2011).

Figura 13 – Imagens de fluorescência *in vivo* de um rato injetado com PCs.



Fonte: Tao et al. (2011)

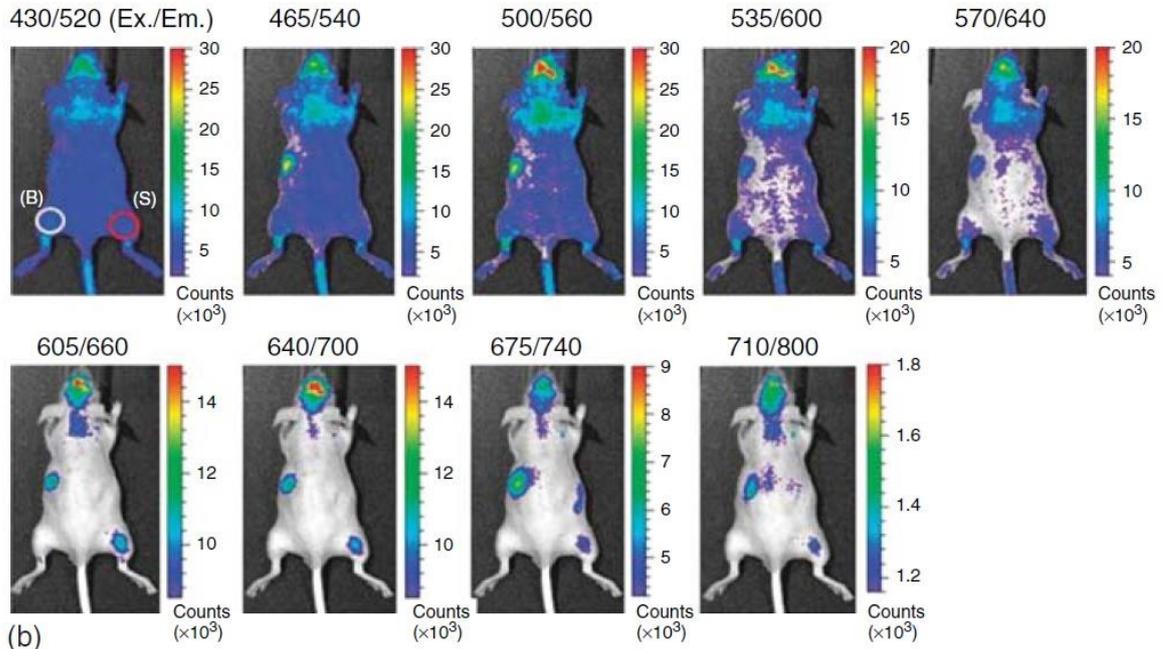
Da mesma forma, os PCs sintetizados a partir da fuligem dos pneus que podem ser encontrados em todos os lugares - também são muito promissores para a bioimagem *in vivo*. Ko et al. (2019) utilizaram PCs derivados da fuligem do pneu misturando os materiais coletados da combustão de várias peças de pneus com ácido nítrico e, em seguida, demonstraram a fluorescência infravermelho próximo dos PCs usando C6 (uma linhagem de células de glioma

de rato) células para bioimagem *in vitro* e *in vivo*.

A análise microscópica confocal comprovou que PCs eram capazes de entrar facilmente nas células C6, mesmo na ausência de qualquer funcionalidade adicional na superfície dos pontos de carbono. As células C6 com e sem captação de PCs foram então implantadas subcutaneamente na coxa direita e na coxa esquerda de camundongos, respectivamente.

Como mostrado na Figura 14, imagens *in vivo* das células C6 injetadas subcutaneamente contendo PCs foram adquiridas com uma série de comprimentos de onda de excitação (430 nm, 465 nm, 500 nm, 535 nm, 570 nm, 605 nm, 640 nm, 675 nm e 710 nm). Obviamente, a intensidade da fluorescência diminuiu com comprimentos de onda de excitação mais longos, mas um sinal de fluorescência relativamente forte pode ser obtido diferenciado do fundo em comprimentos de onda de emissão de 660 nm, 700 nm, 740 nm e 800 nm. Devido às suas propriedades infravermelho próximo, os PCs são particularmente vantajosos para obtenção de imagens *in vivo* de alta resolução.

Figura 14 – Imagens *in vivo* obtidas a partir da injeção de PCs derivados da fuligem de pneus em camundongos.

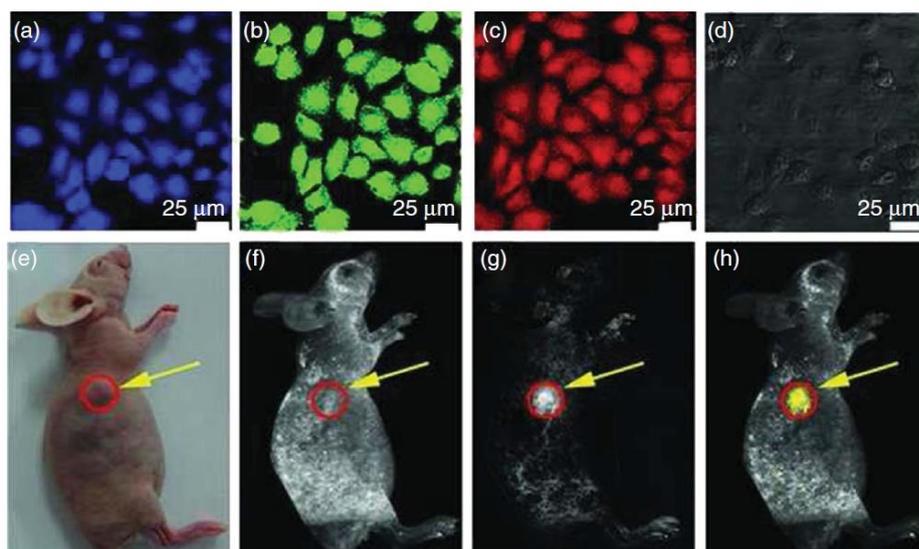


Fonte: Ko et al. (2019)

Como prova de conceito em aplicações de bioimagem, Wang et al. (2019) sintetizaram e utilizaram PCs a partir de leite por métodos assistidos por microondas para bioimagem *in vitro* e *in vivo*. Em seu trabalho, as células HeLa foram coradas com PCs com

cores azuis, verdes e vermelhas distintas sob excitação de 405, 488 e 543 nm, respectivamente, mostrando que a maioria dos PCs estava distribuída na membrana celular e nas áreas citoplasmáticas, como evidenciado pela forte fluorescência existente, que contrasta acentuadamente com os fracos sinais fluorescentes dos PCs localizados no núcleo da célula, conforme pode ser observado na Figura 15.

Figura 15 – Imagens de microscopia confocal de varredura a laser das células HeLa marcadas com PCs.



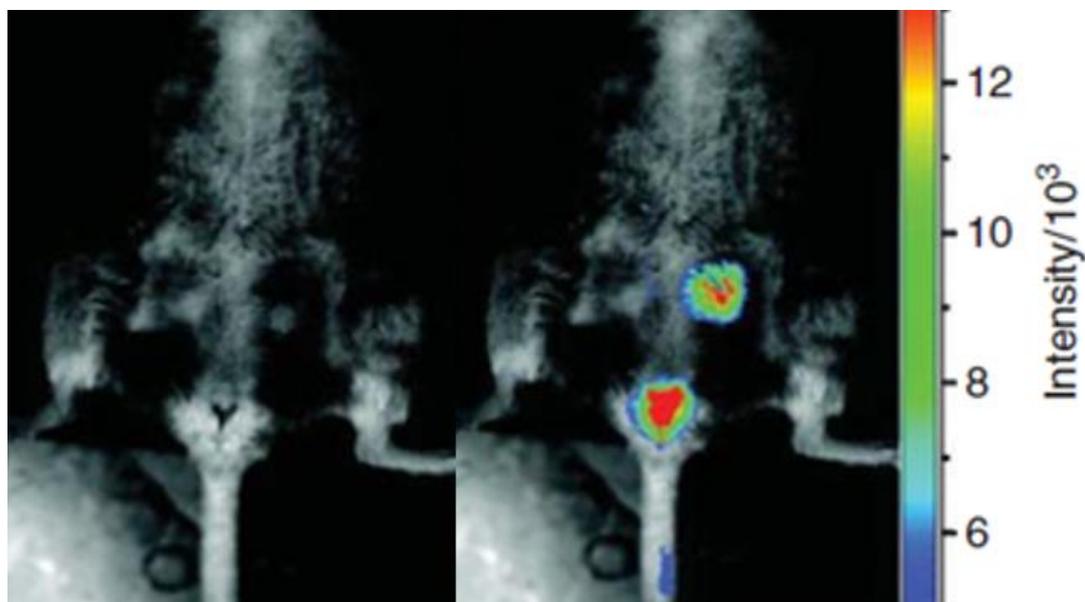
Fonte: Wang et al. (2019)

Na figura (a) observa-se a resultante da excitação a 405 nm; passagem da banda de emissão: 420-480 nm; em b) excitação a 488 nm; passagem da banda de emissão: 500-580 nm; em c) excitação a 543 nm; passagem da banda de emissão: 580-660 nm e (d) campo claro (barra de escala a 25 μm). Nas figuras (15e – 15h) são imagens de fluorescência de um camundongo com tumor U87 MG após injeção intratumoral de PCs, em (f) a autofluorescência do camundongo, (g) fluorescência dos PCs (com excitação a 455 nm, emissão a 500-650 nm e tempo de exposição 200 ms) e (h) imagens mescladas.

Em 2020, para a circulação do corpo inteiro, Yang et. al. injetou uma suspensão de PCs (440 μg em 200 μL) por via intravenosa em camundongos, logo após, o abdômen foi raspado para detecção de fluorescência dos pontos presos nos órgãos durante a circulação. Conforme indicado na Figura 16, apenas as emissões da área da bexiga e dos rins foram observadas e a fluorescência brilhante na urina tornou-se visível na imagem após 3 h, a microscopia de

localização fotoativada permitiu a exibição dos PCs injetados por via intravenosa.

Figura 16 – Injeção intravenosa de solução de PCs em camundongos.



Fonte: Yang et al. (2020)

Além de útil como biomarcador, esta pesquisa detectou expressiva atividade antibacteriana dos PCs em algumas bactérias, tanto Gram positivas quanto Gram negativas, comuns no cotidiano. Portanto, abre-se um parêntese aqui para uma pequena introdução acerca desses microrganismos, antes da explanação dos métodos de obtenção dos PCs.

2.5 BACTÉRIAS

Bactérias são seres vivos formados por uma única célula (unicelulares), normalmente de 2 a 5 μm de comprimento, e podem ou não formar colônias. Esses organismos possuem material genético disperso no citoplasma, sendo, portanto, denominados de procariontes. Na grande maioria das bactérias, além da membrana plasmática encontrada em todas as células, é possível observar externamente uma parede celular constituída, principalmente, por peptidoglicano. Essa parede celular apresenta como principal função manter a forma das células bacterianas e garantir proteção. Além disso, é possível perceber em algumas espécies uma cápsula polissacarídica envolvendo a parede (BACTÉRIAS, 2022).

As bactérias são parte integral e inseparável da vida na terra. Elas são encontradas em qualquer lugar, revestem a pele, as mucosas e cobrem o trato intestinal dos homens e dos animais. Elas estão intrinsecamente ligadas às vidas de organismos e aos amplos ambientes em que habitam. Muitas bactérias são inofensivas. Algumas são benéficas para seu hospedeiro (homem, animal, planta) e provêm nutrientes ou proteção contra patógenos e doenças, limitando a habilidade de colonização de bactérias nocivas (SANTOS, 2004).

A resistência aos antibióticos é inevitável e irreversível, isso é a consequência natural da adaptação da célula bacteriana a exposição aos antibióticos. O uso intenso de antibióticos na medicina, na produção de alimentos para animais e na agricultura tem causado um aumento na resistência àquelas drogas. A resistência antimicrobiana tornou-se o principal problema de saúde pública no mundo, afetando todos os países, desenvolvidos ou não. Ela é uma inevitável consequência do uso indiscriminado de antibióticos em humanos e animais (CASADEVALL, 1996). Segue abaixo uma concisa descrição de três das muitas bactérias mais presentes no nosso cotidiano com histórico de resistência a antibióticos.

Staphylococcus aureus ATCC 25923 (AS)

Os *Staphylococcus* são cocos Gram e catalase-positivos, com aproximadamente 0,5 µm a 1,5 µm de diâmetro, imóveis, não-esporulados e geralmente não-encapsulados. Essa bactéria pode apresentar-se em diversas formas, que vão desde isolados, aos pares, em cadeias curtas, ou agrupados irregularmente (com aspecto semelhante a um cacho de uvas), devido à sua divisão celular, que ocorre em três planos perpendiculares (CASSETTARI, 2005; KONEMAN, 2001; TRABULSI, 2005).

A distribuição de *S. aureus* é muito ampla, visto que essa bactéria é significativamente capaz de resistir à dessecação e ao frio, podendo permanecer viável a reprodução por longos períodos em partículas de poeira. Esse microorganismo pode ser encontrado no ambiente de circulação do ser humano, sendo o próprio homem seu principal reservatório, além de estar presente em diversas partes do corpo, como fossas nasais, garganta, intestinos e pele. Desses sítios anatômicos, as narinas possuem o maior índice de colonização, cuja prevalência é de cerca de 40% na população adulta, podendo ser ainda maior dentro de hospitais (BANNERMAN, 2003; CARVALHO, 2005; CAVALCANTI, 2005).

S. aureus pode causar infecções em sítios anatômicos distantes, como endocardites, osteomielites, piodartrites e formação de abscessos metastáticos, em particular em pele, tecidos subcutâneos, pulmões, fígado, rins e cérebro. Essa bactéria é a segunda maior causa de

meningites associadas a derivações ventriculoperitoneais, sendo um dos muitos agentes responsáveis por peritonite em pacientes submetidos à diálise peritoneal contínua (CARVALHO, 2005; CAVALCANTI, 2005; FOSTER, 1998).

O *S. aureus* é a bactéria mais comum também em infecções ósseas, artrites sépticas e infecções de próteses ósseas. Essas infecções se caracterizam pela dificuldade de tratamento, que pode incluir intervenções cirúrgicas e longos períodos de antibioticoterapia. A relação desse microrganismo com infecções ósseas está no fato de essa bactéria ser capaz de expressar numerosas proteínas de superfície, denominadas adesinas, que permitem a adesão aos componentes da matriz óssea (fibronectina), laminina, colágeno, entre outros. Algumas cepas de *S. aureus* podem sobreviver intracelularmente em osteoblastos, às vezes metabolicamente inativas, tornando-se tolerantes à ação dos antibióticos. Além disso, o *S. aureus* pode formar biofilmes na superfície de materiais estranhos ao organismo, como cateteres endovenosos e próteses, que funcionam como locais protegidos contra a ação de antibióticos e do sistema imunológico do hospedeiro (DAVIS, 2005).

Salmonella enterica serovar Typhimurium ATCC 14028 (ST)

A *Salmonella* é uma bactéria pertence à família *Enterobacteriaceae* e compreendem bacilos Gram negativos não produtores de esporos. É constituído por bastonetes de 0,5 µm a 0,7 µm por 1 a 3 µm. São anaeróbios facultativos, produzem gás a partir de glicose (exceto *S. Typhi*) e são capazes de utilizar o citrato como única fonte de carbono. A maioria é móvel, através de flagelos peritríquios, exceção desta à *S. pullorum* e à *S. gallinarum*, que são imóveis. A taxonomia do gênero *Salmonella* é baseada na composição de seus antígenos de superfície, que são os antígenos somáticos, os flagelares e os capsulares (FRANCO e LANDGRAF, 2004).

A febre tifoide é uma doença sistêmica, causada pela *Salmonella entérica* sorotipo Typhi, caracterizada clinicamente por febre alta, cefaleia, diarreia e dor abdominal, com elevada prevalência em regiões de precárias condições sanitárias, cuja transmissão ocorre por meio do consumo de água e alimentos contaminados (OGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2003).

Em todo o mundo estima-se, anualmente, a ocorrência de 12 a 33 milhões de casos de febre tifoide que ocasiona 600 mil mortes, com a maioria das notificações ocorrendo em países da Ásia (60%) e África (35%), onde se apresenta de forma endêmica, com epidemias esporádicas. Em países desenvolvidos, os casos verificados são geralmente "importados" por

meio de indivíduos que viajam aos países onde ocorre a doença (LYNCH, 2006). Segundo os dados do Ministério da Saúde (2010), no Brasil, todas as regiões registram casos, com índices maiores nos estados do Norte e Nordeste brasileiro, com os Estados da Bahia (1.765) e Amazonas (1.447) apresentando os maiores números de casos nos dez últimos anos.

Escherichia coli ATCC 25922

O gênero *Escherichia* pertence à família *Enterobacteriaceae*, cuja espécie mais pesquisada mundialmente é a *E. coli*, devido à sua importância para a saúde pública e à sua recorrência em doenças entéricas. É uma bactéria gram-negativa, presente no trato intestinal de animais homeotérmicos, entre eles, o ser humano. É comensal, já que habita o intestino sem causar doenças. Apenas uma pequena parte das estirpes apresenta patogenicidade responsável por enfermidades, sendo seis os patótipos (grupos que apresentam diferentes mecanismos de virulência) de *E. coli* diarreio gênica que causam uma variedade de tipos de doenças, como, por exemplo, a síndrome hemolítico-urêmica (KUHNERT et al., 2000).

A *E. coli* diarreio gênica possui grupos relevantes, pela importância clínica devido à produção de enterotoxinas semelhantes às da *Shigella dysenteriae*, que em casos mais severos progride para colites hemorrágicas, podendo levar a óbito. É também considerada como um patógeno alimentar emergente com sintomas severos (SCHLENKER & SURAWICZ, 2009). Esse patótipo não possui limites estabelecidos pela legislação brasileira para alimentos e contato com corpos d'água e sua utilização. Para Caldorin et al. (2013), mesmo que a ocorrência de doenças diarreicas em humanos no Brasil seja discreta, diversos estudos nacionais em rebanhos bovinos evidenciam a prevalência de cepas dessas bactérias no país.

Para a Organização Mundial da Saúde (1998), o crescente aumento dos surtos diarreicos relacionados com a *E. coli* no mundo corrobora para demonstrar a importância da obtenção de dados da estirpe, principalmente devido ao fato de o Brasil fazer divisa com a Argentina, onde essa bactéria é endêmica. Além do fato de a característica de contaminação, até então prioritariamente por ingestão de alimentos de origem animal, ter adquirido novo perfil, sendo que o último grande surto mundial de *E. coli* foi por contaminação de vegetais por água de irrigação (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2011).

2.6 MÉTODOS DE PREPARAÇÃO DE PCs

Desde 2004, após a identificação dos PCs, uma variedade de métodos físicos e químicos de alta eficácia foram introduzidas para o preparo desses nanomateriais (SATTLER, 2016). Os métodos de preparação podem ser classificados entre bottom up ou top down. Os processos top down utilizam uma fonte puríssima de carbono, como grafite de alta pureza, e promovem a partir deste precursor macroscópico a obtenção das nanopartículas de interesse. Referem-se, portanto à miniaturização de uma fonte grafítica precursora. São estes: a ablação a laser, descarga por arco voltaico, choque eletroquímico em nanotubos de carbono, esfoliação eletroquímica de grafite, irradiação de laser em nanopartículas maiores do que 50nm dispersas em solventes orgânicos, dentre outros (ESTEVEES e GONÇALVES, 2011). Processos bottom up baseiam-se nas transformações imputadas aos precursores carbônicos como carboidratos, ácidos orgânicos ou outras fontes, dependendo das particularidades do método e do precursor. São estes carbonização térmica, oxidação com ácido nítrico ou outros ácidos, utilização de hidróxidos, processos assistidos por ultrassom ou microondas (BAKER, 2010).

A demanda por esses nanomateriais de carbono vem aumentando e várias estratégias foram desenvolvidas para atender. Tipicamente, em 2006, Sun et al., desenvolveram o método de ablação a laser para a produção de PCs. Nesse método, um tipo de alvo de carbono, preparado pela prensagem a quente de uma mistura de pó de grafite e cimento, foi primeiro atingido por um laser Nd: YAG com comutação Q (1064 nm, 10Hz) em um fluxo de gás argônio que transporta vapor de água a 900 °C e 75 kPa. Posteriormente, o alvo de carbono tratado foi ainda aquecido ao refluxo em 2,6 M HNO₃ por até 12 h para produzir PCs com expressiva fluorescência (CHENG et. al., 2019).

Nos anos seguintes, a fuligem derivada da combustão de velas sem cheiro ou queimadores de gás natural foi explorada como fontes simples e eficientes de PCs. Por exemplo, para sintetizar PCs, Mao et al., 2007, coletaram fuligem colocando um pedaço de papel alumínio ou uma placa de vidro em cima de uma vela acesa, misturando a fuligem com solução de ácido nítrico (HNO₃) a 5 M e depois refluxando-a por 12 h para oxidar a partícula na superfície e, eventualmente, produzir PCs com tamanhos inferiores a 2 nm (JELINEK, 2017).

Em 2008, Giannelis et al. empregaram uma decomposição térmica em uma única etapa de precursores moleculares (sal de citrato de amônio ou 4-aminoantipirina) de fusão a baixa temperatura (calcinação do precursor a 300 °C por 2 h) para formar PCs, cuja geometria e propriedades físicas poderiam ser projetadas e controladas com precisão (GIANNELIS et al.,

2008).

Em 2009, o grupo de Yang empregou uma abordagem fácil de pirólise por micro-ondas para preparar os PCs, na qual uma solução aquosa contendo PEG200 e um sacarídeo (por exemplo, glicose, frutose) foi aquecida em um forno de micro-ondas de 500 W por 2 a 10 minutos para produzir PCs com comprimentos de onda de emissão controláveis (YANG et al., 2009). No mesmo ano, Li e colegas utilizaram esferas de sílica modificadas com surfactante (F127) como suporte para localizar o crescimento de PCs durante o tratamento em alta temperatura (900 °C em argônio por 2 h) (LI et al., 2009).

Vale ressaltar que, para todos esses métodos mencionados, é necessária a modificação da superfície para permitir que os PCs exibam propriedades fotoluminescentes superiores, estabilidade e biocompatibilidade, o que geralmente envolve procedimentos adicionais e relativamente complexos. Nesse caso, os grupos carboxílicos podem ser facilmente introduzidos na superfície do PCs por refluxo em HNO₃ 3 M por 24 h, seguido de passivação da superfície com PEG1500.

Em contrapartida, métodos de síntese mais fáceis e verdes a partir de fontes de carbono acessíveis e relativamente baratas foram extensivamente desenvolvidos nos últimos anos. Os exemplos incluem, entre outros, seda natural, albumina de soro bovino, fibra capilar e gelatina, glicerol, quitosana e sacarose (SATTLER, 2016; JALINEK, 2017). Além disso, produtos alimentares (por exemplo, caramelos, mel e pimentão) e biomassa (tais como, grama, folhas de plantas e cinzas de papel) também foram explorados como diversos precursores de reação para a síntese de PCs (LOSS, 2014).

Para usar todas essas fontes da biodiversidade na preparação de PCs, os métodos mais frequentemente selecionados são as estratégias hidrotermais devido a seu aquecimento simultâneo, homogêneo, rápido, manipulação simples, relativo baixo consumo de energia e boa seletividade, resultando em PCs sem a necessidade de mais funcionalização ou passivação. A rota de síntese hidrotérmica se mostrou viável e eficiente já que exige relativo baixo investimento (materiais: reator autoclavado de aço inoxidável, solvente, inclusive água e fonte de carbono) e apresenta expressivo rendimento quântico (fluorescência) (JALINEK, 2017).

2.5.1 CARBONIZAÇÃO HIDROTÉRMICA

A carbonização hidrotérmica (CH) é uma técnica termoquímica através da qual podem-se obter combustíveis e materiais com potencial de guarda para estocagem energética, biocarvão, suportes catalíticos e materiais adsorventes (CHILD, 2014). Em geral, processos de desidratação e de eliminação e quebra de açúcares resultam em despolimerização e formação de biocarvão, conversão de polissacarídeos ou açúcares em monômeros e polímeros, em solução aquosa ou outros solventes (HOEKMAN et al., 2011). Todavia, uma grande vantagem da CH é a possibilidade de utilização da água, que é um excelente meio reacional para uma diversidade de reações (KRUSE, 2013).

O processo ocorre em sistema fechado, sob temperaturas relativamente baixas (160°C-35°C) e alta pressão, reproduzindo em laboratório condições naturais de formação de carvão mineral (FUNKE e ZIEGLER, 2013). As propriedades químicas dos produtos da carbonização hidrotérmica dependem essencialmente da composição da biomassa precursora. As quantidades de proteínas, carboidratos, gorduras e lignina influenciam a formação de diferentes compostos durante o tratamento térmico (TOOR et al., 2011).

A CH foi relatada na literatura em 1913 por Friedrich Bergius. Este pesquisador tinha interesse em estudar a influência de altas pressões e temperaturas em processos químicos. Sua pesquisa atribuiu-lhe o Prêmio Nobel em 1931, e a seu colaborador Carl Bosch. Em 2007, Antonietti e colaboradores reintroduziram a técnica na literatura ao preparar material para estocagem de CO₂ via CH. Esse trabalho representou o retorno do grande interesse de preparação de materiais carbonosos (TITIRICI et al., 2007). O tratamento hidrotérmico em escala industrial foi aplicado pela primeira vez na desidratação de lenhite e turfa e atualmente é usado principalmente para a decomposição e solvólise de biomassa em diversas indústrias (TOOR et al., 2011).

