

Avaliação da Biodegradação a partir de Fungos Filamentosos de Amostras de Bambu Impregnadas com Nanopartículas de Cobre e de Prata

Camila Alves Martins

Projeto de Final de Curso

Orientadores Rodrigo Pires do Nascimento, D.Sc. Fabrício de Campos Vitorino, D.Sc.

Fevereiro de 2022

AVALIAÇÃO DA BIODEGRADAÇÃO A PARTIR DE FUNGOS FILAMENTOSOS DE AMOSTRAS DE BAMBU IMPREGNADAS COM NANOPARTÍCULAS DE COBRE E DE PRATA

Camila Alves Martins

Projeto de Final de Curso submetido ao Corpo Docente da Escola de Química, como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Bacharel em Engenharia Química.

Aprovado por:

Rodrigo Pires do Nascimento, D.Sc.

Raquel Massad Cavalcante, D.Sc.

Romildo Dias Toledo Filho, Ph. D.

Orientado por:

Rodrigo Pires do Nascimento, D.Sc. (orientador)

Fabrício de Campos Victorino, D.Sc. (coorientador)

Rio de Janeiro, RJ – Brasil Fevereiro de 2022

MARTINS, Camila Alves.

Avaliação da Biodegradação a partir de Fungos Filamentosos de Amostras de Bambu Impregnadas com Nanopartículas de Cobre e de Prata / Camila Alves Martins. Rio de Janeiro: UFRJ/EQ, 2021.

viii, 62 p.; lxii.

Orientador: Rodrigo Pires do Nascimento.

Coorientador: Fabrício de Campos Vitorino.

Trabalho de conclusão de curso (graduação) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química, Bacharel em Engenharia Química, 2022

1. Bambu. 2. Nanopartículas. 3. Biodegradação. 4. Durabilidade. (Graduação – UFRJ/EQ).

5. Rodrigo Pires do Nascimento. 6. Fabrício de Campos Victorino. I. Caracterização e

Biodegradação do Bambu Mossô por Fungos Filamentosos Impregnado com Partículas de Cobre e Nanopartículas de Prata

Dedico este trabalho ao meu avô, que hoje está tocando triângulo e recitando cordel para as almas felizes no céu.

[N]o one could say why a thing once set in motion should stop anywhere; for why should it stop here rather than there? So that a thing will either be at rest or must be moved ad infinitum, unless something more powerful get in its way. (Aristóteles – Um dos princípios da 1ª Lei de Newton)

AGRADECIMENTOS

A vida universitária é uma trajetória de altos e baixos. Por muitos momentos não acreditei que conseguiria fechar esse ciclo e finalizar minha graduação. Ao longo de um caminho conturbado, gostaria de agradecer à UFRJ por ter me proporcionado os melhores e os piores momentos da minha vida. Momentos esse onde eu pude crescer, aprender, conhecer pessoas, viver minha juventude e me tornar a mulher e profissional que eu sou hoje.

Gostaria de agradecer aos meus pais, e família, por me darem toda a estrutura para que eu pudesse ingressar em uma universidade federal e sair daqui como uma pessoa vitoriosa. Por me darem todo apoio e carinho nos momentos que eu mais precisei, por torcerem e nunca desistirem de mim. Pelas cobranças quando eu precisava de um puxão de orelha e pela motivação quando eu não me achava capaz, e principalmente, por moverem céus e terra para me ver feliz.

Gostaria de agradecer aos meus amigos, por dividirem as angústias e os momentos de alegria. Por todos os abraços, brincadeiras e papos cabeça. Em especial, aos meus amigos mais próximos, Natali, Johnny, Isabela e João. E a todas as pessoas que dividiram comigo essa trajetória, nem que fosse por um breve momento, pois todas as lembranças são únicas.

Gostaria de agradecer ao coletivo MUDA e ao NUMATS, por me aproximar do corpo institucional da UFRJ e representarem importantes papéis no meu desenvolvimento pessoal e profissional. Em especial à professora Heloísa Firmo, que via um grande potencial em mim e sempre foi uma referência, ao Fabrício, que me orientou na iniciação científica e me deu todo suporte e atenção no desenvolvimento desta pesquisa e ao Rodrigo que me orientou ao longo da elaboração deste trabalho.

Por fim, gostaria de agradecer a mim mesma, por ter dado a volta por cima de todas as dificuldades e poder concluir a graduação de cabeça erguida. Por não me deixar abater quando eu quis largar tudo e por ter conseguido recuperar a essência em mim que, em algum momento, eu havia perdido. Tenho certeza que esta é apenas a primeira conquista de uma trajetória linda. A todos, MUITO OBRIGADA.

Resumo do Projeto de Final de Curso apresentado à Escola de Química como parte dos requisitos necessários para obtenção do grau de Bacharel em Engenharia Química.

CARACTERIZAÇÃO E BIODEGRADAÇÃO DO BAMBU MOSSÔ POR FUNGOS FILAMENTOSOS IMPREGNADO COM PARTÍCULAS DE COBRE E NANOPARTÍCULAS DE PRATA

Camila Alves Martins

Fevereiro, 2022

Orientadores: Prof. Rodrigo Pires do Nascimento, D.Sc.

Fabrício de Campos Vitorino, D.Sc.

RESUMO:

O planeta enfrenta uma severa mudança climática devido à crescente emissão de gases de efeito estufa. Até 39% dessas emissões de gases podem ser atribuídas à indústria da construção civil. O bambu pertence à subfamília das gramíneas e tem crescimento rápido, podendo chegar ao seu tamanho máximo com 6 meses de cultivo e suas propriedades físicas e mecânicas estão dentro de padrões de engenharia para uso em construção civil. Em contrapartida, o bambu é comumente atacado por fungos e insetos que podem consumir seus constituintes estruturais, como a celulose e a lignina, podendo ocasionar perdas em sua vida útil. O tratamento de materiais lignocelulósicos com nanopartículas já vem sendo estudado como técnicas de prevenção à proliferação de microrganismos. O presente estudo teve como principal objetivo estudar a eficácia de partículas de cobre, em comparação com nanopartículas de prata, no combate ao crescimento fúngico, a fim de apresentar uma solução de menor custo e maior disponibilidade de matéria prima. A composição química do bambu foi estudada, antes dos ataques microbiológicos, por extração química de suas fases constituintes visando compreender futuramente o principal componente degradado pelos fungos. Para isso, foram aplicadas suspensões de nanopartículas de cobre e de prata sobre a superfície de amostras de bambu mossô (Phyllostachys pubescens), e este, colocado em contato com cepas de Aspergillus niger e Aspergillus ruber em um ensaio de biodegradação que teve a duração de 90 dias. Estas cepas foram utilizadas pois, na etapa de caracterização do bambu, estas foram identificadas como as potencialmente mais agressivas ao material.

SUMÁRIO

Capítulo I – Introdução	10
Capítulo II – Organização da dissertação	11
Capítulo III – Motivação	13
Capítulo IV – Objetivos	13
Capítulo V – Planejamento	14
Capítulo VI – Revisão bibliográfica	15
Capítulo VII – Metodologia	24
VII.1 Metodologia para Caracterização do Bambu	24
VII.1.1 Identificação dos Fungos presentes no Bambu	24
VII.1.1.2 Metodologia de Identificação dos Fungos	25
VII.1.2 Metodologia para Caracterização Química do Bambu	26
VII.1.3 Metodologia para Caracterização por TGA dos Constituintes do Bambu	33
VII.2 Metodologia da Síntese de Nanopartículas	33
VII.2.1 Nanopartículas de Prata	33
VII.2.2 Partículas de Cobre	34
VII.2.3 Metodologia de Caracterização das Nanopartículas	37
VII.3 Metodologia dos Ensaios de Impregnação	37
VII.4 Metodologia do Teste de Biodegradação	37
Capítulo VIII – Resultados	39
VIII.1 Resultados da Caracterização do Bambu	39
VIII.1.1 Resultados da Identificação dos Fungos	39
VIII.1.2 Resultados da Caracterização Química dos Constituintes do Bambu	39
VIII.1.3 Resultados da Caracterização por TGA dos Constituintes do Bambu	40
VIII.2 Resultados da Produção de Nanopartículas	43
VIII.2.1 Nanopartículas de Prata	43

VIII.2.2 Nanopartícula de Cobre	. 45
VIII.3 Resultados do Teste de Biodegradação	. 53
Capítulo IX – Conclusões	. 54
Capítulo X – Sugestões de trabalhos futuros	. 55
Referências Bibliográficas	. 56

