

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ

AMANDA ALVES DA CRUZ

**NANOCOMPÓSITO A BASE DE NANOCELULOSE BACTERIANA E NANOTUBO
DE TITANATO FUNCIONALIZADOS ATRAVÉS DA REAÇÃO
MULTICOMPONENTE DE UGI PARA APLICAÇÃO MÉDICA**

DISSERTAÇÃO

CURITIBA

2023

AMANDA ALVES DA CRUZ

**NANOCOMPÓSITO A BASE DE NANOCELULOSE BACTERIANA E NANOTUBO
DE TITANATO FUNCIONALIZADOS ATRAVÉS DA REAÇÃO
MULTICOMPONENTE DE UGI PARA APLICAÇÃO MÉDICA**

**Nanocomposite based on bacterial nanocellulose and titanate nanotube
functionalized through the Ugi multicomponent reaction for medical
application**

Dissertação apresentada como requisito para obtenção do grau de Mestre em Química, do Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR – *Campus* Curitiba. Área de concentração: Química Orgânica.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Cristiane Pilissão
Coorientador: Prof. Dr. Gustavo Henrique Couto

CURITIBA

2023



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Esta licença permite remixe, adaptação e criação a partir do trabalho, para fins não comerciais, desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es) e que licenciem as novas criações sob termos idênticos. Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Campus Curitiba



AMANDA ALVES DA CRUZ

**NANOCOMPÓSITO A BASE DE NANOCELULOSE BACTERIANA E NANOTUBO DE TITANATO
FUNCIONALIZADOS ATRAVÉS DA REAÇÃO MULTICOMPONENTE DE UGI PARA APLICAÇÃO MÉDICA**

Trabalho de pesquisa de mestrado apresentado como requisito para obtenção do título de Mestre Em Química da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR). Área de concentração: Química Orgânica.

Data de aprovação: 20 de Dezembro de 2023

Dra. Cristiane Pilissao, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Dr. Gustavo Henrique Couto, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Dr. Juliana Christina Thomas, Doutorado - Universidade Federal do Rio Grande do Sul (Ufrgs)

Tainara Orlando, - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Documento gerado pelo Sistema Acadêmico da UTFPR a partir dos dados da Ata de Defesa em 19/02/2024.

À minha família,
por todo o amor e apoio!

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por permitir o alcance de todas as conquistas ao longo de minha vida.

Aos meus pais, Ana Maria Pacheco da Cruz e Jusirmar Alves da Cruz, por todo o amor e carinho, os quais mesmo a quilômetros de distância nunca deixaram de estar presentes, me apoiando e incentivando incondicionalmente em todos os momentos ao longo da vida, vocês são meu maior exemplo e inspiração.

Ao meu irmão, Eduardo Alves da Cruz, pelo companheirismo e amizade.

A Julio Volpato da Silva, pelo amor e cumplicidade.

Um agradecimento especial a minha orientadora Cristiane Pilissão e meu coorientador Gustavo Henrique Couto, pela oportunidade e ensinamentos ao longo dessa trajetória, por todo o apoio e paciência com a qual guiaram o meu aprendizado.

Aos meus familiares e amigos, que sempre estão ao meu lado, torcendo em cada uma de minhas conquistas, por me incentivarem e acreditarem na minha capacidade.

A equipe, colegas e amigos do laboratório de Síntese de Compostos Orgânicos e Luminescentes (LSinCOL) e do Laboratório de Pesquisa Relacionada a Biomassa e Bioenergia (LAPREBB) com quem tive o prazer de conviver durante os últimos anos. Agradeço o companheirismo, ajuda e conselhos, principalmente, por todos os momentos de descontração e apoio que me foi concedido, o caminho seria muito mais difícil sem vocês.

As professoras Tainara Orlando, Caroline da Ros Montes Doca e Juliana Christina pelas contribuições realizadas como banca na qualificação e na defesa deste trabalho de mestrado.

A Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR) e ao Programa de Pós-graduação em Química (PPGQ) pela oportunidade e auxílio na realização do mestrado.

A todos os professores e funcionários da UTFPR pela participação na minha formação acadêmica e na minha jornada ao longo desses dois anos.

A todos os técnicos que me ajudaram e ensinaram a realizar as análises necessárias para concluir esse projeto. Em especial, ao técnico Alexandre José Gonçalves e ao Centro Multiusuário de Caracterização de Materiais (CMCM) da

UTFPR pela disponibilidade de realizar inúmeras análises de MEV/EDS e DRX, sempre com uma alegria contagiante.

A Universidade Federal do Paraná (UFPR) pelo auxílio com as análises de MET no Centro de Microscopia Eletrônica (CME-UFPR), as análises de RMN e FTIR no laboratório de Ressonância Magnética Nuclear (LabRMN) e no Laboratório de Espectroscopia de Absorção no Infravermelho, respectivamente.

Ao Central Analítica Multiusuário da Universidade Tecnológica Federal do Paraná Campus Medianeira (CEANMED) pela disponibilidade em me auxiliar com as análises de TGA.

Agradeço imensamente a todas as pessoas que de alguma forma contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho, bem como, para a minha formação pessoal e profissional.

Gostaria de expressar meu sincero agradecimento aos órgãos de fomento, em especial a CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) por todo o apoio e suporte proporcionado, através do projeto o 409292/2021- 4. Sem o valioso respaldo dessas instituições, não teria sido possível realizar este trabalho.

Coragem é fazer uma coisa mesmo estando derrotado antes de começar.
E mesmo assim ir até o fim, apesar de tudo.

- O sol é para todos (Harper Lee)

RESUMO

Com o crescente interesse em nanocompósitos que apresentem propriedades físicas e/ou químicas únicas a partir da combinação otimizada entre materiais orgânicos e inorgânicos, as reações multicomponentes (RMCs) se destacam como uma abordagem promissora, visto que sua síntese é simplificada, com poucas etapas de purificação, elevada eficiência, economia de átomos e reduz a geração de resíduos. Neste contexto, entre as reações multicomponentes, a reação de Ugi, combina até 4 componentes, sendo uma amina, um ácido carboxílico, um isocianeto e um aldeído, destacando-se como uma ferramenta valiosa para a funcionalização de materiais gerando compósitos de alto valor agregado com combinação de propriedades. Neste estudo, utilizamos nanocelulose bacteriana (NCB) e nanotubos de titanato (NtsTi), materiais conhecidos por suas propriedades singulares. A NCB é resistente à tração, biocompatível, apresenta baixa citotoxicidade e elevada área superficial, além de ser amplamente aplicada na área médica, enquanto os NtsTi, têm morfologia nanométrica, resistência mecânica, elevada área superficial, propriedades fotocatalíticas e antimicrobianas, o que os faz serem amplamente utilizados em implantes ósseos. Ambos os materiais possuem grupos hidroxila em suas superfícies, permitindo modificações. Para sintetizar um nanocompósito unindo as propriedades da NCB e do NtsTi, inicialmente foi preparado os NtsTi por meio do método hidrotérmico alcalino seguido da silanização com 3-aminopropiltietoxisilano (APTes). A NCB foi produzida a partir da bactéria *Komagataeibacter Hansenii* e posteriormente oxidada com 2,2,6,6-tetrametil-1-piperinoxilo (TEMPO). Utilizamos a NCB oxidada, juntamente com o NtsTi silanizado, o ciclohexilaisocianeto e o benzaldeído para síntese do nanocompósito NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂/NCB-COOH. Os materiais sintetizados foram caracterizados por MEV, EDS, MET, FTIR, DRX, TGA, RMN ¹³C e avaliado a atividade antimicrobiana contra as bactérias *S. aureus* e *E. coli*. Os NtsTi foram formados com estruturas tubulares com diâmetro de 10,83 nm. Através das técnicas espectroscópicas foi possível confirmar a silanização dos NtsTi com diâmetros de 7,85 nm. A nanocelulose bacteriana foi formada com fibrilas de diâmetro entre 57 a 75 nm, as técnicas espectroscópicas também confirmam a efetiva oxidação da NCB. Através das técnicas espectroscópicas de FTIR e RMN ¹³C foi confirmada a formação do nanocompósito a base de NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂ e NCB-COOH obtido através da reação multicomponente de Ugi. No teste de atividade antimicrobiana do nanocompósito (NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂-NCB) apresentou um halo de inibição de 9 e 15 mm para as bactérias *S. aureus* e *E. coli*, respectivamente, sugerindo que a RMC de Ugi produziu um nanocompósito com propriedades antimicrobianas, aproveitando as características da NCB e dos NtsTi.

Palavras-chaves: Nanocelulose bacteriana; Nanotubo de titanato; Reação Multicomponente de UGI; Funcionalização; Atividade antimicrobiana.

ABSTRACT

With the great interest in nanocomposites that present unique physical and/or chemical properties from the optimized combination of organic and inorganic materials, multicomponent reactions (RMCs) stand out as a promising approach, since their synthesis is simplified, with few purifications steps, high efficiency, atoms saving and reduces waste generation. In this context, the ugi multicomponent reaction combines a primary or secondary amine, a carboxylic acid, an isocyanate and an aldehyde, excelling as a powerful tool for the functionalization of materials, creating compounds with high-value-added and combined properties. For this study, it was used bacterial nanocellulose (BNC) and titanate nanotubes (NtsTi), materials known for their unique properties. BNC is tensile strength, biocompatible, has low cytotoxicity and high surface area, in addition to being widely applied in the medical field, while NtsTi has nanometric morphology, mechanical resistance, high surface area, photocatalytic and antimicrobial properties, which makes them are widely used in bone implants. Both materials have hydroxyl groups on their surfaces, allowing modifications. To synthesize a nanocomposite combining the properties of NtsTi and BNC, NtsTi was initially prepared using the alkaline hydrothermal method followed by silanization with 3-aminopropylthiethoxysilane (APTes). BNC was produced from the bacterium *Komagataeibacter Hansenii* and subsequently oxidized with 2,2,6,6-tetramethyl-1-piperinoxy (TEMPO). It was used an oxidized BNC in the UGI MCR, with silanized NtsTi, cyclohexyl isocyanate and benzaldehyde for the synthesis of the NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂/NCB-COOH nanocomposite. The synthesized materials were characterized by SEM, EDS, TEM, FTIR, XRD, TGA, ¹³C NMR and evaluated the antimicrobial activity against the bacteria *S. aureus* and *E. coli*. NtsTi was formed with tubular structures with a diameter of 10.83 nm. Using spectroscopic techniques, it was possible to confirm the silanization of NtsTi with diameters of 7.85 nm. Bacterial nanocellulose was formed with fibrils with a diameter between 57 and 75 nm, spectroscopic techniques also confirmed the oxidation of NCB. Using FTIR and ¹³C NMR spectroscopic techniques, the formation of the nanocomposite based on NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂ and NCB-COOH obtained through the Ugi multicomponente reaction was confirmed. The results in the antimicrobial activity test showed an inhibition halo of 9 and 15 mm in the bacteria *S. aureus* and *E. coli*, respectively, for the nanocomposite with 200 mg of NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂ and 50 mg of NCB-COOH, indicating that Ugi MCR produced a nanocomposite with antimicrobial properties, taking advantage of the characteristics of BNC and NtsTi.

Keywords: Bacterial nanocellulose; Titanate nanotube; UGI Multicomponent Reaction; Functionalization; Antimicrobial activity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Possíveis estruturas obtidas na formação de compósitos: microcompósito, nanocompósito intercalado e nanocompósito esfoliado.	23
Figura 2. Representação esquemática das reações multicomponentes (RMCs) envolvendo 3-componentes (a) ou 4-componentes (b).....	25
Figura 3. Exemplos de Reações Multicomponentes.....	25
Figura 4. Esquema geral da reação multicomponente de Ugi.	26
Figura 5. Proposta de mecanismo para a reação de Ugi.....	27
Figura 6. Síntese de carboxamida-F-MWCNTs pela reação de Ugi.....	28
Figura 7. Estrutura cristalina do TiO ₂ : (a) anatase; (b) rutilo; e (c) brookita	30
Figura 8. Representação esquemática da síntese dos Nanotubos de titanato (NtsTi) produzidos pela rota hidrotérmica alcalina	32
Figura 9. Representação do mecanismo de silanização dos nanotubos de titanato (NtsTi) (a) Hidrólise do APTes em Silanol; (b) Condensação do silanol com a hidroxila (OH) do nanotubo de titanato e formação do nanotubo de titanato silanizado.	33
Figura 10. Estrutura molecular da nanocelulose	35
Figura 11. Processo de formação das fibrilas e membrana de nanocelulose bacteriana a partir da bactéria <i>Gluconacetobacter</i>	35
Figura 12. Orientação das microfibrilas na estrutura da celulose polimorfa a) I - paralela e b) II - antiparalela.....	37
Figura 13. Estruturas propostas para a celulose I α (triclínica) e I β (monoclínica).	38
Figura 14. Representação das funcionalizações de nanoceluloses.....	41
Figura 15. Reação de Oxidação via TEMPO.	42
Figura 16. Representação de ação da oxidação da nanocelulose bacteriana mediada via TEMPO/NaBr/NaClO	43
Figura 17. Metodologia adotada para obtenção do nanocompósito composto pela nanocelulose bacteriana funcionalizada (NCB-COOH) e nanotubos de titanato silanizados (NTsTi-Si(CH ₂) ₃ NH ₂) através da reação multicomponente de Ugi.....	44
Figura 18. Reação multicomponente de Ugi utilizando nanocelulose bacteriana (NCB-COOH), nanotubos de titanato (NtsTi-Si(CH ₂) ₃ NH ₂), ciclohexilisocianeto e benzaldeído.....	45
Figura 19. Representação esquemática dos procedimentos adotados para a produção da nanocelulose bacteriana (NCB).	46
Figura 20. Representação esquemática dos procedimentos adotados para a purificação e secagem da nanocelulose bacteriana (NCB).....	47
Figura 21. Representação esquemática dos procedimentos adotados para a oxidação da nanocelulose bacteriana (NCB-COOH) via TEMPO.....	48
Figura 22. Representação esquemática dos procedimentos adotados para a síntese dos nanotubos de titanato (NtsTi) pelo método hidrotérmico alcalino.	49

Figura 23. Representação esquemática dos procedimentos adotados para a silanização dos nanotubos de titanato (NtsTi-Si(CH ₂) ₃ NH ₂) via APTes.....	49
Figura 24. Representação esquemática dos procedimentos adotados para a síntese do nanocompósito (NtsTi-Si(CH ₂) ₃ NH ₂ /NCB-COOH) via reação multicomponente de Ugi entre a nanocelulose bacteriana funcionalizada (NCB-COOH) e do nanotubo de titanato silanizado (NtsTi-Si(CH ₂) ₃ NH ₂).	51
Figura 25. Membrana de nanocelulose bacteriana (a) na forma hidrogel após etapa de purificação; (b) na forma de membrana após etapa de secagem em gel dryer.	55
Figura 26. Espectro De FTIR da nanocelulose bacteriana (NCB), linha azul e da nanocelulose bacteriana oxidada (NCB-COOH), linha vermelha.....	56
Figura 27. Difratoograma de Difração de raios-X (DRX) da nanocelulose bacteriana (NCB), linha azul e da nanocelulose bacteriana oxidada (NCB-COOH), linha vermelha	59
Figura 28. Micrografias de Microscopia eletrônica de Varredura (MEV) (a) nanocelulose bacteriana (NCB); (b) nanocelulose bacteriana oxidada (NCB-COOH)	60
Figura 29. Micrografia de Microscopia eletrônica de Transmissão (MET) (a) nanocelulose bacteriana (NCB); (b) nanocelulose bacteriana oxidada (NCB-COOH)	61
Figura 30. Região analisada na espectroscopia de raios-X por dispersão em energia (a) nanocelulose bacteriana (NCB); (b) nanocelulose bacteriana oxidada (NCB-COOH).....	62
Figura 31. Espectro de FTIR. (a) nanotubo de titanato (NtsTi), linha vermelha; (b) nanotubo de titanato funcionalizado com APTes (NtsTi-Si(CH ₂) ₃ NH ₂), linha azul.	63
Figura 32. Difratoograma de Difração de raios-X em pó (DRX) (a) nanotubo de titanato (NtsTi), linha azul e (b) nanotubo de titanato silanizado (NtsTi-Si(CH ₂) ₃ NH ₂), linha vermelha	66
Figura 33. Micrografia de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) (a) nanotubo de titanato (NtsTi) e (b) nanotubo de titanato funcionalizado com APTes (NtsTi-Si(CH ₂) ₃ NH ₂).	67
Figura 34. Imagens de Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) (a) nanotubo de titanato (NtsTi) e (b) nanotubo de titanato funcionalizado com APTes (NtsTi-Si(CH ₂) ₃ NH ₂).	68
Figura 35. Região analisada para o espectro da Espectroscopia de raios-X por dispersão em energia (EDS) (a) nanotubo de titanato (NtsTi) e (b) nanotubo de titanato funcionalizado com APTes (NtsTi-Si(CH ₂) ₃ NH ₂).	69
Figura 36. Reação multicomponente de Ugi utilizando nanocelulose bacteriana (NCB-COOH), nanotubos de titanato (NtsTi-Si(CH ₂) ₃ NH ₂), ciclohexilisocianeto e benzaldeído.....	70
Figura 37. Espectro de FTIR do nanocompósito NtsTi-Si(CH ₂) ₃ NH ₂ /NCB-COOH (linha vermelha), obtido a partir da reação multicomponente de Ugi entre o NtsTi-Si(CH ₂) ₃ NH ₂ , (linha azul) e NCB-COOH (linha rosa).	71

Figura 38. Espectro de Ressonância Magnética Nuclear ¹³ C do nanocompósito NtsTi-Si(CH ₂) ₃ NH ₂ /NCB-COOH	73
Figura 39. Difratoograma de Difração de raios-X (DRX) do nanocompósito NtsTi-Si(CH ₂) ₃ NH ₂ /NCB-COOH (linha azul), obtido a partir da reação multicomponente de Ugi entre o NtsTi-Si(CH ₂) ₃ NH ₂ , (linha vermelha) e NCB-COOH (linha rosa).....	75
Figura 40. Espectro de TGA do nanocompósito NtsTi-Si(CH ₂) ₃ NH ₂ /NCB-COOH (linha preta) o NtsTi-Si(CH ₂) ₃ NH ₂ (linha vermelha) e NCB-COOH (linha azul). 76	
Figura 41. Imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) do nanocompósito obtido a partir da reação multicomponente de Ugi entre o NtsTi-Si(CH ₂) ₃ NH ₂ e NCB-COOH.....	77
Figura 42. Micrografia de Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) do Nanocompósito obtido a partir da reação multicomponente de UGI entre o NtsTi-Si(CH ₂) ₃ NH ₂ e NCB-COOH.....	78
Figura 43. Região analisada para o espectro da Espectroscopia de raios-X por dispersão em energia (EDS) do nanocompósito obtido a partir da reação multicomponente de Ugi entre o NtsTi-Si(CH ₂) ₃ NH ₂ e NCB-COOH.....	79
Figura 44. Atividade antimicrobiana dos nanotubos de titanato (NtsTi) nas bactérias (a) <i>Escherichia coli</i> e (b) <i>Staphylococcus aureus</i>	80
Figura 45. Atividade antimicrobiana dos nanotubos de titanato silanizados (NtsTi-Si(CH ₂) ₃ NH ₂) na bactéria <i>Escherichia coli</i>	80
Figura 46. Atividade antimicrobiana dos nanotubos de titanato silanizados (NtsTi-Si(CH ₂) ₃ NH ₂) na bactéria <i>Staphylococcus aureus</i>	81
Figura 47. Atividade antimicrobiana do nanocompósito NtsTi-Si(CH ₂) ₃ NH ₂ /NCB-COOH na bactéria <i>Escherichia coli</i>	83
Figura 48. Atividade antimicrobiana do nanocompósito NtsTi-Si(CH ₂) ₃ NH ₂ /NCB-COOH na bactéria <i>Staphylococcus aureus</i>	84

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Possíveis aplicações da NCB.....	39
Tabela 2. Relação da concentração do nanotubo de titanato silanizado (NtsTi-Si(CH ₂) ₃ NH ₂) e da nanocelulose bacteriana oxidada (NCB-COOH) na síntese do nanocompósito de Ugi.	50
Tabela 3. Resumo dos espectros de FTIR-ATR na investigação dos grupos funcionais da nanocelulose bacteriana (NCB).....	57
Tabela 4. Resumo dos espectros de FTIR-ATR na investigação dos grupos funcionais da nanocelulose bacteriana oxidada (NCB-COOH).....	58
Tabela 5. Resumo dos espectros de FTIR-KBr na investigação dos grupos funcionais do nanotubo de titanato (NtsTi).....	63
Tabela 6. Resumo dos espectros de FTIR-KBr na investigação dos grupos funcionais do nanotubo de titanato (NtsTi) e o nanotubo de titanato silanizado (NtsTi-Si(CH ₂) ₃ NH ₂).	64
Tabela 7. Resumo dos espectros de FTIR-ATR na investigação dos grupos funcionais do nanocompósito NtsTi-Si(CH ₂) ₃ NH ₂ /NCB-COOH.	72
Tabela 8. Deslocamentos químicos (δ ppm) de Ressonância Magnética Nuclear ¹³ C do nanocompósito (NtsTi-Si(CH ₂) ₃ NH ₂ - NCB-COOH)	74
Tabela 9. Valores de halo de inibição obtidos para a bactéria E. coli.....	81
Tabela 10. Valores de halo de inibição obtidos para a bactéria S. aureus	81
Tabela 11. Relação das proporções de NCB-COOH e NtsTi-Si(CH ₂) ₃ NH ₂ utilizados na síntese do nanocompósito.....	82
Tabela 12. Valores de halo de inibição obtidos para a bactéria E. coli.....	83
Tabela 13. Valores de halo de inibição obtidos para a bactéria S. aureus	84

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

1D	Unidimensional
APTes	3-Aminopropiltriétoxisilano
ATR	Reflexão Total Atenuado
CPMAS	Central Analítica Multiusuário da Universidade Tecnológica Federal do Paraná Campus Medianeira
CMCM	Centro Multiusuário de Caracterizações de Materiais
CME-UFPR	Centro de Microscopia Eletrônica da Universidade Federal do Paraná
DRX	Difratometria de Raios-X
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
EDS	Espectroscopia por Energia Dispersiva
FTIR	Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier
H-S	Hestrin Schramm
LabRMN	Laboratório de Ressonância Magnética Nuclear
LAPREBB	Laboratório de Pesquisa Relacionada a Biomassa e Bioenergia
MET	Microscópio Eletrônico de Transmissão
MEV	Microscópio Eletrônico de Varredura
MWCNTs	Nanotubos de Carbono de Paredes Múltiplas
NCB	Nanocelulose Bacteriana
NCB-COOH	Nanocelulose Bacteriana Oxidada
NtsTi	Nanotubos de Titanato

NtsTi-Si(CH ₂) ₃ NH ₂	Nanotubos de Titanato Silanizados
RMCs	Reação Multicomponente
RMN ¹³ C	Ressonância Magnética Nuclear ¹³ C
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
TEMPO	<i>N</i> -Oxil-2,2,6,6-Tetrametilpiperidina
TGA	Análise Termogravimétrica
UTFPR	Universidade Tecnológica Federal do Paraná
UFPR	Universidade Federal do Paraná

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	18
2	OBJETIVOS	20
2.1	Objetivo Geral	20
2.2	Objetivos Específicos	20
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	21
3.1	Atividade Antimicrobiana	21
3.2	Nanocompósitos	22
3.3	Reações Multicomponentes	24
3.4	Dióxido de Titânio e seus derivados nanométricos	29
3.5	Nanocelulose Bacteriana (NCB)	34
4	METODOLOGIA	44
4.1	Produção da Nanocelulose Bacteriana (NCB)	45
4.1.1	Microrganismo, inóculo e condições de cultivo	46
4.1.2	Purificação das membranas de nanocelulose bacteriana.....	47
4.1.3	Funcionalização da Nanocelulose Bacteriana via oxidação mediada por TEMPO (NCB-COOH).....	47
4.2	Síntese dos Nanotubos de Titanato (NtsTi)	48
4.2.1	Silanização dos Nanotubos de Titanato com APTes	49
4.3	Reação Multicomponente de Ugi	50
4.4	Caracterização dos materiais sintetizados	51
4.4.1	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) acoplada a Espectroscopia de raios-X por dispersão em energia (EDS)	51
4.4.2	Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)	51
4.4.3	Difração de raios-X em pó (DRX)	52
4.4.4	Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)	53
4.4.5	Análise Termogravimétrica (TGA).....	53
4.4.6	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono (RMN ¹³ C).....	53
4.4.7	Atividade antimicrobiana.....	53
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	55
5.1	Síntese e caracterização da nanocelulose bacteriana (NCB) e da nanocelulose bacteriana funcionalizada com TEMPO (NCB-COOH)	55
5.2	Síntese e caracterização do nanotubos de titanato (NtsTi) e do nanotubos de titanato silanizado com APTes (NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂)	62
5.3	Reação Multicomponente de UGI	70

5.4 Atividade antimicrobiana.....	79
6 CONCLUSÃO.....	86
7 ETAPAS FUTURAS.....	88
REFERÊNCIAS.....	89

1 INTRODUÇÃO

A busca por estruturas estáveis e com suas propriedades intrínsecas aprimoradas tem elevado o desenvolvimento de nanocompósitos, a fim de obter materiais com aplicações avançadas em diversas áreas, incluindo engenharia e medicina (Rodrigues *et al.*, 2023; Lee *et al.*, 2018).

Os nanocompósitos são materiais formados pela combinação de dois ou mais materiais, no qual um dos materiais possui ao menos uma de suas dimensões na escala nanométrica (Masson e Belino, 2021; Callister e Rethwish, 2019).

A combinação de dois ou mais constituintes distintos, com propriedades físicas e/ou químicas diferentes, resulta em um nanocompósito com características únicas, gerando um desempenho final superior, devido à combinação otimizada de propriedades (Callister e Rethwish, 2019). Nesse sentido, a investigação de sínteses de nanocompósitos torna-se de suma relevância para o desenvolvimento tecnológico e o processo de criação, inovação e aplicação de tecnologias avançadas.

As reações multicomponentes (RMCs) têm sido vistas como uma alternativa para descrição de uma síntese ideal, pelo fato destas reações apresentarem número reduzido de etapas, redução na formação de subprodutos e resíduos, possibilidade de automação, menor número de processos de purificação, e principalmente, a possibilidade de formação de uma ampla variedade de compostos com aplicações tecnológicas e industriais (Melo e Silva, 2016).

Envolvendo três ou mais reagentes em um mesmo meio reacional, as reações multicomponentes são amplamente utilizadas para gerar compostos mais complexos a partir dos materiais de partida simples, conseqüentemente, agregando as propriedades destes ao material final (Rogerio *et al.*, 2016).

Dentre as reações multicomponentes, a reação de Ugi é uma condensação de quatro componentes: ácido carboxílico, amina primária ou secundária, um aldeído e isocianeto, gerando dipeptídeos. Desse modo, as características e estrutura final do composto irão variar conforme os componentes primários utilizados na reação de Ugi (Yazdani *et al.*, 2022; Patil *et al.*, 2016; Afshari e Shaabani, 2018; Ostreng, 2009).

Com isso, as RMCs são um campo emergente da ciência dos materiais que envolve transformações químicas através da funcionalização de superfícies, introduzindo grupos desejados por meio de reações químicas, conferindo características físicas, químicas ou biológicas diferentes daquelas originalmente

encontradas na superfície do material. Essa abordagem permite sua aplicação em diversas áreas, como na indústria farmacêutica, médica, biossensores, tratamento de água e catalisadores (Afshari e Shaabani, 2018).

Estudos apontam como uma área em ascensão dentro das modificações químicas o uso da nanocelulose bacteriana (NCB), bem como, materiais derivados do óxido de titânio (TiO_2), uma vez que a incorporação de metais na matriz de membrana de nanocelulose é interessante devido às propriedades antibactericidas associadas a alguns metais (Fischer, 2017; Yazdani *et al.*, 2022; Reazei *et al.*, 2016.).

Os nanotubos de titanato (NtsTi), derivado do TiO_2 , exibem excelentes propriedades físico-químicas, como elevada área superficial específica, estabilidade química e atividade antimicrobiana (Neta *et al.*, 2020). A partir disso, uma aplicação que tem recebido atenção é o uso desse material em revestimento de implantes ósseos, uma vez que apresenta bons resultados em termos de atividade celular e recuperação óssea (Obando *et al.*, 2019).

A nanocelulose bacteriana (NCB) tem despertado grande interesse na comunidade científica devido a suas propriedades únicas, como elevada área superficial, grau de pureza, e índice de cristalinidade, resistência à tração, metabolicamente inerte, biocompatibilidade, baixa citotoxicidade e capacidade de retenção de água (Farooq *et al.*, 2020). Essas características tornam a NCB altamente visada nos campos médico e farmacêutico, com aplicações que incluem regeneração de tecidos, implantes dentais e de artérias, tratamento de feridas e transplantes de vasos sanguíneos (Thompson *et al.*, 2019).

Dentro desse contexto, este trabalho tem como objetivo sintetizar um nanocompósito à base de nanocelulose bacteriana e nanotubos de titânio através da funcionalização via reação multicomponente de Ugi. A partir disso, avaliar as propriedades antimicrobianas do nanocompósito sintetizado.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Este trabalho tem como objetivo sintetizar um nanocompósito à base de nanocelulose bacteriana funcionalizada (NCB-COOH) e nanotubos de titanato silanizados (NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂) através da reação multicomponente de Ugi.

2.2 Objetivos Específicos

- a) Produzir a nanocelulose bacteriana (NCB) a partir da bactéria *Komagataeibacter hansenii*;
- b) Funcionalizar a nanocelulose por meio da oxidação com o agente oxidante 2,2,6,6-tetrametilpiperidina-1-oxil (TEMPO);
- c) Sintetizar os nanotubos de titanato (NtsTi) pelo método hidrotérmico alcalino;
- d) Funcionalizar os nanotubos de titanato por meio da silanização com 3-aminopropiltriétoxisilano (APTes);
- e) Sintetizar o nanocompósito a base de nanocelulose bacteriana (NCB-COOH) e o nanotubo de titanato silanizado (NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂) através da reação multicomponente de Ugi;
- f) Caracterizar os materiais sintetizados através das técnicas espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), microscopia eletrônica de varredura (MEV), microscopia eletrônica de transmissão (MET), espectroscopia por energia dispersiva (EDS), difração de raios-X (DRX), análise termogravimétrica (TGA), ressonância magnética nuclear ¹³C (RMN ¹³C);
- g) Avaliar a atividade antimicrobiana dos materiais sintetizados frente as cepas *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* como potencial aplicações biomédicas.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Atividade Antimicrobiana

Durante o decorrer da história da humanidade, houve inúmeras ameaças por bactérias e outros microrganismos que causam diversas infecções e doenças relacionadas a patógenos, causando problemas sociais e perdas econômicas (Duan *et al.*, 2022).

Para buscar solucionar as ameaças geradas pelos microrganismos patógenos, incluindo bactérias, fungos e vírus, uma imensa variedade de medicamentos foi desenvolvida com o passar dos anos. No entanto, devido ao uso excessivo dessas substâncias antimicrobianas, novos problemas e riscos à saúde humana surgiram, como as bactérias multirresistentes, por exemplo, *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina e a enterococos resistentes à vancomicina (Duan *et al.*, 2022; Makvandi, *et al.*, 2020; Pitout *et al.*, 2022).