Uma vantagem óbvia da CH é que uma gama de materiais pode ser explorada como matéria-prima, como a biomassa e os resíduos da indústria alimentícia ou agroindústria, que têm teor relativamente elevado de água. Outra vantagem é que os materiais de carbono, que têm sido tradicionalmente derivados do petróleo, podem agora ser derivados a partir de recursos renováveis (CHILD, 2014). A manipulação cuidadosa dos reagentes, as condições do processo ou de pós-tratamento podem resultar na produção de material de carbono altamente funcionalizado. As avaliações recentes são otimistas e afirmam que a química da CH oferece um enorme potencial para influenciar as características do produto, e produzir materiais de

carbono com designer avançado (HOEKMAN et al., 2011).

O benefício final que criou um grande interesse nos processos via CH é como os produtos podem não só serem vistos como neutro em carbono, mas também podem ser utilizados como uma forma de reduzir o dióxido de carbono produzido pelas atividades industriais do passado (NIEDERSBERG, 2012). A literatura aponta uma série de condições operacionais desta técnica. A operação deve ser limitada às condições subcríticas da água. A temperatura deve estar acima de 100°C, enquanto acima de 180°C a hidrólise transcorre de forma substancial. O material precursor deve estar submerso durante todo o processo. O tempo de residência em uma faixa de temperatura não pode ser facilmente limitado, pois as taxas de reação são em grande parte desconhecidas. Procedimentos publicados mostram uma faixa de 1 a 72h de tempo de residência (FUNKE e ZIEGLER, 2010).

A conversão de biomassa em materiais de carbono é bastante complexa e segue várias vias paralelas, das quais apenas algumas são totalmente compreendidas em termos de quando e como ocorrem (FUNKE e ZIEGLER, 2010). Interações entre diferentes componentes da biomassa e seus fragmentos não podem ser evitadas. Fragmentos de hemicelulose, por exemplo, podem interagir com a lignina, modificando a solubilidade de compostos aromáticos. Enquanto muitos destes mecanismos envolvem várias reações que podem ocorrer em paralelo, o processo na CH começa principalmente com a hidrólise dos carboidratos. A hidrólise de hemicelulose começará em aproximadamente 180°C, enquanto a hidrólise da celulose e da lignina começa a ocorrer acima de 200°C. Todavia, o processo de conversão por hidrólise não é completo (KRUSE et al., 2013; HE, et al., 2013). Processos longos ou executados em alta temperatura apresentam menor rendimento em massa de produto, todavia estes produtos tendem a um maior teor de carbono (FUNKE e ZIEGLER, 2010).

Em caso de convecção forçada, a hidrólise pode ser completada dentro de alguns minutos e a sua decorrência é principalmente determinada pela taxa de fluxo ajustado e não pela temperatura da reação (MOK, 1992). Pode concluir-se que a taxa de hidrólise da biomassa é determinada principalmente pela difusão e, portanto, limitada por fenômenos de transporte dentro da matriz de biomassa. Isto pode conduzir a condensação de fragmentos dentro da matriz da biomassa a altas temperaturas (MOCHIDZUKI et al., 2005; HASHAIKEH, 2007; SHOJI, 2005).

Durante o processo de carbonização, produtos sólidos, líquidos e gasosos são formados. Em temperaturas moderadas, na faixa de 220°C, até 80% do carbono pode ser recuperado como material sólido carbonizado, 5% em material gasoso (CH₄, CO, CO₂), e 15% em material

solubilizado (STEMANN et al., 2013). Reações hidrotérmicas são muito sensíveis à temperatura aplicada em torno de 220°C. Uma explicação para este fenômeno pode ser a considerável diminuição das ligações de hidrogênio intermoleculares em fibras de celulose nesta temperatura (WATANABE et al., 2006).

Muito dos intermediários formados da degradação da celulose e da lignina são reativos, e podem representar produtos químicos de alto valor agregado. Durante o curso da polimerização, ácido húmico, betume e sólidos insolúveis são formados (FUNKE e ZIEGLER, 2010). Grupos carboxila e carbonila são rapidamente degradados em temperaturas acima de 150°C, formando CO₂ e CO respectivamente (MURRAY e EVANS, 1972). Todavia, mais CO₂ é formado do que a quantidade esperada somente pela eliminação dos grupos carboxilas, evidenciando a ocorrência de outros mecanismos paralelos (FUNKE e ZIEGLER, 2010).

A catálise no processo de carbonização da biomassa pode ser feita pela presença de ácido no meio reacional. A clivagem das ligações glicosídicas da celobiose é catalisada pelo íon hidrônio. A concentração de ácidos orgânicos na água pode aumentar a quantidade de carbono recolhida no produto final.

O tratamento térmico controlado da celulose é governado por reações de desidratação e descarboxilação, sendo, portanto, um processo exotérmico (TOOR et al., 2011). Estudos relatam o aquecimento na faixa de 150°C a 250°C, por até 24 h (WIEDNER et al., 2013; ELETO, 2007), em meio ácido ou básico, dependendo da aplicação requerida para o material. A carbonização hidrotérmica da celulose para a obtenção de micropartículas de carbono foi relatada pela primeira vez em 2009 (SEVILLA e FUERTES, 2009). Contudo, ainda não foi verificada na literatura a utilização de nanocristais de celulose para a obtenção de nanopartículas de carbono.

A utilização de microondas no processo de obtenção de material carbonoso hidrotérmico apresenta algumas vantagens em relação à CH convencional, como por exemplo, a redução do tempo de tratamento térmico, baixa emissão de gases e controle adequado da temperatura do processo, com energia seletiva. Os métodos diferem um do outro pela forma como o calor é gerado no sistema. No processo convencional, a energia é transferida para o material através de correntes de convecção e condução, na superfície do material. O aquecimento pela radiação microondas é resultado de interações das ondas eletromagnéticas com o dipolo elétrico das moléculas (CHANDRA, 2011). Portanto, o aquecimento é gerado diretamente a partir do material, por interações moleculares com as ondas eletromagnéticas (GUIOTOKU, et al., 2014).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 MATERIAIS

Hidróxido de sódio P.A (NaOH), peróxido de hidrogênio P.A (H₂O₂), ácido sulfúrico P.A (H₂SO₄), dimetilformamida (C₃H₇NO/DMF) P.A, todos fornecidos pela Sigma, água deionizada e bambu *Guadua weberbaueri* Pilger.

3.2 PREPARAÇÃO DO MATERIAL PRECURSOR E AMOSTRAS

3.2.1 COLETA E IDENTIFICAÇÃO DA ESPÉCIE DO BAMBU

O bambu foi coletado nas proximidades da Universidade Federal do Acre (local GPS: 09°56'48.6"S e 067°52'10.9"W. Elev. 138m) em 05 de abril de 2019. Foi coletada uma vara inteira com fragmentos das raízes, que tão logo foi levada ao laboratório de Botânica e Ecologia Vegetal da Universidade Federal do Acre para identificação da espécie.

3.2.2 PREPARAÇÃO DE POLPA DE CELULOSE BRANQUEADA

O bambu foi lavado com água corrente, cortado em espaços entrenós e levado para desidratação em estufa a 39 °C por 36 horas. Em seguida foi triturado em um moinho de rotor ciclonado modelo TE-651 da Tecnal e peneirado em tamises de malha 70 (212 µm). Para remoção dos compostos amorfos (lignina e hemicelulose), foi seguido o método proposto por Machado (2014). Dessa forma o pó obtido foi lavado com solução de NaOH a 2% na proporção de 30 g de bambu para 1200 mL de solução por 4 h, sob aquecimento em temperatura constante de 80 °C e agitação branda. Em seguida, a mistura foi lavada com água corrente. Esse processo foi repetido por 3 vezes consecutivos.

Para o branqueamento da polpa foi seguido o método usado por Pereira (2014), para tanto, 1 g da fibra obtida na etapa anterior a essa, foi adicionada a uma solução de H₂O₂ a 24% com outra de NaOH a 4% na proporção de 1:1. A mistura permaneceu por 2 h a 50 °C e agitação constante. Em seguida, a mistura foi lavada com água corrente. O processo foi repetido por 2 vezes consecutivas.

3.2.3 PREPARO DE NANOCRISTAIS DE CELULOSE

Para o preparo de NCC foi seguido o método de hidrólise ácida de Samir (2005) e Rosa (2010) com adaptações. Para tanto, foi adicionado 8,0 mL de uma solução de H₂SO₄ a 64 % (m/m) para cada 1,0 g de polpa branqueada, obtida na etapa anterior a essa. A mistura foi condicionada a agitação mecânica a 45 °C por 35 minutos. Em seguida, a reação foi cessada com adição de água destilada a 5 °C. Para neutralização do ácido, a suspensão resultante foi centrifugada por 10 ciclos em uma centrífuga da Quimis modelo Q222TM com água deionizada, sempre descartando o sobrenadante. Em seguida, a mistura foi sonicada por 5 minutos em ultrassom de ponteira da Bandelin modelo UW 2070 para completa dispersão e em seguida foi filtrada, congelada e liofilizada.

3.2.4 PREPARO DOS PONTOS QUÂNTICOS DE CARBONO

Os PCs foram obtidos a partir de uma única etapa de síntese (*one-step methods*) utilizando o método de carbonização hidrotérmica proposto por Wang (2014) com adaptações. Para tanto, em dois béqueres distintos foi adicionado 100 mg de NCC, em cada um deles, com 24 mL de DMF em um e 24 mL de água de osmose reversa em outro. A mistura foi sonicada por 2 minutos para melhor dispersão do soluto, a fim de obter maior superfície de contato com o solvente. A suspensão foi transferida para um reator autoclavado de aço inoxidável revestido com politetrafluoretileno (Teflon) e levado a mufla sob temperatura de 200 °C por 4 h, 6h e 8h. O mesmo procedimento foi seguido substituindo os NCC por polpa de celulose branqueada.

3.3 CARACTERIZAÇÃO DOS MATERIAIS

3.3.1 ANÁLISE DO TEOR DE CELULOSE

A análise do teor de celulose das polpas branqueadas e dos NCC foi determinada pelo método proposto por Van Soeste (1991) (Fibra em Detergente Neutro/Fibra em Detergente Ácido - FDN/FDA) no laboratório de bromatologia da EMBRAPA Acre, com ácido sulfúrico a 72%. Todos os resultados foram corrigidos com base na matéria seca à 105 °C.

3.3.2 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

As imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV) dos NCC foram obtidas no Instituto Federal de Alagoas - IFAL, usando um microscópio eletrônico de varredura modelo LMU, marca Tescan – Vega 3. As amostras foram metalizadas previamente com ouro.

3.3.3 MICROSCOPIA LETRÔNICA DE TRANSMISSÃO

As imagens de microscópio eletrônico de transmissão (MET) dos NCC e dos PCs foram obtidas no Instituto Aggeu Magalhães – FIOCRUZ – Pernambuco, a partir de um microscópio Tecnai Spirit Biotwin G2.

3.3.4 BIRREFRINGÊNCIA DE FLUXO

No laboratório de nanobiotecnologia da Universidade Federal do Acre, complexo BINORTE, foi montado um suporte com dois polarizadores cruzados, de modo que a suspensão de NCC foi posicionada entre os dois. Desse modo, foi registrada imagens do efeito birrefringente da suspensão a partir de uma câmera CANON Powershot Sx420 Is.

3.3.5 ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)

Os espectros de absorção na região do infravermelho foram obtidos na infraestrutura do Instituto de Criminalista da Polícia Civil do Acre em equipamento Perkim Elmer Spectrum RX I. Foi utilizado KBr previamente seco na preparação das pastilhas, que foram analisadas com mínimo de 16 varreduras, na faixa de 400 a 4000 cm^{-1} .

3.3.6 TERMOGRAVIMETRIA (TGA)

As análises térmicas foram realizadas no complexo BIONORTE da UFAC em um calorímetro Netzsch modelo Jupiter STA449 – F3, sob atmosfera de nitrogênio com fluxo de 20.0 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ e taxa de aquecimento de 10.0 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ até a temperatura final de 600.0 $^{\circ}\text{C}$. As amostras foram calcinadas em cadinhos de óxido de alumínio contendo 20.0 mg do material.

3.3.7 DIFRAÇÃO DE RAIOS X (DRX)

A determinação da cristalinidade dos materiais precursores foi realizada no Departamento de Geociência - DEGEO da Universidade Federal do Amazonas - UFAM. O equipamento utilizado foi o Difratorômetro de Raios x, Marca Shimadzu, Modelo XRD 6000 Tubo de Raio X com radiação Cu K α em comprimento de onda de 0,15418 nm. A configuração adotada para a análise foi o monocromador com fendas (1, 1, 0,3), operado a 40 kV com uma corrente de 30 mA a uma velocidade de 2,000 deg/min.

3.3.8 POTENCIAL ZETA

A média do diâmetro das nanopartículas, bem como a estabilidade das mesmas em suspensão aquosa foram determinadas a partir do Zetasizer modelo Nano – ZS90 da marca Malvern nas dependências do laboratório de Nanobiotecnologia do complexo BIONORTE – UFAC.

3.3.9 ABSORÇÃO NA REGIÃO DO UV-VIS

Os espectros de absorção na região do UV-Vis das amostras foram obtidos nas dependências do laboratório de Nanobiotecnologia do complexo BIONORTE – UFAC, a partir de um espectrofotômetro da PerkinElmer modelo Lambda 950, onde as amostras foram varridas numa faixa entre 200 nm e 600 nm.

3.3.10 ESPECTROFOTOMETRIA DE FLUORESCÊNCIA

Os espectros de fluorescência das amostras de PCs foram obtidos a partir de um espectrofotômetro da PerkinElmer modelo LS 55 com progressivos comprimentos de onda de excitação λ_{exc} entre 320 nm a 480 nm com incremento de 20 nm, nas dependências do laboratório de Nanobiotecnologia do complexo BIONORTE – UFAC.

Para calcular o rendimento quântico dos C-dots foi utilizado as medidas de absorção UV-vis com os resultados de fluorescência. Foram usadas as curvas de intensidade integrada,

excitadas em 340 nm do padrão e das amostras e os respectivos valores de absorbância em 340 nm. Para determinar o rendimento quântico foi utilizado os dados de coeficiente angular das curvas a partir da equação 1.

$$RQ = RQ_{SQ} \times \frac{m_x}{m_{SQ}} \times \frac{\eta_x^2}{\eta_{SQ}^2} \quad \text{Equação 1}$$

O sulfato de quinina monohidratado (SQ), foi usado como padrão de fluorescência quando aplicadas as condições de comprimentos de onda de excitação e emissão 340 nm e 450 nm respectivamente. A solução padrão foi preparada a partir de uma solução aquosa de ácido sulfúrico 0,5 mol.L⁻¹, enquanto as amostras de PCs foram preparadas em água de osmose reversa.

3.3.11 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

Para avaliação da atividade antimicrobiana foram utilizadas as cepas de:

1. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (SA),
2. *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (PA),
3. *Salmonella enterica* serovar *Typhimurium* ATCC 14028 (ST), e
4. *Escherichia coli* ATCC 25922 (EC).

Todas as cepas foram obtidas no Laboratório de pesquisa contra Tuberculose da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual Paulista (UNESP) – Araraquara. Todas as bactérias foram testadas pelo método de microdiluição numa placa de 96 poços com uma concentração inicial dos compostos de 250 µg/mL cultivadas a 37°C durante 24 h em caldo Mueller-Hinton. As microplacas foram lidas a 600nm após este período.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 IDENTIFICAÇÃO DA ESPÉCIE DO BAMBU

O bambu (figura 17) foi identificado como *Guadua weberbaueri* Pilger pelo taxonomista Edgar Augusto Lobato Afonso do Jardim Botânico do Rio de Janeiro. A identificação gerou um voucher, assim denominado: **Nunes, M. R. S. 01**, disponível no laboratório de Botânica e Ecologia Vegetal da Universidade Federal do Acre.

Figura 17- Imagen do bambu *Guadua weberbaueri* utilizado como fonte de carbono para produção de PCs, nesta pesquisa.



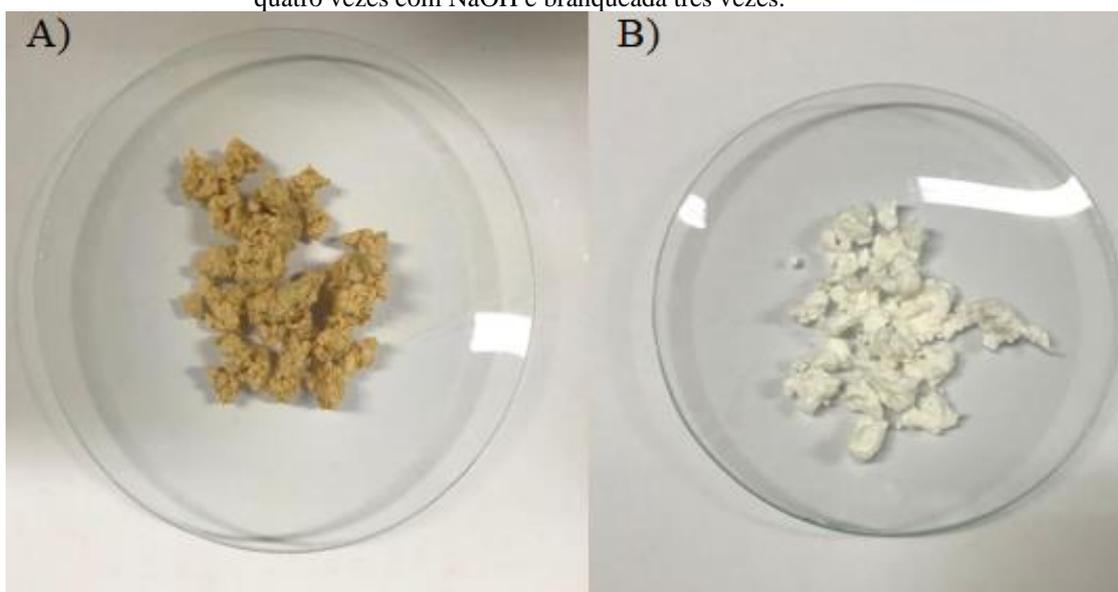
4.2 CARACTERIZAÇÃO DA CELULOSE E NANOCRISTAIS DE CELULOSE

4.2.1 TEOR DE CELULOSE

Para dimensionar o efeito da solução de NaOH na remoção de lignina e hemicelulose no bambu, foi medido o teor de celulose da amostra lavada apenas uma vez (PCBL1) e quatro vezes (PCBL4). O percentual de celulose da PCBL1 foi de 63,26 % enquanto a PCBL4 foi de 78,88 %. A expressiva redução de compostos amorfos entre essas duas, levou esta pesquisa a definir que, apenas as polpas lavadas quatro vezes, passariam pelo processo de branqueamento.

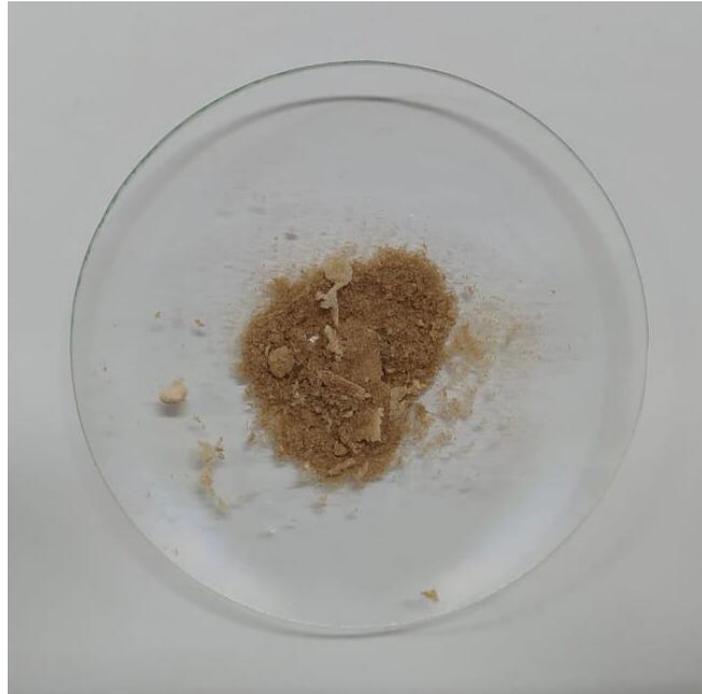
O teor de celulose da polpa branqueada uma vez (PCBL4Br1), duas vezes (PCBL4Br2) e três vezes (PCBL4Br4), foi de 84,83 %, 86,08 % e 88,33 %, respectivamente. Esses resultados mostram a eficácia do processo de branqueamento das polpas na remoção de compostos amorfos, que foi proporcional a quantidade de vezes branqueada. A olho nu, foi possível observar a expressiva remoção dos componentes amorfos da celulose, através do nítido alvejamento da polpa (figura 18).

Figura 18. Imagens de polpa celulósica de bambu A) lavada quatro vezes com NaOH e B) lavada quatro vezes com NaOH e branqueada três vezes.



A hidrólise ácida de PCBL4Br4 para formar possíveis NCC, resultou em um material de coloração escura e baixa densidade (figura 19) com teor de celulose de 98%. Análises específicas desse material serão descritas mais adiante para revelar a formação de NCC.

Figura 19. Imagens dos NCC.



Em suma, os teores resultantes de compostos amorfos (lignina e hemicelulose) remanescentes foram mais expressivos nas amostras que não passaram por processo de branqueamento ou hidrólise ácida. Por outro lado, as polpas branqueadas e os NCC apresentaram baixo teor dos componentes amorfos, expressando valores mais baixos para polpa branqueada três vezes (4,11 %) e os NCC (1,11%). Barros (2017) evidenciou que o rendimento de NCC é diretamente proporcional ao percentual de celulose da mostra precursora. Desse modo, a hidrólise para obtenção dos NCC foi realizada somente na amostra de PCBL4Br3. A tabela 1 mostra os teores de celulose de cada amostra, bem como os valores de lignina e hemicelulose remanescente.

Tabela 1. Resultado da análise do teor de celulose a partir do método FDN/FDA.

Amostras	Composição da Parede Celular (%)		
	Hemicelulose	Lignina	Celulose
PCBL1	11,60	17,92	63,26
PCBL4	6,26	12,18	78,88
PCBL4Br1	6,13	8,59	84,83
PCBL4Br2	7,33	4,17	86,08
PCBL4Br3	5,60	4,11	88,33
NCC	0,89	1,1	98,00

4.2.2 BIRREFRINGÊNCIA DE FLUXO

A figura 20 mostra o fenômeno da anisotropia dos NCC suspensos em água, que foi observado através da imagem birrefringente que a suspensão exibiu quando posta entre os dois polarizadores cruzados. O aparecimento de birrefringência de fluxo é resultado de um alinhamento induzido das partículas na forma de bastão sob agitação, o que indica a presença de NCC isolados na dispersão. As cargas superficiais negativas, devido à incorporação dos grupos sulfato na superfície dos nanocristais durante o processo de hidrólise, garantem a formação da suspensão estável (SOUZA, 2017).

Figura 20. Imagem birrefringente dos NCC.



4.2.3 ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)

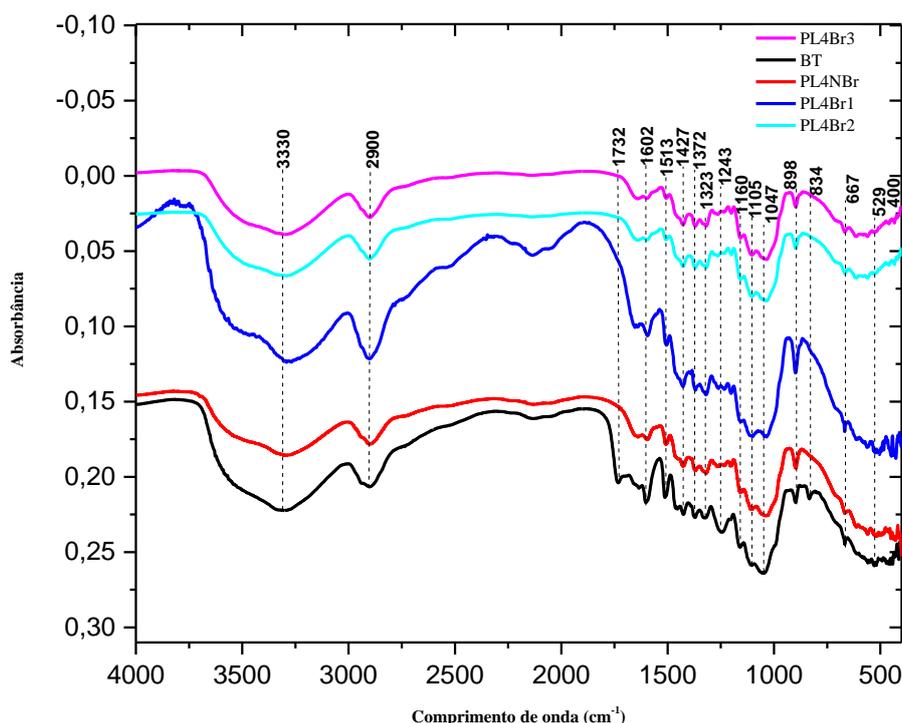
A diminuição nos teores de lignina, hemicelulose e extrativos, acarretando o incremento no teor de alfa-celulose, foi comprovada através do ensaio de FTIR, que mostrou também uma diminuição na absorção máxima de água da amostra, após tratamentos realizados (Figura 21). Essas curvas são resultadas das vibrações correspondentes às bandas de elementos químicos na faixa de 4.000 cm^{-1} a 400 cm^{-1} .

O pico de 1.732 cm^{-1} , referente ao grupo acetil e carboxílicos das xilanas (presentes nos compostos amorfos), quase desaparece do bambu triturado (BT) para as amostras de polpas (PCBL, PCBL4Br1, PCL4Br2 PCBL4Br3), confirmando a extração parcial de lignina e extrativos da amostra. A queda dos teores de lignina, hemicelulose e de extrativos é, também, comprovada através da diminuição das bandas de 1602 cm^{-1} , que representa vibrações no esqueleto aromático mais estiramento C=O, indicando diminuição no teor de polioses.