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Distribuição geográfica de bambus lenhosos (Bambuseae) ao redor do mundo.	15
Figura 2: Aplicações de bambu como elemento estrutural	17
Figura 3: Estrutura química do polímero de celulose	18
Figura 4: A) Estrutura química da hemicelulose. B) Localização da lignina, celulose e	
hemicelulose na parede celular.	19
Figura 5: Moléculas precursoras de lignina	19
Figura 6: Nanopartículas com superfície funcionalizada	22
Figura 7: Ilustração representativa do fenômeno LSPR	23
Figura 8: Esquema representativo para a rota de obtenção do bambu livre de extrativos	26
Figura 9: Sistema de extração.	27
Figura 10: Sistema de evaporação rotativa.	27
Figura 11: Esquema representativo para a rota de isolamento da Lignina	28
Figura 12: Lignina Isolada.	29
Figura 13: Esquema representativo para a rota de obtenção da Holocelulose Isolada	30
Figura 14: Holocelulose Isolada.	30
Figura 15: Processo de obtenção da α-celulose	31
Figura 16: Esquema representativo para a rota de obtenção da α-celulose isolada	32
Figura 17: α-celulose isolada.	32
Figura 18: Esquema representativo para a rota de obtenção das Nanopartículas de Prata.	34
Figura 19: Nanopartículas de Prata.	34
Figura 20: Esquema representativo para a rota de obtenção das Nanopartículas de Cobre.	.35
Figura 21: Equipamento Dispermat [®] .	36
Figura 22: Representação em Bastão da Molécula de Ácido Lático	36
Figura 23: Bambu em imersão na dispersão de Nanopartículas.	37
Figura 24: Exemplo da metodologia de aspersão do fungo.	38
Figura 25: Câmara climática.	39
Figura 26: Curva TGA/DrTGA - α-celulose	41
Figura 27: Curva TGA/DrTGA – Holocelulose	42
Figura 28: Curva TGA/DrTGA - Lignina	42
Figura 29: Curva TGA/DrTGA - Bambu	43
Figura 30: Espectro de extinção das nanopartículas de prata	44
Figura 31: Distribuição de tamanho das nanopartículas de prata	45
Figura 32: Nanopartículas de Cobre decantadas.	46
Figura 33: Distribuição de tamanho das nanopartículas de cobre sem estabilizante.	47
Figura 34: Distribuição de tamanho das nanopartículas após 20 minutos de ultrassom	47
Figura 35: Distribuição de tamanho das nanopartículas após 40 minutos de ultrassom	48
Figura 36: Distribuição de tamanho das nanopartículas após 60 minutos de ultrassom	48
Figura 37: Distribuição de tamanho das nanopartículas após 20 minutos de agitação	49
Figura 38: Distribuição de tamanho das nanopartículas após 40 minutos de agitação	49
Figura 39: Distribuição de tamanho das nanopartículas após 60 minutos de agitação	50
Figura 40: Nanopartículas de Cobre com adição de Ácido Lático decantadas	50
Figura 41: Suspensão de nanopartículas de cobre com adição de solução de 0.6% PVA	51
Figura 42: Distribuição de tamanho das partículas de cobre com adição de solução 0.6%	de
PVA	52
1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1	54

Capítulo I – Organização do Trabalho de Conclusão de Curso

- Introdução: Este capítulo fará uma breve introdução do tema a ser abordado no trabalho e as atividades que foram realizadas.
- Motivação: Este capítulo mostrará a motivação por trás do projeto que justifica o seu desenvolvimento e a sua aplicabilidade.
- Objetivos: Este capítulo listará as metas cumpridas para a realização do trabalho e onde se pretendeu chegar com o projeto desenvolvido.
- Planejamento: Este capítulo exibirá o cronograma das atividades realizadas.
- Revisão Bibliográfica: Este capítulo fará uma recapitulação do que já foi feito anteriormente na literatura e a fundamentação teórica do projeto.
- Metodologia: Este capítulo mostrará os procedimentos realizados passo-a-passo para a execução das etapas do projeto.
- Resultados: Este capítulo discutirá os resultados obtidos com as etapas realizadas ao longo do desenvolvimento do projeto.
- Conclusão: Este capítulo desenvolverá o que pode ser concluído dos resultados obtidos no trabalho.
- Sugestões para trabalhos futuros: Este capítulo fará sugestões de projetos a serem desenvolvidos no futuro a fim de dar continuidade no trabalho desenvolvido.

Capítulo II – Introdução

O planeta enfrenta uma severa mudança climática devido à crescente emissão de gases de efeito estufa. Até 39% dessas emissões de gases podem ser atribuídas à indústria da construção civil (ONU, 2018), portanto, o uso de materiais ecológicos tornou-se uma necessidade. Além disso, o crescente aumento no consumo de recursos florestais provocou declínios anuais na disponibilidade de toras e madeira de alta qualidade. Nesse contexto, a busca de materiais alternativos para a substituição de madeira dura e macia tornou-se cada vez mais crítica (Yang et al., 2016).

O bambu é uma planta da subfamília Bambusoideae, dentro da família das gramíneas (Poaceae ou Gramineae), a qual apresenta crescimento rápido, podendo chegar ao seu tamanho máximo em até 6 meses de cultivo. O bambu apresenta caules lenhificados e pode ser utilizado na fabricação de diversos objetos (instrumentos musicais, móveis, cestos, quadros, etc...) e até na construção civil, onde é utilizado em construções de edifícios à prova de terremotos. Por ser uma planta tropical renovável e que produz anualmente uma grande quantidade de biomassa, seu cultivo é economicamente interessante por não necessitar replantio. Além disso, sua produção de biomassa por área supera o de muitas outras gramíneas, o que o torna um excelente sequestrador de carbono da atmosfera (HIDALGO-LÓPEZ, 2003). Dependendo da espécie, o bambu pode remover da atmosfera até 52 toneladas de CO_2 por hectare/ano. (PANDOLI *et al.* 2016).

Segundo Krause (2016), suas propriedades físicas e mecânicas estão dentro de padrões de engenharia para uso em construção civil, tanto na sua geometria natural ou como lâminas processadas. Em contrapartida, o bambu é comumente atacado por fungos e insetos devido à sua composição rica em amido, ocasionando perdas em sua vida útil. O tratamento de amostras de bambu com nanopartículas já vem sendo estudado como técnicas de prevenção contra proliferação de microrganismos (PANDOLI 2016). Em fungos, acredita-se que as nanopartículas de prata atuam acelerando a degradação da membrana da célula, interferindo no processo de divisão celular e impedindo o crescimento do indivíduo (MARTINS 2016). No entanto, o custo de produção de nanopartículas de prata acaba sendo maior do que as de cobre, tornando esta uma opção mais econômica.

Nos últimos anos, foram desenvolvidas diferentes técnicas de síntese e caracterização de nanopartículas metálicas que possibilitam o controle do tamanho,

distribuição e morfologia. Dentre elas: ablação a laser, redução química, irradiação com micro-ondas, redução térmica, etc. (DAHL; MADDUX; HUTCHISON, 2007).

No presente estudo, nanopartículas de cobre e de prata foram produzidas pelo mecanismo de redução química e tiveram suas eficiências comparadas frente a prevenção de ataques com microrganismos típicos de bambus, fornecidos comercialmente para uso na construção civil. Também foi verificada a capacidade dos fungos em degradar os constituintes estruturais do bambu, como a celulose e a lignina. Para isso, uma suspensão de partículas de cobre (0.05 g/L) foi aplicada sobre a superfície de amostras de bambu mossô (*Phyllostachys pubescens*), e este, colocado em contato com cepas de *Aspergillus niger* e *Aspergillus ruber*. A utilização dessas espécies ocorreu em função de terem sido detectadas no bambu estudado e por serem potencialmente mais danosos. A composição química do bambu foi estudada, antes dos ataques microbiológicos, por extração química de suas fases constituintes visando compreender o principal componente degradado pelos fungos e por análise termogravimétrica (TGA). Uma amostra não tratada, foi utilizada como referência para o máximo do ataque de cada microganismo. Uma amostra tratada com nanopartículas de prata (0.05 g/L) será utilizada como referência comparativa da efetividade do tratamento.

Os resultados de caracterização das nanopartículas produzidas mostraram que as nanopartículas de prata exibiram as características esperadas, porém as de cobre apresentaram diâmetro maior que o desejado. Além disso, não houveram sinais de crescimento fúngico nas amostras estudadas.

Capítulo III – Motivação

Os estudos feitos por Pandoli (2016) e Martins (2016), obtiveram resultados positivos para a aplicação de nanopartículas de prata na prevenção do crescimento fúngico em amostras de bambu. De maneira similar, o presente estudo teve como principal motivação estudar a eficácia de partículas de cobre, em comparação com nanopartículas de prata, no combate ao crescimento fúngico em bambus para emprego como elemento estrutural, no âmbito da construção civil, a fim de se apresentar uma solução de menor custo e maior disponibilidade de matéria prima.

Capítulo IV – Objetivos

O presente estudo teve como objetivo principal avaliar a eficiência de partículas metálicas de cobre aplicadas a superfície do bambu *Phyllostachys Pubescens* (Mossô) frente a ataques microbiológicos para utilização como elemento construtivo.

Objetivos secundários:

- Caracterizar a composição do bambu Mossô quanto a seus constituintes e fungos característicos.
- Produzir e avaliar as nanopartículas a serem utilizadas na pesquisa.
- Acompanhar o crescimento dos fungos nas amostras, bem como avaliar a degradação do bambu.

Capítulo V – Cronograma de Execução de Experimentos

O planejamento experimental foi feito de acordo com o cronograma mostrado na Tabela 1.

CRONOGRAMA DE ATIVIDADES												
	2019						2020					
ATIVIDADES	FEV	MAR	ABR	MAI	JUN	JUL	AGO	SET	OUT	NOV	DEZ	JAN
Revisão Bibliográfica												
Identificação dos Fungos no Bambu												
Caracterização Química do Bambu												
Síntese das Nanopartículas												
Caracterização das Nanopartículas												
Impregnação das Nanopartículas no Bambu												
Ensaios de Biodegradação do Bambu												

Quadro 1: Cronograma das Atividades do Projeto

Capítulo VI – Revisão bibliográfica

VI.1. Ocorrência e Aplicações

Os bambus são plantas gramíneas Poaceae (ou Gramineae), que constituem a subfamília Bambusoideae, que possui cerca de 1300 espécies no mundo (HIDALGO-LÓPEZ, 2003). É considerado um dos materiais mais versáteis presentes na natureza, devido a sua alta resistência a esforços de tração, adequando-se às forças resultantes da incidência do vento sobre a sua estrutura, entre outros motivos. O bambu está naturalmente presente em diversos países do mundo, preferencialmente de clima tropical, como mostra a Figura 1 (Terra, 2007).