Dentre os patógenos bacterianos mais comuns em humanos, tem-se a *S. aureus*, a qual coloniza de forma assintomática aproximadamente 20% da população em geral, causando uma variedade de doenças agudas e crônicas, incluindo intoxicação alimentar, síndrome de choque tóxico, pneumonia e infecções hospitalares devido a sua versatilidade em adaptar-se rapidamente a mudanças de ambientes (Bleul *et al.*, 2022; Reis *et al.*, 2020).

Da mesma forma, infecções causadas pela bactéria *Escherichia coli* atingem grande parte da população, uma vez que está ligada ao consumo de alimentos ou água contaminados. Sendo considerada uma patogênica extraintestinal, é a causa mais comum de infecções urinárias e de infecções da corrente sanguínea, e principal causadora de sepse, hospitalização e óbitos ao redor do mundo (Reis *et al.*, 2020; Pitout *et al.*, 2022).

Portanto, há o crescente desenvolvimento de materiais antimicrobianos com maior eficiência e multifuncionalidade, os quais incluem moléculas, macromoléculas, polímeros, cerâmicas, metais ou nanocompósitos que contenham propriedades antimicrobianas contra bactérias, fungos e vírus, a fim de superar a problemática das bactérias multirresistentes (Duan *et al.*, 2022; Makvandi, *et al.*, 2020).

3.2 Nanocompósitos

A busca por materiais inovadores que contenham propriedades antimicrobianas surge por meio da manipulação de átomos e moléculas, alterando assim, suas propriedades intrínsecas e obtendo estruturas otimizadas com aplicações avançadas em diversas áreas, incluindo as indústrias médicas e farmacológicas (Rodrigues *et al.*, 2023; Duan *et al.*, 2022).

Fato que tem levado à produção em larga escala de materiais, denominados de nanocompósitos (Lee *et al.*, 2018). Um compósito é produzido pela combinação de dois ou mais constituintes diferentes, com propriedades físicas e/ou químicas distintas entre si, resultando em um material final que possui a combinação otimizada das propriedades (Callister e Rethwish, 2019).

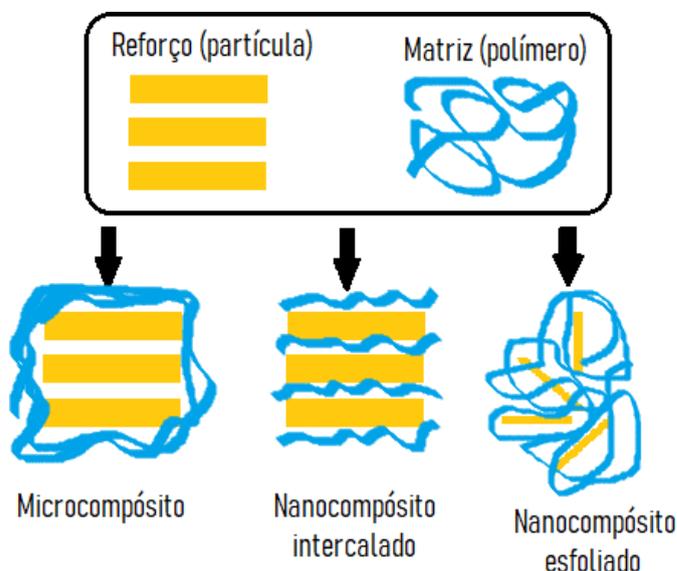
Os nanocompósitos constituem uma classe de materiais formados por híbridos de materiais, entre eles, orgânicos e inorgânicos, por meio da combinação de uma matriz (fase contínua) e uma fase dispersa (não contínua) que tenha ao menos uma de suas dimensões na escala nanométrica, como nanopartículas (zero-dimensional), nanotubos (unidimensional) e nanoplaquetas (bidimensional) (Callister e Rethwish, 2019). Tais materiais são facilmente sintetizados e podem exibir propriedades mecânicas, elétricas, ópticas, dentre outras, aperfeiçoadas quando comparados aos compósitos em que a fase dispersa é formada por macroestruturas (Lee *et al.*, 2018; Ates *et al.*, 2020).

De acordo com as dimensões da fase dispersa, os compósitos podem ser classificados em microcompósito, nanocompósito intercalado e nanocompósito esfoliado (Figura 1) (Ates *et al.*, 2020). Nos microcompósitos, a fase dispersa é composta por estruturas de escala micrométrica, onde a fase dispersa é formada por nanomateriais aglomerados, sem que haja uma intercalação na matriz polimérica, resulta em um compósito com fases distintas (Martins *et al.*, 2022).

Já no nanocompósito intercalado, ocorre uma intercalação entre as cadeias poliméricas e o reforço, propiciando uma dispersão incompleta com regiões de maior ou menor concentração do reforço. Diferentemente do nanocompósito esfoliado, onde o reforço é uniformemente disperso na matriz, logo, para a maioria das aplicações, esse tipo de estrutura é a mais desejada, pois possibilita uma melhor distribuição do reforço na matriz polimérica. Porém, para cada tipo de estrutura

obtida (ou nível de dispersão) as características físicas, mecânicas, ópticas, entre outras, serão distintas nos nanocompósitos resultantes (Martins *et al.*, 2022).

Figura 1. Possíveis estruturas obtidas na formação de compósitos: microcompósito, nanocompósito intercalado e nanocompósito esfoliado.



Fonte: Autoria Própria (2023).

A síntese de nanocompósitos deve promover uma distribuição uniforme do nanomaterial na matriz, assim como uma boa adesão da interface entre os dois componentes, sendo que os principais métodos de síntese, incluem mistura simples dos componentes, polimerização da matriz *in situ*, e síntese das nanopartículas *in situ* (Ates *et al.*, 2020).

O método de mistura simples é um dos mais empregados na síntese de nanocompósitos devido a sua facilidade operacional, uma vez que é realizado pela dispersão das nanoestruturas em solução polimérica seguida da evaporação do solvente, resultando, na formação de uma estrutura intercalada (Martins *et al.*, 2022).

Devido a crescente utilização de nanocompósitos em aplicações em diversos materiais, incluindo plásticos, borracha, revestimentos, adesivos, tem-se a importância da preparação de nanocompósitos com componentes provenientes de recursos biorrenováveis e biodegradáveis, como a celulose e a borracha natural (Ates *et al.*, 2020).

Portanto, diferentes nanocompósitos podem ser produzidos dependendo da natureza dos componentes de matriz e reforço utilizados, assim como do método de

preparação do nanocompósito, que impactam diretamente no tipo de aplicação desejada para o material obtido (Martins *et al.*, 2022). Assim, a investigação de rotas de síntese de nanomateriais torna-se de suma importância para o desenvolvimento dessa área.

3.3 Reações Multicomponentes

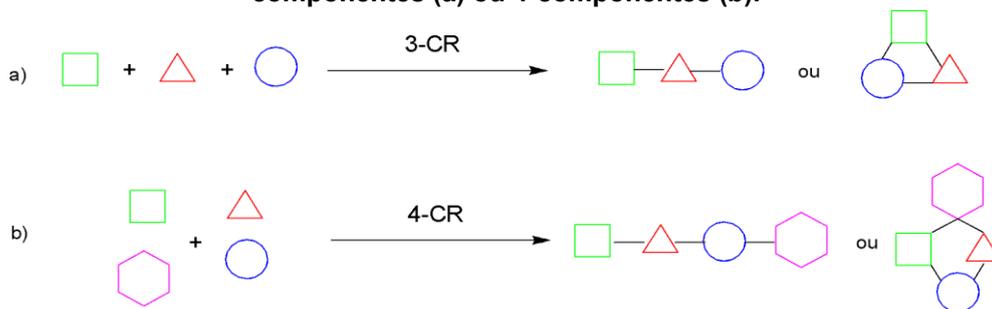
A busca por rotas sintéticas de nanomateriais que apresentem bons rendimentos e pureza do produto final, cuja condições reacionais sejam ambientalmente corretas, e que sigam os princípios da química verde, tem chamado a atenção da comunidade científica (Ingold *et al.*, 2017).

Neste contexto, as reações multicomponentes (RMCs) têm sido vistas como uma alternativa para descrição de uma síntese ideal, visto que apresentam tanto vantagem ambientais como econômicas, as quais incluem um número reduzido de etapas e processos de purificação, uma economia de átomos, além de gerarem menos resíduos, e apresentarem elevada eficiência e facilidade de operacional (Pettignano *et al.*, 2020; Patil *et al.*, 2016).

Além disso, as RMCs são bastante flexíveis e apresentam a possibilidade de formação de uma ampla variedade de compostos, por meio da alteração sistemática de reagentes, produzindo um extenso número de substâncias diversificadas estruturalmente, as quais podem apresentar diferentes propriedades, como atividade biológica ou até mesmo serem modificadas para tal fim (Melo e Silva, 2016; Batalha, 2012).

Uma vez que as reações multicomponentes são processos que envolvem reações sequenciais entre três ou mais reagentes, adicionados ao mesmo tempo à mistura reacional, levando ao produto desejado de maneira convergente, agregando características dos materiais de partida, levando a compostos mais complexos a partir de materiais de partida simples (Rogério *et al.*, 2016), conforme representado na Figura 2.

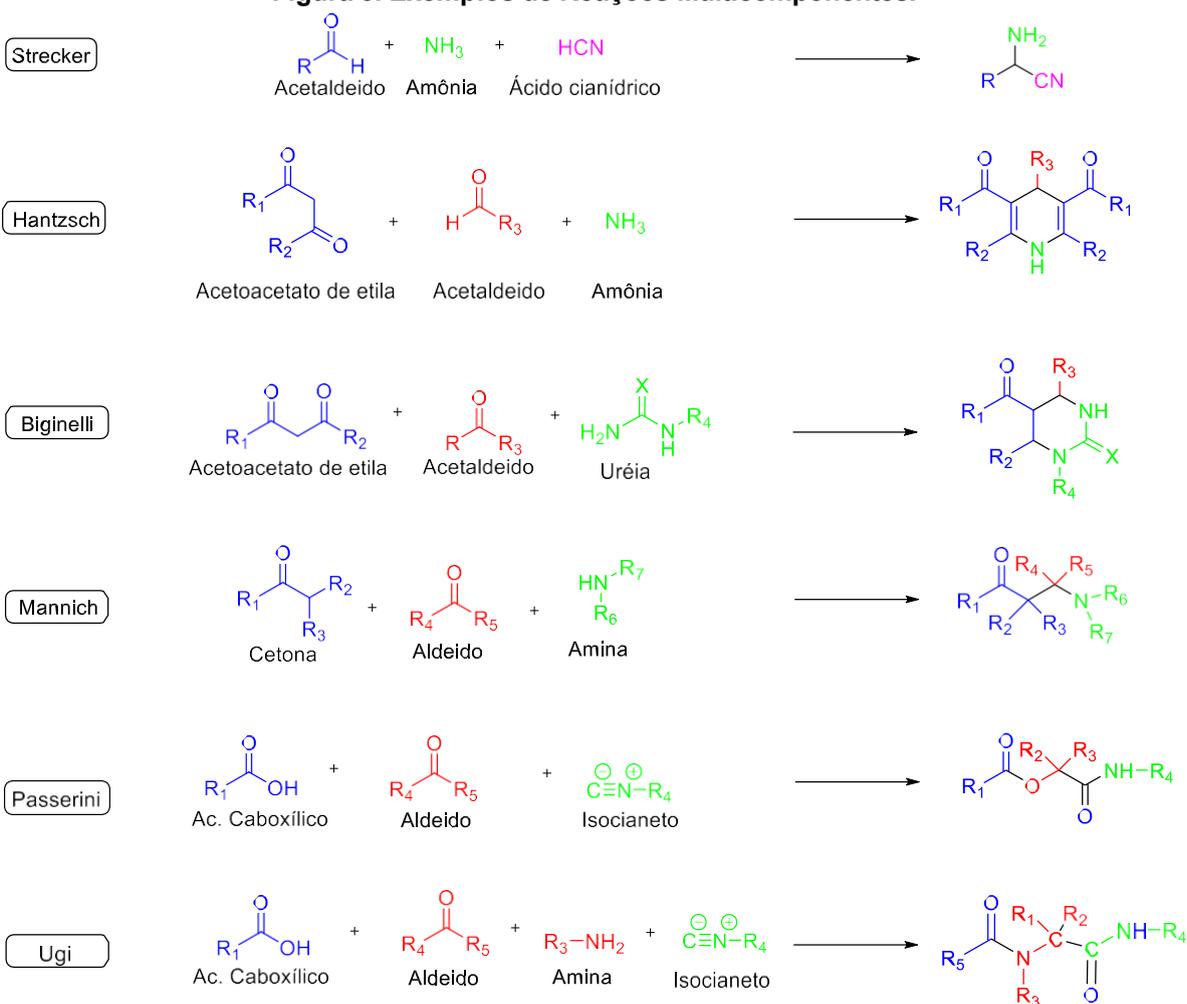
Figura 2. Representação esquemática das reações multicomponentes (RMCs) envolvendo 3-componentes (a) ou 4-componentes (b).



Fonte: Autoria Própria (2023).

As reações multicomponentes surgem na literatura a partir de 1850 com a publicação da reação de Strecker, posteriormente, outras reações importantes foram reportadas, como as reações de Hantzsch (1882), Biginelli (1891), Mannich (1917), Passerini (1921), Ugi (1959), conforme representadas na Figura 3 (Rogerio *et al.*, 2016).

Figura 3. Exemplos de Reações Multicomponentes.

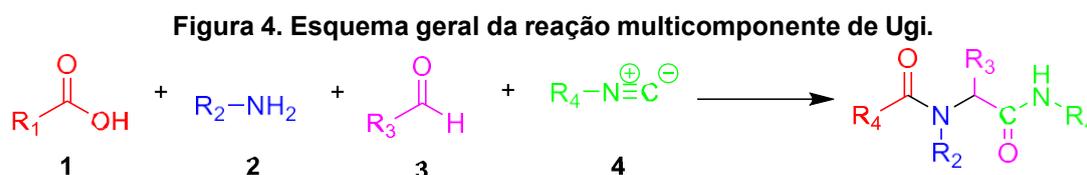


Fonte: Autoria Própria (2023).

A nível molecular, a formação do produto desejado ocorre por meio de uma sequência de transformações prévias, tornando uma molécula reativa a outro reagente presente no meio reacional, logo, dependendo da reatividade dos reagentes, o mecanismo da reação prossegue através de etapas reversíveis ou irreversíveis (Rogerio *et al.*, 2016; Reddy *et al.*, 2021). Sendo assim, as RMCs são classificadas em três categorias: I) os materiais de partida, intermediários e produtos permanecem em equilíbrio, enquanto os produtos ocorrem em uma mistura com os materiais de partida ou os intermediários; II) todas as etapas ocorrem de forma irreversível; III) as reações elementares estão em equilíbrio, enquanto a última etapa é uma reação irreversível, deslocando o equilíbrio para a formação dos produtos (Reddy *et al.*, 2021)

Dentre as diversas reações multicomponentes, as reações à base de isocianetos são conhecidas como reações de Passerini e Ugi. Em 1921, Passerini desenvolveu um sistema de três componentes para a síntese de α -aciloxicarboxamida, utilizando um ácido carboxílico, um aldeído e um isocianeto (Ingold *et al.*, 2017).

Já em 1959, o químico alemão Ivar Karl Ugi realizou a primeira reação tetracomponente. A qual consiste em uma condensação de quatro componentes, sendo um ácido carboxílico (**1**), uma amina primária ou secundária (**2**), um aldeído (**3**) e um isocianeto (**4**), formando derivados de α -aminoacilamida. Sendo assim, a estrutura do composto final irá depender dos componentes primários utilizados na reação de Ugi (Figura 4) (Yazdani *et al.*, 2022; Patil *et al.*, 2016).



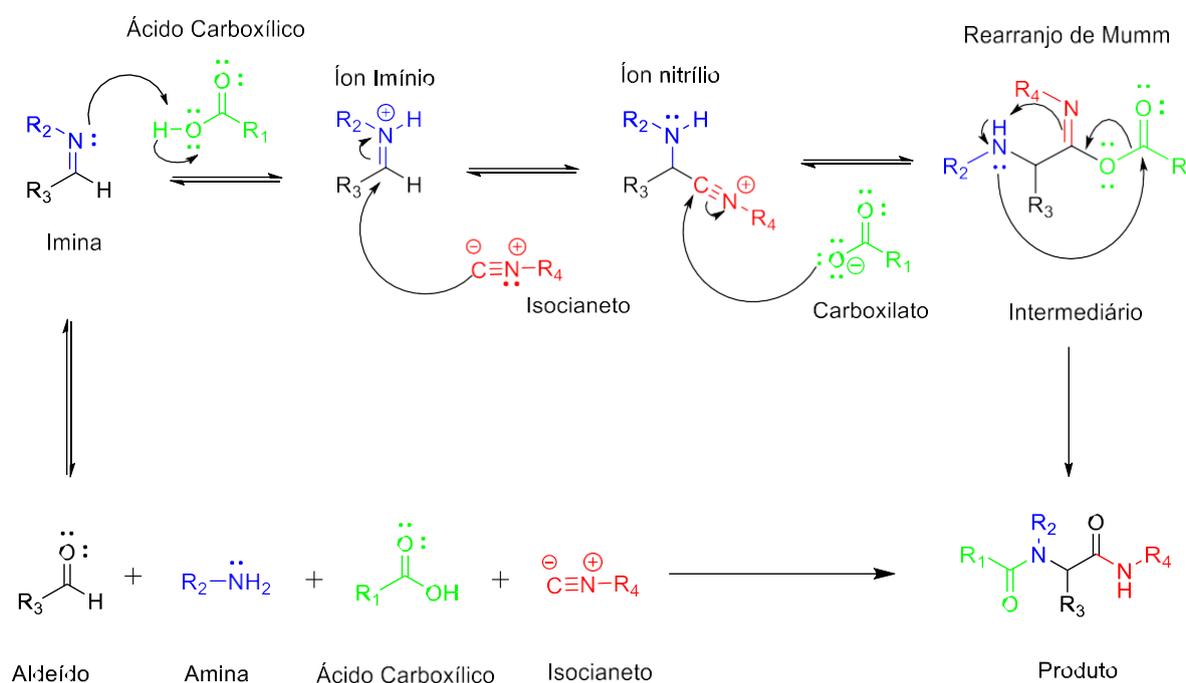
Fonte: Autoria Própria (2023).

Como a reação de Ugi é uma reação multicomponente à base de isocianetos, todas as etapas estão em equilíbrio, exceto a última etapa que gera o produto final, α -aminoacilamida, de forma irreversível (Reddy *et al.*, 2021).

Por ser uma reação amplamente empregada há um grande interesse no entendimento do mecanismo da reação multicomponente de Ugi (Ingold *et al.*, 2017). Alguns estudos sobre o mecanismo são relatados, sendo que a rota mecanística

(Figura 5), de modo geral, envolve a condensação do grupo carbonilado (aldeído) com a amina, gerando uma imina, a imina formada é protonada pelo ácido carboxílico, o qual vai gerar um íon imínio. Em seguida, ocorre a adição nucleofílica do isocianeto ao íon imínio, resultando no íon nitrílio, que será atacado pelo carboxilato em solução, produzindo um intermediário, que sofre um rearranjo de Mumm, via migração do grupo acil para o átomo de nitrogênio derivado da imina, levando ao produto final de Ugi (Zhang *et al.*, 2018; Ingold *et al.*, 2017; Gabriel e Heinze, 2018).

Figura 5. Proposta de mecanismo para a reação de Ugi.



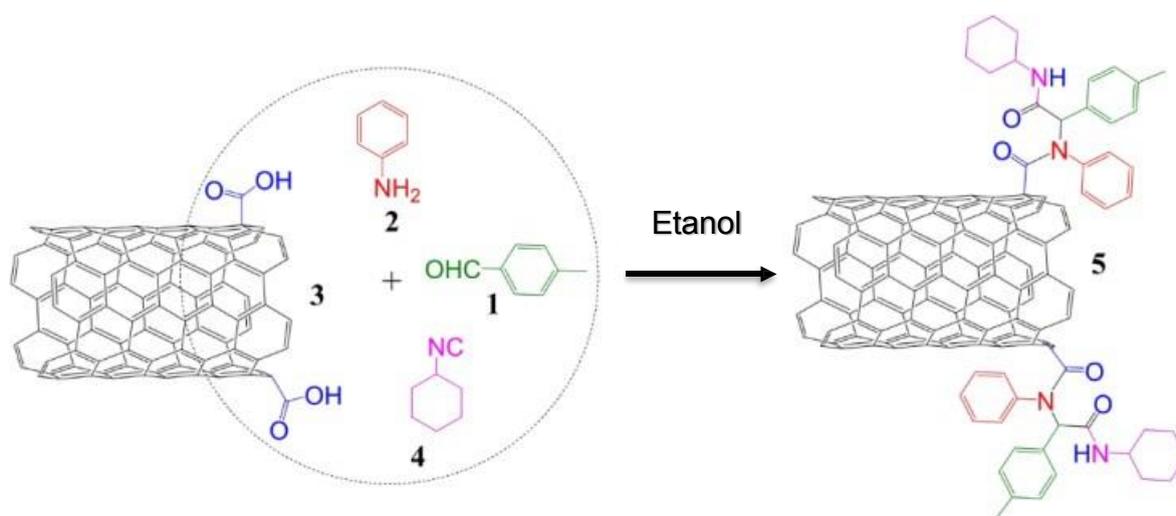
Fonte: Autoria Própria (2023).

A reação multicomponente de Ugi tem se destacado devido à abrangência de componentes que podem ser utilizados em sua síntese, o que proporciona uma ampla aplicação, incluindo a química combinatória, química farmacêutica e medicinal, devido a descoberta de aplicações biológicas e farmacológicas de alguns dos produtos obtidos, (Rezaei *et al.*, 2016; Ingold *et al.*, 2017). Sendo uma reação utilizada para sintetizar uma variedade de peptídeos com grande aplicabilidade biológica, e até mesmo fármacos com as penicilinas (Rogerio *et al.*, 2016).

Além disso, recentemente, diversos trabalhos relatam a funcionalização de materiais utilizando a reação de Ugi, como na funcionalização de óxidos de grafeno, nanotubos de carbono e nanocelulose (Patil *et al.*, 2016). Afshari e col. utilizaram a

reação multicomponente de Ugi para modificar nanotubos de carbono de parede múltiplas (MWCNTs) com o objetivo de tornar o material um carreador de drogas para terapia de câncer. Nesse sentido, os quatro componentes utilizados para sintetizar um nanocompósito de carboxamida-f-MWCNT, incluem o benzaldeído, anilina, MWCNTs carboxilato e ciclohexilisocianeto (Afshari e Shaabani, 2018), como representado na Figura 6.

Figura 6. Síntese de carboxamida-F-MWCNTs pela reação de Ugi.



Fonte: Adaptado de Afshari e Shaabani, 2018.

Nesse contexto, um dos campos emergentes interdisciplinares é o acoplamento da ciência dos materiais com transformações químicas para a síntese de materiais funcionalizados. Funcionalidade/modificação de superfície é o ato de modificar a superfície dos materiais trazendo características físicas, químicas ou biológicas diferentes daquelas originalmente encontradas (Afshari e Shaabani, 2018; Ostreng, 2009).

As modificações podem alterar as propriedades dos materiais, tais como, estabilidade química, térmica e mecânica, propriedades eletrônicas e ópticas, rugosidade, hidrofiliicidade, carga superficial, energia e área superficial, biocompatibilidade, reatividade, entre outros (John *et al.*, 2015; Raja, 2016).

Os processos de funcionalização introduzem grupos desejados na superfície dos materiais, com base nas reações químicas, que mais tarde podem participar de outras reações orgânicas para construir materiais funcionais de superfície aplicáveis na indústria farmacêutica e médica, imobilização enzimática, eletrodos, biossensores, tratamento de água, catalisadores, entre outros (Knoll, 2015).

A funcionalização dos materiais através de reações multicomponentes (RMCs) tem-se tornado atrativa, pois são procedimentos diretos que não têm a necessidade de isolar ou purificar quaisquer intermediários e a reação pode ocorrer com uma diversidade de substratos e materiais, levando a uma coleção de moléculas com diversidade estrutural e complexidade molecular. Essas vantagens levam a um custo reduzido, e com produções de poluentes quase inexistentes (Clarke *et al.*, 2007; Anastas *et al.*, 2010; Afshari e Shaabani, 2018).

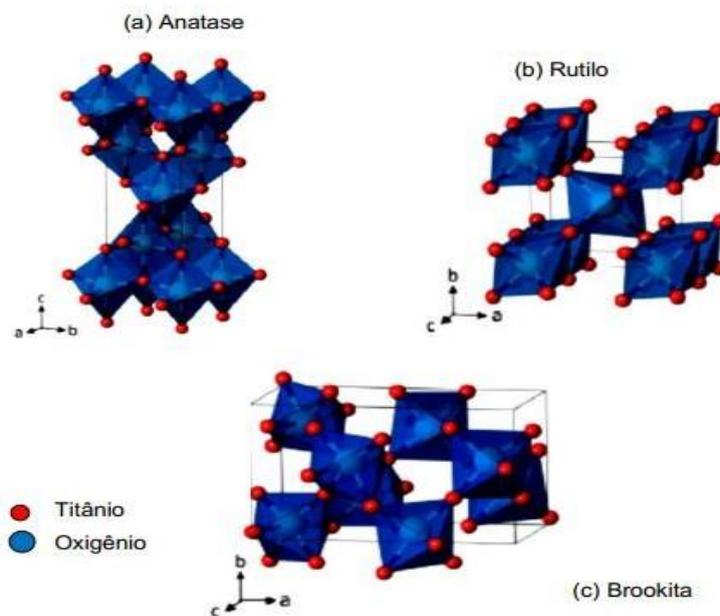
Buscando a inovação de materiais, a maioria dos progressos resultaram da colaboração interdisciplinar, esta abordagem abre caminho para criação de conhecimento inovador (Sheldon, 2012; Ostreng, 2009). Sendo assim, em conjunto com as modificações químicas e a síntese de nanocompósitos via reação multicomponente de Ugi que apresentem aplicações biológicas, há o crescente desenvolvimento de materiais formados pela incorporação de derivados de metais na matriz da membrana de nanocelulose (Fischer, 2017).

3.4 Dióxido de Titânio e seus derivados nanométricos

Um dos derivados de metais em ascensão na síntese de nanomateriais é o dióxido de titânio (TiO_2) pertencente à família de óxidos de metais de transição. O TiO_2 é um sólido branco, amplamente utilizado na área de nanotecnologia devido às suas propriedades físicas, ópticas, elétricas e sua biocompatibilidade única, além de ser quimicamente estável e inofensivo ao meio ambiente (Obando *et al.*, 2019).

O dióxido de titânio apresenta três estruturas polifórmicas denominadas como anatase, rutilo e brookita (Figura 7). Essas conformações são definidas pela maneira como o cátion Ti^{4+} é coordenado por 6 átomos de oxigênio que se combinam ao formar um octaedro distorcido (Neta *et al.*, 2020).

Figura 7. Estrutura cristalina do TiO₂: (a) anatase; (b) rutilo; e (c) brookita.



Fonte: Arruda (2015).

A estrutura anatase e a rutilo possuem geometria molecular tetragonal, sendo que a primeira apresenta quatro moléculas de TiO₂ por cela unitária e a segunda somente duas moléculas de TiO₂, diferentemente da forma brookita que apresenta uma estrutura ortorrômbica com uma célula unitária contendo oito moléculas de TiO₂ (Neta *et al.*, 2020).

A descoberta de compostos com estruturas na escala nanométrica, como os nanotubos de carbono, despertou o interesse para uma nova classe de materiais. Desse modo, há o crescimento do desenvolvimento de nanomateriais com formato nanotubular devido às suas propriedades superiores que lhes permitem ter excelentes desempenhos em diversas aplicações (Obando *et al.*, 2019).

A partir disso, nanotubos vêm sendo obtidos a partir de diversos óxidos metálicos, como por exemplo, TiO₂ e SiO₂. Entre os materiais de estruturas nanotubulares, os nanotubos sintetizados pelo precursor TiO₂, denominado nanotubo de titanato (NtsTi), tem despertado a atenção devido suas propriedades físico-químicas únicas, incluindo alta área de superfície específica, alta estabilidade química, atividade catalítica, resistência mecânica e atividade antimicrobiana (Abdullah e Kamarudin, 2017). Além de apresentarem excelentes propriedades elétricas, ópticas, fotocatalíticas e biológicas que diferem das encontradas no dióxido de titânio (Silva, 2012). Desse modo, tornando-os um material promissor para uma

grande variedade de aplicações, tais como, biomateriais, catálise, sensores de gás, armazenamento de energia e liberação de drogas. Também incluem aplicações em revestimento de implantes ósseos e dentários, uma vez que apresenta bons resultados em termos de atividade celular e recuperação óssea (Obando *et al.*, 2019; Abdullah e Kamarudin, 2017).

Além disso, os NtsTi podem atuar como agentes antimicrobianos, efeito atribuído ao tamanho em escala nanométrica, o que facilita a penetração através das membranas celulares, afetando assim os processos intracelulares e resultando em uma maior reatividade e atividade antimicrobiana (Arruda, 2015; Neta *et al.*, 2020).

Os nanotubos de titanato (NtsTi) são estruturas unidimensionais (1D), na forma de tubos agrupados com um diâmetro que pode variar de 30 a 80 nm e comprimento entre 10 a 220 nm. Sendo assim, a estrutura morfológica do NtsTi pode ser diferenciada com base no método de produção utilizado, visto que existem diversas maneiras de sintetizá-los, incluindo a rota hidrotérmica, a anodização eletrônica e sol-gel (Abdullah e Kamarudin, 2017).

Um dos métodos mais notáveis para a síntese dos NtsTi é a via hidrotermal alcalina, uma vez que possui um baixo custo, configuração simples, compatibilidade com o meio ambiente e alta reatividade (Obando *et al.*, 2019).

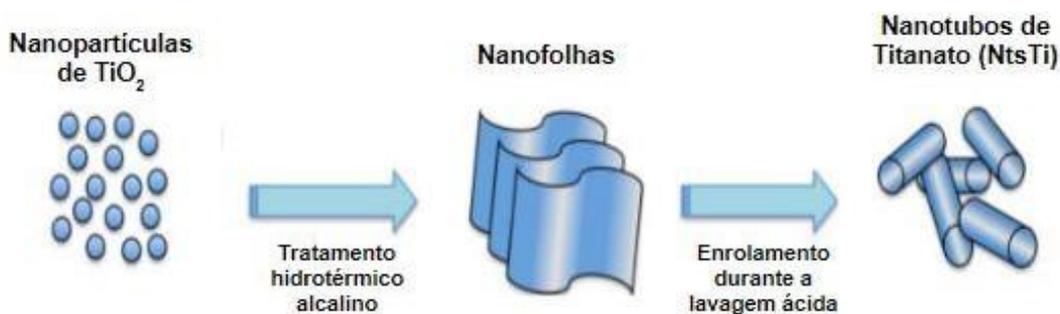
Esse processo é baseado na mistura do precursor óxido de titânio (TiO_2) em solução alcalina concentrada de hidróxido de sódio (NaOH) em um reator de teflon. O material é autoclavado por cerca de 24h em pressão acima de 1 atm. e temperaturas acima de 100 °C, obtendo estruturas tubulares. (Obando *et al.*, 2019; Abdullah e Kamarudin, 2017).