Em 1.243 cm^{-1} , que representa deformação axial assimétrica de =C–O–C–, comum em meio onde está presente =C–O–, como em éster e éter (muito comum nas moléculas dos componentes amorfos), praticamente desaparecem após os tratamentos. Além disso, as amostras processadas apresentaram menor absorção, em comparação ao BT, em 1.372 cm^{-1} ,

referente à vibração de deformação do grupo C–H, devido a remoção de polissacarídeo de baixa massa molecular (presentes em compostos amorfos). Esse mesmo comportamento foi observado em 1.513 cm^{-1} e 1.427 cm^{-1} , relacionadas a vibração dos grupos aromáticos de lignina, específicas dos anéis do tipo guaiacílicos.

Figura 21. Gráficos de FTIR das amostras de polpa celulósicas.

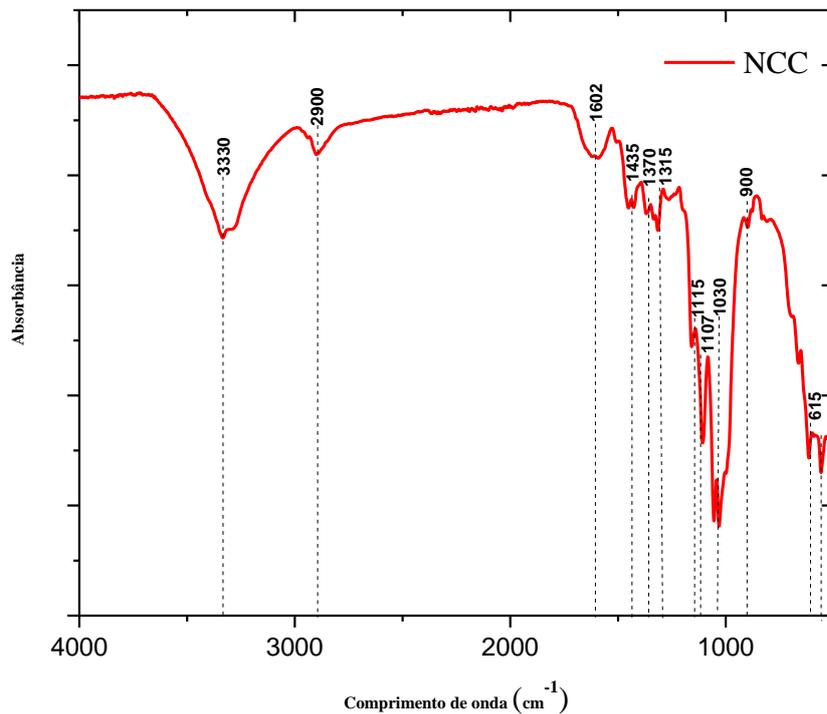


A diminuição da banda de 3.330 cm^{-1} indica o sucesso da reação de esterificação na amostra e na diminuição de umidade. O alargamento das bandas de 898 cm^{-1} e 1.047 cm^{-1} indica um incremento no valor do teor de alfa-celulose, enquanto o aumento da banda de 1.160 cm^{-1} indica incorporação do grupo éster à polpa. A banda de 2.900 cm^{-1} , atribuída ao estiramento vibracional simétrico e assimétrico de CH_2 e CH_3 de grupos alifáticos, tornou-se menor após os tratamentos de polpação aplicados ao bambu.

Por outro lado, apesar de apresentar uma vasta semelhança com as polpas de celulose branqueadas, o FTIR dos NCC mostrou diferença na absorção de determinados comprimentos de onda. A absorção em 1.160 cm^{-1} , por exemplo, não apareceu nos NCC, de modo que é possível afirmar que os grupos ésteres foram eliminados durante a reação química de hidrólise ácida, como mostrado no gráfico da figura 22. Enquanto isso, em 1.513 cm^{-1} e

1.427 cm^{-1} , relacionadas a vibração dos grupos aromáticos de lignina, específicas dos anéis do tipo guaiacílicos, reduziu significativamente, endossando o efeito dos tratamentos químicos na remoção dos compostos amorfos da celulose. Os demais picos de absorção apresentaram-se muito semelhantes ou idênticos aos da polpa de celulose branqueada.

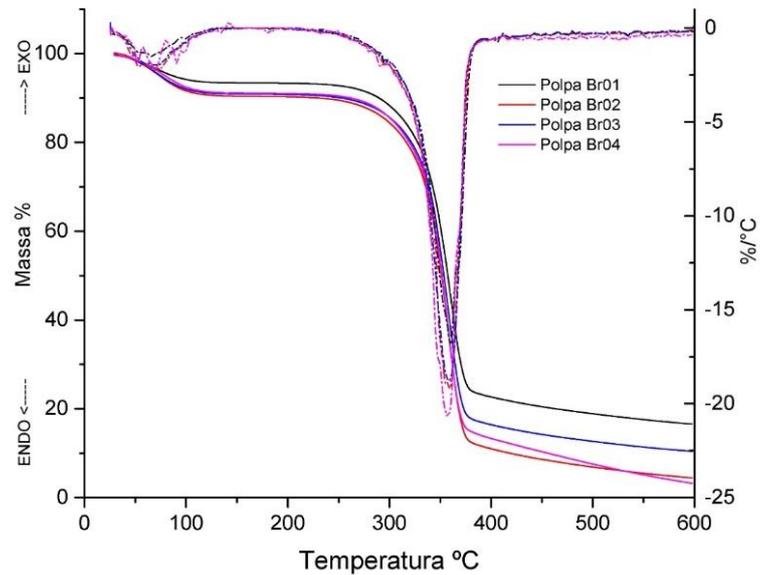
Figura 22. Gráficos de FTIR para as amostras de NCC.



4.2.4 TERMOGRAVIMETRIA (TGA)

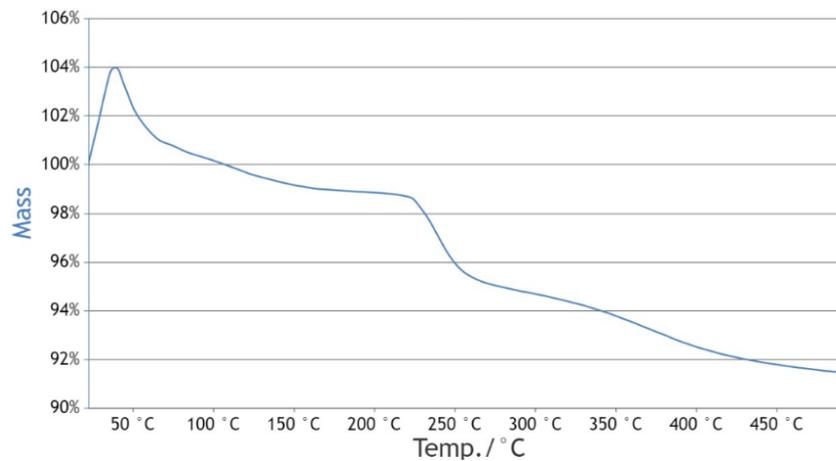
A análise do gráfico de TGA das polpas de celulose branqueadas revelou um comportamento semelhante para todas as amostras (figura 23). O primeiro evento visualizado foi a desidratação das amostras que ocorrem entre um intervalo médio de 43.8 °C e 108.6 °C , com uma perda de massa média de 6,18%. A decomposição térmica ocorre em um pico médio de 356 °C , com temperatura onset em 334.4 °C e endset em 362.2 °C para as quatro amostras analisadas. A Perda de massa média foi de 80,51%. Na curva de DTG, fica evidente dois picos dos eventos endotérmicos que ocorreram nas amostras.

FIGURA 23. Curvas de TGA das amostras de polpa branqueada.



Enquanto isso, nos NCC, o primeiro evento visualizado foi a desidratação das que ocorreu entre um intervalo médio de 45 °C e 101,9 °C, com uma perda de massa média de 3,25%. Até a temperatura de trabalho do equipamento (600 °C), não foi observado decomposição térmica dos NCC. A Perda de massa média foi de 8,2% na temperatura de 600 °C (figura 24).

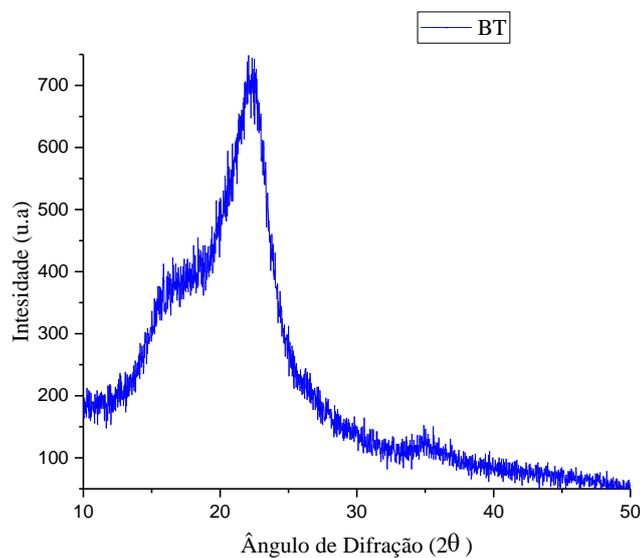
FIGURA 24. Curva de TGA dos NCC.



4.2.5 DIFRAÇÃO DE RAIOS X (DRX)

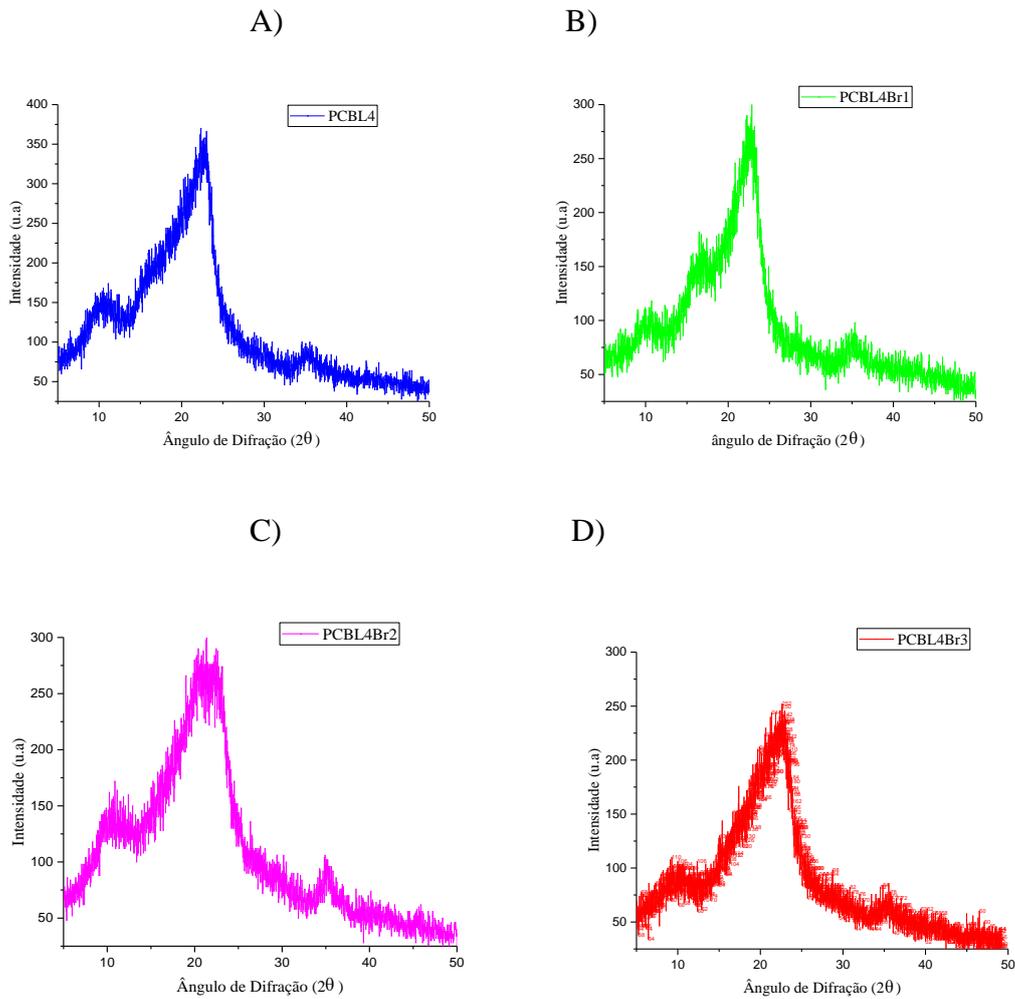
Para a determinação da cristalinidade das amostras percussoras foi usado o método de Segal (1959), onde o percentual cristalino foi determinado pela diferença entre o pico de maior intensidade (I_{c+a}), correspondente ao pico cristalino e o de menor intensidade (I_a), do pico amorfo. A figura 25 mostra o gráfico de DRX da amostra de BT. É possível observar a típica absorção da celulose completamente amorfa em 2θ próximo a 23° .

FIGURA 25. Difratoograma de Raios-x do BT.



As intensidades dos picos cristalinos e do halo amorfo das polpas, foram obtidas através da análise dos gráficos da figura 26. Foi possível observar através das figuras 25A, 25B, 25C e 25D, que os gráficos da celulose de bambu lavada quatro vezes (sem nenhum processo de branqueamento) e lavadas quatro vezes seguido de branqueamento um, duas e três vezes são característicos de celulose tipo II, onde o halo amorfo e o pico cristalino ficam situados entre os ângulos $12^\circ \leq 2\theta \leq 13^\circ$ e $22^\circ \leq 2\theta \leq 23^\circ$.

Figura 26. Difratoograma de Raios-x da PCBL4 (A); PCBL4Br1 (B); PCBL4Br2 (C) PCBL4Br3 (D).

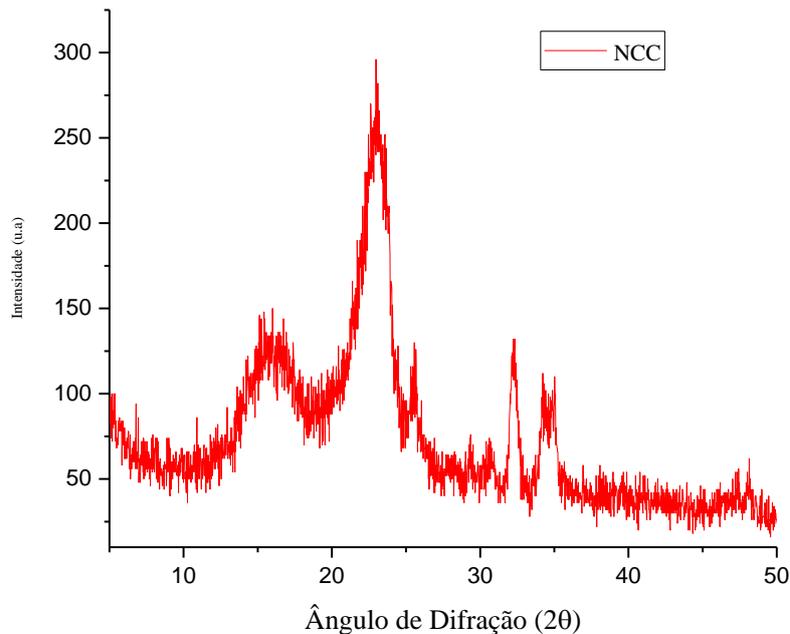


A partir da intensidade de absorção dos ângulos, foi determinado o índice de cristalinidade para as amostras, onde a amostra PCBL4 mostrou-se 66,66% de teor cristalino. Enquanto a PCBL4Br1 apresentou índice superior (71,04%). Esse incremento do teor de cristalinidade nas amostras se repetiu nas polpas branqueadas duas e três vezes, 76,19% e 79,47%, respectivamente. Com esse resultado, é possível endossar que o agente branqueador ataca o bambu de forma a eliminar os grupos amorfos da celulose e que os índices de cristalinidades estão próximos aos encontrados nas polpas de Eucaliptos produzidos por Lengowski (2012).

O difratograma da amostra de NCC revelou um material mais cristalino em comparação com as polpas branqueadas (89 %). Na figura 27 é possível observar picos de difração da estrutura cristalina em $2\theta = 15,5^\circ$ e $23,5^\circ$ correspondentes aos planos 10^{-1} e 002

respectivamente, além de picos mais suaves em torno de $2\theta = 35^\circ$, atribuído ao plano 040 de celuloses (PARK, 2010).

Figura 27. Difratoograma de Raios-x dos NCC.



4.2.6 POTENCIAL ZETA SIZE

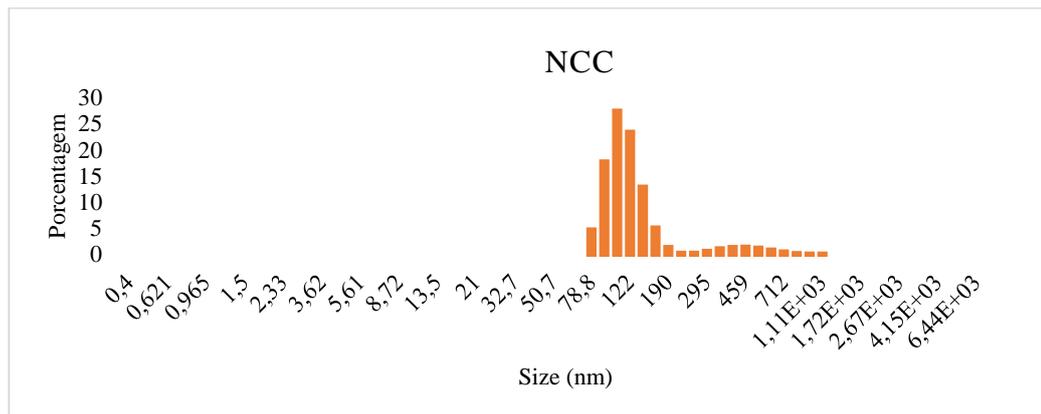
A suspensão aquosa de NCC apresentou maior percentual de nanopartículas em torno de 120 nm de diâmetro, entretanto, houve um volume expressivo de nanomaterial abaixo de 100 nm e acima de 500 nm, como mostrado no gráfico da figura 28. Esses valores são bem aceitos para diâmetros de NCC levando em consideração sua razão de aspecto (relação entre largura e comprimento).

Vale ressaltar que, o diâmetro hidrodinâmico medido pela técnica DLS não se resume ao diâmetro apenas das nanopartículas, como nas medições por microscópios, mas também inclui as substâncias adsorvidas na superfície das nanopartículas (inclusive impurezas) e a espessura da dupla camada elétrica que se move junto com a nanopartícula (TOMASZEWSKA et al., 2013).

A essa altura do desenvolvimento desta pesquisa, já se pretendia obter medidas mais precisas dos NCC, entretanto, a técnica aqui usada (DLS) foi fundamental para agilizar os

trabalhos, haja visto que, este foi o recurso que estava disponível em nosso laboratório. Apesar da imprecisão, a técnica de DLS foi fundamental para detectar partículas na ordem nanométrica. Entretanto, microscopia eletrônica de varredura e de transmissão foram usadas (e serão discutidas mais adiante) para confirmar e precisar os resultados já obtidos.

Figura 28. Distribuição de tamanho de NCC obtida por DLS.



A estabilidade coloidal está relacionada com o valor do Potencial Zeta, no qual partículas com valores superiores a +30 mV ou inferiores a -30 mV apresentam altos graus de estabilidade (TUAN et al., 2015) por apresentar expressiva repulsão entre si. Desse modo, os NCC, produzidos nesse trabalho, apresentaram estabilidade significativa em suspensão aquosa, por revelar potencial Zeta igual a -50,1 mV.

O índice de polidispersividade (PDI), que mede a amplitude da distribuição de tamanho ou o grau de aglomeração do nanomaterial, pode variar de 0 a 1 (KAUR et al., 2018). Amostras com valores de PDI altos são mais polidispersas, enquanto valores baixos caracterizam amostras monodispersas e, em casos de valores maiores que 1, a amostra é tão polidispersa que não é adequada para DLS (KAUR et al., 2018). Dessa forma, os NCC produzidos (suspensos em água) são polidispersos e adequados para DLS, visto que o valor de PDI encontrado foi de $0,811 \pm 0,059$.

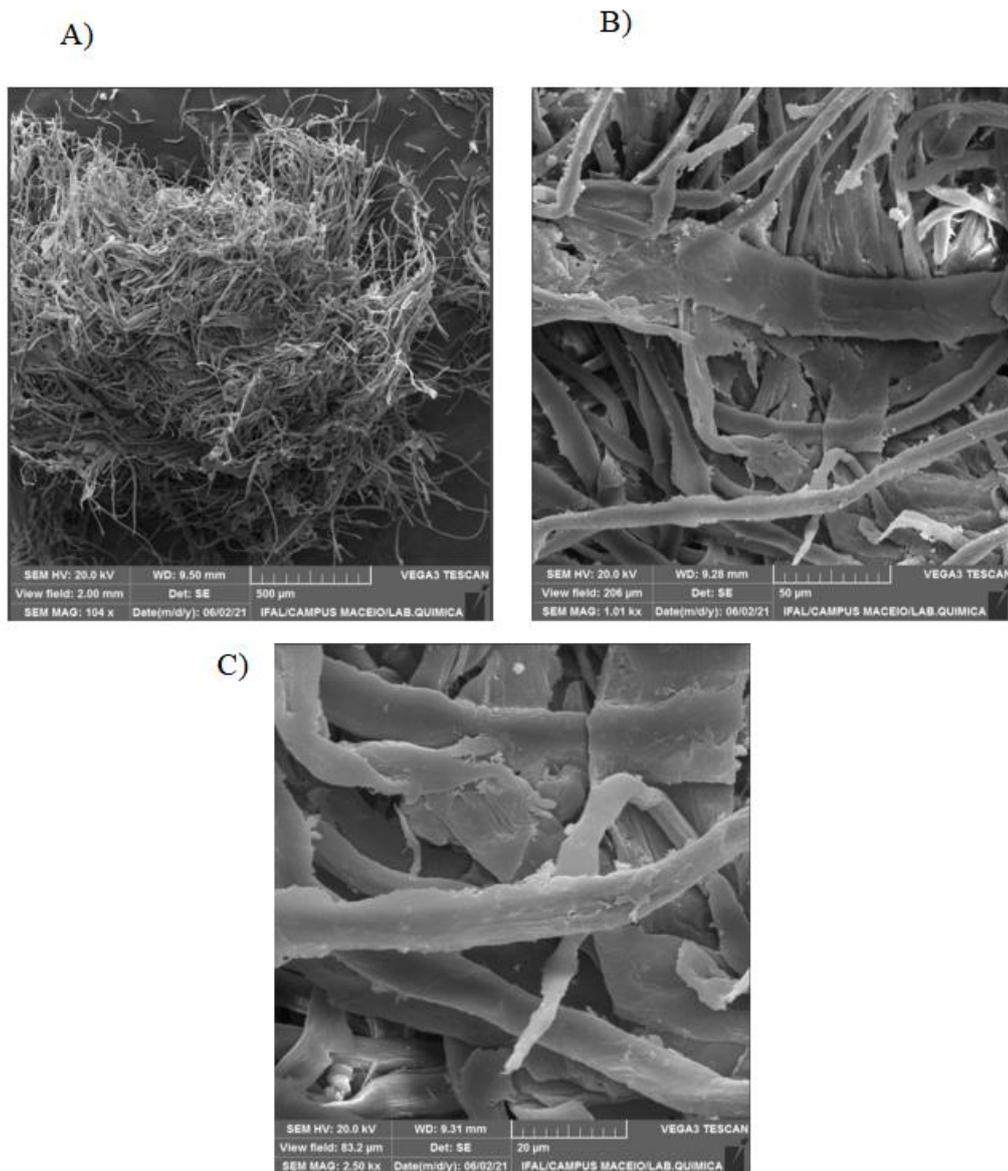
4.2.7 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA E TRANSMISSÃO

A polpa de celulose branqueada quatro vezes foi analisada por MEV em escalas de 500 μm , 50 μm e 20 μm . As imagens (figura 29) revelaram um emaranhado de microfibras

lignocelulósica entrelaçadas em formato de cordas com diâmetro médio de 220 nm. Segundo Pietak (2007) e Ren (2008), cada fibra possui uma estrutura de camadas complexas; constituída por uma parede primária fina, inicialmente depositada durante o crescimento das células, que circunda uma parede secundária.

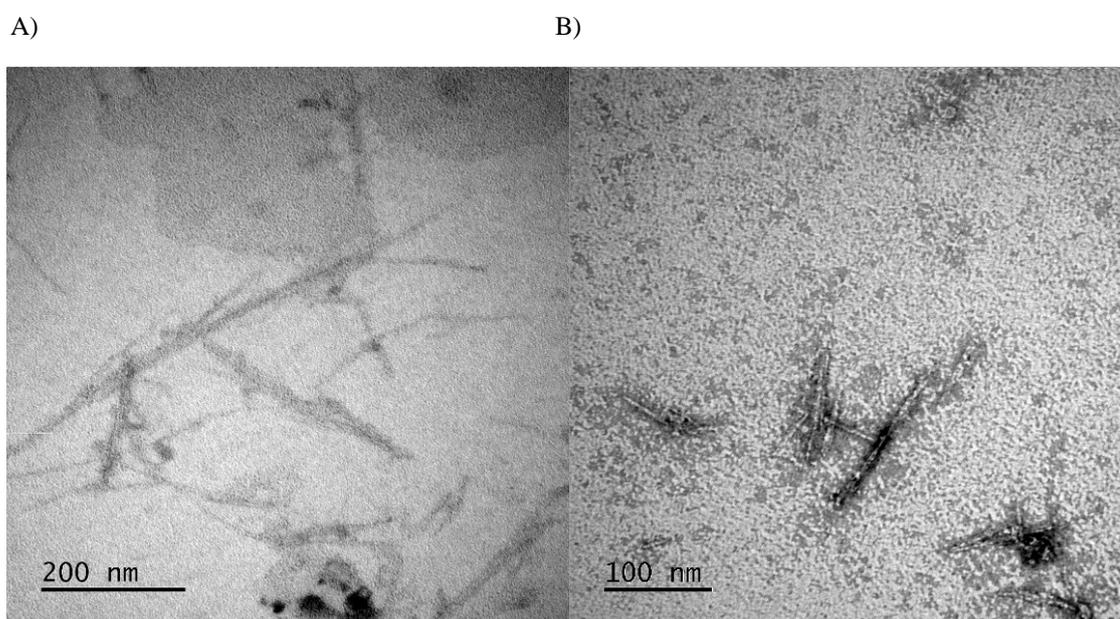
A parede secundária é constituída por três camadas, onde a camada intermediária determina as propriedades mecânicas da fibra e consiste em uma série de microfibrilas, helicoidalmente formadas por longas cadeias de celulose e organizadas no sentido da fibra. Tais microfibrilas são resultantes do empacotamento de 30 a 100 cadeias de celulose estendidas (PIETTAK, 2007).