Figura 1: Distribuição geográfica de bambus lenhosos (Bambuseae) ao redor do mundo.

Disponível em http://www.eeob.iastate.edu/research/bamboo/maps/world-total-woody.gif, obtida em MANHÃES (2008)

Como observado, as florestas de bambu no mundo estão presentes principalmente em florestas tropicais e zonas climáticas subtropicais na Ásia (67%), Américas (30%) e África (3%) (HIDALGO-LOPEZ, 2003). Em alguns países asiáticos o beneficiamento industrial do bambu se deu por meio da adaptação de tecnologias de processamento de madeiras tradicionais, como é o caso da China, Índia, Tailândia, Malásia e Vietnã (LIN e ZHANG, 2002). O bambu oferece diversos benefícios, dentre eles na esfera econômica: baixo custo, disponibilidade, facilidade de plantio; e em sua produção: leveza, fácil corte, beneficiamento simples, alta resistência. A indústria da construção civil oferece um grande potencial para o uso do bambu como elemento estrutural. O bambu também já vem sendo empregado na fabricação de painéis laminados para piso, teto, parede, e diversos outros produtos que o tornam competitivo com a madeira muitas partes do mundo (WU, 2009).

Um estudo de análise de ciclo de vida (ACV), realizado por Van der Lugt. (2006) mostrou que o bambu, enquanto produto para revestimento, apresenta taxas negativas de emissão de CO₂. Especialmente em regiões quentes e temperadas, é viável a utilização do produto uma vez que não é necessário o transporte do material por longas distâncias. Huang et al. (2018), expõe que as propriedades hidrotérmicas do bambu resultam em uma maior capacidade de armazenamento de calor e resistência à vapor, diminuindo a demanda de refrigeração quando aplicados como material de construção.

De acordo com Lodoño (2001), as Américas se destacam em se tratando da diversidade de espécies de bambus, pois abrigam aproximadamente 41 gêneros e 440 espécies nativas. Dentre os países que constituem a América Latina, o Brasil concentra a maior parte da diversidade, com cerca de 16 gêneros e 137 espécies nativas, seguido da Colômbia (70), Venezuela (60), Equador (42), Costa Rica (39) e México (37). Estima-se que no mundo existam cerca de 22 milhões de hectares de bambu, dos quais aproximadamente 4,5 milhões de hectares situam-se no Acre (Brasil) — cerca de 20% da floresta mundial (EMBRAPA, 2017).

As aplicações para os colmos de bambu são diversas, podem ser usados como elemento estrutural em construções permanentes, como habitações e pontes, mas também em estruturas temporárias como andaimes (JANSSEN, 2000; DELGADO, 2008). A Figura 2 mostra exemplos de aplicações de bambu para este fim.



Figura 2: Aplicações de bambu como elemento estrutural: (a) e (b) habitação (MANHÃES, 2008; DRUMOND, 2017); (c) Andaimes (XU, 2007) e (d) Ponte (COBAM, 2009).

VI.2. Potencial Econômico

O bambu é aplicado em diferentes setores como alimentício, decoração e construção civil, além de ser aproveitado em utilidades domésticas desde a antiguidade. Desta forma, o bambu está diretamente ou indiretamente ligado à geração de renda de muitas famílias e empresas. No Brasil existe uma demanda de madeira maior que a sua produção. Esse fato, aliado à necessidade constante de matérias-primas renováveis, cria um cenário favorável para a ampla utilização do bambu em diferentes setores da economia (DRUMOND, 2017).

Segundo Santi (2015), são produzidas, anualmente no Brasil, em torno de 150 mil toneladas de celulose de bambu, onde a maior parte é designada para a fabricação de sacos para a estocagem e transporte de cimentos. Houve empresas que deram início ao cultivo com o mesmo objetivo, entretanto, o uso do bambu como matéria-prima para a produção de biomassa se mostrou economicamente mais interessante.

Um dos principais aspectos favoráveis para o uso do bambu como material alternativo da construção civil é o seu crescimento acelerado. Em comparação a madeiras convencionais, o bambu, em média alcança seu estado propício para o corte entre 3 e 6 anos, enquanto as madeiras macias e duras atingem esse estágio com, respectivamente, cerca de 10 e 30 anos (ABDUL KHALIL 2012).

VI.3. Composição Química

A composição química da matriz vegetal do bambu é constituída principalmente por celulose (ou α -celulose), hemicelulose e lignina, que são elementos estruturais. Além destes, a matriz vegetal também é constituída por substâncias em menor quantidade como amido, proteínas, pectina, pigmentos, lipídios, ácidos fenólicos e cinzas, que posteriormente serão chamados de extrativos. A composição química do bambu pode variar de acordo com a idade, o conteúdo de celulose, por exemplo, decai ao longo do tempo (ABDUL KHALIL *et al.*, 2012).

A celulose compõe aproximadamente 55% da matriz vegetal (PEREIRA; BERALDO, 2007). Ela é um biopolímero formado por monômeros de β -1,4-D-glicose dispostos em uma cadeia linear, conforme ilustrado na Figura 3.



Figura 3: Estrutura química do polímero de celulose.

Disponível em https://agropos.com.br/celulose/

A hemicelulose também é um biopolímero natural, formado por unidades de monossacarídeos que contém de 5 a 6 carbonos. Os açúcares fundamentais para a composição da hemicelulose são a glicose, xilose, arabinose, galactose e manose. Sua estrutura é composta cadeias ramificadas e amorfas (PENG, 2012) (Figura 4).



Figura 4: A) Estrutura química da hemicelulose. B) Localização da lignina, celulose e hemicelulose na parede celular.

Fontes A - DONATE 2014; B - FERNANDO et al. 2012

A lignina consiste aproximadamente de 25% da matriz vegetal do bambu. Em conjunto com a celulose, e a hemicelulose, ela contribui para a resistência e dureza do bambu. A sua concentração varia com o tipo e função da célula (PEREIRA; BERALDO, 2007). A lignina é uma macromolécula natural heterogênea, composta por anéis fenólicos derivados da polimerização oxidativa de unidades de p-hidroxifenil, guaiacila, siringila (Figura 5). Dependendo da disposição dos monômeros, podem ser gerados três tipos de lignina com estruturas diferentes, sendo todas elas estruturas amorfas e hidrofóbicas, porém com propriedades físicas diferentes (BOERJAN; RALPH; BAUCHER, 2003).



Figura 5: Moléculas precursoras de lignina. A) p-hidroxifenil, B) guaiacila e C) siringila.

Fonte: RAZERA (2006).

VI.4. Biodegradação do bambu

Segundo Mohanan (1997), foram identificados pelo menos 440 fungos potencialmente nocivos ao bambu, danificando desde os rizomas até as sementes. Dentre eles podemos listar alguns gêneros e espécies de fungos que causam doenças especificamente ao bambu mossô (*Phyllostachys edulis*): *Irpex lacteus, Pityriasis versicolor, Pityriasis vaporaria, Pycnoporus coccineus e Tyromyces palustris* (MOHANAN, 1997).

Uma parte das espécies de fungos identificadas provocam apenas doenças superficiais, outros são capazes de causar a degradação de materiais lignocelulósicos do bambu, podendo penetrar na estrutura do colmo e comprometer as propriedades mecânicas de maneira irreversível (TIBURTINO et al., 2015b).

A pesquisa realizada por Tiburtino et al. (2015a), mostrou que bambu *Dendrocalamus giganteus* tratado com soluções preservativas comerciais¹ promoveu uma maior resistência ao fungo *Polyporus fumosus*, conhecido por consumir a hemicelulose e lignina em madeiras, ocasionando perda de massa e redução de suas propriedades mecânicas.

Incorporação de nanopartículas metálicas em tintas já vem sendo estudada como uma solução para inibir o crescimento de fungos em paredes de ambientes internos (BELLOTTI 2015). Pandoli (2016) comprovou em seu estudo a eficácia do uso de nanopartículas de prata na prevenção do crescimento fúngico em bambus prolongando sua durabilidade. Desta maneira, acredita-se que as nanopartículas de prata e de cobre, da mesma forma, possam proteger o bambu contra a degradação a partir de fungos.

VI.5. Nanotecnologia

As nanoestruturas podem ter sua eficiência potencializada de acordo com seu tamanho, facilitando a sua biodisponibilidade ou também através de técnicas de encapsulamento, que provocam a liberação gradual dos ativos. De acordo com a definição de nanomateriais da Comissão Europeia, uma dispersão de nanopartículas deve ter pelo menos 50% das partículas com dimensões entre 1-100 nm, independente se as mesmas

¹ Segundo a Norma Brasileira Regulamentadora – NBR 9480, da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT, 2009), soluções preservativas devem conter 63,5% de cromo (CrO₃), 26,0% de cobre (CuO) e 10,5% de boro (B elemento).

estão aglomeradas ou desacopladas (AMENTA et al., 2015).

As propriedades antimicrobianas das NPs²-Ag já vêm sendo exploradas em diversas áreas de tecnologia. Sua aplicação é observada desde a indústria alimentícia até na confecção de materiais odontológicos (ANTUNES et al., 2013). A prata em nanopartículas possui efeito inibidor em diferentes microrganismos, sendo eles bactérias Gram-positivas e Gram-negativas e fungos (PETICA et al., 2008).