O método hidrotermal alcalino é muito sensível à variação dos parâmetros, como temperatura, concentração de hidróxido de sódio, processo de lavagem, tamanho das partículas e a fase cristalina do TiO_2 precursor. Apesar de ser possível obter um elevado rendimento de nanotubos de titanato de uma maneira relativamente simples sob condições otimizadas, as condições experimentais têm sido investigadas visando compreender e controlar a formação e características dos nanotubos (Silva, 2012).

A partir desses estudos, há relatos que a formação dos nanotubos de titanato ocorrem durante o tratamento alcalino com hidróxido de sódio (NaOH). Entretanto, grande parte dos trabalhos indicam que o processo de formação ocorre quando o

dióxido de titânio, em meio alcalino é convertido em produtos intermediários, com estruturas de nanofolhas de camada única ou múltiplas camadas. As quais, posteriormente, se enrolam formando estruturas nanotubulares durante o pós-tratamento com solução ácida, conforme representado na Figura 8 (Tsai e Teng, 2006; Obando *et al.*, 2019).

Figura 8. Representação esquemática da síntese dos Nanotubos de titanato (NtsTi) produzidos pela rota hidrotérmica alcalina.



Fonte: Adaptado de Bonatto (2018).

Superfícies de nanotubos de TiO₂ apresentam estrutura uniforme, rugosa e hidrofílica, características essenciais para os implantes ósseos que associadas à alta área superficial favorecem a adesão de osteoblastos e exibe uma forte capacidade de se ligar ao osso. Além disso, facilitam a troca de fluidos, responsável por melhorar a sinalização molecular na remodelação óssea e nas características de funcionamento (Neta *et al.*, 2020).

Devido à alta concentração de grupos hidroxila na superfície dos nanotubos de titanato, o material apresenta propriedades hidrofílicas que tornam difícil obter uma distribuição homogênea e uma forte interação de interface dentro da matriz polimérica hidrofóbica, logo, formando aglomerados que limitam as suas propriedades mecânicas. A funcionalização química de NtsTi com agentes de acoplamento de silano é uma alternativa para superar essas desvantagens, proporcionando uma melhora na interação interfacial entre nanocargas inorgânicas e matriz polimérica (Pontón *et al.*, 2014).

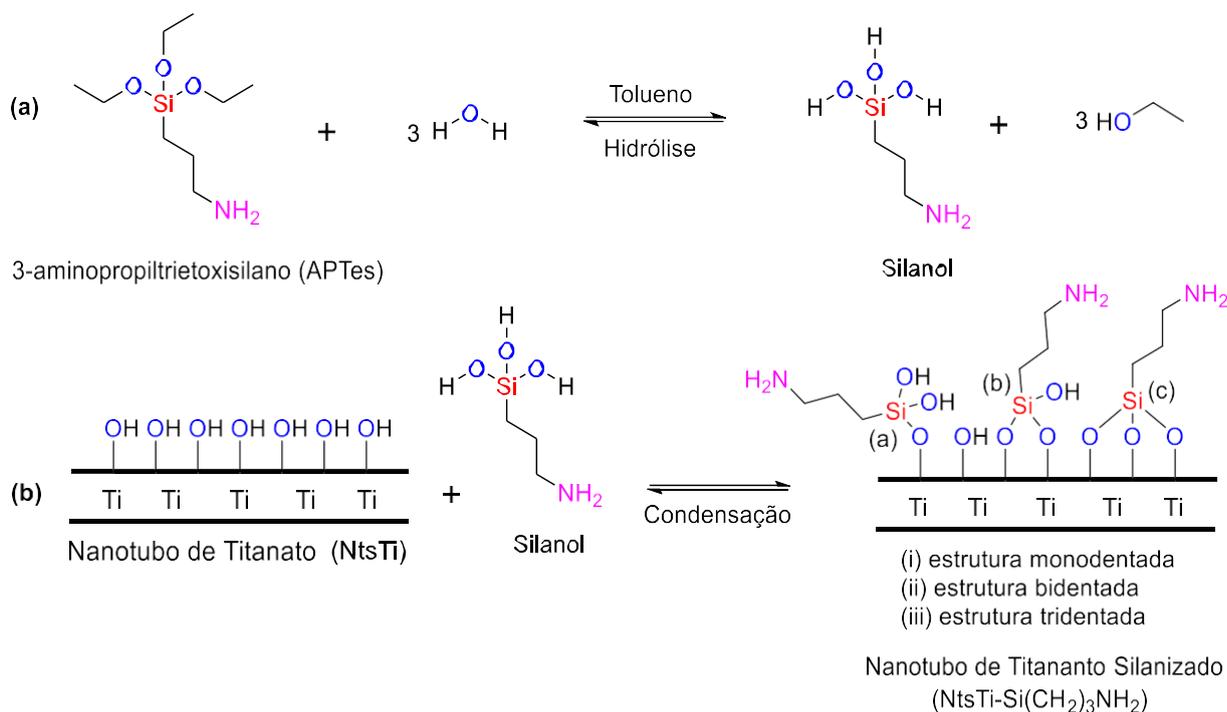
Os alquilsilanos são os compostos mais utilizados na funcionalização de nanomateriais à base de TiO₂ devido à rápida formação de ligações covalentes entre as superfícies contendo grupos -OH e os grupos de ancoragem silano (Bertel *et al.*, 2021). Com isso, os alquilsilanos apresentam uma capacidade de se auto-montar na

superfície de materiais óxidos, sendo frequentemente usados como agentes de acoplamento para unir porções orgânicas ou nanopartículas na superfície do óxido (Meroni *et al.*, 2017).

Nesse sentido, um dos agentes de silanização mais importantes na química para a síntese de materiais é o 3-aminopropiltriétoxissilano (APTes). Esse composto tem sido amplamente utilizado como agente de silanização para a modificação química de superfícies (Zhang e Lai, 2021).

O mecanismo de silanização envolve inicialmente a hidrólise do APTes para a formação do Silanol (Figura 9.a). Em seguida, ocorre a condensação do APTes hidrolisado (Silanol) com os grupos OH dos nanotubos de titanato, com o intuito de fornecer NtsTi funcionalizados em três possíveis estruturas, incluindo as estruturas monodentadas, bidentadas e tridentadas (Figura 9.b) (Paris *et al.*, 2015; Duong *et al.*, 2017; Pontón *et al.*, 2014).

Figura 9. Representação do mecanismo de silanização dos nanotubos de titanato (NtsTi) (a) Hidrólise do APTes em Silanol; (b) Condensação do silanol com a hidroxila (OH) do nanotubo de titanato e formação do nanotubo de titanato silanizado.



Fonte: Autoria Própria (2023).

A introdução do grupo amino (NH₂) nas superfícies do NtsTi aumenta a dispersibilidade e propriedade antibacteriana, uma vez que derivados de silano demonstram induzir propriedades antibacterianas. Além disso, o uso do APTes na

funcionalização proporciona uma maior estabilidade superficial, biocompatibilidade, melhores propriedades mecânicas e térmicas do material final (Thakur *et al.*, 2021).

Nesse sentido, há uma ampla gama de aplicações para materiais silanizados tendo em vista que a modificação com o APTes fornece uma ligação para vários anexos orgânicos, inorgânicos ou bioquímicos (Zhang e Lai, 2021).

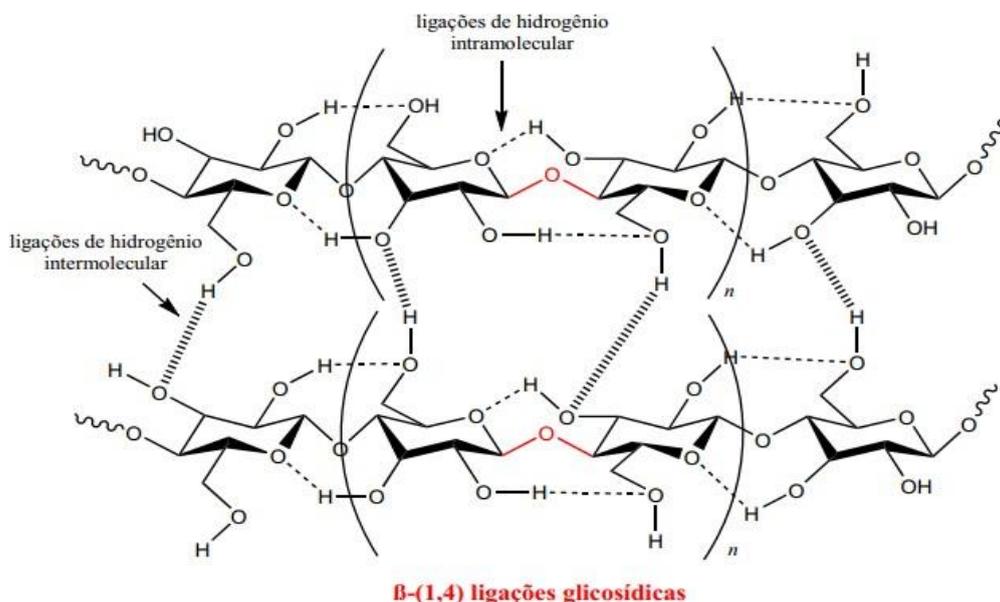
3.5 Nanocelulose Bacteriana (NCB)

Dentre os diversos anexos orgânicos possíveis de realizarem ligações com os nanotubos de titanato silanizados, tem-se os materiais à base de celulose, que é o polímero mais abundante no planeta terra. Esse biopolímero pode ser encontrado, tanto como componente da biomassa vegetal como polímero extracelular microbiano, e ser obtida na forma de nanocelulose, em sua forma nanométrica. (Norrahim, 2021).

A nanocelulose bacteriana (NCB) foi relatada pela primeira vez por Adrian J. Brown em 1886, após a formação de uma massa sólida gelatinosa na superfície de um meio de cultura durante um processo de fermentação de vinagre, atualmente denominada como nanocelulose bacteriana. (Andree *et al.*, 2020).

De fórmula química $(C_6H_{10}O_5)_n$, a nanocelulose é um homopolímero formado por unidades de glicose unidas por ligações β -(1→4) glicosídicas lineares ligadas por ligações de hidrogênio intra e intermoleculares, formando fibrilas aleatoriamente distribuídas e interligadas que formam uma estrutura tridimensional altamente reticulada, como uma matriz única e porosa, de modo que as unidades de glicose, posicionam-se a 180° entre si, alternativamente, conforme representada na Figura 10 (Fischer *et al.*, 2017; Godinho *et al.*, 2015).

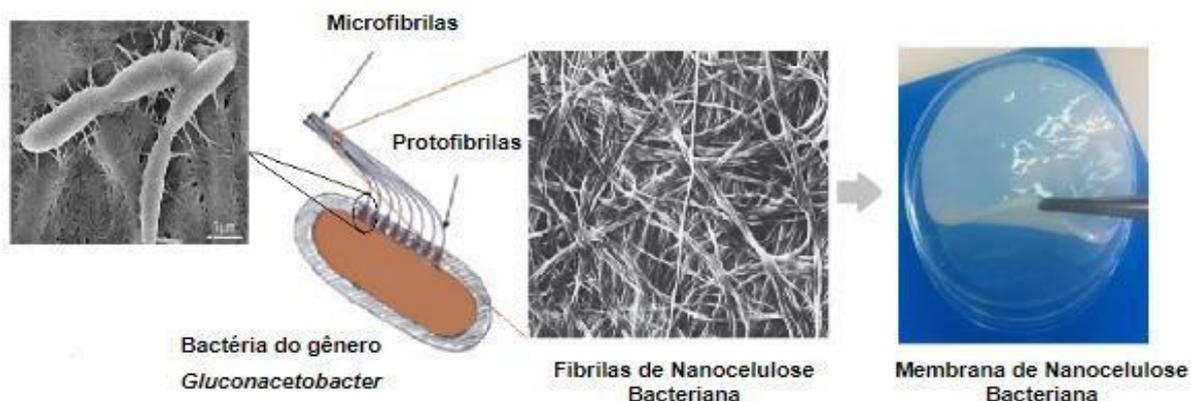
Figura 10. Estrutura molecular da nanocelulose.



Fonte: Autoria própria (2023).

O processo de formação das fibrilas da NCB é realizado em três etapas (Figura 11). Primeiramente, ocorre a polimerização das moléculas de glicose [formação de cadeias lineares por ligações β -(1 \rightarrow 4) glicosídicas] entre as membranas externa e citoplasmática. Em seguida, as cadeias lineares formam protofibrilas de 1,5 nm de largura, as quais em uma segunda etapa, juntam-se formando microfibrilas de 2 a 4 nm de largura. Durante a terceira etapa, um conjunto de microfibrilas produz fibrilas de 20 a 100 nm de largura, constituindo uma película de celulose bacteriana por meio de uma matriz de fibrilas entrelaçadas (Castro *et al.*, 2011; Dufresne, 2012).

Figura 11. Processo de formação das fibrilas e membrana de nanocelulose bacteriana a partir da bactéria *Gluconacetobacter*.



Fonte: Adaptado de Dufresne, 2012.

A nanocelulose bacteriana é uma celulose pura produzida através da fermentação oxidativa de um meio rico em nutrientes a partir de uma variedade de bactérias, sendo que cepas bacterianas do gênero *Komagataeibacter* são as frequentemente mais utilizadas (Fischer *et al.*, 2017; Dufresne, 2012; Castro *et al.*, 2011; Kutová, 2021).

Para sua produção, é necessário que um meio de cultivo possua ao menos, uma fonte de carbono, uma de nitrogênio e alguns outros nutrientes necessários para o crescimento do microrganismo. Um dos meios mais utilizados é o meio Hestrin e Schramm (H-S), o qual utiliza a glicose (2% p/v) com principal fonte de carbono, podendo também utilizar resíduos naturais, e a peptona (0.5 %) e o extrato de levedura (0.5 %) como principais fontes de Nitrogênio e vitaminas (Cherian *et al.*, 2013).

A purificação da membrana da nanocelulose bacteriana é de extrema importância, principalmente se o material for aplicado na área médica, pois realiza a remoção tanto dos resíduos gerados pelo meio nutritivo, como das células bacterianas e toxinas que podem causar reações pirogênicas (Pielak, 2019). Portanto, a membrana de NCB é facilmente purificada com uma solução diluída de hidróxido de sódio (NaOH), mantendo a pureza sem a necessidade da realização de outros processos químicos (Stanisławska, 2016).

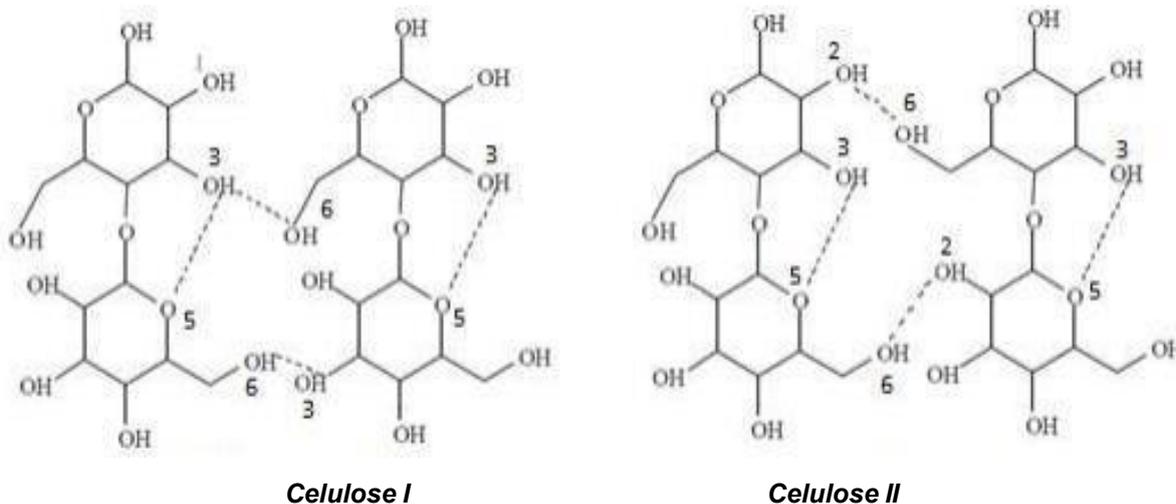
Os grupos hidroxila livres presentes na macromolécula de celulose, formam amplas redes de ligações de hidrogênio intra e intermoleculares, possibilitando à celulose uma pluralidade de arranjos mútuos dos anéis de glicose, que podem dar origem a diferentes empacotamentos cristalinos (Sun, 2004).

Com isso, a nanocelulose apresenta 4 polimorfos, denominados I, II, III e IV. Sendo que as nanoceluloses I e II são encontradas na natureza, enquanto os demais tipos são obtidos artificialmente por tratamentos químicos ou térmicos (Dufresne, 2012; Klemm, 2005). Na celulose polimorfa I, as cadeias celulósicas constituídas de microfibrilas orientam-se de forma paralela, enquanto a polimorfa II as microfibrilas orientam-se em forma antiparalela (Nascimento, 2018; Sun, 2004).

Fato que ocorre devido a diferença na posição das ligações de hidrogênio entre as moléculas de celulose adjacentes nas estruturas de celulose I e II (Figura 12). As quais diferem nas ligações intermoleculares, uma vez que a celulose tipo I a ligação ocorre entre os oxigênios O6 e O3, e na celulose tipo II entre os oxigênios

O6 e O2. Já as ligações de hidrogênio intramoleculares ocorrem para os dois polimorfos nos oxigênios O3 e O5 (Rodrigues, 2012).

Figura 12. Orientação das microfibrilas na estrutura da celulose polimorfa a) I - paralela e b) II - antiparalela.

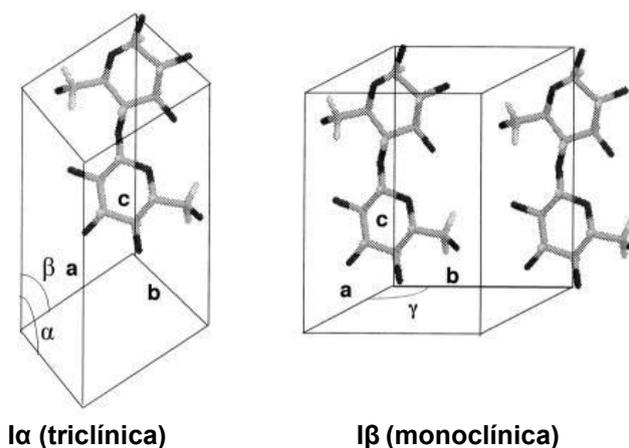


Fonte: Rodrigues, 2012.

A nanocelulose polimorfa I é a estrutura cristalina nativa e predominante, sendo composta por duas formas cristalinas diferentes, celulose I α e I β , as quais diferem de acordo com a fonte de onde são obtidas, sendo que a celulose I α é proveniente de algas e bactérias, já a forma I β é proveniente das plantas (Dufresne, 2012; Klemm, 2005).

A estrutura da celulose I α possui uma fase triclínica, contendo uma cadeia por cela unitária (parâmetros de rede $a = 0,672$ nm, $b = 0,596$ nm, $c = 1,040$ nm, $\alpha = 118,08^\circ$, $\beta = 114,80^\circ$ e $\gamma = 80,375^\circ$, grupo espacial P1), enquanto a forma I β representa uma fase monoclínica, possui duas cadeias por cela unitária (parâmetros de rede $a = 0,778$ nm, $b = 0,820$ nm, $c = 1,038$ nm, α e $\beta = 90^\circ$ e $\gamma = 96,5^\circ$, grupo espacial P2 $_1$) (Castro, 2018; Rodrigues, 2012) (Figura 13). Apesar dos parâmetros diferentes, os deslocamentos das cadeias das celas unitárias da celulose I α e I β são pequenos quando analisados ao longo do eixo da cadeia (Rodrigues, 2012).

Figura 13. Estruturas propostas para a celulose I α (triclínica) e I β (monoclínica).



Fonte: Rodrigues, 2012.

Em razão às suas características, a NCB vem despertando interesse da comunidade científica, dentre as suas propriedades, inclui a alta pureza química, boa resistência mecânica, alta flexibilidade, absorção e resistência à tração, elevada área superficial, e capacidade de retenção de água, além de ser metabolicamente inerte, apresentar citotoxicidade mínima e biocompatibilidade, biofuncionalidade e hipoalergenicidade (Farooq *et al.*, 2020; Stanisławska, 2021).

Outro fator que aprimora o interesse na nanocelulose bacteriana, é a possibilidade de controlar as suas propriedades estruturais, biológicas e físico-mecânicas durante a sua produção e após, por meio de funcionalizações (Andree *et al.*, 2020).

As propriedades estruturais da NCB são fortemente influenciadas pela nanoestrutura do material, característica que está diretamente ligada ao processo de fermentação e a secagem do material (Zeng; Laromaine; Roig, 2014).

O processo de secagem resulta em diferentes estruturas físicas da NCB, por exemplo, as fibrilas da nanocelulose bacteriana seca em altas temperaturas são fortes e rígidas, oferecendo uma melhor resistência à força aplicada e evitando alterações na sua estrutura, também apresentam um nível maior de cristalinidade, aprimorando as suas propriedades mecânicas, como a resistência à tração (ISLAM, 2013). Já as secas em baixas temperaturas, como as nanoceluloses bacterianas liofilizadas, apresentam estrutura porosa e permeável, alta elasticidade e maleabilidade (Colli *et al.*, 2023).

Devido as propriedades presentes na nanocelulose uma ampla variedade de aplicações tem sido explorada, algumas delas estão representadas na Tabela 1 (Thompson *et al.*, 2019).

Tabela 1. Possíveis aplicações da NCB.

Campo	Aplicação
Medicina	Material de curativo (pele artificial), implantes vasculares, implantes dentários
Cosmetologia	Estabilizador de emulsões (cremes, tônicos), espessantes
Indústria de tecidos	Materiais altamente absorventes
Indústria ambiental	Água de ultrafiltração, tratamento de esgoto, absorção de poluição por óleo, toxinas
Indústria alimentícia	Celulose comestível, fonte de fibras

Fonte: Adaptado de Stanisławska, 2016; Fischer, 2017.

Como demonstrado na Tabela 1, a nanocelulose bacteriana possui uma grande visibilidade no campo médico e farmacêutico, uma vez que não possui propriedades citotóxicas e genotóxicas (Thompson *et al.*, 2019).

Esse fato ocorre porque, diferentemente das demais nanoceluloses, a bacteriana não contém substâncias indesejadas, como hemiceluloses, lignina ou pectina, além disso, a NCB é biocompatível, adaptável, transparente, possui porosidade favorável para que haja boa transferência de ar entre a pele e meio ambiente, logo, é amplamente utilizada como enxerto de pele para tratamentos de queimaduras (Picheth, 2017; Thompson *et al.*, 2019).

Podendo também atuar como carreador de fármacos, devido a sua alta capacidade de absorção para líquidos e pequenas partículas, se apresenta como um material apropriado para a impregnação de antibióticos na cicatrização de feridas (Islam, 2013). Além disso, a NCB também é um material adequado na aplicação de implantes bioativos de cartilagem, protótipos de vasos sanguíneos e curativos. (Stanisławska, 2016; Picheth, 2017).

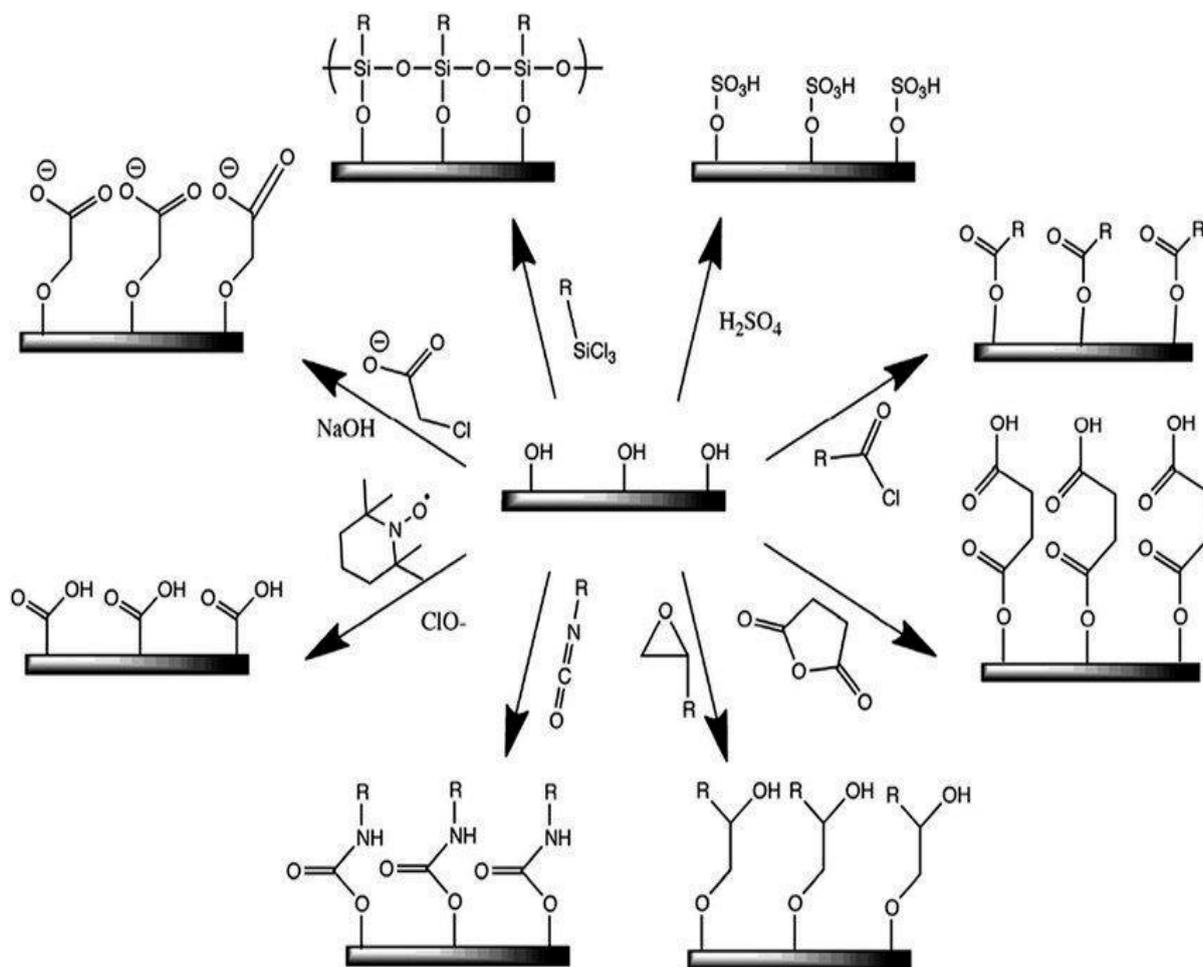
Por outro lado, a autoaglomeração e a hidrofobicidade devido aos grupos hidroxila (OH) inerentes presentes na superfície da nanocelulose ainda são os fatores limitantes em sua ampla aplicação, o que exige o uso de novas funcionalizações para ampliar seu campo de aplicação, com o aumento da hidrofobicidade do material (Norrrahim *et al.*, 2021; Thakur *et al.*, 2021)

Essas modificações possuem a finalidade de aprimorar as propriedades físico-químicas da membrana de nanocelulose bacteriana e as interações seletivas, agregando cargas iônicas à NCB (Tan *et al.*, 2020). São descritos diversos processos de funcionalização da nanocelulose a fim de aprimorar características, como sua polaridade, hidrofobicidade características que combinadas tornam a NCB uma estrutura ideal para conjugação com outros materiais funcionais (Thakur *et al.*, 2021).

A funcionalização da nanocelulose bacteriana inclui a modificação química (alteração da estrutura e funcionalidade química) e a modificação física (mudança na cristalinidade, porosidade e densidade) pelos métodos *in situ* e *ex situ*. As modificações *in situ* são realizadas pela variação do meio de cultura, fonte de carbono e adição de outros materiais durante o processo de produção da nanocelulose, diferentemente das modificações *ex situ*, onde são realizadas por tratamento químico e físico da NCB já formada (Stanisławska, 2021).

Devido aos grupos hidroxilas presente na superfície da NCB, diferentes métodos de modificação de sua superfície são descritos, entre eles reações de acetilação, acilação, sililação, oxidação e marcadores fluorescente foram introduzidos para minimizar problemas de hidrofobicidade e autoglomeração (Norrrahim *et al.*, 2021; Shalauddin *et al.*, 2019; Thakur *et al.*, 2021), conforme representado na Figura 14.

Figura 14. Representação das funcionalizações de nanoceluloses.



Fonte: Adaptado de Moon et al., 2011.

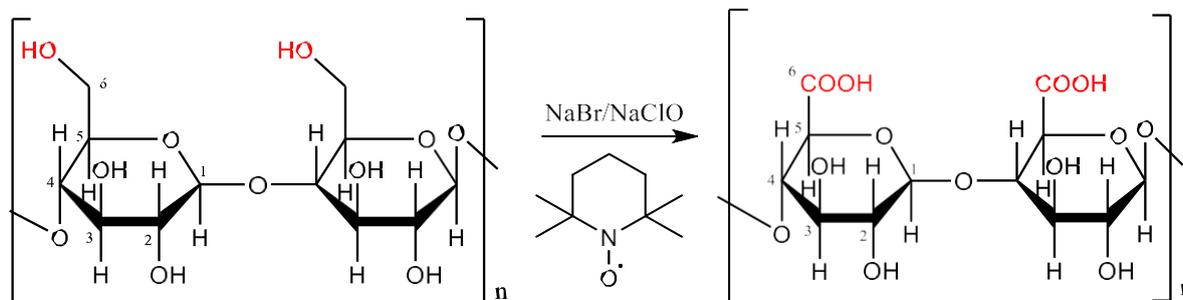
A oxidação mediada pelo 2,2,6,6-tetrametil-1-piperidinoxilo (TEMPO) (é uma das funcionalizações mais eficientes e amplamente utilizadas, devido a capacidade de oxidar álcoois primários e secundários (Souza, 2004).

Desse modo, a oxidação com TEMPO apresenta uma alta taxa de conversão, alta seletividade, além desse reagente apresentar baixo custo como co-oxidante. Outra vantagem no uso do TEMPO em reações de oxidação é a sua facilidade de estocagem, devido baixa reatividade em presença de ar, luz ou umidade, e facilidade de manuseio, uma vez que não é necessário condições especiais (Pierre *et al.*, 2017; Souza, 2004).

Entre os três grupos hidroxila carregados na unidade de glicose presentes na nanocelulose, o grupo hidroxila de C6 é muito mais reativo que o de C2 e C3, por ser uma hidroxila primária e as demais hidroxilas secundárias (Figura 15). Desse modo, o agente oxidante TEMPO oxida seletivamente a superfície da celulose sob

condições aquosas, convertendo os grupos hidroximetil primários (-COH) presentes na estrutura polimérica da nanocelulose em grupos carboxilatos aniônicos (-COO⁻), tornando uma superfície carregada negativamente (Tan *et al.*, 2020; Dufresne, 2012).

Figura 15. Reação de Oxidação via TEMPO.