Figura 29. Imagens da fibra branqueada de bambu obtidas por MEV em escalas de A) 500 μm B) 50 μm e C) 20 μm .



Na literatura é encontrado NCC com dimensões entre 4 e 16 (nm) de largura e 300 a 500 nm de comprimento (MORAES et al., 2016). As imagens de MET dos NCC (figura 30) foram obtidas em escalas de 100 nm e 200 nm. Foi possível observar nanoestruturas em forma de bastões com uma média de 12 nm de diâmetro e comprimento entre 100 nm e 490 nm. Além disso, é possível detectar estruturas fora desses padrões dimensionais o que leva a crer que a hidrólise ácida da polpa do bambu ocorreu de modo incompleto ou que gerou produtos intermediários.

Figura 30. Imagens dos NCC obtidas por MET em escalas de A) 200 nm e B) 100 nm.

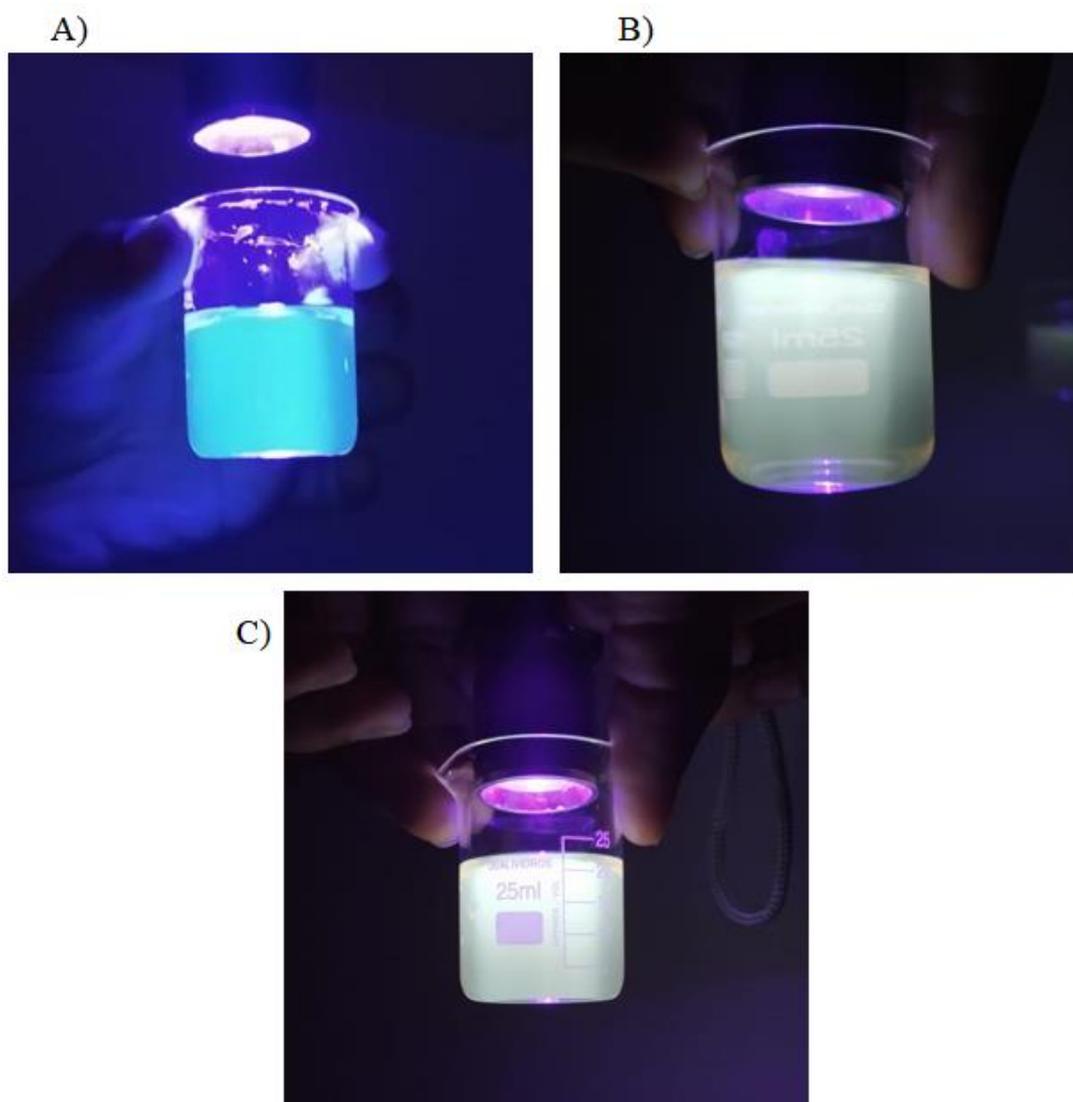


4.3 CARACTERIZAÇÃO DOS PCs

4.3.1 IRRADIAÇÃO POR LUZ ULTRAVIOLETA

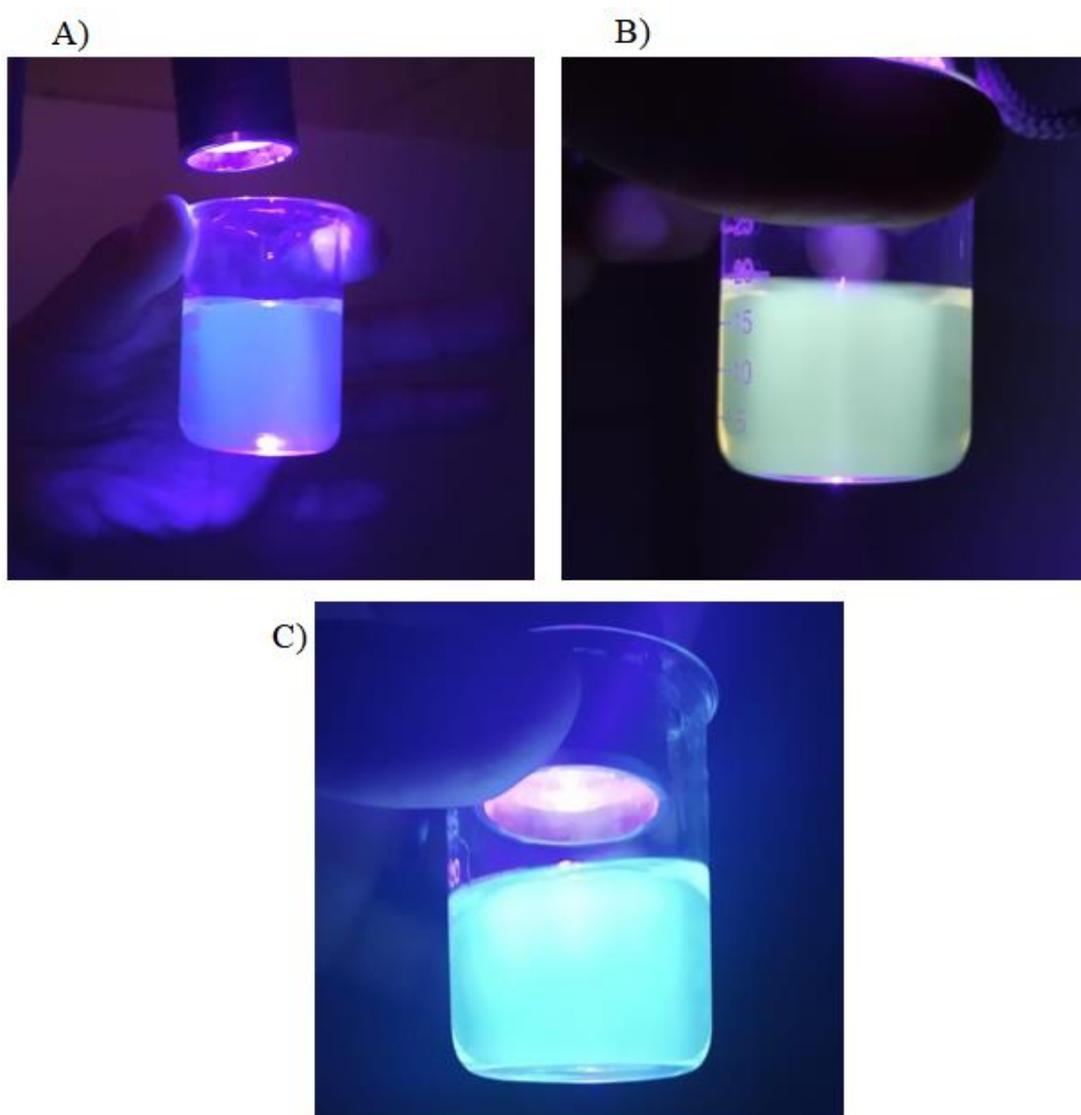
Os PCs preparados hidrotérmicamente a partir da polpa branqueada de celulose com água ou DMF nas temperaturas de 4, 6 e 8 horas de reação, foram analisados quanto sua fluorescência. A mais simples e eficiente análise para detectar a presença de PCs é a irradiação da suspensão com energia ultravioleta em torno de 365 nm. Desse modo, foi possível detectar que todas as amostras fluoresceram na região do visível (mais precisamente na coloração verde), quando excitadas com luz ultravioleta (figuras 31 e 32).

Figura 31. Fluorescência dos PCs de polpa celulósica em A) 4, B) 6 e C) 8 horas de reação com DMF.



A olho nú, é possível perceber que os nanomateriais fluoresceram com mais intensidade em tempos de reação mais elevados (6 e 8 horas), entretanto, sem aparente significativa diferença. Com tempo de reação de 4 horas a amostra apresentou discreta fluorescência em comparação as de mais.

Figura 32. Fluorescência dos PCs de polpa celulósica em A) 4, B) 6 e C) 8 horas de reação com água.



Outro fator muito importante a ser destacado é que os C-dots não apresentaram expressiva diferença (visual) em suas propriedades fluorescentes quando variou o material precursor (de polpa celulósica para NCC). As figuras 33 e 34 mostram amostras de PCs produzidos a partir de NCC com DMF ou água, respectivamente. Entretanto, a imprecisão de uma análise visual não é suficiente para essa conclusão. Por causa disso, os materiais foram submetidos a análises óticas (espectrofotometria de fluorescência e UV-Vis) para calcular o rendimento quântico real das amostras.

Figura 33. Fluorescência dos PCs de NCC em A) 4, B) 6 e C) 8 horas de reação com DMF.

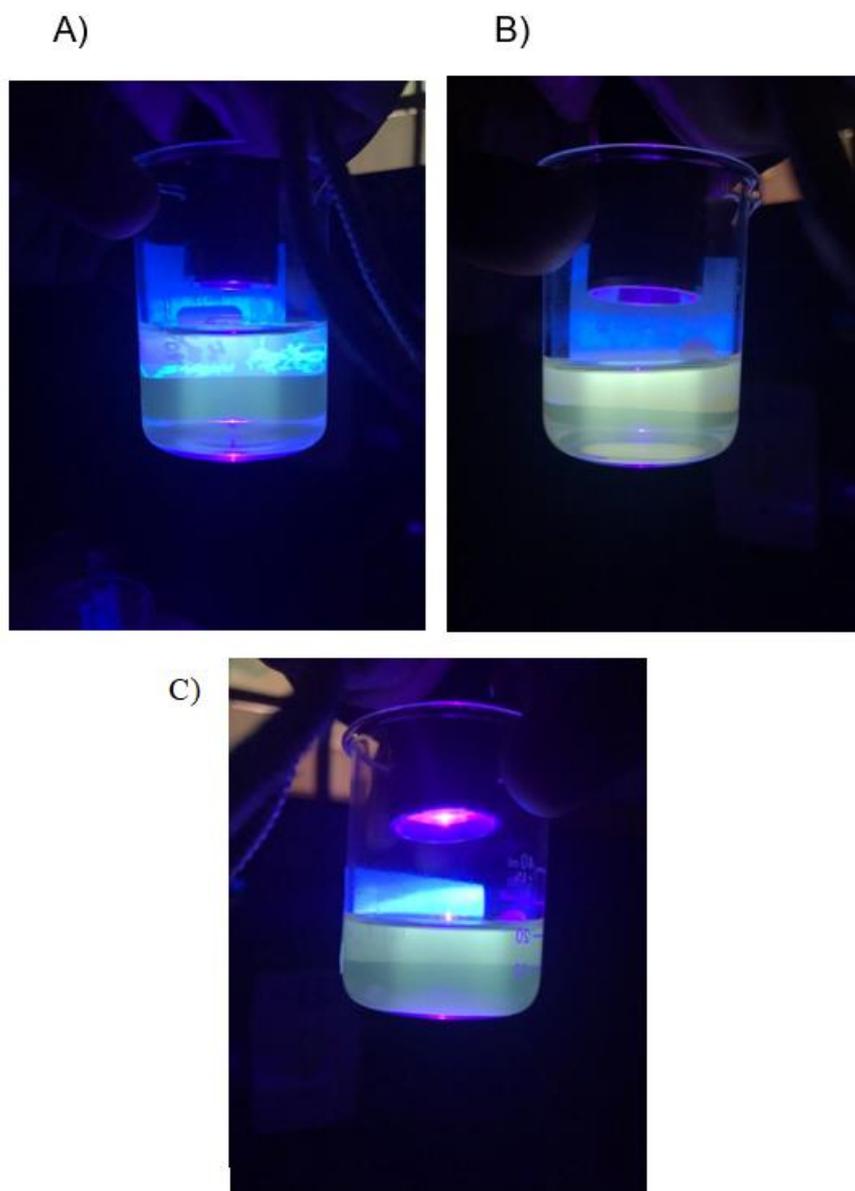
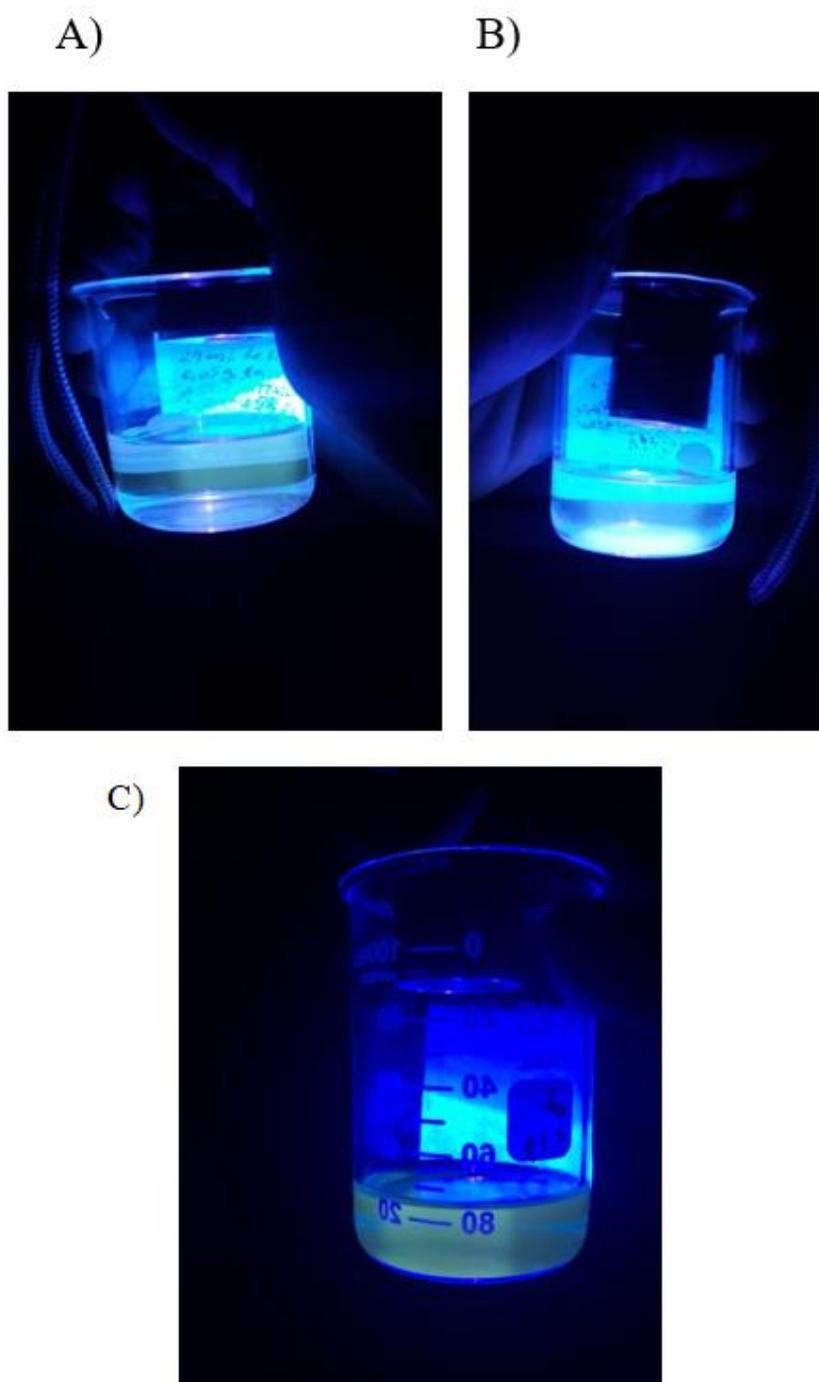


Figura 34. Fluorescência dos PCs de NCC em A) 4, B) 6 e C) 8 horas de reação com DMF.



4.3.2 PROPRIEDADES ÓTICAS

A forma mais confiável para a determinação do rendimento quântico de materiais fluorescentes é o método comparativo de Williams e Winfield (1983), que envolve a utilização de moléculas padrões de fluorescência bem caracterizadas. Essencialmente, soluções do padrão e amostra, em teste com absorvâncias equivalentes, em um mesmo comprimento de onda de

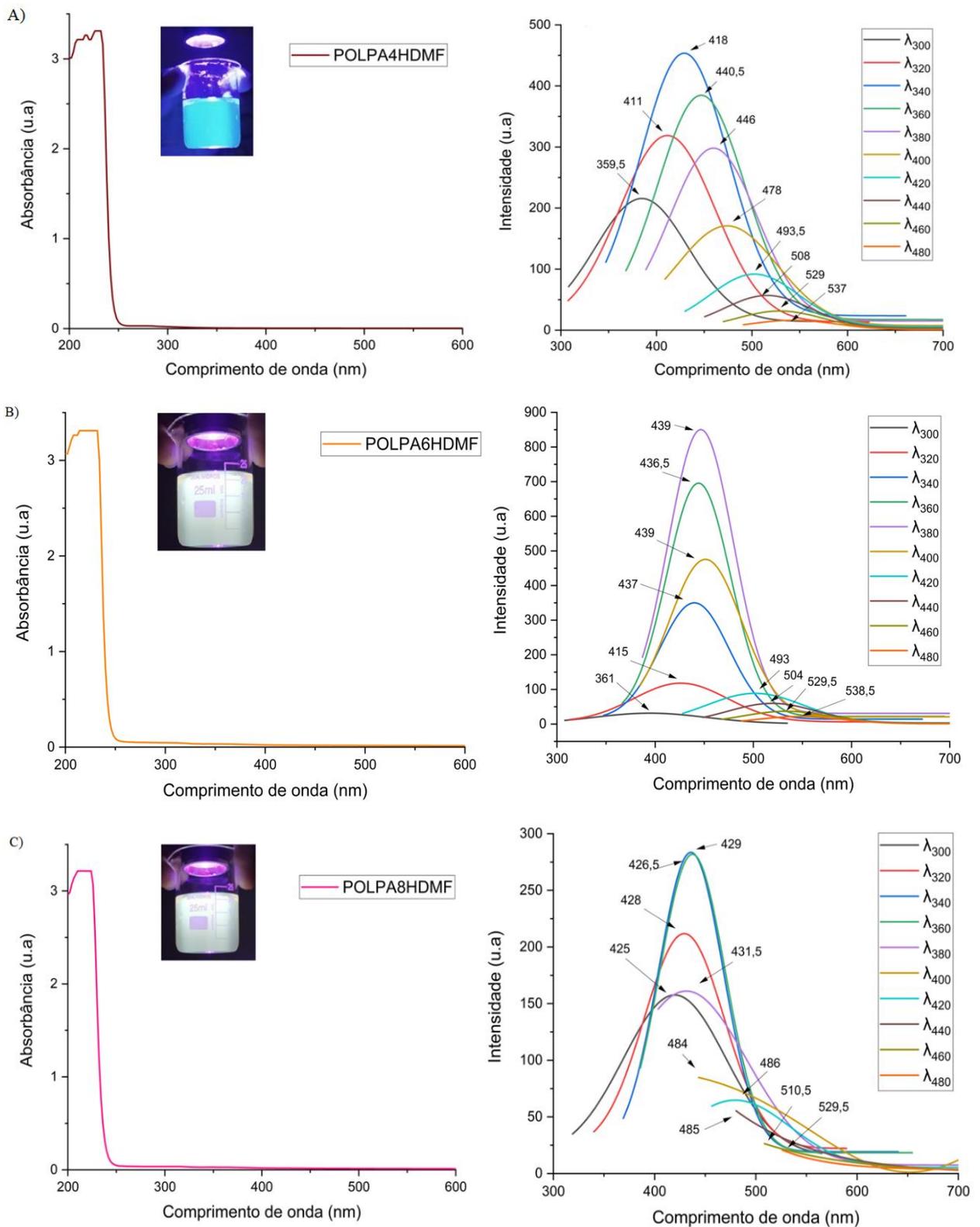
excitação, absorvem a mesma quantidade de fótons. Portanto, a relação entre a intensidade da fluorescência integrada das duas soluções permite a mensuração do rendimento quântico da amostra em estudos (WILLIAMS e WINFIELD, 1983).

A figura 35 mostra os gráficos, da esquerda para a direita, de UV-vis e espectrofotometria de fluorescência, respectivamente, das amostras de PCs produzidas a partir da polpa branqueada do bambu com DMF. Para todas as amostras é encontrado um pico de absorção em torno de 265 nm no gráfico de UV-Vis, característico das transições $n \rightarrow \pi^*$ da ligação C=O e transição $\pi \rightarrow \pi^*$ dos domínios aromáticos contendo ligações C=C (ZHAO, 2013).

Os gráficos de espectrofotometria de fluorescência revelaram materiais fluorescentes quando excitados em comprimento de onda de 300 nm a 480 nm. Entretanto, os PCs fluoresceram mais em determinados comprimentos de ondas. De acordo com SAHU (2012) o mecanismo de fluorescência pode ser influenciado tanto pelo tamanho quanto pelos defeitos de superfície apresentados pelo material.

Encontram-se na literatura justificativas quanto ao comportamento de emissão, por esta apresentar uma dependência do comprimento de onda de excitação. Segundo SOUZA (2017) algumas delas seriam a presença de estruturas aromáticas conjugadas, armadilhas emissivas ou armadilhas de energia (*emissive traps*) e diferentes estados de superfície. Portanto, é possível associar essa dependência de emissão de luz com os possíveis diferentes grupos químicos que compõem a estrutura superficial dos PCs.

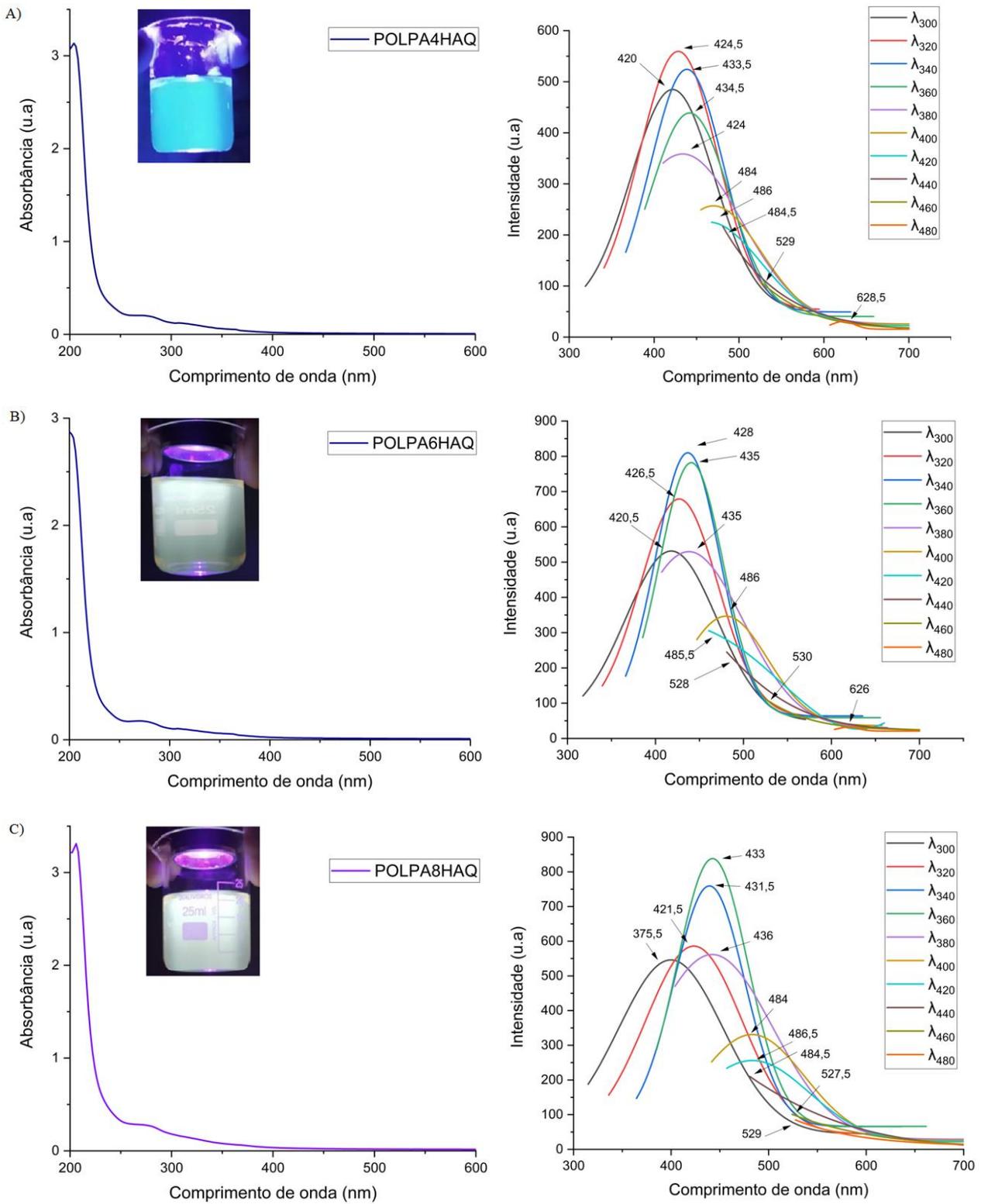
Figura 35. Fluorescência dos PCs produzidos com polpa celulósica e DMF em tempo de reação de A) 4 horas, B) 6 horas e C) 8 horas.