Segundo a literatura, o efeito bactericida das nanopartículas de prata é determinado pela sua geometria, tamanho e concentração, demonstrando uma maior eficácia em formado esférico, com diâmetros pequenos e mais concentradas (AGNIHOTRI; MUKHERJI; MUKHERJI, 2014; PULIT et al., 2013).

Acredita-se que as nanopartículas de prata atuem acelerando a degradação oxidativa da membrana celular, interferindo no mecanismo de divisão celular em fungos, e também inibindo a replicação de DNA. Além disso, as nanopartículas possuem afinidade pelo fósforo e enxofre existentes no meio intracelular, podendo afetar em outros processos (KIM et al., 2012). Em um outro trabalho, foi observada a diminuição do desenvolvimento e germinação de esporos, reduzindo o crescimento do micélio do fungo *Fusarium culmorum* (KASPROWICZ; KOZIOŁ; GORCZYCA, 2010).

Apesar destes mecanismos não serem bem definidos, estudos mostram resultados bastante satisfatórios sobre o efeito antifúngico das NPs-Ag (PINTO et al., 2013). Pesquisas realizadas na Coréia revelaram seu potencial inibidor contra o fungo *Raffaelea sp.*, principal responsável pelas doenças ocorridas nos carvalhos, sendo cogitado o tratamento desses vegetais com as dispersões de NPs-Ag, objetivando inibir ou até mesmo reverter as doenças fúngicas. Além disso, o mesmo grupo avaliou o desempenho das NPs contra fungos atacantes de frutas e legumes, obtendo excelentes resultados neste trabalho também (KIM et al., 2009, 2012).

Uma questão importante a ser observada no emprego das NPs contra microorganismos em geral é a presença de agentes estabilizantes na dispersão e qual sua natureza química, pois estes podem ser carregados ou não, e podem auxiliar na cinética da liberação do agente antimicrobiano e ainda potencializar seu efeito (CLOUTIER; MANTOVANI; ROSEI, 2015).

VI.7. Síntese e Caracterização das Nanopartículas

² NPs - Nanopartículas

Nos últimos anos, foram desenvolvidas diferentes técnicas de síntese e caracterização de nanopartículas metálicas que possibilitam o controle do tamanho, distribuição e morfologia. Dentre elas: ablação a laser, métodos de redução química, irradiação com micro-ondas, redução térmica, etc. (DAHL; MADDUX; HUTCHISON, 2007).

Uma medida importante para garantir a estabilidade em meios hidrofílicos e hidrofóbicos é a funcionalização da superfície da partícula. (LI, 2015). A síntese de nanopartículas metálicas através da técnica de redução química, é realizada com a adição substâncias ligantes, em sua maioria orgânicas, que são capazes de se adsorver à superfície da nanopartícula, aumentando a carga eletrostática entre elas e impossibilitando que elas se agreguem, de acordo com a Figura 6 (DAHL; MADDUX; HUTCHISON, 2007).



Figura 6: Nanopartículas com superfície funcionalizada.

Fonte: DAHL; MADDUX; HUTCHISON, 2007.

Os ligantes orgânicos são moléculas unitárias ou poliméricas, que podem ser neutras ou carregadas positiva ou negativamente, que agem reduzindo a interatividade entre as nanopartículas, promovendo mais estabilidade à dispersão coloidal (DAHL; MADDUX; HUTCHISON, 2007). Os ligantes também têm a capacidade de atuar como "modeladores" da estrutura do material, levando ao desenvolvimento de uma forma geométrica desejada às nanopartículas (LI, 2015).

Existe um grande número de instrumentos comerciais e métodos analíticos para aferição do diâmetro de partículas (KATO, 2009). No presente trabalho, as análises de tamanho das partículas foram feitas pela metodologia de espalhamento de luz dinâmico, que usa o mecanismo de espalhamento da luz de feixe de laser para determinar o raio hidrodinâmico das nanopartículas. Para a execução da técnica as partículas devem estar em uma fase líquida e é recomendado usar uma solução bastante diluída (TAKAHASHI et al., 2008). Esse método vem sido amplamente utilizado para avaliação de tamanho de partícula em testes de toxicidade (KATO, 2009).

A teoria de Mie (WRIEDT, 2012) define o espectro de extinção como o conjunto dos fenômenos de absorção e espalhamento da radiação eletromagnética pelas partículas de uma dispersão coloidal de partículas esféricas. Os elétrons livres existentes na superfície metálica da nanopartícula comportam-se como plasmons superficiais, que oscilam com frequências específicas em função do tamanho das partículas, conforme representado na Figura 7.



Figura 7: Ilustração representativa do fenômeno LSPR (Localized Surface Plasmon Resonance).

Sempre que uma radiação eletromagnética do espectro visível (360- 800nm) atinge a superfície uma partícula de tamanho menor que o comprimento de onda da luz incidente, a radiação entra em ressonância com a oscilação do plasmons superficiais, ocasionando o fenômeno de ressonância localizado de plasmons de superfície (LSPR - Localized Surface Plasmon Resonance) (DESAI et al., 2012). Se a banda de extinção LSPR, caracterizada como o pico no espectro visível, possui elevado comprimento de onda (λ), isso está relacionado com partículas de diâmetros maiores, da mesma forma que, uma banda de extinção com comprimento de onda baixo (λ) está relacionado a partículas com diâmetros menores (AGNIHOTRI; MUKHERJI; MUKHERJI, 2014).

Capítulo VII – Metodologia

VII.1 Metodologia para Caracterização do Bambu

VII.1.1 Identificação dos Fungos presentes no Bambu VII.1.1.1 Metodologia de Preparo do Meio de Cultura

Para esta etapa de caracterização, o bambu foi moído em um moinho de facas com peneira de malha 4 mm e agitação mecânica por 10 minutos. Uma parte do bambu moído foi encaminhada para a Fiocruz para identificação dos fungos presentes no material. O procedimento de identificação taxonômica e produção dos inóculos de fungos filamentosos usados nos projetos foram executadas no Laboratório de Taxonomia, Bioquímica e Bioprospecção de Fungos do Instituto Oswaldo Cruz (LTBBF/IOC/Fiocruz), no Rio de Janeiro. A parte restante do bambu moído foi usada para a caracterização dos constituintes do bambu.

Primeiramente, foi preparado o meio de cultura Ágar Extrato de Malte (MEA), dissolvido em água deionizada aquecida e homogeneizado com agitador magnético, até apresentar aparência translúcida e em seguida esterilizado a 121 °C / 15 min. Para tornar o meio de cultura seletivo, uma solução alcoólica (10,0 mL) contendo 0,05g do antibiótico cloranfenicol foi adicionado ao MEA (a 60 °C) para impedir o crescimento de bactérias e consequentemente afetar o crescimento fúngico.

Depois disso, as amostras de bambu moído foram semeadas em placas de Petri, contendo o meio de cultura de Malte Ágar acrescido de cloranfenicol. As placas de Petri já inoculadas foram incubadas em estufa à 25 ± 2 °C. A cada 7 dias, por um período máximo de 21 dias, as placas de Petri foram examinadas para realizar a contagem das colônias fúngicas. No entanto, logo na primeira análise de 7 dias de incubação, as placas de Petri apresentaram uma elevada concentração de colônias com aspecto de fungo, o que impossibilitou o isolamento das colônias.

Para obter colônias fúngicas devidamente isoladas, foi adotada a técnica da diluição seriada, e os procedimentos, descritos a seguir, foram realizados em uma câmara de fluxo laminar. Inicialmente, os fungos crescidos da placa de Petri foram retirados e transferidos para um tubo de ensaio (tubo 1) contendo 10,0 mL de solução salina 0,85% (p/v) estéril e homogeneizado em agitação vortex por 20 segundos. A diluição seriada foi realizada sequencialmente utilizando 5 tubos. Do tubo de ensaio inicial (tubo 1) foi retirado 1,0 mL e transferido para o tubo 2 contendo 9,0 mL de solução salina 0,85% (p/v) estéril, e assim

sucessivamente até o tubo 5. Com o auxílio de uma pipeta, foram retirados 0,2 mL de cada um dos tubos de ensaio e transferidos para as placas de Petri, em quintuplicata, contendo o meio de cultura, seguido pelo espalhamento na superfície (*spread plate*) com o auxílio de uma alça de Drigalsky. As placas de Petri foram seladas, e incubadas em estufa ($25 \pm 2 \, ^{\circ}$ C) até a observação do crescimento das colônias fúngicas. A identificação dos fungos, em nível de gênero foi realizada de acordo com os autores BARNETT e HUNTER (1972), DE HOOG e GUARRO (1995), ELLIS (1971), MCGINNIS (1980).

VII.1.1.2 Metodologia de Identificação dos Fungos

A técnica de cultura em lâmina ou microcultivo (RIVALIER e SEYDEL, 1932) foi utilizada para avaliação das características microscópicas. Os procedimentos foram realizados em uma câmara de fluxo laminar. Em uma placa de Petri com papel filtro disposto ao fundo, foram posicionados acima dele um bastão de vidro em "U", duas lâminas e duas lamínulas (kit de cultura em lâmina). Com o auxílio de um bisturi, foi cortado um fragmento do meio de cultura (Difco) em formato de um quadrado (± 0.5 cm²) adequado para cada gênero e posicionado em cima da lâmina. Do meio de cultura, nos quatro lados do quadrado, o fungo foi inoculado e coberto com uma lamínula. Em seguida, o papel de filtro disposto ao fundo da placa de Petri foi molhado com água destilada estéril (± 2 mL), garantindo a umidade e evitando o ressecamento do meio de cultivo. As placas foram incubadas em estufa (25 ± 2 °C) e o tempo de incubação variou para cada gênero estudado. Com o auxílio de uma pinça estéril, após o período de incubação, a lamínula foi retirada e colocada em uma lâmina limpa, junto com uma gota de corante lactofenol azulalgodão1. Utilizando uma alça de inoculação, o bloco do meio de cultura foi removido e depositado uma gota do corante na região de crescimento, Figura 5.14 (c), finalizando com uma lamínula por cima.