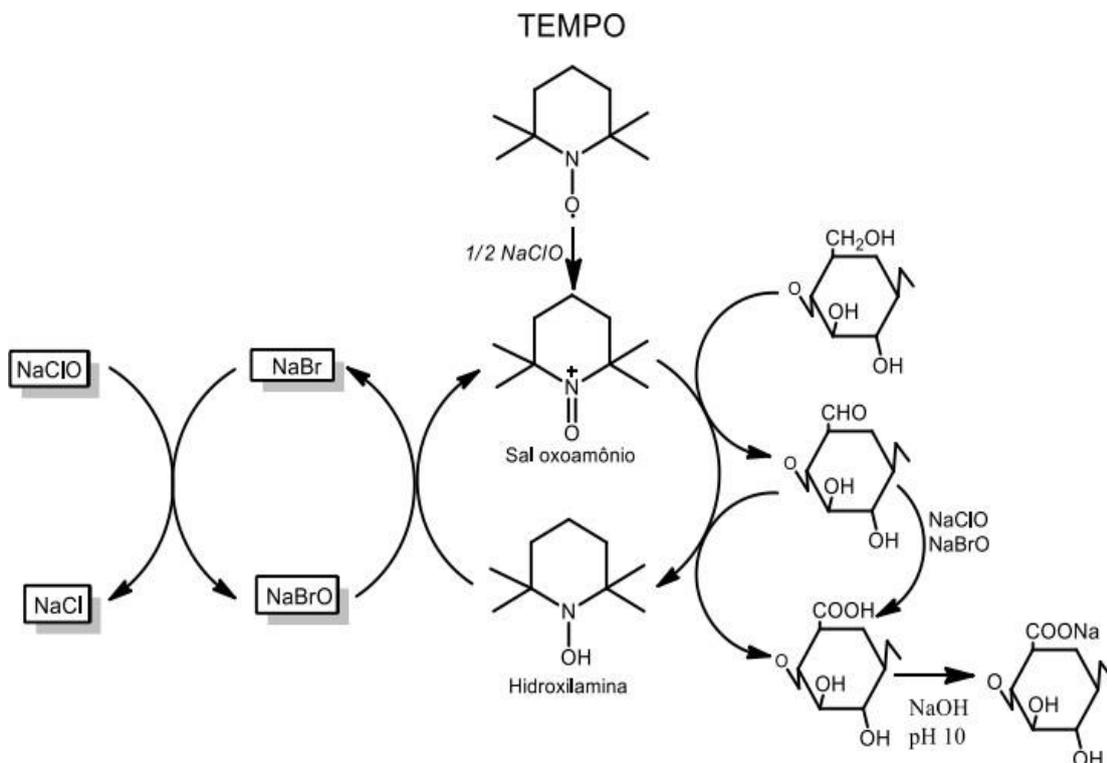


Fonte: Autoria Própria (2023).

A reação é conduzida em meio aquoso a partir da adição de hipoclorito de sódio (NaClO) na presença de quantidades catalíticas de 2,2,6,6-tetrametil-1-piperidinoxil (TEMPO) e brometo de sódio (NaBr). A reação atinge sua máxima conversão quando o pH mantém constante em 10, a partir da adição de uma solução de NaOH (0,5 molL⁻¹), uma vez que a dissociação dos grupos hidroxila primários e a formação das ligações covalentes entre grupos hidroxila dissociados e TEMPO oxidado são intensificadas em condições alcalinas (Teixeira, 2019; Shi, 2020).

No mecanismo de reação (Figura 16), o radical TEMPO é ativado pelo agente oxidante primário NaClO, sendo reduzido a sal oxoamônio (TEMPO⁺). O TEMPO reduzido é oxidado pelo NaBrO, que é formado a partir da oxidação de NaBr por NaClO. O agente redutor (TEMPO) é reduzido à sal oxoamônio atua como oxidante primário dos grupos hidroxilas do C6 à grupos aldeídos e, numa segunda etapa são convertidos a grupos carboxílicos ou íons carboxilatos com NaClO e/ou NaBrO. Sendo que o CH₂COONa é convertido a sua forma ácida (CH₂-COOH) por adição de ácido clorídrico (Isogai *et al.*, 2011; Dufresne, 2012; Gabriel e Henzei, 2018).

Figura 16. Representação de ação da oxidação da nanocelulose bacteriana mediada via TEMPO/NaBr/NaClO.



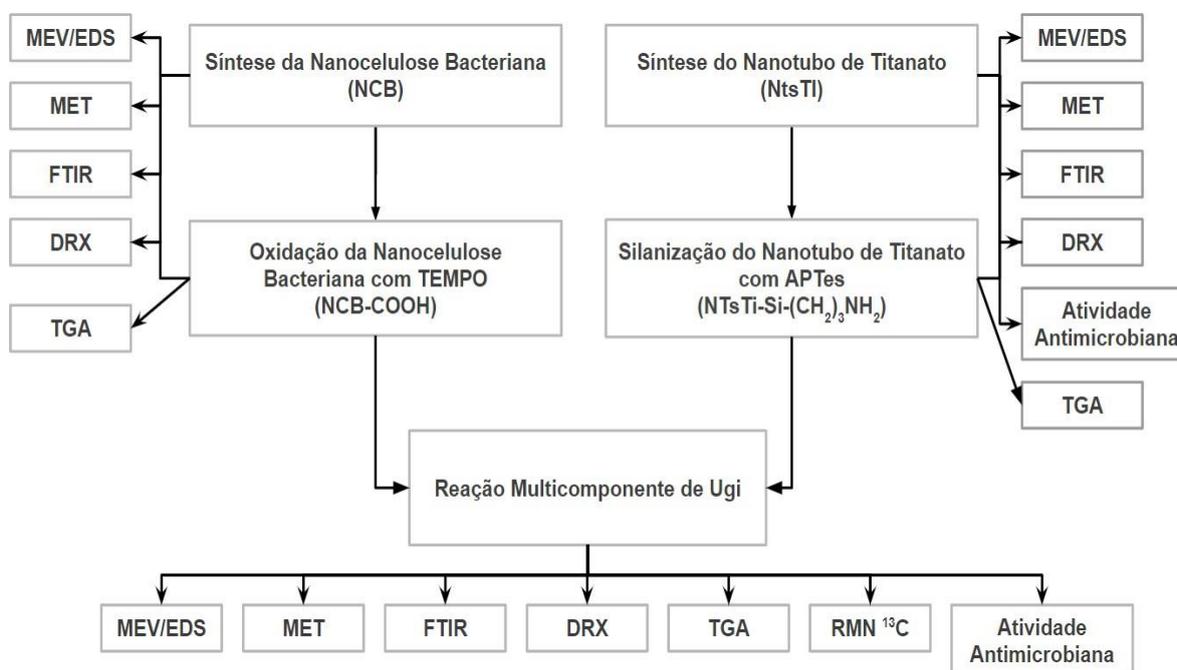
Fonte: Adaptado de Isogai et al. (2011).

Diante do contexto aqui apresentado, nanocompósitos à base de celulose bacteriana têm atraído grande atenção para o desenvolvimento de membranas híbridas contendo derivados de TiO_2 e ZnO , como os nanotubos de titanato. Assim, ampliando o espectro de aplicações para campos biológicos, devido a união e otimização das propriedades desses materiais por meio da funcionalização via reação multicomponente de Ugi (Monteiro *et al.*, 2019; Bui *et al.*, 2017).

4 METODOLOGIA

A metodologia adotada para o desenvolvimento desse projeto foi adaptada de alguns trabalhos relatados na literatura. A execução do trabalho foi dividida em três etapas: produção e oxidação da nanocelulose bacteriana, síntese e silanização dos nanotubos de titanato e síntese do nanocomposito (NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂-NCB) através da reação multicomponente de Ugi e determinação da atividade antimicrobiana (Figura 17).

Figura 17. Metodologia adotada para obtenção do nanocompósito composto pela nanocelulose bacteriana funcionalizada (NCB-COOH) e nanotubos de titanato silanizados (NTsTi-Si(CH₂)₃NH₂) através da reação multicomponente de Ugi.

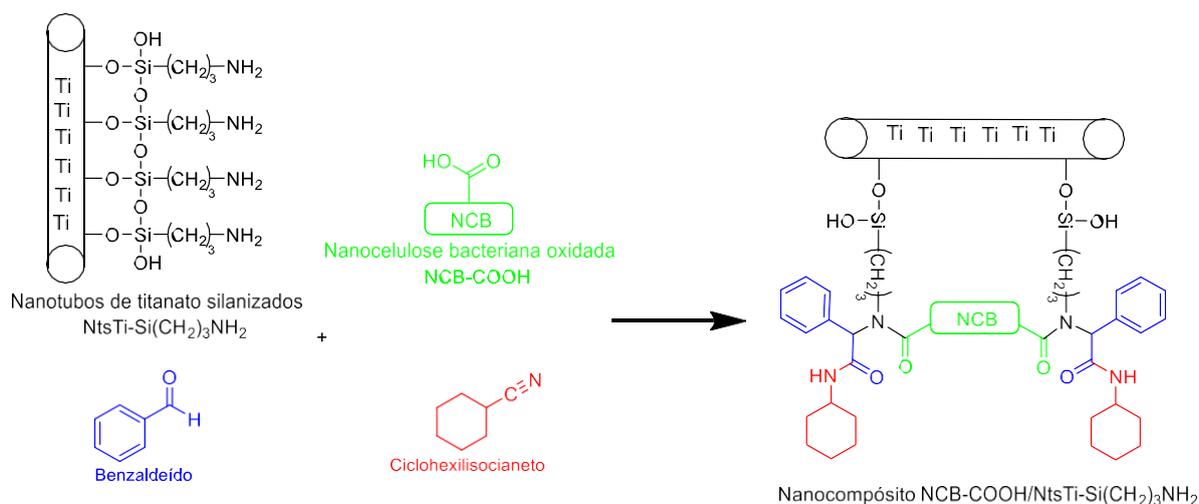


Fonte: Autoria Própria (2023).

Foi realizada simultaneamente a produção da nanocelulose bacteriana e a síntese dos nanotubos de titanato, seguida da oxidação da nanocelulose via 2,2,6,6-tetrametil-1-piperidinoxilo TEMPO, e silanização dos nanotubos de titanato com 3-aminopropiltriétoxissilano (APTes).

Por fim, os sistemas nanocelulose bacteriana oxidada (NCB-COOH) e nanotubo de titanato silanizado (NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂) foram funcionalizados através da reação multicomponente de Ugi juntamente com o ciclohexilisocianeto e o benzaldeído, a fim de sintetizar um nanocompósito, obtendo características de ambos os materiais (Figura 18).

Figura 18. Reação multicomponente de Ugi utilizando nanocelulose bacteriana (NCB-COOH), nanotubos de titanato (NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂), ciclohexilisocianeto e benzaldeído.



Fonte: Autoria Própria (2023).

A caracterização dos materiais foi realizada pelas técnicas de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET), Difração de Raios-X em pó (DRX), Espectroscopia de raios-X por dispersão em energia (EDS) e Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) com Brometo de Potássio (KBr) e reflexão total atenuada (ATR).

Exclusivamente para os materiais funcionalizados (NCB-COOH e NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂) e o nanocompósito da RCMs de Ugi, foi realizada a caracterização através da Análise Termogravimétrica (TGA) e por Ressonância Magnética Nuclear ¹³C (RMN ¹³C).

Além disso, para os nanotubos de titanato (NtsTi), o nanotubo de titanato silanizado (NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂) e para o nanocompósito obtido através da reação multicomponente de Ugi foram realizados testes de atividade antimicrobiana frente às cepas bacterianas *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*.

4.1 Produção da Nanocelulose Bacteriana (NCB)

Para a produção da nanocelulose bacteriana, todos os meios de cultivo e materiais usados na síntese que entraram em contato com a bactéria ou o meio de cultivo passaram previamente por um processo de autoclavagem, e os procedimentos realizados foram em condições assépticas apropriadas, utilizando uma capela de fluxo laminar.

4.1.1 Microrganismo, inóculo e condições de cultivo

O preparo do meio de cultura e do inóculo foi de acordo com a metodologia descrita por Mikkelsen *et al.* (2009), de acordo com a Figura 19.

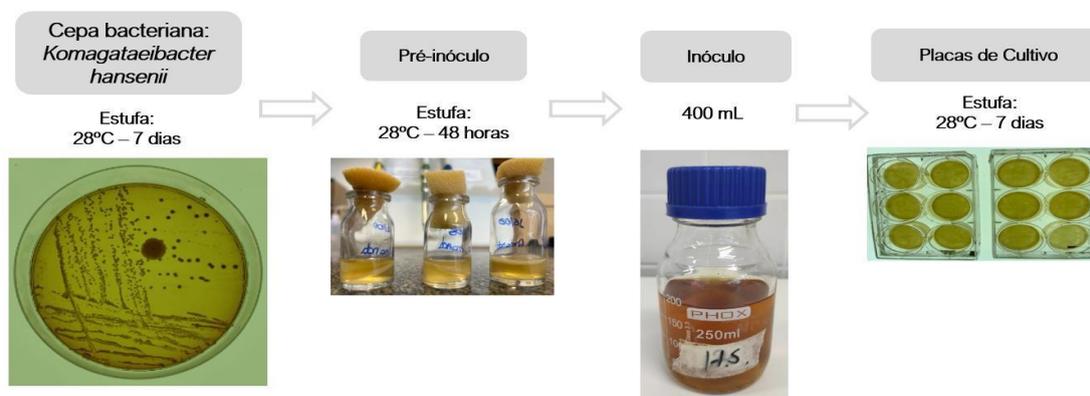
O meio de cultivo utilizado na fase de ativação das células (pré-inóculo) e na fase de produção das membranas foi o meio nutritivo Hestrin e Schramm (H-S), sendo esse o padrão na produção de NCBs (Schramm; Gromet; Hestrin, 1957), com as proporções glicose (2%), peptona (0,5 %), extrato de levedura (0,5 %), fosfato dissódico (0,27%) e ácido cítrico (0,115%) com pH ajustado entre 4,5 – 5,0 com ácido acético (0,1 mol L⁻¹).

A nanocelulose bacteriana (NCB) foi produzida a partir da cepa bacteriana *Komagataeibacter hansenii*. Em uma placa de Petri a cepa bacteriana foi repicada em ágar H-S pelo método de esgotamento por estrias e incubada durante 7 dias a 28°C, para crescimento bacteriano.

Posteriormente, as células bacterianas foram cultivadas e incubadas em quatro frascos contendo 10 mL de meio H-S, a 28 °C durante 48 horas. Após este período, o pré-inóculo foi transferido para um Erlenmeyer contendo 400 mL de meio H-S. Em seguida, 10 mL do meio H-S foram distribuídos em poços de placas de cultivo de células para a produção das membranas de NCB.

A produção foi realizada em placas de cultivo de células de seis poços (fundo chato, área de crescimento 9,60 cm², volume máximo dos poços 17 mL) sob condição estática aeróbica a 28 °C durante 7 dias até a formação de membranas de NCB com uma espessura de aproximadamente 3 a 5 mm, metodologia adaptada de Castro *et al.* (2011).

Figura 19. Representação esquemática dos procedimentos adotados para a produção da nanocelulose bacteriana (NCB).



Fonte: Autoria Própria (2023).

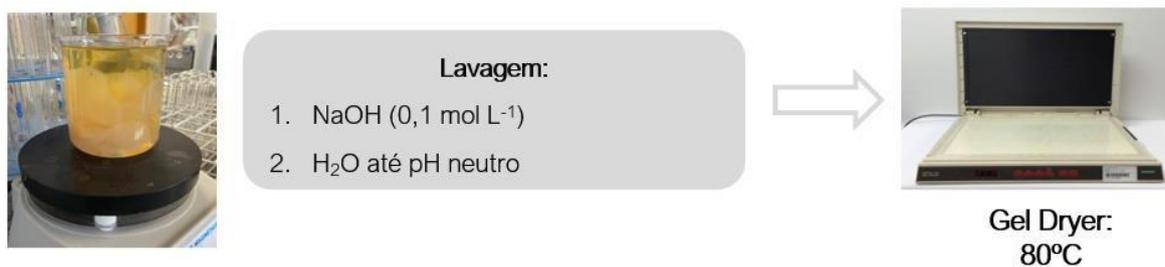
4.1.2 Purificação das membranas de nanocelulose bacteriana

A purificação das membranas da nanocelulose bacteriana possui o intuito de remover as células bacterianas e meios de cultivo remanescentes nas membranas de nanocelulose. A metodologia (Figura 20) foi baseada em Fischer *et al.* (2017).

As membranas de NCB foram coletadas e enxaguadas com água deionizada e, em seguida, foram realizadas lavagens sucessivas por imersão em uma solução de hidróxido de sódio (NaOH) $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. O tempo de cada lavagem foi de 1 hora, até que as membranas apresentassem aspecto opaco esbranquiçado. A remoção do excesso de NaOH foi realizada com sucessivas lavagens com água deionizada, até o pH da solução estar neutro.

Por fim, as membranas de nanocelulose bacteriana foram secas em gel dryer (MODEL 543) a $80 \text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 1 hora.

Figura 20. Representação esquemática dos procedimentos adotados para a purificação e secagem da nanocelulose bacteriana (NCB).



Fonte: Autoria Própria (2023).

4.1.3 Funcionalização da Nanocelulose Bacteriana via oxidação mediada por TEMPO (NCB-COOH)

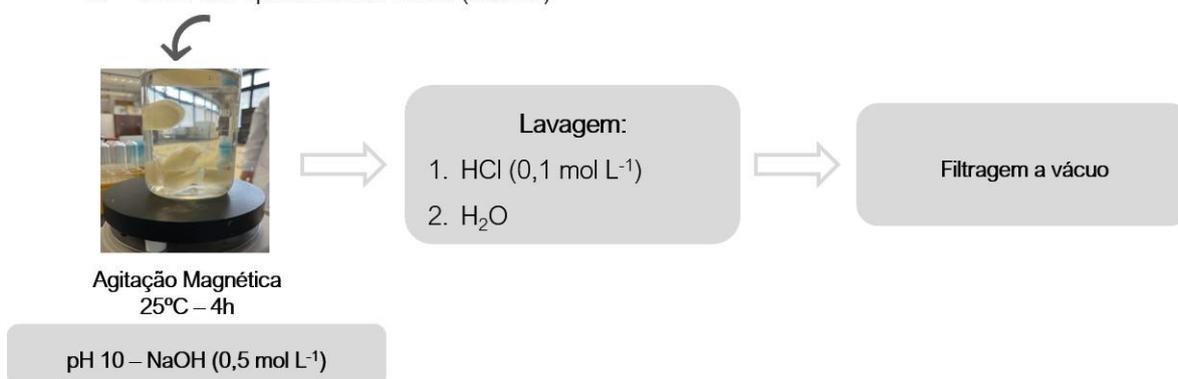
A funcionalização da nanocelulose foi realizada via oxidação mediada por *N*-oxil-2,2,6,6-tetrametilpiperidina (TEMPO). A metodologia empregada foi descrita por Iscuissati, 2020.

Inicialmente, foi preparada uma solução de 50 mL água deionizada, contendo 500 mg da nanocelulose bacteriana seca, 0,50 mg (0,003 mmol) de TEMPO e 10 mg (0,00098 mmol) de brometo de sódio (NaBr), e sob agitação mecânica vigorosa, adicionado hipoclorito de sódio (NaClO) (5 mL), a fim de iniciar o processo de oxidação. O pH da solução foi ajustado para 10, através da adição de gotas de uma solução de hidróxido de sódio (NaOH) $0,5 \text{ mol L}^{-1}$. A solução foi mantida sob agitação magnética à temperatura ambiente durante 4 horas.

Após este período, a solução foi lavada com 200 mL de ácido clorídrico ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) e água. O material obtido denominado NCB-COOH foi filtrada a vácuo, para posterior caracterização. A Figura 21 apresenta uma representação esquemática dos procedimentos adotados para a oxidação da nanocelulose bacteriana (NCB-COOH).

Figura 21. Representação esquemática dos procedimentos adotados para a oxidação da nanocelulose bacteriana (NCB-COOH) via TEMPO.

1. 500 mg de NCB
2. 50 mL de água deionizada
3. 0,50 mg de TEMPO
4. 10 mg de Brometo de Sódio (NaBr)
5. 5 mL de Hipoclorito de Sódio (NaClO)



Fonte: Autoria Própria (2023).

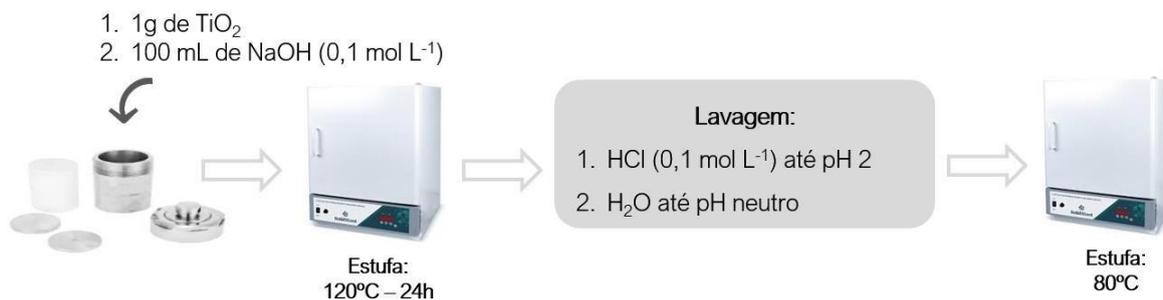
4.2 Síntese dos Nanotubos de Titanato (NtsTi)

Os nanotubos de titanato foram sintetizados através do método alcalino hidrotérmico (Figura 22), a metodologia adotada foi descrita por Kosctiuk, 2019.

O procedimento consistiu em preparar uma solução de 1g do precursor comercial de TiO_2 , o AEROXIDE TiO_2 Degussa P25, em 100 mL de uma solução alcalina de hidróxido de sódio (NaOH) (10 mol L^{-1}). A mistura foi transferida para um reator de Teflon sem controle de pressão interna, este permaneceu em estufa sob aquecimento a temperatura de $120 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 24 horas, sem controle de pressão.

Para remover o excesso da solução básica, a solução foi colocada em decantação, posteriormente o sólido branco remanescente foi lavado com solução ácida ($\text{HCl } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$) até pH 2, seguida de lavagens com água destilada até pH neutro. Após as etapas de lavagem, o material sintetizado foi seco em estufa a $60 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 8 horas.

Figura 22. Representação esquemática dos procedimentos adotados para a síntese dos nanotubos de titanato (NtsTi) pelo método hidrotérmico alcalino.



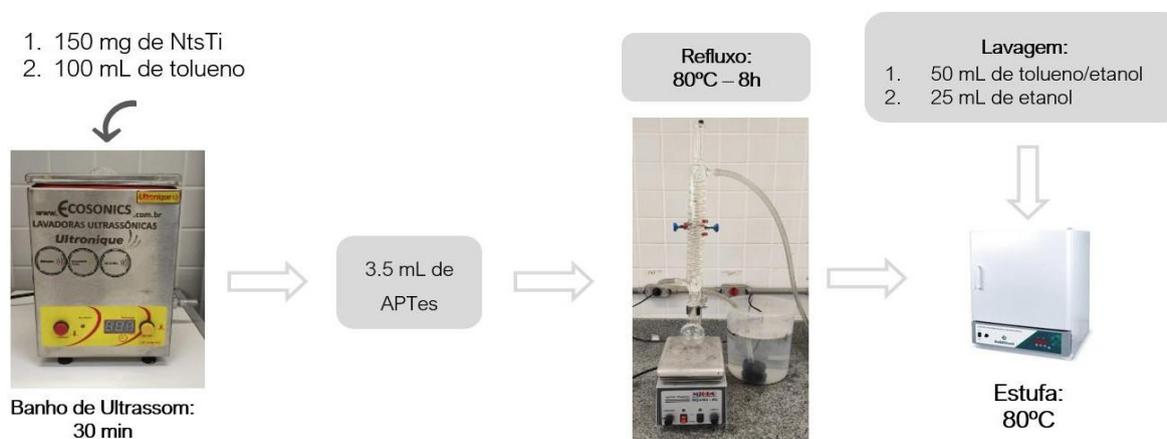
Fonte: Autoria Própria (2023).

4.2.1 Silanização dos Nanotubos de Titanato com APTes

A superfície dos nanotubos de titanato foi funcionalizada por meio da sua silanização com 3-aminopropiltriétoxissilano (APTes), a metodologia foi adaptada de Duong *et al.*, 2018 (Figura 23).

Em um balão de fundo redondo 150 mg dos nanotubos de titanato (NtsTi) foram dispersos em 100 mL de tolueno, esta mistura foi agitada por 30 minutos e colocada sob ultrassom durante 10 minutos. Posteriormente, foi adicionado 5 mmol (3,5 mL) de APTes gota a gota, a mistura permaneceu sob refluxo a temperatura de 80°C por 8 horas. Ao término da reação, os NtsTi funcionalizadas foram lavados com 50 mL de solução de tolueno/etanol (1:1, v/v) e 25 mL de etanol (2 vezes), por fim, secos em estufa a 80°C durante 8 horas, o material formado foi denominado de (NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂).

Figura 23. Representação esquemática dos procedimentos adotados para a silanização dos nanotubos de titanato (NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂) via APTes.



Fonte: Autoria Própria (2023).

4.3 Reação Multicomponente de Ugi

A síntese do nanocompósito (NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂/NCB-COOH) derivado da nanocelulose bacteriana funcionalizada (NCB-COOH) e do nanotubo de titanato silanizado (NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂) foi realizada via reação multicomponente de Ugi (Figura 24), a metodologia foi fundamentada nas referências de Gonzales (2018), Rezaei (2016) e Kzossowski (2013).

Com isso, foram sintetizados nanocompósitos variando a concentração do nanotubo de titanato silanizado (NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂) e da nanocelulose bacteriana oxidada (NCB-COOH), como observado na Tabela 2. A concentração dos demais componentes e do solvente se manteve inalterada.

Tabela 2. Relação da concentração do nanotubo de titanato silanizado (NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂) e da nanocelulose bacteriana oxidada (NCB-COOH) na síntese do nanocompósito de Ugi.

Relação	massa de NtsTi-Si(CH ₂) ₃ NH ₂	massa de NCB-COOH
1:1	100 mg	100 mg
2:1	100 mg	50 mg
3:1	150 mg	50 mg
4:1	200 mg	50 mg

Fonte: Autoria Própria (2023).

Em um frasco contendo 5 mL de metanol, foi adicionado o nanotubo de titanato silanizado (NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂) e 10 mL de benzaldeído (1 mmol). A mistura foi mantida sob agitação à temperatura ambiente por uma hora. Em seguida, adicionou-se o 0,29 mL de cicloexilisocianeto (1 mmol) e a nanocelulose bacteriana funcionalizada (NCB-COOH). A mistura foi mantida sob agitação à temperatura ambiente por 24 horas.

Após transcorrido o tempo, a mistura da reação foi lavada com 15 mL de uma solução saturada de bicarbonato de sódio (NaHCO₃) e o nanocompósito foi filtrado a vácuo.

Figura 24. Representação esquemática dos procedimentos adotados para a síntese do nanocompósito (NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂/NCB-COOH) via reação multicomponente de Ugi entre a nanocelulose bacteriana funcionalizada (NCB-COOH) e do nanotubo de titanato silanizado (NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂).

1. 5 mL de Metanol
2. NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂
3. 10 mL de Benzaldeído (1 mmol)

1. 0,29 mL de cicloexilisocianato (1 mmol)
2. NCB-COOH



Fonte: Autoria Própria (2023).

4.4 Caracterização dos materiais sintetizados

4.4.1 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) acoplada a Espectroscopia de raios-X por dispersão em energia (EDS)

Com a MEV foi realizada a análise da superfície morfológica a nível micrométrico das amostras, em conjunto com a técnica EDS, utilizada a fim de realizar uma análise qualitativa sobre a composição química dos materiais sintetizados.

Para a realização da análise, as amostras foram submetidas a um tratamento de deposição de ouro e metalizada, a fim de tornar os materiais condutores. A Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) foi realizada no Centro Multiusuário de Caracterização de Materiais (CMCM) da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), usando um equipamento MEV Carl Zeiss EVO MAIS equipado com um detector de Espectroscopia de raios-X por dispersão em energia (EDS), o EDSX-Max de 20mn² e WDS Inca Wave 500, ambos da Oxford Instruments.

4.4.2 Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)

Com o intuito de verificar a estrutura bidimensional dos materiais, a Microscopia Eletrônica de Transmissão (TEM) foi realizada utilizando um equipamento da marca JEOL JEM 1200EX-II, localizado no CME-UFPR (Centro de

Microscopia Eletrônica da Universidade Federal do Paraná), com resolução do equipamento de 0,5 nm. Para a preparação das amostras, estas foram homogeneizadas em etanol ou água em um banho de ultrassom e gotejada sobre a tela de cobre de 300 mesh com filme de formvar/carbono.

4.4.3 Difração de raios-X em pó (DRX)

A difração de raios-X (DRX) foi utilizada para avaliar o grau de cristalinidade bem como a fase polimórfica presente nos materiais.

A caracterização por DRX foi realizada utilizando um equipamento D2 PHASER equipado com radiação de cobre (tubo selado), filtro de níquel e detector LYNXEYE do Centro Multiusuário de Caracterização de Materiais (CMCM) da Universidade Tecnológica Federal do Paraná. O difratograma foi registrado com varredura angular 2θ entre 5 e 80° na geometria de Bragg Brentano, a programação foi $0,02^\circ$ para o campo de amostragem e o tempo predefinido de 0,6 segundos.

A partir dos dados de DRX o índice de cristalinidade (CrI) da nanocelulose bacteriana pode ser calculado de acordo com a intensidade medida para dois picos de difração no padrão de difração de raios X da amostra celulósica (Segal *et al.*, 1959). O valor CrI é dado pela seguinte equação empírica (equação 1):

$$\text{Equação 1} \quad CrI = \frac{I_{002} - I_{Am}}{I_{002}} \times 100$$

Sendo I_{002} a intensidade máxima do pico de difração da rede (002) e I_{Am} é a intensidade mínima entre os picos de (002) e (101) da parte amorfa da amostra (Dufresne, 2012).

Da mesma forma, o grau de cristalinidades dos nanotubos de titanato, podem ser calculados com base nos dados de DRX, a partir da equação empírica (equação 2):

$$\text{Equação 2} \quad XC (\%) = \frac{\text{área cristalina}}{\text{área total}} \times 100$$

4.4.4 Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

A análise de espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) foi realizada com o intuito de investigar os grupos funcionais presentes nas amostras.

Para analisar as amostras utilizou-se pastilhas de Brometo de Potássio (KBr) ou reflexão total atenuada (ATR), sendo as medidas realizadas no intervalo de 400 a 4000 cm^{-1} . Foram utilizados os equipamentos FTS 3500GX série Excalibur e Vertex 70, ambos da BRUKER disponíveis no Laboratório de Espectroscopia de Absorção no Infravermelho da Universidade Federal do Paraná.

4.4.5 Análise Termogravimétrica (TGA)

A análise termogravimétrica (TGA) foi realizada com o intuito de analisar a variação da massa da amostra, em função da temperatura dos materiais.

A TGA foi realizada com analisador térmico Perkin Elmer, modelo STA 6000. As curvas TGA/DTGA foram obtidas aquecendo as amostras de 50 a 700 $^{\circ}\text{C}$ a uma taxa de aquecimento de 10 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$ sob atmosfera de N_2 (50 mL min^{-1}), em cadinho de alumínio, disponível no Central Analítica Multiusuário (CEANMED) da Universidade Tecnológica Federal do Paraná - Campus Medianeira.

4.4.6 Ressonância Magnética Nuclear de Carbono (RMN ^{13}C)

A análise de ressonância magnética nuclear de carbono possui o objetivo de identificar a estrutura do nanocompósito obtido via reação multicomponente de Ugi entre a nanocelulose bacteriana oxidada e o nanotubo de titanato silanizado.