De modo geral, todas as amostras apresentaram maior rendimento quântico quando excitadas entre 320 nm e 340 nm. Na imagem anterior (figura 34) é possível comparar a fluorescência das amostras preparadas com polpa de celulose e DMF quando excitada por luz UV-vis de uma lanterna, em três distintos intervalos de tempo. É perceptível a emissão de luz mais intensa na figura 34B e 34C (6 e 8 horas, respectivamente), enquanto a 34A é de baixa intensidade (4 horas) se comparada com as de mais. O rendimento quântico das amostras foi de 0,71%, 1,1% e 1,2% nos tempos de reação de 4, 6 e 8 h, respectivamente.

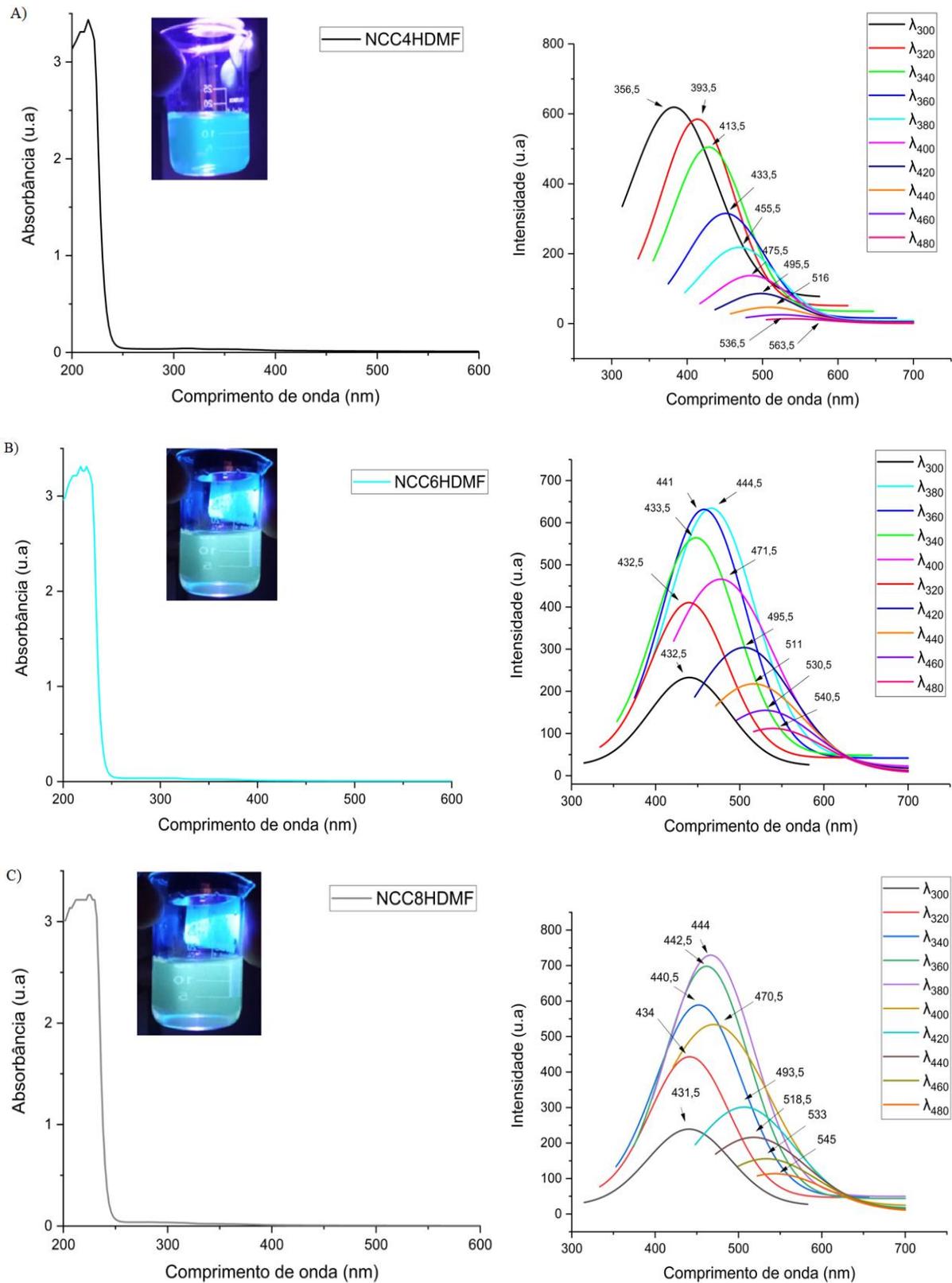
A figura 36 mostra a fluorescência das amostras preparadas com polpa de celulose e água, quando excitada por luz UV-vis de uma lanterna. É possível notar uma certa semelhança com as amostras preparadas com DMF, tanto na emissão de luz, quanto nos gráficos de UV-vis e fluorescência. O rendimento quântico dessas amostras foi de 0,69%, 1,2% e 1,3% nas nos tempos de reação de 4, 6 e 8 h, respectivamente.

Figura 36. Fluorescência dos PCs produzidos com polpa de celulose e água em tempo de reação de A) 4 horas, B) 6 horas e C) 8 horas.



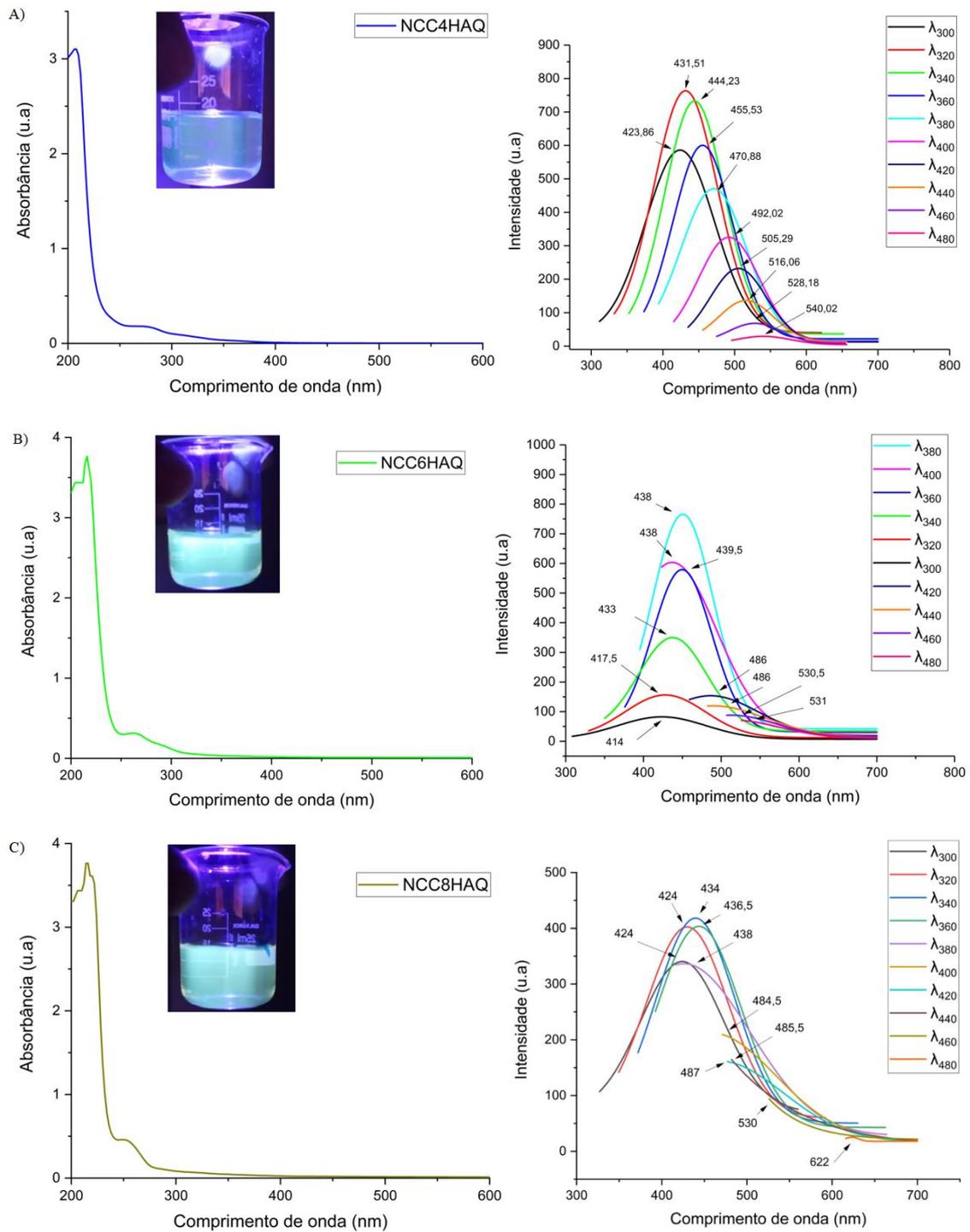
De modo semelhante as amostras de C-dots produzidas com a polpa celulósica e DMF e as amostras de C-dots produzidas com NCC e DMF apresentaram menor rendimento quântico quando produzidas em tempo de reação de 4 h (0,73%). Enquanto isso, aquelas produzidas em tempo de reação de 6 h e 8 h apresentaram rendimento quântico médio superior a 1,1% e 1,3%, respectivamente (figura 37).

Figura 37. Fluorescência dos PCs produzidos com NCC e DMF em tempo de reação de A) 4 horas, B) 6 horas e C) 8 horas.



Em comportamento óptico similar, como mostrado na figura 37, amostras de C-dots produzidas com NCC e água apresentaram rendimento quântico de 0,70%, 1,1% e 1,2%, para os tempos de reação de 4 h, 6h, e 8 h, respectivamente (figura 38).

Figura 38. Fluorescência dos PCs produzidos com NCC e água em tempo de reação de A) 4 horas, B) 6 horas e C) 8 horas.



Os gráficos acima revelaram que, para todas as amostras de PCs, foi emitida luz na região que abrange todos os tons de azul até o verde do espectro de cores (411 nm a 538 nm). Entretanto, o maior rendimento quântico se deu quando o nanomaterial foi excitado com comprimento de onda de 320 nm e 340 nm emitindo luz entre 418 nm e 439 nm. De acordo com Bourlinos (2018), PCs produzidos em única etapa por decomposição térmica apresentam um rendimento quântico médio de 3%, independente do comprimento de onda de excitação. Mas esse valor pode variar entre 0,8% (LIU, 2007) e 26% (SAHU, 2012).

De modo geral, todas as amostras tiveram rendimento quântico semelhantes que variaram de 0,89% a 1,3%. O resultado deixa em evidência a inviabilidade de produzir C-dots a partir de NCC, devido a sua complexidade de obtenção, principalmente pelo exaustivo método de purificação, isso porque, PCs obtidos a partir da polpa celulósica apresentaram rendimento quânticos semelhantes. A tabela 2 mostra o rendimento quântico de todas as amostras C-dots produzidas.

Tabela 2. Dados de RQ das amostras obtidas.

Amostra	RQAI(%)
POLPA4HDMF	0,71
POLPA6HDMF	1,1
POLPA8HDMF	1,2
POLPA4HAQ	0,89
POLPA6HAQ	1,2
POLPA8HAQ	1,3
NCC4HDMF	0,93
NCC6HDMF	1,1
NCC8HDMF	1,3
NCC4HAQ	0,89
NCC6HAQ	1,1
NCC8HAQ	1,2
SQ 1ppm	54

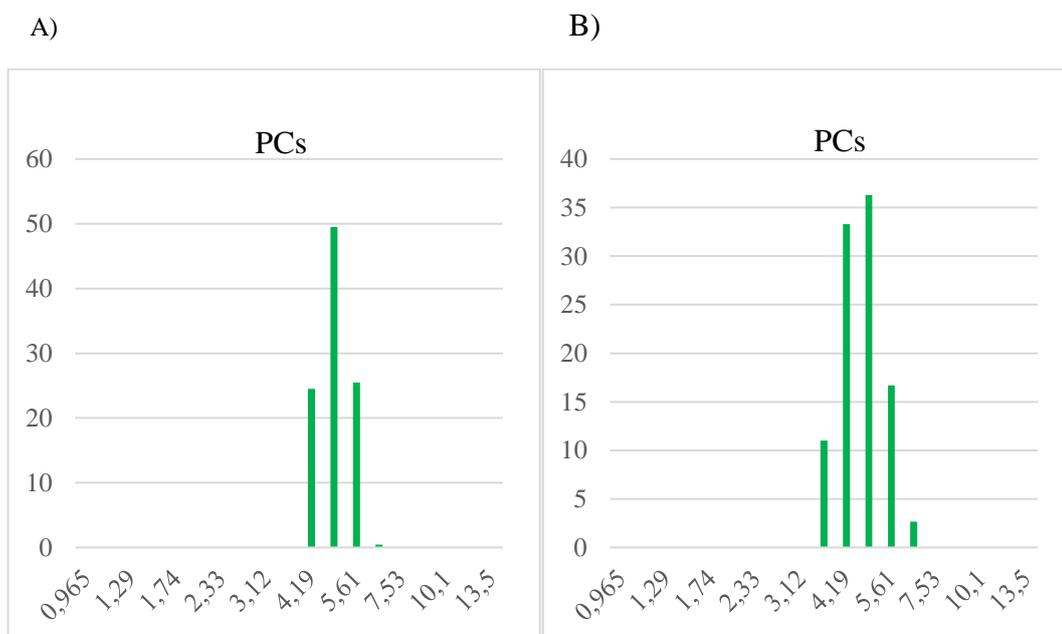
*RQ = Rendimento quântico

Em suma, a semelhança nas propriedades óticas que foram encontradas para todas as amostras, levou essa pesquisa ao afunilamento das ideias, de modo que, a fim de se obter o melhor custo-benefício para produção de PCs, foi definido que, a partir desse ponto, apenas amostras preparadas com polpa celulósica seguiria para análises posteriores.

4.3.3 POTENCIAL ZETA SIZE

De acordo com Wang (2014), PCs são pequenas nanopartículas de carbono que medem menos de 10 nm de diâmetro e emitem luz na região do visível quando excitados com luz ultravioleta. A figura 39 mostra a distribuição do tamanho do diâmetro dos PCs preparados com água ou DMF a partir da polpa celulósica como fonte de carbono. Os valores encontrados estão compreendidos dentro do intervalo de tamanho obtido por Wang. Mais precisamente, os PCs obtidos com água apresentaram valores entre 4 nm e 7 nm com maior percentual em torno de 5 nm (figura 39A). Enquanto os obtidos com DMF mostraram valores de diâmetro entre 3 nm e 7,5 nm sendo o maior percentual em torno de 5 nm (figura 39B).

Figura 39. Distribuição de tamanho de PCs obtidos a partir de A) água e B) DMF.



A técnica de DLS revelou PCs estáveis em suspensão aquosa, por apresentar potencial Zeta igual a $-33,6$ mV, polidispersos e adequadas para DLS, visto que o valor de PDI encontrado foi de $0,811 \pm 0,059$.

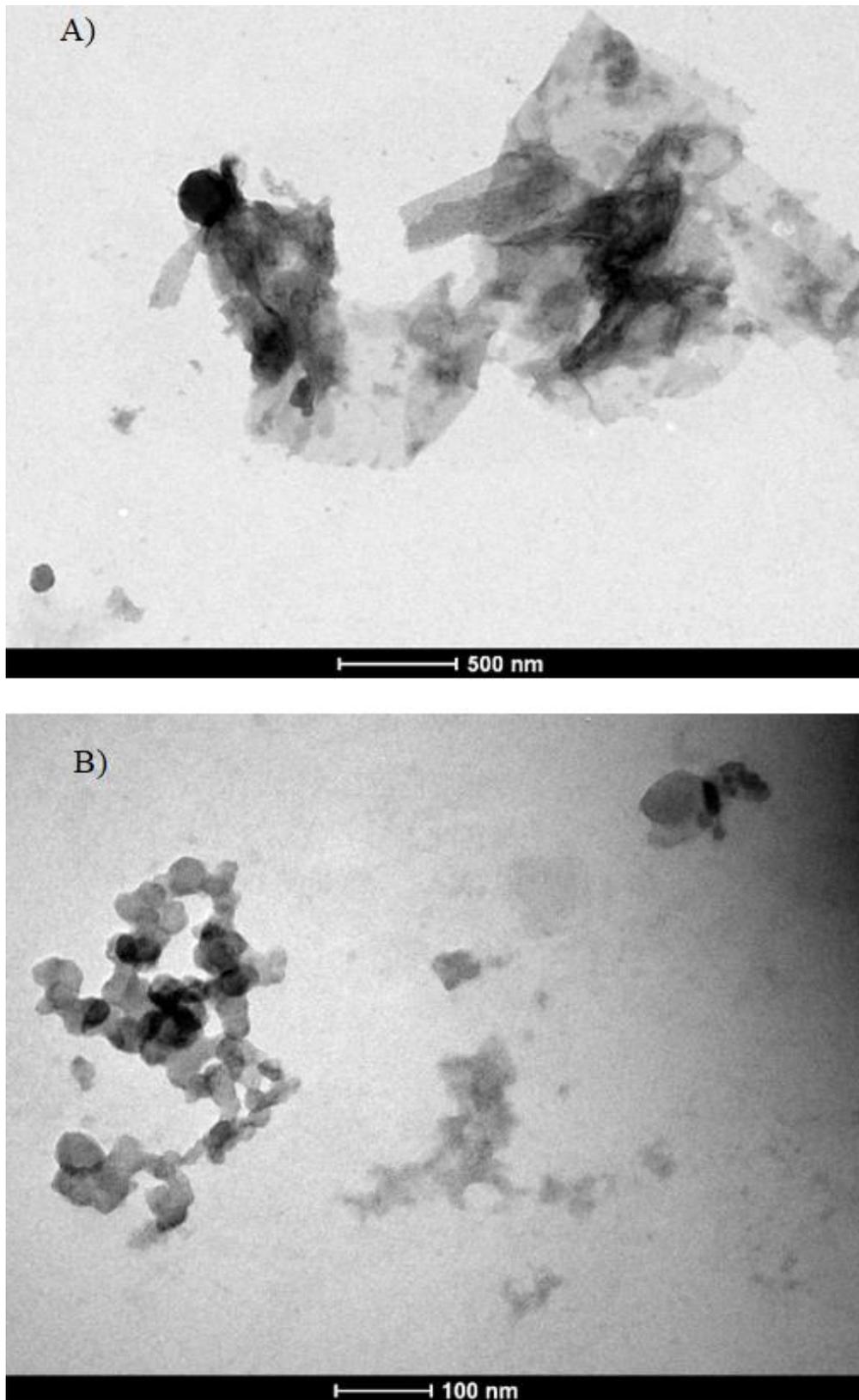
Até o dado momento, essa pesquisa revelou PCs, produzidos com água ou DMF, com propriedades de fluorescência e tamanho de nanopartículas aceitáveis para aplicações tecnológicas. Entretanto o uso de DMF como solvente demanda considerável tempo para purificação do nanomaterial, se comparado com água. Portanto, por não apresentar qualquer

vantagem nas propriedades dos PCs, nossa equipe de pesquisa decidiu continuar os trabalhos preparando PCs a partir de polpa celulósica e apenas água como solvente.

4.3.4 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO

As imagens de microscopia eletrônica de transmissão (MET) da amostra fluorescente, permitiram uma análise mais detalhada das estruturas dos nanomateriais obtidos. As figuras 40A e 40B mostram aglomerados formados por folhas disformes ou partículas de carbono de diferentes tamanhos. O comprimento das folhas varia de 50 nm a 2 micrômetros, sugerindo que parte do material sofreu carbonização hidrotérmica incompleta. As análises ópticas das amostras já haviam revelado maior intensidade na fluorescência quando o material precursor foi submetido em maior tempo de carbonização hidrotérmica, entretanto, foi decidido trabalhar com o valor de tempo intermediário (6 h), visando o melhor custo-benefício, principalmente devido ao gasto de energia exigido no processo.

Figura 40. Imagens dos PCs obtidas por MET em escalas de A) 200 nm e B) 100 nm.

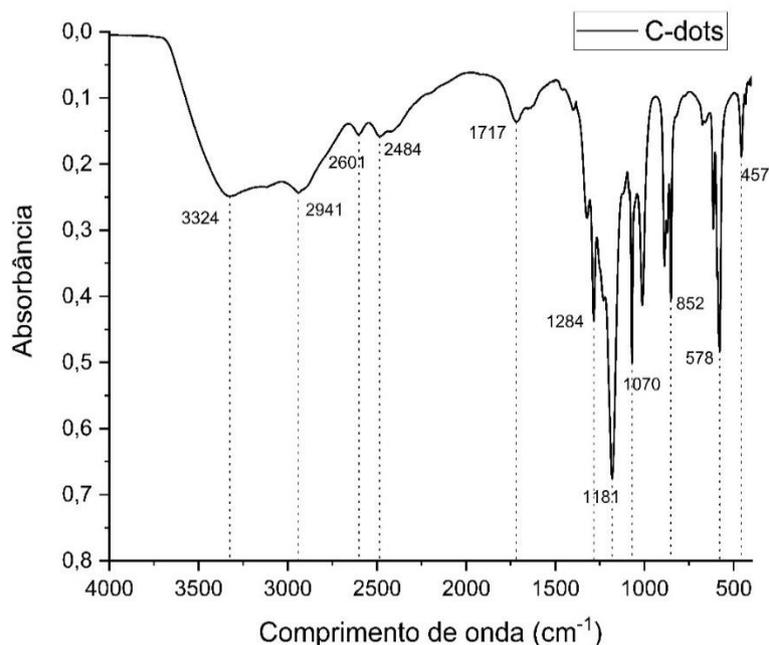


Por outro lado, foram detectadas PCs em torno de 5 nm (figura 39C), comprovando, desse modo, o sucesso parcial da carbonização hidrotérmica para obtenção de PCs. Entretanto, partículas esféricas entre 10 nm e 300 nm foram encontradas. Apesar do potencial zeta das amostras revelar um nanomaterial relativamente estável, é preciso destacar que as análises no infravermelho com transformada de Fourier das amostras, revelaram significativa quantidade de grupos hidroxilas e caboxilas no material o que os tornam deter de alta tendência de aglomeração devido as interações a partir de pontes de hidrogênio. Além disso, as amostras ficaram cerca de sessenta dias até a concretização da análise de MET, sob temperatura ambiente, devido a situações burocráticas de envio e análise, tal como, fila de espera e outros na FIOCRUZ – BA. Esse tempo pode ter sido fator determinante para estabilização de grupos eletrostáticos (especialmente os sulfatos) que colaborou para efetivação de ligações a partir de pontes de hidrogênio nos PCs.

4.3.5 ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)

A figura 41 mostra o espectro de FTIR dos PCs. Em relação as amostras precursoras, o gráfico revela um material com expressivo e variados grupos funcionais, com a presença de muitos grupos oxigenados, tais como carbonilas, carboxilas, hidroxilas, nitrosos, sufóxidos e outros.

A larga absorção em torno de 3324 cm^{-1} é característica de estiramento OH. Diversos grupos funcionais de C-O e S=O podem ser atribuídos aos estiramentos em 1181 e 1070 cm^{-1} . De acordo com Salame (2001), a banda em torno de 1371 cm^{-1} é atribuída ao estiramento de grupos funcionais nitrosos, principalmente $-\text{NO}_2$. A absorção característica de C-OH localiza-se em torno de 1181 cm^{-1} , e deformação C-H em aromáticos em torno de 800 cm^{-1} .

Figura 41. Gráfico de FTIR dos PCs.

4.3.6 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

Análises antimicrobianas mostraram que os PCs são eficientes contra bactérias, tanto gram positiva como negativa, com destaque para ST que chegou mais próximo ao valor do potencial antibiótico comercial gentamicina (GENT). A reprodutividade da bactéria EC também cedeu significativamente ao material testado. De modo inferior, SA também foi inibida pela presença dos PCs, como mostrado na tabela 3. Os valores dos resultados aqui relatados são superiores a média encontradas na literatura para alguns outros materiais naturais, como óleos essenciais, por exemplo (CARVALHO, 2016; BARBOSA, 2015; SARTO, 2014). A tabela 3 apresenta os valores encontrados para PCs com uma comparação ao GENT.