As lâminas foram observadas no microscópio óptico (Zeiss, modelo Axiophot) nas objetivas com aumento de 400x e 1000x. Foram realizadas 50 medições das estruturas de reprodução (conidióforo, métula, vesícula, fiálides e conídios). Para identificação específica, foram observadas algumas características relevantes, tais como a textura, a coloração de conídios, o micélio e reverso, a presença e caracterização de exsudato, pigmentos solúveis. As características estão fundamentadas em dados de literatura (DE HOOG e GUARRO, 1995) (GERLACH e NIRENBERG, 1982) (PITT, 1988) (VISAGIE et al., 2014).

VII.1.2 Metodologia para Caracterização Química do Bambu VII.1.2.1 Metodologia de Remoção dos Extrativos

Para caracterização do bambu foram seguidos os itens 1, 3, 18 e 19 de "Métodos de Análise em Química da Madeira", desenvolvido por Abreu, Carvalho e Oliveira (2006) da UFRRJ para análise química da madeira.

Primeiro, foi realizado o processo de moagem do bambu, como descrito no tópico VII1.1. Após essa etapa, foi realizada a remoção dos extrativos do bambu, que consistiram em 12 horas de extração usando ciclohexano, acetato de etila e metanol, como mostra o esquema representativo da Figura 8. O bambu moído foi colocado em quantidade suficiente em um tubo de extração, onde foi exposta aos solventes em circulação (Figura 9) à 100 °C. Após o procedimento, os solventes foram recuperados utilizando um evaporador rotativo (Figura 10):



Figura 8: Esquema representativo para a rota de obtenção do bambu livre de extrativos.

Figura 9: Sistema de extração.

Figura 10: Sistema de evaporação rotativa.

Depois desse procedimento foram realizados ensaios específicos para a separação das principais fases: lignina, α-celulose e holocelulose.

VII.1.2.2 Metodologia para isolamento da Lignina Insolúvel de Klason

Uma massa de 300 mg de amostra seca de bambu livre de extrativos foram transferidos para um tubo de ensaio e, lentamente, foram adicionados 3 ml de uma solução de 72% de ácido sulfúrico. A amostra foi homogeneizada por agitação contínua durante 1 minuto e foi mantida entre 25 e 30 °C por uma hora. Após essa etapa, o material foi transferido para um balão de 250 ml, onde a solução de ácido sulfúrico foi diluída com 84 ml de água destilada. O material foi colocado em refluxo por 4 horas e depois em repouso para a sedimentação do resíduo. A solução foi filtrada a vácuo e lavada com 500 ml de água. Por fim, a amostra foi seca em estufa à 105° C e, em seguida, em dessecador até estabilização de massa, como mostra o esquema representativo da Figura 11, obtendo enfim a lignina isolada (Figura 12).

Figura 11: Esquema representativo para a rota de isolamento da Lignina.

Figura 12: Lignina Isolada.

O teor de lignina é determinado com base na seguinte equação a seguir.

$$L_i = \frac{m_1}{m_2} \times 100$$

Onde:

 L_i = Teor de Lignina (%) m_1 = massa de bambu sem extrativos seco (g)

 $m_2 = massa de lignina isolada (g)$

VII.1.2.3 Metodologia para determinação de Holocelulose por Cloração

Em um Erlenmeyer de 250 ml pesou-se 2,5 g de amostra seca de bambu livre de extrativos, adicionou-se 8 ml de água destilada quente, 0,5 ml de ácido acético e 1 g de clorito de sódio. A mistura foi aquecida em um banho-maria a 70 °C e após 60 minutos adicionou-se novamente 0,5 ml de ácido acético e 1 g de clorito de sódio. Após sucessivas horas, deve-se readicionar 0,5 ml de ácido acético e 1 g de clorito de sódio até que as fibras se mostrem completamente separadas. Essa etapa necessitou de 6 horas de cloração, portanto 6 adições de ácido acético e clorito de sódio.

Após esse período, a amostra foi mantida em repouso por 24 horas. Depois de frio, o material foi filtrado a vácuo e lavado com água destilada até a cor amarelada e o odor de cloro desaparecer completamente. Por fim, um volume pequeno de acetona foi adicionado para que o material pudesse ser finalmente seco em estufa a 105 °C por 24 horas, como mostra o Esquema Representativo da Figura 13, obtendo-se assim a holocelulose isolada (Figura 14).

Figura 13: Esquema representativo para a rota de obtenção da Holocelulose Isolada.

Figura 14: Holocelulose Isolada.

O teor de holocelulose é determinado com base na seguinte equação a seguir.

$$H_o = \frac{m_1}{m_2} \times 100$$

Onde:

 H_o = Teor de Holocelulose (%)

 m_1 = massa de bambu sem extrativos seco (g)

 m_2 = massa de holocelulose isolada (g)

VII.1.2.4 Metodologia de determinação de α-celulose

Em um Becker de 250 mL pesou-se aproximadamente 2,0 g de holocelulose seca seguido da adição de 10 mL de uma solução de 17,5% de NaOH, sendo o Becker coberto com um vidro de relógio, mantendo a mistura a 20 °C em um banho-maria. Após 2 minutos, com o auxílio de um bastão de vidro, o material foi macerado até que todas as partículas estivessem totalmente separadas (Figura 15).

Figura 15: Processo de obtenção da α-celulose.

Após 5 minutos adicionou-se mais 5 ml da solução de NaOH e agitou-se vigorosamente com o bastão de vidro até que o material estivesse todo dissolvido. A mistura foi mantida a 20°C por 30 minutos e por fim, adicionou-se 33 ml de água destilada à mesma temperatura. O material contido no bécher foi colocado sob agitação por 1 horas e então foi filtrado a vácuo. O material foi lavado com 100 ml de NaOH 8,3% e com água destilada. Por fim, foi colocado mais 15 ml de ácido acético 10% e após 3 minutos foi utilizado vácuo para retirar a solução. Após essa etapa, o material foi lavado com água destilada até que o cheiro de ácido acético desaparecesse completamente e então foi levado para secar em estufa durante 24 horas, como mostra o Esquema Representativo da Figura 16, obtendo-se assim a α -celulose isolada (Figura 17).

Figura 16: Esquema representativo para a rota de obtenção da α -celulose isolada.

Figura 17: α-celulose isolada.

O teor de α -celulose é determinado com base na seguinte equação a seguir.

$$C_{\alpha} = \frac{m_1}{m_2} \times 100$$

Onde:

 C_{α} = Teor de α -celulose (%)

 m_1 = massa de bambu sem extrativos seco (g)

 m_2 = massa de α -celulose isolada (g)

A determinação do teor de hemicelulose foi feita a partir da diferença entre os percentuais de holocelulose e α -celulose, obtidos anteriormente.

VII.1.3 Metodologia para Caracterização por TGA dos Constituintes do Bambu

Ensaios termogravimétricos foram realizados em um equipamento SDT Q600 da empresa TA instruments. O procedimento foi realizado para o bambu puro e seus três microconstituintes isolados.

Uma quantidade de aproximadamente 10 mg de amostra foi depositada na bandeja de platina do equipamento para realização da análise. As análises tiveram taxa de aquecimento de 10 °C/min até a temperatura máxima de 1000 °C, sob fluxo de ar sintético de 100 ml/min.

VII.2 Metodologia da Síntese de Nanopartículas

VII.2.1 Nanopartículas de Prata

Foi preparada uma solução 0,3% m de PVA. Em seguida, preparou-se uma solução de 2,0 x 10^{-3} M de borohidreto de sódio. Então, adicionou-se 6 gotas da solução de PVA à solução de borohidreto. Preparou-se uma solução de 1,0 x 10^{-3} M de nitrato de prata. Por fim, foi misturado 15 mL dessa solução aos 45 ml da solução anterior de borohidreto, sob agitação, por 30 minutos, como mostra o Esquema Representativo da Figura 18. Ao final, foi obtido aproximadamente 60 mL de dispersão de nanopartículas de prata (Figura 19).

Figura 18: Esquema representativo para a rota de obtenção das Nanopartículas de Prata.

Figura 19: Nanopartículas de Prata.

VII.2.2 Partículas de Cobre

A princípio, buscou-se preparar nanopartículas de cobre, no entanto, como poderá ser visto ao longo deste tópico, as diversas rotas, e tentativas de ressuspensão, utilizadas não se mantiveram estáveis. A rota final produziu partículas estáveis, no entanto, foi verificado, após os resultados de caracterização, que estas não abarcaram tamanhos de partículas na escala nano. Visando otimizar o restante do tempo de projeto, optou-se por trabalhar com estas partículas maiores que, caso funcionassem, diminuiria ainda mais os custos de produção, além de ser uma fronteira de tamanho de partículas ainda não explorada para o fim de contenção fúngica na literatura de partículas metálicas. Além disso, oferecem menores riscos de contaminação humana que as nanopartículas

potencialmente carregam. Veja a seguir as rotas tentativas de produção das nanopartículas de cobre.