A caracterização foi realizada em uma amostra sólida. A análise foi realizada no espectrômetro Espectrômetro Bruker Avance 9,4T, observando o carbono na frequência de 100 MHz sonda CPMAS 4mm, sequência de pulso: cp.av, TD 2K, SW 260 ppm, ns 2K, disponível no Laboratório de Ressonância Magnética Nuclear (LabRMN), presente na Universidade Federal do Paraná (UFPR).

4.4.7 Atividade antimicrobiana

O teste de atividade antimicrobiana foi realizado com o objetivo de avaliar a eficiência dos nanotubos de titanato (NtsTi) e dos nanotubos de titanato funcionalizados (NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂) bem como, o nanocompósito NtsTi-

$\text{Si}(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2/\text{NCB-COOH}$, obtido através da reação de Ugi em inibir o crescimento de dois patógenos mais comumente encontrado no ser humano, as bactérias gram positiva e gram-negativa, *Staphylococcus aureus* e a *Escherichia coli*, respectivamente. As cepas bacterianas foram cedidas pelo Laboratório de Pesquisa Relacionada à Biomassa e Bioenergia (LAPREBB) da Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

Os testes antimicrobianos foram realizados em placas de Petri com meio ágar nutriente, onde as cepas bacterianas foram dispersas. Os testes foram realizados em duplicata para cada espécie de bactéria.

Para as amostras de NtsTi e NtsTi- $\text{Si}(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2$ foram preparados 5 discos de análise de 6 mm, sendo um disco para a solução branca e os demais para as soluções de NtsTi e NtsTi- $\text{Si}(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2$ em concentrações de 12,5, 25, 50 e 100 mg L^{-1} . Para o nanocompósito NtsTi- $\text{Si}(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2/\text{NCB-COOH}$ a amostra na forma de filme de 6 mm foi posicionada sobre o meio presente nas placas de Petri.

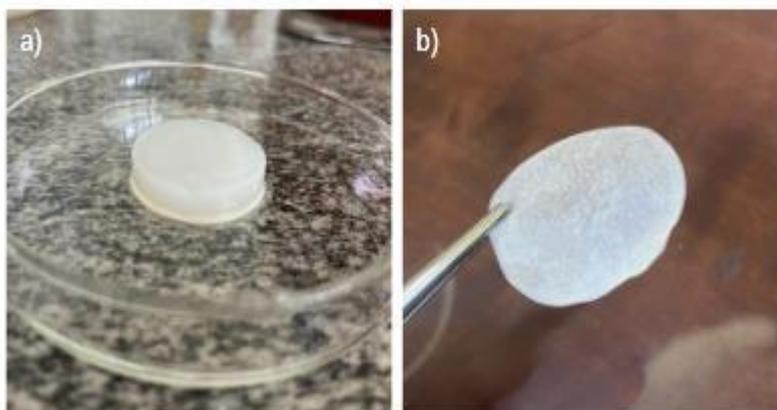
Após o preparo das placas, as amostras foram colocadas em estufa bacteriológica a 28 °C durante 24 horas para investigar o crescimento bacteriano e a formação de halo de inibição.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Síntese e caracterização da nanocelulose bacteriana (NCB) e da nanocelulose bacteriana funcionalizada com TEMPO (NCB-COOH)

Os biofilmes de nanocelulose bacteriana produzidos pela bactéria *Komagataeibacter hansenii* foram obtidos na forma hidrogel com aspecto gelatinoso e translúcido (Figura 25.a), que após secagem forma-se uma membrana (Figura 25.b). A nanocelulose bacteriana seca foi funcionalizada com o agente oxidante TEMPO e caracterizada.

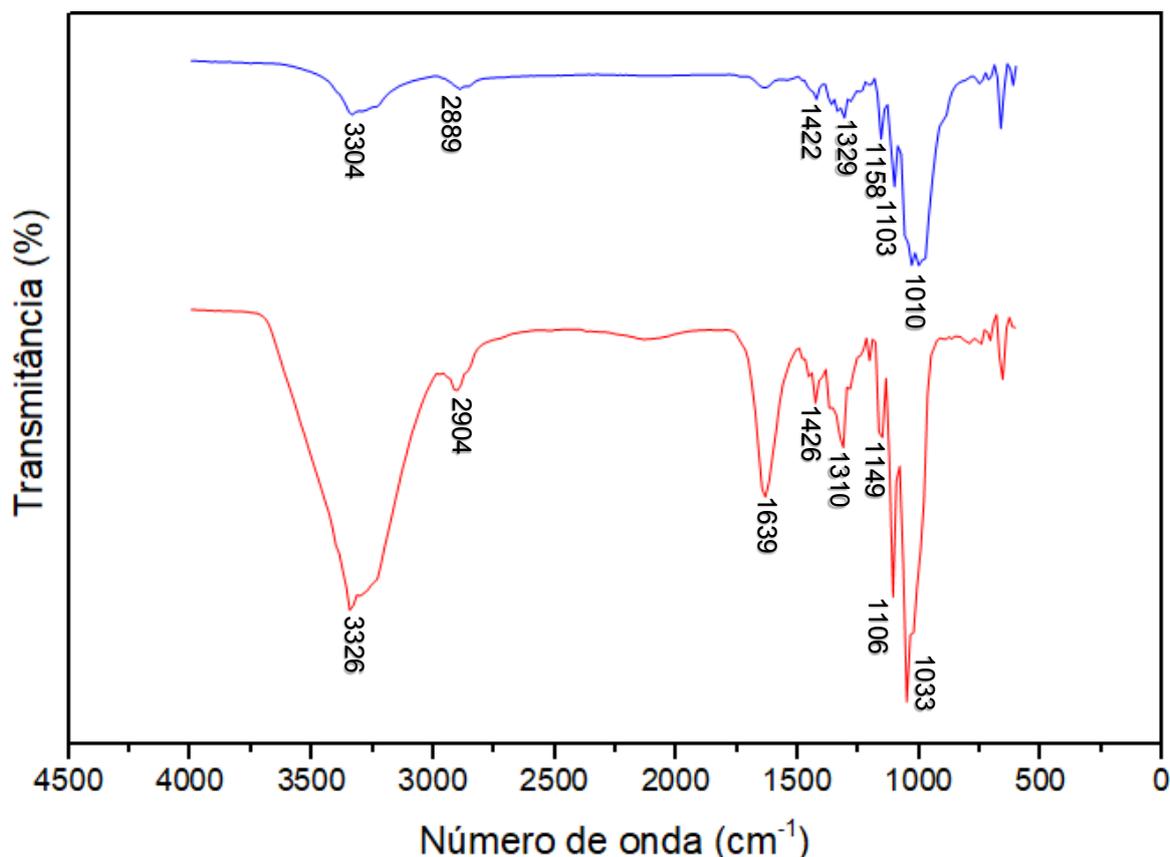
Figura 25. Membrana de nanocelulose bacteriana (a) na forma hidrogel após etapa de purificação; (b) na forma de membrana após etapa de secagem em gel dryer.



Fonte: Autoria Própria (2023).

Para realizar a confirmação da produção e oxidação da nanocelulose bacteriana foi realizada a análise de Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) por reflexão total atenuada (ATR). O espectro de FTIR da nanocelulose bacteriana (NCB) e da nanocelulose bacteriana oxidada (NCB-COOH) estão representados na Figura 26.

Figura 26. Espectro De FTIR da nanocelulose bacteriana (NCB), linha azul e da nanocelulose bacteriana oxidada (NCB-COOH), linha vermelha.



Fonte: Autoria Própria (2023).
Nota: Condições reacionais: FTIR-ATR.

A NCB e a NCB-COOH apresentam as bandas características em 3304 e 3326 cm^{-1} , respectivamente, as quais são referentes a vibração de estiramento O–H provenientes das ligações de hidrogênio intra e intermolecular da celulose. A banda em 2889 cm^{-1} (NCB) e 2904 cm^{-1} (NCB-COOH) é referente ao estiramento C–H, presentes na estrutura da nanocelulose (Godinho, *et al.*, 2016; Jafary, 2014; Stanilawska, 2021).

Outras bandas também são similares para ambas as amostras de nanocelulose (NCB e NCB-COOH). Tem-se as ligações O–C–H, em 1422 cm^{-1} para a NCB e em 1426 cm^{-1} para a NCB-COOH, e as vibrações no plano das ligações H–C–H em 1329 e 1310 cm^{-1} para NCB e NCB-COOH, respectivamente (Godinho, *et al.*, 2016; Jafary, 2014; Stanilawska, 2021).

Além disso, também apresentam as bandas referentes às unidades de glicose unidas por ligações β -(1→4) glicosídicas lineares, logo, tem-se a ligação C–O–C, estiramento antissimétrico da ligação β -glicosídica em 1158 cm^{-1} para a

nanocelulose bacteriana e em 1149 cm^{-1} para a nanocelulose oxidada, o estiramento do anel de glicose (C—O) na NCB (1103 cm^{-1}) e na NCB-COOH (1106 cm^{-1}) e a vibração do esqueleto do anel de piranose (C—O—C) em 1010 cm^{-1} para a NCB e 1033 cm^{-1} para a NCB-COOH (Godinho, *et al.*, 2016; Jafary, 2014; Stanilawska, 2021).

Para a nanocelulose funcionalizada (NCB-COOH) observa-se uma banda em 1639 cm^{-1} , característica do estiramento da carbonila (C=O) presente nas ligações do grupo carboxílico (-COOH), a partir desse dado é possível confirmar a formação de grupos carboxilatos nas paredes da nanocelulose, evidenciando a funcionalização da nanocelulose bacteriana (Zhang *et al.*, 2015).

A Tabela 3 e 4 resume as atribuições para as principais bandas de FTIR da nanocelulose bacteriana e da nanocelulose bacteriana oxidada por TEMPO, respectivamente.

Tabela 3. Resumo dos espectros de FTIR-ATR na investigação dos grupos funcionais da nanocelulose bacteriana (NCB).

Número de onda (cm^{-1})	Atribuição das bandas
1010	C—O—C, vibração do esqueleto do anel piranose
1103	C—O, estiramento do anel de glicose
1158	C—O—C, estiramento antissimétrico da ligação β -glicosídica
1329	vibração no plano de ligações H-C-H
1422	vibração no plano das ligações O—C—H
2889	estiramento C-H
3304	vibração de estiramento O – H

Fonte: Autoria Própria (2023).

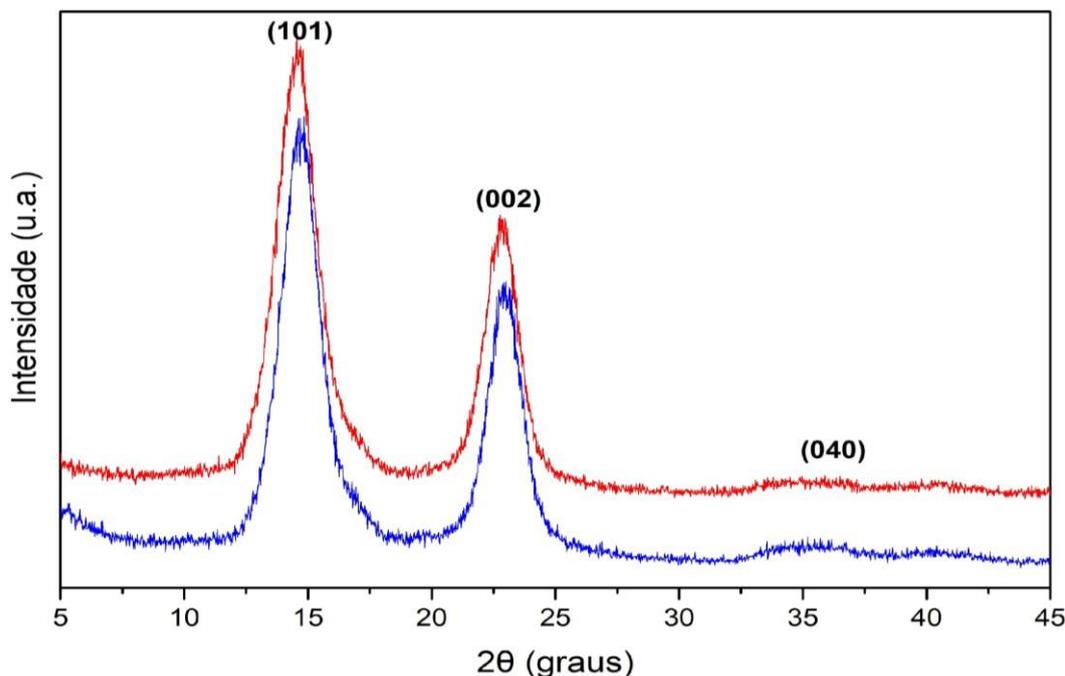
Tabela 4. Resumo dos espectros de FTIR-ATR na investigação dos grupos funcionais da nanocelulose bacteriana oxidada (NCB-COOH).

Número de onda (cm⁻¹)	Atribuição das bandas
1033	C—O—C, vibração do esqueleto do anel piranose
1106	C—O, estiramento do anel de glicose
1149	C—O—C, estiramento antissimétrico da ligação β-glicosídica
1310	vibração no plano de ligações H-C-H
1426	vibração no plano das ligações O—C—H
16629	estiramento da carbonila C=O
2904	estiramento C-H
3326	vibração de estiramento O – H

Fonte: Aatoria Própria (2023).

Ampliando as técnicas de análises das amostras, foi realizada o Difratoograma de Difração de raios-X (DRX) para verificar as propriedades cristalinas, bem como, as fases presentes na nanocelulose bacteriana e na nanocelulose bacteriana oxidada (Figura 27).

Figura 27. Difratoograma de Difração de raios-X (DRX) da nanocelulose bacteriana (NCB), linha azul e da nanocelulose bacteriana oxidada (NCB-COOH), linha vermelha.



Fonte: Autoria Própria (2023).

A NCB e a NCB-COOH possuem a mesma natureza cristalina, ambas com um espectro característico de três picos nas posições angulares de 2θ em aproximadamente $14,6^\circ$, $22,8^\circ$ e $34,9^\circ$ atribuídos aos planos (101), (002) e (040), respectivamente (Dufresne, 2012; Godinho *et al.*, 2016; Castro, 2011; Islam, 2013; Godinho, 2016).

Desse modo, as amostras apresentam as cadeias de celulose organizadas de forma paralela, formando planos que são unidos por ligações de hidrogênio, característicos da celulose polimorfo I (Nascimento, 2018).

Com base na equação 1, obteve-se o valor do índice de cristalinidade (Crl) da nanocelulose bacteriana. De acordo com o difratograma da NCB tem-se $I_{002} = 782$ e $I_{Am} = 125$ e para a amostra de NCB-COOH $I_{002} = 946$ e $I_{Am} = 298$, portanto o índice de cristalinidade para a NCB e NCB-COOH são de 84 e 68%, respectivamente.

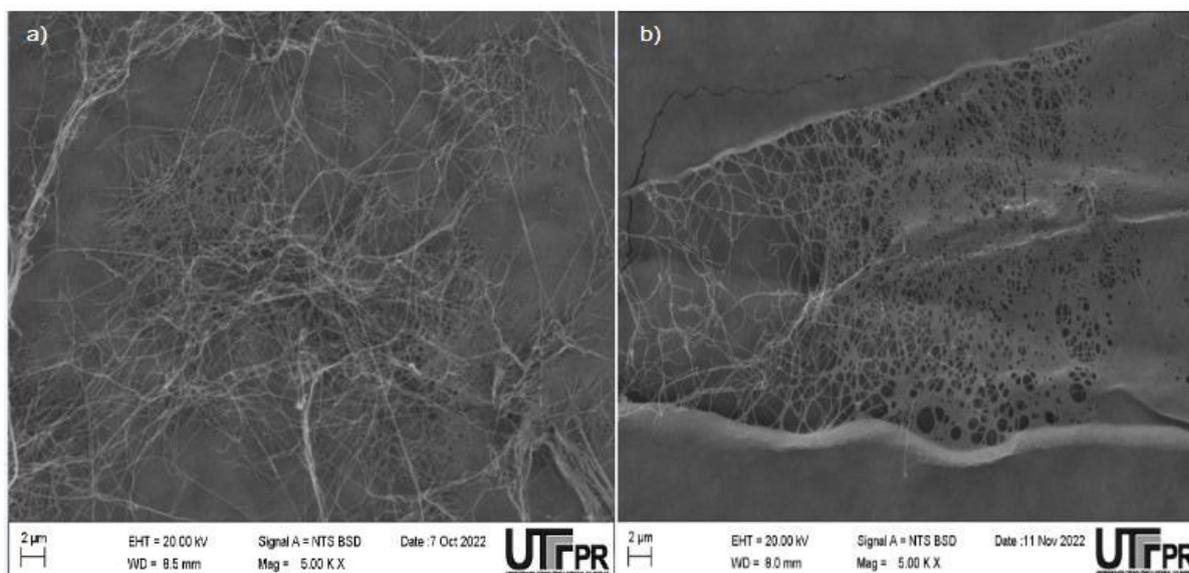
Observa-se uma diminuição da cristalinidade da NCB após a funcionalização, decorrendo da alteração morfológica da nanocelulose bacteriana. Entretanto há um satisfatório grau de cristalinidade para ambas as nanoceluloses, visto que os resultados corroboram com a literatura, que relata uma média de 65% a 79% de cristalinidade da NCB (Pielak, 2019; Rodrigues, 2012).

A fim de observar a morfologia da nanocelulose bacteriana e da nanocelulose bacteriana oxidada foram realizadas técnicas de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET).

A partir das micrografias obtidas através do MEV foi possível observar que a nanocelulose bacteriana apresenta fibrilas de celulose formando arranjos entre si (Figura 28.a) (Fischer *et al.*, 2017). A NCB apresenta o formato de uma rede granulada que está conectada por fibrilas de diferentes tamanhos gerados pela interface entre o ar e o meio, assim como descrito na literatura (Godinho *et al.*, 2016).

A micrografia da nanocelulose funcionalizada (NCB-COOH) (Figura 28.b) apresenta estrutura de uma rede fibrilada de diferentes tamanhos, mas com uma menor quantidade de fibrilas em comparação com NCB. Os grupos carboxílicos presentes na superfície da nanocelulose (NCB-COOH) podem influenciar a desagregação das fibrilas, assim como os processos de secagem (Lai *et al.*, 2014).

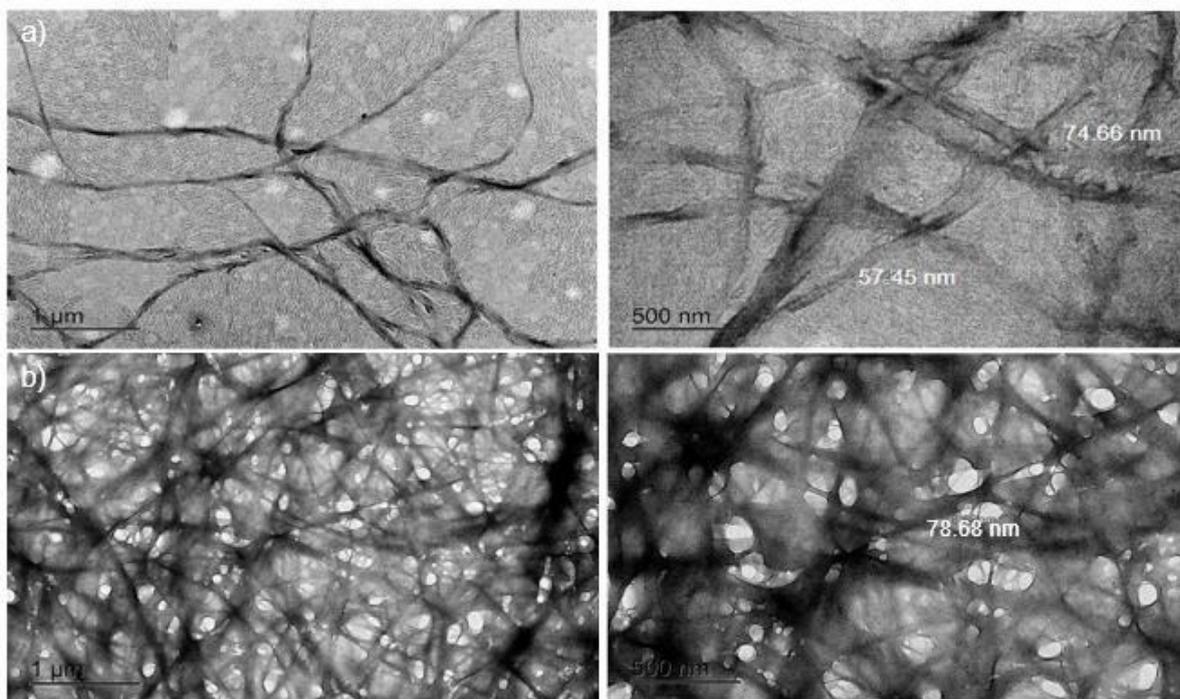
Figura 28. Micrografias de Microscopia eletrônica de Varredura (MEV) (a) nanocelulose bacteriana (NCB); (b) nanocelulose bacteriana oxidada (NCB-COOH).



Fonte: Autoria Própria (2023).

De acordo com as micrografias de MET da nanocelulose bacteriana (NCB) e da nanocelulose bacteriana oxidada (NCB-COOH) (Figura 29), ambas possuem a morfológica composta por poros de diferentes tamanhos que se estendem por toda a sua estrutura, por meio de redes de fibrilas com diâmetro variando entre 57 a 78 nm, valores que estão de acordo com os reportados na literatura para nanofibras de celulose de diferentes fontes (Godinho, *et al.*, 2015; Stanilawska, 2016).

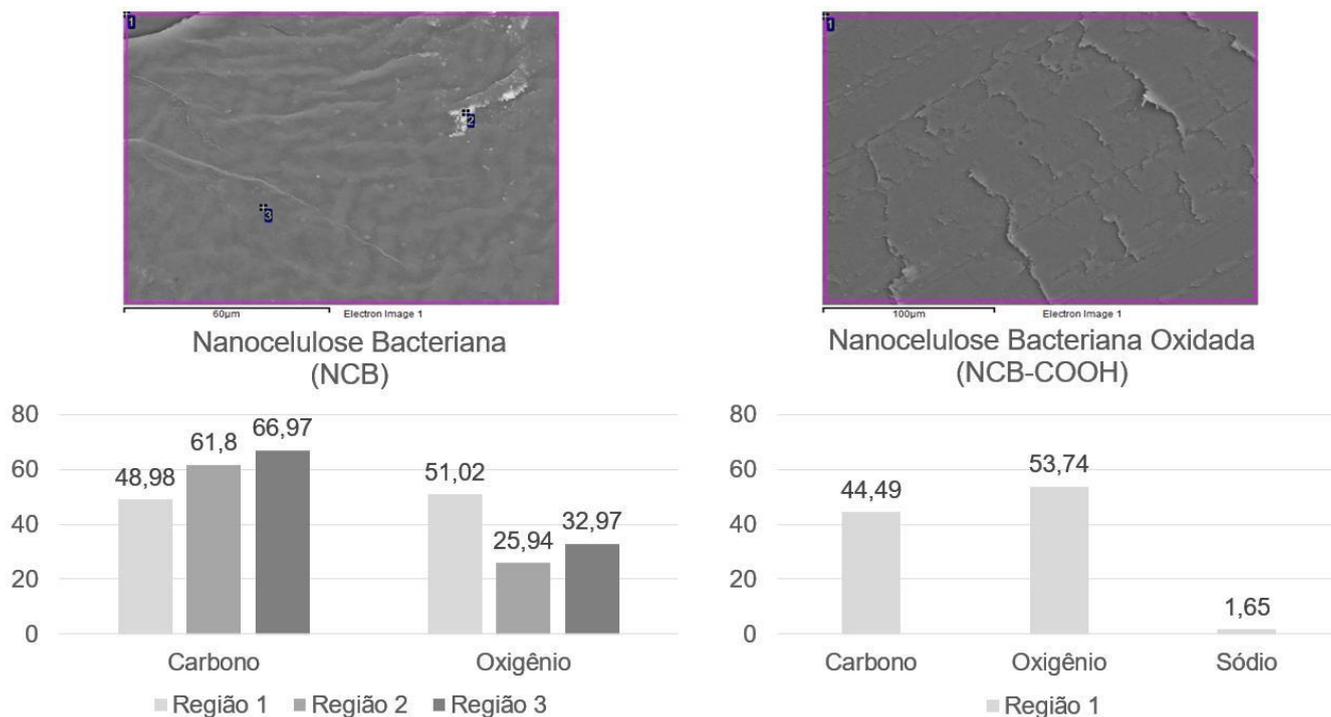
Figura 29. Micrografia de Microscopia eletrônica de Transmissão (MET) (a) nanocelulose bacteriana (NCB); (b) nanocelulose bacteriana oxidada (NCB-COOH).



Fonte: Autoria Própria (2023).

A nanocelulose bacteriana (NCB) e a oxidada (NCB-COOH) também foram analisadas por espectroscopia de energia dispersiva (EDS), a fim de analisar qualitativamente os elementos químicos presentes no material. A região analisada para as amostras é apresentada na imagem 30, assim como a porcentagem qualitativa da composição elementar das amostras.

Figura 30. Região analisada na espectroscopia de raios-X por dispersão em energia (a) nanocelulose bacteriana (NCB); (b) nanocelulose bacteriana oxidada (NCB-COOH).



Fonte: Autoria Própria (2023).

Foram encontrados em ambos os materiais quantidades significativas de Carbono e Oxigênio, elementos característicos da composição química da nanocelulose bacteriana (Fischer *et al.*, 2017).

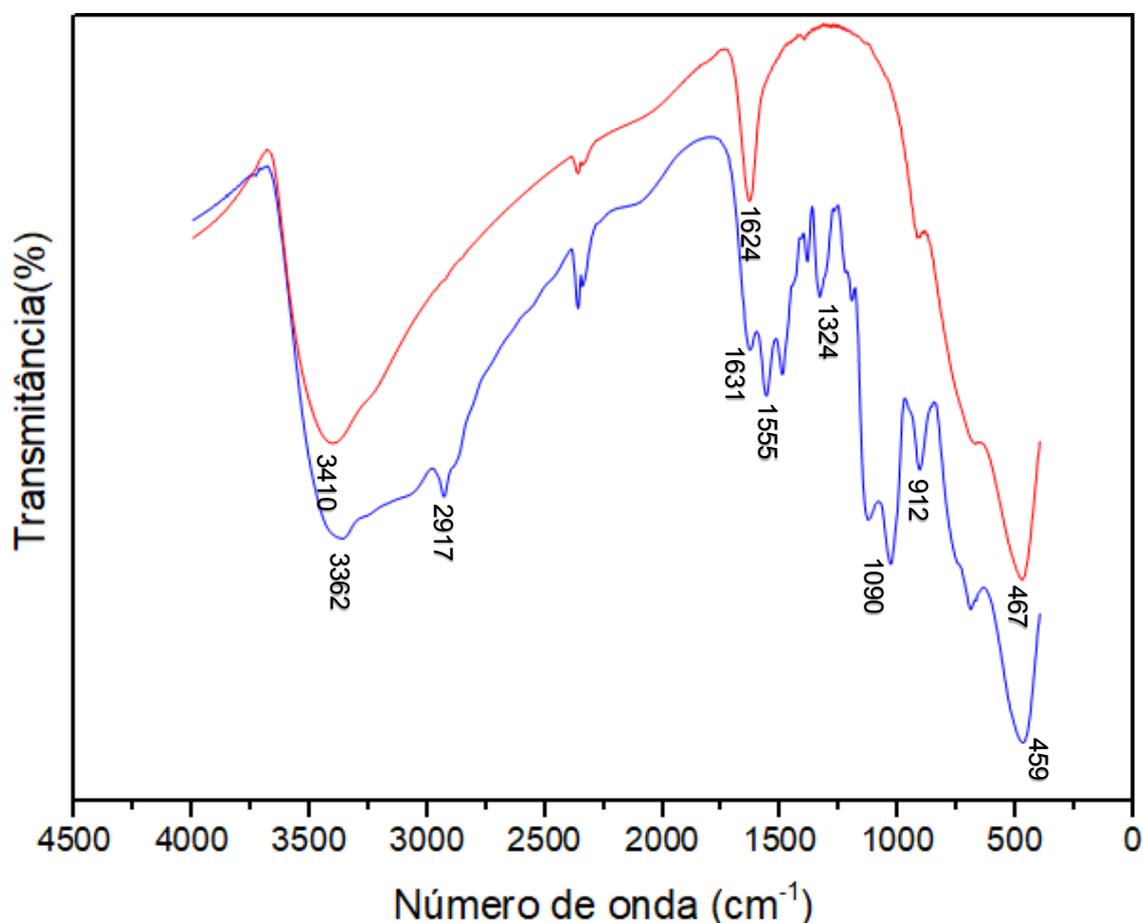
A partir dos resultados obtidos por meio das análises realizadas sugere-se uma efetiva produção e oxidação da nanocelulose bacteriana.

5.2 Síntese e caracterização do nanotubos de titanato (NtsTi) e do nanotubos de titanato silanizado com APTes (NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂).

Os NtsTi sintetizados foram obtidos na forma de um pó branco e fino, bem como o material silanizado (NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂), que apresentou o mesmo aspecto.

Para indicar a síntese do nanotubo de titanato e a sua silanização com o APTes foi realizada a análise de Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR). A Figura 31 é referente ao espectro de FTIR para o NtsTi e o nanotubo silanizado (NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂), preparados com pastilhas de KBr.

Figura 31. Espectro de FTIR. (a) nanotubo de titanato (NtsTi), linha vermelha; (b) nanotubo de titanato funcionalizado com APTes (NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂), linha azul.



Fonte: Autoria Própria (2023).
Condições Reacionais: pastilha de KBr.

O espectro do nanotubo de titanato (NtsTi) (linha vermelha) apresenta as bandas características da amostra, sendo uma banda larga em 3310 cm⁻¹, referente ao estiramento das ligações O-H superficiais provenientes da ligação Ti-OH, uma banda localizada entre 1624 cm⁻¹, referente ao estiramento da ligação da hidroxila de Ti-OH e uma banda localizada em 467 cm⁻¹ atribuída à vibração dos átomos de oxigênio ligados a estrutura Ti-O, (Pettignano *et al.*, 2020; Pontón *et al.*, 2014).

A Tabela 5 resume as atribuições das bandas de FTIR do nanotubo de titanato (NtsTi).

Tabela 5. Resumo dos espectros de FTIR-KBr na investigação dos grupos funcionais do nanotubo de titanato (NtsTi).

Número de onda (cm ⁻¹)	Atribuição das bandas.
------------------------------------	------------------------

424	vibração dos átomos de oxigênio ligados a estrutura Ti-O
1624	estiramento da ligação Ti-OH
3410	Vibração de estiramento O-H

Fonte: Autoria Própria (2023).

Em relação à análise de FTIR dos nanotubos de titanato silanizados (NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂) (linha azul) nota-se as bandas em 1090 cm⁻¹, as quais são típicas para alcoxissilano, que surgem principalmente das vibrações de estiramento assimétrico da ligação Si-O-Si, indicando a reação de condensação entre os grupos silanol (Ognjanoviya *et al.*, 2020; Duong *et al.*, 2018).

Para o NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂, as bandas localizadas em 1555 cm⁻¹ correspondem aos grupos NH₂, esta banda sugere a presença de grupos aminopropil na superfície dos nanotubos. Assim, como a banda referente a vibração de estiramento do grupo C-N em 1324 cm⁻¹, demonstrando que o NtsTi foi silanizado. Também foi possível visualizar as bandas de vibração de estiramento assimétrica C-H (do grupo metileno -CH₂-) em 2912 cm⁻¹, a de estiramento da ligação Ti-O-Si em 912 cm⁻¹ e banda localizada entre 1631 cm⁻¹, referente ao estiramento da ligação da hidroxila de Ti-OH residuais (DUONG *et al.*, 2018; Hamciuc *et al.*, 2015).