Tabela 3. Dados de análise antimicrobiana frente a PCs.

	ST (%)	EC (%)	SA (%)
PCs	3,0	15,4	9,1
GENT	0,7	2,19	0,64

Os resultados obtidos até aqui, empolgaram nosso grupo de pesquisa a ponto de que, para um futuro próximo, por assim dizer, para um projeto de pós doutorado ou quaisquer outros objetivos científico, pretendemos testar os PCs, aqui produzidos, como um biomarcador de células, a partir da

modificação da superfície dos PCs, de modo que eles se liguem a células previamente selecionadas em *in vitro* e em *in vivo*.

5 CONCLUSÕES

A polpação do bambu identificado como *Guadua weberbaueri* Pilger revelou índice de celulose diretamente proporcional a quantidade de processos químicos que as amostras sofriram. O diâmetro dos PCs obtidos tanto a partir da polpa celulósica com água ou DMF apresentaram valores entre 3 nm e 7,5 nm com maior percentual em torno de 5 nm. A técnica de DLS revelou PCs estáveis em suspensão aquosa, ao apresentar potencial Zeta igual a -33,6 mV, polidispersos e adequadas para DLS, visto que o valor de PDI encontrado foi de $0,811 \pm 0,059$.

Todas as amostras de PCs fluoresceram na região do visível (entre o azul e o verde) quando excitadas com luz ultravioleta (365 nm). Entretanto, quando excitadas em diferentes comprimentos de onda, 300 nm a 480 nm, com incremento de 20 nm, houve mudança no comprimento de onda de luz emitida. Essa dependência de emissão em função da absorção foi associada a diferentes grupos químicos que compõem a superfície dos PCs. De modo geral, todas amostras apresentaram maior rendimento quântico quando excitadas em 320 nm. Em suma, tanto os PCs produzidos com DMF quanto com água, como solventes, e os percussores polpa celulósica ou NCC, apresentaram rendimento quântico em torno de 1%, sem diferença significativa entre si.

Por fim, análises antimicrobianas mostraram que os PCs são eficientes contra bactérias, tanto *Gram* positiva como negativa, com destaque para ST que chegou mais próximo ao valor do potencial antibiótico comercial gentamicina (GENT), mas também foi possível inibir as bactérias EC e SA.

REFERÊNCIAS

- ABREU, A. G.; GROMBONE-GUARATINI, M. T.; VAL, T. M.; ZUCCHI, M. I. *Genetic Diversity and Age Class Structure of Seedlings and Saplings after a Mast Flowering of Bamboo in the Brazilian Atlantic Forest*. *International Journal of Plant Sciences*, Vol. 175, No. 3 (March/April 2014), p. 319-327.
- ALEXOPOULOU, Efthymia (editor). *Perennial grasses for bioenergy and bioproducts production, uses, sustainability and markets for giant reed, miscanthus, switchgrass, reed canary grass and bamboo*. London: Elsevier, 2018.
- ALHO, C. B. V. **Efeito da temperatura final de pirólise na estabilidade de biocarvão produzido a partir de madeira de Pinus sp. e Eucalyptus sp.** (Mestrado). Departamento de Ciências Ambientais e Florestais, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2012, p. 46.
- ARNAULT, J. C. (Editor). **Nanodiamonds: Advanced Material Analysis, Properties and Applications**. New York: Elsevier, 2017.
- ATCHUDAN, A.; EDISON T.; PERUMAL S.; SELVAM N.; LEE Y. **Green synthesized multiple fluorescent nitrogen-doped carbon quantum dots as an efficient label-free optical nanoprobe for in vivo live-cell imaging**. *Journal of Photochemistry & Photobiology A: Chemistry*, 2019, p. 99–107.
- BACTÉRIAS. UOL, 2022. Disponível em: <<https://mundoeducacao.uol.com.br/biologia/bacterias.htm>> Acesso em: 07 de jul. de 2022.
- BAKER, S. N.; BAKER, G. A. **Luminescent Carbon Nanodots: Emergent Nanolights**. *Angewandte Chemie*, v. 49, 2010, p. 6726 – 6744.
- BANNERMAN, T. L. **Staphylococcus, Micrococcus and other catalase-positive cocci that aerobically**. In: MURRAY, P. R. et al. (eds.). *Man Clin Microbiol*. 8. ed. Washington, DC: ASM Press, 2003. vol. 1, p. 384-404.
- BARBOSA, L.; PROBST, I.; ANDRADE, B.; ALVES, F.; ALBANO M.; CUNHA, M.; DOYAMA, J.; RALL, V.; JÚNIOR, A.; **In vitro antibacterial and chemical properties of essential oils including native plants from Brazil against pathogenic and resistant bacteria**. *Journal of Oleo Science*. 2015; 64(3), p. 289–298.
- BARBOSA, V. **Inferno na floresta: o que sabemos sobre os incêndios na Amazônia**. *Exame*, 22 de agosto de 2019. Disponível em: <https://exame.abril.com.br/brasil/inferno-na-floresta-o-que-sabemos-sobre-os-incendios-na-amazonia/>. Acesso em 08 Abr. 2020.
- BARROS, L. P. R. C. **Obtenção de nanocelulose por hidrólise ácida e enzimática de fibras de algodão de resíduo de tecido tingido com corante índigo**. 2017. 127 f. Tese (Doutorado em Engenharia Mecânica) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2017.
- BILBA, K.; OUENSANGA, A. **Fourier transform infrared spectroscopic study of thermal degradation of sugar cane bagasse**. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, v. 38, 1996, p. 61-73.
- BONILLA, S. H.; GUARNETTI, R. L.; ALMEIDA, C.; GIANNETTI, B. F. **Sustainability assessment of a giant bamboo plantation in Brazil: exploring the influence of labour, time and space**. *Journal of Cleaner Production* 18, 2010, p. 83–91.

BOURLINOS, A. B. et al. **Surface Functionalized Carbogenic Quantum Dots**. *Small*, v. 4, 2008, p. 455-458.

CALDORIN, M.; ALMEIDA, I.A.Z.C. de; PERESI, J.T.M.; ALVES, E.C. (2013) **Ocorrência de Escherichia coli produtora de toxina Shiga (STEC) no Brasil e sua importância em saúde pública**. *Boletim Epidemiológico Paulista*, v. 10, n. 110, p. 4-20.

CAO, X. et al. **Starch-based nanocomposites reinforced with flax cellulose nanocrystals**. *Polymer Letters* v. 2, n. 7, 2008, p. 502–510.

CARVALHO, A. L. de; NELSON, B. W.; BIANCHINI, M. C.; PLAGNOL, D.; KUPLICH, T. M.; DALY, D. C. **Bamboo-Dominated Forests of the Southwest Amazon: Detection, Spatial Extent, Life Cycle Length and Flowering Waves**. *PLOS ONE*, Volume 8, Issue 1, jan 2013.

CARVALHO, C. et al. **Monitoramento microbiológico seqüencial da secreção traqueal em pacientes intubados internados em unidade de terapia intensiva pediátrica**. *J Pediatr*, v. 81, n. 1, 2005, p. 29-33.

CASADEVALL A. **Antibody-based therapies for emerging infectious diseases**. *Emerg Infect Dis* 1996; p. 2(3):200-8.

CASAGRANDE JR., ELOY, F. **Bambu: matéria prima do século 21**. 7º Simpósio Brasileiro Sobre Colheita e Transporte Florestal – SIF. 7., 2005, Vitória. Anais... Vitória: SIF, 2005. p. 61-73.

CASSETTARI, V. C.; STRABELLI, T.; MEDEIROS, E. A. S. **Staphylococcus aureus bacteremia: what is the impact of oxacillin resistance on mortality**, *Braz J Infect Dis*, v. 9, n. 1, p. 6-70, 2005.

CASTRO, R. **Instituto da Amazônia: 'Incêndios são causados pela ação humana**. *Época*, 23 de agosto de 2019. Disponível em: <https://epoca.globo.com/sociedade/instituto-da-amazonia-incendios-sao-causados-pela-acao-humana-23899285>. Acesso em 08 Abr 2020.

CAVALCANTI, S. et al. **Prevalence of Staphylococcus aureus introduced into intensive care units of a university hospital**. *Braz J Infect Dis*, v. 9, n. 1, 2005, p. 56- 63.

CHANDRA, U.; SMILJANIC, T. R. **Microwave Heating**. Croácia: 370 páginas 2011.

Cheng C, Xing M, Wu Q. **Preparation of carbon dots with long-wavelength and photoluminescence-tunable emission to achieve multicolor imaging in cells**. *Optical Materials* 88, 2019, p. 353–358.

CHILD, M. **Industrial-scale hydrothermal carbonization of waste sludge materials for fuel production**. 109 páginas (Mestrado). Faculty of Technology, Lappeenranta University of Technology, Lappeenranta, Finlândia, 2014.

d, N. B.; SANTOS, A. N. S.; PINHEIRO, E. O.; LEAL, L. R. A. **Potencial antioxidante e antimicrobiano de óleos essenciais de especiarias: uma revisão**. *Higiene Alimentar*. 2016, p. 30:12–20

D'OLIVEIRA, Marcus V.N.; GUARINO, Ernestino de S.; OLIVEIRA, Luis C.; RIBAS, Luciano A.; ACUÑA, Mario H.A. **Can forest management be sustainable in a bamboo dominated forest? A 12-year study of forest dynamics in western Amazon**. *Forest Ecology and Management* 310, 2013, p. 672–679.

- DA SILVA, M. C. **Contribuição ao Estudo de Compósitos de Espuma Rígida de Poliuretana Reforçada com Resíduo de Celulose**. 138 páginas (Doutorado). 2008.
- DALAGNOL, R.; WAGNER, F. H.; GALVÃO, L. S.; NELSON, B. W.; ARAGÃO, L. E. O. C. de. **Life cycle of bamboo in the southwestern Amazon and its relation to fire events**. *Biogeosciences*, 15, 2018, p. 6087–6104.
- DAVIS, J. S. **Management of bone and joint infections due to Staphylococcus aureus**. *Int Med J*, v. 35, 2005, p. 79S-96S.
- DE MESQUITA, J. P. **Nanocristais de celulose para preparação de bionanocompósitos com quitosana e carbonos nanoestruturados para aplicações tecnológicas e ambientais**. 189 (Doutorado). Departamento de Química, Universidade Federal de Minas Gerais. 2012.
- DEMCHENKO, A. P., DEKALIUK, M. O. **Novel fluorescent carbonic nanomaterials for sensing and imaging**. *Methods and Applications in Fluorescence*, v. 1, n. 4, 2013, p. 1-17.
- DEMIRBAS, A. **The importance of biomass**. *Energy Sources*, v. 26, 2004, p. 361–366.
- DEMIRBAS, A.; ARIN, G. **An overview of biomass pyrolysis**. *Energy Sources*, v. 24, n. 5, 2002, p. 471-482.
- DEMIRBAS, A.; KUÇUK, M. M. **Biomass conversion processes**. *Energy Convers. Mgmt*, v. 38, n. 2, 1997, p. 151-165.
- DONG, X. M.; REVOL, J. F.; GRAY, D. G. **Effect of microcrystallite preparation conditions on the formation of colloid crystals of cellulose**. *Cellulose*, v. 5, 1998, p. 19-32.
- DRUMOND, P. M.; WIEDMAN, G. **Bambus no Brasil: da biologia à tecnologia**. Rio de Janeiro: ICH, 2017.
- ELETO DA SILVA, E. **Síntese e Aplicação de Nanotubos de Carbono em Biotecnologia 2007**. 198 páginas (Doutorado). Departamento de Física, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte – MG, 2007.
- ESTEVES DA SILVA, J. C. G.; GONÇALVES, H. M. R. **Analytical and bioanalytical applications of carbon dots**. *Trends in Analytical Chemistry*, v. 30, n. 8, 2011, p. 1327-1336.
- FENGYI, D.; ZHANG, M.; LI, X.; LI, J.; JIANG, X.; LI, Z.; HUA, Y.; SHAO, G., J. I. N, J.; SHAO, Q.; ZHOU, M.; GONG, A. **Economical and green synthesis of bagasse-derived fluorescent carbon dots for biomedical applications**. *Nanotechnology* v. 25, 2014, p. 1-10.
- FOSTER, T. J.; HOOK, M. **Surface protein adhesins of Staphylococcus aureus**. *Trends Microbiol*, v. 6, 1998, p. 484-8.
- FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2004.
- FUNKE, A.; ZIEGLER, F. **Hydrothermal carbonization of biomass: A summary and discussion of chemical mechanisms for process engineering**. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, v. 4, n. 2, 2010, p. 160-177.
- GALEMBECK, F.; BARBOSA, C. A. S.; SOUSA, R. A. **Aproveitamento sustentável de biomassa e de recursos naturais na inovação química**. *Química Nova*, v. 32, n. 3, 2009, p. 571-581.

GIANNELIS EP, Bourlinos AB, Stassinopoulos A, Anglos D, Zboril R, Karakassides M (2008) **Surface functionalized carbogenic quantum dots**. *Small*, 4, 2008, p. 455–458.

GOLDEMBERG, J. **Biomassa e energia**. *Quimica Nova*, v. 32, n. 3, 2009. Gonçalves G, Marques P, Vila M. *Graphene-based Materials in Health and Environment*. Genebra: Springer, 2016.

GRATANI, L.; MARIA, F.C.; LAURA, V.; GUISEPPE, F. DIGIULIO, E. **Growth pattern and photosynthesis activities of different bamboo species growing in a botanical garden of Rome**. *Flora*, 203:77–84, 2008, p. 582-587.

GUEDES, C. L. B. et al. **Avaliação de biocombustível derivado de bio-óleo obtido por pirólise rápida da biomassa lignocelulósica como aditivo para gasolina**. *Quimica Nova*, v. 33, n. 4, 2010, p. 781-786.

GUIOTOKU, M.; RAMBO, C. R.; HOTZA, D. **Charcoal produced from cellulosic raw materials by microwave-assisted hydrothermal carbonization**. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 2014, v. 117, p. 269-275.

HABIBI, Y.; DUFRESNE, A. **Highly Filled Bionanocomposites from Functionalized Polysaccharide Nanocrystals**. *Biomacromolecules* v. 9, 2008, p. 1974-1980.

HASHAIKEH, R. et al. **Hydrothermal dissolution of willow in hot compressed water as a model for biomass conversion**. *Fuel*, v. 86, 2007, p. 1614–1622.

HE, C.; GIANNIS, A.; WANG, J. **Conversion of sewage sludge to clean solid fuel using hydrothermal carbonization: Hydrochar fuel characteristics and combustion behavior**. *Applied Energy*, v. 111, 2013, p. 257-266.

HELBERT, W.; CAVAILLE, J. Y.; DUFRESNE, A. **Thermoplastic Nanocomposites Filled With Wheat Straw Cellulose Whiskers. Part I: Processing and Mechanical Behavior**. *Polymer composites*, v. 17, n. 4, 1996, p. 604-611.

HIRAI, A. et al. **Phase Separation Behavior in Aqueous Suspensions of Bacterial Cellulose Nanocrystals Prepared by Sulfuric Acid Treatment**. *Langmuir* v. 25, 2009, p. 497-502.

HOEKMAN, S. K.; BROCH, A.; ROBBINS, C. **Hydrothermal carbonization (HTC) of lignocellulosic biomass**. *Energy & Fuels*, v. 25, n. 4, 2011, p. 1802-1810.

HUI, Y. Y.; CHANG, H. C.; DONG, H.; ZHANG, X. *Carbon Nanomaterials for Bioimaging, Bioanalysis, and Therapy*. Chennai: Wiley, 2019.

JANSSEN, J. J. A. **Mechanical properties of bamboo**. New York: Springer, 1991.

JELINEK, R. **Carbon Quantum Dots: Synthesis, Properties and Applications**. Genebra: Springer, 2017.

KAUR, A.; GOYAL, D.; KUMAR, R. **Surfactant mediated interaction of vancomycin with silver nanoparticles**. *Applied Surface Science*, v. 449, 2018, p. 23–30.

KLINGELER, R.; SIM, R. B. (editors). **Carbon Nanotubes for Biomedical Applications**. Heidelberg: Springer, 2011.

KO, H. Y, CHANG, Y.W.; PARAMASIVAM, G. JEONG, M. S.; CHO, S. J.; KIM, S. **In vivo imaging of tumour bearing nearinfrared fluorescence-emitting carbon nanodots derived from tire soot**. *Chem. Commun*, 49, 2019, p. 10290.

KONEMAN, E. et al. **Diagnóstico microbiológico**. 5 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, cap. 11, parte 1, 2001.

KONG, W. Q.; LIU, R. H.; LI, H.; LIU, J.; HUANG, H.; LIU, Y.; KANG, Z. H. **High-bright fluorescent carbon dots and their application in selective nucleoli staining**. J. Mater. Chem. B, 2, 2014, p. 5077–5082.

KRUSE, A.; FUNKE, A.; TITIRICI, M. **Hydrothermal conversion of biomass to fuels and energetic materials**. Current Opinion in Chemical Biology, v. 17, n. 3, 2013, p. 515-521.

KUHNERT, P.; BOERLIN P.; FREY, J. **Target genes for virulence assessment of Escherichia coli isolates from water, food and the environment**. FEMS Microbiology Reviews, v. 24, 2000, p. 107-117

LEHMANN, J.; JOSEPH, S. **Biochar for environment management**. London: Earthscan, 449 páginas, 2009.

LEMÉNAGER, G.; LUCA, E. D.; SUN, Y. P.; POMP P. P. **Super-resolution fluorescence imaging of biocompatible carbon dots**. Nanoscale, 6, 2014, 8617–8623.

LENGOWSKI, E. C. **Caracterização e predição da cristalinidade de celulose através de espectroscopia no infravermelho e análise multivariada**. Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal. 2012.

LI, Q.; LIU, R. L.; WU, D. Q.; LIU, S. H.; KOYNOV, K.; KNOLL, W. **An aqueous route to multicolor photoluminescent carbon dots using silica spheres as carriers**. Angew. Chem. Int. Ed., 48, 2009, p. 4598–4601.

LIMA, M. M. S.; BORSALI, R. **Static and Dynamic Light Scattering from Polyelectrolyte Microcrystal Cellulose**. Langmuir v. 18, 2002, p. 992-996.

LIU, H.; YE, T.; MAO, C. **Fluorescent carbon nanoparticles derived from candle soot**. Angewandte Chemie, v. 46, 2007, p. 6473-6475.

LONDOÑO, X. P. **Distribución, morfología, taxonomía, anatomía, silvicultura y usos de los bambues del nuevo mundo**. Cespedezia 19, 1992, p. 87-137.

LONDOÑO, X.; PETERSON, P. M. **Guadua sarcocarpa (Poaceae:Bambuseae), a new species of Amazonian bamboo with fleshy fruits**. Systematic Botany 16, 1991, p. 630-638.

LOSS, M. R. **Nanociência e nanotecnologia: compósitos termofixos reforçados com nanotubos de carbono**. Rio de Janeiro: Interciência. 2014.

LYNCH, M. F.; BLANTON, E. M.; BULENS, S.; POLYAK, C.; VOJDANI, J.; STEVENSON, J. et al. **Typhoid fever in the United States, 1999-2006**. JAMA. Aug;302(8):859-65. Doi: 10.1001/jama.2009.1229, 2009.

MACHADO, A. L. S. et al. **Obtenção de nanocelulose da fibra de coco verde e incorporação em filmes Biodegradáveis de amido plastificados com glicerol**. Quim. Nova. v.37, p. 1275-1282, 2014.

MATHUR, R. B.; SINGH, B. P.; PANDE, S. **Carbon nanomaterials: synthesis, structure, properties and applications**. New York: CRC Press, 2017.

MENDES, K. **Estudo indica que queimadas na Amazônia ocorreram em áreas desmatadas em 2019.** El País, 28 de setembro de 2019. Disponível em: https://brasil.elpais.com/brasil/2019/09/26/politica/1569456980_698387.html. Acesso em Abr 2020.

MEWADA, M. A. **Carbon Dots as Theranostic Agents.** Hoboken: Wiley, 2018.

MINISTÉRIO DA SAÚDE (BR). **Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Manual integrado de vigilância e controle da febre tifóide. Brasília: Ministério da Saúde, 2008.** Acessado em Jun 2021.

MINISTÉRIO DA SAÚDE (BR). **Sistema de Informação de Agravos de Notificação - SINAN. Tabela de casos confirmados de febre tifóide Brasil, grandes regiões e Unidades Federadas 1998-2008 [Internet].** Brasília: Ministério da Saúde. Disponível em: http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/casos_conf_febre_tifoide.pdf. Acessado em Fev 2022.

MOCHIDZUKI, K.; SATO, N.; SAKODA, A. **Production and characterization of carbonaceous adsorbents from biomass wastes by aqueous phase carbonization.** *Adsorption*, v. 11, 2005, p. 669–673.

MOK, W. S. L.; ANTAL, M. J. **Uncatalyzed solvolysis of whole biomass hemicellulose by hot compressed liquid water.** *Industrial and Engineering Chemistry Research*. v. 31, 1992, p. 1157–1161.

MOON, R. J. et al. Cellulose nanomaterials review: structure, properties and nanocomposites. *Chem Soc Reviews*, v. 40, 2011, p. 3941-3994.

MORAES, A. S. **Caracterização morfológica de nanocristais de celulose por microscopia de força atômica.** *Matéria (Rio J.)*. v. 21, n. 2, 2016.

MURRAY, J. B.; EVANS, D. G. **The brown-coal/water system: Part 3.** Thermal dewatering of brown coal. *Fuel* v. 51, 1972, p. 290–296.

NIEDERSBERG, C. **Ensaio de adsorção com carvão ativado produzido a partir da casca de Tunge (Aleurites fordii), resíduo do processo de produção do óleo (Mestrado).** Departamento de Tecnologia Ambiental, Universidade de Santa Cruz do Sul Santa Cruz do Sul – RS, 65 páginas, 2012.

NÚMERO DE INCÊNDIOS florestais no mundo em 2019 é um recorde? **BBC Brasil**, 09 de setembro de 2019. Disponível em: <https://www.bbc.com/portuguese/internacional-49633696>. Acesso em Abr 2020.

OGEDA, T. L., PETRI, D. F. S. **Hidrólise enzimática de biomassa.** *Química Nova*, v. 33, n. 7, p. 1549-1558, 2010.

OSEI, R.; ANSONG, M.; ZERBE, S. **Comparison of socio-economic and ecological benefits of bamboo and trees: the perspectives of local communities in south-western Ghana.** *Southern Forests*, p. 1–6, 2019.

PARK, S. et al. **Cellulose crystallinity index: measurement techniques and their impact on interpreting cellulase performance.** *Biotechnology for Biofuels* v. 3, n. 10, 2010.

PEREIRA, E. M. S. et al. **Extração e caracterização de nanocelulose de fibras do pseudocaule da bananeira.** In: Congresso Norte-Nordeste de Pesquisa e Inovação, 5, 2014.

PIETAK, A.; KORTE, S.; TAN, E.; DOWNARD, A.; STAIGER, M. P.; **Appl. Surf. Sci.** 2007, 253, 3627- 58.

QIN, K.; ZHANG, D.; DING, Y.; ZHENG, X.; XIANG, Y.; HUA, J.; ZHANG, Q.; JI, X.; LID, B.; WEI, Y. **Applications of hydrothermal synthesis of Escherichia coli derived carbon dots in in vitro and in vivo imaging and p-nitrophenol detection.** *Analyst*, 2020, P. 145, 177–183.

QU, Z.; LIU, L.; SUN, T.; HOU, J.; SUN, Y.; YU, M.; DIAO, Y.; LU, S.; ZHAO, W. WANG, L. **Synthesis of bifunctional carbon quantum dots for bioimaging and antiinflammation.** *Nanotechnology*. 2020, p. 24;31(17):175102.

RAVEN, P. H.; EICHHORN, S.; EVERT, R. **Biologia vegetal.** 6ª edição. Rio de Janeiro: 2001. 715 páginas.

RAY, S. C.; JANA, R. N. **Carbon Nanomaterials for Biological and Medical Applications.** Amsterdam: Elsevier, 2017.

REN, J. L.; SUN, R.C.; PENG, F.; **Polym. Degrad. Stab.** 2008, p. 93, 786.

RIBEIRO, I. F. N.; FERREIRA, E. J. L.; LIMA, R. C. de; ARRUDA, T. S.; DIAS, M. S. S. **Efeitos do bambu (Guadua spp.) dominante no subosque sobre a germinação do banco de sementes em floresta ombrófila aberta no Leste do Acre.** IX Congresso Brasileiro de Gestão Ambiental. São Bernardo do Campo/SP, 2018.

ROCKWELL, C. A.; KAINER, K. A. **Local and scientific perspectives on the bamboodominated forest in Acre, Brazil: a complementary knowledge base for multiple-use forest management.** *International Forestry Review* Vol.17(S1), 2015.

ROSA, M. F.; MEDEIROS, E. S.; MALMONGED, J. A.; GREGORSKIB, K. S.; WOOD, D. F.; MATTOSO, L. H. C.; GLENN, G.; ORTS, W. J.; IMAM, S. H. **Cellulose nanowhiskers from coconut husk fibers: Effect of preparation conditions on their thermal and morphological behavior.** *Carbohydrate Polymers*, v. 1, p. 83-92, 2010.

ROSS, P.; MAYER, R.; BENZIMAN, M. **Cellulose Biosynthesis and Function in Bacteria.** *Microbiological Reviews*, v. 55, n. 1, 1991.

ROY, E.; PATRA, S.; MADHURI, R.; SHARMA, P. K. **Retraction notice to “Carbon dot/TAT peptide co-conjugated bubble nanoliposome for multicolor cell imaging, nuclear-targeted delivery, and chemo/photothermal synergistic therapy”.** *Chemical Engineering Journal* 356, 2019, p. 1070.