Foi preparado 50 ml de uma solução de 0,02 M de Ácido Ascórbico. A essa solução foi misturado 50 ml de uma solução de 0,01 M de Sulfato de Cobre Pentahidratado sob agitação vigorosa. Depois foi adicionado, gota a gota, de uma solução 1 M de NaOH até atingir pH 10 (Medidos com fita de pH). Utilizou-se aproximadamente 80 gotas. A mistura foi mantida sob agitação por 30 minutos. Após, foi adicionado 50 ml de uma solução 0,1 M de Borohidreto de Sódio e agitado por mais 15 minutos, como mostra o Esquema Representativo da Figura 20.

Figura 20: Esquema representativo para a rota de obtenção das Nanopartículas de Cobre.

As nanopartículas do cobre apresentaram pouca estabilidade e em menos de 24 horas decantaram no fundo do recipiente de armazenamento. Algumas técnicas de ressuspensão foram testadas: ultrassom e agitação mecânica de alta rotação. A ressuspensão por agitação mecânica de alta rotação foi feita usando o equipamento Dispermat® (Figura 21) em rotação de 7.000 rpm por 20, 40 e 60 minutos. Foram

utilizados os mesmos tempos para os testes de ressuspensão via ultrassom, porém, ainda assim as partículas não apresentaram as características desejadas.

Figura 21: Equipamento Dispermat®.

Como alternativa para estabilização das nanopartículas de cobre, foi testada a adição de ácido lático (Figura 22) concentrado até a virada de pH ao final da produção das nanopartículas de Cobre, com o objetivo que as moléculas de ácido lático se aderissem à superfície das nanopartículas, mantendo-as em suspensão.

Figura 22: Representação em Bastão da Molécula de Ácido Lático.

Além disso, também buscou-se aumentar a viscosidade da solução com a adição de Acetato de Polivinila (PVA) na solução. Foram feitos dois testes, no primeiro foram adicionadas dez gotas de uma solução de 0,3% de PVA na última etapa de agitação da produção de nanopartículas de cobre, no segundo teste foram adicionadas 10 gostas de 0,6% de PVA. Apenas a dispersão com adição de PVA 0,6% foi suficientemente eficaz para manter a estabilidade das nanopartículas.

VII.2.3 Metodologia de Caracterização das Nanopartículas

O diâmetro hidrodinâmico médio e a distribuição de tamanho de partícula (PdI) em suspensão aquosa foram analisados por Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS) usando um aparelho Nano S90 da Zetasizer®.

Os nanosistemas foram diluídos na proporção de 1:100 em água e agitados em vórtex por 1 minuto. O equipamento realiza 10 análises "scan" em cada amostra inserida, para a determinação dos parâmetros de raio hidrodinâmico médio e índice de polidispersão.

VII.3 Metodologia dos Ensaios de Impregnação

Para a impregnação das amostras de bambu, estas foram imersas nas respectivas soluções de nanopartículas sob agitação manual por 10 segundos (Figura 23). As amostras secaram em temperatura ambiente dentro de uma capela.

Figura 23: Bambu em imersão na dispersão de Nanopartículas.

VII.4 Metodologia do Teste de Biodegradação

Foram preparados 314 corpos de prova de dimensões 2 cm x 2 cm usando toda a espessura do bambu. Para o cálculo da quantidade de corpos de prova foi considerada a realização de 3 tipos de ensaio, todos em duplicata, para o estudo: Microscopia Eletrônica por Varredura (MEV), Análise Termogravimétrica (TGA) e Absorção de Água. Foi considerado também o estudo de 6 idades, fazendo as análises de 2 em 2 semanas ao longo de 3 meses. Sendo assim, a distribuição das amostras foi feita conforme a tabela a seguir (Tabela 2).

	Sem Impregnação	Cu	Ag
Controle	26	36	36
Aspergillus ruber	36	36	36
Aspergillus niger	36	36	36
Total de CPs	98	108	108

Tabela 2: Distribuição das amostras para o teste de biodegradação.

A aspersão foi realizada em cada corpo de prova (CP) com 1 borrifada em cada face (externa e interna) desprezando-se as laterais. Sendo assim cada CP foi borrifada duas vezes. A aspersão foi feita à uma distância de 15 cm do corpo de prova, conforme exemplificado na figura (Figura 24).

Figura 244: Exemplo da metodologia de aspersão do fungo.

Para o teste de biodegradação, os corpos de prova foram mantidos em câmara climática (Figura 25) nas condições de $25 \pm 2 \circ C$ e 75% de umidade relativa, equivalente às condições climáticas médias de regiões tropicais

Figura 25: Câmara climática.

Capítulo VIII – Resultados

VIII.1 Resultados da Caracterização do Bambu

VIII.1.1 Resultados da Identificação dos Fungos

Na etapa de identificação dos fungos, foi encontrado presente apenas a espécie *Aspergillus ruber*. Entretanto, o fungo *Aspergillus niger* foi selecionado para os ensaios de biodegradação por ser considerado um fungo endêmico de madeiras e materiais lignocelulósicos e que tem o crescimento favorável em temperatura de clima tropical (VERDIER et al., 2014).

VIII.1.2 Resultados da Caracterização Química dos Constituintes do Bambu

Os resultados da composição química da espécie de bambu utilizado neste trabalho estão apresentados na Tabela 3. Observando os resultados nota-se que o bambu apresenta cerca de 33,7% de lignina, 41,6% de α -celulose, 13,9% de hemicelulose e 10,7% de extrativos. Estudos realizados por GOMES (2019) e ANDREOLA (2021) utilizando bambus da mesma espécie e o mesmo método de caracterização reportam valores lignina entre 29 e 30% e teores de extrativos variando entre 2 e 7%. Os autores destacam que a

composição química depende da idade do colmo e isso pode explicar as diferenças entre os resultados obtidos no presente estudo e os reportados na literatura.

Tabela 3: Composição química do bambu mossô					
Lignina		α-celulose	Hemicelulose	Extrativos	
% médio	33,73 (±0,30)	42,65 (±0,40)	15,11 (±0,40)	8,51 (± 0,90)	

Quadro 2: Composição química do bambu mossô

A Tabela 3 mostra que o teor de hemicelulose é igual a 15,11%, é menor do que o encontrado por GOMES (2019) e ANDREOLA (2021), 24,53% e 21% respectivamente. A porcentagem de α -celulose encontrada nas amostras de holocelulose (75%) é maior que os valores médios encontrados na literatura para o bambu (em torno de 60%), essas variações podem estar relacionadas a problemas na moagem do bambu que resultaram em pedaços grosseiros que não foram totalmente dissolvidos no procedimento de caracterização, como pode ser observado na Figura 17 do tópico VII.1.2.4.

VIII.1.3 Resultados da Caracterização por TGA do Bambu e de seus Constituintes

O resultado das análises termogravimétricas para os constituintes do bambu isolados pode ser observado nas Figuras 27 a 29. A quantidade de amostras utilizadas para análise de cada constituinte dependeu da disponibilidade de material. A curva de degradação térmica da α -celulose (Figura 26) indica perdas de massa significativas em duas faixas de temperatura: 280-350 °C e 400-490 °C. A análise foi feita para duas amostras, a amostra 1 foi representada por linhas verdes e a amostra 2 foi representada por

linhas vermelhas, as curvas superiores representam a perda percentual de massa e as curvas inferiores representam a variação da perda de massa por minuto. A mesma configuração gráfica e esquemática de cores foi usada para as outras amostras.

Figura 26: Curva TGA/DrTGA - α-celulose

A curva de degradação térmica da holocelulose (Figura 27) foi elaborada com apenas 1 amostra, e também mostra perdas de massa significativas em duas faixas de temperatura: 260-340°C e 390-415°C. As curvas da α -celulose e da holocelulose terem características parecidas é corroborado pelo fato de que a holocelulose é o complexo formado pela α -celulose e a hemicelulose, sendo a segunda, incapaz de ser isolada.

Figura 27: Curva TGA/DrTGA – Holocelulose

A curva de degradação térmica da lignina (Figura 28) foi calculada para 3 amostras, e não apresenta nenhum pico significativo de perda de massa, mas sim uma degradação gradual entre 300 e 530°C. Entretanto, é possível observar uma perda de massa mais acentuada entre as temperaturas 280-340°C e 480-580°C.

Figura 28: Curva TGA/DrTGA - Lignina

A curva de degradação térmica do bambu (Figura 29) foi calculada para 3 amostras, e apresenta dois picos significativo de perda de massa em 270-350°C e 450-515°C. Faixa de temperatura referente aos picos de degradação são equivalentes à temperatura de degradação dos constituintes isolados.

Figura 29: Curva TGA/DrTGA - Bambu

A elaboração destas curvas poderá nortear estudos futuros, facilitando a identificação de quais microconstituintes do bambu são degradados preferencialmente a partir de qualquer microrganismo.

VIII.2 Resultados da Produção de Nanopartículas

VIII.2.1 Nanopartículas de Prata

Conforme observado na Figura 30, as nanopartículas de Prata apresentaram banda de absorção em torno de 400 nm, indicando formação de partículas em escala nanométrica. Valores próximos a este também foram encontrados por Martins (2016), em um estudo de avaliação das propriedades antifúngicas de diferentes NPs-Ag.

Figura 30: Espectro de extinção das nanopartículas de prata

Utilizando o equipamento Nano S90 da Zetasizer®, pode-se obter a distribuição de tamanho das partículas e também o índice de polidispersão (PdI) (Figura 31), que sugere a homogeneidade da distribuição dos tamanhos das partículas do sistema e quanto menor o valor obtido, maior o grau de homogeneidade da amostra (NEMEN; LEMOS-SENNA, 2011). Para a dispersão de Nanopartículas de prata foi encontrado PdI de 0,7 e um diâmetro médio de partícula de 73,75 nm.