A Tabela 6 resume as atribuições para as principais bandas de FTIR do nanotubo de titanato silanizado (NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂), respectivamente.

Tabela 6. Resumo dos espectros de FTIR-KBr na investigação dos grupos funcionais do nanotubo de titanato (NtsTi) e o nanotubo de titanato silanizado (NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂).

Número de onda (cm ⁻¹)	Atribuição das bandas.
459	vibração dos átomos de oxigênio ligados a estrutura Ti-O
912	estiramento da ligação Ti-O-Si
1090	vibrações de estiramento assimétrico da ligação Si-O-Si

1324	a vibração de estiramento do grupo C-N
1555	vibração do grupo NH ₂
1631	estiramento da ligação Ti-OH
2917	estiramento C-H
3350	Vibração de estiramento O-H

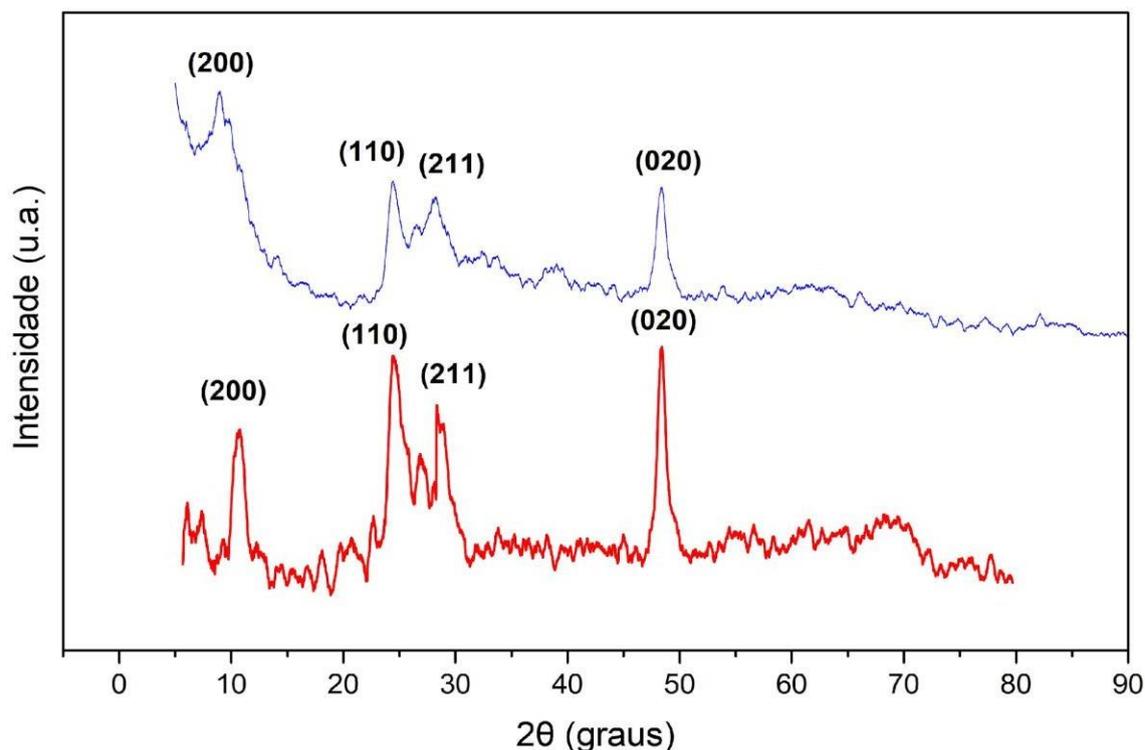
Fonte: Autoria Própria (2023).

Assim, através das análises de FTIR, pode-se inferir que o nanotubo de titanato foi silanizado resultando em modificação estrutural da superfície com o agente de acoplamento silano.

Em busca de amplificar os indícios da síntese e silanização do nanotubo de titanato, assim como para analisar o grau de cristalinidade e as fases cristalinas das amostras utilizou-se a técnica de caracterização por Difrações de raios-X (DRX).

Os difratogramas representados na Figura 32 demonstram que os nanotubos de titanato (NtsTi) e os nanotubos de titanato silanizados (NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂) não apresentam um elevado grau de cristalinidade, tendo em vista que materiais com grande cristalinidade são evidenciados por alta intensidade do pico, os quais são gerados pela colisão com planos intersticiais dos raios-x em direções ordenadas. Para materiais pouco cristalinos, os raios-x são distribuídos aleatoriamente no plano, proporcionando um amplo espectro na faixa de 2θ , e conseqüentemente, a intensidade dos picos obtidos são menores (Obando *et al.*, 2019).

Figura 32. Difratoograma de Difração de raios-X em pó (DRX) (a) nanotubo de titanato (NtsTi), linha azul e (b) nanotubo de titanato silanizado (NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂), linha vermelha.



Fonte: Autoria Própria (2023).

Através do difratograma, observa-se que ambos os nanotubos de titanatos sintetizados apresentam em sua composição fases cristalinas anatase, que correspondem aos picos nas posições angulares de difrações (2θ) em 10°, 24,5°, 28° e 48°, atribuídos aos planos cristalográficos (200), (110), (211) e (200), respectivamente (Duong *et al.*, 2017). Logo, a silanização do nanotubo não altera a fase cristalina do material, mas o aumento da intensidade dos picos para o nanotubo de titanato silanizado, indica um aumento na cristalinidade (Ognjanoviya *et al.*, 2020).

A partir dessa equação 2, obteve-se os graus de cristalinidade de 7% e 25% para o NtsTi e NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂, respectivamente. Com isso, evidencia-se que a silanização com o APTes aumenta a cristalinidade do material.

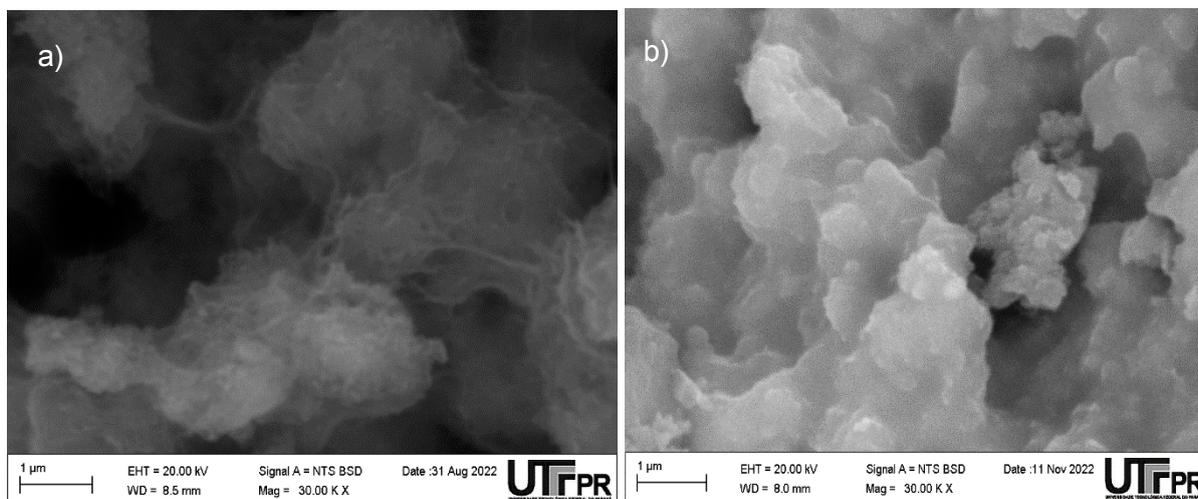
Em geral, os nanotubos de titanato obtidos através do tratamento hidrotérmico alcalino com NaOH possuem a composição Na₂Ti₃O₇. A presença de Na⁺ ocorre devido à alta alcalinidade do ambiente onde os nanotubos são formados, e corrobora com a análise de espectroscopia de energia dispersiva (EDS) (Ferreira *et al.*, 2006; Kasuga, 2006).

Contudo, quando o material é lavado com solução ácida (HCl), a relação Na/Ti diminui devido à troca catiônica de Na^+ por H^+ , logo, a fórmula química do nanotubo é descrita por $\text{Na}_{2-x}\text{H}_x\text{Ti}_3\text{O}_7 \cdot n\text{H}_2\text{O}$, sendo que o valor de x varia conforme o processo de lavagem é realizado (Ferreira *et al.*, 2006; Kasuga, 2006).

Além disso, os picos largos e sobrepostos são atribuídos ao efeito de curvatura nas camadas atômicas para formar a estrutura tubular do nanotubo, o que indica que os nanotubos de titanato possuem paredes múltiplas (Ferreira *et al.*, 2006).

Com o intuito de observar a morfologia característica do nanotubo de titanato foram realizadas técnicas de microscopias. Sendo assim, através das micrografias de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) do NtsTi (Figura 33.a) e do material silanizado (NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂) (Figura 33.b), observa-se uma morfologia amorfa com indícios de estruturas na forma de fios aglomerados na escala nanométrica, não sendo possível confirmar a formação de nanotubos.

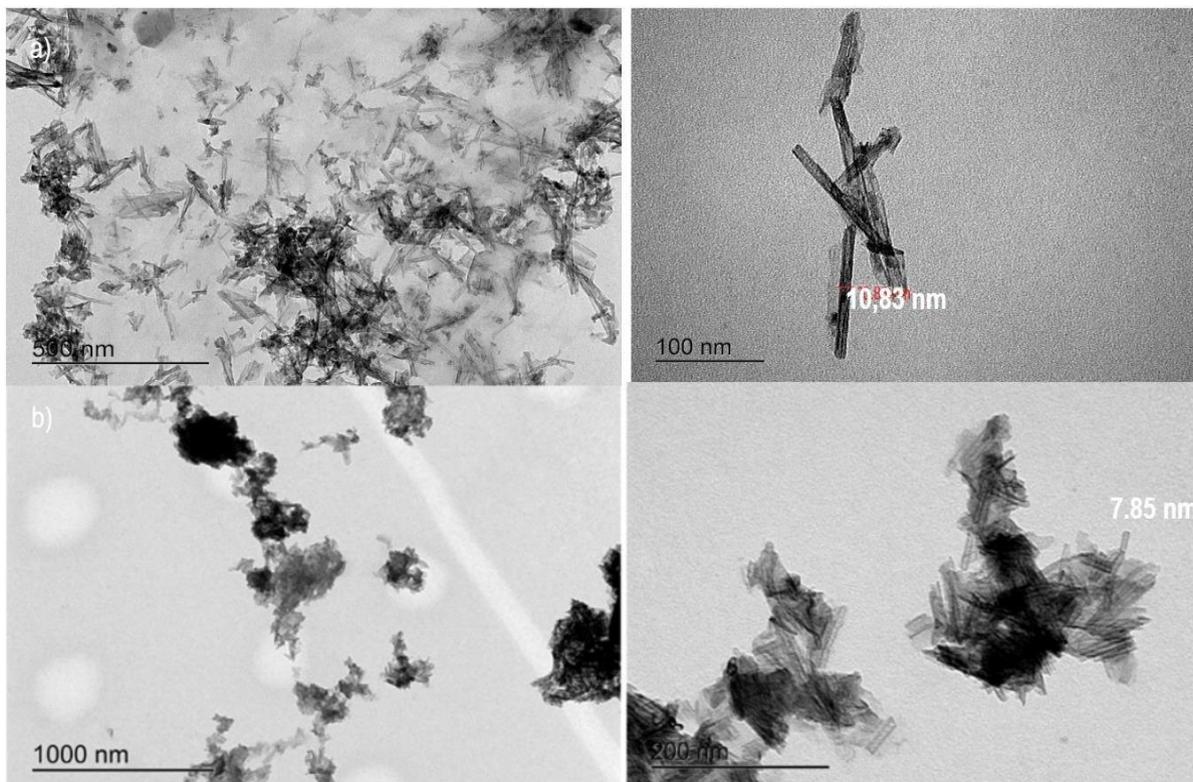
Figura 33. Micrografia de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) (a) nanotubo de titanato (NtsTi) e (b) nanotubo de titanato funcionalizado com APTes (NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂).



Fonte: Autoria Própria (2023).

Já com as micrografias obtidas por Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) foi possível avaliar a morfologia dos nanotubos de titanato, bem como, as mudanças morfológicas após a silanização do nanotubo. A partir das imagens de MET (Figura 34.a) observa a formação dos nanotubos de titanato (NtsTi), de paredes múltiplas confirmando o enrolamento das camadas em nanotubos, fato que corrobora com os dados obtidos na difração de raios-x.

Figura 34. Imagens de Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) (a) nanotubo de titanato (NtsTi) e (b) nanotubo de titanato funcionalizado com APTes (NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂).



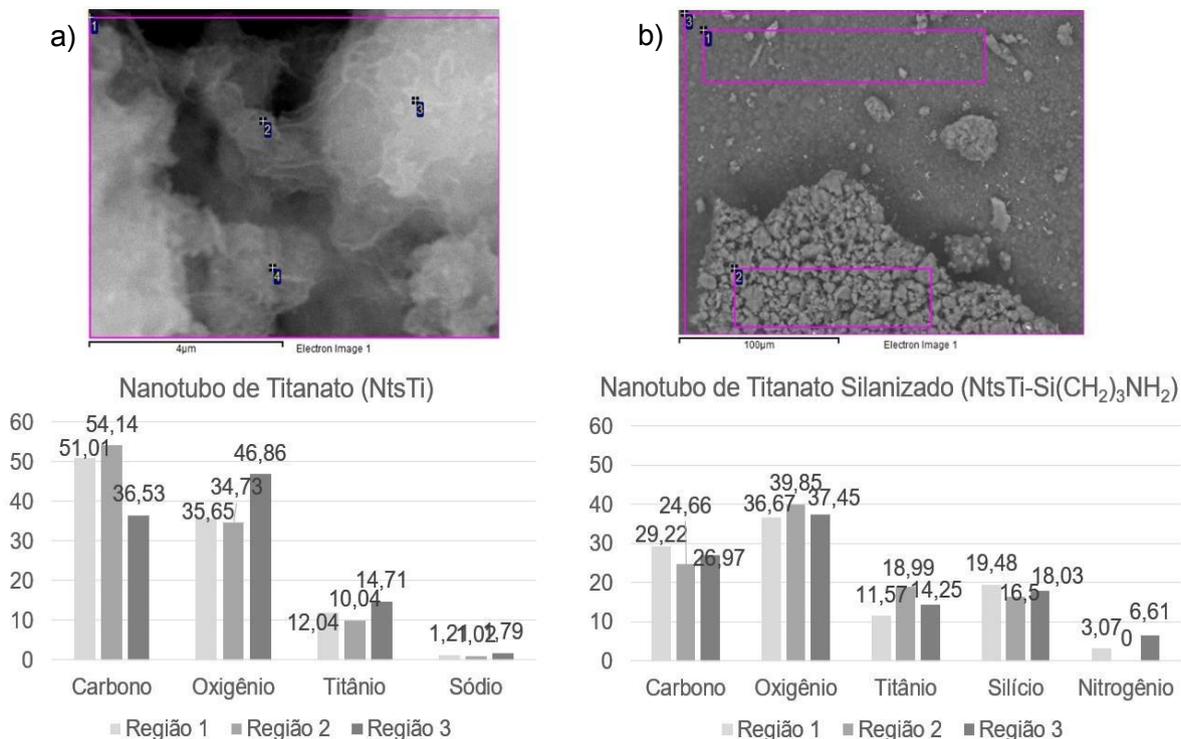
Fonte: Autoria Própria (2023).

Os NtsTi e os nanotubos silanizados (NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂) apresentam estruturas nanométricas e tubulares ocas, com diâmetros entre 10 e 11 nm, o que está de acordo com o padrão reportado na literatura para nanotubos de titanato sintetizados pelo método alcalino hidrotérmico (Mirjolet *et al.*, 2012; Obando, 2019).

As micrografias para o NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂ (Figura 33.b), mostram uma morfologia nanométrica em formato de nanotubo com diâmetro de 7 e 8 nm, indicando que a silanização com o APTes não modificou a morfologia do nanotubo (NTsTi) mantendo tamanho e morfologia similares ao material de partida (Duong *et al.*, 2017).

Agregando evidências da síntese e silanização do nanotubo de titanato, as amostras foram analisadas por espectroscopia de energia dispersiva (EDS), a fim de analisar qualitativamente os elementos químicos presentes no material. A região analisada para as amostras é apresentada na figura 35, assim como a porcentagem qualitativa da composição elementar das amostras.

Figura 35. Região analisada para o espectro da Espectroscopia de raios-X por dispersão em energia (EDS) (a) nanotubo de titanato (NtsTi) e (b) nanotubo de titanato funcionalizado com APTes (NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂).



Fonte: Autoria Própria (2023).

Foram encontrados nas amostras de nanotubo de titanato (NtsTi), os elementos titânio, oxigênio, indicando a composição padrão dos NtsTi. É relatado ser comum resquícios de sódio (Na) nas sínteses hidrotérmicas alcalinas realizadas na presença de NaOH (Yuan e Su, 2004). A presença do Carbono ocorre devido ao material utilizado para realização da análise.

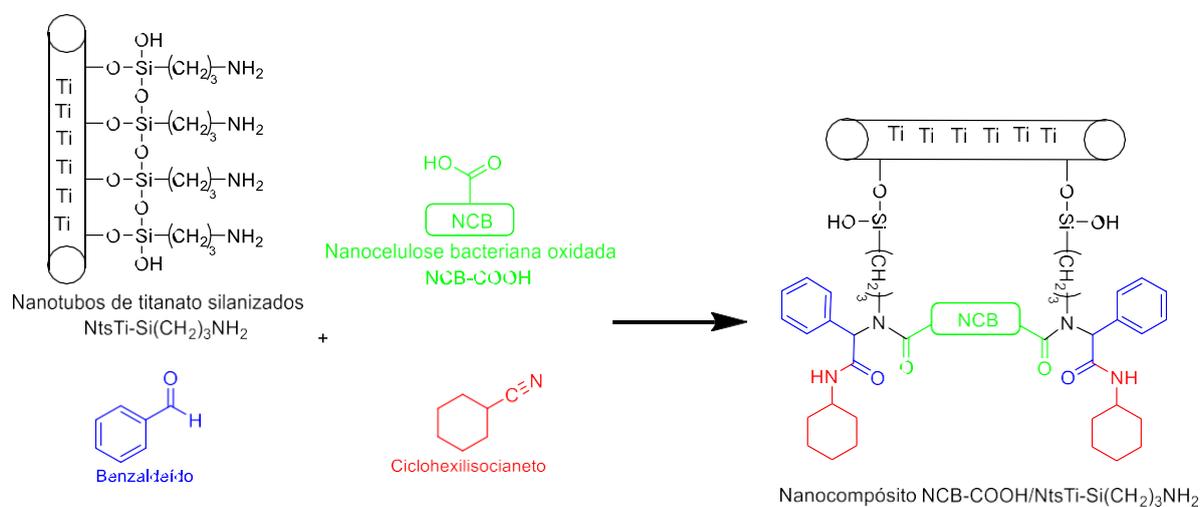
Em relação aos nanotubos de titanato silanizados (NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂), foram encontrados os elementos carbono, oxigênio, titânio, silício e nitrogênio. A partir da análise dos resultados, conclui-se que a silanização manteve a base do nanotubo de titanato (titânio e oxigênio), e por meio da presença do silício e nitrogênio surge um indicativo de que houve a sinalização do NtsTi com agente silano APTes (Hamciuc *et al.*, 2015).

Por meio dos resultados obtidos evidencia-se uma efetiva síntese dos nanotubos de titanato pelo método hidrotérmico alcalino, assim como, uma efetiva oxidação com o agente silano APTes.

5.3 Reação Multicomponente de Ugi

Diante dos resultados obtidos para o nanotubo de titanato silanizado (NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂) e para a nanocelulose bacteriana oxidada (NCB-COOH) obtêm-se os materiais necessários para a síntese do nanocompósito NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂/NCB-COOH (Figura 36) via reação multicomponente de Ugi, a fim de unir e otimizar as propriedades físicas e químicas dos nanotubos de titanato e da nanocelulose bacteriana.

Figura 36. Reação multicomponente de Ugi utilizando nanocelulose bacteriana (NCB-COOH), nanotubos de titanato (NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂), ciclohexilisocianeto e benzaldeído.

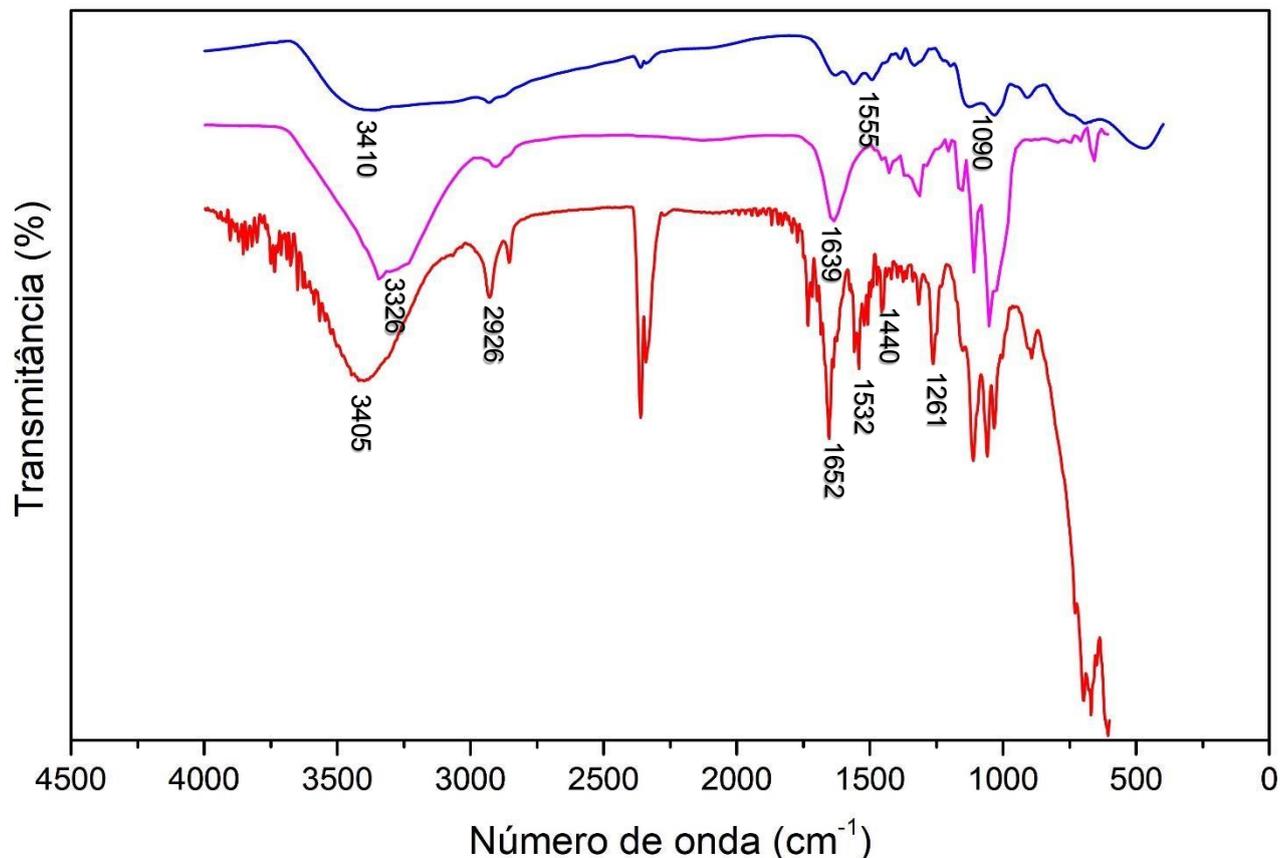


Fonte: Autoria Própria (2023).

A reação foi realizada sob temperatura ambiente, sem a necessidade de condições de atmosfera inerte, resultando em um nanocompósito na forma de membrana, derivada na nanocelulose bacteriana oxidada, com os nanotubos de titanato silanizados depositados sobre o material, além de formar como subproduto a água. O que torna as reações multicomponentes de Ugi um processo interessante para a química verde.

Para sugerir a efetiva síntese do nanocompósito NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂/NCB-COOH foi realizada a análise de Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) por reflexão total atenuada (ATR), espectro representado na Figura 37.

Figura 37. Espectro de FTIR do nanocompósito NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂/NCB-COOH (linha vermelha), obtido a partir da reação multicomponente de Ugi entre o NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂, (linha azul) e NCB-COOH (linha rosa).



Fonte: Autoria Própria (2023).
Condições Reacionais: ATR

Através do espectro de FTIR, observa-se banda estiramento em 1652 cm⁻¹, referente a vibração de alongamento da carbonila da amida terciária (-CO(N-), consequência do desaparecimento da banda da carbonila da nanocelulose bacteriana oxidada (NCB-COOH), bem como, o desaparecimento da banda de NH₂ livre do NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂, evidenciando a formação do composto de Ugi (Rezaei *et al.*, 2016).

Além disso, a banda de estiramento CO-NH-R da amida secundária é observada em 3405 cm⁻¹. A banda em 2926 cm⁻¹ pode ser atribuída a vibrações de C-H, atribuído às vibrações de metileno assimétricas e simétricas. As bandas em 1532 cm⁻¹ e 1261 cm⁻¹, podem ser originados do acoplamento da flexão N-H (estiramento de vibração da carbonila de amida II) e da vibração de estiramento C-N, respectivamente (Previdi *et al.*, 2019; Shaabani e Afshari, 2017; Rezaei *et al.*, 2016).

Além disso, a banda em 1440 cm^{-1} foi relacionada com a vibração tesoura de metileno (CH_2) e as bandas entre 900 e 1000 cm^{-1} foram atribuídos ao dobramento no plano e fora do plano referente aos grupos C-H presentes no anel aromático e C-O-C da ligação β -(1 \rightarrow 4) glicosídica (Previdi *et al.*, 2019; Shaabani e Afshari, 2017; Rezaei *et al.*, 2016).

A Tabela 7 resume as atribuições para as principais bandas de FTIR do nanocompósito NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂/NCB-COOH.

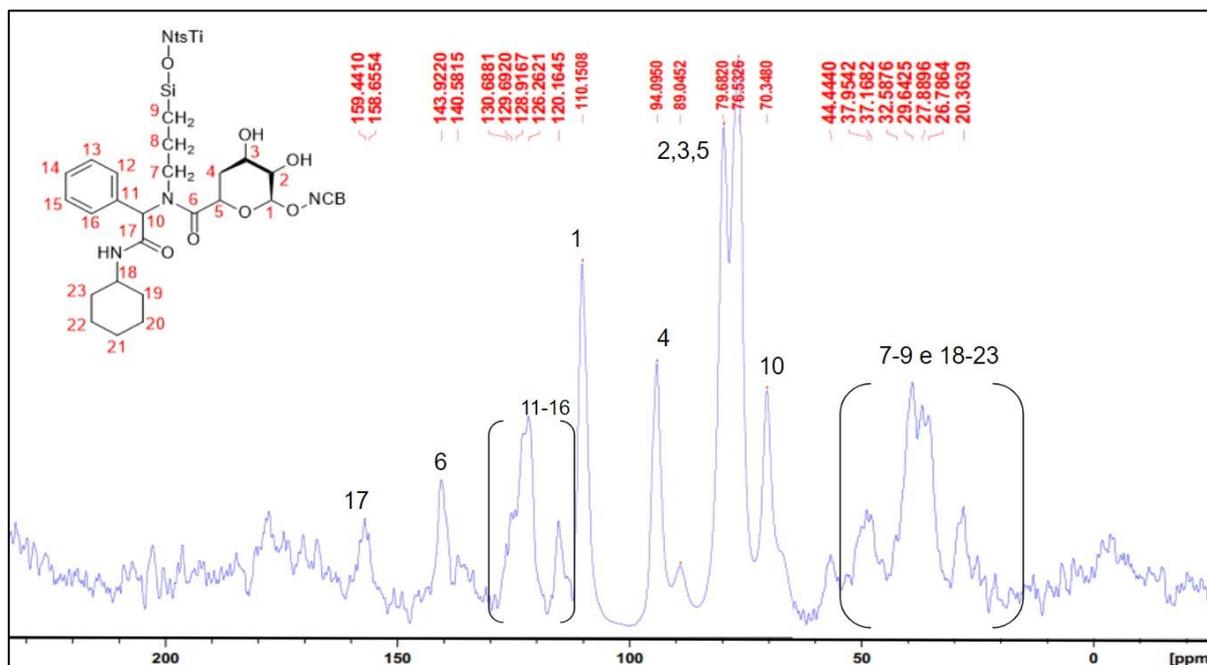
Tabela 7. Resumo dos espectros de FTIR-ATR na investigação dos grupos funcionais do nanocompósito NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂/NCB-COOH.

Número de onda (cm^{-1})	Atribuição das bandas.
900 e 1000	dobramento no plano e fora do plano referente aos grupos C-H presentes no anel aromático C-O-C da ligação β -(1 \rightarrow 4) glicosídica
1261	vibração de estiramento C–N
1440	Vibração tesoura de metileno (CH_2)
1532	flexão N-H (estiramento de vibração da carbonila de amida II)
1652	vibração de alongamento da carbonila da amida terciária (-CO(N-))
2926	estiramento C-H
3405	Estiramento da carbonila da amida secundária (CO-NH-R)

Fonte: Autoria Própria (2023).

Com o intuito de ampliar as evidências da síntese do nanocompósito (NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂/NCB-COOH) foi realizada a análise de Ressonância Magnética Nuclear ¹³C (RMN ¹³C) (Figura 38).

Figura 38. Espectro de Ressonância Magnética Nuclear ^{13}C do nanocompósito NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂/NCB-COOH



Fonte: Autoria Própria (2023).
Nota: RMN de ^{13}C CP/MAS (100MHz)

A partir do espectro, observa-se deslocamentos químicos referentes aos carbonos da nanocelulose, os sinais incluem o C1 (110 ppm), C4 (94 ppm) e C2, C3 e C5 (76-79 ppm) (Gabriel e Heinze, 2018; Cipriano *et al.*, 2020).

Para os carbonos C6 que sofreram oxidação com o agente TEMPO, observa-se um sinal em 142 ppm referente ao carbono do grupo (-COOH), uma vez que está ligado a oxigênio em campo baixo (160-220 ppm), logo, a presença da carbonila (C=O) gera uma desblindagem do carbono, assim como no C17 (159 ppm) e no carbono ligado ao nitrogênio C10 (70 ppm) (Gabriel e Heinze, 2018; McMurry, 2016).

Corroborando com o espectro de FTIR (Figura 40) as atribuições referentes a presença da carbonila da amida (-CONH), gera um indicativo de que houve a formação do nanocompósito via reação multicomponente de Ugi entre o nanotubos de titanato silanizado (NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂) e a nanocelulose bacteriana oxidada (NCB-COOH).

Os carbonos presentes no anel aromático (C11, C12, C13, C14, C15, C16) apresentam apenas quatro absorções, devido à simetria da estrutura entre os carbonos 12 e 16, e 13 e 15. Os deslocamentos químicos estão na faixa de 120 a 130 ppm, pois a aromaticidade do anel e a hibridização sp^2 gera uma desblindagem dos carbonos (Carey, 2011; McMurry, 2016).