SAHU, S.; BEHERA, B.; MAITIB, T.; MOHAPATRA, S. **Simple one-step synthesis of highly luminescent carbon dots from orange juice: application as excellent bio-imaging agents.** *Chemical Communications*, v. 48, n. 70, , 2012, p. 8835-8837.

SALAME, I. I.; BANDOSZ, T. J. **Surface Chemistry of Activated Carbons: Combining the Results of Temperature-Programmed Desorption, Boehm, and Potentiometric Titrations.** *Journal of Colloid and Interface Science*, v. 240, p. 252-258, 2001.

SAMIR, M. A. S. A.; ALOIN, F.; DUFRESNE, A. **Review of recent research into cellulosic whiskers, their properties and their application in nanocomposite field.** *Biomacromolecules*, v. 6, 2005, p. 612- 626.

- SANTOS, N. Q.; **A resistência bacteriana no contexto da infecção hospitalar**. Texto Contexto Enferm, V. 13, 2004, p. 64-70.
- SARTO, M. P. M.; ZANUSSO, J. G. **Atividade antimicrobiana de óleos essenciais**. Revista UNINGÁ Review. 2014, p. 20(1):98–102.
- SATTLER, K. D. **Carbon nanomaterials sourcebook: Graphene, Fullerenes, Nanotubes, and Nanodiamonds**. Boca Raton: CRC Press, 2016.
- SCHLENKER, C.; SURAWICZ, C.M. (2009) **Emerging infections of the gastrointestinal tract**. Best Practice & Research Clinical Gastroenterology, v. 23, n. 1, 2009, p. 89-99.
- SEGAL, L. CREELY, J. J.; MARTIN, A. E.; CONRAD, C. M. **An empirical method for estimating the degree of crystallinity of native cellulose using the X-Ray diffractometer**. Text Res J; v. 29, n. 10, 1959, p. 786-794.
- SEVILLA, M.; FUERTES, A. B. **The production of carbon materials by hydrothermal carbonization of cellulose**. Carbon, v. 47, 2009, p. 2281-2289.
- SHOJI, D. et al. **Visualized kinetic aspects of decomposition of a wood block in sub and supercritical water**. Ind Eng Chem Res, v. 44, 2005, p. 2975–2981.
- SILVEIRA, Marcos. **A floresta aberta com bambu no Sudoeste da Amazônia: padrões e processos em múltiplas escalas**. Tese [Doutorado em Ecologia]. Universidade de Brasília. Instituto de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Ecologia. Brasília: UNB, 2001.
- SINKO, R.; QIN, X.; KETEN, S. Interfacial mechanics of cellulose nanocrystals. **MRS Bulletin**, v. 40, n. 4, p. 340-348, 2015.
- SIQUEIRA, G.; BRAS, J.; DUFRESNE, A. Cellulose Whiskers versus Microfibrils: Influence of the Nature of the Nanoparticle and its Surface Functionalization on the Thermal and Mechanical Properties of Nanocomposites. **Biomacromolecules** v. 10, p. 425–432, 2009.
- SIVIERO, Amauri; SANTOS, Rosana Cavalcante dos; MATTAR, Eduardo Pacca Luna. **Conservação e tecnologias para o desenvolvimento agrícola e florestal do Acre**. Rio Branco: IFAC, 2019.
- SJOSTROM, E. **Wood Chemistry Fundamentals and Applications**. New York: Academic Press, 1981. 223 páginas.
- SMITH, Maira; NELSON, Bruce Walker. *Fire favours expansion of bamboo-dominated forests in the south-west Amazon*; **Journal of Tropical Ecology**, Volume 27, Issue 01, January 2011, p. 59 – 64.
- SOHI, S. P. et al. **A Review of Biochar and Its Use and Function in Soil**. Advances in Agronomy, v. 105, p. 47-82, 2010.
- SOUZA, D. R. S. **Preparação e Caracterização de Pontos de Carbono e Material Carbonoso Nanoestruturado a Partir da Celulose e Nanocristais de Celulose**. 2017. f. 169. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo horizonte, 2017.
- STEMANN, J.; PUTSCHEW, A.; ZIEGLER, F. **Hydrothermal carbonization: Process water characterization and effects of water recirculation**. Bioresource Technology v. 143, p. 139- 146, 2013.

SUN, Y. P.; YANG, S. T.; CAO, L.; LUO, P. G.; LU, F. S.; WANG, X.; WANG, H. F.; MEZIANI, M. J.; LIU, Y. F.; QI, G. (2009b) **Carbon dots for optical imaging in vivo**. *J. Am. Chem. Soc.*, 2009, p. 131, 11308–11309.

SUN, Y. P.; YANG, S. T.; CAO, L.; LUO, P. G.; LU, F. S.; WANG, X.; WANG, H. F.; MEZIANI, M. J.; LIU, Y. F.; QI, G. (2009a) **Carbon dots as nontoxic and high-performance fluorescence imaging agents**. *J. Phys. Chem. C*, 2009, p. 113, 18110–18114.

SUN, Y. P.; ZHOU, B.; LIN, Y.; WANG, W.; FERNANDOFO, K. A. S.; PATHAK, P.; MEZIANI, M. J.; HARRUFF, B. A.; WANG, X.; WANG, H. F.; LUO, P. J. G.; YANG, H.; KOSE, M. E.; CHEN, B. L.; VECA, L. M.; XIE, S. Y. (2006) **Quantum-sized carbon dots for bright and colorful photoluminescence**. *J. Am. Chem. Soc.*, 2006, p. 128, 7756–7757.

TAO, H. Q.; YANG, K.; MA, Z.; WAN, J. M.; ZHANG, Y. J.; KANG, Z. H.; LIU, Z. (2011) **In vivo NIR fluorescence imaging, biodistribution, and toxicology of photoluminescent carbon dots produced from carbon nanotubes and graphite**. *Small*, 8, 2011, p. 281–290.

TITIRICI, M. M.; THOMAS, A.; ANTONIETTI, M. **Back in the black: hydrothermal carbonization of plant material as an efficient chemical process to treat the CO₂ problem?** *New Journal of Chemistry*, v. 31, n. 6, 2007, p. 787-789.

TOMASZEWSKA, E.; SOLIWODA, K.; KADZIOLA, K.; TKACZ-SZCZESNA, B.; CELICHOWSKI, G.; CICHOMSKI, M.; SZMAJA, W.; GROBELNY, J. **Detection Limits of DLS and UV-Vis Spectroscopy in Characterization of Polydisperse Nanoparticles Colloids**. *Journal of Nanomaterials*, v. 2013, p. 1–10.

TOOR, S. S.; ROSENDAHL, L.; RUDOLF, A. **Hydrothermal liquefaction of biomass: A review of subcritical water technologies**. *Energy*, v. 36, 2011, p. 2328-2342.

TRABULSI, L. R.; ALTHERTHUM, F. **Microbiologia. Staphylococcus aureus**. São Paulo: Atheneu, 2005.

TUAN, T. Q.; HAO, P. V.; QUYNH, L. M.; LUONG, N. H.; HAI, N. H. **Preparation and Properties of Silver Nanoparticles by Heat-combined Electrochemical Method**. *VNU Journal of Science: Mathematics – Physics*, v. 31, n. 2, 2015, p. 36–44.

VAN SOEST, P. V.; ROBERTSON, J. B.; LEWIS, B. A. **Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition**. *Journal of dairy science*, v. 74, n. 10, 1991, p. 3583-3597.

WANG, J.; PENG, F.; LU, Y. M.; ZHONG, Y. L.; WANG, S. Y.; JI, X. Y.; ZHOU, Y. F.; YANG, L.; XU, M. F.; SU, Y. Y.; LIAO, L. S.; HE, Y. (2019). **Large-scale green synthesis of fluorescent carbon nanodots and their use in optics applications**. *Adv. Opt. Mater.*, 3, 2019, p. 103–111.

WANG, X.; CAO, L.; YANG, S-T.; LU, F.; MEZIANI, M. J.; TIAN, L. **Bandgap-Like Strong Fluorescence in Functionalized Carbon Nanoparticles**. *Angewandte Chemie*, v. 122, 2010, p. 5438-5442.

WANG, Y.; HU, A. **Pontos quânticos de carbono: Síntese, propriedades e aplicações**. *Journal of Materials Chemistry V. 2* (34): 2014, p. 6921–39.

WATANABE, A.; MORITA, A.; OZAK, Y. **Study on temperature-dependent changes in hydrogen bonds in cellulose I-beta by infrared spectroscopy with perturbation-**

correlation moving-window two-dimensional correlation spectroscopy. *Biomacromolecules*, v. 7, 2006, p. 3164–3170.

WIEDNER, K. et al. **Chemical modification of biomass residues during hydrothermal carbonization. What makes the difference, temperature or feedstock?** *Organic Geochemistry*, v. 54, 2013, p. 91-100.

WILLIAMS, A. T. R.; WINFIELD, S. A. **Relative Fluorescence Quantum Yields Using a Computer-controlled Luminescence Spectrometer.** *Analyst*, v. 108, 1983, p. 1067-1071.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). (2011) **Guidelines for Drinking-water Quality.** 4. ed. Geneva: WHO Library, 2011.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Background document: the diagnosis, treatment and prevention of typhoid fever.** Geneva: World Health Organization; 2003.

YANG, X. R.; ZHU, H.; WANG, X. L.; LI, Y. L.; WANG, Z. J.; YANG, F. (2009) **Microwave synthesis of fluorescent carbon nanoparticles with electrochemiluminescence properties.** *Chem. Commun.*, 45, 2009, p. 5118–5120.

YANG, Y. Z.; XIAO, N.; LIU, S. G.; HAN, L.; LI, N. B.; LUO, H. Q. **pH-induced aggregation of hydrophilic carbon dots for fluorescence detection of acidic amino acid and intracellular pH imaging.** *Materials Science & Engineering C* 108, 2020, p. 110401.

ZHANG, M.; NAIK, R. R.; DAI, L. **Carbon Nanomaterials for Biomedical Applications.** New York: Springer, 2016.

ZHANG, S.; JI, X.; LIU, J.; WANG, Q.; JIN, L. **One-step synthesis of yellow-emissive carbon dots with a large Stokes shift and their application in fluorimetric imaging of intracellular Ph** *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 227 (2020) 117677.

ZHAO, L., DI F, WANG, D., GUO, L.H., YANG, Y., WAN, B., ZHANG, H. **Chemiluminescence of carbon dots under strong alkaline solutions: a novel insight into carbon dot optical properties.** *Nanoscale* v. 5, n. 7, 2013, p. 2655-2658.

ZHAOHUA, Z.; WEI, J. **Sustainable Bamboo Development.** Boston: CABI, 2018.

ZHOU, B.; FU, M.; XIE, J.; YANG, X.; LI, Z. **Ecological functions of bamboo forest: Research and Application.** *Journal of Forestry Research*, 16(2): 2005, P. 143-147.

ZHU, S. J.; ZHANG, J. H.; QIAO, C.; TANG, S. J.; LI, Y.; YUAN, W.; LI, B.; TIAN, L.; LIU, F.; HU, R.; GAO, H.; WEI, H.; ZHANG, H.; SUN, H.; YANG, B. (2011) **Strongly green-photoluminescent graphene quantum dots for bioimaging applications.** *Chem. Commun.*, 47, 2011, p. 6858–6860.

ZHU, S. J.; ZHANG, J. H.; TANG, S. J.; QIAO, C.; WANG, L.; WANG, H.; LIU, X.; LI, B.; LI, Y.; YU, W.; WANG, X.; SUN, H.; YANG, B. (2012) **Surface chemistry routes to modulate the photoluminescence of graphene quantum dots: from fluorescence mechanism to up-conversion bioimaging applications.** *Adv. Funct. Mater.*, 22, 2012, p. 4732–4740.

ANEXO I

PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE POLPA CELULÓSICA DE BAMBU
Guadua weberbaueri: TECNOLOGIA

PREPARATION AND CHARACTERIZATION OF BAMBOO CELLULOSIC PULP
Guadua weberbaueri: TECHNOLOGY

Marcelo Ramon da Silva Nunes^{1,2*}, Dawerson da Paixão Ramos¹,
Carlos Drumond do Nascimento Morais^{1,3}, Antonia Eliane Costa Sena¹, Anderson Luis Ramos¹, Anselmo
Fortunato Ruiz Rodriguez¹, Fernando Sérgio Escócio Drummond Viana Faria¹

1. Universidade Federal do Acre/Laboratório de Nanobiotecnologia da Bionorte

2. Instituto Federal do Acre - IFAC

3. Instituto Federal de Rondônia - IFRO

* Autor correspondente: e-mail marcelo.nunes@ifac.edu.br

RESUMO

A adição de fibras vegetais em compósitos podem otimizar as propriedades de muitos materiais. Assim, objetivou-se preparar e caracterizar polpa de celulose a partir de bambu. Para tanto, foi utilizado dois diferentes métodos de deslignificação do bambu, seguidos por branqueamento. Método I: o bambu foi lavado com solução de NaOH a 5% por 2h, à temperatura ambiente e agitação. No II, o bambu foi lavado com NaOH a 2% por 4h à 80°C e agitação. Após, foi realizado o branqueamento da polpa com H₂O₂ a 24% (v/v) e NaOH a 4% (m/m), na proporção de 1g/20mL, por 2h a 50°C e agitação. Posteriormente, as amostras foram submetidas a análises: teor de celulose; espectroscopia FTIR; DRX e termogravimétrica. O teor remanescente de lignina e hemicelulose nas amostras do método I, foi 11% e 17%, respectivamente e 6% e 12% (II). O branqueamento das amostras (I) aumentaram o teor de celulose (88%) e da cristalinidade (79%). A perda de massa média foi de 80 %, em um pico médio de 356°C.

Palavras-chave: Celulose. Deslignificação. Branqueamento. Reforço de Compósito.

ABSTRACT

The addition of plant fibers in composites can optimize the properties of many materials. Thus, the objective was to prepare and characterize cellulose pulp from bamboo. For this, two different methods of delignification bamboo were used, followed by bleaching. Method I: the bamboo was washed with 5% NaOH solution for 2 hours, at room temperature and protected. In II, the bamboo was washed with 2% NaOH for 4h at 80°C and prepared. Afterwards, the pulp was bleached with H₂O₂ at 24% (v / v) and NaOH at 4% (m / m), in the proportion of 1g / 20mL, for 2h at 50°C and rest. Subsequently, as they were subjected to analysis: cellulose content; FTIR spectroscopy; XRD and thermogravimetric. The remaining content of lignin and hemicellulose in method I, was 11% and 17%, respectively and 6% and 12% (II). The bleaching of (I) increased the cellulose content (88%) and the crystallinity (79%). The average loss of mass was 80%, at an average peak of 356°C.

Key words: Cellulose. Delignification. Bleaching. Composite Reinforcement.

1. INTRODUÇÃO

A grande maioria dos produtos industrializados tinha como matéria prima recursos naturais, perdurando assim, até o século 19, e desde então, até meados da década de 70, o petróleo e seus derivados se tornaram protagonistas como matéria prima para tais produtos. Cronologicamente, até os dias atuais, os esforços tem se concentrado em substituir o petróleo e seus derivados por produtos naturais e sustentáveis [1].

As fibras vegetais são utilizadas com o objetivo de melhorar as propriedades de um determinado compósito, principalmente as mecânicas [2]. As adições de fibras em compósitos frágeis aumentam seu módulo de ruptura e resistência à tração significativamente, diminuindo a fissuração da matriz reforçada pelas fibras e otimizando seu uso como materiais de construção [3-4].

Antes da aplicação das fibras celulósicas como reforço de compósitos, um processo muito importante deve ser realizado, a remoção parcial ou completa da hemicelulose, lignina e extrativos [1,5], tornando assim as fibras celulósicas mais acessíveis [6], e diminuindo a incompatibilidade química entre a matriz a ser reforçada e as fibras vegetais [7,8]. Esse processo de individualização das fibras celulósicas, com a remoção dos componentes amorfos, denomina-se polpação, onde as características, tipos de aplicação e qualidade da polpa depende do tipo de processo de polpação utilizado [9].

Dentre os processos de polpação, o mais comum é o Kraft, que cozinha a fonte de fibras celulósicas em solução alcalina de hidróxido de sódio ou sulfeto de sódio, gerando fibras branqueáveis e de boa resistência mecânica, possuindo rendimento de produção de polpa na ordem de 50% a 60% do total de material utilizado [9].

Na primeira etapa da polpação, a lignina é parcialmente removida. Como complemento da primeira etapa, é realizado o branqueamento da polpa, que além de promover a alvura das fibras [10], já que em geral a polpa deslignificada possui coloração castanho escura, também remove a lignina e hemicelulose residuais não eliminados na primeira etapa. Através deste processo, os componentes amorfos da fibra celulósica são removidos, aumentando o valor agregado do produto pela sua alvura [11].

No branqueamento podem ser utilizados diversos reagentes como peróxido de hidrogênio, ácido acético, hipoclorito de sódio, hidróxido de sódio (também utilizado na primeira etapa) e ainda possíveis combinações entre os mesmos [6].

Alguns tratamentos químicos auxiliares podem ser realizados objetivando a melhoria de qualidades da fibra vegetal, como o uso de silanos para redução da absorção de água pelas fibras [12-13].

As fibras vegetais possuem boas propriedades mecânicas como alta resistência à tração, baixa densidade, baixo coeficiente de expansão térmica e baixo módulo de elasticidade, se configurando como ótima opção para reforço de compósitos [14-15]. As propriedades de algumas fibras vegetais e sintéticas encontram-se na tabela 1.

Tabela 1. Propriedades físicas e mecânicas de algumas fibras vegetais e sintéticas.

Fibras	Peso específico (kg/m ³)	Absorção de água (%)	Resistência à tração (MPa)	Módulo de elasticidade (GPa)
Sisal ¹	1370	110	347-378	15,2
Côco ¹	1177	93,8	95-118	2,8
Bambu ¹	1158	145	73-505	10-40
Cânhamo ¹	1500	85-105	900	34
Congo Jute ¹	1409	182	300-500	10-40
Banana ¹	1031	407	384	20-51
Piaçava ¹	1054	34-108	143	5,6
Dendezeiro ²	1300-1450	60-84	70-170	3,5-4
Polipropileno ¹	913	-	250	2,0
PVA ³	1300	-	900	23
Aço ⁴	7800	-	4100	210
Carbono ⁴	1800	-	1500-5500	150-500

Fontes: ¹ARSÈNE [16]; ²KRIKER [17]; ³PASSUELO [18]; ⁴MOON [5].

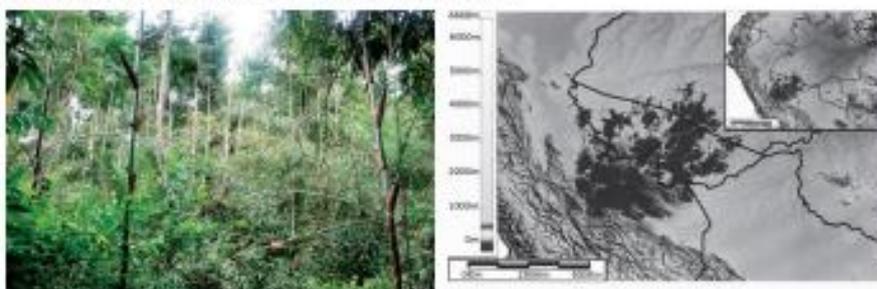
Alguns estudos foram realizados com fibras naturais para reforço de matrizes cimentícias, como o bambu [19-24], como o sisal [25-27] o curauá [2,28], o côco [29-35], e a juta [36]. Os resultados mostraram a viabilidade do uso de fibras naturais como reforço em compósitos cimentícios, apresentando ganhos significativos de resistência mecânica dos compósitos com a adição de fibras vegetais.

O bambu é uma gramínea, da família *Poaceae*, existindo aproximadamente 50 gêneros e 1300 espécies pelo mundo todo, ocorrendo nos trópicos e em regiões temperadas, dentro das latitudes 46° N até 47° S, em altitudes que variam do nível do mar até 4.300 m [37].

Na Amazônia sul-ocidental existem grandes áreas de floresta nativa com predominância de bambu no sub-bosque (figura 1a), principalmente pelo gênero *Guadua*, ocupando uma área

de aproximadamente 161.500 km² (Fig 1b) [38]. As espécies de bambu mais frequentes na Amazônia são *Guadua sarcocarpa* e *G. weberbaueri* Pilg. [39].

Figura 1. a) Interior de uma floresta com o sub-bosque dominado pelo bambu (*Guadua spp.*) no Parque Estadual Chandless, Acre. Figura 1b) Localização e distribuição das florestas com bambu (manchas escuras) no sudoeste da Amazônia.



Fonte 1a: BIANCHINI [40].

Fonte 1b: FERREIRA [41].

Vários estudos realizados mostraram que o Brasil possui a maior diversidade de espécies de bambu, com aproximadamente 137 espécies e 17 gêneros em todo território nacional [42], e uma das maiores reservas do planeta, ocorrendo em sua maioria na Amazônia sul-ocidental [43].

No estado do Acre, um levantamento mostrou que existem 10.969.410 hectares de florestas com predominância de bambu no sub-bosque, sendo a área de bambu 4.563.688 ha, ou 41,60 % do total dessas florestas, sendo Feijó o município com maior quantidade de bambu (1.122.460 hectares) e Plácido de Castro com a menor quantidade (439 hectares), e a capital Rio Branco tem a 6ª maior quantidade de bambu (296.215 hectares) [44].

Por sua abundância, ótimas qualidades e variadas possibilidades de uso, o bambu é uma matéria-prima com grande potencial econômico de uso, oportunizando assim a exploração econômica da biodiversidade [45].

O bambu tem se mostrado uma fibra vegetal muito promissora tanto para o uso de sua polpa como para uso como elemento de reforço em compósitos, possuindo o crescimento mais rápido entre as tipologias lignocelulósicas, sendo um ótimo substituto para a madeira, que é a mais tradicional fonte de celulose, possuindo abundância em todo planeta e custo baixo quando comparado a outras fontes de celulose, podendo ser utilizado em materiais de construção civil, como compósitos à base de cimento Portland [46-47].

Assim, o objetivo deste trabalho foi testar variados métodos de polpação do bambu *Guadua weberbaueri*, e através de sua caracterização, definir a melhor polpa produzida dentre os métodos testados, para aplicação como reforço de compósitos, visando a destinação industrial para essa fonte de fibras vegetais abundante que é o bambu nativo.

2. FUNDAMENTAÇÃO E PERCURSO METODOLOGICO

Produção da polpa celulósica

Para a produção da polpa, foram utilizados dois diferentes métodos de deslignificação, seguidos do mesmo tipo de branqueamento.

A deslignificação do bambu triturado foi feita com solução de hidróxido de sódio (NaOH) a 5%, na proporção de 30 g de bambu para 600 mL de solução, por 2 h à temperatura ambiente e agitação constante. Em seguida, foi realizado o branqueamento da polpa com peróxido de hidrogênio (H₂O₂) a 24% (v/v) e NaOH a 4% (m/m) (1:1), na proporção de 1 g de fibra para 20 mL da solução, por 2 h a 50°C e agitação constante. Foram produzidas polpas com 1, 2 e 3 branqueamentos consecutivos [48].

No segundo método a deslignificação do bambu triturado foi feita com solução de NaOH a 2%, na proporção de 30 g de bambu para 1200 mL de solução, por 4 h à 80 °C e agitação constante, por 4 vezes consecutivos [49]. Em seguida, foi realizado o branqueamento da com H₂O₂ a 24% (v/v) e NaOH a 4% (m/m) (1:1), na proporção de 1 g de fibra para 20 mL da solução, por 2 h a 50°C e agitação constante branqueamentos [48]. Foram produzidas polpas com 1, 2 e 3 branqueamentos.

Análise do teor de celulose

A análise do teor de celulose foi determinada no laboratório de bromatologia da EMBRAPA Acre, a partir do método FDN/FDA com ácido sulfúrico a 72%, proposto por Van Soest [50]. Todos os resultados estão corrigidos com base na matéria seca (MS) à 105 °C. Esse método considera que os constituintes das plantas podem ser divididos em conteúdo celular (lipídios, compostos nitrogenados, gorduras, amido e outros compostos solúveis em água) e parede celular (proteína insolúvel, hemicelulose, celulose e lignina). Baseia-se na análise de fibra, a qual é subdividida em: Fibra em Detergente Neutro (FDN): A célula vegetal é revestida por uma parede celular rígida composta basicamente por celulose, mas em células adultas esta

parede sofrer um espessamento que pode formar uma segunda parede composta por lignina e hemicelulose.

O método de Van Soest consiste, inicialmente, em separar o conteúdo celular da parede celular. Isto é feito aquecendo-se parte da amostra em solução de detergente neutro. O conteúdo celular solubiliza-se no detergente, enquanto a parede celular não, podendo ser separada por filtração. As frações resultantes são denominadas de solúveis em detergente neutro, e são compostas por proteína, nitrogênio não protéico (NNP), lipídeos, pigmentos, açúcares, ácidos orgânicos e pectina, e FDN (constituída basicamente por celulose), N ligado à fibra, hemicelulose e lignina.

Fibra em detergente ácido (FDA): Quando se utiliza solução de detergente ácido a celulose e a hemicelulose solubilizam-se e a lignina ligada à celulose (lignocelulose) que é separada por filtração. As duas frações são denominadas, respectivamente, de solúveis em detergente ácido e FDA. A porção solúvel é integralmente aproveitada por ruminantes ou outros herbívoros e parcialmente por monogástricos não herbívoros. A FDA é a porção menos digestível da parede celular das forrageiras pelos microrganismos do rúmen, constituída quase na sua totalidade por lignocelulose, ou seja, lignina e celulose. Logo, a proporção de hemicelulose é determinada pela diferença entre FDN e FDA. A celulose contida na fração FDA, que é parte solúvel em detergente ácido, quando levada a forno mufla, é totalmente queimada. Com isso, podemos, também por diferença entre os pesos, obter a fração de celulose da amostra.