Figura 31: Distribuição de tamanho das nanopartículas de prata.

VIII.2.2 Nanopartícula de Cobre

Foi constatado que a rota utilizada para a produção de nanopartículas de Cobre sem nenhum estabilizante era capaz de produzir tamanhos menores, porém com pouca estabilidade, onde em apenas algumas horas a dispersão já apresentava partículas aglutinadas e decantadas (Figura 32).

Figura 32: Nanopartículas de Cobre decantadas.

A dispersão foi encaminhada para análise logo após a síntese das nanopartículas. Como pode-se observar no histograma de distribuição de tamanho (Figura 33), uma parte das partículas possui diâmetros próximos a 100 nm, variando até 200 nm, o que já foge um pouco da escala nanométrica para a classificação como nanopartículas, e uma outra parte possui diâmetro na escala de micrômetros, que se acredita que são aglomerados de nanopartículas que vieram a decantar. Com isso foram encontrados dois valores médios de partícula: 175 e 900 nm. Por conta destas características, é possível observar um PdI bastante elevado, com valor de 2,4, quando comparado com o das nanopartículas de prata, de valor 0,7. Isto representa um aumento de aproximadamente 243%.

Figura 33: Distribuição de tamanho das nanopartículas de cobre sem estabilizante.

Como tentativa de ressuspender as nanopartículas de cobre sem estabilizante, foram aplicadas duas técnicas: sonicação e agitação mecânica de alta rotação (Dispermat®). Ambos os procedimentos foram realizados em três diferentes tempos: 20, 40 e 60 minutos. As duas técnicas apresentaram resultados insatisfatórios para a distribuição de tamanho das partículas, pois não foram capazes de gerar partículas de tamanhos aceitáveis e nem uma dispersão estável.

Resultados para a ressuspensão por sonicação:

A sonicação das amostras de nanopartículas de cobre não foi capaz de ressuspender as partículas e nem de desaglutinar os conglomerados formados. Como podemos observar nas distribuições de tamanho expostas nas Figuras 34, 35 e 36, não houve uma variação significativa no diâmetro das partículas e nem do PdI em função do tempo.

Figura 34: Distribuição de tamanho das nanopartículas após 20 minutos de ultrassom.

Figura 35: Distribuição de tamanho das nanopartículas após 40 minutos de ultrassom.

Figura 36: Distribuição de tamanho das nanopartículas após 60 minutos de ultrassom.

A amostra que ficou sob ultrassom por 20 minutos apresentou 1,4 de PdI e diâmetro médio de 620 nm. A amostra que ficou sob ultrassom por 40 minutos apresentou 1,4 de PdI e diâmetro médio de 610 nm. A amostra que ficou sob ultrassom por 60 minutos apresentou 1, de PdI e diâmetro médio de 500 nm.

Resultados para a ressuspensão por agitação mecânica de alta rotação:

Como podemos observar nas distribuições de tamanho expostas acima (Figuras 37, 38 e 39), parte das partículas foram desprendidas umas das outras, gerando dois núcleos de distribuição de tamanho. Entretanto, a agitação mecânica das amostras de nanopartículas

de cobre não foi capaz de ressuspender as partículas e nem de desaglutinar totalmente os conglomerados formados, inviabilizando o uso das mesmas.

Figura 37: Distribuição de tamanho das nanopartículas após 20 minutos de agitação.

A amostra que ficou sob agitação por 20 minutos apresentou 2,6 de PdI e diâmetros médios para cada núcleo de distribuição de 230 e 850 nm. A amostra que ficou sob agitação por 40 minutos apresentou 2,5 de PdI e diâmetros médios para cada núcleo de distribuição de 240 e 800 nm. A amostra que ficou sob agitação por 60 minutos apresentou 2,3 de PdI e diâmetros médios para cada núcleo de distribuição de 220 e 700 nm.

Figura 38: Distribuição de tamanho das nanopartículas após 40 minutos de agitação.

Figura 39: Distribuição de tamanho das nanopartículas após 60 minutos de agitação.

Tentativa de produção das nanopartículas de cobre por novas rotas:

A adição de ácido lático na dispersão de nanopartículas também não foi eficaz para manter as nanopartículas em suspensão, visto que elas decantaram rapidamente (Figura 40). Por conta disso, a alternativa foi descartada e as partículas não foram levadas para análise.

Figura 40: Nanopartículas de Cobre com adição de Ácido Lático decantadas.

A adição de solução 0,3% PVA na dispersão de nanopartículas também não foi eficaz para manter as nanopartículas em suspensão, e elas novamente decantaram. Entretanto, a adição de uma solução 0,6% PVA conseguiu manter as nanopartículas de cobre em suspensão, gerando uma dispersão de cor escura (Figura 41).

Figura 41: Suspensão de nanopartículas de cobre com adição de solução de 0,6% PVA.

Analisando o histograma de distribuição de tamanho (Figura 42), podemos observar que as partículas não estão dentro da escala nanométrica definida pelas normas regulamentadoras que regem os aspectos da nanotecnologia. Foi encontrado diâmetro médio de 270 nm e 1,8 PdI. Entretanto, após diversas tentativas, optamos por seguir com esta dispersão para dar continuidade às atividades do projeto.

Figura 42: Distribuição de tamanho das partículas de cobre com adição de solução 0,6% de PVA.

Na Tabela 4, podemos observar todas as distribuições de tamanho de todas as dispersões de nanopartículas analisadas.

	Disco Distribuição do tomonho						
	PICOS	Distribulção	de tamanno	Pai			
Nanopartículas de Prata	1	50 - 10	0,7				
Nanopartículas de Cobre							
Rota direta	2	150 - 200 nm	750-1000 nm	2,4			
Ultrassom 20 min	1	350 - 800 nm		1,4			
Ultrassom 40 min	1	400 - 900 nm		1,4			
Ultrassom 60 min	1	300 - 800 nm		1,3			
Dispermat 20 min	2	150 - 300 nm	600 - 900 nm	2,6			
Dispermat 40 min	2	170 - 350 nm	550 - 900 nm	2,5			
Dispermat 60 min	2	180 - 300 nm	400 - 900 nm	2,3			
0,6% PVA	1	250 - 600 nm		1,8			

Tabela 4: Distribuição de tamanho das nanopartículas e respectivos PdIs

Na análise de espectro UV, as suspensões de cobre obtiveram uma absorção muito pequena. Acredita-se que esse resultado se deve ao fato de as partículas estarem agregadas.

VIII.3 Resultados do Teste de Biodegradação

No teste de biodegradação do bambu, não foi observado o crescimento de fungo em nenhuma das idades e em nenhuma das amostras, incluindo a amostra branca (referência sem nenhuma nanopartícula).

A hipótese levantada para o não crescimento dos fungos é que o bambu adquirido com a empresa passou por um tratamento de pré-cozimento, onde o bambu é fervido em água, o que pode diminuir significativamente a atividade fúngica do bambu, principalmente devido a significativa remoção de amido que esse processo pode causar.

Tal resultado, torna necessário, para as próximas etapas do projeto, a repetição da etapa de biodegradação fazendo uso de um bambu não tratado, para verificar a eficácia das nanopartículas. Espera-se que com essas mudanças, que haja crescimento de fungos na amostra branca e as amostras tratadas com nanopartículas apresentem uma resistência ao crescimento dos microorganismos, comprovando assim a sua eficácia.

Capítulo IX - Conclusões

A partir dos resultados obtidos no presente trabalho, foi possível concluir que:

- O principal fungo presente nas amostras de bambu mossô utilizada neste estudo é da espécie Aspergillus ruber.
- O bambu apresentou 33,73% de lignina em sua composição, 42,65% de αcelulose, 15,11% de hemicelulose e 8,51% de extrativos.
- A análise térmica dos constituintes do bambu mostrou que a α-celulose apresenta perdas de massa significativas em duas temperaturas: 325°C e 450°C, a holocelulose também apresenta perda em duas temperaturas: 313°C e 405°C. Já a curva de degradação térmica da lignina não apresenta nenhum pico significativo de perda de massa, mas sim uma degradação gradual entre 300 e 530°C.
- A rota de síntese de nanopartículas de prata foi capaz de produzir uma dispersão estável e partículas com características de acordo com as normas regulamentadoras para nanotecnologia.
- É necessário o uso de estabilizante para a produção de uma suspensão estável de nanopartículas de cobre.
- Apesar da adição de uma solução de 0,6% PVA tenha sido capaz de manter as partículas de cobre em dispersão, a rota ainda não foi capaz de sintetizar partículas com o diâmetro na escala abaixo de 100 nm.
- Não foi observado crescimento de fungos na superfície dos corpos de prova de bambu, no período avaliado de três meses. Tal demora no crescimento, pode ser atribuído ao tratamento prévio sofrido pelo bambu pela empresa fornecedora.
- É necessário fazer mais testes para comprovar a eficácia das partículas de cobre contra a biodegradação a partir de fungos filamentosos, principalmente, aumentando-se o tempo de exposição do bambu aos fungos.

Capítulo X – Sugestões de trabalhos futuros

Para o estudo do bambu e a utilização de nanopartículas como solução para a biodegradação a partir de fungos filamentosos, são propostas as seguintes sugestões para trabalhos futuros:

- Investigação de novas rotas para a síntese de nanopartículas de cobre.
- Repetir o estudo de biodegradação usando bambu in natura no lugar do bambu seco.
- Avaliação do material biodegradado através de TGA, para identificação do microconstituinte preferencialmente consumido pelos fungos.
- Avaliação do material biodegradado para identificação do microconstituinte estrutural do bambu mossô preferencialmente consumido pelos fungos.

Referências Bibliográficas

KHALIL, HPS Abdul et al. Bamboo fibre reinforced biocomposites: A review. Materials & Design, v. 42, p. 353-368, 2012.

ABREU, H. dos S. et al., Métodos de análise em química da madeira. Floresta e Ambiente, v. 5, p. 1-20, 2006.

AGNIHOTRI, Shekhar; MUKHERJI, Soumyo; MUKHERJI, Suparna. Size-controlled silver nanoparticles synthesized over the range 5–100 nm using the same protocol and their antibacterial efficacy. **Rsc Advances**, v. 4, n. 8, p. 3974-3983, 2014.

AMENTA, Valeria et al. Regulatory aspects of nanotechnology in the agri/feed/food sector in EU and non-EU countries. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 73, n. 1, p. 463-476, 2015.

ANDREOLA, Vanessa. Durabilidade ao intemperismo natural e ao ataque biológico de bio-concretos de bambu, 2021. Tese de Doutorado - Programa de Pós Graduação em Engenharia Civil, COPPE, Universidade Federal do Rio de Janeiro, RJ.

MARIA DE SOUZA ANTUNES, Adelaide et al. Trends in nanotechnology patents applied to the health sector. **Recent Patents on Nanotechnology**, v. 6, n. 1, p. 29-43, 2012.

ANWAR, U. M. K. et al. Effect of curing time on physical and mechanical properties of phenolic-treated bamboo strips. **industrial crops and products**, v. 29, n. 1, p. 214-219, 2009.

ASTM – American Society for Testing and Materials, 2012, *Standard Test Methods for Evaluating Properties of Wood-Base Fiber and Particle Panel Materials: D1037*. Philadelphia, USA.

BARNETT, Horace Leslie et al. Illustrated genera of imperfect fungi. **Illustrated genera** of imperfect fungi., n. 3rd ed, 1972.

BELLOTTI, Natalia et al. Nanoparticles as antifungal additives for indoor water borne paints. **Progress in Organic Coatings**, v. 86, p. 33-40, 2015.

BOERJAN, Wout; RALPH, John; BAUCHER, Marie. Lignin biosynthesis. Annual review of plant biology, v. 54, n. 1, p. 519-546, 2003.

DAHL, Jennifer A.; MADDUX, Bettye LS; HUTCHISON, James E. Toward greener nanosynthesis. **Chemical reviews**, v. 107, n. 6, p. 2228-2269, 2007.

DE HOOG, Gerrit S. et al. Atlas of clinical fungi. Centraalbureau voor Schimmelcultures (CBS), 2000.

DELGADO, Eduardo Salas. Actualidad y futuro de la arquitectura de bambú en Colombia. 2008. Tese de Doutorado. Universitat Politècnica de Catalunya (UPC).

DESAI, Rucha et al. Size distribution of silver nanoparticles: UV-visible spectroscopic assessment. Nanoscience and Nanotechnology letters, v. 4, n. 1, p. 30-34, 2012.

DONG, Xinyi et al. Shape control of silver nanoparticles by stepwise citrate reduction. **The Journal of Physical Chemistry C**, v. 113, n. 16, p. 6573-6576, 2009.

DRUMOND, Patrícia Maria; WIEDMAN, Guilherme. Bambus no Brasil: da biologia à tecnologia. **Embrapa Acre-Livro técnico (INFOTECA-E)**, 2017.

DUNCAN, Timothy V. Applications of nanotechnology in food packaging and food safety: Barrier materials, antimicrobials and sensors. **Journal of colloid and interface** science, v. 363, n. 1, p. 1-24, 2011.

ELLIS, Martin Beazor et al. Dematiaceous hyphomycetes. **Dematiaceous** hyphomycetes., 1971.

HIDALGO LÓPEZ, Oscar. Manual de construcción con bambú. Universidad Nacional de Colombia. Estudios Técnicos Colombianos LTDA-Editores, 1981.

HIDALGO LÓPEZ, Oscar. Bamboo the gifts of the gods. Colômbia, Bogota: D'vinni Ltda, 2003.

HUANG, Zujian; SUN, Yimin; MUSSO, Florian. Assessment of bamboo application in building envelope by comparison with reference timber. **Construction and Building Materials**, v. 156, p. 844-860, 2017.

HUANG, Zujian; SUN, Yimin; MUSSO, Florian. Hygrothermal performance of natural bamboo fiber and bamboo charcoal as local construction infills in building envelope. **Construction and Building Materials**, v. 177, p. 342-357, 2018.

JANSSEN, Jules JA. **Designing and building with bamboo**. Netherlands: International Network for Bamboo and Rattan, 2000.

KATO, Haruhisa et al. Reliable size determination of nanoparticles using dynamic light scattering method for in vitro toxicology assessment. **Toxicology in Vitro**, v. 23, n. 5, p. 927-934, 2009.

KIM, Sang Woo et al. Antifungal effects of silver nanoparticles (AgNPs) against various plant pathogenic fungi. **Mycobiology**, v. 40, n. 1, p. 53-58, 2012.

KRAUSE, João Queiroz et al. On the influence of Dendrocalamus giganteus bamboo microstructure on its mechanical behavior. **Construction and building materials**, v. 127, p. 199-209, 2016.

LIESE, Walter. The anatomy of bamboo culms. Brill, 1998.

MANHÃES, Adriana Pellegrini. Caracterização da cadeia produtiva do bambu no Brasil: abordagem preliminar. 2008.

DOS SANTOS MARTINS, Raquel. Impregnação do Bambu, Dendrocalamus giganteus, com diferentes nanopartículas de prata para prevenir ataques de fungos. 2016. Tese de Doutorado. PUC-Rio.

MOHANAN, C. Diseases of bamboos in Asia: an illustrated manual. BRILL, 2002.

MORAES, Barbra Katyúscya Sanches et al. Otimização de formulação e avaliação preliminar da estabilidade de nanoparticulas poliméricas contendo clozapina. **Anais do Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão**, v. 3, n. 2, 2011.

NEMEN, Daiane; LEMOS-SENNA, Elenara. Preparação e caracterização de suspensões coloidais de nanocarreadores lipídicos contendo resveratrol destinados à administração cutânea. **Química Nova**, v. 34, n. 3, p. 408-413, 2011.

PANDOLI, O. et al. Colloidal silver nanoparticles: an effective nano-filler material to prevent fungal proliferation in bamboo. **RSC advances**, v. 6, n. 100, p. 98325-98336, 2016.

PAYNE, Lukas M. et al. The optical nanosizer-quantitative size and shape analysis of

individual nanoparticles by high-throughput widefield extinction microscopy. **Nanoscale**, v. 12, n. 30, p. 16215-16228, 2020.

PENG, Hong et al. Physicochemical characterization of hemicelluloses from bamboo (Phyllostachys pubescens Mazel) stem. **Industrial Crops and Products**, v. 37, n. 1, p. 41-50, 2012.

PEREIRA, M. A. R.; BERALDO, A. L. **Bambu de corpo e alma**. Bauru, São Paulo: Canal6, 2007.

PETICA, Aurora et al. Colloidal silver solutions with antimicrobial properties. Materials Science and Engineering: B, v. 152, n. 1-3, p. 22-27, 2008.

RAZERA, Ilce Aiko Tanaka. Fibras lignocelulósicas como agente de reforço de compósitos de matriz fenólica e lignofenólica. 2006. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

SANTI, Thais. Bambu para toda obra. O Papel, v. 76, n. 4, p. 23-34, 2015.

TAKAHASHI, Kayori et al. Precise measurement of the size of nanoparticles by dynamic light scattering with uncertainty analysis. **Particle & Particle Systems Characterization**, v. 25, n. 1, p. 31-38, 2008.

TERRA, G.R.A. Aspectos da história de vida de Guadua tagoara (Nees) Kunth (Poaceae: Bambuseae) na Serra dos Órgãos, RJ. 2007..

TIBURTINO, Rogy Frigeri et al. Resistência de duas espécies de bambu tratadas contra fungos xilófagos. **Revista árvore**, v. 39, p. 567-574, 2015a.

TIBURTINO, Rogy Frigeri et al. Tratamento preservativo de duas espécies de bambu por imersão prolongada e Boucherie modificado. **Floresta e Ambiente**, v. 22, p. 124-133, 2015b.

UN – United Nations Environment Programme, 2018, UN Environment homepage, https://www.unenvironment.org/resources/report/global-status-report-2018, last accessed 2020/01/02.

VAN DER LUGT, P.; VAN DEN DOBBELSTEEN, A. A. J. F.; JANSSEN, J. J. A. An

environmental, economic and practical assessment of bamboo as a building material for supporting structures. **Construction and building materials**, v. 20, n. 9, p. 648-656, 2006.

VERDIER, Thomas et al. A review of indoor microbial growth across building materials and sampling and analysis methods. **Building and environment**, v. 80, p. 136-149, 2014.

WRIEDT, Thomas (Ed.). The Mie theory: basics and applications. Springer, 2012.

WU, JunQi et al. Status and trend of international trade of bamboo and rattan commodities. **World Forestry Research**, v. 22, n. 3, p. 69-71, 2009.

XU, Qingfeng et al. Mechanical properties of structural bamboo following immersion in water. **Engineering Structures**, v. 81, p. 230-239, 2014.