A fração resultante do ciclohexilisocianeto, onde os carbonos 19 e 23, e 20 e 22 possuem simetria. Os carbonos dessa região da estrutura (C18, C19, C20, C21, C22 e C23) apresentam deslocamentos químicos na faixa de 20 a 50 ppm, devido à hibridização sp^3 , logo, os carbonos são mais blindados e se apresentam no campo alto (Carey, 2011).

A partir desses resultados é possível inferir que o nanocompósito (NCB-COOH/NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂) foi formado através da reação multicomponente de UGi, levando a um material nanométrico com propriedades de ambos os materiais NCB e NtsTi. Um resumo dos deslocamentos químicos obtidos pode ser observado na Tabela 8.

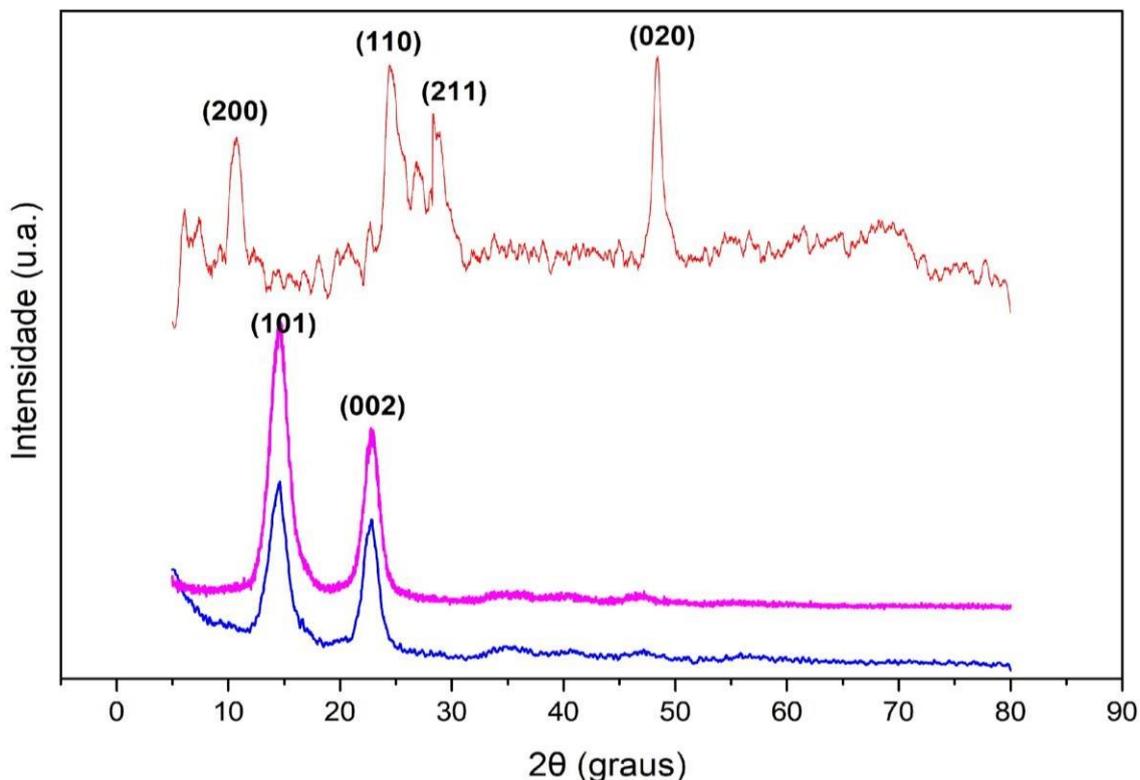
Tabela 8. Deslocamentos químicos (δ ppm) de Ressonância Magnética Nuclear ¹³C do nanocompósito (NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂- NCB-COOH).

Carbono	Deslocamento químico (ppm)
1	110
2	94
3, 4 e 5	76-79
10	70
6	142
7-9	20-50
10	143
11-16	120-130
17	159
18-23	20-50

Fonte: Autoria Própria (2023).

Também foi realizada a técnica de Difração de raios-X (DRX) a fim de analisar a cristalinidade do nanocompósito NCB-COOH/NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂ (Figura 39).

Figura 39. Difratoograma de Difração de raios-X (DRX) do nanocompósito NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂/NCB-COOH (linha azul), obtido a partir da reação multicomponente de Ugi entre o NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂, (linha vermelha) e NCB-COOH (linha rosa).



Fonte: Autoria Própria (2023).

O espectro do nanocompósito NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂/NCB-COOH (linha rosa), apresenta dois picos nas posições angulares de 2θ em aproximadamente 14,6° e 22,8, os quais se referem aos planos (101) e (002), respectivamente (Dufresne, 2012; Godinho *et al.*, 2016; Castro, 2011).

A presença dos picos referentes a NCB-COOH, pode ser explicada pela superfície do nanocompósito ser exclusivamente da nanocelulose, possuindo nessa superfície os aglomerados de nanotubos de titanato silanizados.

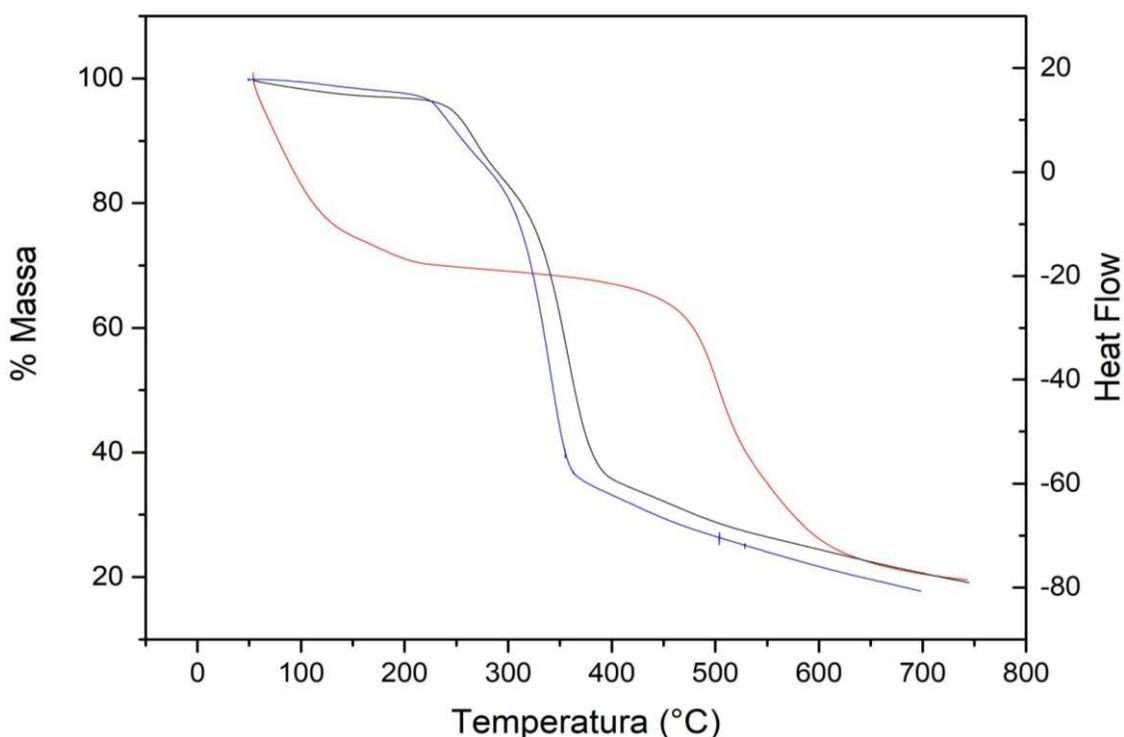
Com base no cálculo de Índice de Cristalinidade, o nanocompósito NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂/NCB-COOH possui 88% de cristalinidade. Desse modo, houve o aumento da cristalinidade do nanocompósito quando comparada com a Nanocelulose oxidada (NCB-COOH) e o nanotubo de titanato (NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂).

O aumento da cristalinidade é um fator importante, visto que aprimora algumas das propriedades do material, incluindo a ductibilidade, resistências aos solventes, grau de tenacidade e estabilidade térmica (Becerra e Moraes, 2015).

Foi acrescentado Análise Termogravimétrica (TGA) a fim de analisar o comportamento quanto a estabilidade térmica do nanocompósito (NtsTi-

Si(CH₂)₃NH₂/NCB-COOH) em comparação aos materiais nanocelulose bacteriana oxidada (NCB-COOH) e o nanotubo de titanato silanizado (NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂) foi realizado a Análise Termogravimétrica (TGA), os resultados obtido estão representados na Figura 40.

Figura 40. Espectro de TGA do nanocompósito NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂/NCB-COOH (linha preta) o NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂ (linha vermelha) e NCB-COOH (linha azul).



Fonte: Autoria Própria (2023).

Para o nanotubo de titanato silanizado (linha vermelha) as perdas de massa ocorreram em dois estágios distintos. O primeiro momento de perda de massa, ocorreu rapidamente na faixa de 50-200 °C, em seguida, existe um processo lento de perda de massa entre 200 a 400 °C, sugerindo que o APTes adsorvido nas superfícies do NtsTi foi completamente desorvido, devido ao ponto de ebulição do APTes ser em 217 °C (Duong *et al.*, 2017; Hamciuc *et al.*, 2015). Depois disso, a segunda etapa de perda, com massa residual de 55%, começou em aproximadamente 400 °C a qual se estendeu até 700 °C, essa perda de massa está correlacionada com a decomposição térmica do silano introduzido, a qual ocorre acima de 450 °C (Duong *et al.*, 2017).

Para a nanocelulose bacteriana oxidada (linha azul) apresentou um curso inicial de perda de massa, na faixa de 40°C a 160 °C, decorrente da evaporação da

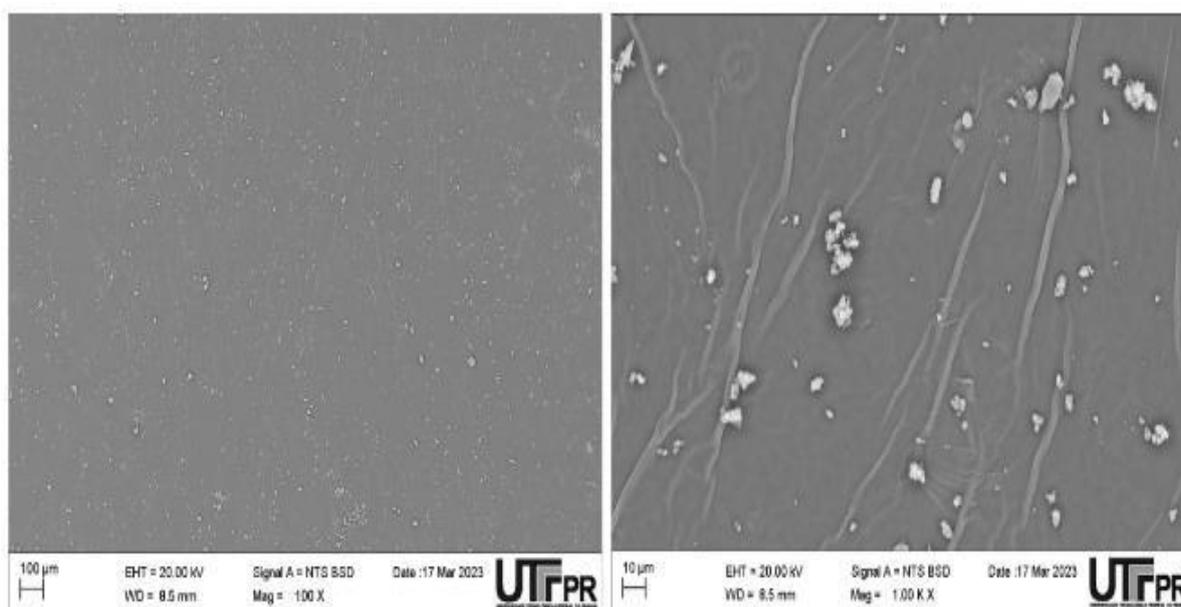
água livre (Zhang *et al.*, 2018). Posteriormente, há uma degradação térmica significativa da nanocelulose, entre 200-350 °C, característico da pirólise da cadeia principal da celulose, processo que não é significativamente afetada pela reação de oxidação via TEMPO, resultando em uma massa residual de 36% (Zhang *et al.*, 2018; Iscuissati, 2020). Em seguida, há uma lenta perda de massa na faixa de 350 °C a 700°C, gerando uma massa residual de 17%.

Já para o nanocompósito (linha preta) apresenta uma semelhança com a NCB-COOH, com uma maior estabilidade térmica. Iniciando o processo principal de degradação na faixa de 230 a 370 °C, seguido de uma etapa lenta até os 700 °C, deixando uma massa residual de 19%. Com isso, sugere-se que a união da NCB-COOH e do NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂ na síntese do nanocompósito elevou a estabilidade térmica do material.

As técnicas de caracterização de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) foram incluídas a fim de observar a morfologia do nanocompósito (NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂/NCB-COOH) obtido a partir da reação multicomponente de Ugi entre o nanotubo de titanato silanizado (NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂) e a nanocelulose bacteriana oxidada (NBC-COOH).

As micrografias obtidas por MEV do nanocompósito (NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂/NCB-COOH) estão representadas na Figura 41.

Figura 41. Imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) do nanocompósito obtido a partir da reação multicomponente de Ugi entre o NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂ e NCB-COOH.

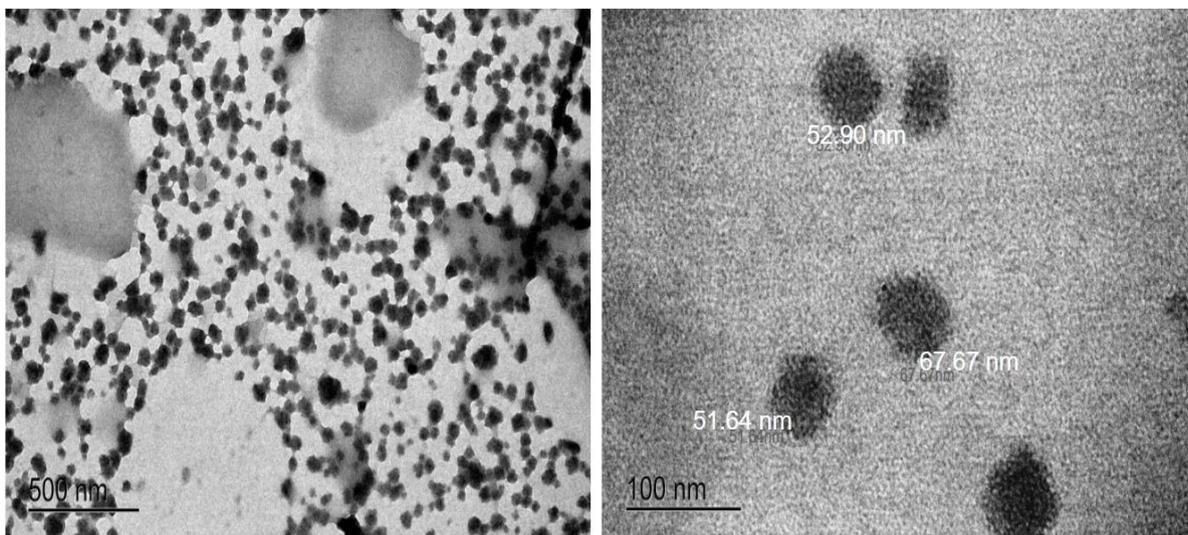


Fonte: Autoria Própria (2023).

A partir das micrografias de MEV e com a análise de EDS dos materiais obtidos é possível observar que houve a deposição dos aglomerados de nanotubos de titanato funcionalizados ($\text{NtsTi-Si}(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2$) na camada de nanocelulose bacteriana oxidada (NCB-COOH). Através das micrografias, quando comparadas aos materiais de partida, é possível evidenciar alterações morfológicas.

A partir das micrografias de MET do nanocompósito $\text{NtsTi-Si}(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2/\text{NCB-COOH}$ (Figura 42), observa-se que o nanocompósito apresenta morfologia diferente das encontradas nos materiais de partida. Sendo formado por nanopartículas circulares, com diâmetro variando de 50 a 70 nm. Sugerindo-se que na houve a deposição dos nanotubos de titanato na camada na nanocelulose bacteriana.

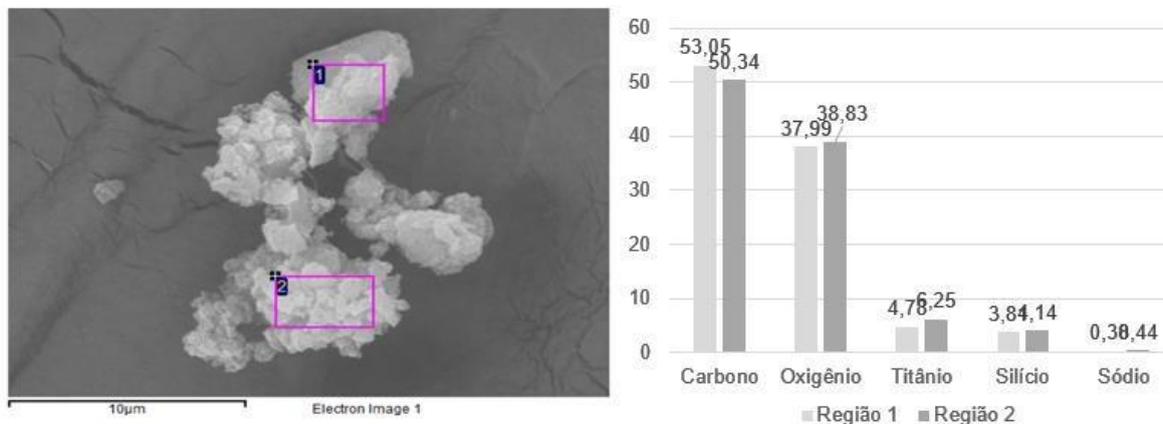
Figura 42. Micrografia de Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) do Nanocompósito obtido a partir da reação multicomponente de UGI entre o $\text{NtsTi-Si}(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2$ e NCB-COOH.



Fonte: Autoria Própria (2023).

O nanocompósito produzido também foi analisado por espectroscopia de energia dispersiva (EDS), a fim de analisar qualitativamente os elementos químicos presentes no material. A região analisada para as amostras é apresentada na imagem 43, assim como a porcentagem qualitativa da composição elementar das amostras.

Figura 43. Região analisada para o espectro da Espectroscopia de raios-X por dispersão em energia (EDS) do nanocompósito obtido a partir da reação multicomponente de Ugi entre o NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂ e NCB-COOH.



Fonte: Autoria Própria (2023).

Através da análise do EDS realizado com o nanocompósito obtido pela reação multicomponente de Ugi foram encontrados os elementos carbono e oxigênio, os quais são característicos da Nanocelulose Bacteriana, assim como reportado no EDS na NCB e NCB-COOH. Também se obteve os elementos silício, sódio, titânio, elementos obtidos no EDS do titanato silanizado (NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂) que fazem parte da composição do NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂.

Por meio dos resultados obtidos nas técnicas de análises realizadas e pela união de informações, indica-se que houve a síntese do nanocompósito via reação multicomponente de Ugi entre a nanocelulose bacteriana oxidada (NCB-COOH) e nanotubos de titanato silanizados (NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂), logo, é possível avaliar as propriedades antimicrobianas do material.

5.4 Atividade antimicrobiana

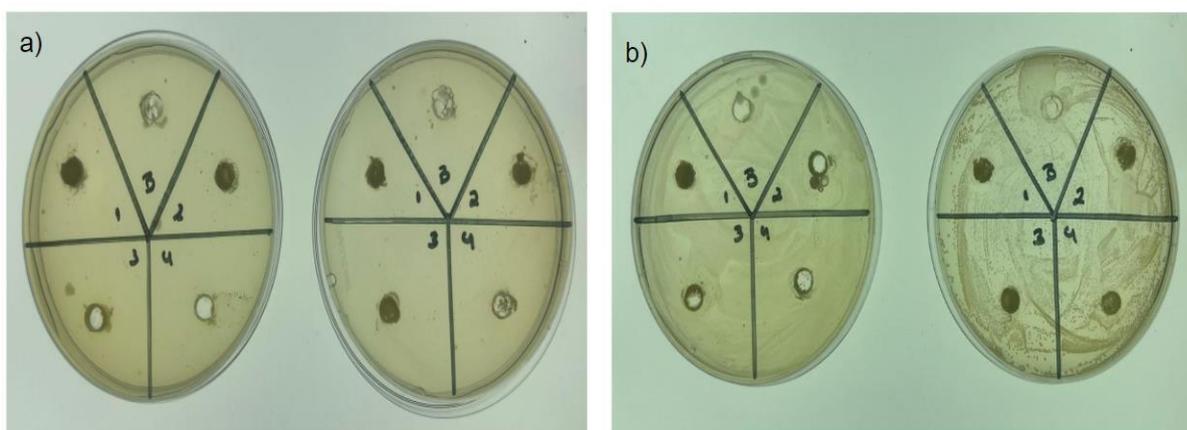
A análise das propriedades antimicrobianas dos nanotubos de titanato (NtsTi), dos nanotubos de titanato silanizados (NtsTi-NH₂) e do nanocompósito NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂/NCB-COOH, foram realizadas por meio do teste de efeito inibitório das bactérias gram-positiva *Staphylococcus aureus* e gram-negativa *Escherichia coli*.

Os critérios interpretativos utilizados foram baseados nas Normas de Desempenho para Testes de Sensibilidade Antimicrobiana: 15º Suplemento Informativo. As categorias 'sensível', 'intermediária', ou 'resistente' são definidas por meio das mensurações do diâmetro dos halos de inibição (CLSI/NCCLS; 2005).

Os materiais NtsTi e NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂ foram preparados em duplicatas e com concentrações de 12,5, 25, 50 e 100 mg L⁻¹. Para melhor avaliar o efeito das atividades, uma identificação numérica de 1 a 4 foi adotada, sendo que cada número corresponde a uma concentração, 1 (100 mg L⁻¹), 2 (50 mg L⁻¹), 3 (25 mg L⁻¹) e 4 (12,5 mg L⁻¹), B, corresponde ao branco (água deionizada).

No teste referente às amostras de nanotubo de titanato (Figura 44) não foi obtido halo de inibição para ambas as bactérias avaliadas em nenhum dos testes realizados.

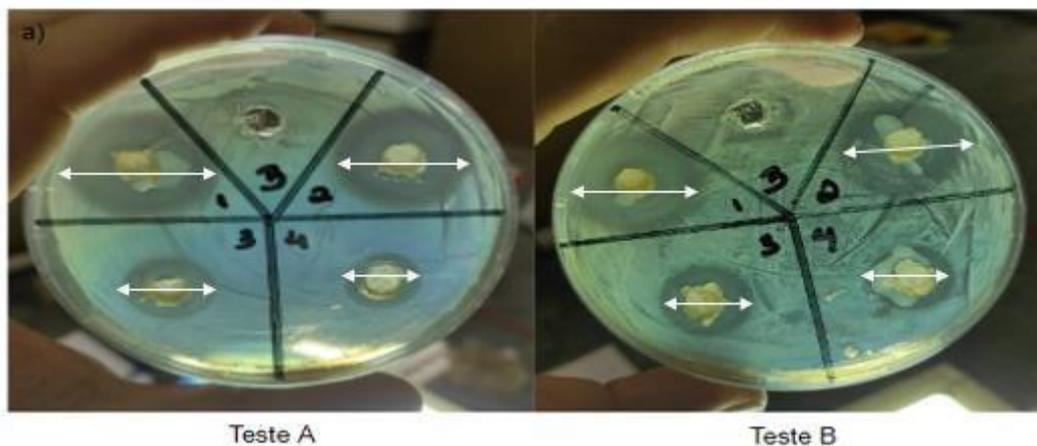
Figura 44. Atividade antimicrobiana dos nanotubos de titanato (NtsTi) nas bactérias (a) *Escherichia coli* e (b) *Staphylococcus aureus*.



Fonte: Autoria Própria (2023).

Em comparação aos testes antimicrobianos realizados com o nanotubo de titanato silanizado (NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂) obteve-se halos de inibição na bactéria *Escherichia coli* (Figura 45) e *Staphylococcus aureus* (Figura 46).

Figura 45. Atividade antimicrobiana dos nanotubos de titanato silanizados (NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂) na bactéria *Escherichia coli*.



Fonte: Autoria Própria (2023).

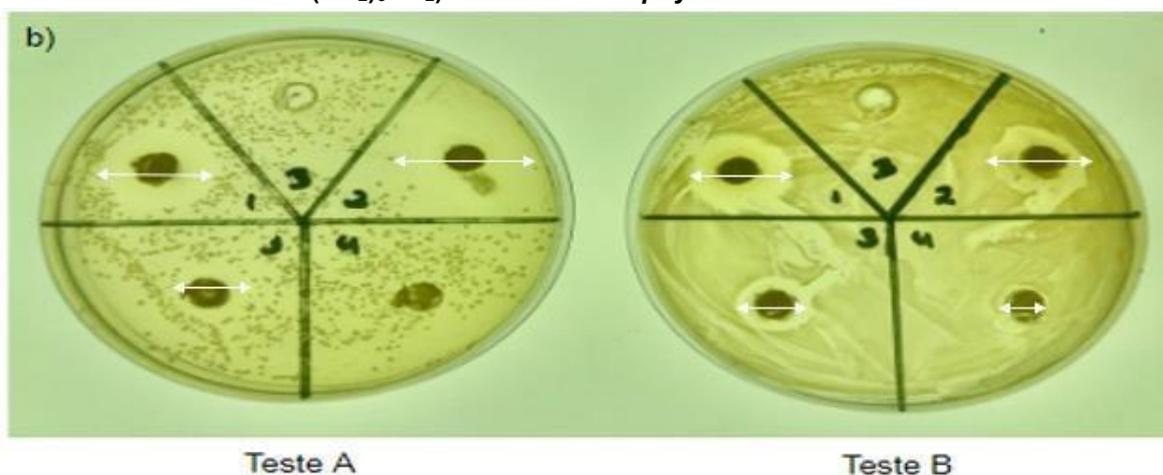
A tabela 9 apresenta os valores de halo de inibição obtidos para a bactéria *E. coli* nas concentrações analisadas.

Tabela 9. Valores de halo de inibição obtidos para a bactéria *E. coli*.

Halo de Inibição	1 (100 mg μL^{-1})	2 (50 mg μL^{-1})	3 (25 mg μL^{-1})	4 (12,5 mg μL^{-1})
Teste A	29 mm	28 mm	16 mm	14 mm
Teste B	21 mm	22 m	17 mm	15 mm

Fonte: Autoria Própria (2023).

Figura 46. Atividade antimicrobiana dos nanotubos de titanato silanizados (NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂) na bactéria *Staphylococcus aureus*.



Fonte: Autoria Própria (2023).

A tabela 10 apresenta os valores de halo de inibição obtidos para a bactéria *S. aureus* nas concentrações analisadas.

Tabela 10. Valores de halo de inibição obtidos para a bactéria *S. aureus*.

Halo de Inibição	1 (100 mg μL^{-1})	2 (50 mg μL^{-1})	3 (25 mg μL^{-1})	4 (12,5 mg μL^{-1})
Teste A	21 mm	25 mm	13 mm	0 cm
Teste B	17 mm	16 mm	13 mm	9 mm

Fonte: Autoria Própria (2023).

A partir dos valores obtidos de halo de inibição, ambas as bactérias, *S. aureus* e *E. coli*, se mostraram sensíveis ao nanotubo de titanato silanizado, com halo de inibição satisfatório para as amostras em maior concentração (100 e 50 mg L^{-1}).

Entretanto, de modo geral, os halos de inibição para a *E. coli* foram os maiores em todas as concentrações, em comparação com a *S. aureus*.

O efeito de inibição é atribuído tanto ao tamanho nanométrico do nanotubo de titanato, que possibilita uma maior penetração através das membranas celulares, afetando assim os processos intracelulares, como a presença dos grupos silano no nanotubo de titanato (NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂) que induzem propriedades antibacterianas, resultando em uma maior atividade antimicrobiana (Tong *et al.*, 2013; Elsaka *et al.*, 2011; Thakur e Voicu, 2021).

Para o nanocompósito NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂/NCB-COOH obtido a partir da reação multicomponente de Ugi, foram realizados os testes de atividade antimicrobiana para as mesmas bactérias, *S. aureus* e *E. coli*, adicionando um teste de controle positivo com os antibióticos cloranfenicol (sigla +) e vancomicina (sigla -) de 30 µg.

Para o teste de atividade antimicrobiana do nanocompósito entre NCB-COOH e NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂ avaliou-se a relação da concentração entre os dois componentes utilizados. A relação das concentrações e a numeração utilizada para a identificação nos testes é representada na Tabela 11.

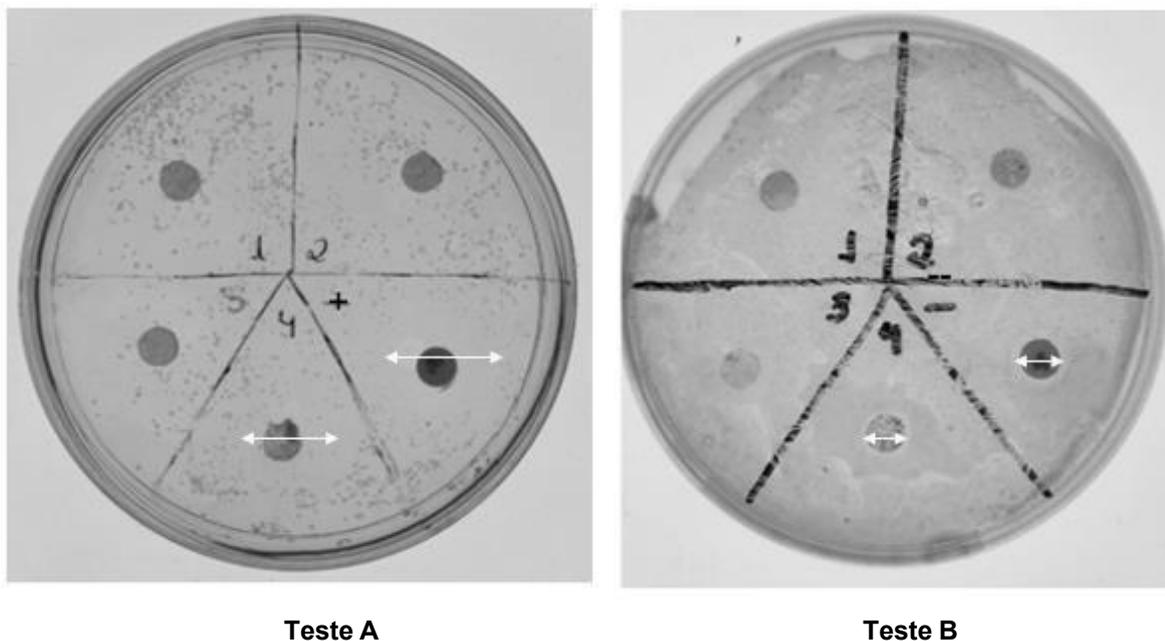
Tabela 11. Relação das proporções de NCB-COOH e NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂ utilizados na síntese do nanocompósito.

Identificação	Relação	Massa de NtsTi-Si(CH ₂) ₃ NH ₂	Massa de NCB-COOH
1	1:1	100 mg	100 mg
2	2:1	100 mg	50 mg
3	3:1	150 mg	50 mg
4	4:1	200 mg	50 mg

Fonte: Autoria Própria (2023).

Os testes de atividade antimicrobiana do nanocompósito NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂/NCB-COOH nas bactérias *E. coli* e *S. aureus*, estão representados nas Figuras 47 e 48, respectivamente.

Figura 47. Atividade antimicrobiana do nanocompósito NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂/NCB-COOH na bactéria *Escherichia coli*.



Teste A

Teste B

Fonte: Autoria Própria (2023).

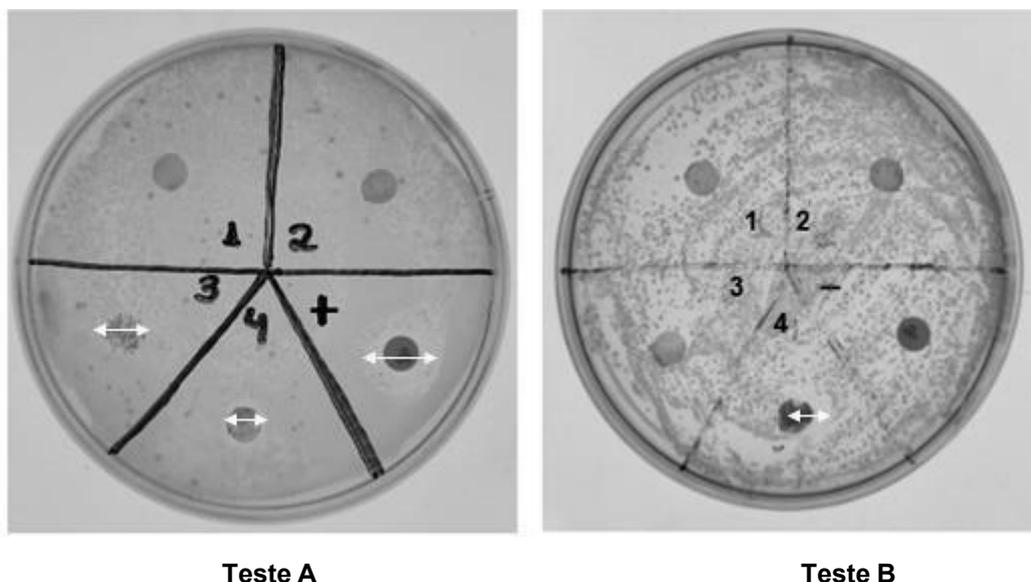
A tabela 12 apresenta os valores de halo de inibição obtidos para a bactéria *E. coli* nas concentrações e antibióticos analisadas.

Tabela 12. Valores de halo de inibição obtidos para a bactéria *E. coli*.

Halo de Inibição	1	2	3	4	Cloranfenicol (+)	Vancomicina (-)
Teste A	0 mm	0 mm	0 mm	15 mm	20 mm	-
Teste B	0 mm	0 mm	0 mm	9 mm	-	8 mm

Fonte: Autoria Própria (2023).

Figura 48. Atividade antimicrobiana do nanocompósito NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂/NCB-COOH na bactéria *Staphylococcus aureus*.



Fonte: Autoria Própria (2023).

A tabela 13 apresenta os valores de halo de inibição obtidos para a bactéria *S. aureus* nas concentrações e antibióticos analisadas.

Tabela 13. Valores de halo de inibição obtidos para a bactéria *S. aureus*.

Halo de Inibição	1	2	3	4	Cloranfenicol (+)	Vancomicina (-)
Teste A	0 mm	0 mm	8 mm	9 mm	14 mm	-
Teste B	0 mm	0 mm	0 mm	9 mm	-	0 mm

Fonte: Autoria Própria (2023).

De acordo com os resultados obtidos, nota-se que a concentração do nanotubo de titanato silanizado (NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂) influencia na formação dos halos de inibição, uma vez que somente na maior concentração, 200 mg de NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂ para 50 mg de NBC-COOH, se obteve inibição de ambas as bactérias em todos os testes realizados.

Os antibióticos, cloranfenicol e vancomicina, foram adicionados no meio de cultura com o intuito de realizar um comparativo entre os halos de inibição gerados

pelos antibióticos com o nanocompósito NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂/NCB-COOH a partir do crescimento bacteriano.

A vancomicina é um agente utilizado em infecções causadas por cepas bacterianas gram-positivas, como a *Staphylococcus aureus*. Em geral, discos de 30 µg de vancomicina apresentam um halo de inibição de ≥ 14 mm para bactérias *Staphylococcus spp.* Entretanto, há, as cepas de *S. aureus* resistentes à vancomicina que podem produzir apenas um crescimento sutil em torno do disco de vancomicina, da mesma forma, que a bactéria *E. coli* apresenta resistência a vancomicina (CLSI/NCCLS; 2005).

Diferentemente para o cloranfenicol, a *E. coli* e a *S. aureus* são sensíveis ao antibiótico de 30 µg, apresentando halo de inibição ≥ 18 mm. Como foi observado no teste da bactéria *E. coli*, onde o antibiótico gerou um halo de 20 mm, já para a *S. aureus* se enquadra na categoria intermediário (13 a 17 mm) com halo de inibição de 14 mm no antibiótico cloranfenicol (CLSI/NCCLS; 2005).

De forma diferente dos antibióticos, ambas as bactérias apresentaram sensibilidade de crescimento bacteriano com o nanocompósito NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂/NCB-COOH. Sendo que para o teste antimicrobiano da bactéria *E. coli*, o nanocompósito formou halos de inibição semelhantes aos antibióticos.

A partir dos dados analisados, sugere-se que a relação da concentração entre o nanotubo de titanato silanizado e a nanocelulose oxidada influencia na atividade antimicrobiana do nanocompósito sintetizado. Sendo que as bactérias, *E. coli* e *S. aureus* apresentaram sensibilidade ao material produzido na relação 4:1 (200 mg de NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂ para 50 mg de NBC-COOH).

6 CONCLUSÃO

De acordo com estudos realizados envolvendo a síntese de um nanocompósito via reação multicomponente de Ugi entre a nanocelulose bacteriana oxidada (NCB-COOH) e nanotubos de titanato silanizados (NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂), pode-se concluir que:

- O método hidrotérmico alcalino em conjunto com os processos de lavagens ácidas, se mostraram eficientes e simples para realizar a síntese de nanotubos de titanato (NtsTi) de paredes múltiplas com diâmetro de 10 nm, com fórmula estrutural Na₂-xHxTi₃O₇·nH₂O;
- A silanização dos NtsTi utilizando o agente 3-aminopropiltriétoxissilano (APTes) é eficiente em sintetizar nanotubos de titanato silanizados (NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂) com diâmetro de 7 nm;
- As bactérias *S. aureus* e *E. coli* são sensíveis ao nanotubo de titanato silanizado com halo de inibição variando de 29 a 21 mm para as concentrações de 100 e 50 mg L⁻¹, respectivamente.
- A bacteriana *Komagataeibacter hansenii* é eficiente em produzir membranas de Nanocelulose Bacteriana (NCB) com fibrilas de diâmetro entre 57 a 75 nm e índice de cristalinidade de 84%;
- A oxidação da NCB utilizando o agente oxidante N-oxil-2,2,6,6-tetrametilpiperidina (TEMPO) é eficiente em funcionalizar a superfície da NCB, adicionando o grupo carboxílico. O índice de cristalinidade na Nanocelulose Bacteriana Oxidada (NCB-COOH) foi de 68%;
- Há evidências que houve a formação do nanocompósito (NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂/NCB-COOH) obtido entre a NCB-COOH e o NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂, através das análises espectroscópicas de MEV/EDS, MET, FTIR e RMN de ¹³C;
- A variação da concentração do nanotubo de titanato (NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂) na reação multicomponente de Ugi afeta as propriedades antimicrobiana do nanocompósito, uma vez que não obteve-se halo de inibição em uma relação de (1:1 à 1:3) de NCB-COOH NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂.
- Os melhores resultados foram obtido nas proporções de 1:4 (50 mg de NBC-COOH e 200 mg de NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂ e) apresentando um halo de inibição 9 a 15 mm nas bactérias *S. aureus* e *E. coli*;

- As bactérias, *S. aureus* e *E. coli*, apresentam sensibilidade ao nanocompósito (NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂/NCB-COOH).

Os resultados destacam a importância das reações multicomponentes em sintetizar nanocompósitos, produzindo um novo material complexo que agrega as propriedades dos reagentes de partida e este biomaterial apresenta potencial para ser aplicado em área médica.

7 ETAPAS FUTURAS

Para dar continuidade nos estudos sobre a síntese do nanocompósito (NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂/NCB-COOH) via reação multicomponente de Ugi, planeja-se ampliar as espécies bacterianas avaliadas no teste antimicrobiano, adicionando a bactéria *Streptococcus mutans*, a qual está associado com a cárie dental em humanos.

Além disso, há o intuito de realizar a técnica de caracterização Espectroscopia de Fotoelétrons Excitados por Raios X (XPS), a fim de complementar as evidências da eficiência da síntese de Ugi em produzir o nanocompósito NCB-COOH/NtsTi-Si(CH₂)₃NH₂.

REFERÊNCIAS

- ABDULLAH, M.; KAMARUDIN, S. K. Titanium dioxide nanotubes (TNT) in energy and environmental applications: An overview. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, 76, 212–225, 2017.
- AFSHARI, R.; SHAABANI, A. Materials Functionalization with Multicomponent Reactions: State of the Art. **ACS Comb. Sci**, v. 20, p.499–528, 2018.
- ANASTAS, P.; EGHBALI, N. Green chemistry: principles and practice. **Chem. Soc. Rev.**, v.39, n.1, p.301–312, 2010.
- ANDREE et al. Influence of drying methods on the physical properties of bacterial nanocellulose. **Mater. Res. Express**, 8, 2021.
- ATES, B.; KOYTEPE, S.; ULU, A.; GURSES, C.; THAKUR, V. K. Chemistry, Structures, and Advanced Applications of Nanocomposites from Biorenewable Resources. **Chem. Rev.** v.120, p. 9304–9362, 2020.
- ARRUDA, L. B. “**Nanotubos Óxidos Aplicados a Resinas Compostas Fotoativadas**”. 2015. 137f. Tese (Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Materiais). UNESP, Bauru 2015.
- BATALHA, P. N. Recentes Avanços em Reações Multicomponentes: Uma Perspectiva Entre os Anos de 2008 e 2011. **Revista Virtual de Química**, v.4, n.1, p.13-45, 2012.
- BECERRA, A. F. C. A.; MORAES, J. R. **Caracterização de PEAD Antes e Após Envelhecimento em Diferentes Meios e Condições**. Rio de Janeiro, 2015. 223p. Dissertação de Mestrado - Departamento de Engenharia Química e de Materiais, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, 2015.
- BERTEL L.; MIRANDA, D. A.; GARCÍA-MARTÍN, J. M. Nanostructured Titanium Dioxide Surfaces for Electrochemical Biosensing. **Sensors**, v.21, n.18, p.61-67, 2021.
- BLEUL, L.; FRANCOIS, P.; WOLZ, C. Two-Component Systems of *S. aureus*: Signaling and Sensing Mechanisms. **Genes**, 13, 34, 2020.
- BONATTO, F. **Síntese de nanotubos de tio2 com quelantes edta/dtpa como agentes intermediadores da reação anódica e sua caracterização morfológica e físico-química**. Porto Alegre, 2018. 54 p. Tese apresentada ao programa de Pós-Graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e de Materiais - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- BUI, V.; PARK, D.; LEE, Y.-C. Chitosan Combined with ZnO, TiO₂ and Ag Nanoparticles for antimicrobial wound healing applications: A mini review of the research trends. **Polymers**, v. 9, p. 21, 2017.
- CALLISTER, W. D. **Fundamentos da Ciência e Engenharia de Materiais – Uma Abordagem Integrada**. Editora LTC, 5ª Edição, 2019.
- CAREY F. A. **Química orgânica** [recurso eletrônico]: volume 1 / tradução: Kátia A. Roque, Jane de Moura Menezes, Telma Regina Matheus; revisão técnica: Gil Valdo José da Silva. – 7. ed. – Dados eletrônicos – Porto Alegre: AMGH, 2011.
- CASTRO, C. et al. Structural characterization of bacterial cellulose produced by gluconacetobacter swingsii sp. from colombian agroindustrial wastes. **Carbohydrate polymers**, 84 (1) 96–102, 2011.
- CASTRO, A. J. R. **Carbonização hidrotérmica de celulose e nanocelulose e preparação de compósitos magnéticos em única etapa**. 2018. 213 f. Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Programa de Pós-Graduação em Física, Fortaleza, 2018.
- CHERIAN, M. B. et al. Bacterial Nanocellulose for Medical Implants. **Advances in Natural Polymers**, 10, 337-359, 2013.

CLARKE, P. A.; SANTOS, S.; MARTIN, W. H. Combining pot, atom and step economy (PASE) in organic synthesis. Synthesis of tetrahydropyran-4-ones. **Green Chem.**, v.9, n.5, p.438–440, 2007.

Clinical and Laboratory Standards Institute/NCCLS. **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Fifteenth Informational Supplement**. CLSI/NCCLS document M100-S15 [ISBN 1-56238-556-9]. Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2005

COLLI, T. C. et al. Modifications in bacterial nanocellulose for application in wound care: an integrative review. **Rev Enferm Atual In Derme**, 97 (2) 2023.

CRIPIANO, D. F. et al. Aplicação da RMN de ^{13}C no Estado Sólido ao Estudo dos Teores de Lignina e Carboidratos em Amostras de Bagaço de Cana Submetidas a Tratamento Ácido. **Rev. Virtual Quim.**, 12 (3), 639-658, 2020.

DUAN, S.; WU, R.; XIONG, Y.; REN, H.; LEI, C.; ZHAO, Y.; ZHANG, X.; XU, F. Multifunctional antimicrobial materials: From rational design to biomedical applications, **Progress in Materials Science**, v. 125, 00887, 2022.

DUFRESNE, A. Nanocellulose: From Nature to High Performance Tailored Materials, 2012.

DUONG, H. P.; DUCLE, M., DAO, H. C.; CHEN, C. Modification of TiO_2 nanotubes with 3-aminopropyl triethoxysilane and its performances in nanocomposite coatings. **New J. Chem**, v. 42, n.11, p.8745-8751, 2018.

DUONG, H. P.; DUCLE, M., DAO, H. C.; CHEN, C. Surface modification of TiO_2 nanotubes by grafting with APTS coupling agents. **Mater. Res. Express**, 4, 105043, 2017.

ELSAKA, S. E.; HAMOUDA, I. M.; SWAIN, M. V. Titanium dioxide nanoparticles addition to a conventional glass-ionomer restorative: Influence on physical and antibacterial titaniums. *Journal of Dentistry*, 39, 2011. 589-598.

FARROQ, A.; et al. Cellulose from sources to nanocellulose itani overview of synthesis and titanium of nanocellulose/zinc oxide nanocomposite materials. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 154, p. 1050-1073, 2020.

FERREIRA, O. P., FILHO, A. G. S.; FILHO, J. M.; ALVES, O. L. Unveiling the structure and composition of titanium oxide nanotubes through ion exchange chemical reactions and thermal decomposition processes. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 17(2), 393-402, 2006.

FISCHER, M. R.; GARCIA, M. C. F.; NOGUEIRA, A. L., et al. Biossíntese e caracterização de nanocelulose bacteriana para engenharia de tecidos. **Rev. Matéria, Suplemento**, 2017.

GABRIEL, G.; HEINZE, T. Diversity of polysaccharide structures designed by aqueous Ugi-multi-compound reaction. **Cellulose**, 25:2849–2859, 2018.

GODINHO, J. F., BERTI, F. V.; MULLER, D., RAMBO, C. R.; PORTO, L. M. Incorporation of Aloe vera extracts into nanocellulose during biosynthesis. **Cellulose**, 23, 545–555, 2016.

GONZALES, M. C. G. et al. Synthesis of Structurally Diverse Emissive Molecular Rotors with Four-Component Ugi Stators. **J. Org. Chem.** 83 (5) 2570–2581, 2018.

HAMCIUC, E. et al. Electromechanical properties of polyimide composites containing titanium dioxide nanotubes. **High Performance Polymers** 27(5) 590-598, 2015.

INGOLD, M. et al. Ugi Four-component Reaction (U-4CR) Under Green Conditions Designed for Undergraduate Organic Chemistry Laboratories. **World Journal of Chemical Education**, v. 5, n.5, p.153-157, 2017.

ISCUISSATI, Vitor de Barros. **Estudo das propriedades físico-químicas de nanocristais de celulose após reação de oxidação utilizando N-oxil-2,2,6,6-tetrametilpiperidina (TEMPO)**. 2020.

- 54 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia de Materiais) – Universidade Federal da Integração Latino-Americana, Foz do Iguaçu, 2020.
- ISLAM, M. et al. Effect of post-synthetic processing conditions on structural variations and applications of bacterial cellulose. **Cellulose**, 20, 253–263, 2013
- ISOgai, A. Emerging Nanocellulose Technologies: Recent Developments. **Adv. Mater.** 2020.
- JAFARY R. et al. Antibacterial property of cellulose fabric finished by allicin-conjugated nanocellulose. **The Journal of The Textile Institute**, 2014.
- JOHN, A. A. et al. Review: physico-chemical modification as a versatile strategy for the biocompatibility enhancement of biomaterials. **RSC Adv.**, v.5, p.39232-39244, 2015.
- KASUGA, T. Formation of titanium oxide nanotubes using chemical treatments and their characteristic Properties. **Thin Solid Films** 496 (1), 141-145, 2006.
- KLEMM, D. FINL, H.-P. et al. Cellulose: faszinierendes Biopolymer und nachhaltiger Rohstoff. **Angew. Chem**, 117, 3422 – 3458, 2005.SU
- KNOLL, W. **Nanomaterials, Polymers and Devices: Materials Functionalization and Device Fabrication**; John Wiley & Sons, 2015.
- KOSCTIUK, Juliane Bessoni. **Enzymes immobilized on titanate nanotubes and their application as catalysts in the Mannich multicomponent reactions**. 67 f. Trabalho de Conclusão de Curso. Bacharelado em Química. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Curitiba, 2019.
- KUTOVÁ, A. et al. Influence of Drying Method and Argon Plasma Modification of Bacterial Nanocellulose on Keratinocyte Adhesion and Growth. **Nanomaterials**, 11, 1916, 2021.
- KZOSSOWSKI, S.; WIRASZKA, B.; BERŁOŻECKI, S.; OSTASZEWSKI, R. Model Studies on the First Enzyme-Catalyzed Ugi Reaction. **Org. Lett.** v. 15, n. 3, p. 566–569, 2013.
- LAI, C. et al. Nanocomposite films based on TEMPO-mediated oxidized bacterial titanium and chitosan. **Cellulose**, v. 21, n. 4, p. 2757–2772, 2014.
- LEE, J. K. Y.; CHEN, N.; PENG, S.; LI, L.; TIAN, L.; THAKOR, N.; RAMAKRISHNA, S. Polymer-based composites by electrospinning: preparation & functionalization with nanocarbons. **Prog. Polym. Sci.** v.86, p.40–84, 2018.
- MAKVANDI, P., WANG, C., ZARE, E. N., BORZACCHIELLO, A., NIU, L., & TAY, F. R. *Metal-Based Nanomaterials in Biomedical Applications: Antimicrobial Activity and Cytotoxicity Aspects*. **Advanced Functional Materials**, 1910021, 2020.
- MARTINS, D.; MIGLIORINI, F. L.; TEODORO, K. B. R.; FACURE, M. H.M; CORREA, D. S. **Nanocompósitos Poliméricos**, 978-65-5550-252-7 (eletrônico). In: Nanotecnologia aplicada a polímeros. São Paulo: Blucher, cap. 4, 2022.
- MASSON, T. J.; BELINO, W. V. L. Study of the thermomechanical properties of hybrid nanocomposites. **Brazilian Journal of Development**, v.7, n.4, p. 42618-42643, 2021.
- MCMURRY J. Química orgânica: volume 1 / tradução Noveritis do Brasil; revisão técnica: Robson Mendes Matos. – [3. ed.]. – São Paulo, SP: Cengage Learning, 2016.
- MELO, L. R.; SILVA, W. A. Ionic Liquid in Multicomponent Reactions: A Brief Review. **Current Green Chemistry**, v. 3, n.2, p.120-132, 2016.
- MERONI, D; et al. A Close Look at the Structure of the TiO₂-APTES Interface in Hybrid Nanomaterials and Its Degradation Pathway: An Experimental and Theoretical Study. **J. Phys. Chem.**, v.121, n.1, p.430-440, 2017.

MIKKELSEN, D. et al. Influence of different carbon sources on bacterial cellulose production by *Gluconacetobacter xylinus* strain ATCC 53524. **Journal of Applied Microbiology**, v. 107, n. 2, p. 576–583, 2009.

MIRJOLET, C.; PAPA, A. L.; CRÉHANGE, G.; RAGUIN, O.; SEIGNEZ, C.; PAUL, C.; TRUC, G.; MAINGON, P.; MILLOT, N. The radiosensitization effect of titanate nanotubes as a new tool in radiation therapy for glioblastoma: **A proof-of-concept. Radiotherapy and Oncology**, 108, 36-142, 2013.

MONTEIRO, A. S.; DOMENEGUETTI, R. R.; WONG CHI MAN, M.; BARUD, H. S.; TEIXEIRA-NETO, E.; RIBEIRO, S. J. L. Bacterial cellulose–SiO₂@TiO₂ organic–inorganic hybrid membranes with self-cleaning properties. **Journal of Sol-Gel Science and Technology**, v. 89, p. 2-11, 2019.

MOON, R.J.; MARTINI, A.; NAIRN, J.; SIMONSEN, J.; YOUNGBLOOD, J. **Química Soc. Rev.**, v. 40, p.3941-3994, 2011.

NASCIMENTO, E. S. **Filmes nanocompósitos à base de celulose bacteriana e nanocristais de celulose**. 2018. 98 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2018.

NETA, I. A. B.; MOTA, M. F.; LIRA, H. L.; NEVES, G. A.; MENEZES, R. R. Nanostructured titanium dioxide for use in ita implants: a short review. **Cerâmica**, v.6, p. 440-450, 2020.

NORRRAHIM, M. O. F.; et al. Nanocellulose: a bioadsorbent for chemical contaminant remediation. **Rev. Royal Society of Chemistry: Advances**, v.11, p.7347-7368, 2021.

OBANDO, N. E.; PINILLA, D. A.; ZEA, H.; PATAQUIVA-MATEUS, A. Evaluation and characterization of TiO₂ nanotubes synthesized via hydrothermal method with application in materials engineering. **Revista chilena de ingeniería**, v.27 (4), p. 573-585, 2019.

OGNJANOVIĆ, M.; STANKOVIĆ, V.; KNEŽEVIĆ, S.; BRATISLAV V.; STANKOVIĆ, S.; TIO₂/APTES cross-linked to carboxylic graphene based impedimetric glucose biosensor. **Microchemical Journal**, 158 (105150), 2020.

OSTRENG, W. **Science without Boundaries: Interdisciplinarity in Research, Society, and Politics**; University Press of America, 2009. p. 330.

PARIS, J.; BOUDON, J.; BERNHARD, Y.; MILLOT, N. Phthalocyanine-Titanate Nanotubes: a promising nanocarrier detectable by optical imaging in the so-called imaging window. **RSC Adv.**, v.5, p. 6315–6322, 2015.

PATIL, P., DE HAAN, M., KURPIEWSKA, K., KALINOWSKA-TŁUŚCIK, J., & DÖMLING, A. Versatile Protecting-Group Free Tetrazolomethane Amine Synthesis by Ugi Reaction. **ACS Combinatorial Science**, v.18, n.3, p.170-175, 2016.

PETTIGNANO, A.; LEGUY, J.; HEUX, L.; JEAN, B.; CHARLOT, A.; FLEURY E. Multifunctionalization of titanium microfibrils through a cascade pathway entailing the sustainable Passerini multi-component reaction. **Rev. Royal Society of Chemistry: Green Chemistry**, v.22, p. 7059-7069, 20.

PICHETCH, G. F. et al. Bacterial cellulose in biomedical applications: A review. **International Journal of Biological Macromolecules** 104, 97–106, 2017.

PIELAK, F. **Desenvolvimento de nanocompósito de nanocelulose bacteriana e TiO₂ e sua aplicação na degradação do corante preto reativo 5 por fotocatalise heterogênea**. 2019. 98 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba, 2019.

PIERRE, G. et al. TEMPO-mediated oxidation of polysaccharides: An ongoing story **Carbohydrate Polymers Elsevier**, 2017

PITOUR, J.; PEIRANO, G.; CHEN, L.; VINNEY, R.; MATSUMURA, T. Escherichia coli ST1193: Following in the Footsteps of E. coli ST131. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v.66, n. 7, 2022.

PONTÓN, P. I. et al. The effects of the titanium composition of titanate nanotubes and titanium type on 3-aminopropyltriethoxysilane grafting efficiency. **Applied surface titanium**, v. 301, p. 315-322, 2014.

PREVIDI, D. et al. Synthesis and Antileishmanial Activity of Some Functionalized Peptoids. **J. Braz. Chem. Soc.**, Vol. 00, No. 00, 1-7, 2019.

RAJA, K. A review on chemical processes for plastics substrates used in engineering industries. **International Journal of ChemTech Research**, v.9, n,7, p.354-365, 2016.

REDDY, P. V. G. et al. A review on multicomponent reactions catalysed by zero-dimensional/ one-dimensional titanium dioxide (TiO₂) nanomaterials: Promising green methodologies in organic chemistry. **Journal of Environmental Management**, v. 279 (111603), 2021.

REIS, J. B.; FIGUEIREDO, L. A.; CASTORANI, G. M.; VEIGA, S. M. O. M. Avaliação da atividade antimicrobiana dos óleos essenciais contra patógenos alimentares. **Braz. J. Hea. Rev.**, v. 3, n. 1, p.342-363, 2020.

REZAEI, A.; AKHAVAN, O.; HASHEMI, E.; SHAMSARA, M. Ugi Four-Component Assembly Process: An Efficient Approach for One-Pot Multifunctionalization of Nanographene Oxide in Water and Its Application in Lipase Immobilization. **Chem. Mater.**, 28 (9) 3004–3016, 2016.

RODRIGUES, M. G. F.; SILVA, F. A. S., SEGUNDO, V. A.G.; VILLARIM, P. R.M. Nanocompósitos para a Adsorção de Fármacos: estudo e monitoramento tecnológico. **Cadernos de Prospecção**, v. 16, n. 4, Edição Prospect, p. 1108-1124, 2023.

RODRIGUES, L. N. **Espectroscopia por FTIR de variedades híbridas de bagaço de cana-de-açúcar pré-tratados para a produção de etanol celulósico**. 2012. 144 f. Dissertação (Mestrado em Física) – Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, Minas Gerais, 2012.

ROGERIO, K. R.; VITÓRIO, F.; KÜMMERLE, A. E.; GRAEBIN, C. S. Reações Multicomponentes: Um breve Histórico e a Versatilidade destas Reações na Síntese de Moléculas Bioativas. **Revista Virtual de Química**, v.8, n.6, p.1934-1962, 2016.

SCHRAMM M, GROMET Z, HESTRIN S. Synthesis of cellulose by Acetobacter Xylinum. 3. Substrates and inhibitors. **Biochem J**. 67 (4) 669-79, 1957.

SEGAL, L. et al. An Empirical Method for Estimating the Degree of Crystallinity of Native Cellulose Using the X-Ray Diffractometer. *Sage Journals*, 29 (10), 1959.

SHALAUDDIN, M., AKHTER, S., BASIRUN, W. J., BAGHERI, S., ANUAR, N. S., & JOHAN, M. R. Hybrid nanocellulose/f-MWCNTs nanocomposite for the electrochemical sensing of diclofenac sodium in pharmaceutical drugs and biological fluids. **Electrochimica Acta**, v. 304, p. 323-333, 2019.

SHELDON, R. A. Fundamentals of green chemistry: efficiency in reaction design. **Chem. Soc. Rev.** v. 41, n.4, p.1437-1451, 2012.

SHI, Y. et al. Functionalization of nanocellulose applied with biological molecules for biomedical application: A review. **Carbohydrate Polymers**, v.285, n.119208, 2022.

SILVA, F. L. R. **Síntese e Caracterização de Nanoestruturas à Base de Dióxido de Titânio**. 2012. 102 f. Dissertação (Mestrado em Física) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2012.

SOUZA, M. V. N. Utilização do tempo (*n*-oxil-2,2,6,6-tetrametilpiperidina) na oxidação de álcoois primários e secundários. **Quim. Nova**, Vol. 27, No. 2, 287-292, 2004.

STANISŁAWSKA, A. Bacterial nanocellulose as a microbiological derived nanomaterial. **Advances in materials science**, vol. 16, no. 4 (50), 2016.

SUN, J.X.; sun, X.F.; zhao, H.; sun R.C. Isolation and characterization of cellulose from sugarcane bagasse. **Polymer Degradation and Stability**, 84, 331-339, 2004.

TAN, H.; OOI, B.S; LEO, C.P. Future perspectives of nanocellulose-bases membrane for water treatment. **Journal of Water Process Engineering**, 37, 2020.

TEIXEIRA, Lucas Tonette; Siqueira, Rogério Navarro Correia de (Advisor); Pandoli, Omar Ginoble (Co-Advisor). **Synthesis and characterization of TEMPO oxidized cellulose nanofibers and study of their use as metais adsorbent**. Rio de Janeiro, 2019. 99p. Dissertação de mestrado – Departamento de Engenharia Química e de Materiais, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro.

THAKUR, V.; GULERIA, A. G.; KUMAR, S.; SHARMA, S.; SINGH, K. Recent advances in nanocellulose processing, functionalization and applications: a review. **Mater. Adv.**, v. 2, p.1872-1895, 2021.

THOMPSON, L.; AZADMANJIRI, J.; NIKZAD, M.; SBARSKI, I.; WANG, J.; YU, A. Cellulose Nanocrystals: Production, Functionalization and Advanced Applications. **Rev. Adv. Mater. Sci.** v.58, p.1-16, 2019.

TONG, T. et al. Effects of Material Morphology on the Phototoxicity of NanoTiO₂ to Bacteria. **Environmental Science & Technology**, 47, 2013. 12486–12495.

TSAI, C.; TENG, H. Structural Features of Nanotubes Synthesized from NaOH Treatment on TiO₂ with Different Post-Treatments. **Chem. Mater.** 18, 367-373, 2006.

YAZDANI, H.; HOOSHMAND, S. E.; STENZEL, M. H. Fusion of Cellulose and Multicomponent Reactions: Benign by Design. **ACS Sustainable Chem. Eng**, v. 10, n. 14. P.4359–4373, 2022.

YUAN, Z.; SUN, B. Titanium oxide nanotubes, nanofibers and nanowires. **Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects**, 241, 173–183, 2004.

ZENG, M.; LAROMAINE, A.; ROIG, A. Bacterial cellulose films: influence of bacterial strain and drying route on film properties. **Cellulose**, 21 (6) 4455-4469, 2014.

ZHANG, W., LAI, E. P. C. Chemical Functionalities of 3-aminopropyltriethoxy-silane for Surface Modification of Metal Oxide Nanoparticles. **Silício**, 2021.

ZHANG, Z. et al. Controlled Silylation of Nanofibrillated Cellulose in Water: Reinforcement of a Model Polydimethylsiloxane Network. **ChemSusChem**, [s.l.], v. 8, n. 16, p. 2681–2690, 2015.

ZHANG, J. et al. Asymmetric phosphoric acid–catalyzed four-component Ugi reaction. **Science**, v. 361 (1087), 2018.