Determinação dos grupos funcionais e confirmação da redução do teor de lignina e hemicelulose - FTIR

Os espectros de absorção na região do infravermelho foram obtidos na infraestrutura Instituto de Criminalista da Polícia Civil do Acre, em equipamento Perkin Elmer Spectrum RX I. Foi utilizado KBr previamente seco na preparação das pastilhas, que foram analisadas com NO NNO M mínimo16 varreduras, na faixa de 400 a 4000cm⁻¹. mínimo16 varreduras, na faixa de 400 a 4000cm⁻¹no mínimo16 varreduras, na faixa de 400 a 4000cm.

Determinação da cristalinidade - DRX

A determinação da cristalinidade da celulose e das polpas produzidas foi realizada no Departamento de Geociência - DEGEO da Universidade Federal do Amazonas - UFAM. O equipamento utilizado foi o Difratorômetro de Raios x, Marca Shimadzu, Modelo XRD 6000 Tubo de Raio X com radiação Cu K α com comprimento de onda de 0,15418 nm. A configuração adotada para a análise foi o monocromador com fendas (1, 1, 0,3), operado a 40 kV com uma corrente de 30 mA, a uma velocidade de 2,000 deg/min.

Análise termogravimétrica - TGA

As análises térmicas foram realizadas no complexo BIONORTE da UFAC em um calorímetro Netzsch modelo Jupiter STA449 – F3 em uma atmosfera de nitrogênio com fluxo de 20.0 ml min⁻¹, e taxa de aquecimento de 10.0 °C min⁻¹ até a temperatura final de 600.0 °C. A massa da amostra analisada foi de 20.0 mg, em cadinhos de óxido de alumina.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir da análise do teor de celulose pelo método FDN/FDA, foi constatado um teor significativo maior de hemicelulose e lignina remanescente nas amostras, que foram lavadas apenas uma vez (método I), quando comparada aquela lavada quatro vezes (método II). Os valores apresentados foram 11,60% e 17,92% de hemicelulose e lignina, respectivamente, para o método I. Enquanto que o método II, apresentou 6,26% e 12,18%, respectivamente de teores de lignina e hemicelulose, como mostrado na tabela abaixo.

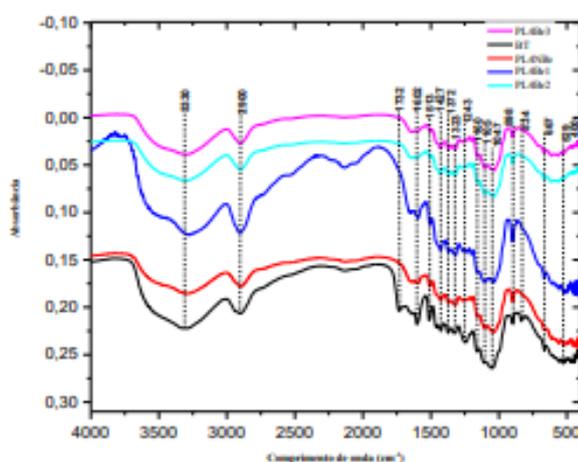
Amostras	Composição da Parede Celular (%)					
	MS	FDN	FDA	Hemicelulose	Lignina	Celulose
PCBL1x	94,41	96,77	85,17	11,60	17,92	63,26
PCBL4x	94,00	99,70	93,45	6,26	12,18	78,88
PCBL4xBr1x	94,42	99,75	93,62	6,13	8,59	84,83
PCBL4xBr2x	93,09	99,85	92,52	7,33	4,17	86,08
PCBL4xBr3x	93,94	99,55	93,96	5,60	4,25	88,33

A redução nos teores dos compostos amorfos observados entre os dois métodos de lavagem, resultou em um expressivo rendimento da polpa de celulose entre os dois métodos de lavagem, que foi de 63,26 % para o método I e 78,88 % para o segundo método. Com isso, foi definido que o processo de branqueamento seria realizado apenas para essa última, descartando assim, o método que envolve apenas uma lavagem. A tabela 2 mostra, ainda, que o teor de

celulose aumentou conforme aumentava-se o número de vezes que a amostra passou por processo de branqueamento. A amostra PCBL4xBr1x, que foi branqueada apenas uma vez, apresentou 84,83% de teor de celulose, enquanto que a PCBL4xBr2x (branqueada duas vezes), apresentou 86,06 % e a branqueada três vezes (PCBL4xBr3x) mostrou-se com o maior teor de celulose, 88,33 %.

A diminuição nos teores de lignina, hemicelulose e extrativos, acarretando o incremento no teor de alfa-celulose, foi comprovada através do ensaio de FTIR, que mostrou também uma diminuição na absorção máxima de água da amostra, após tratamentos realizados. A Figura 2 mostra as curvas obtidas para o bambu triturado e cada tipo de tratamento realizado. Estas curvas são resultados das vibrações correspondentes às bandas destes elementos químicos na faixa de 4.000 a 400 cm^{-1} .

Figura 2. Gráficos de FTIR para as amostras de polpa celulósicas obtidas do bambu.



O pico de 1.732 cm^{-1} , referente ao grupo acetil e carboxílicos das xilanas, desaparece com os tratamentos de polpação, confirmando a extração de lignina e extrativos da amostra. A queda dos teores de lignina, hemicelulose e de extrativos também é comprovada através da diminuição das bandas de 1602 cm^{-1} , que representa vibrações no esqueleto aromático mais estiramento C=O, indicando diminuição no teor de polioses; em 1.243 cm^{-1} , que representa deformação axial assimétrica de =C-O-C-, comum em meio onde está presente =C-O-, como em éster e éter; em 1.372 cm^{-1} , referente à vibração de deformação do grupo C-H, devido a

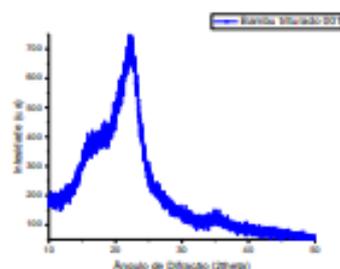
remoção de polissacarídeo de baixa massa molecular e 1.513 e 1.427 cm^{-1} , relacionadas a vibração dos grupos aromáticos de lignina, específicas dos anéis do tipo guaiacilicos.

A diminuição da banda de 3.330 cm^{-1} indica o sucesso da reação de esterificação na amostra e também na diminuição de umidade. O alargamento das bandas de 898 e 1.047 cm^{-1} indica um incremento no valor do teor de alfa-celulose, enquanto o aumento da banda de 1.160 cm^{-1} indica incorporação do grupo éster à polpa. A pequena diminuição na banda de 1.323 cm^{-1} (anel guaiacil-siringílico de lignina) ocorreu, principalmente, devido ao tratamento de mercerização. A banda de 2.900 cm^{-1} , atribuída ao estiramento vibracional simétrico e assimétrico de CH_2 e CH_3 de grupos alifáticos, se tornou menor devido à remoção da hemicelulose.

Para a determinação da cristalinidade das amostras de bambu foram usadas o métodos de SEGAL [51], onde o percentual cristalino foi determinado pela diferença da intensidade entre o pico de maior intensidade (I_{c+a}) correspondente ao pico cristalino e o de menor intensidade (I_a), característico do pico amorfo.

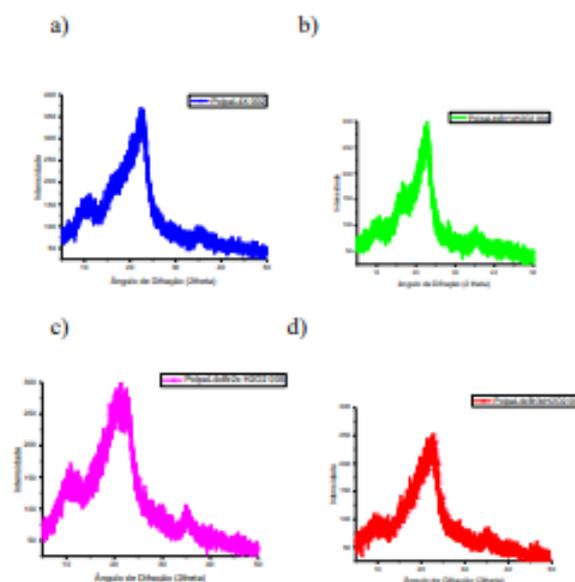
A partir da figura 3, que mostra o gráfico de DRX de uma amostra de bambu triturado sem nenhum processo de lavagem ou branqueamento, é possível observar a típica absorção das celuloses em 2θ próximo ao 23° de uma amostra completamente amorfa.

FIGURA 3. Difratoograma de Raios-x do bambu triturado.



As intensidades dos picos cristalinos e do halo amorfo das polpas, foram obtidas através dos gráficos a seguir. Pode-se observar através das figuras 4a, 4b, 4c e 4d que os gráficos da celulose de bambu lavada 4 vezes (sem nenhum processo de branqueamento) e lavadas 4 vezes seguido de branqueamento 1, 2 e 3 vezes são característicos de celulose tipo II, onde o halo amorfo e o pico cristalino ficam situados entre os ângulos $12^\circ \leq 2\theta \leq 13^\circ$ e $22^\circ \leq 2\theta \leq 23^\circ$.

Figura 4. Difratoograma de Raios-x da polpa de bambu lavada 4 vezes (a); DRX da polpa lava 4 vezes e branqueada 1 vez (b); DRX da polpa lavada 4 vezes e branqueada 2 vezes (c) e DRX da polpa lavada 4 vezes e branqueada 3 vezes (d).

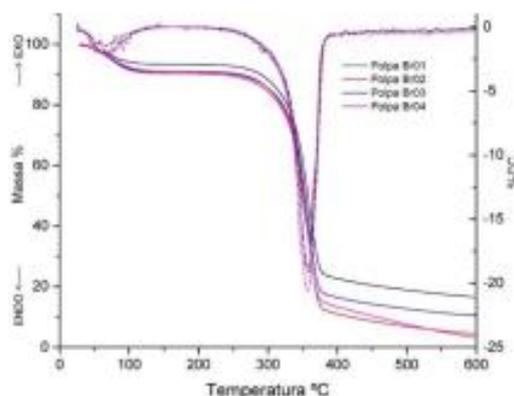


A partir da intensidade de absorção dos ângulos, foi determinado o índice cristalinidade para as amostras. A figura 4a mostra o gráfico de DRX da amostra de polpa de bambu lavada quatro vezes com hidróxido de sódio, onde foi detectado um percentual de 66,66% de índice de cristalinidade dessa amostra. Enquanto que a mesma polpa que foi branqueada uma vez com peróxido de hidrogênio (após as 4 lavagens), teve sua cristalinidade aumentada para 71,04% (figura 4b). Esse aumento se repetiu nas polpas branqueadas duas e três vezes com o mesmo reagente, 76,19% e 79,47%, figuras 4c e 4d, respectivamente. Com esse resultado, é possível endossar que o agente branqueador ataca, de forma a eliminar os grupos amorfos da celulose e que os índices de cristalinidades estão próximos aos encontrados nas polpas de Eucaliptos produzidos por LENGOWSKI [52].

Devido as indicações de sucesso da polpação descritos acima, as amostras foram submetidas a análise termogravimétrica (TGA). O primeiro evento visualizado na análise TGA

é a desidratação das amostras que ocorrem entre um intervalo médio de 43.8°C e 108.6°C, com uma perda de massa média de 6,18%.

FIGURA 5. Curvas de TGA (a) e sua derivada DTG (b)



A decomposição térmica ocorre em um pico médio de 356°C, com temperatura onset em 334.4 e endset em 362.2°C para as quatro amostras analisadas. A Perda de massa média foi de 80.51%. Na curva de DTG, fica evidente dois picos dos eventos endotérmicos que ocorreram na amostra.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

As análises do teor de celulose pelo método FDN/FDA revelaram que o método de lavagem, quatro vezes, das amostras de bambu triturado, com solução de hidróxido de sódio foi significativamente mais eficiente para remoção dos compostos amorfos das amostras, se comparado com o método que usou apenas uma lavagem com hidróxido de sódio. Na prática o teor remanescente de lignina e hemicelulose nas amostras lavadas apenas uma vez foi 11,60% e 17,92%, respectivamente e 6,26% e 12,18%, respectivamente para a lavada quatro vezes. Essa diferença impactou o rendimento final na produção da polpa de 63,26% (lavada apenas uma) para 78,88% (lavada quatro vezes).

O branqueamento das amostras lavadas quatro vezes aumentaram o teor de celulose quanto mais se aumentava o número de vezes que a amostras foi branqueada. Assim, a amostra que foi branqueada apenas uma vez, apresentou 84,83% de teor de celulose, enquanto que a

branqueada duas vezes apresentou 86,06 % e a branqueada três vezes mostrou-se com o maior teor de celulose, 88,33 %. Em síntese, quanto maior for o número de vezes de lavagem e de branqueamento das amostras de bambu triturado, maior o teor final de celulose. Essa teoria foi endossada a partir das análises dos dados de FTIR que revelaram diminuição nos teores de lignina, hemicelulose e extrativos, acarretando o incremento no teor de alfa-celulose, que mostrou também, uma diminuição na absorção máxima de água da amostra, após tratamentos realizados.

Os difratogramas de raio-x reforçaram essa tese ao revelar os índices de cristalinidade das amostras em 66,66%, 71,04%, 76,19% e 79,47% para as amostras lavadas quatro vezes (sem branqueamento) e lavadas quatro vezes e branqueadas uma, duas e três vezes com peróxido de sódio, respectivamente.

A análise TGA revelou comportamento semelhante para todas amostras, de modo que todas elas se mostraram relativamente estáveis se comparada com outras de mesma natureza. A desidratação das amostras ocorreram em um intervalo médio de 43.8°C e 108.6°C, com uma perda de massa média de 6,18%. A decomposição térmica ocorreu em um pico médio de 356°C, com temperatura onset em 334.4 e endset em 362.2°C para as quatro amostras analisadas. A Perda de massa média foi de 80.51%. Em suma, a polpação do bambu amazônico se mostrou um recurso eficiente para produção de polpa celulósica, que pode útil para produção de compósito e substituir outras plantas que causam impactos ambientais mais severos.

REFERÊNCIAS

- [1]. GUIMARÃES JÚNIOR, M. et al. Nanofibrilas obtidas de polpas celulósicas de bambu: propriedades e aplicação como reforço em polímeros. In: DRUMOND, P. M.; WIEDMAN, G. **Bambus no Brasil: da biologia à tecnologia**. Rio de Janeiro: ICH, 2017. 655 p.
- [2]. BILCATI, Gêssica Katalyne. **Produção de painéis de cimento portland reforçados com fibra de curauá (*Ananas erectifolius*)**. 100 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil) Universidade Tecnológica Federal Do Paraná, Curitiba, 2015.
- [3]. AGOPYAN, V. et al. Developments on vegetable fiber – cement based materials in São Paulo: an overview. **Cement and Concrete Composites**. v. 27, p. 527 – 536, 2005.
- [4]. LOPES, F.F.M; et al. Estudo dos efeitos da acetilação em fibras de sisal. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**. v.14, n. 7, p. 783-788, 2010.
- [5]. MOON, R. J. et al. Cellulose nanomaterials review: structure, properties and nanocomposites. **Chem. Soc. Rev.** v. 40, p. 3941 – 3994, 2011.

- [6]. HUBBEL, C. A.; RAGAUSKAS, A. J. Effect of acid-chlorite delignification on cellulose degree of polymerization. *Bioresource Technology*. v. 101, p. 7410–7415, 2010.
- [7]. FERRAZ, J. M.; **Produção e Propriedades de Painéis de Fibra de Coco Verde (Cocos nucifera L.) em Mistura com Cimento Portland**. 2011. 89 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) – Departamento de Engenharia Florestal, Universidade de Brasília, Brasília, 2011.
- [8]. MORI, F. A. et al. Estudo da compatibilidade entre a madeira e as cascas de *Eucalyptus grandis* e cimento Portland. *Ciência Florestal*. v.17, n. 3, p. 257-264, 2007.
- [9]. D'ALMEIDA, M. L. O.; PHILIPP, P. Caracterização química e físico-química de materiais lignocelulósicos. In: **Celulose e papel - Tecnologia de fabricação da pasta celulósica**. São Paulo: SENAI-IPT, 1988. 20 p.
- [10]. VÁRNAL, A. et al. Restriction of the enzymatic hydrolysis of steam-pretreated spruce by lignin and hemicellulose. *Enzyme and Microbial Technology*, v. 46, n. 3-4, p. 185-193, 2010.
- [11]. CHERIAN, B. M. et al. Novel Method for the Synthesis of Cellulose Nanofibril Whiskers from Banana Fibers and Characterization. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. v. 56, n. 14, p. 5617-5627, 2008.
- [12]. ABDELMOULEH, M. et al. Modification of cellulosic fibers with functionalized silanes: development of surface properties. *International Journal of Adhesion and Adhesives*. v.24, n. 1, p. 43–54, 2004.
- [13]. CASTELLANO M. et al. Modification of cellulose fibers with organosilanes: under what conditions does coupling occur? *Journal of Colloid and Interface Science*. v. 273, n. 2, p. 505-511, 2004.
- [14]. PACHECO-TORGAL, F.; JALALI, S. Cementitious building materials reinforced with vegetable fibres: A review. *Construction and Building Materials*. v.25, p.575-581, 2011.
- [15]. PARVEEN, S.; RANA, S.; FANGUEIRO, R. Macro and nanodimensional plant fiber reinforcements for cementitious composites. **Sustainable and Nonconventional Construction Materials Using Inorganic Bonded Fiber Composites**. p. 343 – 382, 2017.
- [16]. ARSÈNE M. A. et al. Cementitious composites reinforced with vegetable fibers. In: **Proceedings of the first Interamerican conference on non-conventional materials and technologies in the eco-construction and Infrastructure**. In: 13–16 November 2003, Joao-Pessoa Brazil, IAC-NOCMAT 2003, proceedings.
- [17]. KRIKER A. et al. Mechanical properties of date palm fibres and concrete reinforced with date palm fibers in hot dry climates. *Cement & Concrete Composites*. v. 27, p. 554–648, 2005.
- [18]. PASSUELLO A. et al. Cracking behavior of concrete with shrinkage reducing admixtures and PVA fibers. *Cement & Concrete Composites*. v. 31, p. 699 – 704, 2009.
- [19]. CAMPELLO, E. F., et al. On the fatigue behavior of bamboo pulp reinforced cementitious composites. *Procedia Structural Integrity*. v. 2, p.2929-2935, 2016.

- [20]. BRESCANSIN, Janaina. **Comportamento à fratura de compósitos de matriz cimentícia reforçada com polpa de bambu**. 70 f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Materiais e Metalurgia da PUC-Rio) – Departamento de Ciência dos Materiais e Metalurgia. Pontifícia universidade Católica do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2003.
- [21]. XIE, X. et al. Flexural properties and impact behavior analysis of bamboo cellulosic fibers filled cement based composites. **Construction and Building Materials**. v. 220, p. 403 – 414, 2019.
- [22]. YAO, W.; LI, Z. Flexural behavior of bamboo–fiber-reinforced mortar laminates. **Cement and Concrete Research**. v. 33, p. 15 – 19, 2003.
- [23]. WAHYUNI, A. S. et al. The performance of concrete with rice husk ash, sea shell ash and bamboo fiber addition. **Procedia Engineering**. v. 95, p. 473-478, 2014.
- [24]. CORREIA, V. C. et al. Potential of bamboo organosolv pulp as a reinforcing element in fiber–cement materials. **Construction and Building Materials**. v. 72, p. 65 – 71, 2014.
- [25]. JOAQUIM, A. P. et al. Sisal Organosolv Pulp as Reinforcement for Cement Based Composites. **Materials Research**. v. 12, n. 3, p. 305 – 314, 2009.
- [26]. FUJIYAMA, R. T., **Argamassa de Cimento Reforçada por Fibras de Sisal: Caracterização Mecânica e Microestrutural**, Dissertação de Mestrado, Departamento de Ciências dos Materiais e Metalurgia, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, 1997.
- [27]. LIMA, P. R. L. et al. Caracterização mecânica de laminados cimentícios esbeltos reforçados com fibras de sisal. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**. v.11, n.6, p.644-651, 2007.
- [28]. PICANÇO, M. S; GHAVAMI, K. Comportamento à compressão de argamassas reforçadas com fibras vegetais da Amazônia. **REM - International Engineering Journal**. v. 61, n.1, p. 13 – 18, 2008
- [29]. SILVA, E. J. et al. Resistência à compressão de argamassas em função da adição de fibra de coco. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**. v.18, n.12, p.1268-1273, 2014.
- [30]. JHON, V. M. et al. Durability of slag mortar reinforced with coconut fiber. **Cement & Concrete Composites**, v.27, p.565-574, 2005.
- [31]. GUNASEKARAN, K. et al. Mechanical and bond properties of coconut shell concrete. **Construction and Building Materials**, v.25, p.92-98, 2011.
- [32]. RODRÍGUEZ, N. J. et al. Assessment of coconut fiber insulation characteristics and its use to modulate temperatures in concrete slabs with the aid of a finite element methodology. **Energy and Buildings**. v.43, p.1264-1272, 2011.
- [33]. SILVA, E. J. et al. Aplicação de fibra de coco em matrizes cimentícias. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**. v.8, p.1555-1561, 2012.

- [34]. RAMLI, M. et al. Strength and durability of coconut-fiber-reinforced concrete in aggressive environments. **Construction and Building Materials**. v.38, p.554-566, 2013.
- [35]. PEREIRA, C. L. et al. Use of highly reactive rice husk ash in the production of cement matrix reinforced with green coconut fiber. **Industrial Crops and Products**. v.49, p.88-96, 2013.
- [36]. TEIXEIRA, F. P. et al. Caracterização mecânica de material compósito de matriz cimentícia reforçado com fibras de juta. In: Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos Materiais, 21, 2014. Cuiabá. **Anais...** p. 2845-2852.
- [37]. ZHANG, W.P.; CLARK, L.G. Phylogeny and classification of the Bambusoideae (Poaceae). In: JACOBS, S.W.L.; EVERETT, J.E. **Grasses: systematics and evolution**. Collingwood, Victoria, Australia: CSIRO Publishing, 2000. p.35-42.
- [38]. CARVALHO, A. L. et al. Bamboo-dominated forests of the Southwest Amazon: detection, spatial extent, life cycle length and flowering waves. **Plos One**. v. 8, n. 1, p.e_54852, 2013.
- [39]. LONDOÑO, X.; PETERSON, P.M. *Guadua sarcocarpa* (Poaceae:Bambuseae), a new species of Amazonian bamboo with fleshy fruits. **Syst. Bot.**, v.16, p. 630-638, 1991.
- [40]. BIANCHINI, M. C. 2005. **Florestas dominadas por bambu (gênero *Guadua*) no sudoeste da Amazônia: extensão, comportamento espectral e associação com o relevo**. 88f. Dissertação (Mestrado em Ecologia) - Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Universidade do Amazonas, Manaus, 2005.
- [41]. FERREIRA, E. J. L. O bambu é um desafio para a conservação e o manejo de florestas no sudoeste da Amazônia. **Ciência e Cultura**, v. 66, n. 3, p. 46-51, 2014.
- [42]. JUDZIEWICZ, E.J. et al. **American bamboos**. Washington, D.C.: Smithsonian Institution Press, 1999. 392 p.
- [43]. MIRANDA, E. M. et al. Estrutura populacional e o potencial de uso de *Guadua* cf. *superba* na região do Alto Acre. In: DRUMOND, P. M.; WIEDMAN, G. **Bambus no Brasil: da biologia à tecnologia**. Rio de Janeiro: ICH, 2017. 655 p.
- [44]. CARMO, L. F. Z. et al. Ocorrência, biomassa, perdas e exploração de bambu em florestas da Amazônia no Acre, Brasil. In: DRUMOND, P. M.; WIEDMAN, G. **Bambus no Brasil: da biologia à tecnologia**. Rio de Janeiro: ICH, 2017. 655 p.
- [45]. AFONSO, D. G. 2011. **Bambu nativo (*Guadua* spp.): alternativa de desenvolvimento econômico e sustentável para o Estado do Acre**. 49 f. Trabalho de conclusão de curso de pós-graduação (Pós-Graduação em Gestão da Indústria Madeireira) - Departamento de Economia Rural e Extensão, Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2011.
- [46]. COUTTS, R. S. P. Autoclaved bamboo pulp fiber reinforced cement. **Cement and Concrete Composites**. v. 17, p. 99-106, 1995.

- [47]. LIMA, H. et al. Durability analysis of bamboo as concrete reinforcement. **Materials and Structures**. v. 41, n. 5, p. 981–989, 2008.
- [48]. CORDEIRO, E. M. S. et al. Extração e caracterização de nanocelulose de fibras do pseudocaule da bananeira. In: Congresso Norte-Nordeste de Pesquisa e Inovação, 5, 2014. Maceió. **Anais...** p. 1-8.
- [49]. MACHADO, B. A. S. et al. Obtenção de nanocelulose da fibra de coco verde e incorporação em filmes Biodegradáveis de amido plastificados com glicerol. **Quim. Nova**. v.37, p. 1275-1282, 2014.
- [50]. VAN SOEST, P. V.; ROBERTSON, J. B.; LEWIS, B. A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of dairy science**, v. 74, n. 10, p. 3583-3597, 1991.
- [51]. SEGAL, L.; CREELY, J.J.; MARTIN, A.E.; CONRAD, SEGAL, L.; CREELY, J.J.; MARTIN, A.E.; CONRAD, C.M. An empirical method for estimating the degree of crystallinity of native cellulose using the X-ray diffractometer. *Textile Research Journal*, v.29, n.10, p.786-794, 1959.
- [52]. LENGOWSKI, E. C. CARACTERIZAÇÃO E PREDIÇÃO DA CRISTALINIDADE DE CELULOSE ATRAVÉS DE ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO E ANÁLISE MULTIVARIADA. 2012. Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal.